UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

SOMOS UAQ®
SERVIR CONSTRUIR TRANSFORMAR

10°

ENCUENTRO DE JÓVENES INVESTIGADORAS E INVESTIGADORES DEL ESTADO DE QUERÉTARO

"Ideas jóvenes para impulsar el crecimiento del país"

ENERO 2023

"Ideas jóvenes para impulsar el crecimiento del país"

Universidad Autónoma de Querétaro
Dra. Margarita Teresa de Jesús García Gasca
Rectora

Dr. Javier Ávila Morales
Secretario Académico
Lic. Verónica Nuñez Perusquía
Directora de atención a la comunidad universitaria
Mtro. Luis Alberto Fernández García
Secretario Particular de la Rectoría
Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Secretaria de Investigación, Innovación y Posgrado
Dra. Azucena de la Concepción Ochoa Cervantes
Directora de Investigación
Mtra. Karina Villarauz Camargo
Coordinadora de Difusión y Enlace

L.A.V. Alma Ivonne Méndez Rojas
L.A.V. Brenda Paola Sosa Vergara
Diseño

Mtra. Karina Villarauz Camargo
Comité editorial

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Dra. Azucena de la Concepción Ochoa Cervantes
Comité organizador

Publicación especial No.10 de la Dirección de Investigación
Universidad Autónoma de Querétaro
Centro Universitario, Cerro de las Campanas s/n
Código Postal 76010, Querétaro, Qro., México
Primera edición, noviembre de 2016
Hecho en México

SOMOS UAQ®
SERVIR CONSTRUIR TRANSFORMAR

PRESENTACIÓN

La Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ), tiene el compromiso de formar estudiantes con habilidades que les permitan consolidar su formación como futuros profesionistas. El personal directivo, docentes, investigadoras e investigadores de las distintas instituciones de educación superior del Estado de Querétaro, incentivan la formación y desarrollo de competencias en los jóvenes que les permitirán aplicar, difundir y divulgar el conocimiento en su transitar a través de la sociedad.

El foro académico denominado **"Encuentro de Jóvenes Investigadores e Investigadoras del Estado de Querétaro"**, se crea como estrategia para formar recursos humanos de alta calidad en diversas áreas de investigación. Es así que, los proyectos que desarrollan estudiantes de licenciatura y posgrado durante estancias de verano o como proyectos de tesis, son expuestos ante un comité científico especializado en el tema y al público en general; con el fin de estimular la vocación científica, la innovación y la transferencia de conocimiento.

El 10º Encuentro de Jóvenes Investigadores e Investigadoras del Estado de Querétaro contó con la asistencia y participación de **66 ponentes**, pertenecientes a siete diferentes instituciones de Querétaro, **53 investigadores e investigadoras** que integraron al Comité Científico (29) y al Jurado (24), quienes se encargaron de evaluar trabajos escritos y orales. Los ganadores de las diferentes áreas del conocimiento fueron aquellos que obtuvieron la calificación más alta en el trabajo in extenso y la presentación oral. Los trabajos expuestos se encuentran en la presente memoria, la cual, respeta el estilo y redacción de los trabajos.

Cabe mencionar que, con el apoyo de la administración central, de las 13 Facultades y la Escuela de Bachilleres de la UAQ, se logró realizar el 10° Encuentro de Jóvenes Investigadores e Investigadoras del Estado de Querétaro, por lo que agradecemos ampliamente el respaldo para dar continuidad a este foro de intercambio de conocimiento. Con este tipo de acciones se reafirma el compromiso social que tienen las instituciones e investigadores para generar espacios que fortalezcan la formación de investigadores, punto clave para el desarrollo científico y tecnológico que requiere nuestro país.

"Educo en la verdad y en el honor"
Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña

AGRADECIMIENTOS

COMITÉ CIENTÍFICO

Dr. Aldo Amaro Reyes	Facultad de Química, UAQ
Dr. Arturo Toscano Giles	Instituto Tecnológico de Querétaro
Dr. Eduardo Enrique Pérez Ramírez	Universidad del Valle de México Campus Querétaro
Dr. Héctor Paul Reyes Pool	Facultad de Ingeniería, UAQ
Dr. Hector Raymundo Vera Ávila	Facultad de Ciencias Naturales
Dr. José Gabriel Ríos Moreno	Facultad de Ingeniería, UAQ
Dr. José Guadalupe Gómez Soto	Facultad de Ciencias Naturales, UAQ
Dr. José Luis Reyes Araiza	Facultad de Ingeniería, UAQ
Dr. José Marcos Zea Pérez	Ingeniería Mecatrónica, UPQ
Dr. Juan Alfredo Hernández Guerrero	Facultad de Ciencias Naturales, UAQ
Dr. Juan Bosco Hernández Zaragoza	Facultad de Ingeniería
Dr. Juan Manuel Vera Vázquez	Campus Amealco, UAQ
Dr. Luis Alvaro Montoya Santiyanes	Ingeniería en Tecnología Automotriz. UPQ
Dr. Mario Trejo Perea	Facultad de Ingeniería, UAQ
Dr. Omar Rodríguez Abreo	Ingeniería en Tecnologías de Manufactura. UPQ
Dr. Raúl Ramírez López	Instituto Tecnológico de Querétaro
Dr. Reynaldo Hernández Maldonado	Facultad de Ingeniería, UAQ
Dr. Ricardo Francisco Mercado Curiel	Facultad de Medicina, UAQ
Dr. Rodrigo Hernández Alvarado	Ingeniería en tecnología automotriz. UPQ
Dra. Adela Becerra Chávez	Ciencias Básicas, UPQ
Dra. Alondra Anahí Ortíz Verdín	Universidad Politécnica de Querétaro
Dra. Ana Angélica Feregrino Pérez	Facultad de Ingeniería, UAQ
Dra. Ana Gabriela Hernández Puga	Facultad de Medicina, UAQ.
Dra. Cintli Carolina Carbajal Valenzuela	Facultad de Psicología y Educación, UAQ.
Dra. Claudia Cinthya Peña Estrada	Facultad de Contaduría y Administración, UAQ.
Dra. Ester Bautista Botello	Facultad de Lenguas y Letras, UAQ
Dra. Guadalupe Soledad López Álvarez	Facultad de Medicina, UAQ.
Dra. Haydé Azeneth Vergara Castañeda	Facultad de Medicina, UAQ
Dra. Lydia Gabriela Ortega Bucio	Ingeniería Mecatrónica. UPQ
Dra. Ma. Elena Villagrán Herrera	Facultad de Medicina, UAQ.
Dra. Mardey Liceth Cuellar Nuñez	Facultad de Medicina, UAQ.
Dra. María Carlota García Gutiérrez	Facultad de Medicina, UAQ
Dra. María Leticia Ávila Ramírez	Facultad de Medicina, UAQ.
Dra. Mónica Sanaphre Villanueva	Facultad de Lenguas y letras UAQ
Dra. Rosa Martha Pérez Serrano	Facultad de Medicina, UAQ
Dra. Rosario Barba González	Facultad de Bellas Artes, UAQ
Dra. Tércia Cesária Réis de Souza	Facultad de Ciencias Naturales, UAQ
Dra. Teresa López Lara	Facultad de Ingeniería, UAQ
Dra. Valeria A. Belloro	Facultad de Lenguas y letras, UAQ
Dra. Vanessa Muriel Amezcua	Facultad de Ciencias Políticas y Sociales
M. en A. Elsa Cristina Navarrete Ochoa	Facultad de Artes
M.en C. Alicia Prieto Uscanga	Instituto Tecnológico de Querétaro
M. en C. Fabiola Hernández Hernández	Ciencias Básicas, UPQ

M.en C. Gloria Flor Mata Donjuan	Ingeniería mecatrónica. UPQ
M. en C. Margarita Prieto Uscanga	Instituto Tecnológico de Querétaro
M.C. Ma. Teresa López Ostria	Instituto Tecnológico de Querétaro

STAFF DE APOYO

Secretaría de Investigación y Posgrado

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Dra. Azucena de Concepción Ochoa Cervantes
M. en C. María Aurora Martínez Álvarez
M. en C. Rosa María Lujan Rico
M. en C. Karina Colín Yáñez
M. en GIC. Karina Villarauz Camargo
M.A.T.I. Maura Jarubi Chávez López
L. en I. María Verónica Muñoz Velázquez
C. Rocío Martínez Guardiola
C. Marisol Corona Manjarrez

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

SOMOS UAQ®
SERVIR CONSTRUIR TRANSFORMAR

MEMORIAS DEL 10° ENCUENTRO DE JÓVENES INVESTIGADORAS E INVESTIGADORES DEL ESTADO DE QUERÉTARO.

BLOQUE

MEDICINA Y CIENCIAS DE LA SALUD

10° ENCUENTRO DE JÓVENES INVESTIGADORAS E INVESTIGADORES DEL ESTADO DE QUERÉTARO

"Ideas jóvenes para impulsar el crecimiento del país"

"Ideas jóvenes para impulsar el crecimiento del país"

INDICE

Fernández Martínez María J., Reyes Pérez Paula.,Rodríguez Violalante Mayela, Cervantes Arriaga Armin, Hernández Medrano Ana J, Medina-Rivera Alejandra	Red Mexicana de Investigación en Parkinson: Registro de participantes y extracción de material genético.
Rosa Iris Godínez Santillán y Haydé Azeneth Vergara Castañeda	Quimioprevención del garambullo en el estadio temprano de cáncer de colon in vivo
Sarah Nicole Lee Martínez, Iván Andrés Luzardo Ocampo, Mardey Liceth Cuéllar Núñez	Potencial hipolipemiante de un extracto de maíz nativo en ratones C57BL/6
María Guadalupe López-Velázquez, Cesar Campos-Ramírez, Liliana Olalde-Mendoza, Nicolás Camacho-Calderón	Efecto de los edulcorantes no calóricos sobre la saciedad y la glucosa
Perla Viridiana Ocampo Anguiano, Laura Lizeth Victoria Ruiz, Minerva Ramos Gómez, Erika María Orta Salazar, Azucena Ruth Aguilar Vázquez, y Santiaga Marisela Ahumada Solórzano	Dieta alta en grasa y fructosa: permeabilidad intestinal y neuroinflamación.
Diana B. Ramírez Pineda, Alejandra Eugenia Medina Rivera, Sarael Alcauter Solorzano, Alejandra Evelyn Ruiz Contreras, Miguel E. Rentería	Biomarcadores metabólicos como diagnóstico para la Enfermedad de Parkinson
A. Y. Reséndiz-Jaramillo, R.A. Escalona-Villalpando, I.R. Chavez-Urbiolab, F.J. Willars-Rodriguez, G. Martinez-Saucedo, L. G. Arriaga, J. Alcantar-Peña, J. Ledesma-García	Biosensor de glucosa en sangre basado en Au/ZnO
Rojas-García, Luis-Andrés; Álvarez-Martínez, Roberto	Modelaje de COVID-19 con estructura etaria para el estado de Querétaro
Edelmira Sánchez-Recillas, Hayde Azeneth Vergara-Castañeda, Ana Alicia Sánchez -Tusié	El garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) modula el perfil de microbiota intestinal en un modelo

	animal de estadio temprano de cáncer de colon
Suastegui Otero-Nelly Alejandra, Hernández Puga-Ana Gabriela	Efecto del disruptor endócrino MEHP en la regulación de C/EBPα durante la adipogénesis
Villegas Bolaños- Mariana Guadalupe, Hernández-Ledesma Ana Laura, Torres Valdez Estefania, Peña Ayala Angélica Hayleen, Tinajero Nieto Lizbet, Felíx-Rodríguez Guillermo, Frontana-Vázquez Gabriel, Alpízar-Rodríguez Deshiré, Medina-Rivera Alejandra	Características clínicas de Mexicanas con Lupus: datos del LUPUS RGMX.
Walle Diaz Cecilia, Terrazas Rodríguez Luz Dalid, Pérez Ávalos Ismael	Uso de una aplicación como estrategia educativa para DT2

Red Mexicana de Investigación en Parkinson: Registro de participantes y extracción de material genético.

Fernández Martínez María J[1]., Reyes Pérez Paula[2].,Rodríguez Violalante Mayela[3] ,Cervantes Arriaga Armin[3], Hernández Medrano Ana J[3], Medina-Rivera Alejandra[2]

[1]Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, C.U. Cerro de las campanas. Querétaro, Qro. 76010, México. [2]Laboratorio Internacional de Investigación sobre el genoma humano, Universidad Nacional Autónoma de México, Jurica de la Mesa, Querétaro Qro 76230, México. [3]Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, Laboratorio Clínico de Enfermedades Neurodegenerativas, Ciudad de México. México.

Resumen

La enfermedad de Parkinson (EP) es la segunda enfermedad neurodegenerativa con mayor incidencia, afectando entre 7 y 10 millones de personas alrededor del mundo. Se han realizado diversas investigaciones sobre las características de la enfermedad, sin embargo, la mayoría se han realizado con poblaciones europeas. La Red Mexicana de Investigación en Parkinson (MEX-PD) es un equipo de investigación encargado del estudio de las bases genéticas y neurofisiológicas de la EP en México, reclutan controles y pacientes, a quienes se les aplican diversos cuestionarios y un muestreo por hisopado bucal, para la obtención de material genético. MEX-PD se apoya con reconocidos neurólogos, psicólogos e instituciones de salud del país de tal modo que, mediante una colaboración realizada con el Instituto de Neurología y Neurocirugía se obtuvieron muestras de sangre de pacientes con EP.

La extracción del material genético se realizó empleando QIAamp DNA Mini buccal swab y QIAamp DNA Mini blood protocol con modificaciones, mientras que la cuantificación del ADN extraído se realizó siguiendo el protocolo de Qubit 1X dsDNA BR Assay Kit. Las muestras de las que se obtuvo como mínimo 1.7 µg de ADN en una concentración mínima de 50 ng/µl, se enviaron a Cleveland Clinic Foundation, dónde se realizará un control de calidad de las muestras de ADN, para su posterior envío a la Universidad de Miami, dónde se realizará el genotipado. Una vez obtenidos los datos de genotipado, se podrá analizar si existe una correlación con el desarrollo de la enfermedad con alguna variante genética.

Palabras clave: Enfermedad de Parkinson, Registro de participantes, Extracción de ADN, Red Mexicana de Investigación en Parkinson.

Abstract

Parkinson's disease (PD) is the second most prevalent neurodegenerative disease, affecting between 7 and 10 million people worldwide. There have been several investigations on the characteristics of the disease. However, most of them have been carried out within European populations. The Mexican Parkinson's Research Network (MEX-PD) is a research team who studies the genetic and neurophysiological

basis of PD in Mexico, recruiting controls and patients to whom several questionnaires and a sampling by buccal swabbing are ap in order to obtain genetic material. MEX-PD is supported by renowned neurologists, psychologists and health institutions in the country. Blood samples from patients with PD were facilitated through a collaboration with the Institute of Neurology and Neurosurgery.

The extraction of the genetic material was performed using QIAamp DNA Mini buccal swab protocol and QIAamp DNA Mini blood protocol with modifications. The quantification of the extracted DNA was performed following the Qubit 1X dsDNA BR Assay Kit protocol. Samples from which a minimum of 1.7 µg of DNA was obtained at a minimum concentration of 50 ng/µl, were sent to the Cleveland Clinic Foundation, where a quality control of the DNA samples will be performed. for subsequent shipment to the University of Miami, where genotyping will be performed. Subsequently, the samples will be shipped to the University of Miami, where genotyping will be performed. Once the genotyping data have been obtained, it will be possible to analyze whether there is a correlation between the development of the disease and any genetic variant.

Key words: Parkinson's Disease, DNA extraction, Mexican Parkinson's Research Network

Introducción

La enfermedad de Parkinson (EP) es una enfermedad neurodegenerativa, la cual tiene como característica la pérdida de dopaminérgica de las neuronas y el desarrollo de cuerpos de Lewy en el mesencéfalo, los cuales son agregados proteicos que impiden el funcionamiento neuronal óptimo. Los síntomas que dicho padecimiento incluyen pueden ser motores como: temblores y rigidez muscµlar, bradicinesia, pérdida del equilibrio, entre otros y no motores, asociados a desórdenes neuroconductuales, como lo son: la depresión, ansiedad, demencia, entre otros (Beitz, 2014).

La EP presenta mayor prevalencia en personas de mayor edad, teniendo una mayor prevalencia en persona entre los 85 y 89, siendo además más común en hombres con una relación 1.4:1:1.0 respecto al sexo femenino (Amstrong, 2020). Además, está asociada a otros factores de riesgo como lo son: la historia familiar, la exposición a pesticidas, metales y químicos (Bandres, 2020; Beitz, 2014). Mientras que, por el contrario, la cafeína y el tabaco están asociados con una disminución de los riesgos (Amstrong, 2020; Hurtado, 2016).

El Parkinson es la segunda enfermedad neurodegenerativa con mayor incidencia después del Alzheimer (Ou, 2021), afectando entre 7 y 10 millones de personas alrededor del mundo. En los últimos 25 años, la incidencia de la EP se ha visto duplicada. Así mismo, las muertes a causa de esta enfermedad también han ido en aumento y desde el año 2000 ha causado alrededor de 329,000 muertes (OMS, 2022).

A través de los años se han realizado diversas investigaciones genéticas, cognitivas y neurofísicas respecto a la Enfermedad de Parkinson, sin embargo, en la mayoría de dichas investigaciones, la población es de origen europeo por lo que

resulta complejo aplicar dicho conocimiento en poblaciones Mexicana, la cual tiene contribuciones de ancestría europea, nativo americana y africana. La Red Mexicana de Investigación en Parkinson (MEX-PD) es un grupo de investigación que surge a partir del Consorcio Latinoamericano de Investigación sobre la Genética de la Enfermedad de Parkinson (LARGE-PD) cuyo cometido es impulsar la investigación de la enfermedad de Parkinson en países latinoamericanos (LARGE-PD, s.f).

El equipo de investigación de Mex-PD está conformado por expertos en genética, cognición humana y neuroimagen funcional cerebral. El cual se apoya con reconocidos neurólogos y psicólogos, instituciones de salud del país, así como de la Universidad Nacional Autónoma de México. Dicho consorcio tiene como objetivo la investigación de las bases genéticas y neurofisiológicas, así como de las características cognitivas y conductuales de la Enfermedad de Parkinson (EP) en México (Mex-PD, 2021).

Para llevar a cabo el estudio, Mex-PD se encarga de reclutar pacientes y controles, a quienes se les aplica una serie de cuestionarios para la recolección de datos epidemiológicos y a partir de ello poder realizar caracterizaciones fenotípicas y obtener información sobre los factores ambientales y el estilo de vida de los participantes; a su vez, se realiza un muestreo por hisopado bucal con la finalidad de obtener muestras de ADN para su posterior genotipado, estos recursos genómicos son empleados para los análisis de variantes genéticas en la población mexicana con EP, y asociaciones con comorbilidades y rasgos particulares de la enfermedad.

Así mismo, tal como se mencionó anteriormente, Mex-PD trabaja en colaboración con otras instituciones y grupos de investigación, gracias a ello se obtuvieron muestras sanguíneas de pacientes con Enfermedad de Parkinson del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía (INNN), mismas que fueron procesadas para la obtención de ADN y de esta manera enriquecer los recursos genómicos del estudio.

El presente trabajo tiene como objetivo el registro de pacientes y controles y la aplicación de cuestionarios a dichos participantes para la recolección de información de epidemiología y exposición, para su futuro análisis ý correlación con el desarrollo de la EP. Así como las extracciones del material genético de muestras de saliva y sangre, tanto de pacientes como de controles, mismas que en un futuro servirán como recursos genómicos para el análisis de variantes genéticas asociadas con el desarrollo de la EP.

Metodología

Registro de controles y pacientes

Para el registro de controles y pacientes se tomaron como criterios de inclusión los siguientes: Tener más de 45 años, ser mexicano(a) o haber residido la mayor parte de su vida en México, saber leer y escribir, y para el caso de controles: no tener familiares consanguíneos diagnosticados con Enfermedad de Parkinson, no tener diagnóstico de alguna enfermedad neurodegenerativa. En el caso de los pacientes, es necesaria la

confirmación del diagnóstico por un médico que forme parte de Mex-PD.

Para realizar el registro de un participante, como primer paso, se le brindó al sujeto un consentimiento informado, mismo que leyó y firmó. Posteriormente, debido a que los datos son almacenados y analizados de forma anonimizada, se le asignó un ID y se procedió a realizar su registro utilizando una base de datos en REDCap (Research Electronic Data Capture) (Harris, 2009; Harris, 2019). Se realizaron una serie de cuestionamientos al participante, entre los que se incluyen: Información de contacto, datos clínicos, antecedentes demográficos, clínicos y demográficos, exposiciones ambientales y genealogía (Tabla 1).

Una vez completados los cuestionarios, se tomó una muestra de hisopado bucal del participante utilizando un hisopo estéril, raspando el carrillo interno de la mejilla, haciendo círculos al menos diez veces en la mejilla superior y la inferior, y un poco de la lengua. Se dejó secar al aire libre al menos 30 minutos, se etiquetó con su identificador correspondiente y se almacenó en refrigeración.

Extracción ADN muestras de saliva

Se realizaron extracciones de muestras de saliva, empleando QIAamp DNA Mini buccal swab protocol con modificaciones (QIAamp, 2012). Para ello, se cortó el hisopo y se colocó en un tubo de 1.5 ml, al cual se le añadieron 180 µl de ATL y se incubó a 85°C a 1400 rpm durante 10 minutos en un Eppendorf ThermoMixer. Una vez terminada la incubación, se adicionaron 20 µl de proteinasa K, misma que se mezcló por pipeteo y se llevó a una incubación a 56°C y 1400 rpm durante 1 hora. Posteriormente, se agregaron 400 µl

Tabla 1. Descripción de los cuestionarios aplicados para el registro de pacientes y controles.

Nombre del instrumento	Descripción
Información de contacto	Datos básicos del paciente como su nombre y fecha de nacimiento así como los datos de contacto del paciente o participante
Datos clínicos	Se indica el estado del individuo, es decir, si está afectado o no afectado. En caso de no ser afectado se deberá especificar si es un familiar de un paciente o bien, un probando. Además se hace una declaración de que la información que se recolecta es veraz.
Antecedentes demográficos, clínicos y familiares	Sexo, etnicidad, años de educación, así como datos clínicos y antecedentes familiares
Exposiciones ambientales	Información sobre exposiciones ambientales que ha tenido el sujeto a lo largo de su vida, por ejemplo: el uso de alcohol, pérdida de conciencia, antecedentes ocupacionales, uso de metales pesados, consumo de tabaco, consumo de cafeína, exposición a pesticidas, entre otros
Genealogía	Se construye un árbol genealógico del sujeto, en el cual se especifican las enfermedades en los familiares, en caso de que hubiera
Consentimiento informado	Al paciente se le brinda un consentimiento informado dónde se le explica sobre el proyecto y de qué manera contribuirá si así lo decide.

de buffer AL, y se realizó una incubación a 70°C y 1400 rpm durante 10 minutos, una vez finalizada la incubación se agregaron 400 µl de etanol a -20°C, se homogeneizó mediante vórtex, y se retiró el hisopo. Se transfirieron 700 µl a una columna y se centrifugó a 5000 x g (8000) rpm durante 2 minutos, seguidamente se tomaron los µl que sobraron del tubo de 1.5 y se completó el volumen de 700 µl reciclando el sobrenadante, para proceder a centrifugar bajo las mismas condiciones. Posteriormente, se procedió a realizar los lavados y la elución tal como se realizó con las muestras de sangre.

Extracción ADN muestras de sangre completa

Las muestras de sangre fueron obtenidas de una colaboración realizada con el Instituto de Neurología y el Instituto de Neurología y Neurocirugía (INNN). En el presente estudio se incluyeron un total de 240 muestras de sangre completa, las cuales fueron almacenadas a -80°C hasta su procesamiento

Las extracciones de ADN se realizaron a partir de muestras de sangre completa, empleando QIAamp DNA Mini blood protocol con modificaciones posteriores a su estandarización (QIAamp, 2012). Para cada extracción se colocaron 20 µl de proteinasa K en un tubo de 2 ml, posteriormente se adicionaron 250 µl de sangre previamente descongelada y 200 µl de buffer AL, se homogeneizaron mediante vórtex y se incubaron a 56°C con 1400 rpm por 25 minutos en un Eppendorf ThermoMixer. Una vez finalizada la incubación se colocaron los tubos en una mini spin (Thermo scientific Myspin 6) por 30 segundos.

Posteriormente se adicionaron 250 µl de etanol absoluto a -20°C, se mezcló energéticamente por pipeteo y se centrifugaron en microcentrífuga a 2.000 x g por 30s. Seguidamente se transfirieron 700 µl de la mezcla dentro de un tubo con columna y se centrifugó a 5000 x g (8000 rpm) durante 2 minutos, una vez finalizada la centrifugación, se transfirió la columna a un tubo de recolección nuevo y se procedió a realizar dos lavados, utilizando buffer AW1 y AW2 respectivamente; entre cada lavado, se realizó una centrifugación, siendo la primera a 5000 x g (8000 rpm) durante 2 minutos, mientras que la segunda se llevó a cabo a 11, 200 x g (12000 rpm) durante 5 minutos.

Una vez realizados ambos lavados, se colocó la columna en un tubo de recolección de 2 ml previamente etiquetado con ID y fecha y se procedió a realizar la elución del ADN, para ello se adicionaron 50 µl de buffer AE y se realizó una incubación a 30°C durante 15 minutos en un Eppendorf ThermoMixer, una vez finalizada la incubación, se centrifugó a 3,000 x g (6000 rpm) durante 1 minuto. Se realizaron dos eluciones, es decir, se adicionaron nuevamente 50 µl de buffer AE, se realizó nuevamente una incubación bajo las mismas condiciones y finalmente se centrifugó a 3,000 x g (6000 rpm) durante 2 minutos.

Cuantificación y concentración de muestras ADN extraídas

La cuantificación de las muestras extraídas se realizó mediante fluorometría, se utilizó "Qubit 1X dsDNA BR Assay Kit" (ThermoFisher Scientific, 2020) y se siguió el protocolo recomendado por el proveedor. Para ello, se preparó una master mix

siguiendo las proporciones adecuadas establecidas por el proveedor. Se utilizaron dos estándares, para los cuales se les agregó 190 µl de master mix y 10 µl de su respectivo estándar; mientras que a los tubos con muestra se les añadió 199 µl de master mix y 1µl de la muestra. Se midieron las concentraciones en el fluorómetro Qubit y se registraron.

Para los procesos rio abajo, resultaba de suma importancia que la concentración de la muestra fuera mayor a 60 ng/µl por lo que una vez finalizada la extracción, la muestra fue sometida a un proceso de concentración utilizando un CentriVap DNA Concentrator LABCONCO, utilizando el programa 1 que posee el equipo por default a 36°C, durante 15 minutos. Una vez finalizada la concentración se almacenaron a -20°C hasta su posterior uso.

Aquellas muestras con concentración menor a 60 ng/µl, se concentraron nuevamente en el CentriVap.

Empaquetamiento para envío muestras ADN extraídas

Las muestras extraídas se enviaron a Cleveland para su genotipado, es por ello que resultó de suma importancia la concentración y el volumen a enviar. Para su empaquetamiento se midió el volumen aproximado de cada muestra mediante micropipetas, posteriormente se transfirió el volumen a tubos de 0.6 ml, aquellas muestras cuyo volumen era menor a 35 µl se les realizó una dilución para obtener dicho volumen, cuidando no tener una concentración menor de 60 ng/µl.

Las muestras que no cumplieron con los criterios de concentración y volumen fueron extraídas nuevamente.

Resultados

Se realizaron de manera satisfactoria las extracciones de ADN de las muestras de saliva obtenidas del reclutamiento de pacientes y controles, así como de las muestras de sangre proporcionadas por el INNN. Las modificaciones que se realizaron del protocolo de extracción de QIAamp DNA Mini buccal swab y QIAamp DNA Mini blood protocol resµltaron de relevancia puesto que permitieron la obtención de una mayor concentración del ADN extraído.

Se obtuvieron concentraciones muy variadas que iban en el rango de 61 ng/µl hasta 274 ng/µl, con una media de 91.8 ng/µl (Fig. 1), mientras que los rangos de volumen final de las muestras fueron de entre los 35 µl hasta los 75 µl, con una media de 52.33 µl (Fig. 2).

Una vez que se obtuvo una concentración mínima de 60 ng/µl de cada muestra, se verificó que las muestras cumplían con los criterios de volumen y concentración necesarios para el envío a Cleveland Clinic Foundation, donde se realizará un control de calidad de las muestras de ADN, para su posterior envío a la Universidad de Miami, dónde se realizará el genotipado.

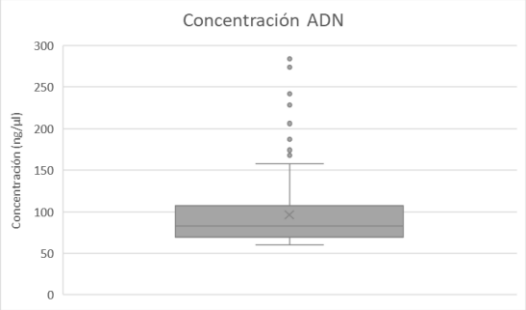


Fig. 1 Concentración de ADN en las muestras extraídas

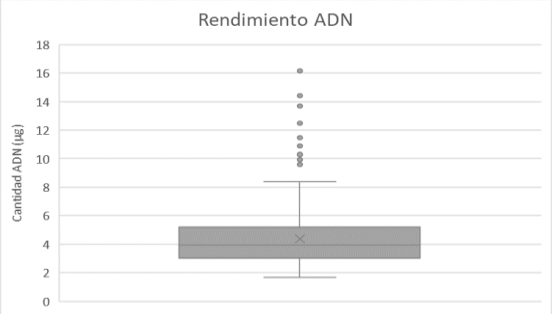


Fig.2 Rendimiento de ADN en las muestras extraídas

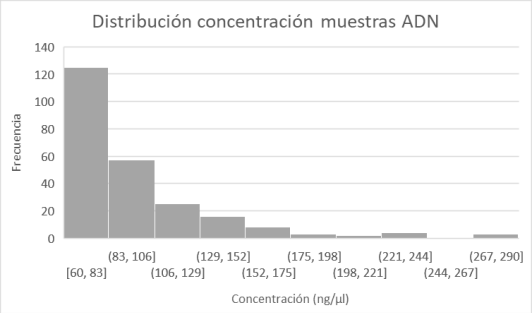


Fig. 3 Distribución de la concentración de las muestras de ADN extraídas

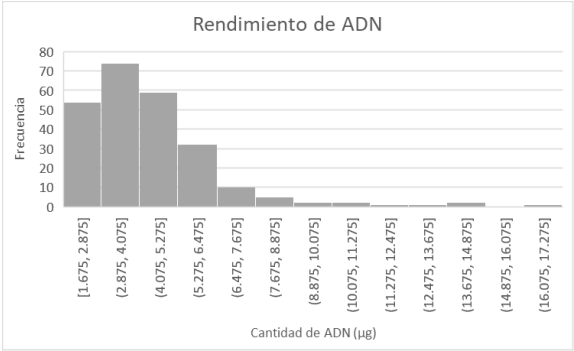


Fig. 4 Distribución del rendimiento de las extracciones de ADN

Discusión y conclusiones

Los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) son las variantes genéticas más frecuentes y, como su nombre indica, consiste en una variación en un nucleótido. Estas variaciones pueden estar presentes en una secuencia codificante o no codificante, siendo más frecuentes en las regiones no codificantes. Cuando ocurre en regiones no codificantes, no tienen ninguna alteración en las proteínas, sin embargo, cuando están presentes en regiones codificantes o regulatorias, puede generar cambios estructurales y funcionales de las proteínas y desencadenar algún tipo de daño o enfermedad. Para identificar variantes que tienen influencia en el desarrollo de alguna enfermedad, como lo es el Parkinson, suelen utilizarse estudios caso-control para de esta manera comparar la frecuencia de las variantes y a su vez, establecer una relación entre el genotipo y el fenotipo, para de esta manera encontrar genes que puedan estar relacionados al desarrollo de la enfermedad (Kim, 2007). El genotipado es una técnica que permite determinar las variantes genéticas que tiene un individuo (Karch, 2016), que permitirá la obtención de información respecto a las variantes genéticas presentes en los pacientes y controles de MEX-PD.

El proceso previo al genotipado resulta de suma importancia, puesto que los resultados podrían verse afectados por la variabilidad técnica, esto es cualquier diferencia en el procesamiento de una muestra. A su vez, la implementación de un control de calidad mejora el nivel de estandarización, evitando la repetición de experimentos, reduciendo por tanto los costes (Lee, 2022).

El control de calidad del material genético aislado incluye la evaluación de parámetros tanto

cuantitativos como cualitativos, por lo general los factores valorados son: la concentración del ácido nucleico; la pureza, para evitarla presencia de contaminantes químicos y de otro tipo de impurezas; la integridad de una determinada muestra, puesto que en el proceso de genotipado el ADN es fragmentado para la construcción de librerías, y si el ADN está previamente fragmentado por degradación de la muestra se obtendrán fracciones más pequeñas, lo cual no sería adecuado (Schade, 2014; Dong, 2018; Lee,2022).

Tal como se mencionó anteriormente, la concentración de las muestras de ADN extraídas resulta de suma importancia, estas se cuantificaron en el laboratorio mediante QUBIT, la cual es una técnica de fluorometría. Este método se prefiere sobre las técnicas de espectrofotometría, como lo es el NanoDrop, debido a que se utiliza un agente intercalante que se une al ADN de doble cadena, permitiendo de esta manera la medición precisa y selectiva de la concentración de dsDNA en una muestra. Por otro lado, los métodos espectrofotométricos resultan inespecíficos puesto que se miden las concentraciones mediante la absorción de luz de los compuestos en determinados rangos, 260 nm para el caso de los ácidos nucleicos, por lo que en este rango absorbe dsDNA, ssDNA, RNA, la medición por tanto en un nanodrop sobreestimaría la cantidad de ADN presente en la muestra (Casey, 2022).

Como se observa en la Fig. 1, se obtuvo una gran variación en cuanto a las concentraciones de ADN obtenidas, esto pudo deberse a errores técnicos durante el procedimiento, o bien, por factores externos a este, sin embargo, tal como se muestra en la Fig. 3, la mayoría de las muestras obtuvieron una concentración entre los 60-106 ng/µl. El estado de salud del paciente o participante juega un gran papel en la cantidad de material genético obtenido al final de la extracción, puesto que puede variar el número de células nucleadas. A su vez, el almacenamiento de las muestras resulta de suma importancia, por lo que el manejo inadecuado de las muestras puede tener efecto en la calidad del ADN extraído, por lo que algún inconveniente que se haya presentado en este proceso puede tener influencia en el resµltado final (Cruz, 2021).

La variación del rendimiento obtenido (Fig. 2) de igual manera pudo estar influenciado por errores técnicos durante el desarrollo de la metodología. Tal como se muestra en la Fig. 4, la mayoría de las muestras tuvieron un rendimiento de 1.675- 5.27 µg, mientras que el rendimiento esperado según el proveedor del kit utilizado para la extracción era de 4-12 µg. Tal como se mencionó anteriormente, la diferencia en el rendimiento puede deberse por el estado de salud de los participantes y por el almacenamiento.

Algunas de las muestras con un volumen pequeño, correspondían a aquellas con concentraciones muy altas, por lo que fue posible realizar diluciones para aumentar el volumen de la muestra. Una vez que las muestras cumplían los parámetros necesarios para el genotipado, los cuales corresponden a 1.7 µg de ADN en una concentración mínima de 50 ng/µl, se enviaron Cleveland Clinic Foundation, para el control de calidad de las muestras de ADN anterior al genotipado en la universidad de Miami.

A partir de los datos de los cuestionarios aplicados a pacientes y controles se podrá analizar aquellos factores de exposición, ambientales y familiares que tienen influencia en el desarrollo de la Enfermedad de Parkinson, esto se podrá realizar mediante los métodos estadísticos pertinentes. A su vez, una vez obtenidos los datos de genotipado, se podrá analizar si existe una correlación con el desarrollo de la enfermedad con variantes genéticas.

Bibliografía

Anon, (n.d.). LARGE-PD – Large-PD. [online] Available at: https://large-pd.org/about-us-es/ [Accessed 20 Oct. 2022].

Armstrong, M. J., & Okun, M. S. (2020). Diagnosis and treatment of Parkinson disease: a review. Jama, 323(6), 548-560.

Bandres-Ciga, S., Diez-Fairen, M., Kim, J. J., & Singleton, A. B. (2020). Genetics of Parkinson's disease: an introspection of its journey towards precision medicine. Neurobiology of disease, 137, 104782.

Beitz, J. M. (2014). Parkinson's disease: a review. Frontiers in Bioscience-Scholar, 6(1), 65-74.

Casey, R. (2022) *Richard Casey, The Sequencing Center*. Richard Casey https://thesequencingcenter.com/wp-content/uploads/2019/01/TSC_wide_logo_blue-e1546560904499.png. Available at: https://thesequencingcenter.com/knowledge-base/measuring-dna-concentration-fluorometric-vs-spectrophotometric-methods/ (Accessed: October 24, 2022).

Cruz-Enríquez, J. A., Espinosa-Padilla, S. E., & Medina-Torres, E. A. (2021). Importancia del adecuado protocolo de extracción de DNA para estudios moleculares. Alergia, Asma e Inmunología Pediátricas, 30(2), 50-53.

Dong, L., Yoshizawa, J., & Li, X. (2018). Nucleic Acid Isolation and Quality Control. Biobanking, 325–343.

Harris, P. A., Taylor, R., Thielke, R., Payne, J., Gonzalez, N., & Conde, J. G. (2009). Research electronic data capture (REDCap)—a metadata-driven methodology and workflow process for providing translational research informatics support. Journal of biomedical informatics, 42(2), 377-381.

Harris, P. A., Taylor, R., Minor, B. L., Elliott, V., Fernandez, M., O'Neal, L., ... & REDCap Consortium. (2019). The REDCap consortium: Building an international community of software platform partners. Journal of biomedical informatics, 95, 103208.

Hurtado, F., N Cárdenas, M. A., Cárdenas, F., & León, L. A. (2016). Parkinson Disease: Etiology, Treatments and Preventive Factors. Universitas Psychologica, 15(spe5), 1-26.

Karch, S. B. (2016). Autopsy: Molecular.

Kim, S., & Misra, A. (2007). SNP genotyping: technologies and biomedical applications. Annu. Rev. Biomed. Eng., 9, 289-320.

Lee, S.H. (2022) *Why Quality Control (QC) is performed for NGS testing, 3billion Blog*. 3billion Blog. Available at: https://3billion.io/blog/why-quality-control-qc-is-performed-for-ngs-testing/ (Accessed: October 24, 2022).

Lewallen, S., & Courtright, P. (1998). Epidemiology in practice: case-control studies. Community eye health, 11(28), 57.

MEX-PD - Red Mexicana de Investigación en Parkinson. (2021). MEX-PD - Red Mexicana de Investigación en Parkinson. [online] Available at: https://mexpd.liigh.unam.mx/ [Accessed 20 Oct. 2022].

Ou, Z., Pan, J., Tang, S., Duan, D., Yu, D., Nong, H., & Wang, Z. (2021). Global trends in the incidence, prevalence, and years lived with disability of parkinson's disease in 204 countries/territories from 1990 to 2019. Frontiers in public health, 9, 776847.

QIAamp, D. N. A. (2012). Mini and blood mini handbook. Access mode: www. qiagen. com/resources.

Schade, C. (2014). Quality Control: An Important Success Factor in Nucleic Acid-Based Analysis. American laboratory, 46(3), 16-18.

Tenny, S., Kerndt, C. C., & Hoffman, M. R. (2017). Case control studies.

Quimioprevención del garambullo en el estadio temprano de cáncer de colon *in vivo*

Autor: Rosa Iris Godínez Santillán
Asesor: Dra. Haydé Azeneth Vergara Castañeda
hayde.vergara@uaq.mx Centro de Investigación Biológica Avanzada

Resumen

Introducción. El garambullo (*Myrtillocactus geometrizans)* es un fruto endémico mexicano, rico en compuestos fenólicos y fibra. Escasos estudios reportan su actividad biológica en modelos *in vivo*. El objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto quimiopreventivo de este fruto en un modelo de cáncer de colon *in vivo*, ya que hasta donde es nuestro conocimiento, ningún estudio lo ha reportado. **Métodos.** Los garambullos se obtuvieron de la comunidad Garabatillo, Guanajuato, y toda la muestra fue liofilizada. Se designaron aleatoriamente ratas Sprague Dawley macho en 6 grupos de 12 c/u (control negativo, Azoximetano + dextrán sulfato de sodio (AOM+DSS), garambullo (G), G+AOM+DSS, residuo (R), y R+AOM+DSS, el estudio tuvo una duración de 16 semanas. En la matanza, se obtuvo sangre por punción cardiaca para el análisis de la química sanguínea. Asimismo, el colon fue removido y el colon distal se utilizó para la determinación de las fosas crípticas aberrantes (FCA) con tinción de azul de metileno. **Resultados**. Los grupos G y R no tuvieron diferencias significativas vs el control, los tratamientos G+AOM+DSS y R+AOM+DSS disminuyeron significativamente el número de FCA vs AOM+DSS (5.9 ± 2.1 y 6.2 ± 1 vs 9.7 ± 1.5). **Conclusión**. Los hallazgos sugieren que el garambullo, así como su residuo, pueden prevenir la iniciación del cáncer de colon.

Palabras clave: Garambullo, análisis de sangre, cáncer de colon, azul de metileno.

Abstract

Introduction. The garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) is an endemic Mexican fruit, rich in phenolic compounds and fiber. Few studies report its biological activity in *in vivo* models. The objective of this work is to evaluate the chemopreventive effect of this fruit in a colon cancer model *in vivo*, since to the best of our knowledge, no study has reported it. **Methods**. The garambullo was acquired from the Garabatillo community, Guanajuato, and the entire sample was lyophilized. Male Sprague Dawley rats were randomly assigned into 6 groups of 12 each (negative control (C-), azoxymethane+dextran sodium sulfate (AOM+DSS), garambullo (G), G+AOM+DSS, R, R+AOM+DSS), the study lasted 16 weeks. At sacrifice, blood was obtained by cardiac puncture for blood chemistry analysis. Likewise, the colon was removed and the distal colon was used for the determination of aberrant cryptic foci (ACF) with methylene blue staining. Results. The G and R groups did not have significant differences vs the control, the treatment of G+AOM+DSS and R+AOM+DSS significantly decreased the number of FCA vs AOM+DSS (5.9 ± 2.1 and 6.2 ± 1 vs 9.7 ± 1.5). Conclusion. The findings suggest that garambullo, as well as its residue, may prevent the initiation of colon cancer.

Keywords: Garambullo, blood test, colon cancer, methylene blue.

Introducción

El cáncer de colon afecta tanto a hombres como a mujeres y es la segunda causa más importante de muerte en el mundo relacionada con enfermedades cancerígenas (Rezaul et al., 2022). En México, cada año se diagnostican cerca de 15 mil casos nuevos de este tipo de cáncer, siendo el tercer cáncer más común (INSABI, 2022).

El proceso de carcinogénesis colorectal implica una serie de alteraciones en genes supresores de tumores y en oncogenes dando lugar a una proliferación

descontrolada que resulta en un adenocarcinoma. Se caracteriza por 4 etapas; iniciación promocion progresión y metástasis (Afrin et al., 2020). Dentro de la fase de iniciación, se ha reportado a las FCA como un cambio morfológico temprano en la mucosa colorrectal, siendo ampliamente aceptado como una lesión precursora de cáncer de colon desde el punto de vista morfológico, histológico, biológico y genético (León & Sáenz 2007). Además, son consideradas como el estándar de oro de los biomarcadores de carcinogénesis del colon y han sido extensamente utilizadas para la identificacion de potenciales agentes quimioprotectores (Gupta et al., 2007)

La etiología del cáncer de colon es compleja, incluye factores genéticos y ambientales, siento la dieta, a través del consumo de frutas y verduras; los cuales contienen altos niveles de polifenoles, un factor de prevención (Vieira et al., 2017; Chen et al., 2017). Muchos autores a lo largo de la historia han asociado el consumo de polifenoles a la prevención y bajo riesgo del desarrollo de la carcinogénesis colónica, analizando su presencia en frutos, a través de extractos solubles (utilizando solventes orgánicos acuosos) conformando así los polifenoles extraíbles, sin embargo, existen compuestos fenólicos ligados a la fibra contenida en los frutos, que no se liberan significativamente de esa matriz alimentaria por procesos de digestión, por lo que llegan al colon casi intactos, en donde sufren modificaciones químicas y estructurales durante el proceso de fermentación de carbohidratos, y se producen metabolitos potencialmente absorbibles (Saura, F. & Pérez, J. 2018).

En este sentido, existe un fruto alto en fibra llamado garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) el cual es una cactácea del reino *Plantae*, la cual presenta un periodo de vida de más de 50 años, puede de ser fácilmente propagado con producción de abundante fruto en los meses de Mayo, Junio, Julio y Agosto. En México se produce y cultiva predominantemente en los estados de Querétaro, Guanajuato, San Luis Potosí e Hidalgo, sin embargo, su consumo y comercialización han sido explotados casi en su totalidad por comunidades indígenas y locales (Hernández et al., 2008; Herrera et al., 2011). Este fruto de pigmentación magenta, posee diversos fitoquímicos como lo son las betalaínas, clorofila, carotenoides, vitaminas, y diversos compuestos fenólicos (Guzmán et al., 2010; Montiel et al., 2020). Existen escasos reportes de su actividad biológica en modelos *in vivo,* y hasta donde es nuestro conocimiento, no existe ninguno que reporte su efecto en un modelo de cáncer de colon, siendo así, el objetivo del presente proyecto, el analizar el efecto quimiopreventivo del garambullo, así como de su fibra o residuo en ratas Sprague Dawley inducidas con el carcinógeno Azoximetano y el promotor DSS, esto, por medio del conteo de FCA en el colon distal de las ratas inducidas así como de los controles y tratamientos.

Metodología

La muestra se obtuvo de la comunidad Garabatillo, Guanajuato, México, cosechados en el mes de Julio del año 2020. Una vez cosechados los garambullos fueron seleccionados conforme a su madurez (color púrpura intenso, turgentes al tacto, sin maceraciones) fueron lavados al chorro de agua y liofilizados, posteriormente, se pulverizó la muestra y se almacenó en bolsas con vacío a -20 grados centígrados, hasta su utilización.

Para el experimento *in vivo*, se designaron aleatoriamente ratas macho Sprague Dawley de 4 semanas de edad, en 6 grupos de 12 c/u (control negativo (C-), AOM+DSS, G, G + AOM+DSS, R, R + AOM+DSS), el estudio tuvo una duración de 16 semanas, incluyendo una semana de adaptación. La ingesta diaria del garambullo, así como de su residuo fue a través de adicionar el GL o el R con una dosis de 5g/kg (dosis inocua reportada por Reynoso et al., (1999)) en el alimento diario formando una “galleta” con ayuda de agua pura. A los grupos AOM+DSS, G+AOM+DSS y R+AOM+DSS se les suministró 2 inyecciones subdérmicas de AOM a una dosis de 10mg/kg, en la semana 3 y 4. Al grupo C- se les inyectó solución salina para simular el estrés producido por la punción. Posteriormente, se les administró DSS al 2% en el agua de consumo, por 7 días. Desde la primera semana de tratamiento, se

registró el consumo de agua y alimento semanalmente, así como la variación en el peso de las ratas. Al final del periodo experimental se realizó la matanza con CO_2 y se obtuvo sangre por punción cardiaca para el análisis de la química sanguínea. Asímismo, el colon fue removido, el cual fue sumergido en formaldehído al 10%, posterior a esto, 1 cm^2 del colon distal de cada rata fue teñido con azul de metileno y observado al microscopio 20x para la identificación de FCA.

Los resultados se reportan como la media ± DE. Se realizó un análisis de varianza ANOVA (α= 0.05), y *post-hoc* Tukey para los resultados de química sanguínea y FCA, y una prueba Dunnet para los datos del consumo de alimento, agua, así como en la ganancia de peso.

Resultados

Efecto del garambullo y su residuo administrados oralmente a través de una galleta, sobre el consumo de alimento, agua, así como en la ganancia de peso.

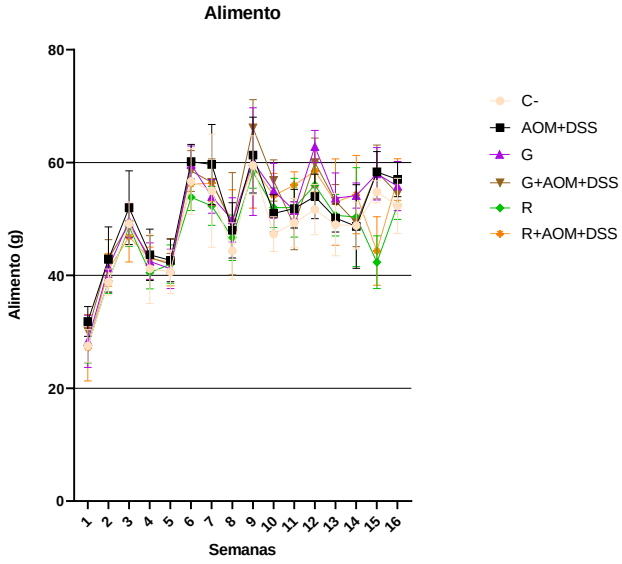


Figura 1. Consumo de alimento en grupos alimentados con garambullo, residuo de garambullo y administrados con azoximetano.
C-: Control negativo, AOM: azoximetano, DSS: dextrán sulfato de sodio, G: garambullo, R: residuo
Los resultados se muestran como el promedio (n=12) ± DE
*Diferencia significativa, prueba Dunnet (α= 0.05)

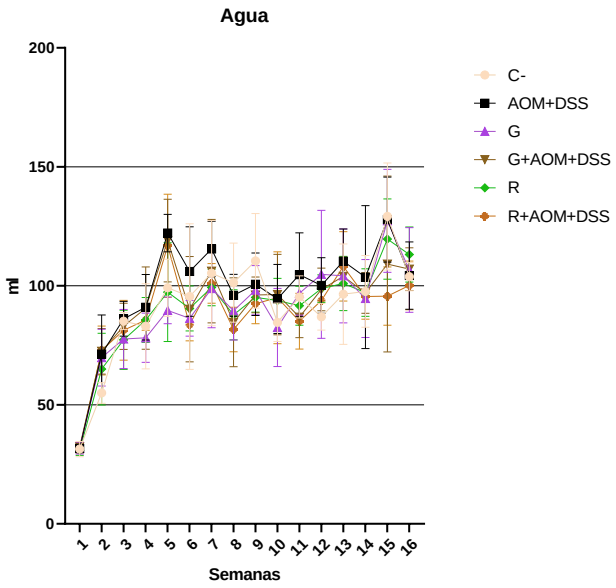


Figura 2. Consumo de agua en grupos alimentados con garambullo, residuo de garambullo y administrados con azoximetano.
C-: Control negativo, AOM: azoximetano, DSS: dextrán sulfato de sodio, G: garambullo, R: residuo
Los resultados se muestran como el promedio (n=12) ± DE
*Diferencia significativa, prueba Dunnet (α= 0.05)

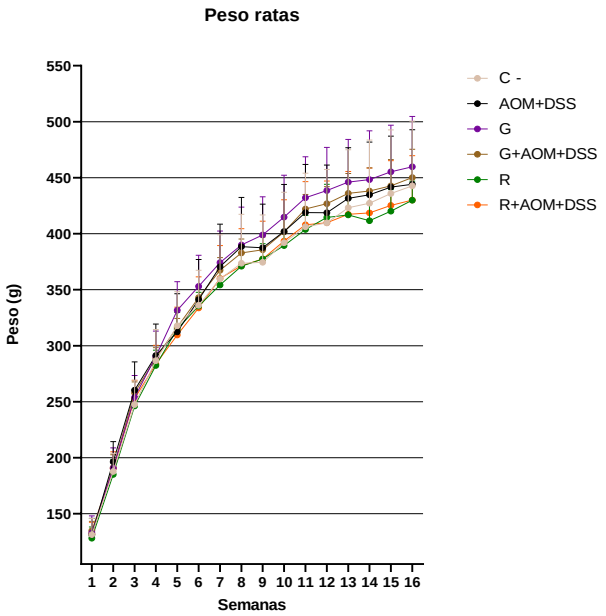


Figura 3. Ganancia de peso en grupos experimentales
C-: Control negativo, AOM: azoximetano, DSS: dextrán sulfato, G: garambullo, R: residuo
Los resultados se muestran como el promedio (n=12) ± DE
*Diferencia significativa, prueba Dunnet (α= 0.05)

Efecto del garambullo y su residuo en la química sanguínea

Cuadro 1. Efecto del garambullo y su residuo en la química sanguínea de ratas Sprague Dawley inducidas con AOM+DSS

	C-	AOM+ DSS	G	G + AOM+DSS	R	R+ AOM+DSS
ACURIC (mg/dl)	5.9 ± 1.3	8.8 ± 0.84	5.7 ± 0.9	7.2 ± 0.9*	6.4 ± 1	7.5 ± 0.9*
ALB (g/dl)	3.6 ± 0.2	3.5 ± 0.2	3.5 ± 0.2	3.4 ± 0.2	3.6 ± 0.2	3.4 ± 0.2
COL (mg/dl)	72.6 ± 7.9	98.5 ± 9.7	81.6 ± 8.2	94.7 ± 7.9	76.5 ± 8	92 ± 5.5
HDLc (mg/dl)	46.6 ± 4	36.5 ± 3.4	57.7 ± 7.1	52.5 ± 5.2	44.1 ± 4.6	52.4 ± 5.5
CREAT (mg/dl)	0.7 ± .07	0.6 ± 0.09	0.6 ± 0.05	0.6 ± 0.07	0.6 ± 0.0	0.6 ± 0.09
GLU (mg/dl)	353.6 ± 4.5	330.9 ± 30	340.2 ± 17	350 ± 15	349 ± 3.6	342 ± 26
TGO (mg/dl)	214 ± 20.4	186.3 ± 8.7	164.9 ± 21+	169.5 ± 17	186 ± 13	181 ± 18
TGP (mg/dl)	213 ± 19.4	188.3 ± 17	167.1 ± 14+	144.9 ± 15*	168 ± 22	178.3 ± 20
PT (g/dl)	7.0 ± 0.24	6.8 ± 0.4	6.9 ± 0.3	6.8 ± 0.4	7.0 ± 0.2	6.6 ± 0.5
TRIG (mg/dl)	120.8 ± 12	116 ± 16	162.7 ± 28+	162 ± 25*	153 ± 14+	184.5 ± 19*
UREA (mg/dl)	42.9 ± 4.1	44.3 ± 4.5	45.8 ± 3.1	41.3 ± 2.3	43.1 ± 3.5	43.3 ± 5.1
BUN	19.5 ± 1.7	20.4 ± 1.7	21.6 ± 1.4	19.6 ± 1.8	20.1 ± 1.4	19.7 ± 1.6
GLOB (mg/dl)	3.4 ± 0.51	3.3 ± 0.5	3.4 ± 0.5	3.3 ± 0.4	3.3 ± 0.5	3.3 ± 0.5
AG	1.0 ± 0	1.2 ± 0.6	1.0 ± 0	1.0 ± 0	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0
LDL (mg/dl)	15.6 ± 2.8	13.5 ± 1.4	13.8 ± 2	13.8 ± 2.4	13 ± 3.3	16.6 ± 3.4
VLDL (mg/dl)	23.1 ± 5.2	27.9 ± 3.9	33.3 ± 3.7	29.3 ± 4.4	28.3 ± 3.2	32.6 ± 4.2
FACL (U/L)	294.2 ± 19	312 ± 34	239.4 ± 24+	226.1 ± 22*	219 ± 31+	222 ± 25*
BILIST (mg/dl)	0.3 ± 0.08	0.2 ± 0.03	0.3 ± 0.2	0.2 ± 0.06	0.2 ± 0.06	0.2 ± 0.03
BILISD (mg/dl)	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.05	0.03 ± 0.01	0.02 ± 0.0	0.0 ± 0.02	0.0 ± 0.01

Resultados muestran el promedio de 12 repeticiones n=12. * muestra una diferencia significativa en comparación con grupo AOM+DSS (ANOVA, prueba de Tukey pos hoc, p <0.05) + muestra una diferencia significativa en comparación con grupo C- (ANOVA, prueba de Tukey pos hoc, p <0.05)

Identificación de FCA con tinción azul de metileno

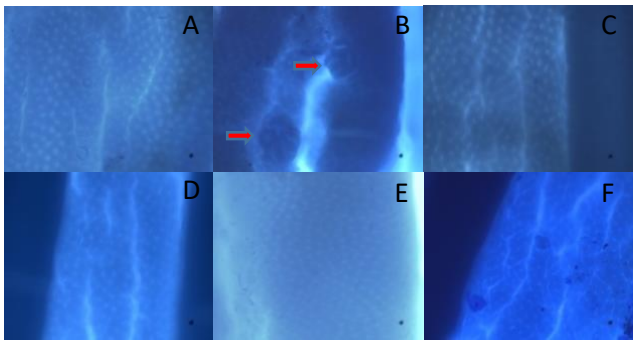


Figura 4. Fosas crípticas normales y aberrantes (flechas rojas) del colon distal con tinción azul de metileno. A: control, B: AOM+DSS, C: G, D: G+AOM+DSS, E: R, F: R+AOM+DSS.

Cuadro 2. Efecto del garambullo y su residuo en la formación de FCA en 72 ratas macho Sprague Dawley inducidas con AOM

GRUPO	FCA	Multiplicidad			
		1	2	3	4+
C	2.1 ± 1.2[a]	1.83 ± 0.8[a]	0.58 ± 0.52[a]	0 ± 0[a]	0 ± 0[a]
AOM+DSS	9.7 ± 1.5[b]	1.27 ± 1[a]	1.54 ± 1[a]	1.92 ± 1.2[b]	2.81 ± 1[b]
G	1.08 ± 0.7[a]	0.83 ± 0.6[a]	0.25 ± 0.46[a]	0 ± 0[a]	0 ± 0[a]
G+AOM+DSS	5.9 ± 1.2[c]	1.63 ± 0.67[a]	2.72 ± 0.69[b]	0.92 ± 0.94[b]	0.37 ± 0.42[c]
R	2.08 ± 0.8[a]	1.66 ± 0.50[a]	0.33 ± 0.46[a]	0.08 ± 0.30[c]	0 ± 0[a]
R+AOM+DSS	5.2 ± 1.6[c]	2.25 ± 1.45[a]	2.25 ± 0.40[ab]	1.25 ± 0.46[d]	0.08 ± 0.30[c]

Los resultados se expresan como el promedio de n=12 ratas ± DE
Letras diferentes por columna expresan diferencia significativa p=0.05, prueba Tukey

Discusión y conclusiones

Semanalmente se registró el consumo de agua y alimento presentados en las Figuras 1 y 2. La ingesta tanto de agua como el consumo de alimento fueron similares en los 6 grupos, sin presentar diferencia estadísticamente significativa al comparar los datos entre grupos semanalmente, sin embargo, podemos observar que de la semana 4 a la 5 y de la 6 a la 7 hay una tendencia a incrementar el consumo de agua y a disminuir el consumo de alimento en los grupos AOM, G+AOM y R+AOM, esto debido muy probablemente al estrés producido por la inyección de AOM y el consumo de la sal DSS al 2% por 7 días, regularizándose en las semanas posteriores. Todos estos datos sugieren que los tratamientos en general, fueron bien tolerados por las ratas.

El incremento de peso a lo largo del experimento se muestra en la Figura 3. El aumento de peso fue conforme a lo esperado y reportado para roedores de la misma cepa y sexo (Cossio et al., 2013). Sin embargo, se puede observar que existe una tendencia a menor ganancia de peso en el grupo del residuo y residuo+AOM, esto muy probablemente por la menor ingesta de alimento, propiciada por la ingesta de fibra a través de la galleta de residuo de garambullo. En las últimas dos semanas se puede apreciar una meseta en cuanto a la ganancia de peso. También se observó que posterior a la primera y segunda dosis de AOM en la semana 3 y 4 las ratas disminuyeron su ingesta de alimento, sin embargo, se normalizó a la semana siguiente.

Las ratas mostraron un comportamiento esperado, teniendo mayor interés por consumir la galleta de garambullo que su alimento de costumbre. No se han observado signos que sugieran necrosis, diarrea, vómito, o pérdida significativa de peso.

Los resultados del análisis bioquímico en sangre, se pueden observar en el Cuadro 1. En la mayoría de los análisis de la química sanguínea no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Sin embargo, si se observa que el ácido úrico que fue mayor en el grupo AOM+DSS al comparar con el grupo G+AOM+DSS y el R+AOM+DSS. Así mismo, las enzimas TGO y TGP en el grupo G fueron menores al comparar con el grupo C-. La fosfatasa alcalina fue mayor en el grupo control al comparar con G y R. Lo anterior pudiera sugerir que el garambullo tiene efecto antiinflamatorio. En cuanto a los triglicéridos, los grupos G y R resultaron con mayor concentración de los mismos al comparar con el grupo C- (diferencia estadísticamente significativa). Asimismo, los grupos G+AOM+DSS y R+AOM+DSS al comparar con el grupo AOM+DSS. El resto de parámetros no presentan diferencias. Estos resultados sugieren que no hay daño hepático, por lo que se puede decir que el garambullo y su residuo no modifican la química sanguínea de manera negativa y, por lo tanto, fue inocua su ingesta por parte de las ratas.

En cuanto al análisis histológico, en la Figura 4 se puede observar fotografías de cada grupo, donde las FCA son evidentes en el grupo AOM+DSS, las cuales presentan las características descritas en la literatura como lo es el aumento del tamaño pericriptal, criptas ovaladas, epitelio engrosado, teñido más obscuro que las criptas normales, presentan más de un foco por cripta y sobresalen del plano focal (Wargovich et al., 2010; Almet et al., 2019).

Las FCA detectadas en los grupos con tratamiento de garambullo (G) y su residuo (R) no difieren estadísticamente a las encontradas en el control negativo (C-), estos resultados sugieren que el garambullo no propicia la formación de FCA ni aumento en la multiplicidad de las mismas (Cuadro 2). Los grupos con tratamiento de G+AOM+DSS y R+AOM+DSS muestran una diferencia estadísticamente significativa al grupo AOM+DSS, lo cual sugiere que el garambullo y si residuo son capaces de inhibir la formación de FCA (Cuadro 2). En cuanto a la multiplicidad, se sabe que es el número de criptas por foco y que entre mayor multiplicidad (≥ de 4 criptas por foco) hay mayor asociación a formación de adenomas y adenocarcinomas (Cardeni et al., 2003). Los tratamientos G+AOM+DSS y R+AOM+DSS disminuyeron la multiplicidad (≥ de 4 criptas por foco) en manera estadísticamente significativa, en cuanto a la multiplicidad de 3 focos por cripta, a pesar de que no hay una diferencia significativa se puede observar una tendencia a la baja por parte de los grupos con tratamiento; G+AOM+DSS y R+AOM+DSS (Cuadro 2).

Estos resultados son similares a los reportados por Boateng et al., (2007) quienes evaluaron el efecto de jugo de blueberry y granada en la formación de FCA en ratas macho Fisher inducidas con AOM (duración de estudio 16 semanas), donde ambos jugos disminuyeron las FCA en comparación con el control (11.33 ± 2.85 y 15.67 ± 1.86 vs 171.67 ± 5.6, respectivamente) (total de FCA por colon). Así mismo, Klewicka et al., (2010) reportan una reducción significativa del número de FCA y la multiplicidad (≥4 criptas por foco), en ratas inducidas con N-Nitroso-N-metilurea (carcinógeno utilizado) al ser tratadas con jugo de betabel durante 8 semanas (FCA 55 ± 18 a 21 ± 6 y multiplicidad 45 ± 21 a 7 ± 4) (total de FCA por colon). También Banerjee et al., (2016) prueban la eficacia de una bebida de ciruela en la formación de FCA en ratas Sprague Dawley tratadas con AOM reportando una disminución de FCA en un 48% vs el control (duración del experimento 9 semanas el conteo de FCA fue por 1 cm^2). Fragoso et al., (2018) reporta una reducción de FCA totales en ratas Wistar inducidas con DMH al ser tratadas con Açai liofilizado, así como una disminución en la multiplicidad en las fosas con ≥4 criptas, pero no así en las fosas con 1-3 criptas (similar a los resultados del presente estudio) disminuyendo 222.4 ± 48.5 (grupo control) a 138 ± 49.7(duración del estudio 25 semanas, conteo total de FCA por colon). Así mismo, Arango et al., (2022) reporta la

disminución de FCA en un 30% en ratones inducidos con AOM vs el control al ser tratados con berry Andean (duración del estudio 8 semanas, conteo de FCA por 4 cm^2 de colon distal), fruto subutilizado endémico de Colombia, que contiene ácido dihidroxibenzóico y ácido gálico como compuestos mayoritarios, compuestos también identificados en el garambullo (Montiel et al., 2020).

Por todo lo anterior, se puede concluir que el garambullo y su residuo no promueven la formación de lesiones preneoplásicas como lo son las FCA en ratas, en una dosis de 5 g/kg, ni provoca alteraciones bioquímicas en sangre que pudieran indicar daño. El garambullo y su residuo disminuyen la formación de lesiones preneoplásicas como lo son las FCA de manera estadísticamente significativa, por lo que pudiera utilizarse como un alimento nutracéutico capaz de causar un efecto quimiopreventivo en el desarrollo de cáncer de colon.

Referencias bibliográficas

Almet, A., Maini, P., Moulton, D. & Byrne, H. 2019. Modelling perspectives on the intestinal crypt, a canonical system for growth, mechanics, and remodeling. Current Opinion in Biomedical Engineering. 15: 32-39.

Arango, S., Luzardo, I. & Maldonado, M. 2022. Andean berry (*Vaccinium meridionale* Swartz) juice, in combination with Aspirin, displayed antiproliferative and pro-apoptotic mechanisms *in vitro* while exhibiting protective effects against AOM-induced colorectal cancer *in vivo.* Food Research International. 157: 111244.

Banerjee, N., Kim, H., Talcott, S., Turner, N., Byrne, D. & Mertens, S. 2016. Plum polyphenols inhibit colorectal aberrant crypt foci formation in rats: Potential role of the miR-143/AKT/mTOR axis. Nutrition Research. 36(10):1105-1113.

Boateng, J., Verghese, M., Shackelford, L., Walker, L., Khatiwada, J., Ogutu, S., Williams, D., Jones, J., Guyton, M., Asiamah, D., Henderson, F., Grant, L., DeBruce, M., Johnson, A., Washington, S. & Chawan, C. 2007. Selected fruits reduce azoxymethane (AOM) induced aberrant crypt foci (ACF) in Fisher 344 rats. Food and Chemical Toxicology. 45: 725-732.

Cardeni, G., Pietro, A., Giannini, A., Favuzza, A., Luceri, C., Salvadori, G & Dolara, P. 2003. Identification of mucin-depleted foci in the unsectioned colon of azoxymethane-treated rats: correlation with carcinogenesis. Cancer Research. 63: 2388-2392.

Chen Y., Wu Y., Du M., Chu H., Zhu L., Tong N., Zhang Z., Wang M., Gu D., Chen J. An inverse association between tea consumption and colorectal cancer risk. Oncotarget. 2017; 8: 37367-37376.

Cossio, M., Gómez, R., Vargas, R., Tadeu, R. y Arruda, M. 2013. Curvas de referencia para valorar el crecimiento físico de ratas machos Wistar. Nutrición hospitalaria 28:6

Día mundial contra el cáncer de colon. INSABI. 2022. ttps://www.gob.mx/insabi/articulos/dia-mundial-contra-el-cancer-de-colon-31-de-marzo?idiom=es

Fragoso, M., Romualdo, G., Vanderveer, L., Barraza, J., Cukierman, E., Clapper, M., Carcalho, R. & Barbisan, L. 2018. Lyophilized açai pulp (*Euterpe oleracea Mart)* attenuates colitis-associated colon carcinogenesis while its main anthocyanin has the potential to affect the motility of colon cancer cells. Food and Chemical Toxicology. 121: 237-245.

Hernández, D., Vaillant, F., Reynoso, R., Horacio, S. 2008. *Myrtillocactus (cactaceae*): botanical, agronomic, physicochemical and chemical characteristics of fruits. Fruits. 63:269-276.

Gupta, A., Pretlow, P. & Schoen, E. 2007. Aberrant crypt foci: what we know and what we need to know. Clinical gastroenterology and hepatology. 5:526-533.

Guzmán, H., Herrera, G., Hernández, D., Reynoso, R., Guzmán, A., Vaillant, F. & Brat, P. 2010. Food Chemistry. 121:381-386.

Herrera, G., Guevara, L., Reynoso, R. & Guzmán, H. 2011. Effects of maturity stage and storage on cactus berry (Myrtillocactus geometrizans) phenolics vitamin C, betalains and their antioxidant properties. Food Chemistry. 129: 1744-1750.

Klewicka, E., Nowak, A., Zduncyk, Z., Cukrowska, B. & Blasiak, J. 2012. Protective effect of lactofermented beetroot juice against aberrant crypt foci formation and genotoxicity of fecal water in rats. Experimental and Toxicologic Pathology. 64:599-604.

León, V. & Sáenz, R. 2007. Focos de criptas aberrantes el comienzo de la historia.

Montiel, S,. García, T., Gómez, M., García, H. & Cano, P. 2020. In vitro gastrointestinal stability, bioaccessibility and potential biological activities of betalains and phenolic compounds in cactus berry fruits (Myrtillocactus geometrizans. Food Chemestry. 16 (342):128087

Reynoso, R., Giner, T. & González, E. 1999. Safety of a filtrate of fermented garambullo fruit: biotransformation and toxicity studies. Food and chemical toxicology. 37: 825-830.

Rezaul, I., Shopnil, A., Mominur, R., Feana, T., Tamanna, A., Sheikh, S., Abdur, R., Abdullah, S., & Simal, G. Colon cancer and colorectal cancer: Prevention and treatment by potential natural products.2022. Chemico-Biological Interactions. 368: 110170

Saura, F. & Pérez, J. 2018. Non-extractable polyphenols and carotenoids: importance in human nutrition and health. The royal society of Chemestry. Food chemistry, function and analysis.

Vieira, AR., Abar, L., Chan DSM., Vingeliene, S., Polemiti, E., Stevens, C., Greenwood, D., Norat, T. 2017. Foods and beverages and colorectal cancer risk: a systematic review and meta-analysis of cohort studies, an update of the evidence of the WCRF-AICR Continuous Update Project. Annals of oncology. 28: 1788-1802

Wargovich, M., Vondina, R., & Morris, J. 2010. Aberrant crypt foci: the case for inclusion as a biomarker for colon cancer. Cancers. 2:1705-1716.

Potencial hipolipemiante de un extracto de maíz nativo en ratones C57BL/6

L.N. Sarah Nicole Lee Martínez[1]
Dr. Iván Andrés Luzardo Ocampo[2]
Dra. Mardey Liceth Cuéllar Núñez[1, *]

[1] Centro de Investigación Biomédica Avanzada, Escuela de Medicina, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro 76140, México

[2] Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Querétaro 76230, México

*** Autor de correspondencia.**

Resumen

La obesidad es una enfermedad compleja con numerosas implicaciones moleculares y metabólicas en el individuo. Como la alimentación juega un papel crucial para el desarrollo y/o prevención de esta enfermedad, es muy relevante investigar el potencial anti-obesogénico de diversos compuestos contenidos en alimentos. El objetivo de este proyecto fue evaluar el potencial hipolipemiante de un extracto metanólico de maíz nativo (Elotes Occidentales, MCEO) en un modelo *in vivo* de obesidad. Se realizó la extracción metanólica de compuestos fenólicos a partir de MCEO mediante extracción asistida por ultrasonido y posterior liofilización El extracto fue administrado en gelatinas por 13 semanas a ratones macho C57BL/6J, distribuidos aleatoriamente en 4 grupos (n=8 ratones/grupo): Grupo 1 (Control sano), Grupo 2 (Control inducido con dieta alta en grasa, DAG); Grupo 3 (DAG+200 mg/kg/día MCEO) y Grupo 4 (DAG+400 mg/kg/día MCEO). Los niveles séricos de triglicéridos y colesterol total presentaron una diferencia estadísticamente significativa ($p<0.05$) entre el grupo al que se le administró 400 mg / kg peso del extracto de MCEO en comparación con el grupo al cual se le administró una dieta alta en grasa. Se demostró que la administración del extracto de MCEO tiene un potencial hipolipemiante debido a su efecto sobre los niveles séricos de colesterol total y triglicéridos.

Palabras clave: Obesidad, compuestos fenólicos, maíz criollo Elotes Occidentales.

Summary

Obesity is a complex disease with numerous molecular and metabolic implications in the individual. As diet plays a crucial role in the development and/or prevention of this disease, it is very relevant to investigate the anti-obesogenic potential of several compounds contained in foods. The objective of this project was to evaluate the hypolipidemic potential of a methanolic extract of native corn (Elotes Occidentales, MCEO) in an *in vivo* model of obesity. Methanolic extraction of phenolic compounds from MCEO was performed by ultrasound-assisted extraction and subsequent lyophilization. The extract was administered in gelatin for 13 weeks to male C57BL/6J mice, randomly distributed in 4 groups (n=8 mice/group): Group 1 (healthy control), Group 2 (high fat diet induced control, DAG); Group 3 (DAG+200 mg/kg/day MCEO) and Group 4 (DAG+400 mg/kg/day MCEO). Serum triglyceride and total cholesterol levels presented a statistically significant difference ($p<0.05$) between the group administered 400 mg/kg body weight of MCEO extract compared to the group administered a high-fat diet. The administration of MCEO extract was shown to have a hypolipidemic potential due to its effect on serum total cholesterol and triglyceride levels.

Key words: Obesity, phenolic compounds, Elotes Occidentales creole Maize.

Introducción

La obesidad es una enfermedad compleja con numerosas implicaciones moleculares y metabólicas en el individuo (Mayoral *et. al*, 2020). Si bien la teoría de un desequilibrio entre la ingesta y el gasto energético forma parte de la etiopatogenia de esta enfermedad, la etiología de la enfermedad comprende factores genéticos y patológicos (USDA, 2015).

La obesidad es una condición multifactorial que resulta en detrimento de la calidad de vida del individuo. Predispone a las personas a padecer Diabetes tipo 2 debido a la desregulación de glucosa, dislipidemia y cáncer por su efecto meta inflamatorio, hipertensión arterial y enfermedades hepáticas como la enfermedad de hígado graso no alcohólico (Andolfi & Fisichella, 2018). Estudios recientes han demostrado que la obesidad predispone a una mayor severidad de COVID-19 (Zhou *et. al*, 2021).

Si bien los factores ambientales como el estilo de vida, la homeostasis energética y otras enfermedades son parte de la fisiopatología de la obesidad, en los últimos años se ha incrementado el estudio de los eventos moleculares que suscitan su aparición.

A la fecha, los hábitos de alimentación inadecuados y el sedentarismo constituyen dos de los grandes factores de riesgo de la obesidad. En la actualidad existe una gran exposición de la población a alimentos de elevado contenido calórico y bajo contenido nutrimental, provocando modificaciones alimenticias de gran escala (Popkin & Reardon, 2018).

En este sentido, en México existe un elevado consumo de alimentos ricos en grasas saturadas y azúcares simples (comida rápida, "antojitos mexicanos", bebidas lácteas endulzadas, botanas, dulces y postres) entre la población de 20 años y más (Shamah Levy *et. al*, 2020) que contribuyen a numerosas enfermedades metabólicas. Por ello, la modificación de los patrones dietarios podría ser un abordaje terapéutico al incluir alimentos ricos en compuestos biológicamente activos que reduzcan el riesgo a padecer condiciones crónicas no transmisibles.

A la fecha, se han evaluado los compuestos bioactivos de diversos alimentos funcionales y su relación con la obesidad. De estos alimentos, el maíz es una especie de gran relevancia en Latinoamérica ya que forma parte de la alimentación y la cultura. En México es considerado la base de la alimentación y provee soberanía y seguridad alimentaria desde la época prehispánica. Su forma de consumo tiene una gran versatilidad y posee un valor sociocultural que se refleja principalmente en medios rurales (Cowan, 2019).

El maíz tiene altos contenido de flavonoides (quercetina, rutina y catequina), glicósidos de flavonoides (cianidina-3-glucósido y peonidina-3-glucósido) y ácidos fenólicos (ácidos ferúlico, caféico, clorogénico, gálico) (Luna-Vital *et. al*, 2020). Estos compuestos participan en mecanismos antiobesogénicos que han sido demostrado *in vitro* e *in vivo.* Por ejemplo, en ratones macho C57BL/6J (6-8 semanas de edad), se observó que principalmente el ácido ferúlico y antocianinas como la cianidina y peonidina de un extracto acuoso de maíz púrpura (500 mg de pericarpio de maíz púrpura/kg) administrado durante 12 semanas, redujeron la adipogénesis y la inflamación inducida por adiposidad, promoviendo el gasto energético (Luna-Vital *et. al*, 2020). Polifenoles y antocianinas de un extracto de maíz azul de raza Mixteco administrado a ratas Wistar macho con inducción de obesidad se vinculó con incremento de colesterol HDL y reducción de presión sistólica, triglicéridos séricos, colesterol total y peso del tejido adiposo epididimal (Guzmán-Gerónimo *et. al*, 2017). Un extracto hidroalcohólico atomizado de una variedad de maíz morado administrado a ratas hipercolesterolémicas (250 y 500 mg/kg peso corporal/día) redujo colesterol total, en comparación con el grupo con administración de dieta alta en grasa (Arroyo *et. al*, 2007).

Teniendo en cuenta los beneficios observados gracias a los compuestos bioactivos presentes en maíz, y a que no existen estudios de estos efectos provenientes de variedades criollas locales de maíz, este proyecto pretendió evaluar el potencial hipolipemiante de un extracto metanólico de MCEO sobre marcadores de obesidad en ratones C57BL/6 alimentados con una dieta alta en grasa.

Metodología

Preparación del extracto MCEO

Se utilizó la variedad de maíz criollo Elotes Occidentales (MCEO), cosecha 2020, cultivados agroecológicamente en la región del Bajío, los cuales fueron proporcionados por agricultores del municipio de Tarimoro, Guanajuato (México). Para la obtención del extracto se utilizó 500 mg de la muestra (harina de maíz tamizada de 60 micras) en metanol al 80 %.

Se llevó a cabo un proceso de ultrasonicación y rotaevaporación para eliminar el solvente. Finalmente, la muestra se liofilizó para obtener un polvo fino con el cual se realizaron las gelatinas (Urquizo Cruz & Sánchez Salcán, 2019). El matraz se protegió de la luz y se mantuvo en agitación interna a temperatura ambiente durante un proceso de extracción asistida por ultrasonido por 15 minutos al 70 % de potencia; este método se llevó a cabo en el Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada de la UNAM, Campus Juriquilla. Posteriormente, se centrifugó a 10000 rpm por 10 min y se recuperó el sobrenadante para la determinación de los compuestos bioactivos (Corona *et. al.*, 2016).

Modelo animal de obesidad

Se utilizó un total de 32 ratones macho de la cepa C57BL/6J, los cuales fueron adquiridos en el bioterio del Instituto de Neurobiología de la UNAM, Campus Juriquilla. Los ratones se alojaron en jaulas de acero inoxidable con las siguientes dimensiones: 32 x 23 x 22 cm (largo*ancho*altura), se mantuvieron bajo condiciones controladas de humedad (50 ± 10 %), con ciclos día/noche de 12/12 h, así como temperatura adecuada (23 ± 2 ºC) y ventilación constante.

Los animales se dividieron aleatoriamente en 4 grupos (n=8/grupo): Grupo 1 (Control sano, alimentados con dieta estándar); Grupo 2 (control inducido con dieta alta en grasa, DAG); Grupo 3 (200 mg/kg peso corporal/día MCEO + DAG); Grupo 4 (400 mg/kg peso corporal/día MCEO + DAG) (Fig. 1). Los animales fueron alimentados con dietas estándar y alta en grasa Rodent Lab Chow 5001 (Nupec®), y TD.06414 (ENVIGO®), respectivamente. La duración del estudio *in vivo* fue de 13 semanas. Para la administración de los extractos de maíz se realizaron cubos de gelatina sin sabor siguiendo el protocolo de Zhang (2021). Este protocolo fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Medicina de la UAQ y cuenta con registro ante la Dirección de Investigación y Posgrado de la UAQ desde el 11 de mayo del presente año con número de registro de proyecto **13207**.

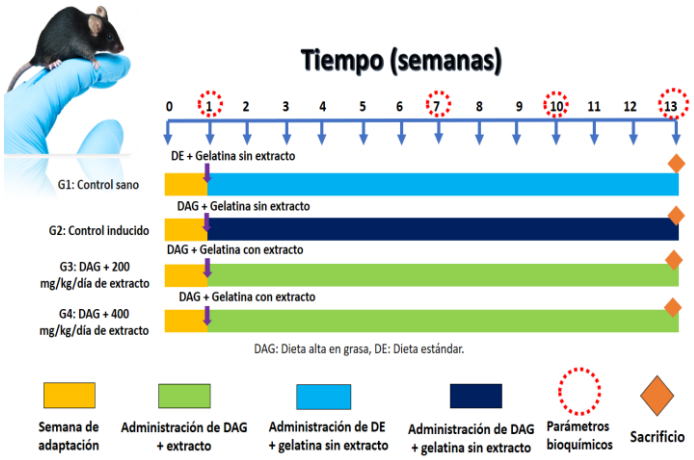


Fig. 1. Diseño experimental. Los ratones fueron divididos de manera aleatoria en cuatro grupos (n=8 en cada grupo) y se alimentaron durante 12 semanas con dieta estándar (G1), dieta alta en grasa + gelatina sin extracto (G2), dieta alta en grasa + 200 mg / kg peso corporal de extracto de MCEO y dieta alta en grasa + 400 mg / kg peso corporal de extracto de MCEO (G4).

Medición de parámetros bioquímicos séricos

Se realizaron mediciones semanales de consumo de alimento, peso corporal y parámetros bioquímicos sanguíneos. Se tomaron muestras de sangre de la cola de los ratones al inicio (semana 1), semana 7, semana 10 y al finalizar el experimento (semana 13) para evaluar la concentración de glucosa, colesterol total y triglicéridos mediante un dispositivo portátil de tiras reactivas SD LipidoCare Analyzer (SD Biosensor, Suwon, South Korea).

Al finalizar el experimento, los animales fueron sacrificados por decapitación (método descrito por la norma NOM-062-ZOO-1999, punto 9.4.1.3.3).

Análisis Estadístico

Los datos fueron presentados como la media ± error estándar de 8 animales. Las diferencias entre medias fueron evaluadas por un análisis de varianza (ANDEVA) seguido de un análisis post-hoc de Tukey-Kramer, estableciendo el nivel de significancia en $p<0.05$. Los datos fueron analizados con el programa JMP v. 16.0.

Resultados

Impacto de MCEO en la ganancia de peso

La Figura 2 muestra la evolución de peso corporal de los animales. Durante el tratamiento. Se observa que todos los ratones comenzaron con un peso corporal similar y la diferencia en la ganancia de peso fue estadísticamente significativa a partir de la semana 8 ($p<0.05$). Tras 12 semanas de tratamiento, el grupo administrado con 400 mg / kg de peso mostró una menor ganancia de peso (peso final promedio: 30.07 gramos) en comparación con el G2 (peso final: 31.57); sin embargo, esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p>0.05$).

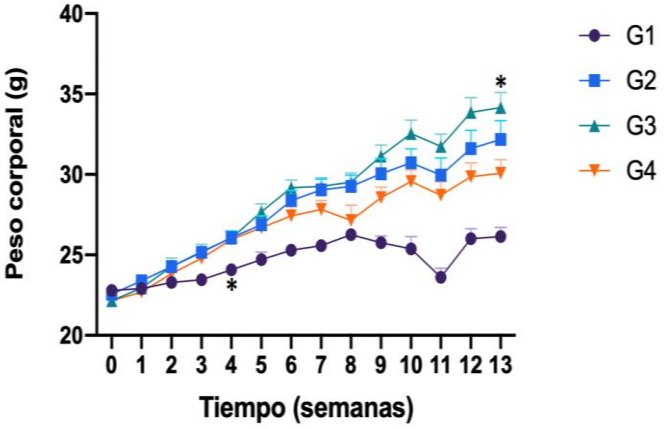


Fig. 3. Peso corporal en gramos durante el experimento.

Imágenes representativas de los animales se muestran en la Figura 2, en la que se observa que los animales del grupo de 400 mg MCEO/kg peso/día son similares a G1 (DE).

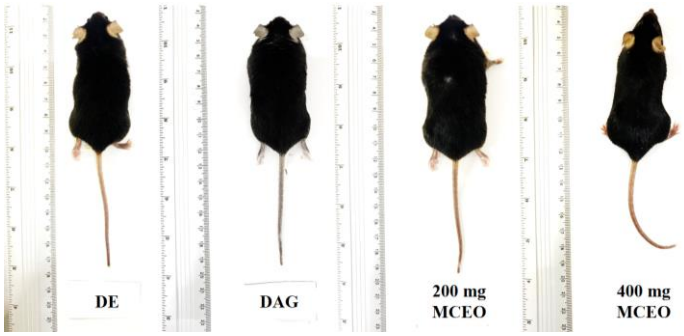


Fig. 2. Imagen representativa de los ratones (n=8) en los grupos experimentales.

Efecto de MCEO en parámetros bioquímicos plasmáticos

No hubo diferencias significativas ($p>0.05$) en los niveles basales del colesterol total en ayuno entre los diferentes grupos evaluados durante la primera medición (semana 1). Los grupos a los que se les administró una dieta alta en grasa (G2-G4) mostraron diferencias significativas en la segunda medición (semana 7) en comparación con el grupo sano; sin embargo, a la tercera medición (semana 10), no se observaron diferencias entre los grupos (Fig. 3). Al finalizar el tratamiento, G1 y G4 ($p<0.05$) presentaron los menores valores de colesterol total comparados con G2 y G3.

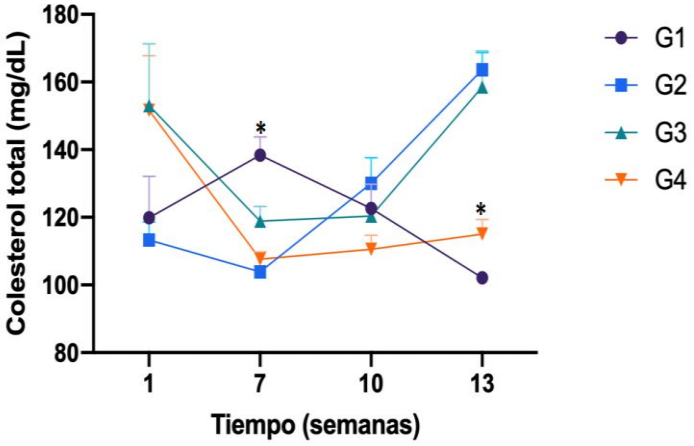


Fig. 3. Niveles de colesterol total en ayuno, determinados al inicio (semana 1), semana 7, semana 10 y al finalizar el experimento (semana 13). Los asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas (n=8/grupo, $p<0.05$).

No hubo diferencias en los niveles basales de triglicéridos ($p>0.05$) en los niveles basales de triglicéridos (Fig. 4) en ayuno entre los diferentes grupos evaluados durante la primera medición (semana 1). Al finalizar el tratamiento, G4 mostró los niveles más bajos de triglicéridos, el grupo que recibió 400 mg / kg peso corporal de extracto de MCEO, mostró niveles estadísticamente significativos más bajos de este parámetro (98.625 mg / dL) en comparación con los demás grupos (G1: 167.125 mg / dL, G2: 162.75 mg / dL, G3: 153.75 mg / dL).

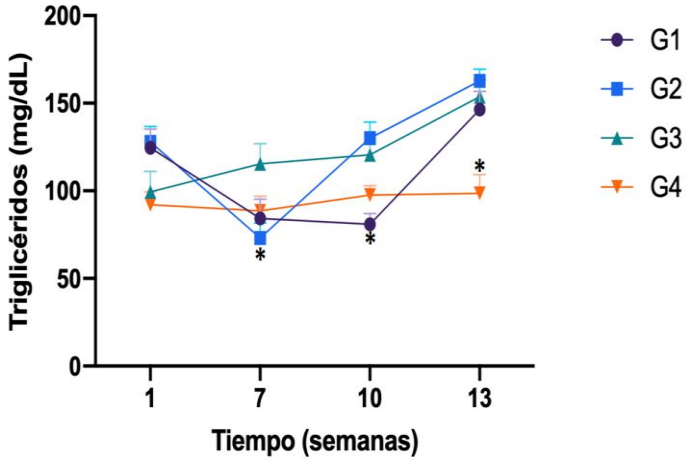


Fig. 4. Niveles de triglicéridos en ayuno, determinados al inicio (semana 1), semana 7, semana 10 y al finalizar el experimento (semana 13). Los asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas (n=8/grupo, $p<0.05$).

No existieron diferencias en los niveles basales de glucosa (Fig. 5) en ayuno entre los diferentes grupos evaluados durante la primera medición (semana 1).

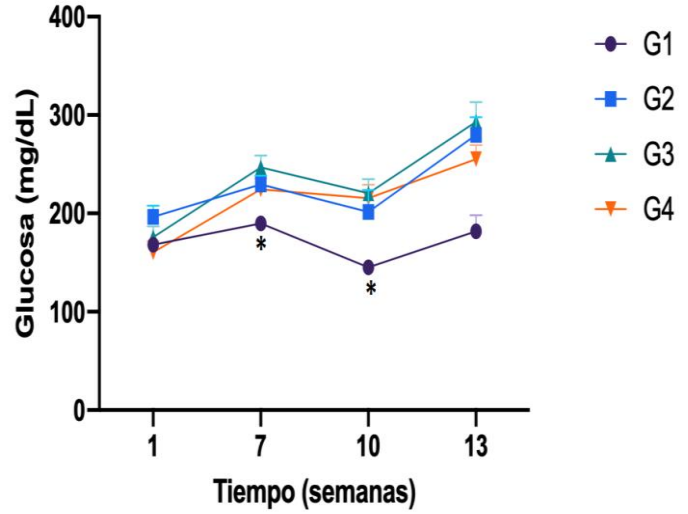


Fig. 5. Niveles de glucosa en ayuno, determinados al inicio (semana 1), semana 7, semana 10 y al finalizar el experimento (semana 13). Los asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas (n=8/grupo, $p<0.05$).

En la última medición se observó que los niveles de glucosa no tuvieron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales; sin embargo, se observó una tendencia al alza de este parámetro bioquímico.

Discusión y conclusiones

En este estudio se investigó el efecto de la administración de dos dosis de extracto de MCEO en ratones C57BL/6 alimentados con una dieta en grasa. Si bien existen diversos estudios que han evaluado el efecto del tratamiento de extractos de maíz en diversos marcadores de obesidad, a la fecha se desconoce el efecto de los maíces criollos producidos en México, tales como los Elotes Occidentales, en estos marcadores (Arroyo *et. al*, 2007; Guzmán-Gerónimo *et. al*, 2017; Luna-Vital *et. al*, 2020).

En la actualidad existe una elevada exposición de la población a alimentos altos en grasa, lo cual impacta negativamente en la salud del individuo. Tanto en seres humanos como en animales, la ingesta de dietas altas en grasa, predispone al incremento del peso corporal y al aumento de los niveles séricos de diversos parámetros bioquímicos.

En este estudio se observó que los ratones expuestos a una dieta alta en grasa, mostraron una mayor ganancia de peso en comparación con el grupo que recibió una dieta estándar, estos resultados concuerdan con lo establecido en la literatura (Li *et al.*,2020; Luna-Vital *et. al*, 2020).

En este estudio, el grupo que presentó una mayor ganancia de peso, fue al que se le administró el extracto de MCEO a una concentración de 200 mg / kg de peso corporal, por lo que podemos concluir que a dosis bajas del extracto de MCEO no existe un efecto preventivo sobre la ganancia de peso corporal del ratón. Si bien el grupo de mayor dosis (400 mg / kg peso corporal) no presentó una diferencia estadísticamente significativa en comparación con el grupo control inducido, se observa una menor ganancia de peso en este grupo. En términos de morfología, fue notable que el grupo de 400 mg / kg de peso corporal presentó similitud con el grupo que recibió una dieta estándar (G1). En un estudio realizado en ratones de la misma cepa, al cual se le administró un extracto de maíz morado, se observó un comportamiento similar en el peso por lo que se sugiere que los efectos de este extracto podrían ser efectivos y tener un mayor impacto en la ganancia de peso a largo plazo (Tomay *et al.*, 2019).

Es notable que, a pesar de haberse presentado diferencias estadísticamente significativas en los niveles de glucosa de los diversos grupos durante la semana 7 y 10, al finalizar el experimento, los cuatro grupos concluyeron con niveles de glucosa similares sin importar el tratamiento al que se encontraron expuestos. Si bien en este estudio no se observaron diferencias significativas en los niveles de glucosa finales de los grupos, el comportamiento al alza de los niveles de glucosa que se observó, es consistente con los resultados obtenidos en otros estudios (Luna-Vital *et. al*, 2020).

En nuestro estudio se observó que el extracto de MCEO administrado a una dosis de 400 mg / kg de peso corporal disminuyó los niveles de colesterol total y triglicéridos en concordancia con lo establecido sobre el potencial de los compuestos fenólicos para el manejo de la obesidad (Kosińska *et al.*, 2012; Zhang *et. al*, 2019; Luna-Vital *et. al*, 2020).

Los resultados obtenidos a través de la presente investigación muestran que la administración del extracto de MCEO tiene un potencial hipolipemiante debido a su efecto sobre parámetros bioquímicos. No obstante, se deben evaluar otros marcadores de obesidad para concluir sobre el efecto de este extracto.

Referencias bibliográficas

Andolfi, C., & Fisichella, P. M. (2018). Epidemiology of Obesity and Associated Comorbidities. Journal of Laparoendoscopic and Advanced Surgical Techniques, 28(8), 919–924. https://doi.org/10.1089/lap.2018.0380

Arroyo, J., Raez, E., Rodríguez, M., Chumpitaz, V., Burga, J., de La Cruz, W., & Valencia, J. (2007). Reducción del colesterol y aumento de la capacidad antioxidante por el consumo crónico de maíz morado (Zea mays L) en ratas hipercolesterolémicas. In Rev Peru Med Exp Salud Publica (Vol. 24, Issue 2).

Corona-Jiménez, E., Martínez-Navarrete, N., Ruiz-Espinosa, H., & Carranza-Concha, J. (2016). Extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de semillas de chia (Salvia hispanica L.) y su actividad antioxidante. Agrociencia, 50(4), 403-412.

Cowan, C. (2019, May 22). Tras los pasos del maíz criollo, 50 años después.

Guzmán-Gerónimo, R. I., Alarcón-Zavaleta, T. M., Oliart-Ros, R. M., Meza-Alvarado, J. E., Herrera-Meza, S., & Chávez-Servia, J. L. (2017). Blue Maize Extract Improves Blood Pressure, Lipid Profiles, and Adipose Tissue in High-Sucrose Diet-Induced Metabolic Syndrome in Rats. Journal of Medicinal Food, 20(2), 110–115. https://doi.org/10.1089/jmf.2016.0087

Kosińska, A., Karamac´, M., Estrella, I., Hernández, T., Bartolomé, B., & Dykes, G. A. (2012). Phenolic compound profiles and antioxidant capacity of Persea Americana Mill. peels and seeds of two varieties. Journal of agricultural and food Chemistry, 60(18), 4613-4619.

Li, J., Wu, H., Liu, Y., & Yang, L. (2020). High fat diet induced obesity model using four strains of mice: Kunming, C57BL/6, BALB/c and ICR. Experimental animals, 19-0148.

Luna-Vital, D., Luzardo-Ocampo, I., Cuéllar-Núñez, M. L., Loarca-Piña, G., & de Mejía, E. G. (2020). Maize extract rich in ferulic acid and anthocyanins prevents high-fat-induced obesity in mice by modulating SIRT1, AMPK and IL-6 associated metabolic and inflammatory pathways. The Journal of nutritional biochemistry, 79, 108343.

Mayoral, L. P. C., Andrade, G. M., Mayoral, E. P. C., Huerta, T. H., Canseco, S. P., Rodal Canales, F. J., Cabrera-Fuentes, H. A., Cruz, M. M., Pérez Santiago, A. D., Alpuche, J. J., Zenteno, E., Ruíz, H. M., Cruz, R. M., Jeronimo, J. H., & Perez-Campos, E. (2020). Obesity subtypes, related biomarkers & heterogeneity. In The Indian journal of medical research (Vol. 151, Issue 1, pp. 11–21). NLM (Medline). https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_1768_17

Popkin, B. M., & Reardon, T. (2018). Obesity and the food system transformation in Latin America HHS Public Access. Obes Rev, 19(8), 1028–1064. https://doi.org/10.1111/obr

Shamah Levy, T., Cuevas Nasu, L., Romero Martínez, M., Gaona Pineda, E. B., Gómez Acosta, L. M., Mendoza Alvarado, L. R., Méndez Gómez Humarán, I., & Rivera Dommarco, J. (2020). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018 - 2019.

Tomay, F., Marinelli, A., Leoni, V., Caccia, C., Matros, A., Mock, H. P., Tonelli, C., & Petroni, K. (2019). Purple corn extract induces long-lasting reprogramming and M2 phenotypic switch of adipose tissue macrophages in obese mice. Journal of Translational Medicine, 17(1). https://doi.org/10.1186/s12967-019-1972-6

Urquizo Cruz, E. P., & Sánchez Salcán, N. de J. (2019). Extracto del maíz morado como indicador químico. https://orcid.org/0000-0001-6250-777X

Usda, H. (2015). 2015 Dietary Guidelines Advisory Committee Report.

Zhang, Q., de Mejia, E. G., Luna-Vital, D., Tao, T., Chandrasekaran, S., Chatham, L., ... & Kumar, D. (2019). Relationship of phenolic composition of selected purple maize (Zea mays L.) genotypes with their anti-inflammatory, anti-adipogenic and anti-diabetic potential. Food Chemistry, 289, 739-750.

Zhang, L. (2021). Method for voluntary oral administration of drugs in mice. STAR protocols, 2(1), 100330.

Zhou, Y., Chi, J., Lv, W., & Wang, Y. (2021). Obesity and diabetes as high-risk factors for severe coronavirus disease 2019 (Covid-19). In Diabetes/Metabolism Research and Reviews (Vol. 37, Issue 2). John Wiley and Sons Ltd. https://doi.org/10.1002/dmrr.3377

Efecto de los edulcorantes no calóricos sobre la saciedad y la glucosa

María Guadalupe López-Velázquez[1], Cesar Campos-Ramírez[2], Liliana Olalde-Mendoza[3], Nicolás Camacho-Calderón[4].

[1] Doctorado en Ciencias en Biomedicina. Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro; Mexico. Clavel 200, Prados de la Capilla, CP: 76176. lupita.lopez.nut@gmail.com

[2] Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro; Mexico. Clavel 200, Prados de la Capilla, CP: 76176. cesar.campos@uaq.mx

[3] Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro; Mexico. Av. de la Ciencias s/n, Juriquilla. CP 76176. liliana.olalde@outlook.com

[4] Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro; Mexico. Clavel 200, Prados de la Capilla, CP: 76176. nicolas.camacho@uaq.mx

Resumen

El consumo regular de edulcorantes no calóricos (ENC) ha aumentado en las últimas décadas. Este hecho es de vital importancia, ya que se ha observado una relación entre el consumo de ENC y una disminución en la secreción de incretinas, las cuales están implicadas en procesos de saciedad. Sin embargo, no está del todo claro si esto repercute directamente en los periodos de saciedad posteriores al consumo de ENC. En este estudio se evaluaron periodos de tiempo de saciedad generados por consumo de bebidas con diferentes ENC acompañadas de alimentos, así como sus efectos sobre la glucemia postprandial y la ingesta calórica total posterior de 24 horas. Se establecieron cinco grupos experimentales; grupo 1: agua + sucralosa; grupo 2: agua + estevia; grupo 3: agua + aspartame + acesulfame K; grupo 4: agua y grupo 5: agua + sacarosa. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los periodos de saciedad entre los grupos. El principal hallazgo fue que el consumo de alimentos con bebidas con ENC provocó niveles de glucosa postprandiales significativamente mayores, lo cual, es sumamente relevante ya que los ENC se comercializan para reducir el riesgo de enfermedades metabólicas incluida la diabetes tipo 2; por lo que sería importante replicar la metodología utilizada en este trabajo en personas que viven con diabetes tipo 2.

Palabras clave:

Edulcorantes no calóricos, Saciedad y Glucosa Postprandial.

Abstract

The regular consumption of non-caloric sweeteners (NCS) has increased in recent decades. This is important, since a relationship has been observed between the consumption of ENC and a decrease in the secretion of incretins, which are involved in satiety processes. However, it is not entirely clear if this has a direct impact on satiety periods after consumption. This study shown time periods of satiety generated by the consumption of beverages with different NCSs accompanied by food, as well as their effects on postprandial glycaemia and subsequent 24-hour total caloric intake. It was established five experimental groups; group 1: water + sucralose; group 2: water + stevia; group 3: water + aspartame + acesulfame K; group 4: water and group 5: water + sucrose. No statistically significant differences were found in the periods of satiety between the groups. The main finding was that food consumption with beverages containing NCS caused significantly higher postprandial glucose levels, which is important as NCS are marketed to reduce the risk of metabolic diseases including type 2 diabetes;

therefore, it would be important to replicate the methodology used in this work in people living with type 2 diabetes.

Keywords:

Non-caloric sweeteners, Satiety and Postprandial Glucose.

Introducción

Los edulcorantes son aditivos que confieren sabor dulce a los alimentos al reaccionar con los receptores gustativos de la lengua y producir la sensación de dulzor (López Santiago, 2020). Los edulcorantes se clasifican en dos categorías: los edulcorantes calóricos (EC) caracterizados por metabolizarse en el organismo y aportar calorías; y los edulcorantes no calóricos (ENC) que no son metabolizados por el organismo y por lo tanto no aportan calorías, pero sí un alto poder endulzante (Carocho et al., 2017).

Hace más de un siglo se han utilizado los ENC; sin embargo, su consumo ha aumentado en las últimas décadas por el creciente aumento de su uso por la industria alimentaria, bajo costo y por sus aparentes bondades a la salud al no proporcionar calorías y no modificar el índice glucémico (Aldrete-Velasco et al., 2017). Sin embargo, han surgido especulaciones de posibles efectos adversos a la salud e incluso se han asociado con desarrollo de preferencia por el sabor dulce, promover el aumento de peso y quizá ser un factor que contribuye a la obesidad (Manzur-Jattin et al., 2020).

Los ENC se consideraron como una "opción saludable" para las personas con obesidad debido a que no aportan calorías. A pesar de ello, los resultados de los estudios epidemiológicos demuestran que entre mayor es el consumo de ENC, mayor es la prevalencia de obesidad (Sylvetsky & Rother, 2018). Este efecto pudiera ser en parte consecuencia de una disminución en la saciedad en las personas que consumen los ENC (Pang et al., 2021).

El proceso de saciedad tiene dos fases: la saciedad preabsortiva o saciación y la saciedad posabsortiva. La primera se define como el momento en que termina el acto de comer y la cantidad de alimentos consumida, y sucede mucho antes de que los nutrimentos se hayan absorbido. Por su parte, la saciedad posabsortiva es el intervalo de tiempo transcurrido entre comidas cuya duración depende de la cantidad y la calidad de los alimentos ingeridos (García-Flores et al., 2017).

Los ENC son capaces de activar los receptores gustativos en la lengua del sabor dulce y activar las vías de señalización para el proceso de saciedad preabsortiva o saciación que depende principalmente de la distensión gástrica; sin embargo, al no aportar ningún nutriente, los ENC no pueden reafirmar las señales de saciedad a nivel de sistema nervioso central y el intervalo de tiempo de saciedad podría ser menor, lo cual está asociado con un aumento en la ingesta calórica total y puede contribuir al desarrollo de sobrepeso y obesidad (Low et al., 2014; Han et al., 2019).

Steinert et al. (2011) y Meyer-Gerspach et al. (2018), reportaron que el consumo de bebidas con ENC no promueven la liberación de las incretinas GLP-1 y CCK que participan en la activación procesos anorexigénicos y la inhibición de procesos orexigénicos a nivel de sistema nervioso central, por lo que probablemente su consumo implicaría la disminución de los tiempos de saciedad posteriores a su consumo (Steinert et al., 2011; Meyer-Gerspach et al., 2018).

En este estudio se evaluó si el consumo de bebidas con ENC acompañadas de alimentos, causaban una disminución en la saciedad comparado con el consumo de una bebida con un EC como sacarosa o con sólo consumir agua. Esto para asemejar el consumo de alimentos junto con bebidas como regularmente lo hacemos. También medimos la glucosa postprandial para ver si causaban algún efecto, así como si había repercusiones en el consumo

calórico total posterior a 24 horas para medir si causaban compensación energética.

Metodología

Participantes

En el estudio participaron 35 mujeres con un IMC normal (18.5-24.9), entre 18 y 25 años. Todas las participantes recibieron información oral y escrita sobre todos los aspectos del estudio y aceptaron voluntariamente participar firmando los formularios de consentimiento informado y firmado. El protocolo fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Medicina y el Consejo de Investigación y Posgrado de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Diseño del estudio

El estudio fue un ensayo clínico aleatorizado, simple ciego y controlado. Las 35 participantes fueron asignadas de forma aleatoria en cinco grupos con cinco bebidas diferentes como tratamiento: agua natural + sucralosa, agua natural + estevia, agua natural + aspartame + acesulfame K, agua natural o agua natural + sacarosa; junto con la bebida asignada se le proporcionó un desayuno estandarizado a cada grupo. El experimento se realizó en un solo día y se les pidió a las participantes que acudieran al laboratorio clínico para la primera toma de muestra de sangre venosa con un ayuno de 10 a 12 h. Las mujeres participantes estaban en la misma fase del ciclo menstrual (fase folicular) con base en la fecha de su última menstruación, obtenido mediante interrogatorio directo, lo anterior para evitar variaciones en el apetito debido a la carga hormonal. Al inicio del experimento se obtuvo la primera muestra de sangre venosa en ayuno para determinar los niveles de glucosa. Inmediatamente se les proporcionó la bebida de acuerdo al grupo al que fueron asignadas además del desayuno estandarizado. A los 120 minutos se obtuvo la segunda muestra de sangre venosa para cuantificar los niveles plasmáticos de glucosa como referente de los cambios metabólicos; se solicitó a cada participante que regresara con el investigador en el momento que volviera a sentir hambre para registrar el tiempo transcurrido. Al término, se le entregó un formato a cada participante para que registrara los alimentos que consumió durante el resto del día, especificando la hora y la cantidad de alimento ingerido que se iba a registrar.

Tratamientos

El desayuno estandarizado consistió en 500 kcal que representa el 30% de su requerimiento energético total (RET) del día, calculado mediante la fórmula de Valencia para población mexicana (Suverza & Haua, 2010), con un equilibrio de 60% de hidratos de carbono, 15% de proteína y 25% de grasa. El desayuno ofrecido consistió en un sándwich de jamón de pierna con queso panela, zanahoria y manzana con granola.

Las bebidas de los grupos que contenían edulcorantes fueron igualadas en dulzor, lo cual se determinó con base en el grado de dulzor de cada edulcorante comercial. Los tratamientos de los cinco grupos se describen a continuación:

- Grupo 1, ENC sucralosa (Splenda®): a las participantes de éste grupo se les dio en ayuno el desayuno estandarizado y su bebida fue 355ml de agua natural purificada con 4.5 gramos de edulcorante “Splenda®”.

- Grupo 2, ENC Estevia (Splenda Stevia®): a las participantes de éste grupo se les dio en ayuno el desayuno estandarizado y su bebida fue 355ml de agua natural purificada con 3.5g de edulcorante “Splenda Stevia®”.

- Grupo 3, ENC Acesulfame-K + Aspartamo (Canderel®): a las participantes de este grupo se les dio en ayuno el desayuno estandarizado y su bebida fue 355 ml de agua natural purificada con 5 gramos de edulcorante “Canderel®”.

- Grupo 4, Control: a las participantes de este grupo se les dio en ayuno el desayuno estandarizado y su bebida fue 355 ml agua natural purificada.

- Grupo 5, EC sacarosa (azúcar refinada): a las participantes de este grupo se les dio en ayuno el desayuno estandarizado y su bebida fue 355ml de agua natural purificada con 35 gramos de azúcar.

Evaluación de la dieta

El consumo habitual de kcal de las participantes se calculó mediante el promedio de dos instrumentos dietéticos: un Recordatorio de 24 horas y un Registro de Dieta Habitual, esta información sirvió de referencia para comparar el consumo energético habitual con el consumo posterior al experimento de cada participante. El cálculo de la energía de los instrumentos dietéticos empleados se realizó a través el Sistema Mexicano de Equivalentes (Pérez-Lizaur et al., 2014).

Análisis de sangre

Se obtuvieron muestras de sangre venosa en ayuno y dos horas después del experimento. La glucosa en ambas muestras se determinó mediante un método enzimático / colorimétrico utilizando un kit comercial de glucosa y un equipo automatizado (Biosystems A15).

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó utilizando el programa SPSS versión 20, para Windows. Las variables estudiadas se describen por grupos mediante la media y la desviación estándar. Los cambios en las variables a través de los tiempos en cada grupo fueron analizados mediante la prueba ANOVA de medidas repetidas. Para la correlación entre variables se usó la prueba de Coeficiente de correlación de Pearson. En las figuras y en los cuadros, los datos se expresan en medias ± DE. En todas las pruebas estadísticas se asumió un nivel de confianza del 95% ($p<0.05$).

Resultados

Las características generales, antropométricas y bioquímicas de las 35 participantes de cada grupo de estudio previamente al experimento se muestran en el Cuadro 1. No existen diferencias significativas entre los grupos en las variables evaluadas.

Los periodos de saciedad no fueron diferentes entre los grupos

En cuanto a los efectos de los tratamientos sobre el tiempo de la saciedad, el grupo de sacarosa tuvo el periodo de tiempo más largo en comparación con los grupos de ENC y del control negativo (agua) (Véase Figura 1).

Al comparar la saciedad de los ENC con el control negativo, la sucralosa y la combinación de aspartame + acesulfame-K tuvieron un periodo de saciedad muy similar. En cambio, el edulcorante estevia tuvo un periodo de saciedad mayor.

Sin embargo, al realizar el análisis estadístico de ANOVA de una vía no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Por lo que el consumo de bebidas con ENC acompañadas de alimentos nutritivos no disminuye los periodos de saciedad al compararlo con bebidas con sacarosa o con agua natural.

En la evaluación del consumo calórico de las 24 horas posteriores al experimento para determinar si había una compensación, se comparó el consumo post experimento en kcal por cada grupo mediante ANOVA de una vía sin encontrar diferencias estadísticamente significativas entre ellos.

	Total (n= 35) Media ± DE	Sucralosa (n=7) Media ± DE	Estevia (n=7) Media ± DE	Aspartame+ acesulfame-K (n=7) Media ± DE	Agua (n=7) Media ±DE	Sacarosa (n=7) Media ±DE	P
Edad (años)	20.57 ± 1.40	21.00 ± 1.10	20.14 ± 1.30	21.00 ± 1.70	20.70 ± 1.70	20.00 ± 1.40	0.604
Estatura (cm)	160.29 ± 5.70	162.86 ± 7.40	158.43 ± 5.70	158.80 ± 5.90	159.50 ± 4.20	161.70 ± 5.00	0.555
Peso (kg)	55.66 ± 5.90	57.78 ± 7.40	51.41 ± 4.80	55.60 ± 6.20	54.64 ± 3.30	58.80 ± 5.50	0.144
IMC (kg/m^2)	21.63 ± 1.60	21.72 ± 1.70	20.45 ± 1.60	21.95 ± 1.10	21.50 ± 1.40	22.51 ± 1.70	0.190
Grasa corporal (%)	27.91 ± 3.80	30.00 ± 1.80	28.50 ± 3.10	26.40 ± 6.20	28.40 ± 3.30	26.10 ± 2.40	0.220
Cintura (cm)	73.00 ± 4.80	72.14 ± 5.70	71.29 ± 4.40	72.86 ± 5.80	74.29 ± 2.50	74.43 ± 5.50	0.724
Ejercicio horas/semana	2.14 ± 3.18	1.79 ± 1.68	1.14 ± 1.95	1.29 ± 2.98	1.57 ± 3.04	4.93 ± 4.58	0.293
Glucosa (mg/dl)	91.82 ± 7.70	92.11 ± 8.10	91.45 ± 9.60	90.42 ± 7.30	90.77 ± 6.90	94.35 ± 8.20	0.903
Colesterol (mg/dl)	153.70 ± 27.30	155.00 ± 19.40	159.00 ± 27.60	164.70 ± 37.60	153.10 ± 24.20	136.90 ± 24.40	0.415
Triglicéridos (mg/dl)	77.90 ± 30.60	68.80 ± 25.40	82.50 ± 46.00	83.50 ± 37.80	87.00 ± 14.30	71.80 ± 22.60	0.291
Consumo previo al experimento (Kcal)	1611.57 ± 532.68	1444.14 ± 370.28	1553.29 ± 501.44	1834.71 ± 728.83	1758.00 ± 454.75	1467.71 ± 580.90	0.574

Cuadro 1. Características generales, antropométricas, bioquímicas y dietéticas de las participantes por grupo

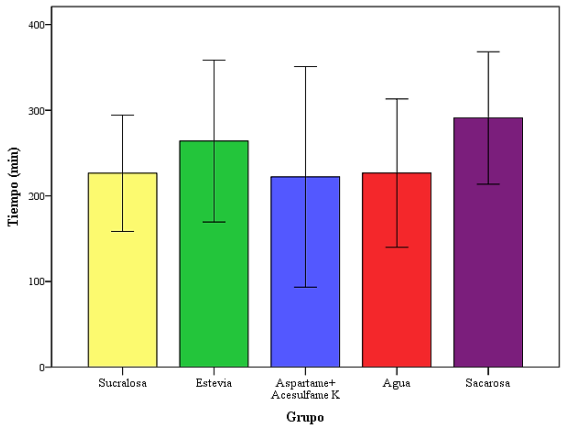


Figura 1. Saciedad. Periodo de tiempo en minutos entre la bebida con el desayuno y la siguiente comida solicitada a voluntad por las participantes. Los resultados están representados en medias ± Desviación Estándar. ANOVA de una vía (p = 0.644).

El consumo de bebidas con ENC acompañadas de alimentos aumenta la glucosa postprandial

Después de los tratamientos, la glucosa a los 120 minutos fue menor en el grupo de sacarosa en comparación con los grupos de ENC ($p<0.05$) (Figura 2).

Por lo que el consumo de alimentos con bebidas con ENC provoca niveles de glucosa postprandiales significativamente mayores que con el consumo de alimentos con bebidas con sacarosa o solo con agua.

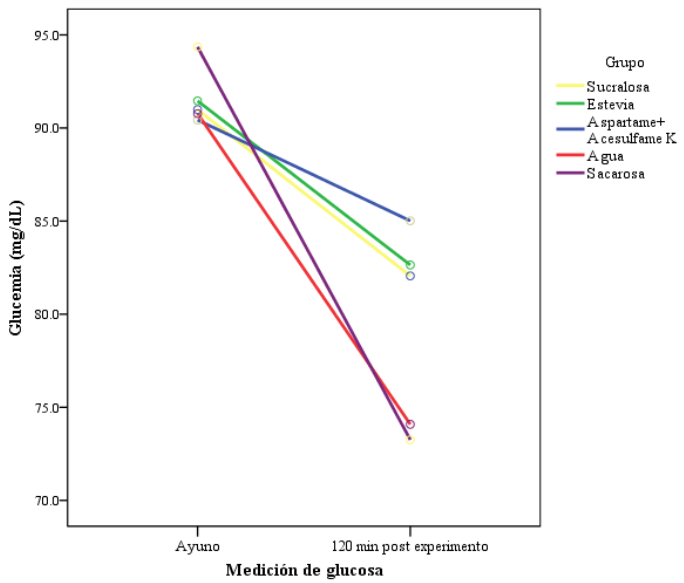


Figura 2. Cambios en la glucemia en ayuno y 120 minutos después del desayuno y la bebida por grupo. ANOVA de una vía glucosa en ayuno p = 0.903. ANOVA de una vía glucosa postprandial p = 0.037. Diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de Aspartame + acesulfame K y sacarosa p = <0.05.

Discusión y conclusiones

En este estudio se encontró una tendencia a una mayor saciedad solo en el grupo de sacarosa en comparación con los grupos de ENC, esto se pudo deber a que la sacarosa genera saciedad gracias a su contenido de glucosa que estimula la liberación de insulina lo que produce un efecto anoréxico al inhibir las neuronas productoras de neuropéptido Y (NPY) un potente orexigénico, además la absorción de la sacarosa es rápida, pero tiene un vaciado gástrico más lento en comparación con los ENC. Por lo tanto, el consumo de alimentos con bebidas con sacarosa aumenta el periodo de saciedad en comparación con el consumo de bebidas con ENC (Cabezas-Zabala et al., 2016; Campbell et al., 2017).

Al comparar la saciedad de los ENC con el control negativo, la sucralosa y la combinación de aspartame + acesulfame-K tuvieron un periodo de saciedad muy similar. En cambio, el edulcorante estevia tuvo un periodo de saciedad mayor, lo que pudo estar relacionado con el hecho de que los glucósidos de esteviol si son metabolizados por el organismo y su producto final es el glucurónido de esteviol y según un estudio in vitro este metabolito estimula la secreción de insulina de una manera dependiente de la dosis de glucosa de los islotes de Langerhans de ratones (Gu et al., 2019). Probablemente el edulcorante estevia aumento la secreción de insulina y esto propicio un mayor periodo de tiempo de saciedad en comparación con los otros ENC o agua.

Los menores niveles de glucosa postprandial para el grupo de sacarosa podrían explicarse por una mejor respuesta de la insulina, lo cual coincide con los resultados del mayor periodo de saciedad para el grupo de sacarosa. Estos mismos resultados fueron reportados por Anton et al. (2010) donde compararon los niveles de glucosa a los 120 minutos después de consumir los alimentos en los participantes que recibieron precargas que contenían Stevia (290 kcal), aspartame (290 kcal) o sacarosa (493 kcal) antes del almuerzo y la cena, encontrando menores niveles de glucemia en el grupo de sacarosa en comparación con los grupos de ENC (stevia y aspartame) (Anton et al., 2010). Por su parte Brown et al. (2011) compararon el consumo de sucralosa y sacarosa en bebidas de precarga con un consumo posterior de un desayuno estandarizado, reportando una glicemia a los 120 minutos menor en el grupo de sacarosa en comparación con el grupo de sucralosa (Brown et al., 2011).

Los niveles de glucosa postprandial significativamente mayores para los grupos con ENC en comparación con la sacarosa es un hallazgo importante, pues los ENC se comercializan para reducir el riesgo de enfermedades metabólicas incluida la diabetes tipo 2, y los resultados de este estudio muestran que incluso podría ser perjudicial el consumo de estos al tener un efecto contrario al deseado. Hasta el momento las revisiones actuales que abordan la relación entre el consumo de ENC con el metabolismo de la glucosa y la diabetes tipo 2 concluyen por una parte que con los datos actuales no

es posible afirmar que los ENC son metabólicamente inertes; sin embargo, la evidencia actual tampoco es suficiente para vincular su uso con el metabolismo de la glucosa o la diabetes tipo 2 (Alsunni, 2020; Qin et al., 2020). Por lo que sería importante replicar la metodología utilizada en este trabajo en personas que presentan diabetes tipo 2 y ver si la tendencia en los niveles de glucosa postprandial es la misma que en personas aparentemente sanas.

Nuestros resultados sugieren que el mayor tiempo de saciedad lo genera el consumo de alimentos con bebidas con sacarosa y con bebidas con el ENC estevia; sin embargo, la ventaja de estevia sobre sacarosa es que no aporta calorías y podría ser útil en situaciones donde se busque bajar el aporte calórico de la dieta. Los ENC de sucralosa y la combinación de aspartame + acesulfame-K tuvieron la misma tendencia en saciedad que el agua. Este comportamiento se pudo haber presentado debido a que las bebidas con ENC se acompañaron con alimentos, y esto pudo haber causado un efecto "amortiguante", ya que se estima que las bebidas llegaron al intestino acompañadas de múltiples nutrientes derivados de los alimentos, y esto causo un efecto distinto a sólo consumir las bebidas sin calorías. Por lo que estos resultados sugieren que una recomendación adecuada es consumir los ENC acompañados de alimentos nutritivos.

Este estudio presenta varias fortalezas. Primero, el comportamiento alimentario se midió en el entorno natural de las participantes, lo que permite la generalización de nuestros hallazgos. En segundo lugar, se incluyó un control negativo y un control positivo lo que permitió hacer una comparación y un análisis más completo del comportamiento de los ENC tanto en la saciedad como en el comportamiento alimentario. En tercer lugar, se realizó inicialmente un estudio piloto para determinar las cantidades apropiadas de gramos de sacarosa y ENC para igualarlas en un mismo nivel de dulzor. En cuarto lugar, se trató de un estudio experimental en humanos que es reproducible para futuras investigaciones.

Una limitación del presente estudio es que no se midió la actividad física durante las dos horas posteriores al consumo de la bebida y el desayuno, en el que quizá se pudo modificar los niveles de glucosa en la medición que se realizó posteriormente. Otra limitación es que el estudio se realizó sólo en mujeres por lo que faltaría una evaluación diferenciada por sexo.

Perspectivas: se necesitan estudios a largo plazo para comprobar si el consumo crónico a los ENC tiene los mismos efectos que en una exposición aguda. Es importante realizar estudios en sujetos con condiciones de enfermedad como la obesidad y/o diabetes tipo 2 pues son la población blanco de los ENC y sus condiciones metabólicas son distintas, por lo tanto, es necesario comparar los resultados de estas posibles investigaciones con los del presente estudio.

Referencias bibliográficas

Aldrete-Velasco, J., López-García, R., Zúñiga-Guajardo, S., Riobó-Serván, P., Serra-Majem, L., Suverza-Fernández, A., ... & Laviada-Molina, H. (2017). Análisis de la evidencia disponible para el consumo de edulcorantes no calóricos. Documento de expertos. Medicina interna de México, 33(1), 61-83.

Alsunni, A. A. (2020). Effects of artificial sweetener consumption on glucose homeostasis and its association with type 2 diabetes and obesity. International journal of general medicine, 13, 775.

Cabezas-Zabala, C. C., Hernández-Torres, B. C., & Vargas-Zárate, M. (2016). Azúcares adicionados a los alimentos: efectos en la salud y regulación mundial. Revisión de la literatura. Revista de la Facultad de Medicina, 64(2), 319-329.

Campbell, C. L., Wagoner, T. B., & Foegeding, E. A. (2017). Designing foods for satiety: The roles of food structure and oral processing in satiation and satiety. Food Structure, 13, 1-12.

Carocho, M., Morales, P., & Ferreira, I. C. (2017). Sweeteners as food additives in the XXI century: A

review of what is known, and what is to come. Food and Chemical Toxicology, 107, 302-317.

García-Flores, C. L., AG, M. M., CP, B. M., Zepeda-Salvador, A. P., & LV, S. S. (2017). Satiation and satiety in the regulation of energy intake. Revista medica de Chile, 145(9), 1172-1178.

Gu, W., Rebsdorf, A., Anker, C., Gregersen, S., Hermansen, K., Geuns, J. M., & Jeppesen, P. B. (2019). Steviol glucuronide, a metabolite of steviol glycosides, potently stimulates insulin secretion from isolated mouse islets: Studies in vitro. Endocrinology, Diabetes & Metabolism, 2(4), e00093.

Han, P., Bagenna, B., & Fu, M. (2019). The sweet taste signalling pathways in the oral cavity and the gastrointestinal tract affect human appetite and food intake: A review. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 70(2), 125-135.

López Santiago, J. (2020). Edulcorantes. Revisión y comentario.

Low, Y. Q., Lacy, K., & Keast, R. (2014). The role of sweet taste in satiation and satiety. Nutrients, 6(9), 3431-3450.

Manzur-Jattin, F., Morales-Núñez, M., Ordosgoitia-Morales, J., Quiroz-Mendoza, R., Ramos-Villegas, Y., & Corrales-Santander, H. (2020). Impacto del uso de edulcorantes no calóricos en la salud cardiometabólica. Revista Colombiana de Cardiología, 27(2), 103-108.

Meyer-Gerspach, A. C., Biesiekierski, J. R., Deloose, E., Clevers, E., Rotondo, A., Rehfeld, J. F., ... & Tack, J. (2018). Effects of caloric and noncaloric sweeteners on antroduodenal motility, gastrointestinal hormone secretion and appetite-related sensations in healthy subjects. The American journal of clinical nutrition, 107(5), 707-716.

Pang, M. D., Goossens, G. H., & Blaak, E. E. (2021). The impact of artificial sweeteners on body weight control and glucose homeostasis. Frontiers in nutrition, 7, 598340.

Pérez-Lizaur, A. B., Palacios González, B., Castro Becerra, A. L., & Flores Galicia, I. (2014). Sistema mexicano de alimentos equivalentes. Fomento de Nutrición y Salud, AC México, 35-42.

Qin, P., Li, Q., Zhao, Y., Chen, Q., Sun, X., Liu, Y., ... & Zhang, M. (2020). Sugar and artificially sweetened beverages and risk of obesity, type 2 diabetes mellitus, hypertension, and all-cause mortality: a dose–response meta-analysis of prospective cohort studies. European journal of epidemiology, 35(7), 655-671.

Suverza, A., & Haua, K. (2010). El ABCD de la Evaluación del Estado de Nutrición. México. DF Ed.

Steinert, R. E., Frey, F., Töpfer, A., Drewe, J., & Beglinger, C. (2011). Effects of carbohydrate sugars and artificial sweeteners on appetite and the secretion of gastrointestinal satiety peptides. British Journal of Nutrition, 105(9), 1320-1328.

Sylvetsky, A. C., & Rother, K. I. (2018). Nonnutritive sweeteners in weight management and chronic disease: a review. Obesity, 26(4), 635-640.

Dieta alta en grasa y fructosa: permeabilidad intestinal y neuroinflamación.

Perla Viridiana Ocampo Anguiano[a], Laura Lizeth Victoria Ruiz[a], Minerva Ramos Gómez[a], Erika María Orta Salazar[b], Azucena Ruth Aguilar Vázquez[b], y Santiaga Marisela Ahumada Solórzano[c]

[a] Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro. Campus Centro Universitario

[b] Instituto de Neurobiología, Departamento de Neurobiología del Desarrollo y Neurofisiología, Universidad Nacional Autónoma de México. Campus Juriquilla

[c] Laboratorio de investigación interdisciplinaria en biomedicina, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro. Campus Juriquilla

[1] perla_viri_25@hotmail.com Tel: (442) 868 4419

[2] minervaramos9297@gmail.com Tel: (442) 143 9258

[3] santiaga.marisela.ahumada@uaq.mx Tel: (442) 562 3388

Resumen

La ingesta excesiva de grasas y azúcares (HFFD) promueve obesidad, neuroinflamación y disbiosis intestinal. Estudios previos han evaluado el efecto de dietas altas en grasa o dietas altas en carbohidratos simples en el desarrollo de obesidad y alteraciones metabólicas relacionadas. Asimismo, se han asociado este tipo de dietas con el desarrollo de disbiosis y neuroinflamación. Este proyecto determinará el efecto del consumo de HFFD en la obesidad, disbiosis y neuroinflamación de ratones alimentados durante 14 semanas. Se evaluará la composición corporal, la permeabilidad intestinal por FITC-dextrán, marcadores de neuroinflamación y el efecto sobre la memoria mediante pruebas de comportamiento. La HFFD generó obesidad con aumento del 26.6 % en el peso corporal y del 36.22 % en la circunferencia abdominal respecto a la dieta SD, con grasa visceral (3677 ± 862 mm^3) e hipertrigliceridemia (140 mg/dL). La permeabilidad intestinal aumentó en HFFD (1.87 ± 0.13 vs 0.90 ± 0.01 µg/mL en SD) relacionado con disbiosis. En el laberinto en T la alternancia fue menor en HFFD (59.72 ± 5.11%) respecto a SD (87.30 ± 4.48) asociado a daño en el hipocampo. La dieta HFFD indujo obesidad, permeabilidad intestinal y neuroinflamación del hipocampo con pérdida en la memoria a corto plazo. Este modelo de obesidad inducida con alteración en la integridad intestinal y neuroinflamación en hipocampo podrá ser empleado para determinar el efecto de diversas intervenciones dietéticas como la inclusión de alimentos fuente de fibra y compuestos fenólicos que forman parte de nuestra alimentación diaria, como lo es el frijol.

Palabras clave: obesidad, neuroinflamación, integridad intestinal, frijol

Summary

Excessive intake of fats and sugars (HFFD) promotes obesity, neuroinflammation, and intestinal dysbiosis. Previous studies evaluated the effect of high-fat diets or diets high in simple carbohydrates on the development of obesity and associated metabolic disorders. This project will determine the effect of intake HFFD on obesity, disbiosis, and neuroinflammation of mice fed for 14 weeks. Body composition, intestinal permeability by FITC-dextran and neuroinflammation markers and the effect on memory will be assessed by behavioral tests. HFFD generated obesity with an increase of 26.6 % in body weight and 36.22 % in abdominal circumference with respect to the SD diet, with visceral fat (3677 ± 862 mm3) and hypertriglyceridemia (140 mg / dL). Intestinal permeability increased in HFFD (1.87 ± 0.13 vs 0.90 ± 0.01 µg/mL in DS) related to disbiosis. In the T-maze, the alternation was lower in HFFD (59.72 ± 5.11%) compared to SD (87.30 ± 4.48) associated with hippocampal damage. The HFFD diet induced obesity, intestinal permeability, and hippocampal neuroinflammation with short-term memory loss. This model of induced obesity with

alteration in intestinal integrity and neuroinflammation in the hippocampus can be used to determine the effect of various dietary interventions such as the inclusion of fiber source foods and phenolic compounds of our daily diet, such as beans.

Key words: obesity, neuroinflammation, intestinal integrity, beans

Introducción

El desarrollo de la obesidad, donde el consumo excesivo de grasa y azúcares se relaciona con mayor acumulación de tejido adiposo y alteraciones metabólicas como dislipidemias, hiperglicemia y resistencia a la insulina, promueve la alteración de la microbiota intestinal con menor cantidad de microorganismos potencialmente benéficos y mayor cantidad de microorganismos patógenos (Horne *et al*., 2020). Lo anterior se denomina disbiosis intestinal y consecuentemente genera la disfuncionalidad de la barrera intestinal y endotoxemia por antígenos derivados del tracto gastrointestinal, entre ellos los lipopolisacáridos (LPS) que viajan por la circulación llegando a órganos como el hígado y el cerebro, promoviendo inflamación sistémica (Agustí *et al*., 2018; Horne *et al*., 2020).

La neuroinflamación se caracteriza por la desregulación en la activación de las células inmunitarias del cerebro, particularmente la microglía. Una de las zonas que puede afectarse por este proceso neuroinflamatorio es el hipocampo, región del cerebro asociada con la pérdida de memoria y el aprendizaje (Noble *et al*., 2017; Martínez-Orozco, 2020). Así mismo, la evidencia indica que la obesidad contribuye al desarrollo del déficit en las funciones cognitivas como la consolidación de la memoria a corto y largo plazo (Noble *et al*., 2017; Martínez-Orozco, 2020).

Por otro lado, el consumo de alimentos fuente de fibra uy compuestos fenólicos como lo es la semilla de frijol promueve efectos benéficos en modelos murinos que se relacionan con beneficios a la salud.

A partir de lo anterior, el objetivo de esta investigación es determinar el efecto del consumo de una dieta alta en grasa y ata en fructosa en el desarrollo de la obesidad, la alteración de la integridad intestinal y la neuroinflamación en el hipocampo y la pérdida de memoria. Este modelo es una herramienta para estudiar diferentes alternativas dietarias que puedan emplearse como tratamiento, entre ellas la hoja y semilla de frijol.

Objetivo específico. Determinar el efecto del consumo de una dieta alta en grasa/ alta en fructosa en ratones sobre la inducción de la obesidad, la permeabilidad intestinal y la neuroinflamación del hipocampo.

Objetivos generales.

1) Analizar el efecto del consumo de HFFD en la composición corporal y la acumulación de tejido adiposo en ratones alimentados durante 14 semanas.
2) Determinar el impacto del consumo de HFFD en la memoria y en la neuroinflamación de ratones alimentados durante 14 semanas.
3) Evaluar los cambios en la permeabilidad intestinal por el consumo de HFFD.

Metodología

Animales de experimentación

En el trabajo experimental por 14 semanas se emplearon 16 ratones (8 por grupo) C57BL/6 macho de 8 semanas de edad (25 a 30 g) que se obtuvieron del bioterio del Instituto de Neurobiología (INB-UNAM Campus Juriquilla). Los animales se alojaron colocando 4 ratones/caja, dimensiones: 19 x 29 x 12 cm, con pisos y paredes continuas sólidas con tapa removible, con cama sanitaria de viruta estéril (1.5 cm de alto), con control de la temperatura (22 ± 3 °C), la humedad relativa (60 ± 5 %) bajo un ciclo regulado de 12 h de luz/oscuridad. Se les administró alimento y agua *ad libitum.* La limpieza de las jaulas, bebederos y comederos se realizó cada tercer día.

Diseño de dietas para los animales experimentales: El alimento base en las dietas fue Rodent Lab Chow 5001 (alimento recomendado para roedores); su fórmula de nutrición cubre los requerimientos nutricionales teniendo un aporte energético adecuado de 3.36 Kcal/g (proteína 28.5%, grasa 13.5% e hidratos de carbono 58%). Mientras que la dieta HFFD tuvo un aporte energético de 4.7 Kcal/g

(proteína 19.6 %, grasa saturada 40 % e hidratos de carbono 40.3 %, de los cuales el 20 % corresponde a fructosa).

Composición corporal: Se registró de manera semanal el peso de los animales, la ingesta de alimento y el consumo de agua. Para conocer la distribución de la grasa corporal, en la última semana previo a la eutanasia de los ratones de los diferentes grupos se midió las circunferencias torácica y abdominal y se determinó la relación circunferencia abdominal/circunferencia torácica. El índice de masa corporal (IMC) e índice de Lee, indicadores relacionados con el desarrollo de obesidad, se midieron a partir del peso y longitud de los animales (de nariz a base de la cola).

Grasa visceral y subcutánea por resonancia magnética:Para conocer la distribución de grasa corporal, en la última semana previa a la eutanasia, los animales se analizaron por resonancia magnética (servicio del laboratorio, LANIREN INB- UNAM, Campus Juriquilla), utilizando isoflurano al 2% como anestésico inhalatorio (Kundumani-Sridharan *et al*., 2019). Las imágenes se analizaron con el programa ITK-SNAP versión 3.8.0 (Universidad de Pensilvania, Pensilvania, USA).

Construcción de nidos: Esta prueba permite evaluar el estado cognitivo general de los animales por medio de la construcción innata del nido. Esta prueba se analizó previo a la eutanasia en los grupos SD y HFFD. Los ratones se alojaron individualmente en una jaula limpia con aserrín de 0.5 cm de grosor y se les proporcionó un cuadrado de algodón prensado de 2 g. Se tomaron fotos de la jaula durante 12 h en el ciclo activo de los animaes. Se utilizó la puntuación de nido de Deacon (Deacon, 2012) y el peso del nido no desgarrado para evaluar las actividades de la vida diaria relacionadas con alteraciones en personas con deterioro cognitivo (Johnson *et al*., 2016; Shi *et al*., 2020).

Prueba de laberinto en T: Esta prueba se realizó con la finalidad de evaluar la integridad funcional del hipocampo relacionado con la memoria y el aprendizaje, mediante la elección alterna y espontánea al explorar dos brazos (izquierdo y derecho del laberinto) en un entorno novedoso. El espacio de trabajo fue un lugar tranquilo, con poca luz, utilizado exclusivamente para las pruebas. El laberinto estuvo en la misma posición para todos los ensayos. Se aleatorizó el orden de los animales y posteriormente se aplicó un ensayo de muestra denominado T0, se colocó el ratón en la parte distal del brazo inicial; la cabeza estaba orientada hacia el extremo sur del laberinto. Se dejó explorar libremente al ratón y, una vez que el ratón giró la cabeza hacia la zona central, se comenzó a contar el tiempo (máximo 60 seg) en que entró el animal por completo a uno de los brazos, anotando la elección. Enseguida se retiró el animal y se volvió a colocar en el extremo distal del brazo de inicio, deteniendo y reiniciando el cronómetro. La prueba se repitió en 9 ocasiones para cada animal (d'Isa *et al*., 2021). Se calculó el porcentaje de alternancia como índice de memoria de trabajo, a partir de la siguiente fórmula:

(Número total de alternancias correctas/9) * 100

Permeabilidad intestinal con FITC-dextrán: La permeabilidad intestinal se evaluó mediante el ensayo de permeabilidad *in vivo* FITC-dextrán. Los ratones se ayunaron durante 12 h y recibieron por canulación oral una dosis de FITC-dextrán (600 mg/kg peso corporal) disuelto en tampón de fosfato salino estéril . 2.5 h después de la administración del FITC-dextrán, se extrajeron aproximadamente 200 µL de sangre por la vena femoral, la cual se centrifugó durante 15 min a 3,500 *g* a 4 °C; el plasma se colocó en tubos nuevos y se almacenó a -80 °C para su posterior análisis. Las concentraciones plasmáticas de FITC-dextrán se evaluaron en un lector de placas con una longitud de onda de excitación de 490 nm y de emisión de 520 nm. Los resultados se expresaron en µg/mL de FITC-dextrán en plasma.

Eutanasia: los animales de cada grupo se dividieron y a la mitad de los animales se les dio muerte por administración de CO_2 con un flujo del 20% del volumen de la cámara/ min y posteriormente punción cardíaca donde se obtuvo alrededor de 1 mL de sangre. Los animales se disectaron,se extrajo el tracto gastrointestinal, el contenido de colon proximal, el

hígado, los riñones, el cerebro y el tejido adiposo. En la otra mitad de los animales, la eutanasia se realizó utilizando pentobarbital (120 mg/kg) disuelto en solución fisiológica vía intraperitoneal y punción cardíaca para la recolección de sangre; se bloqueó la circulación de la parte inferior del cuerpo y se perfundió con solución salina y posteriormente con paraformaldehído al 4% a nivel de la cabeza, lo que aseguró la fijación y obtención adecuada del cerebro. El resto de los órganos se extrajeron de la misma manera que en los animales no perfundidos. El suero se obtuvo por centrifugación a 3,500 *g* a 4 °C por 15 min y se almacenó en alícuotas a -20 °C hasta su análisis. Los intestinos se colocaron en una solución de formaldehído al 10% para fijación e inclusión en parafina, los cortes fueron de 3-4 µm, en laminillas hasta el análisis histológico de su morfometría.

Inmunohistoquímica de la proteína Iba-1: Se analizó la presencia de la proteína Iba-1 por inmunodetección en hipocampo. Para el análisis en el hipocampo, el tejido cerebral se cortó en secciones de 40 µm con ayuda de un criostato y se localizaron las regiones de acuerdo con un atlas de cerebro de ratón estándar. Las muestras se mantuvieron en tampón de fosfato salino con azida de sodio hasta su análisis. A partir de los anticuerpos correspondientes, se analizó la presencia de Iba-1 por inmunohistoquímica. Los cortes de cerebro se incubaron con amortiguador de citratos durante 20 min a 80 °C, seguido de una incubación con el anticuerpo primario anti-Iba-1 (Invitrogen, Massachusetts, USA) a 4 °C durante la noche. Después los cortes se lavaron y se incubaron con anticuerpo secundario y las secciones se contrastaron con diaminobencidina y glucosa oxidasa para revelar la inmunorreactividad a Iba-1 en hipocampo. Finalmente, se tomaron las imágenes con microscopio. Se superpondrá una cuadrícula con imágenes de las regiones de hipocampo, se contará el número de puntos de cruce de cuadrícula por celda individual y se calculará el número medio de puntos de cruce de cuadrícula por celda con la finalidad de determinar el número de las células gliares como indicador de respuesta proinflamatoria en hipocampo (Shi *et al*., 2020) .

Análisis estadístico: los cambios en composición corporal, el consumo de agua y alimento, el perfil lipídico y la prueba de permeabilidad intestinal se presentaron como la media ± error estándar (SE). Las pruebas conductuales se cuantificarán de acuerdo al tiempo, se calcularán los resultados y se aplicarán los mismos análisis para las demás determinaciones. El índice de ramificación de las células por la expresión de Iba1 y se cuantificará mediante un análisis cruzado de cuadrícula utilizando Image J (http://imagej.nih.gov/ij/download.html). Se aplicará la prueba t-test ($p \leq 0.05$). Se empleó el programa estadístico GraphPad Prism 8 (1995-2022 GraphPad Software, LLC.) para los gráficos y SPSS Statistical Software versión 18.0 (IBM) para los análisis.

Resultados

La dieta HFFD favorece el desarrollo de obesidad en ratones C57BL/6 alimentados durante 14 semanas: El desarrollo de obesidad se estableció a partir de la diferencia en peso corporal entre ambos grupos. Los animales del grupo HFFD presentaron un peso corporal mayor en relación con los animales del grupo SD, a partir de la semana 2 hasta la semana 14 (Figura 1). El peso corporal inicial de ambos grupos fue similar estadísticamente; mientras que, el peso corporal final fue 26.6 % mayor en los animales con dieta HFFD, es decir, bajo este parámetro los animales del grupo HFFD presentaron obesidad. La combinación de una dieta alta en grasa y alta en fructosa, que se asemeja a la dieta occidental, demostró ser una opción para el desarrollo de un modelo con obesidad.

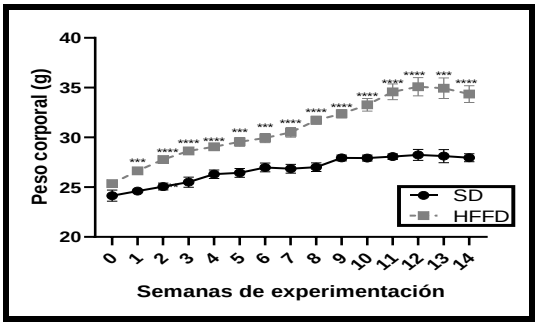


Figura 1 Efecto de la dieta HFFD en la ganancia de peso semanal de ratones macho C57BL/6 alimentados con dieta HFFD y SD por 14 semanas. Los valores se expresan como la media ± SE analizados por

la prueba de t-test entre los animales de los grupos HFFD y SD. *** p≤ 0.001, **** p ≤ 0.0001. Abreviaturas: SD, grupo estándar; HFFD, grupo con dieta alta en grasa y alta en fructosa. Tamaño de grupo en SD (n = 7) y HFFD (n = 8).

El consumo de dieta HFFD durante 14 semanas incrementó los parámetros de composición corporal relacionados con el desarrollo de obesidad en ratones C57BL/6: Las circunferencias abdominal y torácica incrementaron 36.22 y 31.69 % respectivamente en los animales del grupo HFFD comparado con las circunferencias de los animales del grupo SD. El índice CA/TC fue 12.96 % mayor por el consumo de HFFD (Tabla 11). La ingesta de HFFD en ratones aumentó el IMC (0.33 g/cm^2) e índice de Lee (704) al compararse con los valores de los animales que consumieron la dieta SD (0.38 g/cm^2 y 645, respectivamente) (Tabla 1). Para determinar los efectos de la grasa y la fructosa en la dieta sobre la acumulación de grasa corporal se analizó el contenido de tejido adiposo visceral y subcutáneo por resonancia magnética en los animales de ambos grupos.. El impacto significativo fue tanto en la grasa visceral (3677 ± 862 mm^3), ya que fue 6.75 veces mayor en los animales del grupo HFFD al compararse con la grasa visceral de los animales del grupo SD (466 ± 206 mm^3). Asimismo, la grasa subcutánea incrementó 4.42 veces en los animales HFFD (1376 ± 329 mm^3) comparada con la grasa subcutánea de los animales SD (247 ± 148 mm^3) (Figura 2). Para evaluar el impacto de la dieta HFFD en el metabolismo de lípidos, medimos los niveles de triglicéridos en suero, la concentración sérica promedio de triglicéridos en los animales del grupo HFFD fue 1.75 veces mayor respecto a los animales del grupo SD. Además, la media de triglicéridos en los animales con dieta HFFD (140 mg/dL) fue indicativo de trigliceridemia en los animales HFFD (Tabla 1). A partir de la dieta HFFD que asemeja la dieta occidental se demostraron los cambios en composición corporal y concentración de glucosa y triglicéridos característicos en la obesidad.

Tabla 1. Efecto de la dieta HFFD sobre la composición corporal y la concentración de triglicéridos en suero en ratones C57BL/6 alimentados durante 14 semanas

	SD			HFFD		
Peso inicial (g)	24.14	±	1.11	25.36	±	0.70
Peso corporal final (g)	27.95	±	1.06	34.35	±	2.38****
Circunferencia abdominal (cm)	7.50	±	0.45	10.40	±	0.43**
Circunferencia torácica (cm)	7.12	±	0.42	9.20	±	0.73*
Índice CA/CT	1.05	±	0.03	1.15	±	0.07*
IMC (g/cm^2)	0.28	±	0.02	0.33	±	0.01
Índice de Lee	645	±	12.48	704	±	2.45**
Triglicéridos séricos (mg/dL)	83.93	±	1.96	140.98	±	9.70**
Glucosa sérica (mg/dL	140	±	18	331	±	5**

Los valores se expresan como la media ± SE analizados por la prueba de t-test entre los animales de los grupos HFFD y SD. * p≤ 0.05, ** p ≤ 0.01, **** p ≤ 0.0001. Abreviaturas: SD, grupo estándar; HFFD, grupo con dieta alta en grasa y alta en fructosa. Tamaño de grupo en SD (n = 7) y HFFD (n = 8).

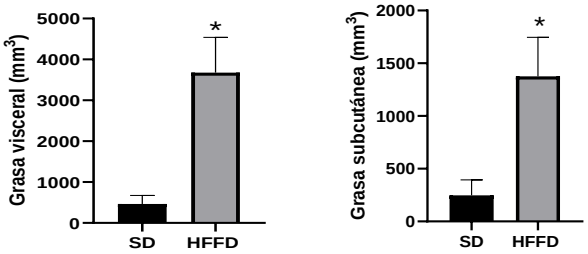


Figura 2. Efecto del consumo de la dieta HFFD durante 14 semanas en la acumulación de tejido adiposo a) visceral y b) subcutáneo en ratones C57/BL. Los valores se expresan como la media ± SE analizados por la prueba de t-test entre los animales de los grupos HFFD y SD. * p≤ 0.05. Abreviaturas: SD, grupo estándar; HFFD, grupo con dieta alta en grasa y alta en fructosa. Tamaño de grupo en SD (n = 3) y HFFD (n = 5).

El consumo de la dieta HFFD incrementó la permeabilidad intestinal: La concentración sérica de FITC-dextrán fue 2 veces mayor en los animales que consumieron la dieta HFFD (1.87 ± 0.13) en comparación con la concentración en los animales con dieta SD (0.90 ± 0.01) (Figura 3), lo que sugiere la alteración en la función de la barrera intestinal permitiendo el flujo de este marcador desde el intestino hasta la sangre. La dieta HFFD administrada en este proyecto generó daño en la barrera intestinal provocando aumento en la permeabilidad.

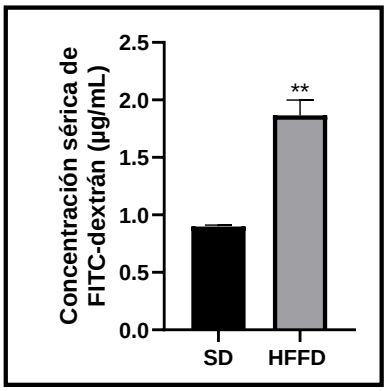


Figura 3. Efecto del consumo de la dieta HFFD durante 14 semanas en la permeabilidad intestinal en ratones macho C57BL/6 alimentados. Los valores se expresan como la media ± SE analizados por la prueba de t-test entre los animales de los grupos HFFD y SD. ** p≤ 0.01. Abreviaturas: SD, grupo estándar; HFFD, grupo con dieta alta en grasa y alta en fructosa. n= 6 para ambos grupos.

El consumo de la dieta HFFD disminuye el peso relativo de los órganos: Los pesos del intestino delgado (5.16 ± 0.16 g) y del colon (1.32 ± 0.32 g) fueron menores en los animales del grupo HFFD respecto a los órganos de los animales del grupo SD (7.68 ± 0.58 y 1.83 ± 0.22 g, respectivamente) (Tabla 2). Lo anterior se atribuyó a la mayor cantidad de tejido adiposo en los animales con dieta HFFD que abarca una mayor cantidad del peso corporal en relación con los animales con dieta SD demostrando que la dieta HFFD no incrementa el tamaño de los órganos.

El consumo de la dieta HFFD promueve la inflamación del intestino: La longitud de los intestinos se midió como parte del análisis de la integridad intestinal; el intestino delgado del grupo HFFD (36.62 ± 1.58 cm) fue significativamente menor respecto al intestino delgado del grupo SD (44.00 ± 2.92 cm); mientras que, el colon de los animales con dieta HFFD (6.97 ± 0.63 cm) fue menor respecto a la longitud del colon de los animales con dieta SD (8.86 ± 0.77 cm) (Tabla 2). Entre las alteraciones relacionadas con la obesidad se encuentra el aumento en la permeabilidad intestinal y la inflamación de bajo grado que falta por comprobar en este modelo de inducción de obesidad.

Tabla 2. Relación del peso de órganos/peso corporal total de los ratones C57BL/6 alimentados con dieta HFFD durante 14 semanas.

	SD	HFFD
Peso del hígado/peso corporal (g)	6.16 ± 0.18	5.12 ± 0.23**
Peso del intestino delgado/peso corporal (g)	7.68 ± 0.58	5.16 ± 0.16***
Longitud del intestino delgado (cm)	44.0 ± 2.92	36.62 ± 1.58*
Peso del colon/peso corporal (g)	1.83 ± 0.22	1.32 ± 0.32
Longitud del colon (cm)	8.86 ± 0.77	6.97 ± 0.63

Los valores se expresan como la media ± SE analizados por la prueba de t-test entre los animales de los grupos HFFD y SD. * p≤ 0.05, ** p≤ 0.01, *** p≤ 0.001. Abreviaturas: SD, grupo estándar; HFFD, grupo con dieta alta en grasa y alta en fructosa. Tamaño de grupo en SD (n = 7), HFFD (n = 8).

El consumo de la dieta HFFD disminuye la actividad del hipocampo relacionada a la pérdida de la memoria a corto plazo: Las pruebas conductuales permitieron conocer el efecto de la dieta HFFD en la función del hipocampo relacionada con la pérdida de memoria a corto plazo y daño en la cognición generalizada. Al finalizar la semana 14 del consumo de dieta HFFD se llevaron a cabo las pruebas conductuales de laberinto en T y la prueba de nidos. La prueba de nidos no mostró diferencia significativa entre ambos grupos (Figura 3a). En el laberinto en T, el porcentaje de alternancia fue menor en los animales del grupo HFFD (59.72 ± 5.11 %) que en los animales del grupo SD (87.30 ± 4.48) (Figura 3b).

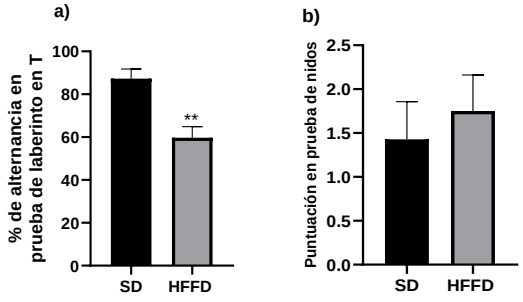


Figura 3. Efecto del consumo de la dieta HFFD durante 14 semanas en LAS pruebas conductuales a) laberinto en T y b) nidos en ratones

macho C57BL/6. Los valores se expresan como la media ± EE analizados por la prueba de t-test entre los animales de los grupos HFFD y SD. * p≤ 0.01. Abreviaturas: SD, grupo estándar; HFFD, grupo con dieta alta en grasa y alta en fructosa. Tamaño de grupo en SD (n = 7) y HFFD (n = 8).

El consumo de la dieta HFFD incrementa la presencia de Iba-1 en el hipocampo: Las pruebas de conducta, junto con el análisis por inmunohistoquímica de la presencia de Iba-1 como marcador de activación de microglía en hipocampo, permitieron determinar el efecto del consumo de la dieta HFFD en la funcionalidad del hipocampo. En la Figura 4 a y c se muestra la expresión de Iba-1 en los hemisferios del hipocampo del cerebro de un animal con dieta HFFD, observándose que el consumo de la dieta HFFD durante 14 semanas incrementó la respuesta para Iba-1 respecto al hipocampo de animales con la dieta SD (Figura 4 b y d). Con la finalidad de cuantificar número de células activas de la microglía y diferenciar la morfología de las mismas en ambos grupos se hará el análisis de la densidad de la microglía y la cuantificación de los esqueletos de las células microgliares de los diferentes grupos.

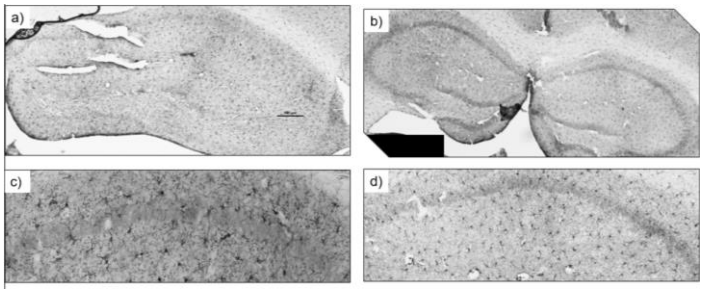


Figura 4. Efecto del consumo de la dieta HFFD durante 14 semanas en la presencia de Iba-1 en el hipocampo de ratones macho C57BL/6. a) Micrografía de hemisferio derecho del hipocampo de ratón alimentado con dieta HFFD, 4 X. b) Micrografía de ambos hemisferios del hipocampo de ratón alimentado con dieta SD, 4 X. c) Micrografía de células microgliares en la región CA1 del hipocampo en ratón con dieta HFFD, 40 X. d) Micrografía de células microgliares en la región CA1 del hipocampo en ratón con dieta SD, 40 X.

La ganancia de peso, así como los incrementos en el índice de Lee, la circunferencia abdominal, el tejido adiposo y la concentración sérica de triglicéridos que se encontraron a partir de la ingesta de la dieta HFFD durante 14 semanas en ratones C57BL/6 permitieron comprobar la inducción de obesidad. Así mismo, el incremento en la permeabilidad intestinal por FITC-dextrán en suero y la disminución en la longitud intestinal demostraron el efecto de la dieta HFFD en la alteración de la integridad intestinal. Finalmente, el incremento en la presencia de Iba-1 en el hipocampo se asoció con la pérdida de memoria espacial por el consumo de la dieta HFFD.

Discusión y Conclusiones

La dieta HFFD se asemeja a la dieta occidental, caracterizada por un contenido elevado de grasa y azúcar en la dieta, donde se disminuye el consumo de proteínas y fibra dietaria (Zinöcker & Lindseth, 2018). El aumento en el aporte de lípidos en la dieta incrementó la densidad energética, ya que los lípidos aportan 9 Kcal/g a diferencia de las proteínas y los carbohidratos que aportan 4 Kcal/g (Luis Román *et al*., 2017). Las dietas altas en grasa reportadas para inducir obesidad en modelos animales en su mayoría aportan 60% de las Kcal a partir de lípidos y el intervalo de consumo es de 8 a 12 semanas (Neil *et al*., 2019; Monk *et al*., 2021). Dietas altas en carbohidratos simples (65 %) con el 85 % a partir de glucosa o de fructosa causaron aumento de tejido adiposo y alteraciones metabólicas sin diferencia en el peso corporal (Do *et al*., 2018). La combinación de alto contenido de grasa y fructosa en la dieta en este proyecto pudo exacerbar las alteraciones metabólicas que acompañan a la obesidad, logrando tener incremento incluso en el peso.

Respecto a la ingesta de alimento en función de las kcal consumidas y el consumo de agua observada en los animales coincidieron con lo reportado por otros autores, no hubo diferencia significativa en el consumo de alimento en gramos. Lo anterior puede estar relacionado a que la ingesta de alimento en los roedores está regulada por dos vías; en la primera vía, la distensión del estómago envía impulsos nerviosos en los nervios sensoriales hacia el cerebro indicando saciedad. En la segunda vía se reconocen los nutrimentos por las células enteroendócrinas que secretan hormonas anorexigénicas que actúan sobre el hipotálamo regulando la cantidad de comida (Diaz Urbina *et al*., 2018). Sin embargo, la diferencia en el aporte energético entre las dietas fue suficiente para promover una mayor ingesta calórica en los animales del grupo HFFD respecto a los animales del grupo SD. Lo anterior se atribuyó a la densidad energética

de las dietas, ya que las condiciones de mantenimiento de ambos grupos fueron similares, donde los componentes de la dieta fue lo único que se modificó. Así mismo, el consumo de agua fue significativamente menor en los animales del grupo HFFD; lo anterior pudo deberse también al aumento en la ingesta energética. Una dieta alta en grasa (48 %) y alta en fructosa (33 %) en ratones C57BL/6 durante 10 semanas incrementó la ingesta energética con aumento el tejido adiposo (Martinez Orozco *et al*., 2020). Ratas Wistar macho con una dieta similar a la de este estudio (HFFD) incrementaron el consumo energético y disminuyeron la ingesta de agua (Becerril-Campos *et al*., 2022). El aumento del aporte energético, el menor contenido de fibra en la dieta y la disminución de la ingesta de agua podrían incrementar la digestión y la absorción de los nutrimentos por el decremento en la motilidad intestinal y el aumento en el tiempo de absorción de los nutrimentos causando estreñimiento.

En cuanto al desarrollo de obesidad, el peso corporal final fue 26.6 % mayor en los animales con dieta HFFD, es decir, bajo este parámetro los animales del grupo HFFD presentaron obesidad. Buettner y colaboradores en una revisión de dietas altas en grasa (42–60 %) con diferentes fuentes de lípidos y administradas por periodos distintos (entre 21 y 300 días) que promovieron el desarrollo de obesidad, en promedio los estudios con ratones presentaron diferencia en el peso corporal mayor al 10%. Por otra parte, Martínez Orozco (2020) demostró una ganancia mayor al 50% en ratones C57BL/6 alimentados con dieta alta en grasa (48 %) y alta en fructosa (33 %) durante 10 semanas; mientras que, una dieta solo alta en fructosa (33 %) no generó diferencia en el peso corporal final, respecto a la del grupo control (Kim *et al*., 2019; Horne *et al*., 2020). Lo anterior sugiere que tanto el tipo de lípidos, la cantidad y el periodo de experimentación infieren en la ganancia de peso y las alteraciones metabólicas asociadas con la obesidad.

El aumento en la circunferencia abdominal y torácica son indicadores de acumulación de tejido adiposo; en humanos, el aumento en la circunferencia abdominal se ha considerado un predictor independiente de morbilidad y el índice de Lee es un indicador de obesidad y riesgo de sufrir un evento cardiovascular (ENSANUT, 2020); en relación a los modelos murinos, el incremento en la circunferencia abdominal se asocia a tejido adiposo visceral e inflamación crónica de bajo grado. La ingesta de una dieta alta en grasa (22.5 %) durante 20 semanas incrementó el peso corporal, la circunferencia abdominal y el IMC respecto al grupo control en ratas (Moreno-Fernández *et al*., 2018). Por otro lado, el consumo de una dieta alta en grasa (23 %) con fructosa en agua (2.31 %) y colesterol (0.2 %) en ratones aumentó la ganancia de peso corporal y los triglicéridos en suero (Rahman *et al*., 2016). El aumento en el tejido adiposo corporal es característico de la obesidad, como consecuencia del desbalance energético que aumenta la cantidad de ácidos grasos en los adipocitos e incide en la cantidad y el tamaños de estas células (León-Pedroza *et al*., 2015). Nuestros datos coinciden con lo reportado por otros estudios en modelos murinos con dietas altas en grasa y altas en fructosa que promovieron la ganancia de tejido adiposo, principalmente del visceral (Moreno-Fernández *et al*., 2018; Horne *et al*., 2020; Becerril-Campos *et al*., 2022). En humanos, la distribución de tejido adiposo visceral se asocia con el incremento en el desarrollo de enfermedades crónico degenerativas como diabetes e hipertensión (Horne *et al*., 2020). El incremento de triglicéridos en los animales con HFFD, pudo deberse al efecto sinérgico de la grasa y la fructosa que promueven la síntesis de lípidos (Jang *et al*., 2018). A partir de la dieta HFFD que asemeja la dieta occidental se demostraron los cambios en composición corporal y concentración de triglicéridos característicos en la obesidad.

Para evaluar el daño en la barrera intestinal inducido con una dieta HFFD se determinó la permeabilidad epitelial intestinal con un ensayo de permeabilidad FITC-dextrán *in vivo,* lo que sugiere la alteración en la función de la barrera intestinal permitiendo el flujo de este marcador desde el intestino hasta la sangre. Rahman y colaboradores (2016) informaron que a partir del consumo de una dieta alta en grasa, fructosa y colesterol, se incrementó 5 veces más la concentración sérica de FITC-dextrán en ratones comparado con la concentración del grupo control. Así mismo, se ha reportado que el consumo de fructosa produjo disbiosis con permeabilidad intestinal, aún sin cambios en el peso corporal de ratones C57BL/6 (Do *et al*., 2018), al igual que el

consumo de una bebida con 35% de fructosa en el agua de la dieta favoreció disbiosis intestinal asociada con la aparición de neuroinflamación del hipocampo en ratones C57BL/6N (Li *et al*., 2019) con incremento de la expresión de citocinas proinflamatorias (IL-1β, TNF-α, e IL-6). El aumento de la permeabilidad intestinal se atribuyó a la disminución en la expresión de las proteínas de unión estrecha zonula-1 y occludina que protegen la barrera intestinal evitando el paso de endotoxinas del lumen a la circulación (Do *et al*., 2018). La dieta HFFD administrada en este proyecto generó daño en la barrera intestinal provocando aumento en la permeabilidad.

La longitud de los intestinos se midió como parte del análisis de la integridad intestinal; el intestino delgado del grupo HFFD fue significativamente menor respecto al intestino delgado del grupo SD. Otros autores han reportado que la disminución en la longitud del intestino se asocia con aumento en la inflamación de las citocinas IL-6 e IL-1β (Shi *et al*., 2020). Se ha informado que dietas altas en grasa y fructosa favorecen la proporción de bacterias intestinales que producen factores proinflamatorios y disminuyen la proporción de microorganismos que secretan moléculas protectoras como *Akkermansia,* causando además disbiosis (Rahman et al., 2016; Shi et al., 2020). Entre las alteraciones relacionadas con la obesidad se encuentra el aumento en la permeabilidad intestinal y la inflamación de bajo grado que falta por comprobar en este modelo de inducción de obesidad.

Las pruebas conductuales permitieron conocer el efecto de la dieta HFFD en la función del hipocampo relacionada con la pérdida de memoria a corto plazo y daño en la cognición generalizada. La prueba de nidos no mostró diferencia significativa entre ambos grupos. En un estudio para determinar la puntuación en la prueba de nidos a partir del daño en hipocampo de ratones C57BL/6, los animales control tuvieron la puntuación más alta respecto a los grupos con daño en hipocampo (región ventral, región dorsal o daño completo), solo los animales con daño general disminuyeron drásticamente su puntuación (Deacon, 2012). En el laberinto en T, el porcentaje de alternancia fue menor en los animales del grupo HFFD que en los animales del grupo SD. La alternancia menor al 60% se asocia con daño en hipocampo (Deacon & Rawlins, 2006). Nuestros resultados coincidieron con lo reportado por Noronha y colaboradores (2019) quienes indujeron obesidad en ratas con una dieta alta en grasa (45 %) durante 9 semanas, que se asoció con la disminución en el porcentaje de alternancia con la prueba de laberinto en T y se relacionó con aumento en la expresión de citocinas proinflamatorias en el hipotálamo y el núcleo amigdaloide, esto se asoció con la presencia de respuestas indicativas de ansiedad (Noronha *et al*., 2019). Las pruebas de conducta, junto con el análisis por inmunohistoquímica de la presencia de Iba-1 como marcador de activación de microglía en hipocampo, permitieron determinar el efecto del consumo de la dieta HFFD en la funcionalidad del hipocampo. El aumento de la expresión de Iba-1 en hipocampo por el consumo de una dieta hipercalórica alta en grasa y fructosa podría deberse al incremento de estímulos proinflamatorios como el LPS que son reconocidos por las células microgliares y promueven la neuroinflamación (Agustí et al., 2018). Los resultados de esta investigación coincidieron con *lo* reportado por otros autores con modelos murinos con dieta alta en grasa (60 %) y baja en fibra donde la presencia de la microglía aumentó (Shi et al., 2020). Así mismo, una dieta alta en fructosa (35 %) causó una respuesta inflamatoria y gliosis reactiva en hipocampo (Li et al., 2019). Con la finalidad de cuantificar número de células activas de la microglía y diferenciar la morfología de las mismas en ambos grupos se hará el análisis de la densidad de la microglía y la cuantificación de los esqueletos de las células microgliares de los diferentes grupos.

El consumo de una dieta HFFD con 40% de grasa saturada y 20% de carbohidratos simples durante 14 semanas indujo obesidad, con mayor acumulación de tejido adiposo visceral y subcutáneo, incrementos en la circunferencia abdominal, el índice de Lee y trigliceridemia en ratones macho de la cepa C57BL/6. La barrera intestinal se alteró asociado con el aumento en la permeabilidad intestinal y la longitud del intestino delgado disminuyó posiblemente por inflamación. A nivel cerebral, el consumo de la dieta HFFD disminuyó la respuesta de los animales a una prueba de memoria a corto plazo, lo que probablemente se asocia al desarrollo de neuroinflamación debido a la mayor presencia de Iba-

1 en el hipocampo de los ratones con dieta HFFD. Lo anterior sugiere que la dieta HFFD provocó una respuesta inflamatoria en hipocampo que aminoró la memoria. El consumo de una dieta HFFD durante 14 semanas indujo obesidad, permeabilidad intestinal y aumento en la presencia de Iba-1, relacionado con la disminución en la memoria a corto plazo. Nuestro modelo es factible para investigaciones posteriores sobre el efecto de la ingesta excesiva de grasa y azúcares en el eje intestino-cerebro.

Referencias bibliográficas

Agustí, A., García-Pardo, M. P., López-Almela, I., Campillo, I., Maes, M., Romaní-Pérez, M., & Sanz, Y. (2018). Interplay between the gut-brain axis, obesity and cognitive function. *Frontiers in Neuroscience*, 12, 1–17. https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00155

Becerril-Campos, A. A., Ocampo-Anguiano, P. V., Mondragón-Jacobo, C., Escobar-García, K., Camacho Barrón, M., Anaya-Loyola, M. A., Feregrino-Perez, A. A., García-Gasca, T., & Ahumada-Solórzano, S. M. (2022). *Phaseolus vulgaris* L. leaves increase short-chain fatty acid (SCFA) production, ameliorating early metabolic alterations. *Plant Foods for Human Nutrition*. 77, 1–6. https://doi.org/10.1007/s11130-022-00992-1

d'Isa, R., Comi, G., & Leocani, L. (2021). Apparatus design and behavioural testing protocol for the evaluation of spatial working memory in mice through the spontaneous alternation T-maze. *Scientific Reports*, 11(1), 1–13. https://doi.org/10.1038/S41598-021-00402-7

Deacon, R.M. (2012). Assessing burrowing, nest construction, and hoarding in mice. *JoVE Journal*, 59, 1–11. https://doi.org/10.3791/2607

Díaz Urbina, D., Escartín Pérez, R. E., López Alonso, V. E., & Mancilla Díaz, J. M. (2018). Efectos de una dieta con alto contenido de grasas sobre patrones conductuales alimentarios. *Acta Colombiana de Psicología*, *21*(1), 95–105. https://doi.org/10.14718/ACP.2018.21.1.5

Do, M. H., Lee, E., Oh, M. J., Kim, Y., & Park, H. Y. (2018). High-glucose or-fructose diet cause changes of the gut microbiota and metabolic disorders in mice without body weight change. *Nutrients*, *10*(6), 1–14. https://doi.org/10.3390/nu10060761

Horne, R. G., Yu, Y., Zhang, R., Abdalqadir, N., Rossi, L., Surette, M., Sherman, P. M., & Adeli, K. (2020). High fat-high fructose diet-induced changes in the gut microbiota associated with dyslipidemia in Syrian hamsters. *Nutrients*, 12 (11), 1–20. https://doi.org/10.3390/nu12113557

Johnson, L. A., Zuloaga, K. L., Kugelman, T. L., Mader, K. S., Morré, J. T., Zuloaga, D. G., Weber, S., Marzulla, T., Mulford, A., Button, D., Lindner, J. R., Alkayed, N. J., Stevens, J. F., & Raber, J. (2016). Amelioration of metabolic syndrome-associated cognitive impairments in mice via a reduction in dietary fat content or infusion of non-diabetic plasma. *EBioMedicine*, 3, 26–42. https://doi.org/10.1016/J.EBIOM.2015.12.008

Kim, S. J., Kim, S.-E., Kim, A.-R., Kang, S., Park, M.-Y. & Sung, M.-K. (2019). Dietary fat intake and age modulate the composition of the gut microbiota and colonic inflammation in C57BL/6J mice. *BMC Microbiology*, 19 (1), 1–11. https://doi.org/10.1186/S12866-019-1557-9

Kundumani-Sridharan, V., Subramani, J., Raghavan, S., Maiti, G. P., Owens, C., Walker, T., Wasnick, J., Idell, S. & Kumuda, C. (2019). Short-duration hyperoxia causes genotoxicity in mouse lungs: protection by volatile anesthetic isoflurane. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*, 316, 903–917. https://doi.org/10.1152/AJPLUNG.00142.2018

León-Pedroza, J. I., González-Tapia, L. A., Del Olmo-Gil, E., Castellanos-Rodríguez, D., Escobedo, G., & González-Chávez, A. (2015). Inflamación sistémica de grado bajo y su relación con el desarrollo de enfermedades metabólicas: de la evidencia molecular a la aplicación clínica. *Cirugía y Cirujanos*, 83(6), 543–551. https://doi.org/10.1016/J.CIRCIR.2015.05.041

Li, J.M., Yu, R., Zhang, L.P., Wen, S. Y., Wang, S. J., Zhang, X. Y., Xu, Q. & Kong, L. D. (2019). Dietary fructose-induced gut dysbiosis promotes mouse hippocampal neuroinflammation: a benefit of short-chain fatty acids. *Microbiome*, 7, 1–14. https://doi.org/10.1186/S40168-019-0713-7

Luis Román, D. A., Bellido Guerrero, D., & García Luna, P. P. (2017). Bases científicas de la alimentación saludable. En *Dietoterapía, nutrición clínica y metabolismo* (pp: 3-4). (3ª ed) Madrid, España: Ediciones Díaz de Santos.

Martinez Orozco, H. (2020). Efecto de la dieta alta en grasa y fructosa sobre la memoria de reconocimiento y su relación con el ciclo de GABA-Glutamina_Glutamato en la corteza prefrontal e hipocampo de ratones C57BL/6. Tesis Doctoral, Universidad de Guanajuato.

Monk, J. M., Wu, W., Lepp, D., Peter Pauls, K., Robinson, L. E., & Power, K. A. (2021). Navy bean supplementation in established high-fat diet-induced obesity attenuates the severity of the obese inflammatory phenotype. *Nutrients*, 13(3), 1–20. https://doi.org/10.3390/NU13030757

Moreno-Fernández, S., Garcés-Rimón, M., Vera, G., Astier, J., Landrier, J. F., & Miguel, M. (2018). High fat/high glucose diet induces metabolic syndrome in an experimental rat model. *Nutrients*, 10(10), 1–15. https://doi.org/10.3390/nu10101502

Neil, E. S., McGinley, J. N., Fitzgerald, V. K., Lauck, C. A., Tabke, J. A., Streeter-McDonald, M. R., Yao, L., Broeckling, C. D., Weir, T. L., Foster, M. T., & Thompson, H. J. (2019). White kidney bean *(Phaseolus vulgaris* L.) consumption reduces fat accumulation in a polygenic mouse model of obesity. *Nutrients*, 11(11), 1–17. https://doi.org/10.3390/NU11112780

Noble, E. E., Hsu, T. M., & Kanoski, S. E. (2017). Gut to brain dysbiosis: mechanisms linking western diet consumption, the microbiome, and cognitive impairment. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 11(9), 1–10. https://doi.org/10.3389/FNBEH.2017.00009

Shi, H., Wang, Q., Zheng, M., Hao, S., Lum, J. S., Chen, X., Huang, X. F., Yu, Y., & Zheng, K. (2020). Supplement of microbiota-accessible carbohydrates prevents neuroinflammation and cognitive decline by improving the gut microbiota-brain axis in diet-induced obese mice. *Journal of Neuroinflammation*, 17(1), 1–21. https://doi.org/10.1186/s12974-020-01760-1

Rahman, K., Desai, C., Iyer, S. S., Thorn, N. E., Kumar, P., Liu, Y., Smith, T., Neish, A. S., Li, H., Tan, S., Wu, P., Liu, X., Yu, Y., Farris, A. B., Nusrat, A., Parkos, C. A., & Anania, F. A. (2016). Loss of junctional adhesion molecule A promotes severe steatohepatitis in mice on a diet high in saturated fat, fructose, and cholesterol. *Gastroenterology*, 151 (4), 733–746. https://doi.org/10.1053/J.GASTRO.2016.06.022

Biomarcadores metabólicos como diagnóstico para la Enfermedad de Parkinson

Diana B. Ramírez Pineda[1], Dra.Alejandra Eugenia Medina Rivera[2], Dr. Sarael Alcauter Solorzano[3], Dra. Alejandra Evelyn Ruiz Contreras[4], Dr. Miguel E. Rentería [5].

[1] Centro de Ciencia Genómicas, UNAM. dianarp@lcg.unam.mx
[2] Laboratorio Internacional de Investigación sobre el Genoma Humano, UNAM. amedina@liigh.unam.mx
[3] Instituto de Neurobiología de la UNAM. alcauter@inb.unam.mx
[4] Facultad de Psicología de la UNAM. aleruiz@unam.mx
[5] QIMR Berghofer Medical Research Institute en Brisbane, Australia. twitter: @mrenteria_

Resumen

Objetivos: Por medio de análisis bioinformáticos identificar potenciales biomarcadores en sangre y en heces fecales que ayuden al diagnóstico temprano de la enfermedad de Parkinson.

Antecedentes: La mayoría de los pacientes con enfermedad de parkinson son diagnosticados cuando presentan síntomas motores, que es cuando hay un deterioro del sistema dopaminérgico nigroestriatal de un 79% a un 80% y es cuando los daños son irreversibles. Es por eso que la búsqueda de biomarcadores en muestras de fácil obtención (ej. sangre) para el diagnóstico temprano es de relevancia.

Metodología: Las muestras biológicas a analizar provienen del consorcio PDBP (Programa de Biomarcadores de la Enfermedad de Parkinson), donde hay muestras de sangre, orina,entre otras, de pacientes y controles; y del estudio realizado por Xie A. et al(2022).
Se evaluará la correlación entre metabolitos presentes en ENS y en muestra de sangre en personas con enfermedad de Parkinson y personas sanas en diferentes etapas de la enfermedad usando la plataforma bioinformática Terra.

Resultados esperados: Obtener acceso a los datos en PDBP y del trabajo de Xie A. et al(2022), aprender a usar la plataforma Terra y desarrollar el pipeline para el análisis de los datos.
Se espera encontrar metabolitos que tiene una correlación significativa de acuerdo a la etapa de la enfermedad, como acetoacetato, creatina y piruvato mencionadas en Mallet D., et al(2022).

Conclusiones: A partir de análisis metabólicos de datos provenientes de estudios longitudinales se logra una mejor entendimiento de la enfermedad de parkinson.

Objectives: Through bioinformatic analysis to identify potential biomarkers in blood and feces that help early diagnosis of Parkinson's disease.

Background: Most patients with Parkinson's disease are diagnosed when they present motor symptoms, which is when there is a 79% to 80% deterioration of the nigrostriatal dopaminergic system and that is when the damage is irreversible. That is why the search for biomarkers in easily obtained samples (e.g. blood) for early diagnosis is relevant.

Methodology: The biological samples to be analyzed come from the PDBP consortium (Parkinson's Disease Biomarkers Program), where there are blood and urine samples, among others, from patients and controls; and from the study done by Xie A. et al (2022).
The correlation between metabolites present in ENS and in blood samples in people with Parkinson's disease and healthy people at different stages of the disease will be evaluated using the Terra bioinformatics platform.

Results: Access to data in PDBP and the data used in the research of Xie A. et al (2022), learn how to use the Terra platform, and development of the pipeline for data analysis. It is expected to find metabolites that have a significant correlation according to the stage of the disease,

such as acetoacetate, creatine and pyruvate mentioned in Mallet D., et al(2022).

Introducción

La enfermedad de Parkinson (EP) es la segunda enfermedad neurodegenerativa más prevalente a nivel mundial, después de la enfermedad de alzheimer, y afecta cerca del 1% de las personas mayores de 60 años[1-5].

La enfermedad se caracteriza por la muerte de las neuronas dopaminérgicas, las cuales están encargadas de la coordinación del movimiento, esto causa que los pacientes presenten temblores, lentitud, rigidez y problemas de equilibrio. Sin embargo, también muestran síntomas no motores, como depresión, estreñimiento, problemas de memoria, entre otros.

La EP es muy compleja ya que participan diferentes factores tanto genéticos como ambientales. El tracto gastrointestinal (GI) es considerado como el segundo cerebro por tener un gran número de neuronas, y es el lugar donde el sistema nervioso tiene contacto con el medio exterior, gracias a los metabolitos y a la flora intestinal presente, y por consiguiente es el sitio de mayor fuente de estrés oxidativo en tejido neural [6,7].

Se conoce que los síntomas gastrointestinales y los cuerpos de Lewy en el sistema nervioso entérico (ENS) aparecen en las etapas tempranas de EP [6,8]. También se ha observado que existe diferencia en la microbiota entre los pacientes y controles [7,9].

Pacientes con parkinson muestran significativamente mayor permeabilidad intestinal que los controles sanos; además ésta correlaciona significativamente con tinción de la mucosa intestinal para *Escherichia coli*, nitrotirosina, alfa-sinucleína y niveles séricos de LBP (proteína de unión a LPS) [8,9].

De acuerdo a la progresión de la EP hay 3 etapas: 1) Preclínica: donde inicia la neurodegeneración de manera asintomática, 2) prodromal: donde se presentan síntomas no motores, y 3) clínica: en donde ya hay síntomas motores. Mayoritariamente es en ésta última fase cuando se llega al diagnóstico de la enfermedad [10-12]. En este punto, cuando los síntomas clínicos aparecen los pacientes han perdido un 80% de las terminales nerviosas de las neuronas dopaminérgicas [**1**]. El análisis post mórtem e histopatológico muestra que la precisión del diagnóstico actual de EP es sólo del 53 % en pacientes con síntomas motores que se manifiestan en un periodo menor a 5 años. Por lo que un diagnóstico en algunas de las 2 primera etapas es fundamental para un mejor pronóstico, sin embargo, hasta el momento no se ha desarrollado un método de diagnóstico temprano para esta enfermedad.

En este proyecto el objetivo es detectar metabolitos que potencialmente puedan servir como biomarcadores durante la etapa temprana de la enfermedad, y que puedan ser detectados tanto en sangre como en heces fecales.

Metodología

Obtención de muestras

Muestras de sangre de ‘pacientes de novo’, es decir, aquellos recién diagnosticado o que no han recibido ningún tratamiento con L-dopa, del consorcio Parkinson’s Disease Biomarkers Program(PDBP) donde hay más de mil muestras biológicas de pacientes y controles que se les dio seguimiento por varios años,con sus respectivos datos clínicos. Cabe mencionar que este consorcio fue usado en el estudio de Mallet D., et al(2022).

Por ser datos sensibles es necesario solicitar autorización para acceder a ellos.

Para las muestras de heces fecales, se solicitará el acceso a los autores del artículo hecho por Xie A., et al (2022).

El grupo control no debe presentar ningún antecedente familiar de alguna enfermedad neurodegenerativa. En cuanto al rango de edad debe ser muy similar entre cada grupo(pacientes y controles).
Se necesitarán diferentes muestras tomadas en diferentes tiempos, para poder realizar un análisis longitudinal del metaboloma de los pacientes y controles.
De ser posible obtener información sobre la dieta de los grupos mencionados.

Análisis bioinformático
Los análisis bioinformáticos de estos datos serán realizados en la plataforma de Terra, la cual es una plataforma de bioinformática en la nube desarrollada por el Broad Institute en colaboración con Microsoft y Verily. En ella se permite hacer análisis directamente en la nube, sin necesidad de descargar los datos en la computadora.

Se realizará *multivariate analysis* seguido de OPLS para encontrar metabolitos asociados con un estado específico de la enfermedad

Resultados esperados

Se espera que haya una correlación en la presencia de un mal metabolismo de lípidos, ya que en estudios anteriores se ha visto que ocurre un desequilibrio en los pacientes con parkinson[2].

De acuerdo al estudios metabólicos realizados en muestra de sangre[2] se espera que se observe una correlación dependiente de la edad de los pacientes del metabolismo de glicina, treonina y serina.

Además de encontrar de manera significativa un cambio en la presencia de los siguientes metabolitos: acetoacetato,betaine, BHB, creatina, piruvato y valina, los cuales son propuestos como candidatos para identificar la etapa temprana de la enfermedad tanto en muestra de sangre como en modelos animales[1]. Así como metabolitos no antes descritos.

Ya se tiene acceso a la plataforma Terra, y se espera que en las próximas semanas ya estén disponibles los datos de las muestras de sangre y de heces fecales, de PDBP y las usadas por el equipo de Xie A., et al (2022), correspondientemente.

Discusión y conclusión

Es importante recordar que las diferentes técnicas de extracción y de procesamientos de las muestras pueden ser un factor que afecte los posteriores análisis, y por lo mismo en diferentes estudios de metabolómica los resultados varían.

Y el hecho de tener disponible muestras de los pacientes y de los controles en diferentes años nos permite tener más recursos para entender esta enfermedad. Se puede hacer una mejor comparación en la concentración de ciertos metabolitos que ya se han descrito antes y que con estos análisis longitudinales les da una correlación significativa.

Referencias

1. Mallet D., Dufour T., Docurt M., Carcenac C., Bossù P., Verlin L., Fernagut P., Benoit-Marand M., Spalletta G., Barbier E., Carnicella S., Sgambato V., Fauvelle F., Boulet S., (2022) A metabolic biomarker predicts Parkinson's disease at the early stages in patients and animal models. The Journal of Clinical Investigation, 132(4):e146400. https://doi.org/10.1172/JCI146400

2. Xie A., Ensink Ba E., LI P., et al (2022)Bacterial Butyrate in Parkinson's Disease Is Linked to Epigenetic Changes and Depressive Symptoms. Movement Disorders, Vol. 37, No. 8. https://doi.org/10.1002/mds.29128

3. D'AScenzo N., Antonecchia E., Angiolillo A.,Bender V., Camerlenghi M., Xie Q., Di Costanzo A. (2022) Metabolomics of blood reveals age-dependent pathways in Parkinson's

Disease. Cell & Bioscience, 12:102 https://doi.org/10.1186/s13578-022-00831-5

4. Yan J., Feng X., Zhou X., Zhao M., Xiao H., Li R., Shen H. (2022) Identification of gut metabolites associated with Parkinson's disease using bioinformatics analysis. Frontiers in Aging Neuroscience. 14:927625.doi:10.3389/fnagi.2022.927625

5. Samii A., (2004), et al. Parkinson's disease. Lancet., 363:1783–1793.

6. Havelund J., et al. (2017) Review: Biomarker Research in Parkinson's Disease Using Metabolite Profiling. Journal Metabolites, 7, 42; doi:10.3390/metabo7030042

7. Scheperjans F., et al. (2015) Gut microbiota are related to Parkinson's disease and clinical phenotype, Movement Disorder.350e358.https://doi.org/10.1002/mds.26069

8. Forsyth C., Shannon K., Kordower J., Voigt R., Shaikh M., Jaglin J., Estes J., Dodiya H., Keshavarzian A. (2011) Increased Intestinal Permeability Correlates with Sigmoid Mucosa alpha-Synuclein Staining and Endotoxin Exposure Markers in Early Parkinson's Disease. PLOS one. doi:10.1371/journal.pone.0028032.g00

9. Unger M., Spiegel J., et al. (2016) Short chain fatty acids and gut microbiota differ between patients with Parkinson's disease and age-matched controls. Elsevier: Parkisonism and Related Disorders. 1353-8020. http://dx.doi.org/10.1016/j.parkreldis.2016.08.019

10. Postuma RB., et al. (2015) MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. Mov Disord., 30(12):1591–1601.

11. Hughes AJ., et al. (1992) What features improve the accuracy of clinical diagnosis in Parkinson's disease: a clinicopathologic study. Neurology, 42(6):1142–1146

12. Adler CH., et al. (2014) Low clinical diagnostic accuracy of early vs advanced Parkinson disease: clinico-pathologic study. Neurology., 83(5):406–412.

Biosensor de glucosa en sangre basado en Au/ZnO

Autores: A. Y. Reséndiz-Jaramillo[a*], R.A. Escalona-Villalpando[a].
Colaboradores: I.R. Chavez-Urbiola[b], F.J. Willars-Rodriguez[c], G. Martinez-Saucedo[b], L. G. Arriaga[d], J. Alcantar-Peña[b], J. Ledesma-García[a]

[a] Centro de Ingeniería y Desarrollo Industrial, Avenida Playa Pie de la Cuesta #702, Santiago de Querétaro, 76125 Querétaro, México
[b]División de Investigación y Posgrado, Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro, 76010 Santiago de Querétaro, Mexico
[c]CINVESTAV-Querétaro, Libramiento Norponiente #2000, Querétaro 76230, Mexico
[d]Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica, 76703 Querétaro, Mexico

*email: ariresendiz2@gmail.com

Abstract

The present work shows the influence of the isoelectric indirect effect of the semiconductor ZnO in the enzymatic immobilization in a glucose biosensor. For this purpose, thin films based on Au and Au/ZnO were synthesized on a microstructured flexible substrate of polyamide filter membrane (P.F) and characterized by FESEM and XRD. Both flexible surfaces were used to immobilize glucose oxidase (GOx) enzyme mixed with ferrocene methanol (Fc) and multiwalled carbon nanotubes (GOx-Fc/MWCNT). Subsequently, these surfaces were used as working electrodes to be evaluated as glucose biosensors. The effect of the ZnO film was compared. The performance of the flexible substrate based on Au/GOx-Fc/MWCNT and Au/ZnO/GOx-Fc/MWCNT as glucose sensor showed similar linearity between 0 – 12 mM glucose; however a higher sensitivity (30.00 µA mM-1 cm-2) and lower limit of detection and quantification values were obtained (0.25 mM and 0.83 mM, respectively) when ZnO thin film was used. The results suggest that the ZnO thin film in junction with GOx enzyme enhance the immobilization process of the biocatalyst, resulting in an improvement of the glucose biosensor parameters.

Keywords: ZnO film, glucose biosensor, glucose oxidase enzyme, electron-beam evaporation, polyamide filter-membrane.

Resumen

El presente trabajo muestra la influencia del efecto isoeléctrico indirecto del semiconductor ZnO en la inmovilización enzimática en un biosensor de glucosa. Para ello, se sintetizaron películas delgadas basadas en Au y Au/ZnO sobre un sustrato flexible microestructurado de membrana filtrante de poliamida (P.F) y se caracterizaron mediante FESEM y DRX. Ambas superficies flexibles se utilizaron para inmovilizar la enzima glucosa oxidasa (GOx) mezclada con ferroceno metanol (Fc) y nanotubos de carbono multipared (GOx-Fc/MWCNT). Posteriormente, estas superficies se utilizaron como electrodos de trabajo para ser evaluados como biosensores de glucosa. Se comparó el efecto de la película de ZnO. El rendimiento del sustrato flexible basado en Au/GOx-Fc/MWCNT y Au/ZnO/GOx-Fc/MWCNT como sensor de glucosa mostró una linealidad similar entre 0 - 12 mM de glucosa; sin embargo, se obtuvo una mayor sensibilidad (30,00 µA mM-1 cm-2) y un menor límite de detección y cuantificación (0,25 mM y 0,83 mM, respectivamente) cuando se utilizó la película fina de ZnO. Los resultados sugieren que la película delgada de ZnO en unión con la enzima GOx mejora el proceso de inmovilización del biocatalizador, lo que resulta en una mejora de los parámetros del biosensor de glucosa.

Palabras clave: Película de ZnO, biosensor de glucosa, enzima glucosa oxidasa, evaporación por haz de electrones, membrana filtrante de poliamida.

Introducción

El campo de los biosensores está en constante investigación y desarrollo. En el caso de los biosensores de glucosa, estos son importantes porque se han utilizado ampliamente para controlar la concentración de glucosa, que está relacionada con la diabetes mellitus (DM). La DM puede inducir niveles anormales de azúcar en la sangre, que normalmente oscilan entre 4,4 - 6,6 mM, las consecuencias pueden ser ceguera, enfermedades renales, enfermedades cardiovasculares y amputación de extremidades [2].

Entre los biosensores de glucosa, los basados en la electroquímica son los que lideran las aplicaciones prácticas, como las tiras de glucosa en sangre y los dispositivos de monitorización continua de glucosa [3]. Los sensores electroquímicos destacan por su bajo coste de fabricación, su selectividad, su rango de respuesta lineal y su versatilidad para detectar analitos en diferentes fluidos corporales [4].

Es bien sabido que los metales nobles se han utilizado para mejorar la conductividad y favorecer el proceso de transferencia de electrones en la reacción de oxidación de la glucosa entre la enzima glucosa oxidasa (GOx) y una superficie de electrodo. En este sentido, las nanoestructuras de óxidos metálicos resultan atractivas por sus propiedades únicas como el aumento de la superficie, la compatibilidad enzimática, la estabilidad y facilitar el proceso de inmovilización enzimática, entre otras [5].

En este contexto, el ZnO ha atraído la atención porque es un material no tóxico que tiene estabilidad estructural y se ha reportado que aumenta la estabilidad de la inmovilización de enzimas, debido a sus interacciones electrostáticas entre el ZnO y los grupos funcionales ácidos de la enzima generados por una diferencia en el punto isoeléctrico. El punto isoeléctrico del GOx es de 4,9 [6] a un pH cercano a 7 donde presenta un potencial negativo; mientras que el ZnO con un punto isoeléctrico de 9,5 presenta uno positivo, lo que da lugar a fuerzas de atracción entre el ZnO y el GOx. Aprovechando estas ventajas, el ZnO se ha empleado en sensores enzimáticos de glucosa, soportado sobre diferentes materiales nanoestructurados.

En este trabajo se utilizó un sustrato microestructurado de membrana filtrante de poliamida (P.F) debido a su flexibilidad y alta porosidad (200 nm de tamaño de poro) que proporciona un soporte flexible para depositar las películas delgadas de Au y Au/ZnO mediante el método de evaporación por haz de electrones. Ambos materiales se utilizaron para la inmovilización de la enzima glucosa oxidasa GOx.

Para facilitar el proceso de transferencia de electrones se emplearon nanotubos de carbono multipared y ferroceno metanol FcMOH (Figura 1). El desarrollo de este biosensor aporta interesantes propiedades, siendo el ZnO un material semiconductor con mayor resistividad (103 Ω-cm) que el Au (10-6 Ω-cm), por lo que la señal eléctrica resultante debería ser menor cuando se utiliza una capa de ZnO, pero en cambio la señal eléctrica aumenta.

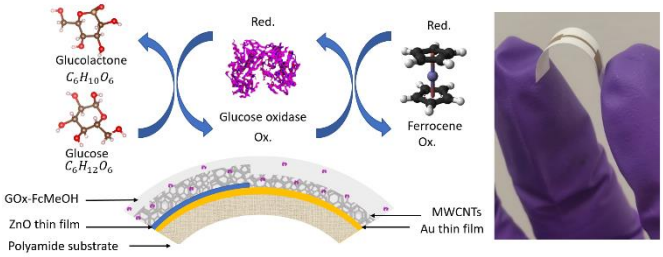


Figura 1 *Configuración del bioelectrodo utilizando películas delgadas de ZnO y Au, MWCNTs y FcMeOH para la inmovilización de la glucosa oxidasa.*

El electrodo resultante es flexible, con una gran superficie, una gran reproducibilidad cuando se produce en masa y una buena conductividad eléctrica. Además, el ZnO es adecuado para la inmovilización de enzimas y los MWCNT como mediadores confieren una alta eficiencia en la transferencia de electrones. La configuración del bioelectrodo y los materiales aquí reportados son alternativas viables para ser implementados en biosensores.

Metodología

La glucosa oxidasa (GOx) de Aspergillus Niger (100.000-120.000 U/g) de tipo X-S, D-(+)- glucosa y el reactivo ACS se adquirieron en Sigma-Aldrich. Se preparó una solución tampón de fosfato (PBS) con Na2HPO4 y KH2PO4 (pH 7,4 y 0,1 M), se preparó un 1% de glutaraldehído (GA) a partir de un 50% de GA en agua desionizada (DI), metanol de ferroceno (FcMeOH) de Sigma-Aldrich, nanotubos de carbono multipared (MWCNT) de 13 nm × 2,5-20 μm de Merck. Los gránulos de oro y el blanco de óxido de zinc, (gránulos de Au de 99,9% de pureza, 4 pulgadas de diámetro x 0,317 cm de grosor) de Kurt J. Lesker Company), el sustrato de poliamida se adquirió del filtro Whatman (tamaño de poro 0,2 μm).

Preparación del GOx-Fc/MWCNT

La preparación del bioelectrodo (GOx-Fc/MWCNT) consistió en un método de confinamiento de la enzima GOx y se realizó depositando la enzima (10 mg mL-1) en PBS 0,1 M; pH 7,6. Como mediador electroquímico se utilizó ferroceno metanol (FcMeOH) en una concentración de 1 mg 0,5 mL-1 en DI:MeOH en una relación volumétrica 1:1 v/v. Ambas soluciones se mezclaron y se añadieron al MWCNT en una proporción 1:1 p/p con respecto a la enzima y finalmente se añadió GA (24 μl).

A continuación, la solución se agitó durante 1 minuto y se sonicó durante 2 min, repitiendo este procedimiento 3 veces. Finalmente, se colocaron 10 μl de la mezcla en los electrodos de trabajo con Au y Au/ZnO y se secaron durante 24 horas a 4 °C.

Caracterización electroquímica del GOx-Fc/MWCNT

La caracterización electroquímica de los bioelectrodos Au/GOx-Fc/MWCNT y Au-ZnO/GOx-Fc/MWCNT se llevó a cabo mediante la técnica de voltametría cíclica (CV) con una ventana entre -0,1 - 0,5 V (frente a Ag/AgCl) a 10 mV s-1 en una solución tampón PBS 0,1 M con pH 7,4. Se utilizó una configuración de celda electroquímica de tres electrodos. Trabajando con una barra de grafito y un electrodo de Ag/AgCl como contraelectrodo y electrodo de referencia respectivamente.

Para la caracterización por amperometría, se aplicó un potencial constante de 0,35 V (frente a Ag/AgCl) realizando adiciones de glucosa sin agitación. Todos los experimentos se realizaron por triplicado y la desviación estándar y las barras de error se muestran en los resultados.

La selectividad del biosensor se llevó a cabo en presencia de diferentes interferentes. El experimento consistió en la adición consecutiva de 0,2 mM de ácido úrico (UA), 12 nM de dopamina (DA), 4 mM de lactato (LA) y 0,06 mM de ácido ascórbico (AA) en PBS 7.4 aplicando 0,35 V como potencial constante en condiciones dinámicas normales.

Los experimentos se realizaron utilizando un potenciostato/galvanostato (BioLogic; SAS Science Instrument VSP) y EC Epsilon (EClipse TM).

Análisis por microscopía electroquímica de barrido

Para el análisis de la actividad superficial de los electrodos de trabajo se utilizó un SECM (Scanning Electrochemical Microscopy) de Biologic (Modelo USECM470). Se realizó un análisis de barrido hacia la dirección del eje X de las superficies de P.F.Au y

P.F.Au/ZnO en modo de retroalimentación. En este ensayo se utilizó una solución de KCl (0,1 M) con 0,5 mM de K4[Fe(CN)6] aplicando un potencial de 0,4 V (frente a Ag/AgCl) y 10 µm/s de velocidad de barrido UME sobre UMA (10 µM de diámetro). Para el análisis en la superficie de P.F/Au/ZnO/GOx/Fc/MWCNT, se utilizó el método de modo de retroalimentación en PBS 0,1 M pH 7,4 (0,1 M) con FcMeOH 0,5 mM en glucosa 10 mM aplicando 0,35 V de valor potencial ET.

Síntesis de poliamida/Au y poliamida/Au/ZnO

La película fina de Au (100 nm de espesor) se depositó mediante la técnica de evaporación por haz de electrones a una velocidad de deposición de 0,5 Å/s sobre el sustrato basado en un filtro de poliamida microestructurado con 0,2 µm de diámetro de poro. Los electrodos se formaron empleando una máscara de sombra con un área de trabajo de 0,016 cm2, conectada con almohadillas para las conexiones eléctricas. A continuación, las almohadillas se cubrieron con cinta de poliamida, donde sólo la zona de trabajo quedó expuesta a la deposición de ZnO.

Se depositó una película de ZnO de 100 nm de espesor con una potencia de radiofrecuencia de 100 vatios a 13,56 MHz. La configuración del vacío se fijó con gas nitrógeno y se ajustó a una presión de trabajo de 14,66 Pascales con 50 ccm. También se preparó un electrodo de trabajo de referencia sin la película de ZnO para observar la interacción sin la película semiconductora. Las propiedades morfológicas se determinaron mediante microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FE-SEM) con una sonda JEOL JSM-5300.

Resultados

Caracterización del material

La morfología de la poliamida y las películas posteriores de Au, ZnO y GOx-Fc/MWCNT se muestran en la Figura 2. En dicha figura se pueden observar las fibras de poliamida, que tienen un grosor de entre 100 y 200 nm. Asi mismo, las fibras forman una red con aberturas de 200 nm - 1 µm. Después de la metalización de la poliamida (Figura 2b) se observa un cambio morfológico considerable, debido a que las fibras fueron cubiertas.

Esta película metálica está compuesta por granos de unos 10-50 nm. La coalescencia de los granos induce una reducción de la apertura neta que da lugar a una superficie muy rugosa. Una vez que la película está cubierta uniformemente por el semiconductor ZnO (Figura 2c) se puede apreciar la capa final basada en MWCNT en la Figura 2d, donde se observan cúmulos de 1 µm de diámetro con huecos entre ellos de 1-2 µm. Los huecos en la capa superior de MWCNT permiten que el fluido llegue a la capa semiconductora, lo que provocará una atracción electrostática inducida por la película de ZnO.

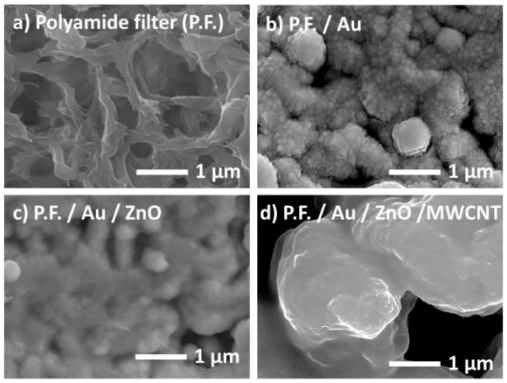


Figura 2 *Micrografías FESEM de a) P.F., b) P:F/Au, c) P.F/Au/ZnO, y d) P.F/Au/ZnO/GOx-Fc/MWCNTs*

Las propiedades estructurales se determinaron mediante difracción de rayos X. La Figura 3 muestra los patrones de difracción de Vidrio/ZnO (línea negra), P.F/Au/ZnO/GOx/FcMeOH/MWCNT (línea azul), y P.F/Au /GOx/FcMeOH/MWCNT (línea roja).

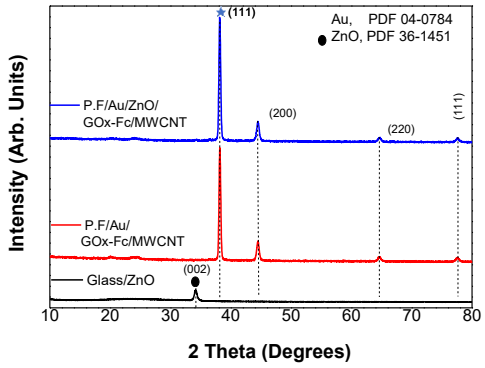


Figura 3 Difracción de rayos X de varias superficies: vidrio/ZnO (negro), P.F/Au/GOx-Fc/MWCNT (azul) y P.F/Au/ZnO/GOx-Fc/MWCNT (rojo).

Caracterización electroquímica del GOx-FcMeOH/MWCNT

La caracterización electroquímica de los electrodos de Au y Au/ZnO se llevó a cabo mediante voltamperometría cíclica en medios ácidos y básicos, respectivamente.La Figura 4 muestra la voltamperometría cíclica (CV) del GOx-Fc/MWCNT sobre P.F/Au (Figura 4a), donde se observa un par de picos redox a 0.31 V y 0.2 V (vs. Ag/AgCl), que corresponden al mediador FcMeOH, de acuerdo con valores ya reportados [7][8].

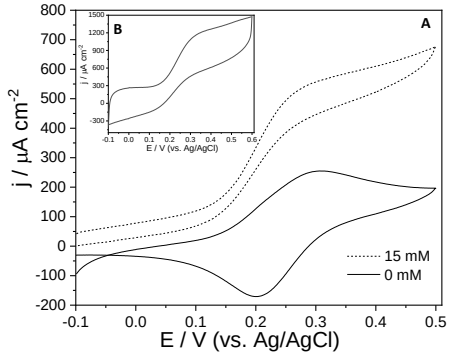


Figura 4 CV of the P.F/Au/GOx-Fc/MWCNT (A) and P.F/Au/ZnO GOx-Fc/MWCNT (B) in 0.1 M PBS pH 7.4 in the absence or presence 15 mM glucose at 10 mV s-1 scan rates.

Después de confirmar el efecto catalítico entre GOx-Fc/MWCNT en las superficies P.F/Au y P.F/Au/ZnO, se realizaron experimentos de respuesta amperométrica a diferentes concentraciones de glucosa. Los experimentos se llevaron a cabo en una solución PBS de pH 7,4 (0,1 M) en condiciones estáticas. Los gráficos de calibración se muestran en las Figuras 5c-5d para P.F./Au/MWCNT y P.F./Au/ZnO/MWCNT, respectivamente.

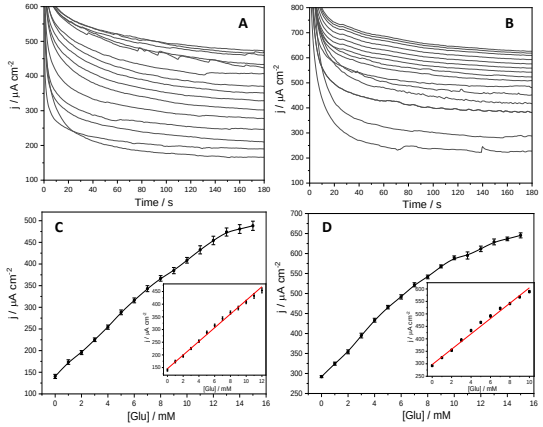


Figura 5 Respuesta amperométrica de A) P.F./Au/ GOx-Fc/MWCNT y B) P.F./Au/ZnO/ GOx-Fc/MWCNT a diferentes concentraciones de glucosa a 0,35 V en PBS 0,1 M pH 7,4 en estado estacionario y, su gráfico de calibración de C) P.F./Au/GOx-Fc/MWCNT y D) P.F./Au/ZnO/ GOx-Fc/MWCNT.

Se llevó a cabo una evaluación de la selectividad del electrodo basado en P.F./Au/ZnO/MWCNT. Los analitos interferométricos empleados fueron los que pueden intervenir en una medición de glucosa en sangre: 4 mM de lactato (LA), 0,3 mM de ácido úrico (UA), 0,06 mM de ácido ascórbico (AA) y 12 nM de dopamina (DA). La prueba de selectividad consistió en una adición de 1 mM de glucosa (Glu), seguida de la adición de las moléculas interferométricas, y este proceso se repitió dos veces. Como puede verse en la Figura 6

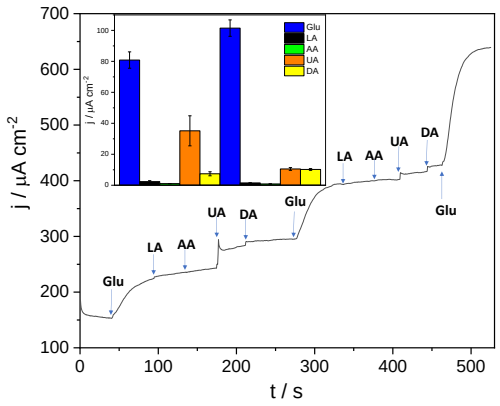


Figura 6 Respuesta amperométrica del biosensor de glucosa P.F./Au/ZnO/MWCNT al interferente 4 mM LA, 0,3 mM UA, 0,06 mM AA y 12 nM DA a 0,36 V pH 7,4 (0,1 M).

El análisis SECM se realizó en la superficie del electrodo Au y Au/ZnO en un área de 2000 µm x 100 µm, utilizando K4[Fe(CN)6] como molécula sonda y aplicando 0,4 V de potencial utilizando el modo de retroalimentación según Bedioui et al. [9].

Como se puede observar en la Figura 7A, dos regiones diferenciadas en corriente corresponden al barrido de Au desde 0 - 45 µm aproximadamente con valores máximos de corriente entre 4,6 a 9,8 nA; mientras que en Au/ZnO se observa un valor de corriente más bajo alrededor de 4,6 nA, que es un resultado esperado debido a la naturaleza semiconductora del ZnO. Este efecto también puede observarse en el gráfico 2D de la Figura 7b, con una zona más oscura que la otra, correspondiente al aumento de la corriente. Posteriormente, se realizó el análisis de la superficie de Au/ZnO con GOx/FcMe/MWCNT en ausencia y presencia de glucosa, el análisis se realizó en FcMeOH 0,5 mM en PBS pH 7,4 [10].

Se observa un mayor valor de corriente cuando hay una mayor proporción de sitios catalíticos para la oxidación de la glucosa como se muestra en la Figura 7C. Esto se corrobora en el histograma comparativo en ausencia y presencia de glucosa, donde la corriente aumenta (Figura 7D). Este resultado es importante ya que la detección de la superficie es modificada primero por Au/ZnO y luego por la enzima GOx como electrodo eficiente para la reacción de oxidación de la glucosa.

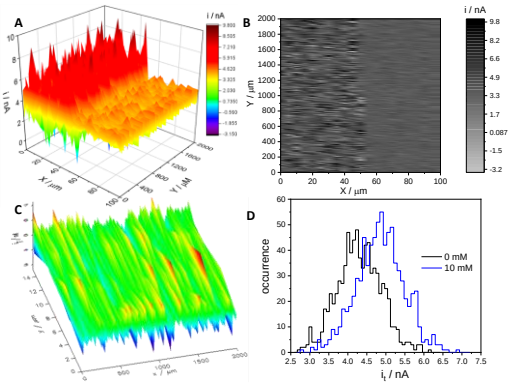


Figura 7 Imágenes SECM en modo de retroalimentación. (A) Gráfico 3D de P.F/Au y P.F/Au/ZnO en una solución de KCl 0,1 M con 0,5 mM de K4[Fe(CN)6]. (B). Gráfico 2D de P.F/Au/ZnO con GOx/Fc/MWCNT en PBS 0,1 M pH 7,4 con 0,5 mM de FcMeOH en (C) 10 mM de glucosa. (D) Histograma gráfico de la respuesta de la corriente y la aparición de la oxidación de la glucosa por GOx/FcMeOH/MWCNT en P.F/Au/ZnO.

La Tabla 1 presenta la comparación entre la sensibilidad del biosensor aquí presentado con otros sensores electroquímicos de glucosa ya reportados. El electrodo basado en P.F/Au/ZnO/GOx-Fc/MWCNT presenta una sensibilidad dos veces mayor que la ya publicada por Munje (14,5 µA mM-1 cm-2). Este resultado podría atribuirse a la implementación de MWCNT [11]. El uso de un sustrato microporoso da lugar a un rendimiento del sensor similar al obtenido por esas películas nanoestructuradas.

El filtro microestructurado con recubrimiento metálico utilizado como sustrato da como resultado una sensibilidad similar a la de los nanorods (1,94 µA mM-1 cm-2) y a la de los sustratos de nano peines (15,3 µA mM-1 cm-2), pero inferior a los valores reportados para las nanoesferas (64,29 µA mM-1 cm-2). Tres aspectos principales están presentes en esta configuración, el sustrato microestructurado, la gran área efectiva de los MWCNT y el efecto de refuerzo enzimático del ZnO.

Tabla 1 Comparación de diferentes biosensores de glucosa utilizando ZnO

Electrode/medium	Detection range (mM)	Sensitivity $\mu A\ mM^{-1}\ cm^{-2}$	LOD (mM)	Ref
ZnO nanospheres / PBS	1-10	64.29	0.82	[15]
P.F./Au/ZnO/GOx-Fc/MWCNT / PBS	0-10	30.3	0.25	This work
P.F./Au/GOx-Fc/MWCNT / PBS	0-12	26.3	0.54	This work
ZnO Nanocombs / PBS	0.02-4.5	15.3	0.02	[14]
P.A./ Au / ZnO /PBS	0.006-8	14.5	0.1	[10]
ZnO nanorods /PBS	0.1-9	1.94	0.002	[13]
ZnO three-dimensional hierarchical /PBS	1-20	1.4	0.00007	[16]
Ni 3D porous film / NaOH / NaOH	0.0005 – 4	2900	0.00007	[45]
ZnO hexagonal prisms / KOH	0.01-8.1	824.34	0.00028	[17]
NiO Nano Particles/SWNT / NaOH	0.0002 – 1.2	0.0025	0.0005	[46]

Discusión

3.1 Caracterización del material

Las propiedades eléctricas del semiconductor ZnO pueden presentar variaciones entre las técnicas de deposición. Se empleo una técnica de sputtering con un blanco de ZnO de 4 pulgadas bajo una corriente de argón de 5 ccm, (Kurt J. Lesker Company). En el mismo depósito se prepararon los electrodos de trabajo y un deposito sobre vidrio para estudiar las propiedades eléctricas del ZnO, ambos en las mismas condiciones.

Las propiedades eléctricas sobre la estructura de vidrio/ZnO se obtuvieron mediante mediciones Hall con una configuración Van der Pauw. La película de ZnO depositada por sputtering presenta un comportamiento tipo-n por lo que es necesaria una baja función de trabajo del metal para producir un contacto óhmico para su análisis, como Ag o Al. En este caso, se pintó Ag como contacto, con una función de trabajo de 4,2 eV. Las propiedades eléctricas de la película resultante se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2 propiedades eléctricas de la película resultante

Film thickness	100 nm
Resistivity	6.44 Ω cm
Carrier concentration	$3.33 \times 10^{14}\ cm^{-3}$
Mobility	$2.91 \times 10^{3}\ cm^2/\ Vs$
Semiconductor type	N

Donde la resistividad puede disminuir hasta x 10-2 Ω cm si se aplica un tratamiento térmico. Además, se realizaron ensayos mecánicos sobre el electrodo flexible como pruebas de flexión y torsión. Los resultados muestran que la resistencia del electrodo cambia en función del ángulo de flexión y torsión. El análisis de flexión normal mostró una modificación de la resistencia inferior al 2% respecto al valor original.

La mayor desviación de la resistencia fue del 1,5% para un ángulo de 120°. Este valor de desviación disminuyó a 0,76% y 0,61% para 90° y ángulos inferiores a 90°, respectivamente. Por otro lado, la flexión torsional se realizó sólo para 45° y 90°, la variación de la resistencia fue de 3,7% y 2,7% respectivamente respecto al valor original. La estabilidad mecánica se conserva en el sustrato de P.F, y la continuidad eléctrica se mantiene después de 100 dobleces.

La película de ZnO depositada sobre el sustrato de vidrio presentó un solo plano de difracción, debido a que la baja intensidad del pico de difracción no permite identificar otros planos. Según resultados ya publicados, las mismas condiciones de deposición para producir películas más gruesas para aplicaciones de diodos [12], donde se observa una estructura policristalina cúbica que coincide con el PDF #36-1452. La película fina de ZnO empleada sólo mostraba el plano (002) a 34,35°. Tanto los electrodos de trabajo de P.F/Au/GOx/FcMeOH/MWCNT como los de P.F/Au/ZnO/GOx/FcMeOH/MWCNT presentan la estructura cristalina cúbica de Au que coincide con el PDF #04-7084.

La cristalinidad de la película de ZnO disminuye aún más en el P.F., donde los planos de difracción alcanzan el nivel de ruido, mostrando una falta de cristalinidad. Los electrodos de trabajo presentaron planos de difracción a 38,14°, 44,48°, 64,61° y 77,53° que corresponden a los planos (111), (200), (220) y (311) respectivamente. Los parámetros de red y los

cálculos del tamaño de los cristalitos se obtuvieron empleando la fórmula de Debye-Scherrer y la ley de Bragg utilizando el software Jade 8.7. El tamaño de cristalito obtenido de la fase cúbica de Au fue de 29 nm, lo que fue confirmado por el análisis morfológico con SEM.

Caracterización electroquímica del GOx-FcMeOH/MWCNT

En el caso de la película de Au, se obtiene un perfil electroquímico característico y se estimó una superficie electroquímica (ESA) de 0,8 ± 0,0108 cm2. En el medio básico, el electrodo de Au/ZnO muestra el pico característico del ZnO.

Cuando se utilizó un electrodo basado en P.F/Au en presencia de 15 mM de glucosa, el valor de la densidad de corriente es de 356,8 µA cm-2 ± 15,4 (0,36 V), y para el electrodo basado en P.F/Au/ZnO (Figura 3b) el valor alcanzado es de 985,2 µA cm-2 ± 6,8 (0,36 V). La presencia de Au uniformemente depositado sobre el P.F beneficia la conductividad eléctrica, así como la transferencia de electrones producida por el GOx-mediador. Por otro lado, la película de P.F/Au/ZnO podría conferir un entorno estable para la mayor actividad catalítica de la enzima GOx [13].

El electrodo de P.F./Au/ GOx-Fc/MWCNT (Figura 4a) muestra un comportamiento lineal para el rango 0-12 mM (regresión lineal de 0,995) y una sensibilidad de 26,3 ± 3,6 µA/mM-1 cm-2. El límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) se estimaron con una relación señal-ruido de 3 y 10, y los valores obtenidos fueron 0,54 y 1,8 mM respectivamente.

Sin embargo, cuando se utilizó el electrodo P.F./Au/ZnO/GOx-Fc MWCNT, el rango lineal es de 0-10 mM (regresión lineal de 0,955) y una sensibilidad de 30,33 ± 2,2 µA/mM-1 cm-2. El LOD y el LOQ obtenidos fueron de 0,25 y 0,83 mM respectivamente, lo que dio lugar a parámetros más favorables en comparación con los obtenidos con el electrodo basado en P.F/Au. La constante aparente de Michaelis-Menten (Kmapp) y la corriente máxima (imax) se calcularon mediante la ecuación de Lineweaver-Burk empleando la densidad de corriente y la concentración de glucosa. Los valores obtenidos para la Kmapp fueron 2,21 ± 0,04 mM y 4,47 ± 0,11 mM para P.F./Au/ZnO/GOx-Fc/MWCNT y P.F./Au/GOx-Fc/MWCNT, respectivamente.

Los valores más altos de Kmapp para el electrodo de P.F./Au/ZnO/GOx-Fc/MWCNT en comparación con el de P.F./Au/ZnO/GOx-Fc/MWCNT muestran una mayor afinidad entre el sustrato y la enzima, incluso cuando el semiconductor ZnO no está en contacto directo con la enzima. El mismo comportamiento se observa con el imax, los valores obtenidos fueron 588,2 ± 9,6 µA cm-2 y 714,3 ± 12,6 µA cm-2 para P.F./Au/ZnO/GOx-Fc/MWCNT y P.F./Au/ZnO/GOx-Fc/MWCNT, respectivamente.

El incremento de imax debido al ZnO corroboró el efecto indirecto sobre la capa, que favorece la afinidad enzimática al sustrato. Aunque el sustrato sin la capa de ZnO presenta un amplio rango lineal, el imax y el kmamp fueron mayores cuando se implementó una capa de ZnO. Este resultado demuestra la importancia de la interacción electrostática del semiconductor con la enzima. Además, se realizaron pruebas preliminares con sangre humana en las mismas condiciones experimentales.

En la Figura 8, la respuesta de la amperometría muestra una corriente máxima de 419 µA cm-2 como valor máximo de corriente que equivale a 3,96 mM de glucosa (71,34 mg/dL). Este valor se estima calculando a partir de la ecuación y = 30,77 x + 296,8 obtenida a partir de la curva de calibración del biosensor se utilizó el electrodo basado en P.F/Au/ZnO.

Este resultado se comparó con el valor obtenido con un glucómetro comercial (ACCU CHEK®) 84,5 mg/dL, lo que corresponde a un error relativo % de 15,6, lo que indica una respuesta activa a la oxidación de la glucosa en muestras reales, pero su optimización es obligatoria.

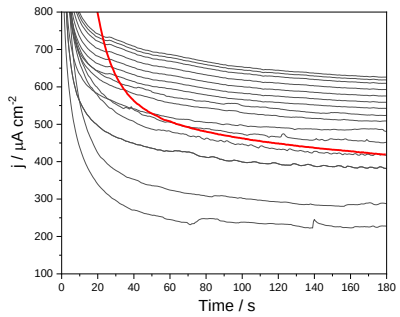


Figura 8 Respuesta amperométrica del electrodo P.F/Au/ZnO/GOx-Fc/MWCNT en presencia de sangre humana (línea roja) dentro de la curva de calibración de la glucosa.

Como puede verse en la Figura 5, a la adición de 1 mM de glucosa la densidad de corriente aumentó en 80,9 ± 1,7 µA cm-2, lo que representa el 80% de la señal normalizada, y para los analitos interferométricos, el incremento de la señal fue de aproximadamente 1,3%, 40% y 9,1%, para LA, AA, UA y DA respectivamente.

La primera secuencia muestra que UA es la molécula con mayor porcentaje de interferencia. En la segunda secuencia de adición, la interferencia disminuyó al 1,4%, 0,8%, 10,3% y 10%, para LA, AA, UA y DA respectivamente. De nuevo, UA muestra la mayor interferencia entre los analitos.

Se ha informado de que el Au expuesto a los analitos favorece la electrooxidación del UA [10]. Se observó una mayor selectividad a la glucosa para una mayor concentración de la misma, como se puede observar en las segundas adiciones sucesivas. El mismo efecto se ha observado previamente cuando se emplea un agente protector en el método de inmovilización [9].

Conclusiones

Se desarrolló un electrodo de trabajo P.F/Au/GOx-Fc/MWCNT previamente modificado con una capa intermedia semiconductora de ZnO para analizar la atracción electrostática indirecta entre el GOx y el ZnO. El ZnO no es activo para la oxidación de la glucosa a pH 7,4, por lo que la reacción de oxidación de la glucosa se lleva a cabo por medios enzimáticos.

El electrodo basado en ZnO mostró un aumento de la sensibilidad de 26,3 µA mM-1 cm-2 a 30,3 µA mM-1 cm-2, lo que supone un incremento del 15%. Además, el bajo límite de detección y cuantificación de la glucosa sugiere que la capa de ZnO mejora la funcionalización enzimática incluso sin contacto directo con la enzima. Asimismo, la resistividad de la película de ZnO (6. 4 Ω cm) no afecta a la respuesta del sensor y se observó la misma densidad de corriente para ambos tipos de electrodos en ausencia de glucosa.

La configuración P.F/Au/ZnO/GOx-Fc/MWCNT mostró una alta selectividad hacia la oxidación de la glucosa en presencia de algunos interferentes. Con la evaluación de SECM, se observaron diferentes características superficiales entre los electrodos de P.F/Au y P.F/Au/ZnO, mostrando una mayor respuesta de corriente con la primera configuración. Además, se muestra la respuesta en corriente de la actividad enzimática mediante el barrido de la superficie del electrodo.

Referencias

[1] H. Diagnostics, E. Monitoring, Global Biosensors Market (2021 to 2026) - Increasing Use of Biosensors to Monitor Glucose Levels in Individuals with Diabetes is Driving Growth, (2021). https://www.prnewswire.com/news-releases/global-biosensors-market-2021-to-2026---increasing-use-of-biosensors-to-monitor-glucose-levels-in-individuals-with-diabetes-is-driving-growth-301280126.html.

[2] Detection of Blood Glucose Level in Humans using Non-Invasive Method-RL BGM, Int. J. Recent Technol. Eng. (2020). doi:10.35940/ijrte.f1209.059120.

[3] M.D. Hughes, The business of self-monitoring of blood glucose: A market profile, J. Diabetes Sci. Technol. (2009). doi:10.1177/193229680900300530

[4] Y. Umasankar, S.M. Chen, A review on the electrochemical sensors and biosensors composed of nanowires as sensing material, Sensors. (2008). doi:10.3390/s8010290.

[5] S. Liu, W. Zeng, Q. Guo, Y. Li, Metal oxide-based composite for non-enzymatic glucose sensors, J. Mater. Sci. Mater. Electron. (2020). doi:10.1007/s10854-020-04239-0.

[6] G. Qi, Y. Wang, B. Zhang, D. Sun, C. Fu, W. Xu, S. Xu, Glucose oxidase probe as a surface-enhanced Raman scattering sensor for glucose, Anal. Bioanal. Chem. 408 (2016) 7513–7520. doi:10.1007/s00216-016-9849-5

[7] R.A. Escalona-Villalpando, A. Sandoval-García, J.R. Espinosa L., M.G. Miranda-Silva, L.G. Arriaga, S.D. Minteer, J. Ledesma-García, A self-powered glucose biosensor device based on microfluidics using human blood, J. Power Sources. 515 (2021) 230631. doi:10.1016/j.jpowsour.2021.230631.

[8] H. Deng, W. Shen, Z. Gao, Synthesis of water-soluble and cross-linkable ferrocenyl redox polymers for uses as mediators in biosensors, Sensors Actuators B Chem. 168 (2012) 238–242. doi:https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.04.014.

[9] S. Griveau, S. Aroua, D. Bediwy, R. Cornut, C. Lefrou, F. Bedioui, Spontaneous adsorbed layers of 4-nitrobenzenediazonium salt on gold and glassy carbon : Local characterization by SECM and electron-transfer kinetics evaluation, J. Electroanal. Chem. 647 (2010) 93–96. doi:10.1016/j.jelechem.2010.05.014.

[10] D. V Estrada-osorio, R.A. Escalona-villalpando, A. Guti, L.G. Arriaga, Bioelectrochemistry Poly-L-lysine-modified with ferrocene to obtain a redox polymer for mediated glucose biosensor application, 146 (2022). doi:10.1016/j.bioelechem.2022.108147.

[11] R.D. Munje, S. Muthukumar, S. Prasad, Lancet-free and label-free diagnostics of glucose in sweat using Zinc Oxide based flexible bioelectronics, Sensors Actuators, B Chem. 238 (2017) 482–490. doi:10.1016/j.snb.2016.07.088.

[12] I.R. Chávez-Urbiola, F.J. Willars-Rodríguez, R. Ramírez Bon, P. Vorobiev, Y.V. Vorobiev, Development and characterization of photodiode n-ZnO/p-Si by Radio Frecuency Sputtering, a sensor with low voltage operation and its response to visible and UV light, Thin Solid Films. 669 (2019). doi:10.1016/j.tsf.2018.10.002.

[13] S. Bagyalakshmi, A. Sivakami, K.S. Balamurugan, A Zno nanorods based enzymatic glucose biosensor by immobilization of glucose oxidase on a chitosan fi lm, Obes. Med. 18 (2020) 100229. doi:10.1016/j.obmed.2020.100229.

Modelaje de COVID-19 con estructura etaria para el estado de Querétaro

Rojas-García, Luis-Andrés[1]; Álvarez-Martínez, Roberto[2].

[1] Laboratorio de Biología Cuantitativa y Sistemas Complejos. Universidad Autónoma de Querétaro. lrojas26@alumnos.uaq.mx

[2] Laboratorio de Biología Cuantitativa y Sistemas Complejos. Universidad Autónoma de Querétaro.

Resumen

En los últimos dos años, hemos presenciado el surgimiento y rápida expansión de la enfermedad conocida como COVID-19, declarada pandemia en marzo del 2020. A raíz de esta problemática, un sinnúmero de estudios se han desarrollado para entender y explicar el desarrollo de la pandemia. En particular, los modelos matemáticos epidemiológicos han sido una herramienta importante para prevenir, predecir y controlar los casos de COVID-19. El uso de modelos heterogéneos permite tener una visión más clara de lo que ocurre en una población estratificada, como la nuestra, donde la dinámica de la infección es diferente por cada nivel. Para este proyecto, se usó un modelo heterogéneo basado en grupos etarios para modelar el desarrollo de la epidemia de COVID-19 en el estado de Querétaro, donde no se contemplaron medidas epidemiológicas de control. A partir de esto, se obtuvieron cifras que superan las cifras reales que dejó la epidemia a nivel estado. Sin embargo, el comportamiento en la población fue similar al observado. Además de que esta aproximación permite visualizar que las medidas implementadas fueron necesarias para el control de las infecciones

Abstract

In the last two years, we have witnessed the emergence and rapid expansion of the disease known as COVID-19 declared a pandemic in March 2020. As a result of this problem, countless studies have been developed to understand and explain the development of the pandemic. In particular, epidemiological mathematical models have been a vital tool in preventing, predicting, and controlling cases of COVID-19. Heterogeneous models allow a clearer vision of what happens in a stratified population like ours, where the infection dynamics are different for each level. For this project, a heterogeneous model based on age groups was used to model the development of the COVID-19 epidemic in Querétaro, where no epidemiological control measures were contemplated. From this, figures were obtained that exceed the actual figures left by the epidemic at the state level. However, the behavior in the population was similar to that observed. In addition to this approximation, it allows visualization that the implemented measures were necessary for infection control.

Palabras clave

Modelos matemáticos epidemiológicos, modelo heterogéneo, grupos etarios, probabilidad de transición.

Keywords

Epidemiological mathematical models, heterogeneous model, age groups, transition probability.

Introducción

El 11 de marzo de 2020, la Organización Mundial de la Salud (OMS), declaró a la nueva enfermedad COVID-19, resultado del brote de coronavirus en Wuhan, China; como pandemia a nivel mundial (Sharma et al., 2021). Esta enfermedad ha infectado a cerca 640 millones de personas en todo el mundo, mientras que ha cobrado la vida de al menos 6.5 millones de personas (Worldometer, 2022). La llamada COVID-19 puede presentarse en seres humanos como infecciones asintomáticas, o presentar un diferentes cuadros clínicos, que abarcan desde dolores de cabeza, tos o fiebre, hasta ocasionar

neumonía grave, e incluso, la muerte del paciente (Sharma et al., 2021).

El SARS-CoV 2, virus responsable de la COVID-19, ha tenido una gran transmisibilidad entre las poblaciones, y debido a esto, es un problema sanitario a nivel mundial. El virus se transmite por contacto directo o a través de tos o estornudos, e incluso puede estar presente en la materia fecal de los individuos infectados. Al mismo tiempo, puede estar en superficies contaminadas (Murugan et al., 2021).

Durante más de 100 años, el uso de los modelos matemáticos para describir el comportamiento de las infecciones en epidemiología ha sido de suma importancia (Grassly & Fraser, 2008). Junto con el desarrollo de las tecnologías para el análisis de datos, los modelos matemáticos pueden ser más evidentemente aplicados para la comprobación de hipótesis, la predicción de posibles escenarios o para realizar experimentos con condiciones difíciles de obtener en laboratorios (Grassly & Fraser, 2008)

Para entender la dinámica de las infecciones y poder comprender, predecir y prevenir los diferentes escenarios que pueden plantearse, el uso de modelos matemáticos es una herramienta útil y poderosa (Zeb et al., 2020), que puede ayudar a su vez a los gobiernos a generar medidas de prevención o asesorar las medidas de salud pública (Adiga et al., 2020).

A raíz de la pandemia, diversos grupos de investigación plantearon distintos modelos matemáticos epidemiológicos para poder obtener escenarios aproximados y poder controlar la infección (Grassly & Fraser, 2008). En diferentes estudios, un modelo de infección tipo SIR (Susceptible, Infectado y Recuperado), es apropiado para poder ir describiendo la dinámica de la COVID-19 (Grassly & Fraser, 2008; Zeb et al., 2020). Estos modelos se basan en un ciclo básico de infección, donde los individuos transitan a determinadas tasas, de individuos susceptibles (S), a individuos infectados (I), y al cabo de determinados días, van a ser recuperados (R) (Grassly & Fraser, 2008; Zeb et al., 2020).

Debido a que en las poblaciones, no todos los individuos el curso de la enfermedad es distinto, por ejemplo en las de tasas de infección, recuperación, hospitalización, etc., por lo que surgen los modelos heterogéneos, donde se toman en cuenta los diferentes parámetros de subconjuntos de la población total, en la que se encuentran interaccionando entre sí (Adiga et al., 2020). Es por esta razón, que el desarrollo de un modelo heterogéneo es crucial para el modelaje de la COVID-19, puesto que de primera instancia, se puede observar que no en todos los casos, se comparten al menos las fechas en que presentan síntomas, o cuántos pueden ser infectados ambulatorios.

Sin embargo, la modificación de este modelo básico puede resultar útil para arrojar resultados más cercanos a un escenario real, agregando compartimentos que describen a individuos expuestos, infectados asintomáticos, infectados hospitalizados, infectados en unidad de terapia intensiva, etc. (Miramontes, O. 2020; Aliseda, A. 2020), incluido el modelo epidemiológico desarrollado para la CDMX.

Tras un año y medio compilando datos epidemiológicos de casos, se puede observar con detalle cómo ha sido la dinámica de la enfermedad en nuestro país, incluído el estado de Querétaro. Por ello, la distinción de la estructura de edad en los casos positivos es una observación relevante para el transcurso y desarrollo de la enfermedad. Es por esto que, el desarrollo de modelos heterogéneos basados en la estructura de edad es relevante para poder establecer nuevas y mejores medidas de control de la epidemia a nivel local. A su vez, dada la capacidad de los modelos matemáticos de poder predecir escenarios, el objetivo de este trabajo es determinar un modelo matemático heterogéneo por estructura etaria para la dinámica de las infecciones por COVID-19, donde no existieron las principales intervenciones epidemiológicas, como el aislamiento social, el uso de mascarillas o de sanitizantes, en el estado de Querétaro.

Metodología

Para el desarrollo de este proyecto, se trabajará con los datos abiertos de la Dirección General de

Epidemiología de la Secretaría de Salud (Secretaría de Salud, 2022).

Procesamiento de datos

Los datos se procesaron en el lenguaje de programación R (R Core Team, 2022) para filtrar, de la base de datos abiertos de México, los datos del estado de Querétaro del 1 de enero de 2020 hasta el 19 de octubre de 2021.

Con dichos datos, se determinaron los rangos de edades por cada caso, en intervalos de 10 años. Posteriormente, se elaboró una gráfica de los casos positivos definidos de acuerdo a los diccionarios disponibles adjuntos a los datos.

Posteriormente, se determinaron las probabilidades de transición entre los distintos estados de la infección entre los distintos grupos de edad, definidos de acuerdo a la gráfica previa. Para esto, se tomó, de todos los casos, aquellos que fueron positivos y se dividieron entre el total de casos, para obtener la probabilidad de transición de ser infectado. Luego, de estos casos positivos, se tomaron todos aquellos que fueron casos positivos de tipo de paciente ambulatorio y se dividieron entre todos los casos positivos, para obtener la probabilidad de transición de casos infectados a casos leves.

Para los casos hospitalizados, de la misma manera, se tomaron todos aquellos casos cuyo tipo de paciente fue hospitalizado y se dividieron entre todos los casos positivos, para obtener la probabilidad de transición de individuos infectados a hospitalizados. Para el caso de los individuos que fueron intubados, se tomaron, de los casos hospitalizados aquellos que fueron intubados, condición que se especifica en los datos; y se dividieron entre los casos hospitalizados, para obtener la probabilidad de transición de casos hospitalizados a intubado.

Por último, solamente de los casos intubados, se tomaron todos aquellos casos que fallecieron, y se dividieron entre los casos que fueron intubados, para obtener la probabilidad de transición de ser intubado a muerte.

Para la realización de esta parte, se desarrolló una función alojada en el entorno de R, para poder utilizarla y obtener las probabilidades de transición, a partir de ir filtrando la base de datos, para obtener los datos necesarios para cada caso.

Determinación de grupos etarios

Con las probabilidades de transición, se conformaron los grupos etarios con los que se trabajó en el modelo. Para definirlos, se usó un *heatmap*, como primera aproximación para observar cómo se agrupan los grupos de edad, de acuerdo a la correlación que exista en la matriz transpuesta de las probabilidades de transición de cada grupo de edad.

Posteriormente, se elaboró un análisis de *clustering*, donde a partir de una matriz de distancias de las probabilidades de transición de los grupos edad, se realizaron los agrupamientos con los algoritmos de agrupamiento "*complete*" , "*ward.D*", "*ward.D2*", "*single*", "*average*", "*mcquitty*", "*median*" y "*centroid*". Para visualizar los agrupamientos, se realizaron dendrogramas por cada algoritmo y se compararon entre sí. Para que entonces, aquellos grupos que más se repitan, se tomaron como las categorías que se usarán para definir los grupos etarios.

Construcción del modelo matemático

Se construyó un modelo heterogéneo, tomando en cuenta los grupos etarios previamente definidos, partiendo del modelo epidemiológico empleado por la Ciudad de México (Gobierno de la Ciudad de México, s.f.), al cuál se le hicieron las modificaciones necesarias de acuerdo a los parámetros y variables que se pueden definir con los datos. El resto de parámetros se tomó de la literatura (Tabla 1).

Tabla 1. Parámetros del modelo
* parámetros obtenidos con estructura etaria

Parámetro	Descripción	Cita
β	Tasa de infección por interacción SI *	Obtenido
α	Tasa a la que los individuos infectados expuestos se vuelven infectantes 1/Dincub	Quesada et al., 2021

p_l	Fracción de individuos infectados que no son hospitalizados, se vuelven infectados leves $0 \leq p_l \leq 1$ *	Obtenido
p_h	Fracción de individuos infectados que son hospitalizados $0 \leq p_h \leq 1$ *	Obtenido
δ_l	Tasa a la que los individuos infectados se vuelven infectados leves/ambulatorios 1/Dinfect	Xin et al., 2021
δ_h	Tasa a la que los individuos infectados se vuelven infectados hospitalizados/graves 1/Dhosp	(Buchholz et al., 2020)
γ_R	Tasa en la que los individuos infectados leves se recuperan 1/DRL	(Bhapkar et al., 2020)
p_i	Fracción de individuos hospitalizados que son intubados $0 \leq p_i \leq 1$ *	Obtenido
$(1- p_i)$	Resto de individuos hospitalizados que no son intubados, se recuperan *	Obtenido
γ_h	Tasa a la que los individuos hospitalizados se recuperan 1/DRH	Zhou et.al., 2020)
δ_i	Tasa a la que los individuos hospitalizados son intubados 1/DICU	Heiden y Buchholz (2020)
μ	Fracción de individuos intubados que mueren $0 \leq \mu \leq 1$ *	Obtenido
$(1 - \mu)$	Resto de individuos intubados que no mueren, se recuperan *	Obtenido
δ_m	Tasa a la que los individuos intubados mueren 1/Dm	Zhou et.al., 2020)
γ_i	Tasa a la que los individuos intubados se recuperan 1/DICU	Zhou et.al., 2020)

Primero se construyó un diagrama de compartimentos (Figura 1), donde se establecieron las variables y se siguió el flujo donde hay individuos susceptibles (S), que por interacción con individuos infectados, pueden pasar a ser expuestos (E), que se vuelven infectados (I). Aquí, hay un porcentaje de la población que va hacia hospitalizados (I_h), y el resto a infectados infectados leves (I_l). De los hospitalizados, un porcentaje de los individuos se vuelven infectados intubados (I_i), y el resto son recuperados (R). Por último, un porcentaje de los individuos intubados pasan a muertos (M) al cabo de un tiempo, mientras que el resto se recuperan. Los I_l, al cabo de un tiempo, pasan a ser recuperados.

A partir del diagrama por compartimentos, se desarrollaron todas las ecuaciones diferenciales que conforman al modelo, para cada grupo etario.

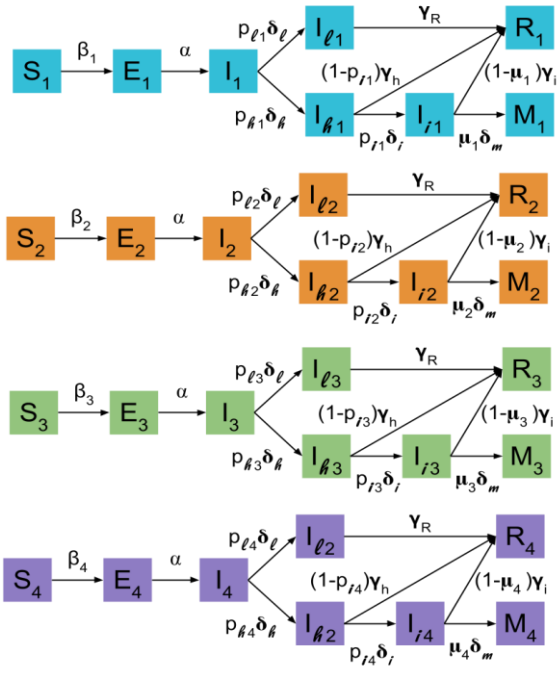


Figura 1 Diagrama por compartimentos con estructura etaria para COVID-19

Solución numérica de las ecuaciones diferenciales

Las ecuaciones se resolvieron numéricamente en R, con el uso de la librería deSolve (Soetaert et al., 2010).

Supuestos del modelo

Este modelo fue construido con base en que los individuos infectados son los que transmiten la enfermedad al estar en contacto con los individuos susceptibles.

Se contempla un escenario donde no hubo intervenciones epidemiológicas para el control de la pandemia.

Resultados

Al separar los casos del estado de Querétaro por rangos de edades (Figura 2), se puede observar que la edad del paciente influye en la dinámica de la infección, ya que los casos positivos de personas a partir de los 50 años, son más abundantes que en edades más jóvenes.

Esto si bien, solamente se observa gráficamente, es una observación relevante para el desarrollo de un modelo heterogéneo con estructura etaria.

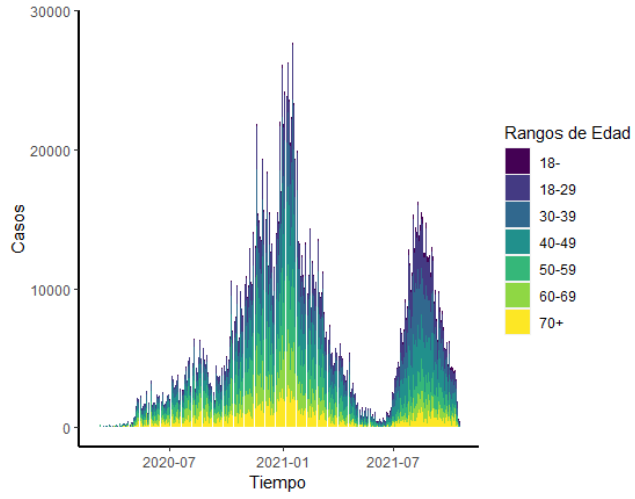


Figura 2 Casos positivos a COVID-19 del estado de Querétaro separados por grupos de edad

Con la determinación de las probabilidades de transición, se empezaron a observar diferencias entre las distintas edades de la población, por lo que para determinar los distintos niveles del modelo, era necesario establecer los grupos etarios con los que se van a trabajar. Para esto, se usó como primera aproximación un mapa de calor o heatmap (figura 3), basado en la correlación de las probabilidades de transición de los rangos de edad. Con este se observó que las personas de 70 años o más, y personas de 60 a 69 años se agrupan con una alta correlación. Mientras que el otro grupo que se agrupa es el de personas de 18 a 29 años con las personas de 30 a 39 años.

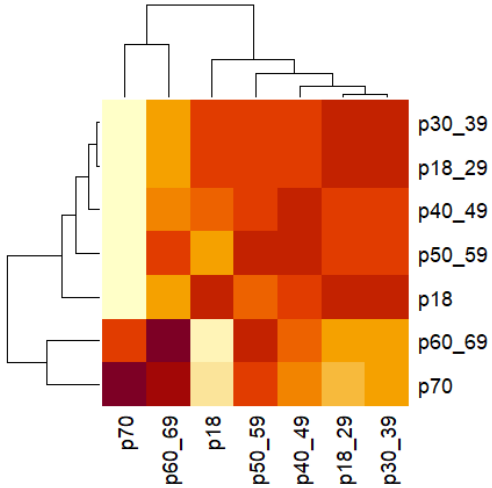


Figura 3 *Heatmap* de las correlaciones de las probabilidades de transición

Sin embargo, los demás rangos de edad no quedan claro la manera de agruparlos, por lo que para reducir la aleatoriedad en la asignación de grupos, se realizó el análisis de clustering, donde los grupos de edad se agrupan de acuerdo a la distancia entre las probabilidades de transición, es decir, para aquellas probabilidades que sean más cercanas o menos distantes, serán agrupadas en un conjunto.con los distintos algoritmos previamente mencionados.

Para poder visualizar los agrupamientos, se realizaron dendrogramas por cada algoritmo (Figura 4), donde se pudo observar la forma en que los rangos de edades son definidos en los distintos grupos etarios. De manera que aquellos agrupamientos que más se repitieron, fueron los que se usaron para definir los grupos etarios. Los grupos etarios quedaron conformados de acuerdo a la tabla 2.

Tabla 2. Grupos etarios obtenidos

Rangos de edad	Grupo etario
Menores de 18 años	1
Personas de 18 a 29 años y personas de 30 a 39 años	2
Personas de 40 a 49 años y personas de 50 a 59 años	3
Personas de 60 a 69 años, y personas mayores de 70 años	4

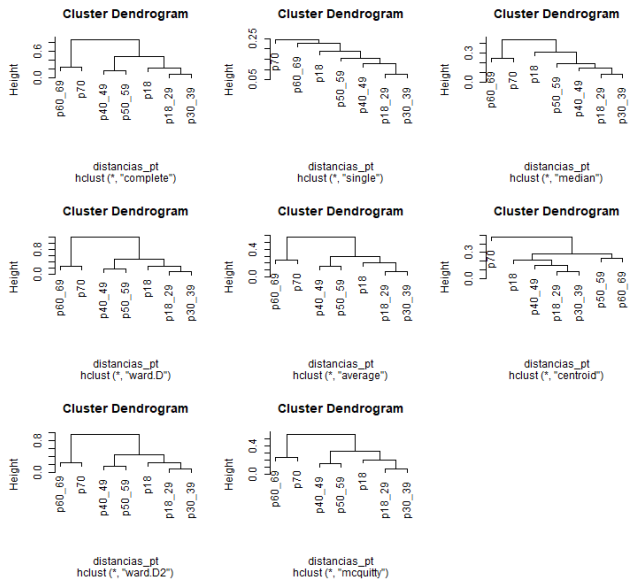


Figura 4 Dendrogramas del análisis de clustering de las probabilidades de transición. (*"complete"* (izquierda superior), *"ward.D"* (centro superior), *"ward.D2"* (derecha superior), *"single"* (izquierda centro), *"average"* (centro centro), *"mcquitty"* (derecha centro), *"median"* (izquierda inferior) *y "centroid"* (derecha inferior)).

Una vez se definieron los grupos etarios con los que se trabajó, se desarrolló el diagrama por compartimentos previamente mencionado, junto con la definición de parámetros y variables, basado principalmente en el modelo epidemiológico de la Ciudad de México. Sin embargo, dado que este modelo parte de la manipulación de los Datos Abiertos de la Dirección General de Epidemiología, se realizaron variaciones al modelo de la Ciudad de México. Entre las más destacables se encuentra la eliminación de la variable/estado de Infectados Graves, ya que con los datos no se puede determinar este estado, además de que los pacientes en estado grave o crítico, son hospitalizados (Secretaría de Salud, 2020). Con base en el diagrama por compartimentos, se desarrollaron las ecuaciones diferenciales que conforman al modelo (figura 5).

Para el grupo 1 :

$$\dot{S}_1 = -\frac{\beta_1}{N} * S_1(I_1 + I_2 + I_3 + I_4)$$
$$\dot{E}_1 = \frac{\beta_1}{N} * S_1(I_1 + I_2 + I_3 + I_4) - \alpha E_1$$
$$\dot{I}_1 = \alpha E_1 - p_{h1}\delta_h I_1 - p_{l1}\delta_l I_1$$
$$\dot{I}_{l1} = p_{l1}\delta_l I_1 - \gamma_R I_{l1}$$
$$\dot{I}_{h1} = p_{h1}\delta_h I_1 - p_{i1}\delta_i I_{h1} - (1 - p_{i1})\gamma_h I_{h1}$$
$$\dot{I}_{i1} = p_{i1}\delta_i I_{h1} - \mu_1\delta_\mu I_{i1} - (1 - \mu_1)\gamma_i I_{i1}$$
$$\dot{M}_1 = \mu_1\delta_\mu I_{i1}$$
$$\dot{R}_1 = \gamma_R I_{l1} + (1 - p_{i1})\gamma_h I_{h1} + (1 - \mu_1)\gamma_i I_{i1}$$

Para el grupo 2 :

$$\dot{S}_2 = -\frac{\beta_2}{N} * S_2(I_1 + I_2 + I_3 + I_4)$$
$$\dot{E}_2 = \frac{\beta_2}{N} * S_2(I_1 + I_2 + I_3 + I_4) - \alpha E_2$$
$$\dot{I}_2 = \alpha E_2 - p_{h2}\delta_h I_2 - p_{l2}\delta_l I_2$$
$$\dot{I}_{l2} = p_{l2}\delta_l I_2 - \gamma_R I_{l2}$$
$$\dot{I}_{h2} = p_{h2}\delta_h I_2 - p_{i2}\delta_i I_{h2} - (1 - p_{i2})\gamma_h I_{h2}$$
$$\dot{I}_{i2} = p_{i2}\delta_i I_{h2} - \mu_2\delta_\mu I_{i2} - (1 - \mu_2)\gamma_i I_{i2}$$
$$\dot{M}_2 = \mu_2\delta_\mu I_{i2}$$
$$\dot{R}_2 = \gamma_R I_{l2} + (1 - p_{i2})\gamma_h I_{h2} + (1 - \mu_2)\gamma_i I_{i2}$$

Para el grupo 3 :

$$\dot{S}_3 = -\frac{\beta_3}{N} * S_3(I_1 + I_2 + I_3 + I_4)$$
$$\dot{E}_3 = \frac{\beta_3}{N} * S_3(I_1 + I_2 + I_3 + I_4) - \alpha E_3$$
$$\dot{I}_3 = \alpha E_3 - p_{h3}\delta_h I_3 - p_{l3}\delta_l I_3$$
$$\dot{I}_{l3} = p_{l3}\delta_l I_3 - \gamma_R I_{l3}$$
$$\dot{I}_{h3} = p_{h3}\delta_h I_3 - p_{i3}\delta_i I_{h3} - (1 - p_{i3})\gamma_h I_{h3}$$
$$\dot{I}_{i3} = p_{i3}\delta_i I_{h3} - \mu_3\delta_\mu I_{i3} - (1 - \mu_3)\gamma_i I_{i3}$$
$$\dot{M}_3 = \mu_3\delta_\mu I_{i3}$$
$$\dot{R}_3 = \gamma_R I_{l3} + (1 - p_{i3})\gamma_h I_{h3} + (1 - \mu_3)\gamma_i I_{i3}$$

Para el grupo 4 :

$$\dot{S}_4 = -\frac{\beta_4}{N} * S_4(I_1 + I_2 + I_3 + I_4)$$
$$\dot{E}_4 = \frac{\beta_4}{N} * S_4(I_1 + I_2 + I_3 + I_4) - \alpha E_4$$
$$\dot{I}_4 = \alpha E_4 - p_{h4}\delta_h I_4 - p_{l4}\delta_l I_4$$
$$\dot{I}_{l4} = p_{l4}\delta_l I_4 - \gamma_R I_{l4}$$
$$\dot{I}_{h4} = p_{h4}\delta_h I_4 - p_{i4}\delta_i I_{h4} - (1 - p_{i4})\gamma_h I_{h4}$$
$$\dot{I}_{i4} = p_{i4}\delta_i I_{h4} - \mu_4\delta_\mu I_{i4} - (1 - \mu_4)\gamma_i I_{i4}$$
$$\dot{M}_4 = \mu_4\delta_\mu I_{i4}$$
$$\dot{R}_4 = \gamma_R I_{l4} + (1 - p_{i4})\gamma_h I_{h4} + (1 - \mu_4)\gamma_i I_{i4}$$

Figura 5 Ecuaciones diferenciales del modelo heterogéneo

Las ecuaciones diferenciales se resolvieron con el uso de la librería *deSolve* en R, y se obtuvo el gráfico del comportamiento (figura 6).

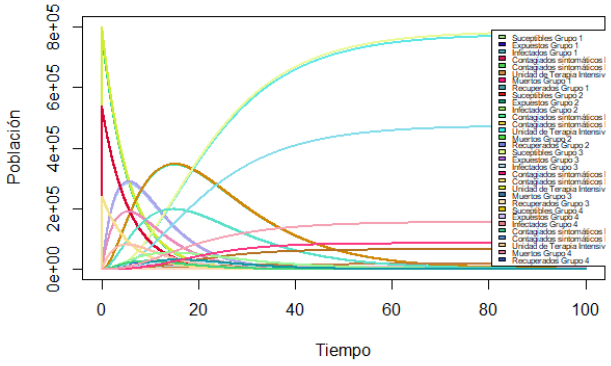


Figura 6 Modelo matemático de COVID-19 con estructura etaria para el estado de Querétaro sin intervenciones epidemiológicas

Discusión y conclusiones

Bajo el supuesto de que la edad es un factor que influye en la infección de COVID-19, se obtuvieron las probabilidades de transición entre distintos estadios de enfermedad por COVID. Estas son una aproximación que deja en evidencia que la edad sí influye en saber qué personas tienen más riesgo de ser infectados, hospitalizados, intubados o de fallecer (Ahrenfeldt et al., 2021; Bruine de Bruin, 2021; Costagliola et al., 2021).

Varios estudios refieren que existe una diferencia entre los casos de COVID-19, siendo más probable que las personas jóvenes sean las que pueden infectarse fácilmente. Sin embargo, en adultos mayores aumenta considerablemente el riesgo de sufrir complicaciones derivadas de la infección (Ahrenfeldt et al., 2021; Bruine de Bruin, 2021; Bhopal et al., 2021; Costagliola et al., 2021).

El agrupamiento por medio del heatmap resultó útil para observar cómo se determinar los rangos de edad por medio de la correlación que existe entre las probabilidades de transición, esto es, que si hay probabilidades de dos rangos de edad que se correlacionan mucho entre sí, lo más probable es que formen un grupo entre estos rangos de edad. Esto se pudo observar con cuatro rangos de edad específicos. Sin embargo, debido a que es un método más visual, la asignación de grupos sigue teniendo un componente de sesgo , que depende del observador.

Con el análisis de clustering, se reduce el componente aleatorio, ya que ahora, para hacer los agrupamientos, se parte de una matriz de distancias de las probabilidades de transición, por lo que ahora aquellos rangos de edad que tienen probabilidades de transición menos distantes entre sí, son los que formarán un grupo. Esto al final tiene más sentido, ya que las personas menores de 18 años conforman un único grupo (Ahrenfeldt et al., 2021). Además de este estudio, en Bhopal et al., 2021, refieren que los niños y jóvenes tienen un riesgo bajo de mortalidad, aunque esto depende de la variante del virus. Esto corresponde con lo observado, ya que los casos de menores de 18 años fueron escasos, a comparación de otras edad, por lo que la distancia de este grupo con los demás es relevante para asignarse un único grupo.

Con la resolución numérica del modelo, se obtuvo que los pacientes de los grupos etarios 1 y 2 presentaron cifras muy altas de pacientes recuperados, al mismo tiempo que las cifras de pacientes infectados ambulatorios/leves. Esto se esperaba desde que se

obtuvieron las probabilidades de transición, ya que estas dos eran las más altas en los grupos indicados.

Por otro lado, los pacientes de los grupos 3 y 4 presentaron cifras menores en todas las variables. Sin embargo, en las cifras de muertes, estos dos grupos etarios fueron los que más muertes presentaron (figura 7).

Esto ciertamente es relevante, ya que en muchos otros estudios (Costagliola et al., 2021), y con los datos reales de la dinámica de la pandemia en todo el mundo, estos grupos de edad fueron los más afectados.

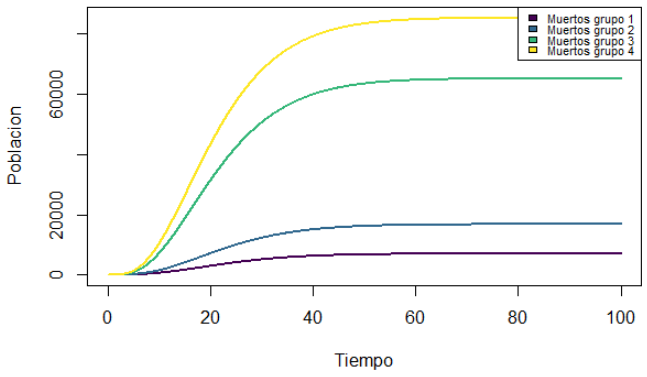


Figura 7 Muertes inferidas de los grupos etarios

Las cifras inferidas por el modelo superan los casos reales referidos para el estado. En este modelo se proyecta el escenario en donde no se hubiera tomado ninguna medida de control. Es decir, si no hubiera existido aislamiento y se hubiera dejado circular al virus y sus portadores de forma libre.

A pesar de esto, este modelo presenta una hipótesis interesante para la implementación de las medidas epidemiológicas, ya que trabaja bajo el supuesto de que no existieron dichas medidas, es decir, este modelo simula un escenario donde no hubo aislamiento social, uso de mascarillas, uso de sanitizantes, restricciones de movilidad, etcétera.

Un punto que es importante recalcar, es que se trabajó considerando que la población de todo él estuvo interactuando entre sí, es decir, no se consideran limitaciones geográficas o de movilidad, en especial con las localidades de la sierra. Esto puede explicar las elevadas cifras que se obtuvieron en el modelo.

Por otro lado, la justificación de la asignación de los grupos etarios es importante, ya que durante el desarrollo de la pandemia, existieron muchas excepciones a las planteadas en el modelo, por lo que es otro punto en el que se está centrando la investigación actual.

Referencias bibliográficas

Adiga, A., Dubhashi, D., Lewis, B., Marathe, M., Venkatramanan, S., & Vullikanti, A. (2020). Mathematical models for covid-19 pandemic: A comparative analysis. Journal of the Indian Institute of Science, 100(4), 793–807.

Ahrenfeldt, L. J., Otavova, M., Christensen, K., & Lindahl-Jacobsen, R. (2021). Sex and age differences in COVID-19 mortality in europe. Wiener Klinische Wochenschrift, 133(7), 393–398.

Aliseda A. Modelos epidemiológicos y COVID-19. (2020). Boletín sobre COVID-19, Salud Pública y Epidemiología Publicación del Departamento de Salud Pública de la Facultad de Medicina. 1(11). Ingresado el 15 de noviembre de 2022. https://dsp.facmed.unam.mx/wp-content/uploads/2022/03/COVID-19-No.11-04-Modelos-Epidemiologicos.pdf

Bhapkar, H., Mahalle, P. N., Dey, N., & Santosh, K. (2020). Revisited COVID-19 mortality and recovery rates: Are we missing recovery time period? Journal of Medical Systems, 44(12), 1–5.

Bhopal, S. S., Bagaria, J., Olabi, B., & Bhopal, R. (2021). Children and young people remain at low risk of COVID-19 mortality. The Lancet Child & Adolescent Health, 5(5), e12–e13.

Bruine de Bruin, W. (2021). Age differences in COVID-19 risk perceptions and mental health: Evidence from a national US survey conducted in march 2020. The Journals of Gerontology: Series B, 76(2), e24–e29.

Buchholz, U. et al. (2020). Modellierung von beispielszenarien der SARS-CoV-2-ausbreitung und schwere in deutschland. DOI 10.25646/6571.2

Costagliola, G., Spada, E., & Consolini, R. (2021). Age-related differences in the immune response could contribute to determine the spectrum of severity of COVID-19. Immunity, Inflammation and Disease, 9(2), 331–339.

Grassly, N. C., & Fraser, C. (2008). Mathematical models of infectious disease transmission. Nature Reviews Microbiology, 6(6), 477–487.

Gobierno de la Ciudad de México. (s.f.). Modelo Epidemiológico COVID-19 del Gobierno de la Ciudad de México. Ingresado el 15 de noviembre de 2022. https://modelo.covid19.cdmx.gob.mx/modelo-epidemico

Miramontes, O. (2020). Entendamos el COVID-19 en méxico. COVID-19 En México. Universidad Nacional Autónoma de México. Ingresado el 15 de noviembre de 2022. http://scifunam.fisica.unam.mx/mir/corona19/covid19.pdf

Murugan, C., Ramamoorthy, S., Kuppuswamy, G., Murugan, R. K., Sivalingam, Y., & Sundaramurthy, A. (2021). COVID-19: A review of newly formed viral clades, pathophysiology, therapeutic strategies and current vaccination tasks. International Journal of Biological Macromolecules, 193, 1165–1200.

Quesada, J., López-Pineda, A., Gil-Guillén, V., Arriero-Marín, J., Gutiérrez, F., & Carratala-Munuera, C. (2021). Incubation period of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. Revista Clínica Española (English Edition), 221(2), 109–117.

R Core Team. (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. https://www.R-project.org/

Sharma, A., Ahmad Farouk, I., & Lal, S. K. (2021). COVID-19: A review on the novel coronavirus disease evolution, transmission, detection, control and prevention. Viruses, 13(2), 202.

Secretaría de Salud. (2020). Lineamiento para la atención de pacientes por COVID-2019. Ingresado el 15 de noviembre de 2022. http://cvoed.imss.gob.mx/wp-content/uploads/2020/02/Linemaineto-cl%C3%ADnico-COVID-19-CCINSHAE-14feb2020.pdf.pdf.pdf.pdf

Secretaría de Salud. (2022). Datos Abiertos Dirección General de Epidemiología. Dirección General de Epidemiología. Ingresado el 15 de noviembre de 2022. https://www.gob.mx/salud/documentos/datos-abiertos-152127

Soetaert, K., Petzoldt, T., & Setzer, R. W. (2010). Solving differential equations in R: Package deSolve. Journal of Statistical Software, 33(9), 1–25. https://doi.org/10.18637/jss.v033.i09

Worldometers.info. (2022). COVID Live - Coronavirus Statistics. Ingresado el 15 de noviembre de 2022. https://www.worldometers.info/coronavirus/

Xin, H., Li, Y., Wu, P., Li, Z., Lau, E. H., Qin, Y., Wang, L., Cowling, B. J., Tsang, T. K., & Li, Z. (2022). Estimating the latent period of coronavirus disease 2019 (COVID-19). Clinical Infectious Diseases, 74(9), 1678–1681.

Zeb, A., Alzahrani, E., Erturk, V. S., & Zaman, G. (2020). Mathematical model for coronavirus disease 2019 (COVID-19) containing isolation class. BioMed Research International, 2020.

Zhou, F., Yu, T., Du, R., Fan, G., Liu, Y., Liu, Z., ... & Guan, L. (2020). Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. The Lancet.

El garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) modula el perfil de microbiota intestinal en un modelo animal de estadio temprano de cáncer de colon

Autores: Edelmira Sánchez-Recillas[1a], Hayde Azeneth Vergara-Castañeda[1b]

Colaboradores: Ana Alicia Sánchez -Tusié[1c]

[1]Facultad de Medicina. Centro de Investigación Biomédica Avanzada (CIBA). Universidad Autónoma de Querétaro

[a] edelmira.s.r@hotmail.com
[b] hayvergarac@gmail.com
[c]anatusie@gmail.com

RESUMEN

El cáncer de colon en México es uno de los tipos de cáncer más frecuentes entre la población, siendo la dieta un factor causal de dicha patología. Una dieta rica en compuestos bioactivos puede reducir el riesgo de desarrollar tal enfermedad mediante la modificación de la composición de la microbiota intestinal. De tal manera que es de suma importancia la búsqueda de alimentos ricos en compuestos bioactivos con efectos quimioprotectores como el garambullo, el cual ha demostrado poseer una cantidad importante de fibra dietética y fitoquímicos. Para la fase experimental de utilizaron 48 ratas Sprague-Dawley aleatoriamente asignadas a uno de 4 grupos experimentales (n=12 por grupo): 1) Control negativo, 2) Azoximetano/Dextrán sulfato de sodio (AOM/DSS), 3) Residuo de garambullo con AOM/DSS y 4) Garambullo con AOM/DSS. El periodo experimental consistió en 16 semanas en donde se recolectaron muestras de heces en tres tiempos: inicial (semana 0), medial (semana 8) y final (semana 16). La caracterización del microbioma se realizó de la región conservada del gen 16s rRNA V3-V4, la identificación taxonómica se realizó por parte de ZymoBiomics mediante Illumina. Se determinó la presencia de 14 filo siendo los de mayor predominancia *Firmicutes* y *Bacteroidetes*, 42 familias, 105 géneros siendo más abundantes *Bacteroides*, *Romboutsia* y *Alloprevotella*. Los tratamientos con garambullo y residuo de garambullo mostraron un efecto protector en el modelo inducido con AOM/DSS a través de la modulación en el perfil de la microbiota debido a que promovieron el aumento de bacterias productoras de AGCC del género *Bacteroides* y *Alloprevotella.*

Palabras clave: Cáncer de colon, garambullo, microbiota intestinal.

ABSTRACT

Colon cancer in Mexico is one of the most frequent types of cancer among the population, being the type of diet a causal factor of this pathology. A diet rich in bioactive compounds can reduce the risk of developing such a disease by modifying the intestinal microbiota composition. In such a way it is extremely important to search for foods rich in bioactive compounds with chemoprotective effects such as garambullo, which has been shown to have a significant amount of dietary fiber and phytochemicals. For the experimental phase, 48 Sprague-Dawley rats were used randomly in one of 4 experimental groups (n=12 per group): 1) Negative control, 2) Azoxymethane/Dextran sulfate (AOM/DSS), 3) Garambullo residue with AOM/DSS and 4) Garambullo with AOM/DSS. The experimental period consisted of 16 weeks, where stool samples were collected three times: initial (week 0), medial (week 8), and final (week 16). The microbiome was characterized by the conserved region of the 16s rRNA V3-V4 gene, taxonomic identification was performed by ZymoBiomics using Illumina. The presence of 14 phyla was determined, the most predominant being *Firmicutes* and *Bacteroidetes,* 42 families, 105 genera being the most

abundant *Bacteroides*, *Romboutsia*, and *Alloprevotella*. The treatments with garambullo and garambullo residue showed a protective effect in the model induced with AOM/DSS through the modulation in the microbiota profile because they promoted the increase of SCFA-producing bacteria of the *Bacteroides* and *Alloprevotell*a genera.

Keywords: Colon cancer, Garambullo, gut microbiota.

1. Introducción

El cáncer de colon ocupa el cuarto lugar de prevalencia dentro de los tipos de cáncer en la población mexicana, siendo causado por múltiples factores entre los que destacan los hábitos alimentarios, que resulta ser un factor prevenible (Espinosa-Tamez et al., 2021).Dicha prevención, puede ser dada por el consumo de alimentos ricos en fibra y compuestos bioactivos que tienen efectos quimioprotectores en el colon, al ser fuente de sustrato para la microbiota intestinal (Rawla et al., 2019). Un mecanismo de protección ante procesos inflamatorios o carcinogénicos propuestos es a través de la modulación de la microbiota colónica por medio de la producción de metabolitos secundarios, mismos que a su vez llegan a promover homeostasis intestinal e intervienen en vías de señalización implicadas en procesos de invasión tumoral(Schmitt & Greten, 2021).

Diversos estudios han descrito el papel de la microbiota intestinal en la salud colónica, al mismo tiempo que se ha caracterizado la presencia de algunas bacterias en cuanto a la promoción del CC. Al haber una disbiosis, que se refiere a la alteración de la microbiota, se favorece una mayor presencia de bacterias patógenas como *Escherichia coli, Fuseobacterium nucleatum,* y *Bacteroides fragili*s. Estas bacterias llegan a generar metabolitos genotóxicos que dañan a las células intestinales, promoviendo la pérdida de la función de la barrea intestinal y generando un ambiente pro-inflamatorio y proliferativo, permitiendo desarrollan las primeras lesiones de la carcinogénesis de colon conocidas como fosas crípticas aberrantes (FCA)(Xiao et al., 2018). De tal manera que una disbiosis en el perfil microbiano puede reflejar el principio de lesiones premalignas en el colon asociadas a marcadores inflamatorios (Schmitt & Greten, 2021). Por el contrario, cuando existe una microbiota saludable la cual puede estar compuesta por bacterias de los géneros *Bacteroidetes, Firmicutes, Bifidobacterium, Lactobacillus, Propionibacterium* entre otras, se favorece la producción de metabolitos secundarios por el proceso de fermentación bacteriana, principalmente de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), los cuales promueven disminución de la inflamación en el colon al inhibir la expresión de interleucinas inflamatorias, así como el promover la inducción de señales antiproliferativas y por lo tanto una disminución en la formación de FCA (Shen et al., 2020). De tal manera, que, al existir una asociación inversa entre el perfil de microbiota intestinal y el cáncer de colon, es de suma importancia la búsqueda de alimentos ricos en compuestos bioactivos con efectos quimioprotectores como el garambullo.

El garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) es un fruto endémico de México, su consumo se da de forma local, ya sea como fruto fresco o en productos como nieves y mermeladas, entre otros(Guzmán-Maldonado et al., 2010). A pesar de que el garambullo es un fruto poco estudiado, se sabe que cuenta con la presencia de fibra dietaria, compuestos bioactivos, así como de fibra antioxidante, lo que le confiere características funcionales al presentar una alta capacidad antioxidante. La capacidad antioxidante del garambullo es atribuida a la presencia de diversos compuestos fenólicos (CF) y betalaínas, mismos que intervienen en la eliminación de radicales libres en procesos inflamatorios y carcinógenos(Ramírez-Rodríguez et al., 2020). Además, se ha determinado mediante un modelo de digestión *in vitro* que el garambullo cuenta con la presencia de metabolitos con alta capacidad antioxidante y de carácter no-digerible en intestino delgado lo que sugiere que la fracción no digerible/metabolitos del garambullo alcanzan el colon (Sánchez-Recillas et al., 2022), donde al servir como sustrato para la microbiota colónica generarían un efecto benéfico a nivel local y probablemente sistémico. De tal manera que el objetivo de este trabajo es el determinar el efecto quimioprotector del garambullo en fase temprana de

cáncer de colon *in vivo* a través de la modulación de la microbiota intestinal.

2. Metodología

2.1 Recolección y tratamiento del garambullo

El garambullo fue recolectado en la comunidad de Garabatillo, Celaya, en el estado de Guanajuato en el mes de junio del 2021. Una vez recolectado, el garambullo fue lavado con agua corriente sin tallar. En seguida se liofilizó y se molió, obteniendo el fruto en polvo que se almacenó en bolsas selladas a una temperatura de -80°C.

2.3 Animales y reactivos

Se utilizaron 48 ratas macho Sprague-Dawley con peso inicial de 75 + 5 g de 4 semanas de edad. Las ratas se mantuvieron en un cuarto con temperatura ambiente de 24 + 2ºC, ciclos de luz oscuridad 12/12 horas, con agua y alimento ad *libitum*. Todos los procedimientos se realizaron acuerdo a la NOM-062-200-1999. El carcinógeno utilizado fue Azoximetano (AOM, 15 mg/kg de peso corporal, disuelto en 1 ml de solución fisiológica) y se utilizó como promotor al Dextrán sulfato de sodio (DSS, al 2% disuelto en agua).

2.4 Diseño experimental

Una semana después de la aclimatación, las ratas se asignaron al azar a uno de los 4 grupos de tratamiento (n=12 por grupo): (1) control negativo (CN), dieta basal e inyección subcutánea de solución fisiológica; (2) grupo azoximetano-dextrán sulfato de sodio (AOM/DSS), dieta basal más una inyección subcutánea de AOM vez a la semana por dos semanas 3er y 4^{a} semana, más DSS durante 7 días, (3) grupo residuo de garambullo (RG) el cual se obtiene de someter el garambullo liofilizado en una estufa durante un día con una solución de etanol y agua para finalmente eliminar los residuos solubles, con una dosis de 2 g/ kg de peso corporal, diariamente administrado en forma de pellet, una vez por día durante el periodo experimental (16 semanas), inducidos con AOM/DSS (RG+AOM/DSS) y dieta basal, y (4) grupo G+AOM/DSS, garambullo liofilizado (2 g/ kg de peso corporal) e inducción con AOM/DSS y dieta basal. La dosis se seleccionó de acuerdo con lo reportado previamente por Reynoso y col. (1999) como dosis inocua. Las muestras de heces fueron recolectadas en tres tiempos: inicial (semana 0), medial (semana 8) y final (semana 16). Previo a la recolección de heces las ratas de cada grupo fueron colocadas en cajas individuales sin aserrín, lo que permitió tomar muestras de heces individuales. Las muestras fueron inmediatamente almacenadas en tubos de recolección fecal DNA/RNA shield (Zymo Reserch®) los cuales posteriormente fueron almacenados a -80°C.

2.5 Extracción del ADN bacteriano

La extracción de DNA se llevó a cabo utilizando el kit de extracción fecal # D4300 (ZymoBiomics DNA miniprep Kit), la calidad del DNA fue determinado usando un espectofotometro NanoDrop 2000. Todas las muestreas de DNA fueron almacenadas a -80°C hasta su uso.

2.6 Secuenciación y PCR

Se realizó un PCR en tiempo real mediante el uso de oligos específicos para una región conservada del gen 16s rRNA V3-V4, la identificación taxonómica del perfil de la microbiota se realizó por parte de ZymoBiomics mediante Illumina.

2.7 Análisis estadístico

Los resultados son expresados como el promedio $\pm$ desviación estándar de tres repeticiones. Se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía para calcular las diferencias significativas, seguida de una prueba de Tukey como *post hoc* $p < 0.05$. Los análisis se realizaron con el programa estadístico JMP versión 7.0 (SAS Institute, INC).

3. Resultados y discusión

3.1 Composición de la microbiota intestinal

Dentro de los resultados obtenidos se encontró la presencia de 14 filo, 42 familias, 105 géneros. Los filo que se presentaron en mayor abundancia dentro de los cuatro grupos experimentales fueron *Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes* y *Actinobacteria* (Figura 1A*)*, siendo los más abundantes *Firmicutes* y *Bacteroidetes* dentro de los cuatro grupos experimentales y durante los tres tiempos evaluados. Esto coincide con lo reportado en animales alimentados con *Ziziphus jujuba Mill*. (Ji et al., 2020), con arándano(Cai et al., 2019) y en modelo animal alimentado con berry Aronia (Liu et al., 2021). *Bacteroidetes* y *Firmicutes* son los principales grupos de bacterias que intervienen en el metabolismo de polisacáridos no digeridos en el colon. La relación de ambos filos es de gran importancia en el mantenimiento de la homeostasis intestinal, en donde al haber un aumento o disminución de su relación se considera disbiosis(Chang et al., 2022; Ji et al., 2020). Nuestros resultados muestran una mayor concentración de *Firmicutes* en los cuatro grupos experimentales, sin embargo, dentro de este filo se encuentran especies asociadas a inflamación y cáncer de colon, así como otras especies de bacterias productoras de ácido butírico benéficas para colon (Chang et al., 2022).

La Figura 1B se indica la abundancia relativa de las familias de bacterias encontradas en los cuatro grupos experimentales durante los tres tiempos evaluados (inicial, medial y basal). Estos resultados permiten establecer un perfil de microbiota inicial, así como su progresión a lo largo del tiempo dentro de los cuatro grupos experimentales. Las familias que se presentaron con mayor abundancia fueron la *Prevotellaceae*, *Lactobacillaceae*, *Lachnospiracea y Ruminococcaceae*. La presencia de estas familias en modelos *in vivo* alimentados con *Evodia rutaecarpa* inducidos con AOM/DSS (Wang et al., 2021) y con arándano inducido con DSS(Cai et al., 2019) se ha reportado previamente. Sin embargo, nuestros resultados no indican una diferencia significativa de las familias entre el grupo experimentales, esto puede ser debido a diferencias en el modelo de estudio, el tiempo de duración del experimento, así como a las características de los componentes de la matriz del garambullo.

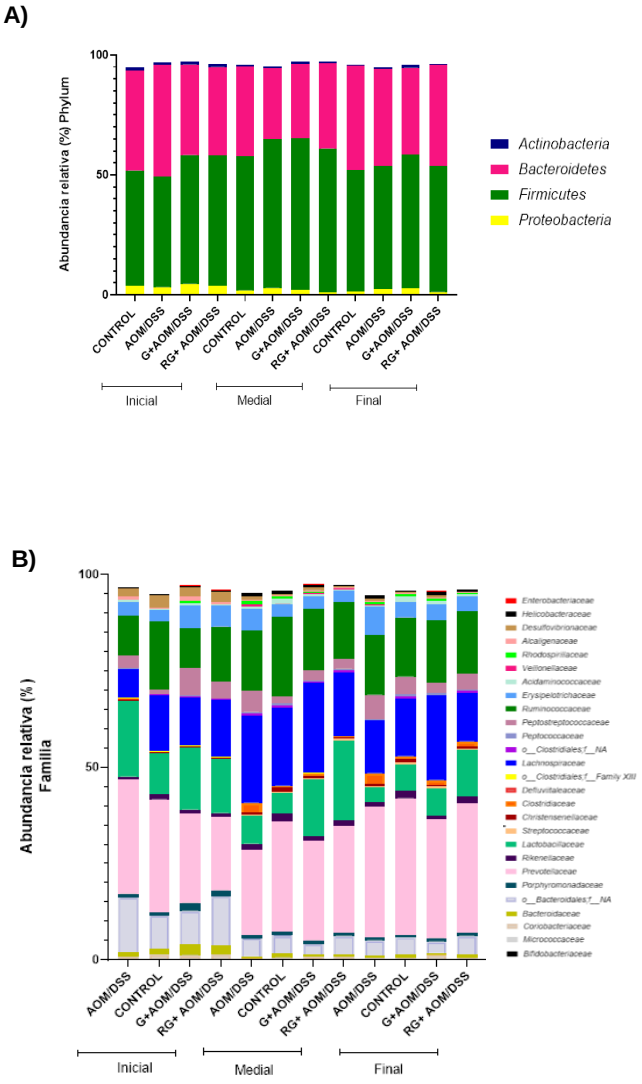


Figura 1. Gráfico de barras de composición microbiana de cuatro grupos experimentales. A) Nivel filo. B) Nivel familia. AOM/DSS= Azoxymetano/ dextrán sulfato de sodio, G+AOM/DSS= Garambullo inducido con azoxymetano/dextrán sulfato, RG+AOM/DSS= Residuo de garambullo inducido con azoxymetano/dextrán sulfato de sodio.

Para analizar los cambios a nivel de género de la microbiota intestinal se seleccionaron los géneros de bacterias con mayor abundancia *Bacteroides, Romboutsia* y *Alloprevotella* (Figura 2). En cuanto a

la abundancia del género *Bacteroides* al tiempo final fue menor su abundancia en el grupo AOM/DSS y G+AOM/DSS respecto del grupo control y el grupo RG+AOM/DSS que presentaron una mayor abundancia. Estos resultados están relacionados con lo reportado por Ji et al., (2019) en donde fue mayor la abundancia de *Bacteroides* en los ratones inducidos con DSS alimentados con *Ziziphus jujuba Mill* lo cual se correlacionó con una mayor producción de ácido acético. De tal manera que el RG puede ser una fuente de sustrato para la producción de ácido acético por parte de *Bacteroides* causando así su aumento dentro del grupo RG+AOM/DSS en comparación al grupo G+AOM/DSS. Algunas de las especies dentro del género *Bacteroides* se han correlacionado positivamente con factores inflamatorios (Wang et al.,2021), sin embargo, en fases tempranas de cáncer de colon se reporta una disminución en *Bacteroides* (Lucas et al., 2017). Esto podría explicar la diminución en cuanto a su abundancia en los grupos AOM/DSS.

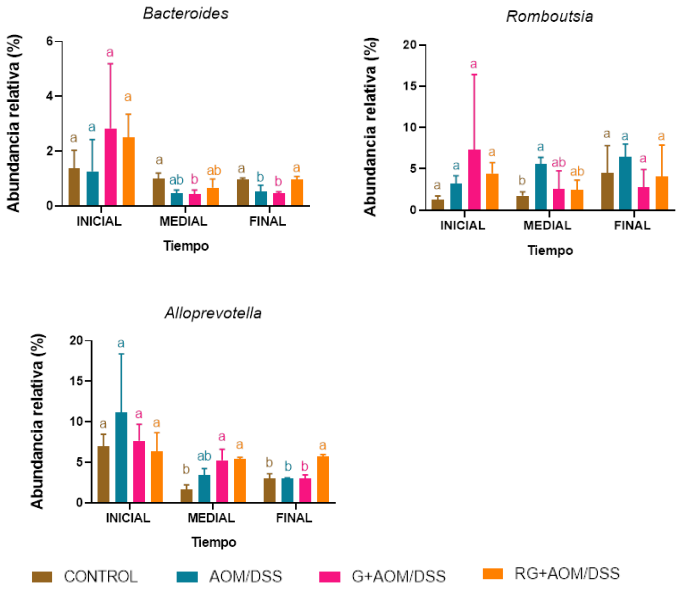


Figura 2. Análisis de microbiota de cuatro grupos experimentales. Los datos se muestran como la media ± desviación estándar de tres repeticiones. Letras minúsculas indican las diferencias entre grupos dentro de cada tiempo. (ANOVA, prueba *post hoc* de Tukey $p<0.05$). AOM/DSS= Azoxymetano/dextrán sulfato de sodio, G+AOM/DSS=Garambullo inducido con Azoxymetano/dextrán sulfato de sodio, RG+AOM/DSS= Residuo de garambullo inducido con Azoxymetano/dextrán sulfato de sodio.

En cuanto al género *Romboutsia* su abundancia fue mayor en el grupo con AOM/DSS respecto del grupo control en el tiempo medial. Lo cual ha sido previamente reportado por Chang et al., (2022) en un modelo animal inducido con AOM/DSS. Su aumento en el grupo con AOM/DSS es debido a que es un género de bacterias asociado con procesos de iniciación tumoral de cáncer de colon (Mangifesta et al., 2018). Sin embargo, los resultados indican que el garambullo y el residuo de garambullo no muestran un efecto significativo en la modulación de bacterias del género *Romboutsia*. El género *Alloprevotella* mostró una mayor abundancia al tiempo medial en el grupo G+AOM/DSS y RG+AOM/DSS respecto del control, y al tiempo final su abundancia fue mayor en el grupo RG+AOM/DSS respecto de los otros tres grupos. El aumento de *Alloprevotella* en los grupos con garambullo es similar a lo reportados por Wang et al., (2021) en un modelo animal inducido con AOM/DSS y alimentado con *Evodia rutaecarpa*. Las bacterias dentro del género *Alloprevotella* son productoras de AGCC por lo que intervienen en la salud colónica al correlacionarse negativamente con factores inflamatorios y positivamente con la integridad de la barrea intestinal (Wang et al., 2021). Por lo tanto, los resultados indican que el tratamiento con garambullo y residuo de garambullo tiene un efecto protector ante la inducción de AOM/DSS mediante el aumento en la proliferación de bacterias del género *Alloprvotella*.

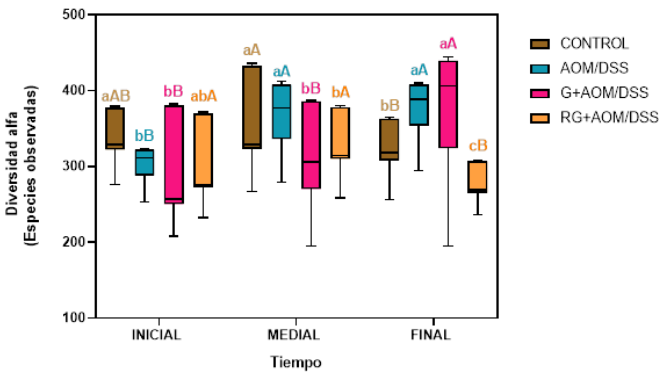


Figura 3. Los datos se muestran como la media ± desviación estándar de tres repeticiones. Letras minúsculas indican las diferencias entre grupos dentro de cada tiempo mientras que las letras mayúsculas indican diferencias entre los tiempos (inicial, medial y final). (ANOVA, prueba *post hoc* de Tukey $p<0.05$). AOM/DSS= Azoxymetano/dextrán sulfato de sodio, G+AOM/DSS= Garambullo inducido con Azoxymetano/dextrán sulfato de sodio, RG+AOM/DSS= Residuo de garambullo inducido con Azoxymetano/dextrán sulfato de sodio.

La diversidad alfa de las especies (Figura 3) la cual indica la riqueza de especies de bacterias dentro de los cuatro grupos experimentales en los tres tiempos evaluados. Los resultados muestran al tiempo inicial una menor riqueza de especies en el grupo AOM/DSS. En cuanto al tiempo final hay una mayor riqueza de especies en el grupo G+AOM/DSS y AOM/DSS las cuales en comparación al grupo control y el grupo RG+AOM/DSS. Estos resultados indican que el garambullo consumido como fruto completo es mejor sustrato para el aumento en la diversidad de bacterias respecto del residuo de garambullo. Así mismo el aumento en la riqueza de especies en el grupo con G+AOM/DSS y AOM/DSS pueden incluir bacterias productoras de AGCC o ya sea bacterias patógenas asociadas a inflamación y etapas tempranas del cáncer de colon respectivamente como se ha descrito anteriormente.

4. Conclusión

Por primera vez se ha descrito los efectos del consumo de garambullo sobre el perfil de la microbiota intestinal de un modelo con AMO/DSS. El consumo de garambullo y de residuo de garambullo en un modelo animal con AOM/DSS no generó cambios significativos en cuanto a la abundancia de *Firmicutes* y *Bacteroidetes* a lo largo del tiempo. Los cambios en el perfil de la microbiota bajo el tratamiento con garambullo y residuo de garambullo pudieron observarse a nivel género. Los tratamientos con garambullo y residuo de garambullo mostraron un efecto protector en el modelo inducido con AOM/DSS a través de la modulación en el perfil de la microbiota debido a que promovieron el aumento de bacterias productoras de AGCC del género *Bacteroides* y *Alloprevotella*. De tal manera que este trabajo demuestra que el consumo de garambullo modula el perfil de la microbiota a nivel de género promoviendo la presencia de bacterias benéficas para el colon.

5. Referencias

Cai, X., Han, Y., Gu, M., Song, M., Wu, X., Li, Z., Li, F., Goulette, T., & Xiao, H. (2019). Dietary cranberry suppressed colonic inflammation and alleviated gut microbiota dysbiosis in dextran sodium sulfate-treated mice. *Food and Function*, *10*(10), 6331–6341. https://doi.org/10.1039/c9fo01537j

Chang, Z. Y., Liu, H. M., Leu, Y. L., Hsu, C. H., & Lee, T. Y. (2022). Modulation of Gut Microbiota Combined with Upregulation of Intestinal Tight Junction Explains Anti-Inflammatory Effect of Corylin on Colitis-Associated Cancer in Mice. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(5). https://doi.org/10.3390/ijms23052667

Espinosa-Tamez, P., Suazo-Zepeda, E., Sánchez-Blas, H., Meneses-Medina, M., Huitzil-Meléndez, F. D., van Loon, K., Potter, M., & Lajous, M. (2021). National and state-level colorectal cancer mortality trends in Mexico, 1998-2018. *Salud Pública de México*, 1–9. https://doi.org/10.21149/12522

Guzmán-Maldonado, S. H., Herrera-Hernández, G., Hernández-López, D., Reynoso-Camacho, R., Guzmán-Tovar, A., Vaillant, F., & Brat, P. (2010). Physicochemical, nutritional and functional characteristics of two underutilised fruit cactus species (Myrtillocactus) produced in central Mexico. *Food Chemistry*, *121*(2), 381–386. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.039

Ji, X., Hou, C., Gao, Y., Xue, Y., Yan, Y., & Guo, X. (2020). Metagenomic analysis of gut microbiota modulatory effects of jujube (: Ziziphus jujuba Mill.) polysaccharides in a colorectal cancer mouse model. *Food and Function*, *11*(1), 163–173. https://doi.org/10.1039/c9fo02171j

Liu, X., Martin, D. A., Valdez, J. C., Sudakaran, S., Rey, F., & Bolling, B. W. (2021). Aronia berry polyphenols have matrix-dependent effects on the gut microbiota. *Food Chemistry*, *359*. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129831

Lucas, C., Barnich, N., & Nguyen, H. T. T. (2017). Microbiota, inflammation and colorectal cancer. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 18, Issue 6). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/ijms18061310

Mangifesta, M., Mancabelli, L., Milani, C., Gaiani, F., de'Angelis, N., de'Angelis, G. L., van Sinderen, D., Ventura, M., & Turroni, F. (2018). Mucosal microbiota of intestinal polyps reveals putative biomarkers of colorectal cancer. *Scientific Reports*, *8*(1). https://doi.org/10.1038/s41598-018-32413-2

Ramírez-Rodríguez, Y., Martínez-Huélamo, M., Pedraza-Chaverri, J., Ramírez, V., Martínez-Tagüeña, N., & Trujillo, J. (2020). Ethnobotanical, nutritional and medicinal properties of Mexican drylands Cactaceae Fruits: Recent findings and research opportunities. *Food Chemistry*, *312*(July 2019). https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126073

Rawla, P., Sunkara, T., & Barsouk, A. (2019). Epidemiology of colorectal cancer: Incidence, mortality, survival, and risk factors. In *Przeglad Gastroenterologiczny* (Vol. 14, Issue 2, pp. 89–103). Termedia Publishing House Ltd. https://doi.org/10.5114/pg.2018.81072

Sánchez-Recillas, E., Campos-Vega, R., Pérez-Ramírez, I. F., Luzardo-Ocampo, I., Cuéllar-Núñez, M. L., & Vergara-Castañeda, H. A. (2022). Garambullo (Myrtillocactus geometrizans): effect of in vitro gastrointestinal digestion on the bioaccessibility and antioxidant capacity of phytochemicals. *Food and Function*. https://doi.org/10.1039/d1fo04392g

Schmitt, M., & Greten, F. R. (2021). The inflammatory pathogenesis of colorectal cancer. In *Nature Reviews Immunology* (Vol. 21, Issue 10, pp. 653–667). Nature Research. https://doi.org/10.1038/s41577-021-00534-x

Shen, J., Li, P., Liu, S., Liu, Q., Li, Y., Zhang, Z., Yang, C., Hu, M., Sun, Y., He, C., & Xiao, P. (2020). The chemopreventive effects of Huangqin-tea against AOM-induced preneoplastic colonic aberrant crypt foci in rats and omics analysis. *Food and Function*, *11*(11), 9634–9650. https://doi.org/10.1039/d0fo01731k

Wang, M., Zhou, B., Cong, W., Zhang, M., Li, Z., Li, Y., Liang, S., Chen, K., Yang, D., & Wu, Z. (2021). Amelioration of AOM/DSS-Induced Murine Colitis-Associated Cancer by Evodiamine Intervention is Primarily Associated with Gut Microbiota-Metabolism-Inflammatory Signaling Axis. *Frontiers in Pharmacology*, *12*. https://doi.org/10.3389/fphar.2021.797605

Xiao, X., Long, W., Huang, T., Xia, T., Ye, R., Liu, Y., & Long, H. (2018). Differences Between the Intestinal Lumen Microbiota of Aberrant Crypt Foci (ACF)-Bearing and Non-bearing Rats. *Digestive Diseases and Sciences*, *63*(11), 2923–2929. https://doi.org/10.1007/s10620-018-5180-7

Efecto del disruptor endócrino MEHP en la regulación de C/EBPα durante la adipogénesis

Suastegui Otero-Nelly Alejandra[1], Hernández Puga-Ana Gabriela[2]

[1]Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Universidad 231, Cerro de las campanas S/N, C.P. 76010, Querétaro, Qro. nsuastegui04@alumnos.uaq.mx

[2]Profesor-investigador, Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de medicina-Campus Aeropuerto, Carr. a Chichimequillas s/n C.P. 76140, Querétaro, Qro. ana.gabriela.hernandez@uaq.mx.

Resumen

Los disruptores endócrinos son sustancias químicas presentes en el ambiente capaces de alterar el equilibrio hormonal. El mono-2-etilhexil ftalato (MEHP) es un obesógeno que participa en la inducción de la adipogénesis y favorece la acumulación de tejido adiposo en el cuerpo, por lo que está asociado al desarrollo de la obesidad. En este estudio se analizó el efecto del tratamiento con MEHP en la expresión relativa de C/EBPα, un factor de transcripción clave en la adipogénesis, en células 3T3-L1 por medio de PCR en tiempo real. Se extrajeron y cuantificaron muestras de RNA de las células, posteriormente se sintetizo cDNA para realizar la qPCR. Las células tratadas con 3 y 100 μM muestran una disminución significativa en la expresión génica de C/EBPα, lo que podría indicar un efecto anti-adipogénico bajo el contexto experimental implementado.

Palabras clave: Adipogénesis, C/EBPα, MEHP, obesidad.

Abstract

Endocrine disruptors are chemical substances present in the environment capable of altering the hormonal balance. Mono-2-ethylhexyl phthalate (MEHP) is an obesogen involve in the induction of adipogenesis and favors the accumulation of adipose tissue in the body, so it is associated with the development of obesity. This study analyzed the effect of the treatment with MEHP on the relative expression of C/EBPα, a key transcription factor in adipogenesis, in 3T3-L1 cells by means of real-time PCR. RNA samples were extracted and quantified from the cells, then cDNA was synthesized to perform qPCR. Cells treated with 3 and 100 μM show a significant decrease in C/EBPα gene expression, which could indicate an anti-adipogenic effect under the implemented experimental context.

Keywords: Adipogenesis, C/EBPα, MEHP, obesity

Introducción

La obesidad representa uno de los problemas de salud pública más preocupantes en el mundo. México ocupa el segundo lugar a nivel mundial, con el 36.1% de la población adulta obesa (Barquera & Rivera, 2020). La obesidad es una enfermedad crónica de etiología multifactorial influenciada por factores genéticos, de comportamiento y ambientales que se caracteriza por una acumulación excesiva de tejido adiposo (Gore, 2015). Recientemente, se ha evidenciado que el incremento de la producción global de plásticos y diversos productos químicos se relaciona con el aumento de la exposición humana a sustancias químicas contaminantes presentes en el ambiente, entre ellas se encuentran los disruptores endocrinos (DEs) (Flaws, 2020). Los DEs son compuestos que alteran el equilibrio hormonal, por lo que están ampliamente relacionados con el desarrollo de distintos desordenes metabólicos, neurológicos y reproductivos. Asimismo, los DEs son considerados obesogénicos, ya que alteran procesos que afectan el metabolismo de lípidos, como la adipogénesis, contribuyendo al desarrollo de la obesidad (Gore, 2015). Particularmente, el mono-2-etilhexil ftalato (MEHP), es un DEs perteneciente a la familia de los ftalatos, compuestos que poseen efecto pro-

adipogénico en líneas celulares 3T3- L1 ya que, al estimular la vía de señalización mediada por PPARγ, favorecen la formación de adipocitos activando a PPARγ y genes involucrados en el metabolismo de lípidos como C/EBPα (Casanova, 2020). Se ha reportado que la exposición perinatal con MEHP incrementa significativamente el peso y la grasa corporal de ratones macho 3T3-L1 a través de la inducción de la expresión de PPARγ y los genes implicados en la adipogénesis *in vitro* e *in vivo* a concentraciones de 1 a 100 μM, por lo que la exposición a MEPH podría contribuir al aumento en la incidencia de la obesidad y enfermedades relacionadas (Hao, 2012). De acuerdo con la evidencia reportada, se propone que el tratamiento con dosis ambientalmente relevantes de 3, 30 y 100 μM de MEPH durante la etapa de proliferación celular, aumentará la expresión de C/EBPα en células 3T3-L1.

Marco teórico

La adipogénesis se refiere al proceso en el cual una célula madre mesenquimal se diferencia hacia un adipocito maduro, principal constituyente del tejido adiposo (Casanova, 2020). Durante la adipogénesis, la expresión de dos factores de trascripción clave: el receptor activado del proliferador de peroxisoma gamma (PPARγ) y la proteína de unión al potenciador/CCAAT-α (C/EBPα), inducen la expresión de genes que confieren las características de un adipocito maduro, como la proteína Ap2, el receptor de insulina o el transportador de glucosa Glut4 (HAO, 2012). Los DEs actúan como obesógenos al alterar el proceso de adipogénesis y favorecer la acumulación de tejido adiposo en el cuerpo, asimismo, poseen características toxicológicas particulares, pueden actuar en dosis muy bajas y la relación dosis-efecto no es lineal, asimismo, su acción también puede ser combinada por lo que no es posible establecer límites seguros de exposición (Romano, 2012). Los ftalatos, son disruptores endocrinos de vida corta ampliamente utilizados como plastificantes en la industria, dado que confieren la flexibilidad y dureza de los materiales. Por tanto, se encuentran presentes en plastificantes de PVC, recubrimientos, insecticidas, repelentes y cosméticos como perfumes y esmaltes de uñas. La exposición a los ftalatos en el día a día puede ser a través de la inhalación, el contacto dermal, pero mayormente por la ingesta oral de alimentos empacados, puesto que forman interacciones no covalentes con los plásticos, haciéndolos fácilmente transferibles. Entre los ftalatos de mayor uso en la industria se encuentra el di(2-etilhexil) ftalato (DEPH), cuyo metabolito principal es el mono-2-etilhexil ftalato (MEPH), tiene una vida media de 12 hrs y el consumo diario estimado se encuentra alrededor de los 3.0-30 $\mu g/kg/dia$ (Gore et al., 2015).

Metodología

a. Muestras biológicas

Las muestras biológicas fueron obtenidas de células 3T3-L1 que recibieron tratamientos con dosis ambientalmente relevantes de MEPH. Brevemente, células 3T3-L1 fueron tratadas con 3, 30 y 100 μM de MEPH durante la etapa de proliferación celular (10 días). Posteriormente, las células fueron diferenciadas hacia adipocitos empleando inductores de la diferenciación adipogénica (insulina 174 nM, dexametasona 10 μM, 3- isobutil-1-metilxantina (IBMX) 0.5 nM). A las 48 h post-diferenciación se recolectó el RNA total empleando el método de Trizol™ (Invitrogen). Las muestras fueron almacenadas a -80°C hasta su uso. Se analizaron las muestras biológicas de los grupos basal (sin tratamiento), vehículo (tratamiento con vehículo: DMSO) y tratamiento con MEPH a 3, 30 y 100 μM.

b. Cuantificación de RNA

Se utilizó un NanoDrop ONE^c (ThermoScientific™) para cuantificar la concentración de RNA de las muestras y determinar su pureza. Se colocaron 2 μL de cada muestra en el NanoDrop para su análisis. La concentración de ácido nucleico se reportó en ng/μL, asimismo, se midió la absorbancia de la muestra a 260/280 y a 260/230 para la identificación de contaminación por proteínas y residuos fenólicos respectivamente. Posteriormente, se evaluó la integridad de las muestras mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.5%.

c. Síntesis de cDNA

Se realizó la retrotranscripción de 100 ng de RNA total para la obtención de cDNA mediante RT-PCR empleando el kit Script cDNA Synthesis (Jenna Bioscience™) y se evaluó la integridad de este mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.5%.

d. PCR en tiempo real

Para determinar la expresión de C/EBPα en las muestras, se realizó una qPCR, como sigue: Las muestras de cDNA de los controles (basal y vehículo) y los tratamientos (3, 30 y 100 μM) se analizaron por duplicado (100ng por reacción) en un termociclador Applied Biosystems StepOne™. Se emplearon los siguientes oligonucleótidos para amplificar a C/EBPα: FWD 5´-ACCAGTGACAATGACCGCCT-3´, REV 5´-GCGACCCGAAACCATCCTCT-3´. Para la amplificación del gen endógeno β-actina se emplearon los siguientes oligonucleótidos: FWD 5´-TACAGCTTCACCACCACAGC-3´, REV 5´-TCTCCAGGGAGGAAGAGGA-3´. Se utilizó el kit Bio-rad SsoAdvanced Universal SYBR Green Supermix, siguiendo el programa: 95°C x 10'; 95°C x 15"; 62°C x 30"; 72°C x 30" por 35 ciclos. Para la amplificación de β-actina se empleó el programa: 95°C x 10'; 95°C x 15"; 60°C x 30"; 72°C x 30" por 40 ciclos. La integridad de los productos de PCR fue analizada por electroforesis en gel de agarosa al 1.5%. Los datos de Ct fueron analizados con el método $2^{-\Delta\Delta ct}$ para calcular la expresión relativa del gen C/EBPα con respecto al grupo basal (sin tratamiento).

e. Análisis estadístico.

Los datos de expresión relativa fueron analizados mediante ANOVA de 1-vía para determinar diferencias entre el grupo basal y los grupos experimentales ($P<0.05$), utilizando el programa GraphPad Prism 9™.

Resultados y discusión

Tabla 1. Calidad del RNA total de células 3T3-L1 de los grupos experimentales.

Muestra	RNA ($ng/\mu l$) actual	Absorbancia 260/280	Absorbancia 260/230
3 $\mu M1$	246.9	2.08	1.13
3 $\mu M2$	220.3	2.01	0.81
30 $\mu M1$	179.5	2.02	0.92
30 $\mu M2$	240.2	2.02	1.21
100 $\mu M1$	236.6	2.02	0.82
100 $\mu M2$	129.7	1.55	1.55

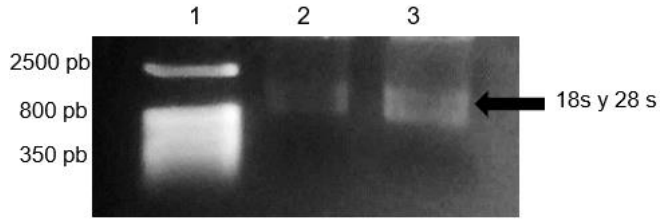


Figura 1. Integridad del RNA total de células 3T3-L1 tratadas con MEPH. Se muestra carril: 1. Marcador de peso molecular 50 bp, 2. RNA total del grupo 30 μM MEPH, 3. RNA total del grupo 3 μM MEPH. La flecha indica el RNAr de las subunidades 18S y 28S, respectivamente.

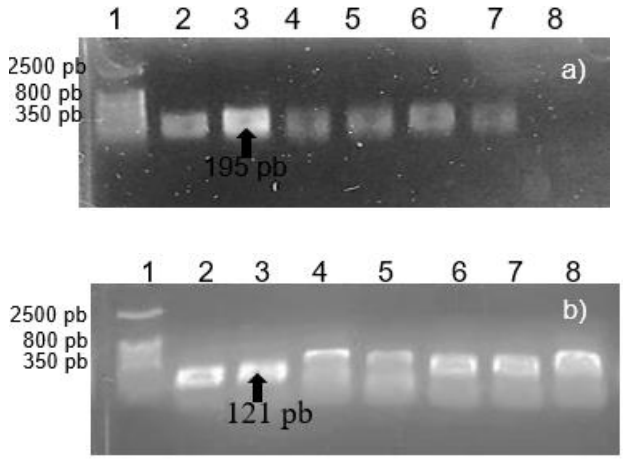


Figura 2. qPCR de C/EBPα y β-actina. a) Amplicones del gen C/EBPα obtenidos en la qPCR. Se muestran carril: 1. Marcador de peso molecular 50 bp, 2-3. Grupo 3 μM MEPH, 4-5. Grupo 30 μM MEPH, 6-7. Grupo 100 μM MEPH y 8. Control negativo. b) Amplicones del gen β-actina obtenidos en la qPCR. Se muestran carril: 1. Marcador de peso

molecular 50 bp, 2-3. Grupo 3 µM MEPH, 4-5. Grupo 30 µM MEPH, 6-7. Grupo 100 µM MEPH y 8. grupo vehículo.

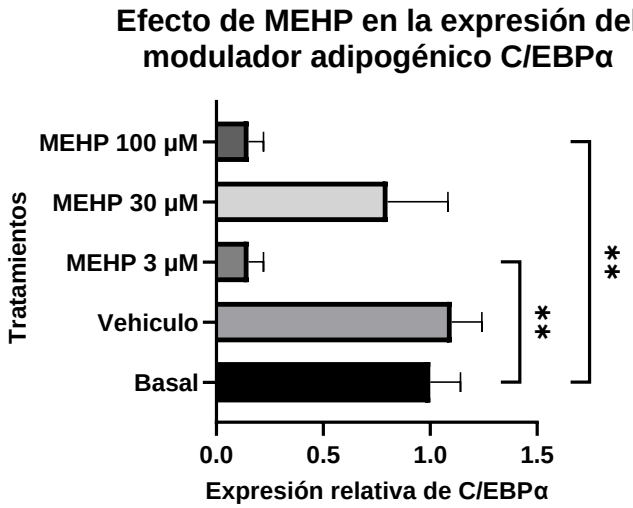


Figura 3. Efecto de tratamientos de MEHP en la expresión génica del modulador adipogénico C/EBPα. Los niveles de expresión de C/EBPα fueron analizados por PCR tiempo real, empleando como gen endógeno a β-actina. Los datos representan duplicados de las muestras, los valores son promedios±DE (n=2). ** P<0.05.

La Figura 2 (imagen a) muestra la amplificación de un fragmento de tamaño aproximado a 195 pb en todas las muestras experimentales, el cual corresponde al gen C/EBPα. El control negativo (-) no muestra ningún barrido o fragmento, lo que indica que la reacción no está contaminada y se llevó a cabo correctamente. La amplificación de β-actina en las muestras experimentales y vehículo puede observarse en la Figura 2 (imagen b), todas las muestras poseen un fragmento de aproximadamente 121 pb, correspondiente a la β-actina, sin embargo, se observa un barrido en algunas muestras. Analizando las curvas de amplificación de la qPCR, se encontró que hubo formación de dímeros de oligonucleótidos en las muestras, lo cual afecta la especificidad de la reacción, esto puede deberse tanto al número de ciclos, que en este caso fueron 40, lo cual se considera un número elevado de ciclos para amplificación, ya que se recomienda hacer hasta 35 ciclos, asimismo, la concentración de los oligonucleótidos en la reacción, que es de 0.4 μM cada uno, la cual podría ser elevada para esta reacción (Brownie, 1997).

En la Figura 4 se observa la expresión relativa de C/EBPα bajo los diferentes tratamientos con MEHP, al comparar con el control basal (sin tratamiento), la expresión de C/EBPα se ve disminuida significativamente con los tratamientos de MEHP a 3 y 100 μM (0.2895 ± 1.411; $P<0.05$). Estos datos se asemejan a lo reportado por Hao et al. en donde hubo un incremento significativo en la expresión inducida por MEHP en hígado de ratón para los marcadores adipogénicos PPARγ, aP2 y LPL; sin embargo, para C/EBPα no hubo cambios significativos en la expresión, lo que podría indicar que MEHP por sí solo como tratamiento individual induce la adipogénesis a través de la vía PPARγ activando a los demás moduladores adipogénicos, pero no lo hace a través de la vía de C/EBPα, pues no posee un efecto pro-adipogénico a través de C/EBPα. Sin embargo, no se ha reportado una disminución significativa en la expresión de C/EBPα por efecto de MEHP, por lo que esta discrepancia en los resultados puede deberse a distintas razones. Se ha observado que a dosis mayores a 100 μM de MEHP, se podría inducir una respuesta citotóxica en la célula y llevar a la apoptosis (Hao et al., 2012), dado que el tratamiento con menor expresión relativa para C/EBPα fue el de 100 μM quizá pudo deberse a una disminución de la actividad celular por citotoxicidad en la célula.

Se ha reportado que la combinación de tratamientos con distintos disruptores incrementa la expresión de C/EBPα, lo que habla de un efecto sinérgico entre bisfenol A, butil parabeno y MEHP para inducir la adipogénesis a través de esta vía (Guerrero-Meza, 2020); sin embargo, tratamientos individuales con BPA si han logrado incrementar la expresión de C/ EBPα (Ariemma et al., 2016), lo que podría indicar que el tratamiento individual con MEHP no posee efecto proadipogénico a través de C/ EBPα. Cabe

recalcar que en el presente proyecto se administraron tratamientos diferentes a los ya reportados, como la etapa de exposición, siendo en nuestro caso durante la etapa de proliferación celular y no durante la adipogénesis, aunado a los tiempos de exposición y las concentraciones del disruptor, los cuales podrían haber contribuido a la disminución en la expresión relativa de C/EBPα. Por lo que seria importante realizar más estudios para evaluar el tiempo de exposición, la concentración y la etapa en la que se llevan a cabo los tratamientos para comprender los efectos biológicos de distintas concentraciones de MEHP.

Conclusiones

La exposición a 3 y 100 µM MEHP durante la proliferación celular disminuyó la expresión del modulador adipogénico C/EBPα en células 3T3-L1.

Referencias

Ariemma, F. et al. (2016) Low-Dose Bisphenol-A Impairs Adipogenesis and Generates Dysfunctional 3T3-L1 Adipocytes. PLoS ONE 11(3):e0150762. doi:10.1371/journal.pone.0150762

Barquera, S., & Rivera, J. A. (2020). Obesity in Mexico: rapid epidemiological transition and food industry interference in health policies. The Lancet Diabetes & Endocrinology, 8(9), 746–747. https://doi.org/10.1016/s2213-8587(20)30269-2

Brownie, J. (1997). The elimination of primer-dimer accumulation in PCR. Nucleic Acids Research, 25(16), 3235–3241. doi:10.1093/nar/25.16.3235

Flaws, J. (2020). Plastics, EDCs & health: A guide for public interest organizations and policy-makers on endocrine disrupting chemicals & plastics | Health & Environmental Research Online (HERO) | US EPA. Https://Hero.Epa.Gov/Hero/Index.Cfm/Reference/Details/Reference_id/7330245. Recuperado el 14 de agosto, 2022, de https://hero.epa.gov/hero/index.cfm/reference/details/reference_id/7330245

González-Casanova, J. E., Pertuz-Cruz, S. L., Caicedo-Ortega, N. H., & Rojas-Gomez, D. M. (2020). Adipogenesis Regulation and Endocrine Disruptors: Emerging Insights in Obesity. BioMed Research International, 2020, 1–13. https://doi.org/10.1155/2020/7453786

Gore AC, et al. (2015). EDC-2: The Endocrine Society's Second Scientific Statement on Endocrine-Disrupting Chemicals. Endocr Rev.;36(6):E1-E150. doi: 10.1210/er.2015-1010. PMID: 26544531; PMCID: PMC4702494.

Guerrero, F. (2020) Análisis De Los Efectos De Distintas Combinaciones De Bisfenol-A, Mono (2-Etilhexil) Ftalato Y Butilparabeno En La Regulación Genética Y Morfológica Durante La Adipogénesis En Modelo In Vitro. Tesis de maestría en ciencias biomédicas, Universidad Autónoma de Querétaro, México.

Hao, C., Cheng, X., Xia, H., & Ma, X. (2012). The endocrine disruptor mono-(2-ethylhexyl)phthalate promotes adipocyte differentiation and induces obesity in mice. *Bioscience Reports*, *32*(6), 619–629. https://doi.org/10.1042/bsr20120042

Romano, D. (2012) DISRUPTORES ENDOCRINOS, Nuevas respuestas para nuevos retos. Instituto Sindical de Trabajo, Ambiente y Salud (ISTAS). 60 págs. Recuperado el 14 de agosto, 2022, de https://noharm-uscanada.org/documentos/americalatina/disruptores-endocrinos-nuevas-respuestas-para-nuevos-retos

Características clínicas de Mexicanas con Lupus: datos del LUPUS RGMX.

Villegas Bolaños- Mariana Guadalupe [1*], Hernández-Ledesma Ana Laura[2], Torres Valdez Estefania[3], Peña Ayala Angélica Hayleen[4], Tinajero Nieto Lizbet[4], Felíx-Rodríguez Guillermo[5], Frontana-Vázquez Gabriel[3], Alpízar-Rodríguez Deshiré[6], Medina-Rivera Alejandra[2].

[1] Licenciatura en Medicina, Universidad del Valle de México.

[2] Laboratorio Internacional de Investigación sobre el Genoma Humano, Universidad Nacional Autónoma de México, Juriquilla, Querétaro, México.
[3] Hospital General Regional 2, IMSS, El Marqués, Querétaro.
[4] Hospital General Regional 1 IMSS, Querétaro, Querétaro.
[5] Práctica privada Star Médica. Presidente Capítulo de Reumatología Querétaro.
[6] Colegio Mexicano de Reumatología.
* viperqromarianaguadalupe@hotmail.com

RESUMEN

Objetivo: Identificar características clínicas en población Queretana con Lupus Eritematoso Sistémico.
Material y métodos: Se evaluaron los datos clínicos de 116 mujeres mexicanas con diagnóstico de Lupus Eritematoso Sistémico canalizadas desde las principales clínicas del Instituto Mexicano del Seguro Social e instituciones privadas de Querétaro, a través del Registro Mexicano de Lupus, entre Mayo de 2021 y Noviembre 2022. Las participantes fueron evaluadas a través de una entrevista directa, realizada por el médico reumatólogo y la aplicación de un cuestionario estructurado. Se evaluaron variables clínicas y se determinó el Índice de la Actividad de la Enfermedad de Lupus Eritematoso Sistémico. El análisis es descriptivo y retrospectivo.
Resultados: Se obtuvo una media de edad de 40.7 (±13) años y una media de 8.5 (±8) años con el diagnóstico. A nivel clínico destaca que la mayoría (44%) reportó que pasaron menos de 6 meses entre sus primeras manifestaciones y su diagnóstico. Los antimaláricos (72.4%) y los glucocorticoides (71.2%) son los medicamentos más utilizados por nuestra cohorte. La mayoría (54.3%) reporta no presentar comorbilidades. Con respecto a la actividad del lupus se observó una media de 5 puntos, en un intervalo desde 0 hasta los 40; no se observaron asociaciones significativas entre el índice de la actividad, el tiempo de diagnóstico y el tipo de tratamiento.
Conclusión: A partir de datos recabados por reumatólogos en el Registro Mexicano de Lupus, se evaluaron características clínicas de mujeres con lupus residentes del Estado de Querétaro. Son necesarios más estudios que permitan ahondar en los factores que pueden estar contribuyendo a la variabilidad observada con respecto al uso de medicamentos y a la actividad de la enfermedad en nuestra cohorte. El Registro Mexicano de Lupus representa una potencial fuente de información confiable que permitirá mejorar la investigación clínica multicéntrica no solo en la población Queretana, sino también a nivel nacional.

Palabras clave: *Lupus eritematoso sistémico, México, actividad de la enfermedad, SLEDAI.*

ABSTRACT

Objective: To identify clinical characteristics in the Querétaro population with Systemic Lupus Erythematosus Erythematosus.
Material and methods: Clinical data from 116 Mexican women with a diagnosis of Systemic Lupus Erythematosus Erythematosus referred from the main clinics of the Mexican Social Security Institute and private institutions in Querétaro, through the Mexican Lupus Registry, were evaluated between May 2021 and November 2022. Participants were assessed through a direct

interview by the rheumatologist and the application of a structured questionnaire. Clinical variables were assessed and the Systemic Lupus Erythematosus Erythematosus Disease Activity Index was determined. The analysis was descriptive and retrospective.
Results: Mean age was 40.7 (±13) years and mean age at diagnosis was 8.5 (±8) years. Clinically, the majority (44%) reported that less than 6 months elapsed between first manifestations and diagnosis. Antimalarials (72.4%) and glucocorticoids (71.2%) are the most commonly used drugs in our cohort. The majority (54.3%) report no comorbidities. With respect to lupus activity, a mean of 5 points was observed, ranging from 0 to 40; no significant associations were observed between the activity index, time of diagnosis and type of treatment.
Conclusion: Based on data collected by rheumatologists in the Mexican Lupus Registry, clinical characteristics of women with lupus residing in the State of Querétaro were evaluated. Further studies are needed to investigate factors that may be contributing to the observed variability in medication use and disease activity in our cohort. The Mexican Lupus Registry represents a potential source of reliable information that will improve multicentre clinical research not only in the Queretaro population, but also at the national level.

Key words: *Systemic lupus erythematosus, Mexico, disease activity, SLEDAI.*

Introducción y objetivos

El lupus eritematoso sistémico (LES), es una enfermedad autoinmune, inflamatoria, crónica y multisistémica de etiología desconocida, definida por sus características clínicas y por la presencia de autoanticuerpos dirigidos contra uno o más componentes del núcleo celular. En México, se estima que por cada 100 mil habitantes, 20 personas sufren de esta enfermedad; el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) señala que de cada diez personas que padecen la enfermedad, nueve son mujeres, y la mayoría de los pacientes debuta entre los 20 y 40 años de edad.

Aún cuando existen pocos estudios con diseño epidemiológico que determinen la fuerza de asociación de algunos factores de riesgo y la presencia de LES, se han recopilado datos que han permitido observar mayor incidencia en mujeres de origen latino y africano. Un estudio previo del Departamento de Reumatología del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional (HE CMN) Siglo XXI sugieren que, aun cuando los factores genéticos parecen desempeñar un papel importante en el desarrollo de LES, por sí solos no pueden explicar su etiología. Se postula que el desarrollo de esta patología es la suma de interacciones entre factores de riesgo genéticos, endocrinos, ambientales, infecciosos y farmacológicos.

Actualmente, el diagnóstico de LES se basa en la determinación, por parte del médico especialista, de criterios definidos por el Systemic Lupus International Collaborating Clinics Group (SLICC, por sus siglas en inglés) publicados en 2012; los cuales sustituyeron a los criterios del American College of Rheumatology (ACR, por sus siglas en inglés) de 1997; los cuales evalúan aspectos clínicos e inmunológicos de la enfermedad. Con respecto a su seguimiento, al ser una patología multisistémica y altamente heterogénea, ha surgido la necesidad de establecer herramientas que faciliten la evaluación del estado de la persona con LES. El Índice de Actividad de la Enfermedad del Lupus Eritematoso Sistémico (SLEDAI, por sus siglas en inglés) es un instrumento utilizado en la clínica para determinar la actividad que ha tenido la patología durante los últimos diez días a través de la determinación de variables clínicas y de laboratorio que permiten evaluar las manifestaciones y daños más frecuentes observados en personas con LES. Si bien el SLEDAI es ampliamente utilizado a nivel clínico para el seguimiento de las personas con LES, con el tiempo han surgido adaptaciones de este instrumento que buscan cubrir necesidades específicas de diferentes poblaciones. En 1992, en México, un grupo de investigadores mexicanos desarrolló la escala MEX-SLEDAI, que es una modificación del SLEDAI, que no incluye algunas de las determinaciones de laboratorio, lo

cual disminuye los gastos económicos que estas conllevan, facilitando el uso de un instrumento de menor costo.

Los medicamentos más utilizados para el tratamiento de LES incluyen fármacos antimaláricos, inmunosupresores, glucocorticoides y agentes biológicos. De manera frecuente el primer escalón del tratamiento es la administración de fármacos antimaláricos y medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINE); sin embargo, es importante considerar que la elección del tratamiento se basa en la severidad y localización de las manifestaciones que presenta la persona con LES. Dentro de los medicamentos antimaláricos destaca el uso de la hidroxicloroquina, asociada con una disminución en la frecuencia y severidad de los brotes, además de una disminución en la mortalidad. Con respecto al uso de inmunosupresores el metotrexato, la azatioprina y el micofenolato de mofetilo son frecuentemente utilizados, como ya se mencionó, la preferencia de uno por sobre los demás depende de la naturaleza de las manifestaciones que presente la persona con LES al momento de su evaluación. Por otra parte, los glucocorticoides (GCC) han sido ampliamente utilizados para el tratamiento del LES, tanto durante brotes como en el proceso de remisión.

El objetivo de este trabajo es determinar características clínicas y el índice de actividad del lupus (SLEDAI) en una cohorte de mujeres mexicanas con Lupus Eritematoso Sistémico residentes del Estado de Querétaro.

Metodología

El presente estudio cuenta con la aprobación del Comité de Ética en la Investigación, del Instituto de Neurobiología de la UNAM, toda la información recabada ha sido anonimizada y protegida con base en los lineamientos establecidos por las clínicas participantes y la UNAM. Todas las participantes incluidas en el estudio recibieron información sobre la naturaleza del proyecto y han dado su consentimiento informado por escrito para participar en esta investigación.

Para el presente estudio se consideraron a todas aquellas mujeres mexicanas, mayores de 18 años, con diagnóstico previo de LES que llegan a consulta de valoración o seguimiento. Las voluntarias fueron identificadas a través de médicos reumatólogos pertenecientes al Colegio Mexicano de Reumatología que brindan consulta en las principales clínicas del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) y algunas instituciones privadas establecidas en la Ciudad de Querétaro. Los datos clínicos y demográficos de las participantes fueron recuperados a través del Registro Mexicano de Lupus.

El Registro Mexicano de Lupus (Lupus RGMX) es una plataforma digital enfocada a la recolección de datos clínicos, sociodemográficos y psicosociales de personas con LES en México. El Registro está implementado utilizando la aplicación Research Electronic Data Capture (REDCap) y resguardado en el Laboratorio Nacional de Visualización Científica Avanzada de la UNAM (LAVIS).

El registro de participantes se realiza cuando las voluntarias acuden a la clínica a control o como primera vez con el reumatólogo quien les informa sobre el registro, les invita a participar y les facilita el aviso de privacidad y el consentimiento informado en caso de aceptar participar. Posteriormente, se inscribe a la participante en el Registro Mexicano de Lupus; el reumatólogo realiza una evaluación general de la participante y determina el índice de actividad del lupus con base en la escala SLEDAI y ayuda a la participante a contestar los cuestionarios del registro que abarcan aspectos sociodemográficos y clínicos como edad, antecedentes de familiares, anormalidades inmunológicas, nefritis lúpica, uso de medicamentos o terapia de inmunosupresión, entre otros aspectos.

Se realizaron análisis descriptivos y exploratorios de las variables clínicas de las participantes utilizando el entorno de desarrollo integrado (IDE) de Rstudio.

Resultados

En el presente estudio se integra la información clínica de 116 voluntarias con diagnóstico previo de LES. La mayoría de nuestras voluntarias son originarias del Estado de Querétaro (n= 52, 44.8%), mientras que el resto proviene de otros 15 estados de la república, principalmente de la zona centro y sur del país (Figura 1).



Estado	n	Estado	n
Querétaro	52	Oaxaca	2
Ciudad de México	25	Puebla	2
Guanajuato	8	Veracruz	2
Estado de México	6	Tabasco	1
Hidalgo	6	Tamaulipas	1
Guerrero	3	Sinaloa	1
Jalisco	3	Quintana Roo	1
Michoacán	2	Morelos	1

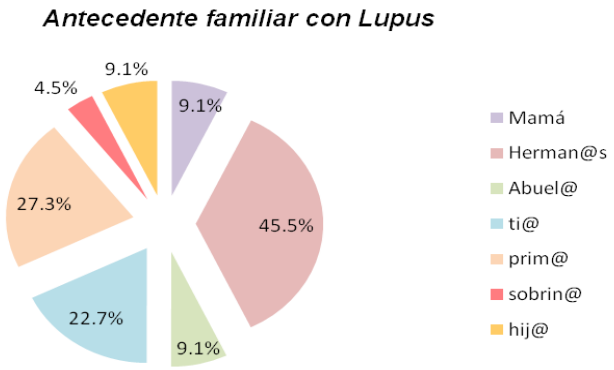
Gráfica 1. Distribución geográfica de las mujeres con lupus registradas, de acuerdo a su entidad de nacimiento (n=116).

Nuestra cohorte presenta una media de edad (±DE) de 40.7 (±13) años, abarcando un intervalo de 18 hasta 75 años (Tabla 1). Con respecto al tiempo de diagnóstico podemos observar una media (±DE) de 8.5 (±8) años, con un intervalo desde 5 meses hasta 40 años. Al cuestionarlas sobre cuánto tiempo pasó entre el primer síntoma que ellas asocian con LES y su diagnóstico la mayoría reporta haber esperado menos de 6 meses (n=51, 44%). Solo una de las participantes (0.9%) se encontraba embarazada al momento de realizar el registro. Dieciséis (13.4%) de las voluntarias reportó haber sido diagnosticada con nefritis lúpica, una de las manifestaciones clínicas más frecuente y agresivas de la enfermedad.

Tabla 1. Principales características demográficas y clínicas de las mujeres con lupus registradas (n=116).

Variable	
Edad (media ± DE)	40.7 ± 13
Tiempo con el diagnóstico (media ± DE)	8.5 ± 8
Tiempo desde el primer síntoma hasta el diagnóstico (n, %) menos de seis entre 6 meses y un año un año dos años, tres años cuatro años más de 5 años más de 10 años	 51, 44.0% 22, 19.0% 19, 16.4% 11, 9.5% 1, 0.9% 3, 2.6% 4, 3.4% 5, 4.3%
Embarazadas (n,%)	1, 0.9%
Nefritis lúpica (n,%)	16, 13.4%
Familiar(es) con LES (n,%)	22, 19%

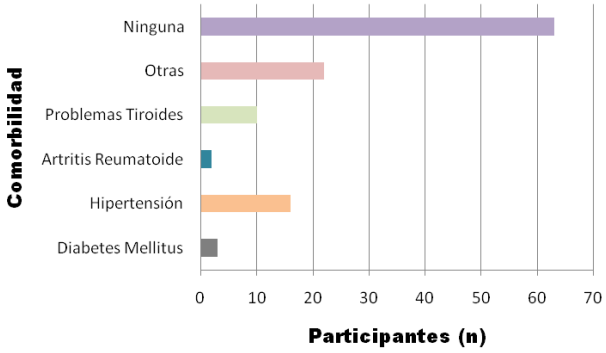
Con respecto a antecedentes familiares de LES, 22 (19%) participantes refirieron contar con algún familiar con LES diagnosticado; de las cuales la mayoría de los casos son hermanos (45.5%), seguidos de primos (27.3%), tíos (22.7%) y en menor cantidad abuelos, sobrinos e hijos (Figura 2).



Gráfica 2. Proporción de familiares de las participantes que cuentan con diagnóstico de lupus (n=22).

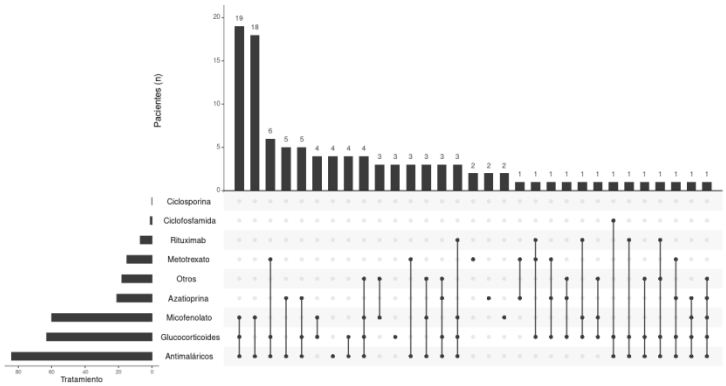
Al cuestionar sobre comorbilidades la mayoría de las participantes manifestó no presentarlas (n=63, 54.3%); mientras que la más frecuente es la hipertensión (n=16, 13.8%), seguida de problemas

de tiroides (n=10, 8.6%), diabetes mellitus (n=3, 2.6%) y artritis reumatoide (n=2, 1.7%), además de que el 19% (n=22, 19%) reportó presentar otras comorbilidades (Figura 3).



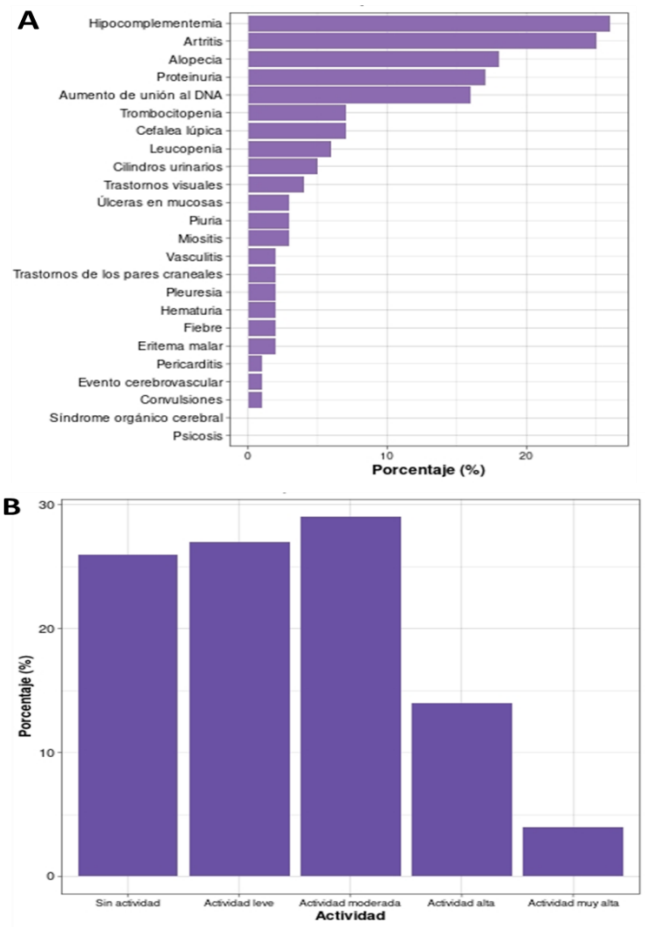
Gráfica 3. Frecuencia de comorbilidades que presentan las participantes (n=116).

Con respecto al uso de medicamentos los de mayor uso son los antimaláricos (n=84, 72.4%), seguido de glucocorticoides (n=83, 71.5%), ácido micofenólico (n=63, 54.3%), azatioprina (n=21, 18.1%), metotrexato (n=15, 12.9%) y rituximab (n=7, 6%). Es importante considerar que en la mayoría de los casos el tratamiento no se limita al uso de un solo medicamento, por lo que analizamos las combinaciones de medicamentos utilizados por nuestras voluntarias (Figura 4); la combinación más frecuente es el uso de micofenolato-glucocorticoides-antimaláricos (n=19, 16.4%), seguido de la combinación micofenolato-antimaláricos (n=18, 15.5%).



Gráfica 4. Frecuencia de medicamentos, y sus combinaciones, utilizados por las participantes.

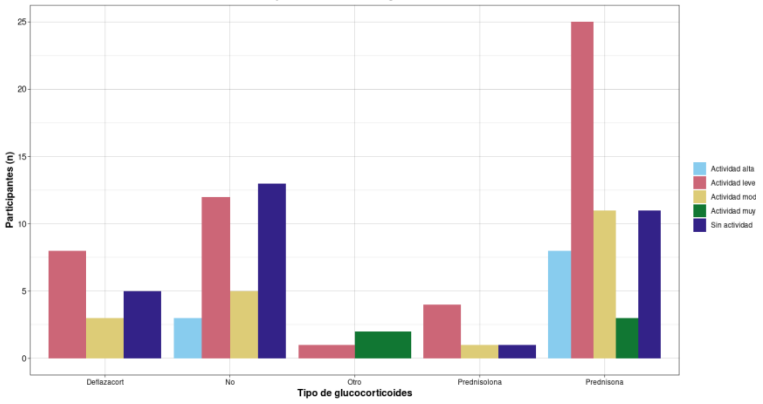
Se determinó el índice de actividad de la enfermedad SLEDAI que presentaron las participantes al momento de la evaluación, así como la intensidad de la actividad con respecto a este índice. Podemos observar una media de 5 puntos del índice, en un intervalo de 0 hasta 48 puntos; la manifestación más frecuente es la hipocomplementemia (n=30, 26%), seguida por la artritis (n=29, 25%) y la alopecia (n=21, 28%); mientras que la psicosis y el síndrome orgánico cerebral no se presentan en nuestra cohorte (Figura 5a). Posteriormente se asignaron puntajes de acuerdo a lo establecido por el SLEDAI y se agrupó a los participantes con base en su nivel de actividad (Figura 5b): Sin actividad (n=30, 26%), actividad leve (n=31, 27%), actividad moderada (n=34, 29%), actividad alta (n=16, 14%) y actividad muy alta (n=5, 4%).



Gráfica 5. Evaluación de la actividad del lupus (SLEDAI) de las participantes. A) Frecuencia de

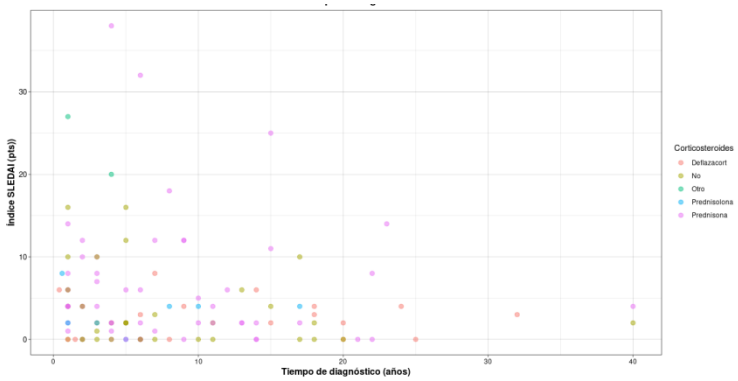
los criterios SLEDAI, B) Nivel de actividad de las participantes.

Con la finalidad de analizar algunos de los factores que podrían estar contribuyendo con el aumento o disminución de la actividad del LES se evaluó la intensidad de la actividad con relación a algunas de las características evaluadas. Debido al amplio uso de los glucocorticoides y a los riesgos de daños asociados con su uso se evaluó la intensidad de la actividad del LES con relación al tipo de glucocorticoide que las participantes consumen, al tiempo de diagnóstico y al tiempo que pasó entre los primeros síntomas y su diagnóstico clínico. Con relación al consumo de diferentes glucocorticoides observamos que las pacientes con menor actividad o sin actividad se encuentran en los grupos que consumen deflazacort y prednisolona; mientras que las pacientes con actividad muy alta se encuentran en los grupos que consumen prednisona y otros glucocorticoides (Figura 6).



Gráfica 6. Actividad del lupus (SLEDAI) con respecto al consumo de diferentes glucocorticoides.

Posteriormente se evaluó la relación entre el valor del índice SLEDAI y el tiempo de diagnóstico, sin poder observar una asociación significativa (Figura 7). Adicionalmente se evaluó si el tipo de glucocorticoide que consume la participante podría estar desempeñando algún papel en esta relación, observamos que las participantes que consumen deflazacort (puntos rosas) se concentran por debajo de los 10 puntos en el índice SLEDAI, sin importar el tiempo de diagnóstico; mientras que aquellas que consumen prednisona (puntos morados) se encuentran más dispersas con respecto a los valores del índice SLEDAI.



Gráfica 7. Relación del índice SLEDAI con tiempo de diagnóstico.

Discusión y Conclusión

En el estudio se muestra que la cohorte evaluada presenta una media de edad (±DE) de 40.7 (±13) años, lo que concuerda con datos previos del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) (IMSS, 2015).

Con respecto al tiempo de diagnóstico podemos observar una media (±DE) de 8.5 (±8) años; al cuestionarlas sobre cuánto tiempo pasó entre el primer síntoma que ellas asocian con LES y su diagnóstico la mayoría reporta haber esperado menos de 6 meses (44%). En general, el diagnóstico temprano, en conjunto con el uso de tratamientos efectivos se ha sido asociado con un mejor pronóstico de la persona con LES; la falta de un diagnóstico oportuno, y la consecuente falta de tratamiento temprano y adecuado, se ha asociado con un avance más rápido e intenso de las manifestaciones de la enfermedad.

El diagnóstico temprano en nuestra cohorte podría favorecer un mejor pronóstico para ellas; en los

últimos años se ha observado un aumento significativo en la tasa de supervivencia, estimada en 85% para 10-15 años, y 65% a los 20 años (Coronado, 2019; Jimenez, 2021).

Únicamente el 13.4% de las voluntarias reportó haber sido diagnosticada con nefritis lúpica, una de las manifestaciones clínicas más frecuente y agresivas de la enfermedad; cuya prevalencia se estima alrededor del 16% al momento del diagnóstico y aumenta al 60% durante los primeros 5 años desde el diagnóstico (IMSS, 2010); con una incidencia de entre 1.8 y 7.6 casos por cada 100,000 habitantes (The Journal of Rheumatology Supplement, 2011).

Con respecto a antecedentes de familiares con LES el 19% de las participantes refirieron contar con algún familiar diagnosticado con esta enfermedad, siendo los hermanos (45.5%) la relación de mayor frecuencia; esto coincide con trabajos previos que consideran los antecedente heredofamiliares como un factor de riesgo importante para el desarrollo de LES, especialmente en familiares de primer grado. La asociación del riesgo de lupus en familias es de media 5.0 (IC 95% 1.67-21.6) (Abraham Zonana-Nacach, 2010).

Con respecto al uso de medicamentos los más administrados son los antimaláricos (72.4%) y los glucocorticoides (71.5%); es importante considerar que son pocas las participantes que limitan su consumo a un sólo fármaco, es más frecuente que sus tratamientos incluyen 2 o más medicamentos. La combinación más frecuente es el uso de micofenolato-glucocorticoides-antimaláricos (16.4%). Estos datos nos permiten identificar la combinación de medicamentos mayormente recetadas en nuestra cohorte; futuros estudios son necesarios para determinar el efecto que estas combinaciones, además de las concentraciones de los medicamentos, pueden tener sobre las manifestaciones clínicas, su intensidad, brotes y la mortalidad. Esta información ayudará a los especialistas a diseñar y ajustar esquemas terapéuticos e impacten favorablemente la calidad de vida de las personas con LES.

Con relación a la actividad de la enfermedad se obtuvo una media de 5 puntos de acuerdo al SLEDAI, con un intervalo de 0 hasta 48 puntos (de máximo 105 puntos); con la mayoría de nuestra cohorte presentando actividad moderada (29%). Trabajos previos en población mexicana han reportado una media de 5.8±3.7 puntos, en un intervalo de 1 a 17 puntos, al ser evaluados con el MEX-SLEDAI; en esta misma cohorte se reportó que el 37.7 % de los participantes presentó actividad leve, el 1.9 % actividad muy severa y el 17 % se encontraba en remisión o sin actividad (Daniel Alejandro Vera-Rivero, 2019). Es importante considerar que el MEX-SLEDAI es una adaptación del SLEDAI, que abarca de 0 a 32 puntos, por lo que solo nos puede dar una idea de cómo está la actividad en estas poblaciones, sin ser completamente equiparables.

Finalmente, al evaluar si factores como el tratamiento y el tiempo de diagnóstico pueden estar contribuyendo a la actividad de la enfermedad observamos que las pacientes con menor actividad o sin actividad se encuentran en los grupos que consumen deflazacort y prednisolona; mientras que las pacientes con actividad muy alta se encuentran en los grupos que consumen prednisona y otros glucocorticoides.

Futuros estudios podrían ahondar en los factores que puedan contribuir a esta tendencia, como el apego al tratamiento, la dosis y el tiempo que lleva con ese medicamento; además del efecto que puede tener sobre el pronóstico de las participantes.

En cuanto al tiempo de diagnóstico no observamos una asociación significativa; sin embargo se pudo observar que las participantes que consumen deflazacort se concentran por debajo de los 10 puntos en el índice SLEDAI, sin importar el tiempo de diagnóstico.

Estos resultados nos permiten observar como con el paso de los años, desde el diagnóstico inicial hasta el momento de su registro, se modifica el curso de la enfermedad; lo que se refleja en sus complicaciones y manifestaciones clínicas, así como en la alta heterogeneidad entre las personas con LES.

Además, se examinó la frecuencia en el consumo de diferentes fármacos utilizados en el tratamiento del LES, en este sentido es importante considerar para futuros estudios que puede existir una acumulación de daño dependiendo de la dosis y el tiempo de consumo de ciertos medicamentos, como los glucocorticoides. Adicionalmente, consideramos importante el análisis del apego al tratamiento que tienen las personas con LES, ya que estudios previos han reportado una falta de adherencia al tratamiento en más del 60% de las cohortes de personas con LES, lo cual puede contribuir en un aumento de la actividad de la enfermedad y en la frecuencia de brotes (Sebastián Prados-Moreno, 2018).

El Registro Mexicano de Lupus representa la mayor base de datos de personas con lupus construido hasta la fecha en México; a un año y medio de su implementación nos brinda abundante información actualizada y fiable sobre los factores y manifestaciones de LES.

Particularmente, en el presente estudio se pudo observar la situación clínica de mujeres residentes del Estado de Querétaro con LES, comorbilidades y qué tratamientos son los que llevan, incluyendo sus combinaciones; demostrando su uso como una herramienta de gran potencial para la investigación clínica multicéntrica no solo en la población Queretana, sino también a nivel nacional.

La implementación del registro podrá facilitar el entendimiento de cómo se comporta el LES en población mexicana, facilitando el diseño e implementación de estrategias que mejoren la vida de nuestras pacientes que acuden día con día a las clínicas, pues la investigación nos ayuda a comprender factores de salud que contribuyan a un mejor desarrollo y que exista relación con el entorno de las pacientes que se nos presentan.

Referencias bibliográficas

1. Jiménez, D. G. (2021, 1 enero). *Lupus eritematoso sistémico | Revista Médica Sinergia*. https://revistamedicasinergia.com/index.php/rms/article/view/630
2. Xibillé-Friedmann, D. (2019, 1 enero). *Guía de práctica clínica para el manejo del lupus eritematoso sistémico propuesta por el Colegio Mexicano de Reumatología | Reumatología Clínica*. https://www.reumatologiaclinica.org/es-guia-practica-clinica-el-manejo-articulo-S1699258X18300901
3. Enríquez-Mejía, M. G. (2013, 1 enero). *Fisiopatología del lupus eritematoso sistémico | Revista de Medicina e Investigación*. https://www.elsevier.es/en-revista-revista-medicina-e-investigacion-353-articulo-fisiopatologia-del-lupus-eritematoso-sistemico-X2214310613653982
4. Narváez, J. (2020, 11 diciembre). *Lupus eritematoso sistémico 2020 | Medicina Clínica*. https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-clinica-2-articulo-lupus-eritematoso-sistemico-2020-S0025775320303250
5. general, E. (2015). *Guia de practica clínica lupus eritematoso sistémico*. Instituto mexicano del seguro social. https://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/752GRR.pdf
6. Química. ES. (2013) Lupus Eritematoso Sistémico. Enciclopedia http://www.quimica.es/enciclopedia/Lupus_eritematoso_sis% C3%A9mico.html
7. Vargas Méndez Kendry(2010). Lupus eritematoso. Universidad Internacional de las Américas. lupuseritemasososistematico.blogspot.com/2010/12/
8. Guías de Diagnóstico y Tratamiento Servicio de Reumatología. Lupus Eritematoso y Sistémico (LES). www.hgm.salud.gom.mx/ .../area_medica/reuma/guias/7lupus.pdf C
9. Grupo Milenio (2009). Padecen lupus 1.5 millones en México.Milenio

www.milenio.com/cdb/doc/.../656481a8478
6e736e71b1fbe23c714b5

10. Grupo de Estudio de Enfermedades Autoinmunes Sistémicas (GEAS). Sociedad Española de Medicina Interna (SEMI). Línea de trabajo en Lupus Eritematoso Sistémico. www.chospab.es/biblioteca/libros/ GUIA_LUPUS_ERITOMASO.pdf
11. *La UNAM crea el primer Registro Mexicano de Lupus*. (2021, 13 mayo). AMIIF. https://amiif.org/la-unam-crea-el-primer-registro-mexicano-de-lupus/
12. Jiménez-Uscanga RD, Carsolio-Trujano M, Herrera-Sánchez DA, Castrejón-Vázquez MI (2015) col. Lupus eritematoso sistémico. CD24V. Revista Alegia México https://revistaalergia.mx/ojs/index.php/ram/article/view/76/252
13. Alvarado, C. D. C. (2018, 18 enero). *Características clínicas y comorbilidades de pacientes con lupus eritematoso sistémico en niños y adultos | Coronado Alvarado | Acta Pediátrica de México*. https://ojs.actapediatrica.org.mx/index.php/APM/article/view/1535
14. *lupus eritematoso sistémico – Medicina Interna de México*. (s. f.). https://medicinainterna.org.mx/tag/lupus-eritematoso-sistemico/
15. Castrejón, I. (2014, 1 septiembre). *Índices compuestos para evaluar la actividad de la enfermedad y el daño estructural en pacientes con lupus eritematoso: revisión sistemática de la literatura | Reumatología Clínica*. https://www.reumatologiaclinica.org/es-indices-compuestos-evaluar-actividad-enfermedad-articulo-S1699258X14000539
16. *Manejo general del lupus eritematoso sistémico*. (2020, 15 enero). GuíaSalud. https://portal.guiasalud.es/egpc/lupus-manejo/
17. Firman, G. (s. f.). *Índice de Actividad de la Enfermedad del Lupus Eritematoso Sistémico (SLEDAI) – MedicalCRITERIA.com*. https://medicalcriteria.com/web/es/reusledai/
18. Vera-Rivero, D. A. (2019). *Medición de la actividad lúpica y daño acumulado en pacientes con lupus eritematoso sistémico*. https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=91514

19. Guía de Práctica Clínica sobre el Lupus Eritematoso Sistémico. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Servicio de Evaluación del Servicio Canario de la Salud; 2013. Guías de Práctica Clínica en el SNS: SESCS

20. Clínica Médica. Hospital Pasteur (2019).Relación entre el uso de glucocorticoides y el daño crónico en Lupus Eritematoso Sistémico.Facultad de Medicina. Universidad de la República. Administración Servicios de Salud del Estado (ASSE).http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2393-67972021000100014
21. Sebastián Prados-Moreno, José Mario Sabio, José Manuel Pérez-Mármol, Nuria Navarrete-Navarrete, María Isabel Peralta-Ramírez,Adherence to treatment in patients with systemic lupus erythematosus,Medicina Clínica (English Edition), Volume 150, Issue 1, 12 January 2018,https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0025775317304402#:~:text=Los%20factores%20predictores%20de%20la,severidad%20general%20y%20s%C3%ADntomas%20positivos.

22. Barba PJ, Morgado-Carrasco D, Bois M, Feola H. Nuevos criterios de clasificación del lupus eritematoso sistémico (2019). Piel ;36(2):126-128.

USO DE UNA APLICACIÓN COMO ESTRATEGIA EDUCATIVA PARA DT2

Autores: Walle Diaz Cecilia, Terrazas Rodríguez Luz Dalid, Pérez Ávalos Ismael.

Adscripción: Unidad de Medicina Familiar No. 16, Querétaro, Qro.

E-mail: cewalle27@gmail.com

Resumen: Objetivo: Analizar el nivel de conocimiento posterior al uso de una aplicación para dispositivos móviles como estrategia educativa en pacientes con DT2 (Diabetes tipo 2). Material y métodos: Estudio cuasiexperimental, tipo preprueba y posprueba, longitudinal, prospectivo, con un grupo con DT2, cálculo de muestra con n=169, sin aleatoriedad por cuota; se instaló la aplicación "Diabetes en tus manos" en smartphone como estrategia educativa conteniendo 13 lecciones a revisar en 7 meses, se evaluó el nivel de conocimiento con el cuestionario DKQ 24 (*Diabetes knowledge questionnaire*) antes y después de la intervención. Se realizó un análisis descriptivo con medidas de tendencia central y de dispersión y prueba McNemar. Resultados: Se incluyeron un total de 169 pacientes con DT2, con una mediana de edad de 47.0 años (RIC 42.0 – 51.0). Se aplicó la prueba de McNemar con p=0.000 siendo significativa en el nivel de conocimientos global antes y después del uso de la aplicación. Se realizó la división en las dimensiones del instrumento en conocimientos básicos, control y complicaciones aplicando McNemar con p=0.000. Conclusiones: La intervención educativa como aplicación "Diabetes en tus manos" mostró cambios significativos en el nivel de conocimiento con una diferencia comprobada entre el cuestionario inicial respecto al cuestionario posterior a la intervención mostrando la necesidad de continuar este tipo de estrategias educativas.

Abstract: Objective: To analyze the level of knowledge after the use of a smartphone application as an educational strategy in patients with DT2. Material and methods: Quasi-experimental study, pretest and posttest, longitudinal, prospective, with a group with DT2, sample calculation with n=169, without randomization by quota; The application "Diabetes en tus manos" was installed on a smartphone as an educational strategy containing 13 lessons to be reviewed in 7 months, the level of knowledge was evaluated with the DKQ 24 questionnaire before and after the intervention. A descriptive analysis was performed with measures of central tendency and dispersion and the McNemar test. Results: A total of 169 patients with DT2 were included, with a median age of 47.0 years (RIC 42.0 – 51.0). The McNemar test was applied with p=0.000 being significant in the level of global knowledge before and after the use of the application. The division was made in the dimensions of the instrument in basic knowledge, control and complications applying McNemar with p=0.000. Conclusions: The application "Diabetes en tus manos" as an educational intervention showed significant changes in the level of knowledge with a proven difference between the initial questionnaire and the questionnaire after the intervention, showing the need to continue this type of educational strategies.

Palabras clave: Conocimiento, educación, móvil, diabetes.

Key words: Knowledge, education, mobile, diabetes

Las tecnologías de información han avanzado en el transcurso de los años, han ofrecido nuevas alternativas a el ámbito de la salud, la *mHealth* (salud móvil) ofrece una excelente alternativa para diferentes enfermedades, entre ellas la diabetes, el uso de dispositivos móviles y aplicaciones enfocadas a temas de salud son una opción de educación para esta enfermedad, donde el tratamiento no farmacológico es la piedra angular de las metas (Espinoza-Bautista, Álvarez- Ballesteros y Patiño-Ortiz, 2017).

Los dispositivos móviles como parte de una estrategia educativa han demostrado su eficiencia como apoyo en el proceso de enseñanza y aprendizaje, así como herramienta accesible para un reforzamiento constante del conocimiento en quienes lo utilizan, (Zamora, 2019) por ello fue pertinente pensar en su uso como apoyo en el proceso de educación en diabetes.

Las estrategias educativas innovadoras proporcionan alternativas para los pacientes que tienen limitaciones de tiempo y espacio para acudir a un grupo o a una institución para lograr su proceso de aprendizaje. Un dispositivo móvil es una herramienta actual, que gran parte de la población ha adquirido en los últimos años y puede ser una alternativa práctica de utilidad en este proceso.

La educación a distancia por medio de una aplicación elimina barreras de espacio, tiempo y costos de traslado que a veces son la excusa de un paciente para llevar a cabo un adecuado seguimiento de su enfermedad, se encuentra en esta herramienta una estrategia fácil y accesible que literalmente lleva consigo a todos lados y con fácil acceso a sus manos y que le puede apoyar para aprender sobre su enfermedad y así lograr un mejor control, un mayor apego a sus tratamientos, así como evitar complicaciones.

De acuerdo con Aguilar, (2015) el paciente mexicano tiene un pobre conocimiento sobre su enfermedad y por ende el control y apego a tratamiento es inadecuado, se apega poco a tratamientos y desarrolla potencialmente múltiples complicaciones que traen altos costos a la salud pública, por ello es pertinente realizar una

estrategia educativa que brinde una alternativa accesible para este tipo de pacientes como una potencial opción para aspirar a un empoderamiento adecuado sobre su enfermedad.

Las guías de práctica clínica y múltiples manuales abordan la educación en el paciente con diabetes como piedra angular en los cuidados y manejo no farmacológico del paciente (Millán, Rioja y Muñoz, 2015). En este proceso educativo los dispositivos móviles son una alternativa ya que según la INEGI (ENDUTIH 2019), nueve de cada diez usuarios de teléfono celular en México tienen un celular inteligente que es una opción de consulta y potencial fuente de conocimiento para los pacientes.

Por todo lo expuesto es pertinente la implementación de estrategias de educación para los pacientes portadores de diabetes tipo 2, una buena alternativa son los dispositivos móviles por medio de la aplicación buscando demostrar que son un apoyo para aumentar el conocimiento en los pacientes portadores de esta enfermedad, por lo que se consideró pertinente realizar la presente investigación.

Los objetivos que se plantearon para la presenta investigación fueron:

Objetivo general: Analizar el nivel de conocimiento posterior al uso de una aplicación para dispositivos móviles como estrategia educativa en pacientes con diabetes tipo 2 en una unidad de medicina familiar.

Objetivos específicos

1. Determinar la diferencia en el nivel de conocimiento adecuado en diabetes antes y después del uso de una aplicación para dispositivos móviles en pacientes con diabetes tipo 2.

2. Determinar la diferencia en el nivel de conocimiento sobre información básica, control y complicaciones en diabetes antes y después del uso de una aplicación para dispositivos móviles en pacientes con diabetes tipo 2.

Metodología: Se realizó un estudio cuasi experimental, con diseño preprueba y posprueba en un sólo grupo, longitudinal, prospectivo. La población estudiada fueron pacientes portadores de diabetes tipo 2 que acuden a sus citas de control en matutino y vespertino a la unidad de medicina familiar no. 16 del estado de Querétaro. El cálculo de muestra se realizó con la fórmula para dos proporciones con una n=169, realizando una selección sin aleatoriedad por cuota.

Se instaló la aplicación, previa firma del consentimiento informado, "Diabetes en tus manos" a los pacientes que contaron con un dispositivo móvil tipo smartphone y un adecuado acceso a internet, mostrando un contenido de 13 lecciones con diferentes temas alusivos a la diabetes tipo 2, se dio un periodo de 7 meses para su total visualización, se realizó una evaluación del nivel de conocimiento con el cuestionario DKQ 24 antes y después de la intervención.

El DKQ 24 es un instrumento que se divide en conocimiento inadecuado, intermedio y adecuado, y evalúa conocimiento sobre conocimientos básicos, control y complicaciones. Los resultados del cuestionario se interpretan como adecuado si se responde correctamente 20-24 puntos, intermedio de 14-19 puntos y de 0-13 puntos inadecuado. Es un instrumento validado para población de américa latina hispano hablante, así como con un alfa de Cronbash de 0.76.

La estrategia educativa se desarrolló en la aplicación “Diabetes en tus manos”, para esta aplicación se creó un sitio por medio de Google sites donde se acomodó la información, posterior se trasladó el acceso del sitio web a una aplicación donde por medio de una APK (*Android Application Package*) se obtuvo la posibilidad de instalar en un dispositivo móvil. En el contenido de la aplicación se abarcaron las siguientes dimensiones:

Conocimiento básico de la enfermedad: Clasificación de la diabetes, epidemiología, factores de riesgo, aspectos básicos de la insulina y nutrición para pacientes con diabetes.

Control glucémico: Metas de tratamiento, ventajas de un adecuado control y cómo vigilarlo, hiperglucemia e hipoglucemia, actividad física en portadores de diabetes

Prevención de complicaciones: Complicaciones agudas y crónicas, riñón, pie diabético, corazón.

Paso uno: Se diseñó un programa educativo por medio de lecciones utilizando como técnicas educativas ilustraciones, videos, infografías, esquemas, y cuestionarios como actividades de reforzamiento al final de cada lección.

Paso dos: Se instaló al paciente la aplicación en su celular, por medio del siguiente enlace https://bit.ly/311w393, con ello encontró la aplicación con el nombre de DM al abrir la aplicación le apareció la introducción donde pudo leer las instrucciones para llevar a cabo las lecciones de la aplicación y su uso general, al final le mostró el primer cuestionario DKQ 24 el cual debió responder y enviar respectivamente.

Al continuar la visualización de aplicación se pudo acceder a la lección deseada por el participante. Son un total de 13 lecciones planeadas cada una para una duración aproximada de 30 minutos dependiendo de la habilidad lectora, comprensión del contenido y en estos 30 minutos están contemplados 10 minutos para realizar un pequeño cuestionario al final de cada lección, de esta forma se monitorizó que llegaran al final de cada lección y sirvió como actividad de repaso.

Los participantes debieron visualizar el total de las lecciones para cumplir con la intervención, se mantuvo el acceso a las lecciones por 7 meses considerado tiempo suficiente para su finalización. El contenido de la aplicación fue obtenido del Manual para pacientes con diabetes tipo 2 escrito por Descalzo en 2017, que podemos encontrar en la página de la Federación Mexicana de Diabetes, se incluyen videos de cápsulas

informativas obtenidos del apartado Gánale a la diabetes de la fundación Carlos Slim y otros manuales como son Guía para la atención integral de las personas con diabetes de la OPS (Organización Panamericana de la Salud), Diabetes mellitus: el reto a vencer y el Diabetes Atlas de la Federación Internacional de Diabetes.

Paso tres: Por último, al concluir la visualización del contenido de la aplicación y sus actividades el participante al término de la treceava lección pudo acceder al cuestionario DKQ 24 final, al terminar de contestarlo se abrió una encuesta de satisfacción del uso de la aplicación.

Resultados: En esta investigación se incluyeron 169 personas las cuales fueron captadas en la unidad de medicina familiar no. 16 del Instituto Mexicano del Seguro Social del estado de Querétaro. El rango de edad es de 20 a 59 años, con un promedio de 45.99 años, (IC 95% 44.9-47.1); se divide en cuatro grupos: de 20 a 29 con 4 (2.4%), de 30 a 39 con 28 (16.6%), de 40 a 49 con 86 (50.9%) y de 50 a 59 con 51 (30.2%). De acuerdo con el sexo, el 55.6% (IC 95% 48.1- 63.1) son mujeres y 44.4% (IC 95% 36.9 - 51.9) corresponde a los hombres.

Respecto a la escolaridad 1.2% (IC 95% 0.4-2.8) no tiene ninguna escolaridad, 14.8% (IC 95% 9.4- 20.2) tiene el grado de primaria, 36.1% (IC 95% 28.9- 43.3) secundaria, 21.9% (IC 95% 15.7- 28.1) Preparatoria, 18.9% (IC 95% 13- 24.8) licenciatura, 0.6% (IC 95% 0.5- 2.5) posgrado y 6.5% (IC 95% 6.3- 15.7) otras.

En cuanto a los años de evolución con diagnóstico de diabetes la media fue de 7.76, siendo el mínimo de 1 mes y el máximo 27 años. Se agrupó menos de 1 año 4.1% (IC 95% 1.1- 7.1), de 1 a 5 años 41.4 % (IC 95% 34- 48.8), 5 a 10 años 17.8 % (IC 95% 12- 23.6) y más de 10 años 36.7 % (IC 95% 29.4- 44).

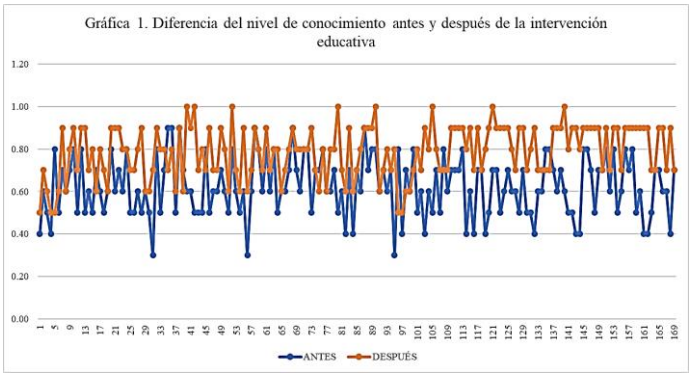
En cuanto a la ocupación se obtuvieron los siguientes datos, 3% pacientes fueron obreros (IC 95% 0.4- 5.6), 23.7% ama de casa (IC 95% 17.3- 30.1), 3% profesional de salud (IC 95% 0.4- 5.6), 40.8% empleados (IC 95% 33.4- 48.2), 3% pensionados (IC 95% 0.4- 5.6) y otras ocupaciones 26.6% (IC 95% 19.9- 33.3).

Se aplicó la prueba estadística de McNemar donde respecto a la diferencia del nivel de conocimiento global posterior al uso de la aplicación se obtuvo una p=0.000. Antes del uso de la aplicación 111 pacientes tenían un conocimiento inadecuado y 58 adecuado y posterior al uso de la aplicación 159 pacientes terminaron con conocimiento adecuado y 10 en inadecuado; 53 iniciaron como adecuado y continuaron así a pesar del uso de la aplicación, 5 cambiaron de adecuado a inadecuado, 106 cambiaron de inadecuado a adecuado y 5 iniciaron con inadecuado y continuaron en el mismo nivel a pesar de la aplicación. (cuadro 1)

Cuadro 1. Diferencia del conocimiento 1

			Nivel de conocimiento preprueba		Total
			Adecuado	Inadecuado	
Nivel de conocimiento posprueba	Adecuado	Recuento	53	5	58
		% del total	31.4%	3.0%	34.3%
	Inadecuado	Recuento	106	5	111
		% del total	62.7%	3.0%	65.7%
	Total	Recuento	159	10	169
		% del total	94.1%	5.9%	100.0%

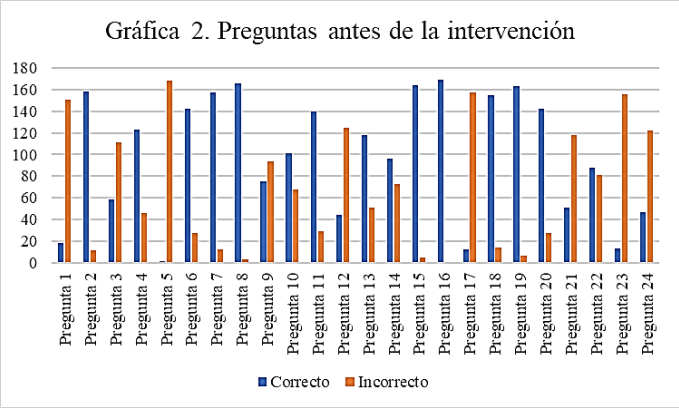
Se realizó una gráfica donde en el eje X se desglosan el total de pacientes y en el eje Y se observa el porcentaje sobre 100 de los aciertos obtenidos por cada uno, tomando 100=1.0; se muestra la diferencia en los aciertos entre el cuestionario previo al uso de la aplicación y posterior, observando la diferencia en los aciertos y por tanto en el nivel de conocimiento. Se dividió en las tres dimensiones que engloban los reactivos de nuestro instrumento conocimientos básicos, control y complicaciones y se aplicó prueba de McNemar obteniendo p=0.000 en cada una. (Gráfica 1)

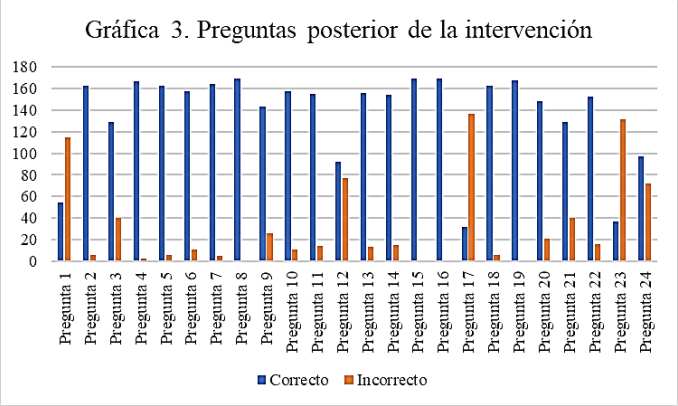


Desglosamos cada dimensión obteniendo que en la dimensión de conocimientos básicos 71 pacientes iniciaron con conocimiento adecuado y 98 con adecuado y posterior a la intervención 144 terminaron en adecuado y 25 en inadecuado. En control 76 iniciaron con adecuado 93 con inadecuado, con una diferencia de 163 adecuados posterior al uso de la aplicación con sólo 6 en inadecuado. Por último, en complicaciones 103 iniciaron con conocimiento adecuado y 66 con inadecuado cambiando a 150 en conocimiento adecuado posterior a la intervención con 19 en inadecuado.

Así mismo se realizó un análisis desglosando cada pregunta con su resultado incorrecto y correcto evidenciando el cambio que hubo antes de la intervención y posterior a la misma, se aplicó la prueba de confiabilidad de alfa de Cronbach a nuestro instrumento para el tipo de población obteniendo una confiabilidad de 0.6 siendo poco confiable para nuestra población. Las preguntas donde se observó menor cambio fueron 1 (¿El comer mucha azúcar y otras comidas dulces es causa de la diabetes?), 17 (¿Una persona con diabetes debería limpiar una cortadura primero con yodo y alcohol?) y 23 (¿Los calcetines y

las medias elásticas apretadas son malos para los diabéticos?). (Gráfico 2 y 3)





Discusión: En esta investigación los rasgos epidemiológicos de la población estudiada fueron un promedio de edad de 45.99 años, con predominio de acuerdo al sexo del 55.6% en mujeres siendo una coincidencia constante con todas las intervenciones educativas mencionadas en la bibliografía donde en todos los estudios predomina el sexo femenino confirmando incluso la literatura global en que el sexo femenino tiene mayor frecuencia de solicitud de atención y por tanto de diagnóstico, lo cual confirma Figueroa Guzmán en 2020 donde las mujeres fueron el 56.7% de su población en esta misma unidad, UMF 16 Qro.

Analizando la escolaridad 36.1% tiene el grado de primaria con mayor media seguido de secundaria con un 21.9% coincidiendo con lo encontrado en la intervención realizada en Pachuca, Hidalgo (López-López, Ortiz-Gress y López-Carbajal, 2015) donde el grado de primaria fue de 47.1% explicado por población similar en cuanto a la zona urbana y derechohabiente del seguro social, dicho grado en su mayoría es lo mínimo solicitado para laborar en un empleo con prestaciones, lo cual podría explicar su predominio.

Otro aspecto analizado en esta investigación son los años de evolución con diagnóstico de diabetes, la media fue de 7.76, siendo el grupo de 1 a 5 años el de mayor porcentaje con 41.4 % coincidiendo con la población de la intervención en Yucatán (Canché-Aguilar, Zapata-Vázquez, Rubio-Zapata y Cámara-Vallejos, 2019) donde 56.4% tenían menos de 10 años de diagnóstico tendiendo cierta asociación tanto en el promedio de edad en población laboralmente activa, así como teniendo menos de 10 años de diagnóstico probablemente hablemos de mayor interés o solicitud de consulta.

En cuanto a la ocupación el 40.8% fueron empleados, siendo el mayor grupo, que si se compara con la intervención en Tabasco (Gómez-Encino, Cruz-León, Zapata-Vázquez y Morales-Ramon, 2015) donde hubo un predominio de amas de casa con 44.3%, esto se puede analizar como una posible asociación a la mayor cantidad de la población femenina en las intervenciones, así como también que la población en Tabasco predomina una baja escolaridad, nivel socioeconómico bajo y por ende menor posibilidad de un empleo en los pacientes tal vez asociado con sus resultados.

Respecto al nivel de conocimiento en la intervención por Figueroa-Guzmán en 2020 se logró un 80% de pacientes con nivel de conocimiento adecuado en el cuestionario posterior a su intervención por medio de un blog como estrategia educativa, al comparar respecto a la presente investigación se observa que se logró 93%, considerando que probablemente la diferencia radique en las características de los grupos, ya que esta investigación tuvo 169 pacientes versus 30 de dicha intervención y probablemente la facilidad del acceso de una aplicación móvil como está documentado respecto a un blog logró este mayor porcentaje de conocimiento.

De igual manera respecto al nivel de conocimiento en la presente investigación se obtuvo una significancia estadística (McNemar p=0.000) evidenciando la utilidad de las estrategias educativas, en este caso a base de una aplicación para dispositivos móviles, la estrategia más similar que es la documentada por Figueroa-Guzmán en 2020 muestra también una significancia estadística, así como lo reportan otras intervenciones educativas en el trabajo de Galhardo F, Gomes VB, Martins C, Foss de F, y Pace (2017).

Por otro lado en las dimensiones del cuestionario DKQ 24 conocimientos básicos, control y complicaciones, se observó un mayor aumento en nivel de conocimiento en control con 96.4 % con conocimiento adecuado al final y menor cambio en los conocimientos básicos con 85% de conocimiento difiriendo de otros estudio como es el de Figureo-Guzmán con mayor cambio en conocimientos básicos con 86.6% probablemente asociado a que sus pacientes predominaron en el rango de edad de 51-60 años con más de 10 años de evolución con diabetes que explicaría mayor interés en el área de conocimientos básicos.

Respecto al análisis de cada pregunta y la frecuencia de respuestas correctas donde se observó menor cambio que fueron pregunta 1 (¿El comer mucha azúcar y otras comidas dulces es causa de la diabetes?), 17 (¿Una persona con diabetes debería limpiar una cortadura primero yodo y alcohol?) y 23 (¿Los calcetines y las medias elásticas apretadas son malos para los

diabéticos?) difiriendo de la intervención de Pachuca, Hidalgo donde fueron las preguntas 2, 3, 7, 8, 14, 15 y 19, probablemente explico a que en su estudio tuvo un enfoque de población de baja o nula escolaridad.

Conclusión: La intervención educativa como aplicación "Diabetes en tus manos" mostró cambios significativos en el nivel de conocimiento global con una diferencia comprobada entre el cuestionario inicial respecto al cuestionario posterior a la intervención. Con lo anterior se demuestra que las aplicaciones móviles, son una opción viable para aumentar el nivel de conocimiento sobre su enfermedad en pacientes con diabetes tipo 2 y con esto abrimos la posibilidad a continuar este tipo de intervenciones y seguir estudiando su utilidad en el proceso educativo.

Respecto a las dimensiones se observó un área de oportunidad en cuanto a que la población y su poco cambio en el área de conocimientos básicos, ya que se puede reforzar en la necesidad y las intervenciones en este aspecto siendo potencialmente una de las medidas para que el paciente con diabetes mejore el conocimiento básico sobre de dónde viene y cómo funciona la diabetes y así se logren metas de control y se eviten complicaciones.

Así mismo se evidencia el área de oportunidad tienen las instituciones de salud para buscar e implementar herramientas digitales para acercarse a los pacientes que no pueden acudir a grupos de educación y por medios remotos logren obtener información y aumentar su nivel de conocimiento y así mejorar su empoderamiento de la enfermedad.

Referencias:

Aguilar S, CA. (2015). Acciones para enfrentar la diabetes. México.

Alonso-Arévalo, J. y Mirón-Canelo, JA. (2017). Aplicaciones móviles en salud: Potencial, normativa de seguridad y regulación. Revista cubana de información en ciencia de la salud: Cuba. 28 (3), 1-13.

Álvarez, MG. (2017). El conocimiento del conocimiento: La obra de Edgar Morín y la problemática de la educación. Rev Investig educ REDIECH: México. 7 (13), 6-20.

ADA. (2020). Standards of medical care in diabetes 2020. The journal or clinical and applied research and education. p. S1-S212.

ALAD. (2019). Guías ALAD sobre el diagnóstico, control y tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 con medicina basada en evidencia edición 2019. Revista de la ALAD.

Burgos R, DA. y Echeverry A, HJ. (2012). Estado del arte del uso de aplicaciones en dispositivos móviles en el área de la telemedicina. Repositorio Universidad Tecnológica de Pereira: Colombia. Recuperado de: http://recursosbiblioteca.utp.edu.co/tesisd/textoyanexos/0053B957.pdf

Basantes, AV., Naranjo, ME., Gallegos, MC. y Benítez, NH. (2017). Los dispositivos móviles en el proceso de aprendizaje de la facultad de educación ciencia y tecnología de la universidad técnica del norte de ecuador. Formación Universitaria. 79-88.

Canché-Aguilar, DL., Zapata-Vázquez, RE., Rubio-Zapata, HA. y Cámara- Vallejos RM. (2019). Efecto de una intervención educativa sobre el estilo de vida, el control glucémico y el conocimiento de la enfermedad, en personas con diabetes mellitus tipo 2, Bokobá, Yucatán. Revista Biomédica. 4-11.

Casanova M, MC., Bayarre V, HD., Navarro D, DA., Sanabria R, G. y Trasancos D, M. (2017). Efectividad de una estrategia educativa dirigida a adultos mayores diabéticos tipo 2 y proveedores de salud. Revista Cubana de Salud Pública. 1-17.

Castañeda, L. y Adell, J. (2013). Entornos personales de aprendizaje: Claves para el ecosistema educativo en red. Alcoy: Marfil.

Castillo G, MY. y Jiménez P, JJ. (2019). Las teorías de aprendizaje, bajo la lupa tic. Acción y reflexión educativa: Panamá. (44), 144-158. Recuperado de: https://revistas.up.ac.pa/index.php/accion_reflexion_educativa/article/view/693

Delgado R, MA. (2002). Desarrollo de los procesos cognitivos en el aprendizaje de la lecto-escritura. Repositorio ITESM: México. Recuperado de: http://hdl.handle.net/11285/631796

Descalzo, C. (2017). Manual para pacientes con diabetes tipo 2: Libreta de viaje, hacia la calidad de vida. McGRAW-HILL: México.

Díaz-Barriga, F. y Hernández R, G. (2002). Estrategias docentes para un aprendizaje significativo. Una interpretación constructivista. Segunda ed. México: McGraw-Hill; 2002.

Escontrela M, R. y Stojanovic C, L. (2004). La integración de las TICs en la educación: Apuntes para un modelo pedagógico pertinente. Rev. Ped: Venezuela. 25 (74), 481-502.

Elías-Viramontes, AC. y González-Juárez, L. (2018). Intervención educativa de enfermería para el autocuidado de los pies a personas que viven con diabetes tipo 2. Aquichan. Doi: 10.5294/aqui.2018.18.3.8

Espinoza-Bautista, JR., Álvarez-Ballesteros, S. y Patiño-Ortiz, J. (2017). Estado actual de las tic's en México para la introducción de eHealth y mHealth en el sector salud mexicano. XVI CNIES: México. 1-7.

Figueroa G, C. (2020). Nivel de conocimientos posterior a estrategia educativa basada en tecnologías de la información y

comunicación en diabéticos tipo 2 de una unidad de comunidad de primer nivel. (Tesis previa a la obtención de título de especialista en medicina familiar). México. Recuperado de: http://ri- ng.uaq.mx/handle/123456789/2140

Figueroa P, CS. (2016). El uso del Smartphone como herramienta para la búsqueda de la información en los estudiantes de pregrado de educación de la universidad de Lima metropolitana. Educación: Perú. 29-44

Galhardo F, AL., Gomes VB, LC., Martins C, AC., Foss de F, MC. y Pace, AE. (2017). Intervenciones educativas para el conocimiento de la enfermedad, adhesión al tratamiento y control de la diabetes mellitus. Rev. Latino-Am. Enfermagem. 1-8.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

SOMOS UAQ®
SERVIR CONSTRUIR TRANSFORMAR

MEMORIAS DEL 10° ENCUENTRO DE JÓVENES INVESTIGADORAS E INVESTIGADORES DEL ESTADO DE QUERÉTARO.

BLOQUE

CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS

10° ENCUENTRO DE JÓVENES INVESTIGADORAS E INVESTIGADORES DEL ESTADO DE QUERÉTARO

"Ideas jóvenes para impulsar el crecimiento del país"

"Ideas jóvenes para impulsar el crecimiento del país"

INDICE

Carrillo-Navarrete Francisco Ignacio, Nava Morales Gerardo Manuel	Diversidad y distribución de BUT y BUK en miembros de la microbiota intestinal
Dufoo-Hurtado Elisa; López-González Rocío Crystabel; Loarca-Piña Ma. Guadalupe Flavia; Wall-Medrano Abraham; Hernández-Cruz Andrés; Campos-Vega Rocío	Efecto del pistache sobre el metagenoma colónica de una persona vespertina
Estrada-Nieves Sofía , García-Gutiérrez David G, Bertadillo-Jilote Alma D, Reynoso-Camacho Rosalía , Murillo-Maldonado Juan M, Pérez-Ramírez Iza F.	Obesidad-resistencia a la insulina en *Drosophila melanogaster*: enfoque lipidómico
Flores Esparza Daniela, Ventura Puga Diana, Barrón García Oscar Yael, Curiel Ayala Fabiola, García Mier Lina, García Rodríguez Mario Enrique	Obtención y caracterización de celulosa de cáscaras de plátano (Musa × paradisiaca)
María Guadalupe García Martínez, Iván Lazcano Sánchez, Juan Carlos Solís Sainz, Hebert Luis Hernández Montiel, Aurea Orozco Rivas, Ana Gabriela Hernández Puga.	Efecto del DEP en la locomoción y mielogénesis del pez cebra
Yoali Fernanda Hernández Gómez, Jacqueline González Espinosa y Juan Campos Guillén	Monitoreo microbiológico en chile molido
Pablo Esteban Guerrero Martínez, Patricia Herrera Paniagua, Enrique Ortíz-Bermúdez, Luis Gerardo Hernández-Sandoval	Modelado de nicho ecológico de algunos musgos epífitos endémicos de México.
Lizeth Harzbecher de la Vega, Rosalinda González Santos, Luis Gerardo Hernández Sandoval, Jorge Luis Chávez Servín	Flores nativas comestibles de Querétaro: Contenido nutricional y conocimiento tradicional
Jiménez-Zurita Emanuel I, Reséndiz-Nava Carolina N, Mercado-Silva Edmundo M, Wong-Lizárraga Jesús	Prevalencia de *Salmonella enterica* y *E. coli* patógena en agua de granjas avícolas

H, Rivera-Pastrana Dulce, Nava-Morales Gerardo M	
Mariana Lema-González, Rosalía Reynoso Camacho, Eduardo Castaño-Tostado, Encarna Aguayo, Gerardo M. Nava, M. E. Vázquez-Barrios	Efecto de la sustitución de sacarosa en una mermelada de jamaica.
Muñoz Salinas Florencia, Loarca Piña Flavia Guadalupe, Delis Hechavarría Emilio Andrés, Torres Pacheco Irineo	Comportamiento de la alfalfa bajo elicitación controlada con H_2O_2
B. Ramírez-Ortiz, M.B. Ortuño-López. C.G. Flores-Hernández	Obtención de fibras de celulosa a partir de residuos agroindustriales
Rivas-Vela, Carlos Isac, Castillo-Herrera, Gustavo Adolfo, Cardador-Martínez, Anaberta, Amaya-Llano, Silvia Lorena & Castaño-Tostado, Eduardo	Aplicación de agua subcrítica como vía de obtención de péptidos bioactivos de *Sphenarium purpurascens*
Mónica Itzel Rojas Rojas, José Adelfo Escalante Lozada2, Carlos Regalado González, Monserrat Escamilla García, Rocío Campos Vega, Aldo Amaro Reyes	Producción de dextrano por *Leuconostoc mesenteroides* bajo un sistema de electrofermentación
Sotelo-González Ana M, Hernández-Calvillo Ana K , Castañón-Servín Ana P, García-Gutiérrez David G, Gómez-Velázquez H, Martínez-Maldonado Miguel A, de los Ríos Ericka A, Reynoso-Camacho Rosalía, Pérez-Ramírez Iza F.	Efecto antiobesogénico y biodisponibilidad de bebidas de frutos rojos
Noemi Takebayashi-Caballero, Monserrat Escamilla-García	Bagazo de betabel como agente antimicrobiano e indicador de pH
José Pablo Torres Campos, Ximena Zamora Prieto, Diego Emilio Aznar Cruz y Nicolás Ramos-Lara	Nest-site characteristics, diet, and activity patterns of *Sciurus oculatus* in a mixed forest
Verónica Torres-Solórzano; Karina Acevedo Whitehouse	Peludos en aprietos: clima, genes y enfermedades
Ángel Félix Vargas-Madriz, Aarón Kuri-García, Haidel Vargas-Madriz, Anaya-Loyola Miriam Aracely,	Perfil fenólico y capacidad antioxidante de *Chenopodium berlandieri*

Margarita Teresa de Jesús García-Gasca, Roberto Augusto Ferriz Martínez, Luis Gerardo Hernández-Sandoval, Jorge Luis Chávez-Servín	
Sandra Denisse Zavala Aranda; Aldo Amaro Reyes; José Utrilla Carreri; Carlos Regalado González; Jorge Noel Gracida Rodríguez; Silvia Lorena Amaya Llano	Producción de carotenoides en sistema de fermentación electrostática
Zúñiga López, S. M.; Vázquez Barrios, M. E.; Urrestarazu Gavilán, M.; Castaño Tostado, E.; Ramos López, M. A. & Rivera Pastrana, D. M.	Evaluación del crecimiento de las plantas de pepino cultivadas en sustrato de agave (*Agave tequilana* Weber var. Azul) en condiciones de invernadero

Diversidad y distribución de *BUT* y *BUK* en miembros de la microbiota intestinal

Carrillo-Navarrete Francisco Ignacio, Nava-Morales Gerardo Manuel .

Doctorado en Ciencia de los Alimentos, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro. Qro.

Resumen

Las bacterias productoras de butirato han emergido dentro de los estudios de la microbiota intestinal, ya que una disminución de estas poblaciones se asocia a enfermedades como la colitis ulcerativa y el cáncer de colon. El butirato es esencial para mantener la integridad y el buen funcionamiento de la barrera intestinal. La síntesis final de butirato es llevada a cabo por las enzimas; butiril-CoA transferasa (*BUT*) o butirato quinasa (*Buk*). El análisis filogenético de estas proteínas permitirá una mejor comprensión sobre la diversidad y distribución de las bacterias que habitan en el intestino. La proteína *BUT* tiene una mayor presencia en la familia *Lachnospiraceae*, mientras que la proteína *BUK* se encuentra la familia *Clostridiaceae*. Estableciendo un punto de corte del 75% de similitud para la creación de grupos se puede observar una conservación de la proteína por género, aunque unosgrupos presentan transferencia de la proteína. Estos resultados permiten una mejor compresión de la distribución de los productores de butirato que habitan el intestino.

Palabras clave: Butirato, análisis filogenético, microbiota

Abstract

Butyrate-producing bacteria have emerged among intestinal microbiota studies, since a reduction of these populations are linked to disease like ulcerative colitis and colon cancer. Butyrate is necessary for maintain the function and the integrity of the intestinal barrier. Butyrate final synthesis is either catalyzed by the enzymes, Butyryl-CoA:acetate-CoA transferase (*BUT*) or Butyrate kinase (*BUK*). Phylogenetic analysis will allow a better understanding about the diversity and distribution of the bacteria inhabiting the intestine. *BUT* protein is more present in *Lachnospiraceae* family, whereas *BUK* protein is more present in *Clostridiaceae* family. Stablishing a 75% cutoff of similarity for clustering, it can be observed a conservation of the proteins by genus, although, some clusters present protein transfer. These results allow a better understanding about butyrate producers inhabiting the intestine.

Key words: Butyrate, phylogenetic analysis, microbiota

Introducción

El creciente número de estudios que se realizan sobre la composición de la microbiota intestinal estiman más de 1,200 especies (Yang et al; 2020). La clasificación de estas bacterias recae en la secuenciación del gen *16S rRNA*, la cual también ayuda a conocer la diversidad y la abundancia de estos microorganismos, sin embargo, esta tecnología se ve limitada para explorar las capacidades funcionales de la microbiota, siendo la producción de butirato una de las más investigadas (Jandyhala et al., 2015).

Varios estudios atribuyen al butirato múltiples beneficios para la salud intestinal y sistémica del hospedador; dentro de los cuales destacan el fortalecimiento de la integridad de la barrera intestinal, la reducción de la inflamación e las enfermedades de la colitis ulcerativa, la prevención del desarrollo de cáncer de colon, y disminución de la probabilidad de desarrollar obesidad y diabetes tipo II (Coppola et al., 2021). Este es el único graso de cadena corta que puede ser reconocido por los receptores y transportadores presentes en los colonocitos regulando expresiones epigenéticas inhibiendo la expresión de histonas deacetilasas y

activar genes involucrados en la producción de proteínas del epitelio intestinal (Mirzaei et al., 2021). El butirato es el producto de la fermentación de bacterias a partir de carbohidratos no digeridos por el hospedador. Este metabolito es rápidamente absorbido casi de manera completa por los colonocitos, y se han reportado pequeñas concentraciones en la sangre y en excretas, por lo cual la cuantificación de butirato procedentes de distintas muestras es inexacta y los resultados deben de interpretarse con precaución (Blaak et al., 2020).

Las bacterias productoras de butirato se encuentran distribuidas en distintos nichos ecológicos, ganando especial atención dentro del intestino por su capacidad de mantener la homeostasis y la integridad de la barrera intestinal (Gill et al., 2018). Este grupo polifilético de bacterias se encuentran principalmente en las familias *Lachnospiraceae* y *Oscillospiraceae* son bacterias clave en el mantenimiento de la integridad de la barrera intestinal y su abundancia se correlaciona con la prevención del desarrollo de varias enfermedades (Meedt et al., 2021).

Existen cuatro rutas para la síntesis de butirato: lisina, succinato, 4-aminobutirato y acetil-CoA; esta última se presenta en más del 25% del total de la microbiota intestinal. El acetil-CoA es oxidado a butiril-CoA por medio de un complejo enzimático (Vital et al., 2014). Finalmente, el butirato puede ser obtenido por la conversión final de: butiril-CoA transferasa (*BUT*) que requiere de acetato como substrato, o butirato quinasa (*BUK*) que requiere de la fosforilación de butiril-CoA (Louis & Flint, 2017).

Este trabajo se enfoca en el análisis bioinformático de las secuencias de proteínas de *But* y *Buk* que para identificar la diversidad y la distribución de las bacterias que se encuentran en el intestino.

Metodología

Se utilizó la base de datos de UniProt para la obtención de secuencias de aminoácidos para las proteínas But y Buk presentes en bacterias productoras de butirato. Las secuencias obtenidas fueron utilizadas para hacer una búsqueda de homólogos con la herramienta BLAST, tomando como parámetros; con un punto de corte de 50% de identidad y 70% de cobertura (Janaki et al., 2021), y solamente en bacterias del orden de los *Eubacteriales* (Fu et al., 2019). Los alelos obtenidos fueron filtrados y clasificados manualmente con ayuda de la base de datos del LPSN para corroborar su asignación taxonómica y su confirmación como habitante del intestino. Por último, se realizó un análisis filogenético con el programa MEGA versión 11.0.

Resultados

En la base de datos de UniProt se encontraron tres secuencias anotadas y revisadas que pertenecieran a bacterias presentes en el intestino: dos secuencias para *BUT* y una para *BUK* (Tab.1).

Tabla 1. Descripción de las secuencias de aminoácidos en UniProt.

N° Acceso	Organismo	N° aa
BUT		
G2SYC0	*Roseburia hominis*	446
B0MC58	*Anaerostipes caccae*	446
BUK		
D5HE09	*Coprococcus sp.*	355

Se obtuvieron un total de 331 proteínas homólogas de la proteína *BUT* en el intestino, y de acuerdo a la base de datos del LPSN se observó que un 45% de las secuencias pertenece a la familia *Lachnospiraceae* (Fig.1). Mientras que, se obtuvieron 233 secuencias para la proteína *BUK*. donde más del 50% de pertenecen a la familia *Clostridiaceae* (Fig. 2). También hubo un porcentaje de secuencias en ambas proteínas que no pudieron asignarse a ninguna familia, ya que estas carecían de la suficiente información taxonómica.

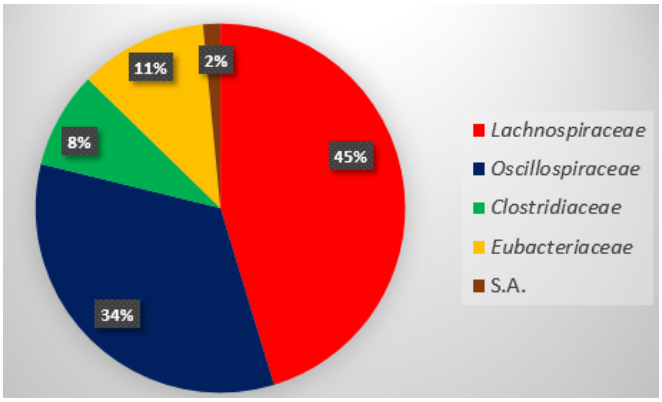


Figura 1. Distribución de la proteína *BUT* en bacterias intestinales. (S.A= sin asignación)

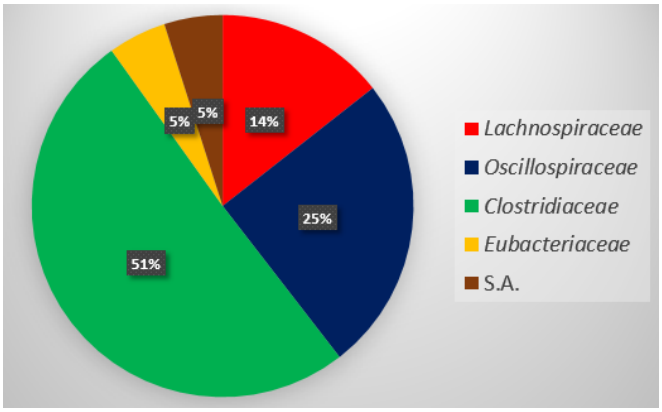


Figura 2. Distribución de la proteína *BUK* en bacterias intestinales.

El conjunto de secuencias de *BUT* y *BUK* fueron alineados y se realizó una matriz de identidad donde se estableció un punto de corte de 75% basado en la similitud de estas secuencias. De esta manera se obtuvieron 29 clusters de la proteína *BUT* y 13 clusters de la proteína *BUK* (Tab. 2 y Tab 3.).

Tabla 2. Descripción de los grupos de *BUT*.

N° Grupo	Secuencia Representativa	Géneros y N° de secuencias por grupo
1	WP215684764 *Coprococcus eutactus*	*Coprococcus (8)* *Eubacterium (1)*
2	WP235228864 *Oscillibacter valericigenes*	*Oscillibacter (9)* *Dysosmobacter (2)*
3	WP0827232364 *Pseudoflavonifractor*	*Pseudo Flavonifractor (11)* *Oscillibacter (3)* *Flintbacter (2)*
4	WP238072082 *Intestinimonas massiliensis*	*Intestinimonas (5)* *Clostridium (2)* *Flavonifractor (2)* *Evetepia (1)*
5	WP195540392 *Eubacterium maltosivorans*	*Eubacterium (13)*
6	WP113802344 *Clostridium sp.*	*Closutridium (8)* *Garciella (2)*
7	WP090298896 *Pseudobutyrivivrio xilanivorans*	*Pseudobutyrivibrio (18)*
8	WP0747716262 *Lachnobacterium bovis*	*Lachnobacterium bovis (3)* *Agathobacter (6)*
9	WP186899207 *Roseburia sp*	*Roseburia (27)*
10	WP249228081 *Faecalibacterium prausnitzii*	*Faecalibacterium (19)*
11	WP003509608 *Clostridium symbiosum*	*Clostridium (11)*
12	WP215704762 *Clostridium sp*	*Clostridium (10)*
13	WP090242514 *Eubacterium bakeri*	*Eubacterium (4)* *Clostridum (4)* S.A. *(2)*
14	WP253229574 *Anaerofustis sp.*	*Anaerofustis (5)*
15	WP118286155 *Butyricicoccus sp.*	*Butyricicoccus (10)* *Agathobaculum (6)*
16	WP11832981 *Anaerobutyricum halli*	*Anaerocutyricum m (6)* *Eubacterium (2)*

17	WP015514570 Coprococcus catus	*Coprococcus (4)* S.A *(1)*
18	WP009204512 *Anaerostipes hadrus*	*Anaerostipes (14)*
19	WP075704629 *Intestnimonas butyricproducens*	*Intestinimonas (5)* *Flavonifractor (4)* *Anaerovorax (1)* S. A. (1)
20	WP087017150 *Butyricicoccus porcurum*	*Butyricicoccus (3)* *Dysosmobacter (2)* *Pygamaiobacter (1)* *Faecalicatena (1)*
21	WP249397919 *Medeterreniebacter sp.*	*Meterreineibacter (2)* *Eubacterium 2* *Clostridium (2*)
22	WP028528039 *Ruminococcus gnavus*	*Ruminococcus (2)* *Clostridium (2)*
23	WP235257443 *Fournierella massilliensis*	*Fournierella (3)* *Subdinogranulum (1)*
24	WP027872171 *Eubacterium cellulosolvens*	*Eubacterium (3)* *Clostridiume (6)* *Jutongia (1)*
25	WP099385519 *Agathobacter ruminis*	*Agathobacter (3)* *Butyryvibrio (3)* *S.A. (1)*
26	WP092475817 *Clostrium polyshaccharolyticum*	*Clostrdium (4)*
27	WP154456570 *Bilifractor porci*	*Bilifractor (2)* *Eubacterium (2)*
28	WP256132593 *Anaerovorax odorimutans*	*Anaerovorax (1)* *Clostridium (4)*
29	WP118530428 *Clostrium sp*	*Clostridium (7)*

Tabla 3. Distribución de los grupos de *BUK*.

N° Grupo	Secuencia Representativa	Géneros y N° de secuencias por cluster
1	WP118380130 *Eubacterium ventriosum*	*Eubacterium (16)*
2	WP125153979 *Clostridium rectalis*	*Clostridium (12)*
3	WP005211128 *Clostridium celatum*	*Clostridium (17)* *S.A. (2)*
4	WP17720166 *Butyrivibrio proteoclasticus*	*Butyrivibrio (8)*
5	WP027206674 *Butyrivibrio fibrisolvens*	*Butyrivibro (12)*
6	WP026834526 *Eubacterium xylanophilum*	Eubacterium (11) S. A. (2)
7	WP216388572 *Clostridium sp.*	*Clostridiuem (17)*
8	WP077308859 *Clostridium beijerinckii*	*Clostridium (14)* *S. A. (1)*
9	WP087324516. *Faecalibacterium sp.*	*Faecalibacterium (9)*
10	WP173691959 *Coprococcus comes*	*Coprococcus (19)*
11	WP130838039 *Lachnoclostridium sp.*	*Lachnos costridium (10)* *Shuttleworthia (1)*

12	WP25584759 *Clostridium butyricum*	*Clostridium (18) S.A. (1)*
13	WP066021806 *Clostridium*	*Clostridium (24)*

Basado en la agrupación de secuencias podemos observar una clara distribución en cuanto al género de las bacterias, sin embargo, hay algunos grupos donde se muestran dos o más géneros distintos y pertenecientes a distintas familias. Además, la agrupación de los dos conjuntos de secuencias permitió observar que la proteína *BUT* tiene una mayor distribución que la proteína *BUK*. Hay 32 géneros distintos que integran la diversidad de la proteína *BUT* y siete que integran la diversidad de *BUK*. También, se puede observar que la familia *Lachnospiraceae* es la familia más diversa en cuanto a los productores de butirato, mientras que solamente dos géneros están distribuidos como productores de butirato en la familia *Clostridiaceae*. En cuanto a la proteína *BUT* los géneros que tienen el mayor número de secuencias son *Roseburia* y *Faecalibacterium*; y en la proteína *BUT* el mayor número de secuencias pertence al género *Clostridium.*

Discusión y Conclusiones

En base al presente estudio se pudo observar las amplia distribución y diversidad de las enzimas *BUT* y *BUK* que se encuentran en bacterias intestinales. Podemos concluir que la proteína BUT se encuentra ampliamente distribuida en comparación que BUK, y de igual manera en términos de diversidad, ya que la síntesis de butirato en el intestino es llevada principalmente por BUT (Singhal et al., 2021).

Los géneros de *Roseburia* (*Lachnospiraceae*) y *Faecalibacterium* (*Oscillospiraceae*) son miembros clave identificados como parte de una microbiota funcional y un intestino sano, además estos son unos de los miembros más abundantes del intestino de humanos y animales. De manera interesante, los miembros de la familia *Clostridiaceae* han sido propuestos bacterias que compensan la producción de butirato cuando problemas de colitis ulcerativa se presentan (Vital et al., 2013).

Los resultados de este análisis podrán ayudar a mejorar el entendimiento de las bacterias productoras de butirato en el intestino, además sus secuencias podrán ser utilizadas para buscar los genes que codifican a las enzimas y poder desarrollar técnicas moleculares que permitan la identificación de estas bacterias en estudios sobre la microbiota intestinal. Además este estudio podría ayudar a visualizar la manera en que las enzimas son utilizadas por las bacterias dentro del intestino.

Bibliografía

- Blaak, E. E., Canfora, E. E., Theis, S., Frost, G., Groen, A. K., Mithieux, G., Nauta, A., Scott, K., Stahl, B., van Harsselaar, J., van Tol, R., Vaughan, E. E., & Verbeke, K. (2020). Short chain fatty acids in human gut and Metabolic Health. *Beneficial Microbes*, *11*(5), 411–455. https://doi.org/10.3920/bm2020.0057
- Coppola, S., Avagliano, C., Calignano, A., & Berni Canani, R. (2021). The Protective Role of Butyrate against Obesity and Obesity-Related Diseases. *Molecules*, *26*(3),682. https://doi.org/10.3390/molecules26030682
- Fu, X., Liu, Z., Zhu, C., Mou, H., & Kong, Q. (2019). Nondigestible carbohydrates, butyrate, and butyrate-producing bacteria. *Critical reviews in food science and nutrition*, *59*(sup1), S130-S152.
- Gill, P., van Zelm, M., Muir, J., & Gibson, P. (2018). Review article: short chain fatty acids as potential therapeutic agents in human gastrointestinal and inflammatory disorders. *Alimentary Pharmacology &Amp; Therapeutics*, *48*(1), 15-34. https://doi.org/10.1111/apt.14689
- Janaki, C., Gowri, V.S. & Srinivasan, N.(2021). Master Blaster: an approach to

sensitive identification of remotely related proteins. *Sci Rep* 11, 8746. https://doi.org/10.1038/s41598-021-87833-4

- Jandhyala, S., Talukdar R., Subramanyam C., Vuyyuru H., Sasikala M., Nageshwar D. (2015). Role of the normal gut microbiota. *World Journal Of Gastroenterology*, *21*(29), 8787. https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i29.8787
- Louis, P., & Flint, H. (2017). Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. Environmental Microbiology, 19(1), 29-41. doi: 10.1111/1462-2920.13589
- Meedt, E., Hiergeist, A., Gessner, A., Dettmer, K., Liebisch, G., Ghimire, S. & Weber, D. (2021). Prolonged Suppression of Butyrate-Producing Bacteria Is Associated With Acute Gastrointestinal Graft-vs-Host Disease and Transplantation-Related Mortality After Allogeneic Stem Cell Transplantation. *Clinical Infectious Diseases*, *74*(4), 614-621. https://doi.org/10.1093/cid/ciab500
- Mirzaei, R., Afaghi, A., Babakhani, S., Sohrabi, M. R., Hosseini-Fard, S. R., Babolhavaeji, K., ... & Karampoor, S. (2021). Role of microbiota-derived short-chain fatty acids in cancer development and prevention. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *139*, https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111619
- Singhal, R. *et al.* (2021) "Decrease in acetyl-COA pathway utilizing butyrate-producing bacteria is a key pathogenic feature of alcohol-induced functional gut microbial dysbiosis and development of liver disease in mice," *Gut Microbes*, 13(1). Available at: https://doi.org/10.1080/19490976.2021.1946367.
- Vital, M., Howe, A., & Tiedje, J. (2014). Revealing the Bacterial Butyrate Synthesis Pathways by Analyzing (Meta)genomic Data. Mbio, 5(2). doi: 10.1128/mbio.00889-14
- Vital, M., Penton, C. R., Wang, Q., Young, V. B., Antonopoulos, D. A., Sogin, M. L. & Tiedje, J. M. (2013). A gene-targeted approach to investigate the intestinal butyrate-producing bacterial community. *Microbiome*, *1*(1), 1-14. https://doi.org/10.1186/2049-2618-1-8

Efecto del pistache sobre el metagenoma colónica de una persona vespertina

Dufoo-Hurtado Elisa[1]; López-González Rocío Crystabel[4]; Loarca-Piña Ma. Guadalupe Flavia[1]; Wall-Medrano Abraham[2]; Hernández-Cruz Andrés[3]; Campos-Vega Rocio[1*]

[1]Facultad de Química, Programa de Posgrado en Alimentos del Centro de la Republica (PROPAC), Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro,76010, México
[2]Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Anillo Envolvente del Pronaf y Estocolmo s/n, CP 32310, Cd. Juárez, Chihuahua, México
[3]Escuela de Agronomía, Universidad La Salle Bajío, Avenida Universidad 602, Lomas del Campestre, CP 37150, León, Guanajuato, México.
[4]Centro Universitario "CEICKOR", Carretera Bernal, Acceso a Ezequiel Montes Km. 3, Los Benitos, 76299 Querétaro, México.

Resumen

La cronodisrupción y los cronotipos tardíos tienen un impacto significativo en la disbiosis intestinal y el riesgo de obesidad. Sin embargo, los cronobióticos derivados de los alimentos, como la fitomelatonina, podrían aliviarlo. Los pistaches son una buena fuente de cronobióticos y, hasta la fecha, son la mayor fuente de fitomelatonina informada. Este estudio evaluó los cambios en el perfil de la microbiota en una persona con obesidad y cronotipo tardío después de una fermentación *in vitro* de pistache. El pistache predigerido fue fermentado *in vitro* usando inóculo fecal de una persona obesa, con cronotipo vespertino y disbiosis.

Se realizó un análisis metagenómico de la microbiota (secuenciación del ARNr 16S) y un análisis bioinformático de predicción funcional (PICRUSt) antes y después de la fermentación colónica (6 h).
La fermentación *in vitro* de pistache mejoró la abundancia relativa en diferentes ordenes. Firmicutes disminuyen (*Lachnospira,Blautia, Roseburia*) y Bacteroidetes aumentan (*Prevotella, Alistipes, Odoribacter, Bacteroides*) selectivamente, mientras que Proteobacteria (*Enterobacter*) y Actinobacteria (*Bifidobacteria*) aumentan con respecto a la microbiota inicial. La disminución de *Lachnospira* y *Alistipes* es benéfica, ya que niveles elevados se han identificado en personas con cronotipo vespertino y alto consumo de energía. El análisis PICRUSt muestra un aumento significativo($p<0.05$) en el metabolismo de ácidos grasos de cadena corta y la biosíntesis de ácidos grasos insaturados, por mencionar algunos. Por primera vez se informa del efecto positivo *in vitro* de la fermentación de pistache en el metagenoma de la microbiota intestinal de una persona obesa con cronotipo vespertino.

Palabras clave: Obesidad, disbiosis, pistaches, cronotipos, crononutrición

*Autor de correspondencia: *Tel: 4421921304*
Direcciones e-mail: elisadufoo@msn.com; rcl.gonzalez27@gmail.com; loarca@uaq.mx; awall@uacj.mx; andrex1998@hotmail.com; chio_cve@yahoo.com.mx*

Abstract

Chronodisruption and late chronotypes have a significant impact on gut dysbiosis and obesity risk. However, food-derived chronobiotics such as phytomelatonin can provide relief. Pistachios are a good source of chronobiotics and, to date, are the largest source of phytomelatonin reported. This study evaluated the changes in the microbiota profile in a person with obesity and late chronotype after an *in vitro* fermentation of pistachio. The predigested pistachio was fermented *in vitro* using fecal inoculum from an obese person, with evening chronotype. Metagenomic analysis of the microbiota (16S rRNA sequencing) and bioinformatic analysis of functional prediction (PICRUSt) was performed before and after colonic fermentation (6 h). The *in vitro* fermentation of pistachio improves relative abundance in different orders. Firmicutes decrease (*Lachnospira, Blautia, Roseburia*) and Bacteroidetes increase (*Prevotella, Alistipes, Odoribacter, Bacteroides*), while

Proteobacteria (*Enterobacter*) and Actinobacteria (Bifidobacteria) increase with respect to the initial microbiota. The decrease in *Lachnospira* and *Alistipes* is beneficial since elevated levels have been identified in people with an evening chronotype and high energy intake. PICRUSt analysis shows a significant ($p<0.05$) increase in short-chain fatty acid metabolism and unsaturated fatty acid biosynthesis, to mention a few. For the first time, a positive *in vitro* effect of pistachio fermentation on intestinal metagenome of an obese person with an evening chronotype is reported.

Keywords: Obesity, dysbiosis, pistachios, chronotypes, chrononutrition,

Introducción

Los ritmos circadianos (RC) se definen como cambios físicos, mentales y conductuales que siguen un ciclo diario de 24 horas y responden a diversos estímulos principalmente la luz. Los RC son los responsables de controlar diversos procesos fisiológicos como los ciclos de sueño/vigilia, la temperatura corporal, funciones metabólicas, actividad cardiovascular, la alimentación, el sistema endocrino mediante la secreción de hormonas, actividad renal, fisiología del tracto gastrointestinal, entre otros (Barandas et al., 2015).

Los RC son sincronizados luego de la exposición a estímulos, factores ambientales o sincronizadores, los cuales señalan la hora del día y son denominados como "Zeitgebers". Entre estas señales se encuentran los ciclos de luz/obscuridad, el horario de comidas, el ejercicio físico, los sincronizadores sociales, los compuestos asociados a los alimentos, entre otros. Por lo tanto, un desajuste en las entradas del RC provoca una desincronización, causando disbiosis intestinal, comportamientos alimentarios anormales, alteraciones metabólicas y como consecuencia un aumento de peso. Los cambios en el estilo de vida de la sociedad moderna han llevado a la desincronización de los RC, debido a que estamos expuestos a trabajar en habitaciones iluminadas con luz artificial, una mayor exposición a luz brillante por la noche o luz tenue durante el día, el jet lag social crónico, el trabajo nocturno o por turnos (Kolbe et al., 2019). De acuerdo a la dinámica de los RC se reconocen 5 cronotipos, distinguiéndose 2 tipos principales: las personas que prefieren acostarse temprano y levantarse temprano que pertenecen al cronotipo matutino, y en contra parte, las personas que prefieren acostarse tarde y levantarse tarde que pertenecen al cronotipo vespertino (Roenneberg et al., 2007). Existe evidencia de que el cronotipo vespertino se encuentra asociado a menos horas de sueño, bajo rendimiento académico y hábitos dietarios poco saludables, incluyendo que tienden a saltarse el desayuno con mayor frecuencia. Los datos también sugieren que quedarse despierto hasta altas horas de la noche puede llevar a los individuos a comer en exceso, por lo que este cronotipo presenta un mayor riesgo de desarrollar alteraciones metabólicas como la obesidad (Miller et al., 2015).

La obesidad es un problema de salud pública en todo el mundo, incluido México, donde siete de cada diez adultos (≥ 20 años) padecen sobrepeso y/o obesidad (Shamah-Levy et al., 2020). Estos padecimientos son considerados como una enfermedad crónica-multifactorial que involucra diversos factores incluyendo factores genéticos, fisiológicos, dietéticos y ambientales (Shamah-Levy et al. 2020). Estudios recientes han destacado el papel de la microbiota intestinal y el reloj circadiano como factores importantes que afectan el metabolismo energético y favorecen la ganancia de peso (Anhê et al., 2015).Se ha reportado que las personas con sobrepeso presentan disbiosis colónica; la disbiosis es una alteración caracterizada por un desbalance en el equilibrio microbiano de la microbiota normal, debido a un cambio en la distribución de las poblaciones y por lo tanto de sus metabolitos producidos (De Cosío-Barrón et al., 2020).

La crononutrición emerge como estrategia prometedora para ayudar a contrarrestar los efectos negativos de la obesidad, disbiosis y la desincronización de los RC. Esta disciplina incluye el estudio del efecto de nutrientes y compuestos bioactivos presentes en los alimentos en la restauración de la ritmicidad circadiana de órganos internos, estos compuestos se denominan como cronobióticos e incluyen compuestos como la glucosa, melatonina, cafeína, fibra dietaria y algunos ácidos fenólicos (Dufoo-Hurtado et al.,

2020).

Los pistaches son una fuente rica en compuestos cronobióticos, siendo una fuente importante de fibra dietaria (5-12 g/100 g), lo que aumenta la producción colónica de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) con acción quimiopreventiva, cronobiótica y un posible efecto en la modulación de la disbiosis y la desincronización intestinal (De Cosío- Barrón et al., 2020; Tahara et al., 2018).

Es por lo anterior que el objetivo de este proyecto consistió en evaluar el efecto de la fermentación colónica *in vitro* y potencial *in silico* de pistache sobre la modulación del metagenoma colónico de un donador con obesidad, cronodisrupción y disbiosis.

Metodología

Material biológico

Se utilizaron pistaches (*Pistacia vera* L.) tostados con sal de marca comercial (Member's Mark, Wal-Mart Stores, Inc. 2019); a los cuales se les retiró la cáscara para obtener la nuez. A una parte de la muestra se le retiró la piel (PN) y otra lo conservó (PN+SC), se molieron y almacenaron a 4 ºC para los análisis posteriores.

Fibra dietaria total

Se obtuvo mediante la combinación de métodos gravimétricos. Las muestras secas y libres de grasa fueron digeridas enzimáticamente con α-amilasa, proteasa y amiloglucosidasa para eliminar la proteína y el almidón presente en la muestra (De Cosío-Barrón et al., 2020).

Digestión gastrointestinal *in vitro*

Las muestras de pistache fueron predigeridas mediante un modelo de digestión *in vitro*: boca, estómago e intestino (Campos-Vega et al., 2009). De la fase intestinal se obtuvo la fracción no digerible de pistache (FNDP). Este experimento contó con previa aprobación por el Comité de Bioética de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro (CBQ19/013).

Fermentación colónica *in vitro*

Para la fermentación colónica *in vitro* se emplearon un blanco de la digestión intestinal (sin carbohidrato fermentable) y la FNDP tanto del pistache con piel como sin piel. Se utilizó inoculo fecal humano como fuente de la microbiota representativa del colon, que se obtuvo de la primera evacuación de un voluntario adulto jóven, masculino, con obesidad y cronotipo vespertino.

Se prepararon tubos estériles con 9 ml de medio de cultivo basal. Estos tubos se inocularon con 1 ml de homogenizado fecal y se adicionó la fuente de carbohidrato fermentable (la FNDP con o sin piel, el control positivo y negativo). Los tubos sesellaron y mantuvieron bajo una atmósfera anaerobia que contenía una mezcla de gases (H_2-CO_2- N2 10:10:80 volumen) durante 24 horas. (Campos-Vega et al., 2009).

Extracción de DNA y análisis metagenómico

La extracción del ADN bacteriano de las muestra de fermentación colónica *in vitro* (0 y 6 h) se llevó a cabo con el kit de extracción ZymoBIOMICS™ DNA Miniprep Kit (BioSystems, Argentina) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La integridad del ADN se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%. La concentración y pureza del material genético fue evaluada en un μDrop (Placa de 16 pozos, ThermoScientific; Espectrofotómetro Multiskan Go).extraído fue almacenado y enviado a ZymoResearch (Irving, California) para su secuenciación masiva. Brevemente, se prepararon bibliotecas de secuenciación mediante PCR tiempo real. Las cuales fueron sometidas a una secuenciación masiva utilizando la tecnología Illumina® MiSeq™ para secuenciar la región hipervariante 3 del gen 16S ribosomal (600 ciclos). Se realizó un análisis bioinformático infiriendo secuencias únicas de amplicones a partir de lecturas sin procesar utilizando el software DADA2 (Callahan et al., 2016). Se hizo una asignación taxonómica mediante el software Uclust de Qiime v.1.9.1, asignándose la taxonomía con la base de datos de investigación de Zymo. Se realizaron análisis de visualización de la composición, diversidades α y β usando el software Qiime v.1.9.1 (Caporaso et al., 2010).

Análisis bioinformático de predicción

funcional del metagenoma

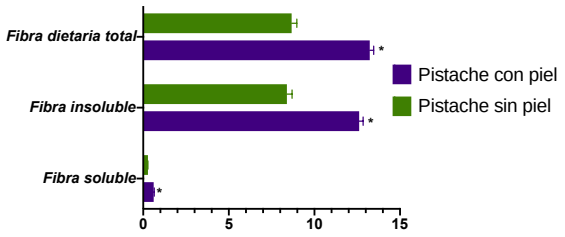
Utilizando los datos del análisis metagenómico se predijeron los perfiles funcionales de las comunidades microbianas mediante la investigación filogenética de las comunidades por reconstrucción de estados no observados (PICRUSt) (Langille et al., 2013). Todas las predicciones funcionales se asignaron a los perfiles funcionales de comunidades microbianas de la Enciclopedia de genes y genomas de Kyoto a través de las secuencias 16S.

Resultados

Fibra dietaria en el pistache

Los pistaches tienen un mayor contenido de fibra insoluble que de soluble; siendo el pistache con piel quién tiene el mayor contenido de fibra total (13.2 %) y sus fracciones **(Figura 1).**

Figura 1. Caracterización química y fibra dietaria de PN y PN+SC

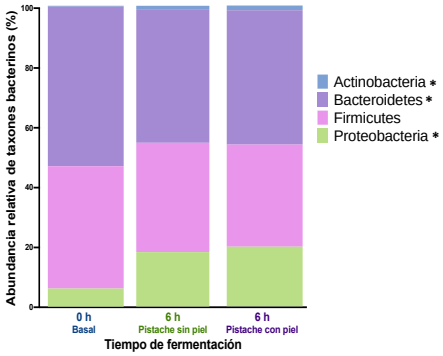


Los resultados se expresan en base seca y se presentan como la media ± la desviación estándar de dos ensayos independientes por duplicado
* Indica diferencia significativa entre muestra mediante la prueba t de Student para datos no pareados $p < 0.05$.

Análisis metagenómico

En la muestra basal (sin fermentar) se encontraron 3 filos Bacteroidetes, Firmicutes y Proteobacteria. Mientras que posterior a la fermentación de ambas muestras de pistache, la microbiota se compuso de 4 filos mayoritarios Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria y Proteobacteria **(Figura 2).** La abundancia relativa de los filos Baceroidetes y Firmicutes representa el 93.68 % para la muestra inicial, para las muestras con y sin piel representan el 78.62 y el 80.56 %, respectivamente. Es importante mencionar que la fermentación de ambas muestras de pistache favorece el crecimiento de microorganismos pertenecientes al filo Actinobacteria al aumentar su abundancia relativa hasta un 400 % con respecto a la muestra basal.

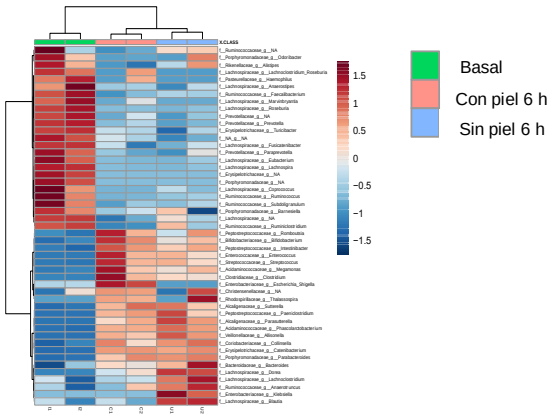
Figura 2. Cambios en la composición de la microbiota colónica a nivel de filo



Los resultados se presentan como la media ± la desviación estándar de dos ensayos independientes por duplicado
* Indica diferencia significativa con la muestra basal mediante la prueba t de Student para datos no pareados $p < 0.02$.

Nuestros resultados muestran que posterior a la fermentación con ambas muestras de pistache, la abundancia relativa de Bacteroidetes aumenta un 15 % con respecto a microbiota de la muestra basal; mientras que, el filo Firmicutes disminuye un 10 %.

Figura 3. Cambios en la composición de la microbiota colónica a nivel de familia

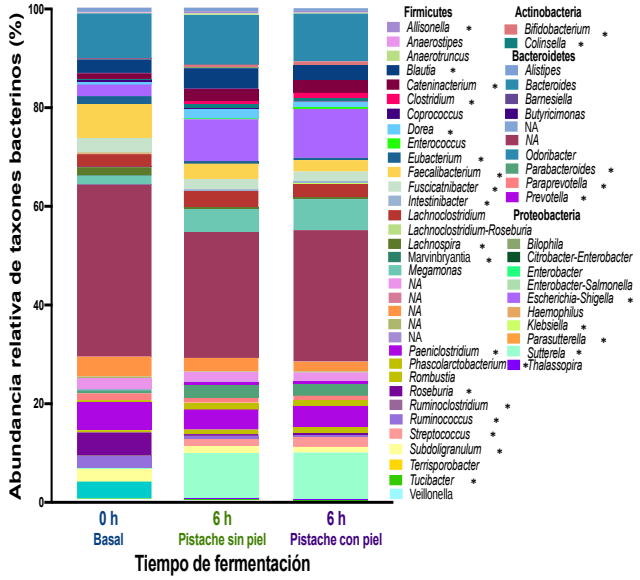


Para visualizar los cambios a nivel de familia posterior a la fermentación de ambas muestras de pistache se realizó un mapa de calor de la microbiota intestinal de la muestra basal (sin fermentar) y las muestras de pistache con y sin piel posterior a las 6 h de fermentación **(Figura 3).** El mapa de calor nos permite distinguir 3 grupos principales, el primero corresponde a familias de microorganismos que reducen su participación posterior a la fermentación con ambas muestras de pistache. Dentro de este grupo destacan las familias *Ruminococcaceae* y

Rikenellacea. Posterior a las 6 h de fermentación de ambas muestras de pistache se observa un decremento en su abundancia relativa (60 % *Ruminococcaceae* y 30 % *Rikenellaceae* con respecto a la abundancia en la muestra basal), de estas dos familias lo que sugiere un cambio positivo en la composición de la microbiota intestinal.

El segundo grupo corresponde a familias de microorganismos que proliferan debido a la fermentación de la muestra de pistache con piel. En este grupo es importante destacar la proliferación de *Bifidobacteriaceae*. El tercer grupo corresponde a las familias de microorganismos que proliferan debido a la fermentación de la muestra sin piel. Dentro de estas familias de bacterias destaca *Lachnospiracea*e.

Figura 4. Cambios en la composición de la microbiota colónica a nivel de género

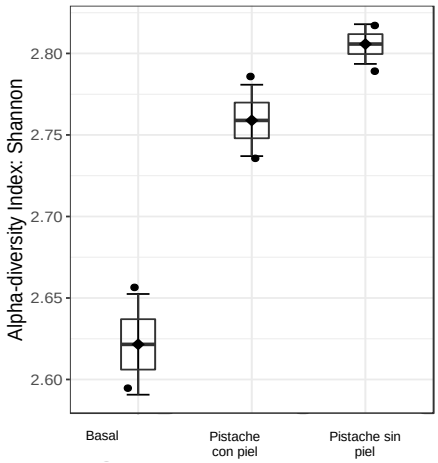


Los resultados se presentan como la media ± la desviación estándar de dos ensayos independientes por duplicado
* Indica diferencia significativa con la muestra basal mediante la prueba t de Student para datos no pareados p < 0.02.

Los mayores cambios y más evidentes se presentaron a nivel de género **(Figura 4).** De 56 géneros taxonómicos identificados, 28 de ellos presentaron un aumento o disminución estadísticamente significativa posterior a la fermentación de pistache.

Siendo importante destacar el aumento en géneros como *Bacteroides* (10%), *Dorea* (110%), *Bifidobacterium* (400%), *Parabacteroides y Paraprevotella*; así como la disminución de géneros como *Odoribacter* (50%), *Prevotella, Roseburia* (90%), *Lachnospira* (85 %) *y Alistipes* (36%).

Figura 5. Índice de alfa diversidad (Shannon)



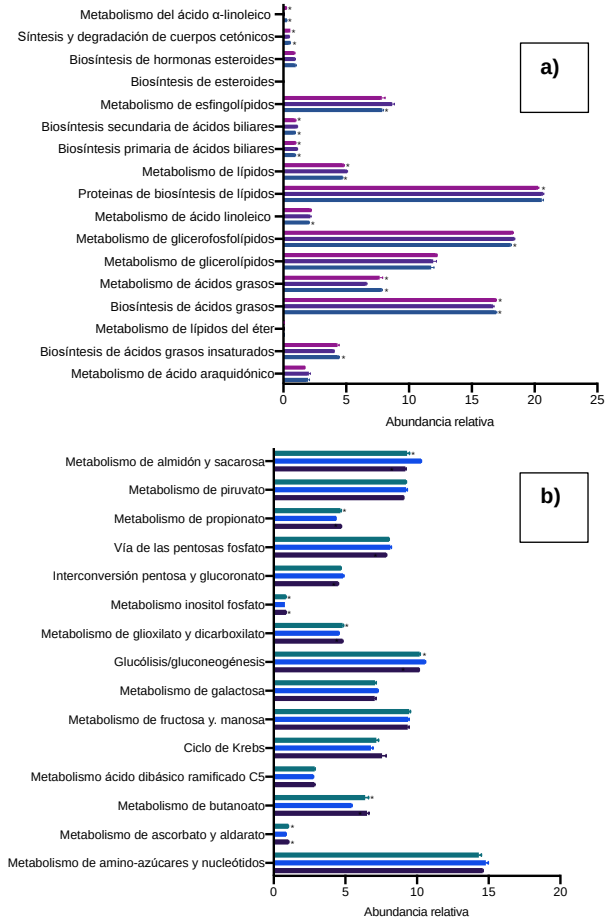
Alfa diversidad

La α diversidad se refiere a la diversidad dentro de un área o ecosistema en particular, y generalmente se expresa por el número de especies, es decir, la riqueza de especies en ese ecosistema. Esto nos ayuda a medir la diversidad de la microbiota en cada muestra evaluada. La diversidad medida por el índice Shanon **(Figura 5)** resultó ser mayor en las muestras de pistache fermentadas que en la muestra sin fermentar, esto se traduce en una mayor diversidad de microorganismos en las muestras fermentadas. Ambas muestras de pistache tuvieron efectos positivos similares sobre la diversidad .

Alfa bioinformático PICRUSt

En el análisis PICRUSt, examinamos cambios en diferentes rutas metabólicas relacionadas al metabolismo de aminoácidos, degradación de xenobióticos, terpenoides, procesos celulares, enfermedades humanas, cofactores, metabolismo energético, lípidos, carbohidratos, entre otros. De todos estos seleccionamos las rutas asociadas al metabolismo de lípidos y de carbohidratos **(Figura 6).** El análisis de predicción nos permitió observar un aumento significativo del metabolismo de lípidos **(Figura 6a)** posterior a la fermentación de ambas muestras de pistache y del metabolismo del propionato y butanoato **(Figura 6b).**

Figura 6. Predicción de cambios en las vías metabólicas asociadas a a) lípidos y b) carbohidratos



Los resultados se presentan como la media ± la desviación estándar de dos ensayos independientes por duplicado
* Indica diferencia significativa con respecto a la muestra basal mediante la prueba de Dunnett $p < 0.05$.

Discusión

Ha sido reportado que la almendra y el pistache son las nueces con un mayor contenido de fibra, la cual tiene efectos benéficos a la salud encontrándose que su ingesta está inversamente asociada con el aumento de peso, diabetes, algunos tipos de cáncer. Además, como resultado de su fermentación por parte de la microbiota colónica, la fibra favorece la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), los cuales han demostrado *in vitro* tener un efecto benéfico en la prevención del cáncer colorrectal. También se ha demostrado mediante un ensayo *in vivo* que dichos AGCC pueden sincronizar relojes periféricos como los presentes en hígado, riñón y la glándula submandibular (Tahara et al., 2018).

Los cambios a nivel de filo han sido previamente reportado por otros autores posterior al consumo de nueces de pistache en roedores (Terzo et al., 2020; Yanni et al., 2020). De manera particular, el filo Firmicutes ha sido relacionado con una mayor efectividad para extraer energía de los alimentos y por lo tanto una mayor absorción de calorías, favoreciendo una ganancia de peso (Magne et al., 2020). También ha sido reportado que en personas con una condición de obesidad presentan disbiosis en la microbiota colónica, caracterizada por una menor diversidad de poblaciones bacterianas, así como una menor abundancia relativa de Bacteroidetes y una mayor abundancia de Firmicutes, es por ello que se ha planteado que la relación Firmicutes/Bacteroidetes (F/B) podría funcionar como un marcador de la microbiota intestinal en personas con sobrepeso (Rinninella et al., 2019). Como parte de esta investigación se calculó dicha relación resultando en una tendencia a la disminución de este índice (0.8 muestra basal y 0.76 pistache con piel fermentado 6 h), por lo que se sugiere una modificación positiva, contribuyendo a mantener la homeostasis intestinal y ayudando a contrarrestar la disbiosis intestinal. Sin embargo, es necesario realizar un análisis con un mayor tiempo de fermentación colónica.

Es de particular interés discutir el aumento en la abundancia relativa que se observa para el filo Proteobacteria (60 %) posterior a la fermentación con pistache, respecto a la microbiota basal. Este filo ha sido asociado negativamente con la salud del huésped debido a que comprende en su mayoría a bacterias patógenas, gram negativas, las cuales producen moléculas pro-inflamatorias como lipopolisacáridos, ayudando a un aprovechamiento más eficiente de la energía y por lo tanto un aumento del almacenamiento de grasas del huésped (Rinninela et al., 2019). Sin embargo, también se ha reportado que este filo bacteriano tiene funciones que contribuyen a la homeostasis del entorno anaeróbico del intestino y, por lo tanto, a la estabilidad de la microbiota estrictamente anaerobia, preparando así el intestino para la colonización sucesiva por anaerobios estrictos necesarios para una función intestinal saludable. Además, la proliferación de este filo se ha asociado a dietas altas en proteína y lípidos como lo es el pistache al ser el sustrato de la fermentación.

Dentro de los cambios a nivel taxonómico de familia destacan la reducción de *Ruminococcaceae* y *Rikenellaceae*, debido a que su incremento se ha asociado con obesidad y resistencia a la leptina. La abundancia de estas familias es dependiente de la dieta y han sido estrechamente asociadas con incremento de obesidad y Diabetes mellitus tipo 2 (DM2) (Rinninella et al., 2019). Por otra parte, es importante destacar la proliferación de *Bifidobacteriaceae*, una familia de bacterias asociadas con un efecto promotor a la salud y un efecto prebiótico. La proliferación de esta familia de bacterias ha sido previamente reportada posterior a la ingesta de pistache en modelos *in vivo* (Terzo et al., 2020; Yanni et al., 2020). Y de la familia *Lachnospiraceae*, cuyo metabolismo está asociado a la producción de AGCC, particularmente ácido butírico. El aumento de esta familia de bacterias se encuentra relacionada con resultados previos de la investigación, donde la producción de ácido butírico se mantuvo constante durante toda la fermentación.

El aumento significativo en la abundancia en el género *Dorea*, es de relevancia debido a que este microorganismo es productor de AGCC, particularmente butírico (Terzo et al., 2020). Siendo importante destacar ya que estos ejercen un efecto benéfico a la salud y actúan como potentes cronobióticos de relojes periféricos; contribuyendo así a la regulación del sistema circadiano y una posible mejora del cronotipo (Tahara et al., 2018).

La presencia del género *Odoribacter* se ha asociado con la inflamación y se ha reportado que en personas sedentarias hay una mayor abundancia de este género (Bressa et al., 2017). De acuerdo a las características del donador de la muestra fecal, este presenta una actividad física moderada (683 MET), lo cual fue evaluado por medio del cuestionario internacional de actividad física (IPAQ); esto podría explicar la mayor abundancia de este género en la muestra basal.

Es de particular interés para este trabajo el factor del reloj circadiano; sin embargo, la evaluación y evidencias que consideren su interacción con la microbiota son limitadas. De los pocos reportes con los que se cuenta destaca que el género *Roseburia* se correlaciona con la expresión de *Per*, un componente molecular del reloj circadiano. Recientemente Carrasso et al. (2021) reportaron que existen poblaciones de microorganismos característicos en cronotipos extremos como el matutino y vespertino. De acuerdo con sus resultados, los géneros característicos de una persona con cronotipo vespertino son *Lachnospira* y *Alistipes*, esto concuerda con los resultados que encontrados donde existe una mayor abundancia de estos dos géneros en la microbiota basal. Sin embargo, con la fermentación de ambas muestras de pistache se observa una disminución de su abundancia relativa, siendo más pronunciada en la muestra con piel, lo cual podría contribuir con una mejora en el cronotipo a través del restablecimiento del equilibrio de estas poblaciones microbianas en el colon.

Los cambios encontrados en la alfa diversidad se traducen en una mayor diversidad de microorganismos en las muestras fermentadas. Esto resulta benéfico porque el tratamiento temporal con un alimento como el pistache tiene un efecto sobre la diversidad microbiana, lo cual podría contribuir a la disminución de la disbiosis colónica del huésped y una mejora en parámetros metabólicos asociados a la obesidad y parámetros cronobiológicos.

El análisis de predicción PICRUSt para el metabolismo de carbohidratos concuerda con nuestros resultados previos, donde las muestras de pistache fueron altamente efectivas en la producción de AGCC, además de cambiar su proporción molar, especialmente a la producción de ácido butírico. El aumento significativo de AGCC y de sus vías metabólicas asociadas en las muestras de pistache, especialmente de ácido butírico, puede indicar su potencial para mejorar la salud en sujetos obesos a través del aumento en el número de bacterias beneficiosas productoras de butirato, como se vio en un estudio cruzado aleatorio de alimentación humana (Ukhanova et al., 2014).

Conclusiones

Los pistaches son una buena fuente de fibra dietaria, la cual llega el colon para ser fermentada por la microbiota, produciendo cambios significativos en la microbiota intestinal. Dichos cambios son observables a diferentes niveles taxonómicos y a

través de cambios en la α diversidad medida por el índice de Shannon. Esto es de interés debido a que la evidencia *in vitro* de la fermentación de pistache indica una contribución en disminuir los efectos negativos de la disbiosis y contribuir con una mejora de parámetros cronobiológicos como el cronotipo a través del restablecimiento del equilibrio de estas poblaciones microbianas en el colon. Es importante destacar que es la primera vez que se identifica un efecto positivo de la intervención *in vitro* con un alimento, sobre la composición de la microbiota intestinal de una persona obesa con cronotipo vespertino y disbiosis. Los resultados sugieren que una intervención dietaria con pistache podría ayudar en la prevención de problemas de salud asociados con la cronodisrupción y la disbiosis intestinal, como la obesidad. Se requieren estudios adicionales.

Referencias bibliográficas

Anhê, F. F., Roy, D., Pilon, G., Dudonné, S., Matamoros, S., Varin, T. V., ... & Marette, A. (2015). A polyphenol-rich cranberry extract protects from diet-induced obesity, insulin resistance and intestinal inflammation in association with increased Akkermansia spp. population in the gut microbiota of mice. Gut, 64(6), 872-883.

Barandas, R., Landgraf, D., McCarthy, M. J., y Welsh, D. K. (2015). Circadian clocks as modulators of metabolic comorbidity in psychiatric disorders. Current Psychiatry Reports, 17(98), 1-12.

Bressa, C., Bailén-Andrino, M., Pérez-Santiago, J., González-Soltero, R., Pérez, M., Montalvo-Lominchar, M. G., ... & Larrosa, M. (2017). Differences in gut microbiota profile between women with active lifestyle and sedentary women. PLoS One, 12(2), e0171352.

Callahan, B.J., McMurdie, P.J., Rosen, M.J., Han, A.W., Johnson, A.J., Holmes, S.P. (2016). DADA2: High resolution sample inference from Illumina amplicon data. Nat Methods 13(7):581-3. doi: 10.1038/nmeth.3869

Campos-Vega, R., Reynoso- Camacho, R., Pedraza-Aboytes, G., Acosta- Gallegos, J. A., Guzman-Maldonado, S. H., Paredes-Lopez, O., Oomah, B.D., & Loarca- Piña, G. (2009). Chemical composition and in vitro polysaccharide fermentation of different beans (Phaseolus vulgaris L.). Journal of Food Science, 74(7), 59-65.

Caporaso, J.G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F.D., Costello, E.K. ... Knight R. (2010). QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. Nat Methods (7): 335-336. doi: 10.1038/nmeth.f.303

Carasso, S., Fishman, B., Lask, L. S., Shochat, T., Geva-Zatorsky, N., & Tauber, E. (2021). Metagenomic analysis reveals the signature of gut microbiota associated with human chronotypes. bioRxiv.

De Cosío-Barrón, A. C. G., Hernández-Arriaga, A. M., & Campos-Vega, R. (2020). Spent coffee (Coffea arabica L.) grounds positively modulate indicators of colonic microbial activity. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 60, 102286.

Dufoo-Hurtado, E., Wall-Medrano, A., & Campos-Vega, R. (2020). Naturally-derived chronobiotics in chrononutrition. Trends in Food Science & Technology, 95, 173-182.

Kolbe, I., & Oster, H. (2019). Focus: clocks and cycles: chronodisruption, metabolic homeostasis, and the regulation of inflammation in adipose tissues. The Yale Journal of Biology and Medicine, 92(2), 317- 325

Langille, M. G., Zaneveld, J., Caporaso, J. G., McDonald, D., Knights, D., Reyes, J. A., ... & Huttenhower, C. (2013). Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences. Nature biotechnology, 31(9), 814-821.

Magne, F., Gotteland, M., Gauthier, L., Zazueta, A., Pesoa, S., Navarrete, P., & Balamurugan, R. (2020). The Firmicutes/Bacteroidetes ratio: a relevant marker of gut dysbiosis in obese patients?. Nutrients, 12(5), 1474.

Miller, A. L., Lumeng, J. C., y LeBourgeois, M. K. (2015). Sleep patterns and obesity in childhood. Current Opinion in Endocrinology, Diabetes, and Obesity, 22(1), 41.

Rinninella, E., Cintoni, M., Raoul, P., Lopetuso, L. R., Scaldaferri, F., Pulcini, G., ... & Mele, M. C. (2019). Food components and dietary habits: Keys for a healthy gut microbiota composition. Nutrients, 11(10), 2393.

Roenneberg, T., Kuehnle, T., Juda, M., Kantermann, T., Allebrandt, K., Gordijn, M., y Merrow, M. (2007). Epidemiology of the human circadian clock. Sleep Medicine Reviews, 11(6), 429-438.

Shamah-Levy, T., Campos-Nonato, I., Cuevas-Nasu, L., Hernández-Barrera, L., Morales-Ruán, M. D. C., Rivera-Dommarco, J., & Barquera, S. (2020). Overweight and obesity in Mexican vulnerable population. Results of Ensanut 100k. Salud Pública de México, 61(6), 852-865.

Tahara, Y., Yamazaki, M., Sukigara, H., Motohashi, H., Sasaki, H., Miyakawa, H., ... & Shibata, S. (2018). Gut microbiota-derived short chain fatty acids induce circadian clock entrainment in mouse peripheral tissue. Scientific reports, 8(1), 1-12.

Terzo, S., Mulè, F., Caldara, G. F., Baldassano, S., Puleio, R., Vitale, M., ... & Amato, A. (2020). Pistachio consumption alleviates inflammation and improves gut microbiota composition in mice fed a high-fat diet. International Journal of Molecular Sciences, 21(1), 365.

Ukhanova, M., Wang, X., Baer, D. J., Novotny, J. A., Fredborg, M., & Mai, V. (2014). Effects of almond and pistachio consumption on gut microbiota composition in a randomised cross-over human feeding study. British Journal of Nutrition, 111(12), 2146-2152.

Yanni, A. E., Mitropoulou, G., Prapa, I., Agrogiannis, G., Kostomitsopoulos, N., Bezirtzoglou, E., ... & Karathanos, V. T. (2020). Functional modulation of gut microbiota in diabetic rats following dietary intervention with pistachio nuts (Pistacia vera L.). Metabolism open, 7, 100040.

Obesidad-resistencia a la insulina en *Drosophila melanogaster:* enfoque lipidómico

Estrada-Nieves Sofía[a], García-Gutiérrez David G[a], Bertadillo-Jilote Alma D[a], Reynoso-Camacho Rosalía[b], Murillo-Maldonado Juan M[c]*, Pérez-Ramírez Iza F.[a]*

[a]Clinical Chemistry and Molecular Diagnosis Department, Chemistry School, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro 76010, Querétaro, México.

[b]Programa de Posgrado en Alimentos del Centro de la República, Chemistry School, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro 76010, Querétaro, México.

[c]Developmental Neurobiology and Neurophysiology Department, Neurobiology Institute, Universidad Nacional Autónoma de México, Querétaro 76230, Querétaro, México.

*jmmurillo@comunidad.unam.mx, iza.perez@uaq.mx.

Resumen

La obesidad asociada al consumo de una dieta hipercalórica representa un alto riesgo de desarrollar resistencia a la insulina y diabetes mellitus tipo 2 (DMT2); sin embargo, su conexión fisiopatológica aún no ha sido completamente elucidada. En este proyecto, se utilizó *Drosophila melanogaster* imentado con una dieta alta en azúcar (HSD) como modelo de estudio con el objetivo de identificar los cambios en los perfiles lipidómicos desarrollados durante la transición de obesidad a resistencia a la insulina. A partir del 2º día de inducción con HSD, las moscas desarrollaron hipertrigliceridemia e hiperglucemia, continuando con el desarrollo de resistencia a la insulina (disminución en la expresión relativa de *Dilp2*) a partir del 8º día. El análisis lipidómico en conjunto con análisis quimiométricos confirmó la presencia de alteraciones metabólicas desde el día 2 hasta el final del experimento (día 14) con la HSD. En la etapa temprana de la inducción con HSD (días 2 a 6), los ácidos grasos (FA) y las fosfatidiletanolaminas (PE) compuestas de cadenas de acilo 16:0, 16:1 y 18:1 significativamente ($p<0.05$) alteradas e involucradas con el desarrollo de resistencia a la insulina. De los días 4 a 14 de inducción, se observó un aumento significativo ($p<0.0001$) de FA 16:0 y LysoPE 18:1, sugiriendo su implicación en el desarrollo de un fenotipo similar a DMT2. No obstante, se requieren más estudios moleculares que nos permitan comprender la implicación metabólica de las huellas lipidómica con los fenotipos de obesidad, resistencia a la insulina y DM2.

Palabras clave: *Drosophila melanogaster*; obesidad; diabetes mellitus tipo 2; resistencia a la insulina; lipidómica.

Summary

Hipercaloric diet-induced obesity increases the risk of developing insulin resistance and type 2 diabetes mellitus (T2DM); however, their pathophysiology connection has not been completely elucidated. In this project, a high sugar diet (HSD)-fed *Drosophila melanogaster* study model was used to identify the changes in the lipidome profiles developed during the obesity-insulin resistance transition. After two days of HSD induction, *D. melenagostar* developed hypertriglyceridemia and hyperglycemia, which was further developed to insulin resistance (decreased *Dilp2* relative expression) at day 8. The combined lipidomic and chemometric analyses confirmed that HSD induction led to the development of metabolic alterations from day 2 until the end of the experiment (day 14). On the early stages of HSD induction (days

2 to 6), fatty acids (FA) and phosphatidylethanolamines (PE) composed by 16:0, 16:1, and 18:1 acyl chain were significative ($p<0.05$) altered and were involved with the development of insulin resistance. Then, from days 4 to 14 with HSD induction, FA 16:0 and LysoPE 18:1 were significantly ($p<0.0001$) increased, suggesting their participation in the development of a T2DM phenotype. Nevertheless, further molecular studies are necessaries to fully understand the metabolic implications of the lipidomic fingerprint with the obesity, insulin resistance, and T2DM phenotypes.

Keywords: *Drosophila melanogaster*; obesity; type 2 diabetes mellitus; insulin resistance; lipidomics.

Introducción

La obesidad como efecto de una dieta hipercalórica, se ha definido como un estado fisiopatológico caracterizado por la acumulación excesiva de lípidos en el tejido adiposo que promueve el desarrollo de diversas alteraciones metabólicas, entre las que destaca la resistencia a la insulina que involucra una deficiencia progresiva en la secreción, señalización y acción de la insulina y concluye en una alta vulnerabilidad para el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) (Ortega *et al.,* 2019). La DMT2 se caracteriza por un estado de hiperglucemia crónica que resulta en una serie de trastornos metabólicos como retinopatías, neuropatía y nefropatías (American Diabetes Association, 2022).

Ambas fisiopatologías han sido reconocidas por la OMS como una epidemia de amenaza mundial, debido a los altos índices de prevalencia y mortalidad. Se estima que alrededor del 74.1 % de la población total en México padece obesidad o sobrepeso según ENSANUT (2020), mientras que la DMT2 se posiciona como la tercera causa de muerte a nivel nacional según el INEGI 2021.

Actualmente, se reconoce la cronología eventual que asocia a ambas fisiopatologías, demostrando que en un estado de obesidad existe un incremento en el índice de adiposidad que promueve un estado de inflamación sistémica crónica consecuente de la infiltración de macrófagos en el tejido adiposo y el incremento de ácidos grasos libres circulantes, lo que genera un ambiente lipotóxico que a su vez puede exacerbar el estado de resistencia a la insulina (Wondmkun, 2020). Dicho efecto involucra el aumento en la expresión de citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-a) y la interleucina-6 (IL-6) que interfieren con la señalización de la insulina en tejidos dependientes de insulina, disminuyendo la absorción y el metabolismo de glucosa.

A pesar de la fuerte relación que existe entre obesidad- resistencia a la insulina y DMT2 el mecanismo molecular completo que subyace su transición continúa siendo una incertidumbre. Por esta razón se requiere reforzar la investigación en el área que nos permita comprender la fisiopatología de la DMT2.

En los últimos años el uso de las ciencias ómicas ha demostrado ser una herramienta analítica óptima para la investigación de enfermedades metabólicas como la DMT2 (Hosseinkhani *et al.,* 2021). Gracias a estos hallazgos se han identificado ciertos metabotipos en adultos con obesidad y resistencia a la insulina en comparación con adultos obesos con sensibilidad a la insulina, distinguiendo 18 especies de fosfolípidos alterados que contienen grupos acilos de 18 carbonos tales como como fosfatidiletanolaminas (PE), fosfatidilinositoles (PI), fosfatidilserinas (PS) y fosfatidilcolinas (PC) (Palau *et al.,* 2021). No obstante, se desconoce si participan en el inicio o en el desarrollo de la resistencia a la insulina asociada a la obesidad, debido a que estos estudios son realizados con un enfoque transversal, y no se realiza el seguimiento metabolóico a lo largo del desarrollo de las alteraciones metabólicas.

Por lo tanto, con el objetivo de comprender las alteraciones metabólicas desarrolladas durante la transición obesidad-resistencia a la insulina-DM2, en esta investigación se realizó un análisis lipidómico dirigido longitudinal empleando como modelo de

estudio a *Drosophila melanogaster* alimentada con una dieta alta en azúcar (HSD).

Metodología

Espécimen biológico: Se empleó la cepa salvaje Oregon R (ORR) de *Drosophila melanogaster*, las cuales fueron mantenidas bajo condiciones estándar (25 ºC, 50% de humedad relativa y ciclo de luz/oscuridad de 12 h/12 h) en tubos de 50 mL con un medio dietético estándar.

Diseño experimental: Se recolectaron moscas macho adultas recién nacidas y se mantuvieron en un medio de comida estándar durante tres días. Posteriormente, las moscas fueron aleatorizadas a los dos grupos de experimentación: (i) dieta estándar (SD) y (ii) dieta alta en azúcar (HSD). La composición de la SD fue 10% de levadura, 9% de fructosa, 1,6% de agar, 1,4% de gelatina y 1% de ácido propiónico, mientras que para la HSD se aumentó la concentración de fructosa a un 30% (Rovenko *et al.,* 2015). El experimento se realizó siguiendo los lineamientos del Consejo Nacional de Investigaciones para el uso de animales de experimentación y fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro (Querétaro, México) (número de aprobación: CBQ16/0831).

Determinación de triglicéridos totales: La determinación se realizó en un total de 750 moscas alimentadas con sus respectivas dietas durante 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14 días. Las moscas fueron anestesiadas con hielo y se determinó el peso para cada grupo experimental en los diferentes tiempos de tratamiento. La determinación de triglicéridos se realizó en la mosca entera de acuerdo con las instrucciones del kit enzimático-colorimétrico (Spinreact) como se ha descrito anteriormente (Tennessen *et al.,* 2014).
Las absorbancias se midieron a 505 nm en un lector de microplacas (Multiskan G0, Thermo Scientific), y los resultados se expresan como µg de triglicéridos por mg de peso corporal como el valor medio de 10 réplicas biológicas por grupo experimental (5 moscas por réplica).

Determinación de glucosa/trehalosa: La determinación se realizó en un total de 3,375 moscas alimentadas con sus respectivas dietas durante 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14 días. Se realizó la extracción de hemolinfa siguiendo el protocolo descrito por Tennessen et al. (2014). Las muestras se incubaron con trehalasa (T8778, Sigma-Aldrich) a 37 ºC durante toda la noche. Posteriormente, se realizó la determinación de carbohidratos de acuerdo con las instrucciones del kit enzimático colorimétrico (Spinreact). Las absorbancias se midieron a 540 nm en un espectrofotómetro de microplacas (Multiskan G0, Thermo Scientific). Los resultados se expresan como mg de trehalosa+glucosa por dL de hemolinfa como el valor medio de 5 réplicas biológicas por grupo experimental (45 moscas por réplica).

Evaluación de la expresión relativa del péptido similar a la insulina 2 (*Dilp2*): La determinación se realizó en un total de 1500 moscas alimentadas con sus respectivas dietas durante 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14 días. Se realizó la extracción del ARN total de las cabezas de las moscas con el reactivo Trizol (Invitrogen) siguiendo las instrucciones del fabricante. La integridad del ARN se evaluó mediante una electroforesis en gel de agarosa al 1%. La concentración de ARN y los parámetros de calidad (260/280 y 260/230) se determinaron en un Nanodrop (Multiskan G0, Thermo Scientific). Se realizó la síntesis de cADN para posteriormente llevar a cabo la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR) utilizando SYBR Green PCR (Roche) en un sistema RT-PCR (LightCycler96, Roche Diagnostics). La expresión relativa del ARNm de *Dilp2* se calculó mediante normalización contra *Act5c* (gen endógeno) utilizando el método $2^{-\Delta\Delta Ct}$). Los resultados se presentan como el valor medio de 5 réplicas biológicas por grupo experimental (20 moscas por réplica).

Análisis lipidómico: La determinación se realizó en un total de 750 moscas alimentadas con sus

respectivas dietas durante 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14 días. Las moscas completas fueron maceradas en nitrógeno líquido para la postrior extracción de metabolitos con una solución metanol:agua (80:20 v/v). Los extractos fueron analizados en un sistema de Cromatografía de Líquidos de Ultra Resolución acoplado a un sistema de Espectrometría de Masas de Cuadrupolo/Tiempo de Vuelo con una fuente de Ionización por Electropulverización (UPLC-ESI-QToF MSE). Las muestras (1 µL) fueron inyectadas a una columna Acquity BEH C18 (2,1 x 100 mm, 1,7 µm) utilizando las condiciones de sepración cromatográfica y de ionización descritas por Álvarez-Rodríguez et al. (2020). Los datos se adquirieron y procesaron utilizando el software UNIFI (Waters Co.) y se normalizaron utilizando la abundancia total de iones para reducir el sesgo sistemático dentro del experimento. Los resultados se expresan como intensidad normalizada como el valor medio de 5 réplicas biológicas por grupo experimental (10 moscas por réplica).

Análisis estadístico: Se empleó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para evaluar normalidad de los datos y la prueba de Levene para la homogeneidad de la varianza, posteriormente se aplicó la prueba t de Student para las variables paramétricas y la prueba de Wilcoxon para las variables no paramétricas. Las diferencias con $p<0.05$ se consideraron estadísticamente significativas. Todos los análisis estadísticos univariados se llevaron a cabo en el software JMP. Para los datos del perfil lipidómico se realizó el Análisis Discriminante de Mínimos Cuadrados Parciales (PLS-DA) para cada tiempo de muestreo (2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14 días), obteniendo los gráficos de Importancia de las Variables en la Proyección (VIP). Para el análisis multivariado, se llevó a cabo el pre-procesamiento de los datos por medio de una normalización por suma, transformación por raíz cuadrada y escalado de Pareto. Todos los análisis estadísticos multivariados se llevaron a cabo en el software Metaboanalyst 5.0.

Resultados

Efecto de la inducción con una dieta alta en azúcares sobre el desarrollo de obesidad y resistencia a la insulina en *D. melanogaster*: Para evaluar el desarrollo de obesidad en el modelo de estudio, se realizó un análisis longitudinal de los niveles de triglicéridos totales en moscas alimentadas con SD y HSD (Figura 1). Se observó un incremento significativo en los triglicéridos totales tras dos días de inducción con HSD en comparación con el grupo SD (1.51 veces, $p<0.05$), el cual se mantuvo hasta el final del experimento (1.25-1.69 veces).

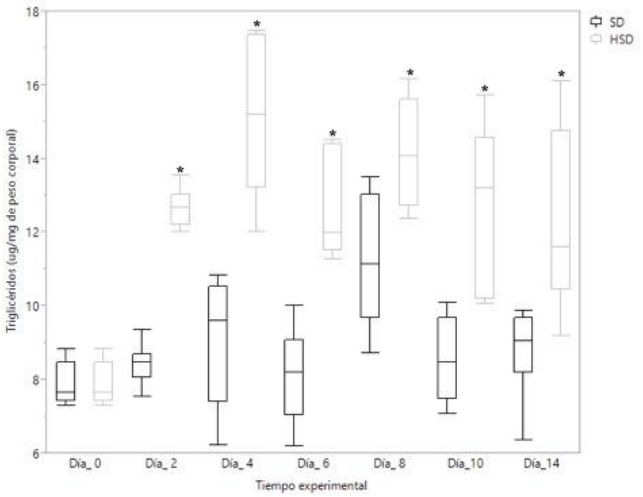


Figura 1. Efecto de una dieta rica en azúcares sobre los niveles de triglicéridos totales en *D. melanogaster*. Los resultados son mostrados como la media de 10 réplicas biológicas (5 moscas por réplica) de cada grupo experimental. Las barras de error representan el rango intercuartil. *Indican diferencia significativa ($p<0.05$) por la prueba de Dunnet o Wilcoxon. SD: dieta estándar; HSD: dieta alta en azúcares.

Por otro lado, en la Figura 2 se muestra el efecto de la alimentación con SD y HSD sobre los niveles de glucosa+trehalosa en hemolinfa de *D. melanogaster*, el cual es indicador del estado glucémico del modelo de estudio. Se observó un aumento significativo en los niveles glucosa+trehalosa a partir del día 2 (27%, $p<0.05$), el cual coincide con el inicio de la hipertrigliceridemia. Sin embargo, se observa que la glucemia fue gradualmente aumentando hasta alcanzar un máximo en el día 8 de inducción con

HSD ($p<0.05$), el cual disminuye ligeramente al final del estudio (día 14).

Con el fin de estimar si la hiperglucemia observada corresponde a un estado de resistencia a la insulina, se llevó a cabo la determinación de la expresión de *Dilp2*, homólogo a la insulina, en moscas alimentadas con SD y HSD por 14 días (Figura 3).

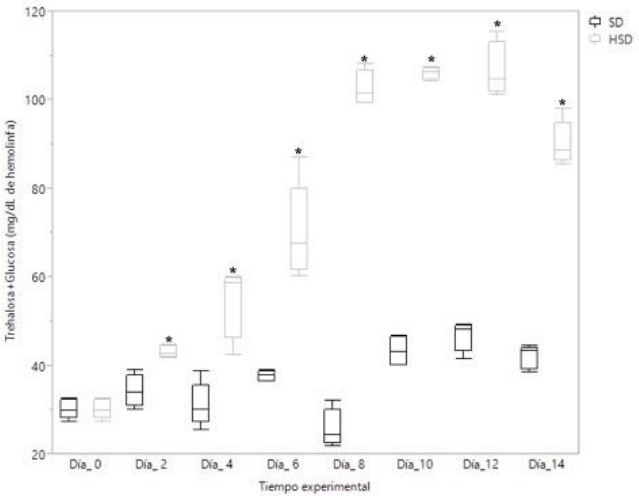


Figura 2. Efecto de una dieta rica en azúcares sobre los niveles de glucosa+trehalosa en hemolinfa de *D. melanogaster.* Los resultados son mostrados como la media de 5 réplicas biológicas (45 moscas por réplica) de cada grupo experimental. Las barras de error representan el rango intercuartil. *Indican diferencia significativa ($p<0.05$) por la prueba de Dunnet o Wilcoxon. SD: dieta estándar; HSD: dieta alta en azúcares.

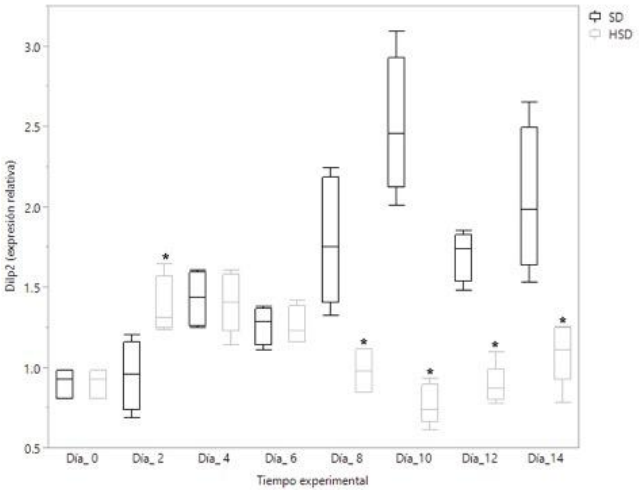


Figura 3. Efecto de una dieta rica en azúcares sobre los niveles de triglicéridos totales en *D. melanogaster.*

Los resultados son mostrados como la media de 5 réplicas biológicas (20 moscas por réplica) de cada grupo experimental. Las barras de error representan el rango intercuartil. *Indican diferencia significativa ($p<0.05$) por la prueba de Dunnet o Wilcoxon. SD: dieta estándar; HSD: dieta alta en azúcares.

Se observó un fenómeno interesante, en el 2º día de inducción se observa una sobreexpresión de *Dilp2* en el grupo alimentado con HSD en comparación con el grupo SD (27%, $p<0.05$) el cual coincide con el inicio de la hiperglucemia. Sin embargo, dicha sobre-expresión de *Dilp2* se mantiene estable del 2º al 6º día (coincidente con la creciente hiperglucemia), para posteriormente disminuir significativamente del 8º al 14º día (1.82-3.25 veces, $p<0.05$), periodo en el que se observó una hiperglucemica estable.

Efecto de la inducción con una dieta alta en azúcares sobre el perfil lipidómico de *D. melanogaster*: Se realizó un análisis lipidómico dirigido para la identificación de ácidos grasos y fosfolípidos compuestos por acilos grasos saturados e insaturados de 16 a 24 carbonos de longitud. Posteriormente, se llevó a cabo un análisis quimiométrico, por medio de la generación de modelos individuales PLS-DA de los perfiles lipidómicos de *D. melanogaster* alimentado con SD y HSD para cada día de muestreo (0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14 días). A partir del 2º día de inducción con HSD, se observó la discriminación entre los grupos experimentales como consecuencia de alteraciones en el perfil lipidómico. En la Figura 4A se muestra el modelo de PLS-DA obtenido al 2º día de inducción, que corresponde al momento en donde se empezaron a observar el desarrollo de alteraciones metabólicas caracteristicas de un

fenotipo de obesidad con resistencia a la insulina.

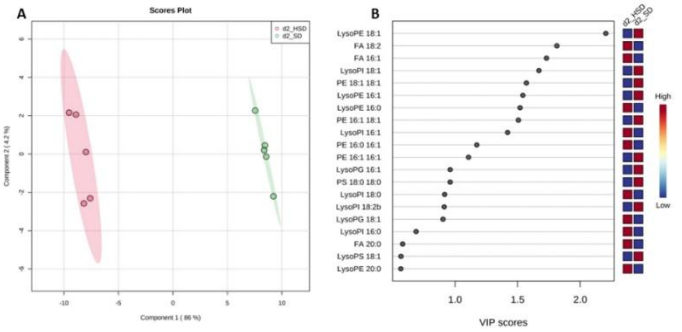
Figura 4. Efecto de una dieta rica en azúcares durante dos días sobre el perfil lipidómico en *D. melanogaster.* Los resultados corresponden a 5 réplicas biológicas (10 moscas por réplica) de cada grupo experimental. SD: dieta estándar; HSD: dieta alta en azúcares; VIP: Importancia en la Variable en la Proyección.

Se observa que el modelo explica una varianza total del 90.2%. Se realizó la validación del modelo, obteniendo un valor de R^2= 0.89482 y Q^2=0.89089 con dos componentes, así como una p<0.01 en la prueba de 100 permutaciones aleatorizadas, lo que indica que el modelo muestra una predictibilidad adecuada y bondad de ajuste.

A partir del modelo de PLS-DA, se obutvo el gráfico de VIP (Figura 4B), el cual muestra cuáles son los metabolitos que permitieron la discriminación observada (Figura 4A), es decir, los componentes del perfil lipidómico que más impactaron en el desarrollo de las alteraciones metabólicas observadas en el 2º día de inducción con HSD. Dicho análisis estadístico multivariado se realizó para cada muestreo con el fin de identificar los metabolitos discriminantes de mayor relevancia en el desarrollo del modelo de estudio con base en los siguientes criterios: VIP>1.5, cambio de veces >1.3 o <-1.3 y p<0.05.

Con base en lo anterior, se identificaron seis metabolitos discriminantes, correspondientes a tres ácidos grasos: FA 16:0, FA 16:1 y FA 18:1 y tres fosfatidiletanolaminas: LysoPE 16:1, LysoPE 18:1 y PE 16:0 16:1). En la Figura 5 se muestra el análisis longitudinal de la intensidad normalizada de dichos metabolitos en moscas alimentadas con SD y HSD.

Con respecto al FA 16:0 (ácido palmítico; Figura 5A), se observa una disminución ligera pero significativa (-1.09-veces, p<0.05) en el segundo día, a partir del cual aumenta alcanzando sus niveles máximos a los días 4 y 6 (1.68-1.79 veces, p<0.0001); sin embargo, a partir del día 8 y hasta el final del experimento, se observa una depleción en los niveles de este metabolito en ambos grupos



experimentales, pero se mantiene los niveles elevados en el grupo HSD en comparación con el grupo SD (1.75-2.17 veces, p<0.001).

Por otro lado, el FA 16:1 (ácido palmitoleico; Figura 5B) mostró un pico en el 2º día de inducción con HSD (3.98 veces, p<0.0001), manteniendo niveles altos en comparación con el grupo SD hasta el día 6 (2.02-3.77 veces, p<0.0001). Sin embargo, este ácido graso solo se observó alterado en la etapa temprana de la inducción con HSD, normalizándose a partir del 8º día y hasta el final del experimento.

El FA 18:1 (ácido oleico, Figura 5C) mostró un aumento significativo y progresivo en los días 2 a 6 de inducción con HSD (3.45-14.07 veces, p<0.001), alcanzando su máximo al día 6. De manera interesante, los niveles del ácido oleico disminuyeron significativamente con la inducción con HSD a los 8 y 10 días (-4.04 a -4.68 veces, p<0.0001), para posteriormente observarse similares a los del grupo SD.

Con respecto a las lisofosfatidiletanolaminas (LysoPE 16:1 y LysoPE 18:1), en el 2º día de la inducción con HSD se observó una disminución significativa (-2.37 y -4.34 veces, respectivamente; p<0.0001), tras lo cual se observó un aumento significativo hasta finalizar el experimento, mostrando el pico máximo al día 4 (Figuras 5D y 5E, respectivamente). Finalmente, la inducción con HSD conllevó a un aumento progresivo en los niveles de PE 16:0 16:1 en las etapas tempranas del modelo, obteniendo un pico máximo en el día 4 (3 veces, p<0.0001), tras lo cual los niveles de este fosfolípido

se normalizan en comparación con el grupo SD (Figura 5F)

Discusión y conclusiones

En este estudio, se planteó como hipótesis que el análisis lipidómico dirigido longitudinal permite la identificación de biomarcadores distintivos que permiten entender la transición de obesidad a resistencia a la insulina. *D. melanogaster* es un modelo de estudio de obesidad y resistencia a la insulina debido a que contine órganos, tejidos y genes análogos al mamífero con alta homología genética, por lo que desarrolla diversas alteraciones metabólicas de forma análoga a los seres humanos. Además, representa un modelo de bajo costo con tiempos de generación corto que facilita un análisis longitudinal (Álvarez *et al.,* 2018; Baenas &Wagner, 2022; Meshrif *et al.,* 2022).

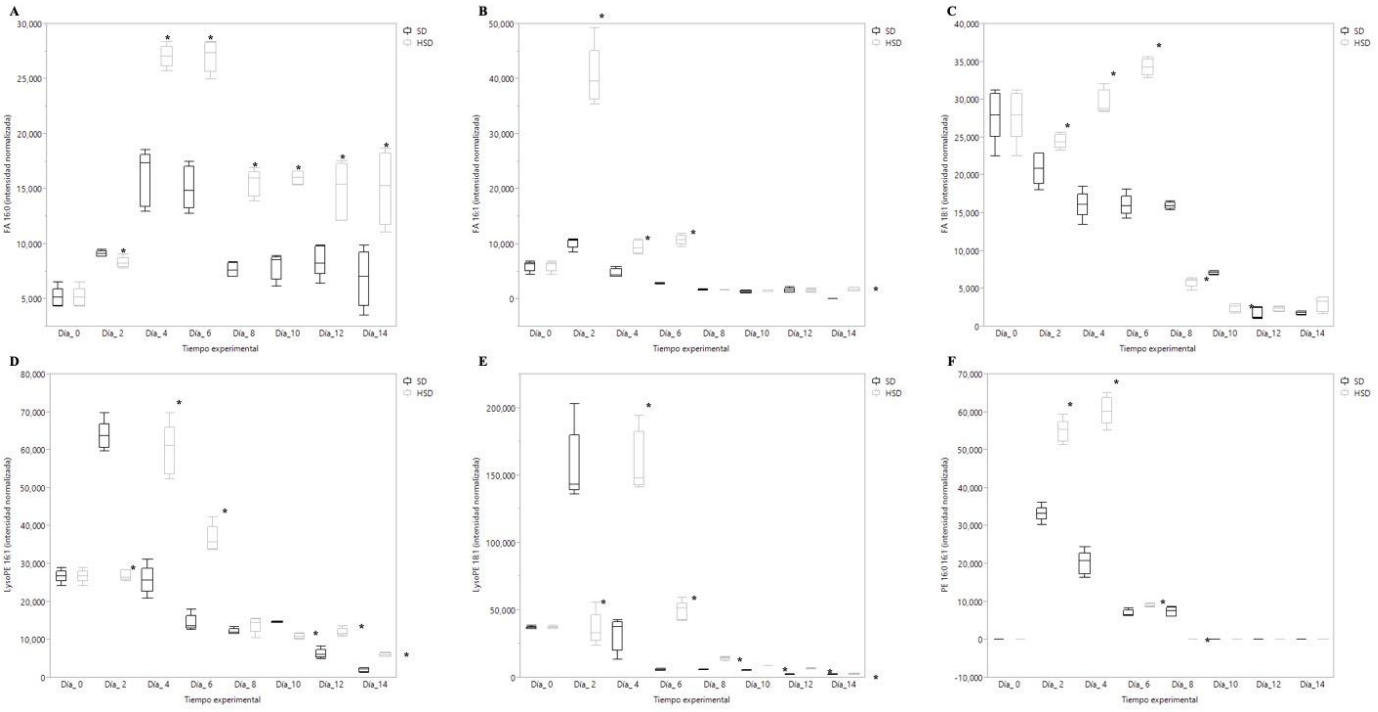


Figura 5. Efecto de una dieta rica en azúcares sobre los niveles de FA 16:0 (A), FA 16:1 (B), FA 18:1 (C), LysoPE 16:1 (D), LysoPE 18:1 (E) y PE 16:0 16:1 (E) en *D. melanogaster.* Los resultados son mostrados como la media de 5 réplicas biológicas (10 moscas por réplica) de cada grupo experimental. Las barras de error representan el rango intercuartil. *Indican diferencia significativa ($p<0.05$) por la prueba de Dunnet o Wilcoxon. SD: dieta estándar; HSD: dieta alta en azúcares; FA: ácido graso; PE: fosfatidiletanolamina.

En este proyecto se desarrolló un modelo de obesidad crónica en *D. melanogaster* empleando una dieta alta en azúcares como mecanismo de inducción. Cabe destacar que en modelos de *D. melanogaster*, la hipertrigliceridemia se utiliza como indicador metabólico de un estado de obesidad (Baenas & Wagner, 2022).

Tras realizar el análisis longitudinal integrado de todas las variables, se identificó que el modelo desarrollado en este estudio consta de tres fenotipos a lo largo del tiempo experimental que pueden ser extrapolados a los fenotipos observados en seres humanos: (i) obesidad (hipertrigliceridemia) + hiperglucemia + hiperinsulinemia a partir del 2º día de inducción con HSD; (ii) DMT2 en etapa temprana al 4º y 6º día de inducción con HSD; y (iii) DMT2 en etapa tardía del 8º al 14º día de inducción con HSD. La distinción entre estas últimas etapas recae en que, en el fenotipo i se observan características de un individuo con resistencia a la insulina asociada con la obesidad, en donde el páncreas aumenta la

producción de insulina para tratar de aumentar la tasa de internalización y metabolismo de la glucosa en tejidos insulino-dependientes; mientras que en el fenotipo ii observamos una hiperglucemia progresiva acompañada de una estabilización en la expresión de *Dilp2*, lo que sugiere que el páncreas ha llegado a su máxima capacidad de síntesis y secreción de insulina. Finalmente, en el fenotipo iii se observa una disminución importante en la expresión de *Dilp2*, lo que refleja una falla en la función pancreática, situación que se observa cuando un individuo con DMT2 se encuentra en las etapas más avanzadas de la enfermedad. Cabe destacar que el modelo desarrollado no permitió distinguir un estado únicamente de obesidad (hipertrigliceridemia), ya que se observó una alteración metabólica global a partir del 2º día de inducción con HSD.

A partir del análisis lipidómico longitudinal realizado en este estudio, se identificaron huellas metabólicas implicadas en los tres fenotipos descritos, las cuales permiten marcar la temporalidad cronológica en cada etapa de la enfermedad y que fueron caracterizadas por alteraciones en los niveles de ácidos grasos y fosfatidiletanolaminas de 16 y 18 carbonos de longitud.

Durante las primeras etapas de la inducción con HSD (días 2 al 6), el ácido palmítico y el ácido oleico permanecieron significativamente más altos en comparación con el grupo control (SD), indicando su implicación en el desarrollo de obesidad y resistencia a la insulina. Estudios anteriores han demostrado que el ácido palmítico promueve un estado de resistencia a la insulina, ya que productos derivados de su metabolismo, como diacilgliceroles y ceramidas, promueven un estado de lipotoxicidad que desencadena la activación de una respuesta inflamatoria y el desarrollo de estrés oxidativo (Korbecki & Bajdak, 2019; Li *et al.,* 2021).

Por otra parte, el ácido palmitoleico se ha asociado directamente con la sensibilidad a la insulina dependiente de la función de las células β pancreáticas y la tolerancia a la glucosa en individuos no diabéticos (Tricò *et al.,* 2019). Asimismo, Qureshi et al. (2019) demostraron su asociación con un mayor riesgo de desarrollar DMT2 en adultos.

De manera interesante, algunas LysoPEs, tales como 16:0, 18:1 y 18:2, han sido recientemente propuestas como marcadores séricos de adultos con obesidad metabólicamente no saludable, es decir, con alto riesgo aterogénico, lo cual fue asociado a una alta actividad de fosfolipasa A2, enzima encargada de la hidrólisis de las PE en LysoPE (Kim *et al.,* 2020). Asimismo, se ha identificado a la LysoPE 18:1 como un metabolito discriminante entre adultos con obesidad, hiperlipidemia y resistencia a la insulina en comparación con adultos sanos (Wang et al., 2016), siendo este un resultado similar al observado en nuestro modelo de estudio.

El aporte de estos resultados podría estar implicado en la explicación fisiopatológica de la relación metabólica entre obesidad, resistencia a la insulina y DMT2, siendo que los metabolitos discriminantes identificados en este estudio podrían fungir como indicadores del riesgo o predisposición a desarrollar resistencia a la insulina y DM2. No obstante, es necesario realizar más estudios que nos permitan interpretar y comprender las implicaciones metabólicas que tienen estos metabpolitos (FA y PE de 16 y 18 átomos de carbono saturados y monoinsaturados) en desarrollo y la progresión de la obesidad, resistencia a la insulina y DMT2.

Referencias bibliográficas

Álvarez-Rendón, J. P., Salceda, R., & Riesgo-Escovar, J. R. (2018). Drosophila melanogaster as a model for diabetes type 2 progression. BioMed Research International, 2018, 1417528. https://doi.org/10.1155/2018/1417528

Álvarez-Rodríguez, I. I., Castaño-Tostado, E., García-Gutiérrez, D. G., Reynoso-Camacho, R., Elton-Puente, J. E., Barajas-Pozos, A., & Pérez-Ramírez, I. F. (2020). Non-targeted metabolomic analysis reveals serum phospholipid alterations in

patients with early stages of diabetic foot ulcer. Biomarker Insights, 15, 1177271920954828. https://doi.org/10.1177/1177271920954828

American Diabetes Association. (2022). DIntroduction: Standards of Medical Care in Diabetes. https://doi.org/10.2337/dc22-SINT

Baenas, N., & Wagner, A. E. (2022). Drosophila melanogaster as a model organism for obesity and type-2 diabetes mellitus by applying high-sugar and high-fat diets. Biomolecules, 12, 307. https://doi.org/10.3390/biom12020307

Hosseinkhani, S., Aazami, H., Hashemi, E., Dehghanbanadaki, H., Adibi-Motlagh, B., & Razi, F. (2021). The trend in application of omics in type 2 diabetes researches; A bibliometric study. Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews, 15, 102250. https://doi.org/10.1016/j.dsx.2021.102250

Kim, M., Yoo, H. J., Ko, J., & Lee, J. H. (2020). Metabolically unhealthy overweight individuals have high lysophosphatide levels, phospholipase activity, and oxidative stress. Clinical Nutrition, 39, 1137-1145. https://doi.org/10.1016/j.clnu.2019.04.025

Korbecki, J., & Bajdak-Rusinek, K. (2019). The effect of palmitic acid on inflammatory response in macrophages: an overview of molecular mechanisms. Inflammation Research, 68, 915-932. https://doi.org/10.1007/s00011-019-01273-5

Li, J., Mao, Y. S., Chen, F., Xia, D. X., & Zhao, T. Q. (2021). Palmitic acid up regulates Gal-3 and induces insulin resistance in macrophages by mediating the balance between KLF4 and NF-κB. Experimental and Therapeutic Medicine, 22, 1-10. https://doi.org/10.3892/etm.2021.10460

Meshrif, W. S., El Husseiny, I. M., & Elbrense, H. (2022). Drosophila melanogaster as a low-cost and valuable model for studying type 2 diabetes. Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology. https://doi.org/10.1002/jez.2580

Ortega-Loubon, C., Fernández-Molina, M., Singh, G., & Correa, R. (2019). Obesity and its cardiovascular effects. Diabetes/Metabolism Research and Reviews, 35(4), e3135. https://doi.org/10.1002/dmrr.3135.

Palau-Rodriguez, M., Marco-Ramell, A., Casas-Agustench, P., Tulipani, S., Miñarro, A., Sanchez-Pla, A., Murri, M., Tinahones, F. J., & Andres-Lacueva, C. (2021). Visceral adipose tissue phospholipid signature of insulin sensitivity and obesity. Journal of Proteome Research, 20, 2410-2419. https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.0c00918

Qureshi, W., Santaren, I. D., Hanley, A. J., Watkins, S. M., Lorenzo, C., & Wagenknecht, L. E. (2019). Risk of diabetes associated with fatty acids in the de novo lipogenesis pathway is independent of insulin sensitivity and response: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). BMJ Open Diabetes Research and Care, 7, e000691. https://doi.org/10.1136/bmjdrc-2019-000691

Rovenko BM, Kubrak OI, Gospodaryov DV, Yurkevych IS, Sanz A, Lushchak OV, Lushchak VI. Restriction of glucose and fructose causes mild oxidative stress independently of mitochondrial activity and reactive oxygen species in Drosophila melanogaster. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol. 2015 Sep;187:27-39. doi: 10.1016/j.cbpa.2015.04.012. Epub 2015 May 2. PMID: 25941153.

Tennessen, J. M., Barry, W. E., Cox, J., & Thummel, C. S. (2014). Methods for studying metabolism in Drosophila. Methods (San Diego, Calif.), 68(1), 105–115. https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2014.02.034

Tricò, D., Mengozzi, A., Nesti, L., Hatunic, M., Gabriel Sanchez, R., Konrad, T., Lalić, K., Lalić, N. M., Mari, A., & Natali, A. (2020). Circulating palmitoleic acid is an independent determinant of

insulin sensitivity, beta cell function and glucose tolerance in non-diabetic individuals: A longitudinal analysis. Diabetologia, 63, 206-218. https://doi.org/10.1007/s00125-019-05013-6

Wang, Y., Liu, D., Li, Y., Guo, L., Cui, Y., Zhang, X., & Li, E. (2016). Metabolomic analysis of serum from obese adults with hyperlipemia by UHPLC-Q-TOF MS/MS. Biomedical Chromatography, 30, 48-54. https://doi.org/10.1002/bmc.3491

Wondmkun, Y. T. (2020). Obesity, insulin resistance, and type 2 diabetes: associations and therapeutic implications. Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy, 13, 3611. https://doi.org/10.2147/DMSO.S275898

Obtención y caracterización de celulosa de cáscaras de plátano (Musa × paradisiaca)

Autores: Flores Esparza Daniela[a], Ventura Puga Diana[a].

Asesores: Barrón García Oscar Yael[b], Curiel Ayala Fabiola[a], García Mier Lina[a], García Rodríguez Mario Enrique[b].

[a] Universidad del Valle de México, Campus Querétaro, Santa Rosa Jáuregui, 76230 Querétaro, Qro., México.

[b] Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Universidad Autónoma de México, Campus Juriquilla, 76230 Querétaro, Qro., México.

Datos de contacto:
Flores Esparza Daniela:
- Correo electrónico: dan.fesparza@gmail.com
- Teléfono: 7721456819

Ventura Puga Diana:
- Correo electrónico: dianapuga0000@gmail.com
- Teléfono: 4424864714

Resumen

El plátano tabasco (*Musa* × *paradisiaca*) es una fruta tropical procedente de la planta herbácea y pertenece a la familia de las musáceas. La cáscara de plátano está constituida de celulosa, un polímero conformado por moléculas de glucosa, la biomolécula orgánica más abundante en el mundo. Uno de sus usos principales es la fabricación de cartón, papel, fibras textiles y derivados de acetato. En este trabajo se obtuvo celulosa a partir de cáscara de plátano debido a su potencial aplicación para la producción de materiales biodegradables. Se utilizaron técnicas de pulpeo (hidrólisis) para su obtención, ayudando en el blanqueamiento de la muestra.

Palabras clave: plátano tabasco, celulosa, desechos orgánicos, FTIR, SEM.

Abstract

The Tabasco banana (*Musa* × *paradisiaca*) is a tropical fruit of the herbaceous plant and belon gs to the family Musaceae. The banana peel is made of cellulose, a polymer of glucose molecules, the most abundant organic biomolecule in the world.
One of its main uses is the production of cardboard , paper, textile fibers, and acetate derivatives.
In this work, cellulose was extracted from banana peels, as it can be used to produce biodegradable materials. For its extraction, digestion methods (hydrolysis) were used, which contributed to the blanching of the sample.

Keywords: Tabasco banana, banana peel, cellulose, organic waste, FTIR, SEM.

Introducción

Actualmente, la planta del plátano es una de las fuentes que generan más residuos es la industria agrícola, de ella provienen varias partes que no son utilizadas como raíces, tallos, hojas, cáscaras, etc. Los cultivos mayor generación de residuos son el plátano, arroz, café, entre otros, por no tener un correcto uso después de su cosecha. Estos residuos se descomponen y se adhieren al suelo utilizándose como abono o siendo eliminados para no interferir con las actividades agrícolas (Velasteguí et al., 2017).

Ciertamente el incorrecto aprovechamiento de la cáscara de plátano provoca la contaminación de suelos, aguas subterráneas, proliferación de bacterias y enfermedades por su descomposición abierta sin ningún control. Por lo tanto, se ha generado una problemática ambiental debido a que no son procesadas o recicladas por la falta de conocimientos sobre el tratamiento de este tipo de recursos orgánicos.

El plátano tabasco (*Musa* × *paradisiaca*) es una fruta tropical procedente de la planta herbácea que recibe el mismo nombre o banano, perteneciente a la familia de las musáceas. El principal subproducto del proceso industrial del plátano es la cáscara, la cual representa aproximadamente el 30% del peso del fruto, siendo que las aplicaciones potenciales para la cáscara dependen de su composición química (Blasco López & Gómez Montaño, 2014).

Las cáscaras de plátano son un residuo potencial que contiene celulosa y almidón, considerándolo como una alternativa para su utilización como materia prima para la producción de biomateriales. Además, es considerada rica en fibra dietética, proteínas, aminoácidos esenciales, ácidos grasos poliinsaturados y potasio. Debido a los esfuerzos para utilizar la cáscara se han obtenido proteínas, metanol, etanol, pectinas y enzimas (Velasteguí et al., 2017).

La cáscara de plátano maduro contiene otros compuestos como las antocianinas (delfinidina y cianidina) y catecolaminas, carotenoides, como el β-caroteno, α-caroteno y diferentes xantofilas, estas han sido cuantificadas en un rango de 300-400 μg de equivalentes de luteína/100g, así mismo se han identificado esteroles y triterpenos, como el β-sitoesterol, stigmasterol, campesterol, cicloeucalenol, cicloartenol y cicloartanol 24-metileno (Hernández Mestanza et al., 2019).

La cáscara de plátano maduro desechada contiene, en promedio, 21% de azúcares reductores, 7% de grasa, 11% de fibra cruda, 60% de extracto libre de nitrógeno en base seca (bs) y 86% de humedad, por lo que es clasificada como un material energético alto en humedad (Dormond et al., 2011).

La celulosa y hemicelulosa, contienen a intervalos regulares numerosos grupos $^{-}$OH que poseen gran afinidad con el agua, uniéndose por valencias polares y por puentes de hidrógeno. La asociación entre los grupos $^{-}$OH y el agua es tan fuerte) que aun cuando el papel este seco contiene una proporción de agua que no es fácil de eliminar (Marcano, 2011)

La naturaleza hidrofílica de las fibras celulósicas desempeña un papel importante, ya que el proceso de estructuración del papel ocurre en un medio acuoso, por lo que las fibras absorben agua y se dispersan fácilmente, cuando las fibras húmedas se unen durante el proceso de formación de la hoja, los enlaces se promueven por la atracción polar de las moléculas de agua con los grupos hidroxilo que cubren la superficie de la celulosa (Turrado et al., 2008).

Por consiguiente, el presente proyecto de investigación tiene como objetivo la utilización de residuos orgánicos de cáscara de plátano para la obtención de celulosa, con el propósito de obtener las caracterizarla, empleando técnicas fisicoquímicas como espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) y Microscópia Electrónica de Barrido (SEM).

Metodología y materiales

Las cáscaras de plátano fueron obtenidas de plátano cultivado en mayo del 2022 comprado en la central de abastos de la ciudad de Querétaro, Qro, México. La prepración de las las cáscaras de plátano inció por ser secadas al sol de 4 a 6 días, para la eliminación de contaminantes presentes en la muestra. Después, se realizó un lavado con agua destilada y posteriormente se agregó una solución de NaOH al 10% (p/v), con el fin de eliminar ceras, pectinas y resinas. Al ser retirados de la solución, se lavaron con agua destilada y se secaron en un horno de secado (Ecocell 222) a una temperatura de 60ºC durante 12 horas. La obtención de celulosa se realizó la técnica de pulpeo, que consta de cuatros pasos: 1. "Hidrólisis ácida suave" con H_2SO_4 al 0.4% por una hora, y un lavado posterior; 2. "Cloración" con NaClO al 3.5%, con agitación continua de la solución en un baño de maría a 30ºC, posterior se realizó un lavado; 3. "Extracción alcalina" con NaOH al 20% en agitación por 1 hora, después se realizó un proceso de lavado; 4. "Blanqueo" con una solución de NaClO al 0.5%, agitando continuamente por 1 hora y un lavado final hasta pH neutro. Posteriormente el material se colocó en una charola de aluminio por 1 día a temperatura ambiente y posteriormente en una estufa durante 24 horas a 60◦C. Posteriormente se desengrasó la materia obtenida por medio de una

extracción Soxhlet; se colocó inicialmente los capuchones en un horno a 50ºC hasta tener un peso constante. Se pesó 5 g de muestra y se colocó en el capuchón. Se montó el sistema Soxhlet, agregando 250 mL de hexano sobre la muestra, colocandolo en un plancha de calentamiento a 300ºC. Al terminar el solvente fue recuperado con un rotavapor, extrayendo el solvente, quedando únicamente el contenido graso junto con 2 mL de solvente, posteriormente se colocó en una campana de extracción para eliminar el resto del solvente. Finalmente se realizó un blanqueamiento a la muestra desengrasada, se realizó nuevamente la técnica de pulpeo pasando por la hidrólisis ácida suave, cloración y extracción alcalina, después se realizó un proceso de lavado y se secó a 60ºC durante 20 horas. Finalmente se macera para disminuir su tamaño.

Los métodos de caracterización que se realizaron fue espectroscopía de infrarrojo (FTIR) y Microscopía Electrónica de Barrido (SEM). La caracterización química de las muestras de celulosa se llevó a cabo utilizando la técnica de espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR). Se utilizó un Espectrómetro de infrarrojo FTIR Nicolet Magna ªProtege´ 460 en el modo de transmisión, con una resolución de 4 cm^{-1} y 24 barridos. La caracterización morfológica de las muestras de celulosa se llevó a cabo con la técnica de microscopía electrónica de barrido SEM modelo JSM-6060LV a alto vacío; Jeol, Tokio-Japón. Las muestras fueron fijadas en un portamuestras de aluminio con doble cinta de grafito y dorado por pulverización catódica. Para evitar daños a la muestra debido a los haces de energía, el análisis se realizó con el uso de un voltaje de aceleración de electrones de 1.0 kV. Las micrografías se tomaron a 200×.

Resultados y discusión

Los resultados presentados en la Tabla 1, corresponden al porcentaje de rendimiento obtenido durante el desarrollo, en cual tenemos una masa inicial de 263 g, esto previo al tratamiento y después del tratamiento nos quedamos con 241 g de los cuales, únicamente 20 g eran celulosa, lo que nos deja con un rendimiento muy cercano al 7.77%.

Durante el proceso de lavado con NaOH al 10% se observó un cambio de coloración y textura de las cáscaras previamente reducidas, causando por una despolimerización de la estructura compleja y amorfa de la lignina, facilitando la desagregación y separación de las células.

Al realizar la hidrólisis ácida suave con H_2SO_4 al 0.4%, se observó un mayor cambio de color y textura provocado posiblemente por la degradación de las estructuras de la hemicelulosa, a lo que se atribuye por la susceptibilidad de estas estructuras a los ácidos minerales.

El lavado NaClO al 3.5%, con agitación continua actúo como agente blanqueador, el cual retiró la lignina residual remanente en la fibra obtenida. Consecuente al lavado se prosiguió a realizar una extracción alcalina con NaOH al 20% para despolimerizar la lignina restante después de los lavados, de tal manera que se volvió a aplicar un blanqueo con una solución de NaClO al 0.5% para dar un blanqueado y eliminación de la lignina restante.



Figura 2. Materia obtenida del final de la técnica de pulpeo del método.

Peso inicial	263.31 g
Peso final (después del tratamiento)	20.46 g
Porcentaje de rendimiento	7.77%

Tabla 1. Rendimiento del proceso de obtención de celulosa a partir de la técnica del pulpeo.

El método de desengrasamiento usado fue por medio de extracción Soxhlet, fue óptima en el arrastre de grasas contenidos en la muestra, la evaporación del solvente realizada durante el proceso en conjunto con los 8 sifoneos permitieron un mejor arrastre únicamente de las grasas (Figura 3), la cuantificación de las grasas de la celulosa se realizó por medio de un rotavapor BUCHI R-100, en condiciones de 360 mBar, a 40ºC y a velocidad del 60%; La extracción del solvente permitió tener la materia grasa. El contenido de grasas de 5 g de celulosa obtenida por el método (Tabla 2) no superó el 50% de la masa total de la materia, esto no creó una modificación en la estructura de la materia, únicamente se eliminó la grasa que contenía.



Figura 3. Materia obtenida después del desengrasamiento por extracción Soxhlet.



Figura 4. Contenido graso de la celulosa, extraído por Soxhlet.

Peso inicial	5.0000 g
Peso final (después del tratamiento)	4.1797g
Peso de la materia grasa	0.8203 g
Porcentaje de grasas en la materia	16.406%

Tabla 2. Obtención de del desengrasado (Soxhlet).

La coloración inicial de la materia (Figura 2) se adquiere por el proceso oxidativo que adquiere la cáscara durante el secado a temperatura ambiente y con la aplicación de la técnica del pulpeo, se obtuvo una disminución en la coloración de éste, pasando de un color café a uno blanquecino en la muestra previamente desengrasada. El cambio en el estado físico de la celulosa cambió de un estado fibroso a polarizado (Figura 5).



Figura 5. Materia blanqueada.

Peso inicial	1.0000 g
Peso final (después del tratamiento)	0.2044 g
Rendimiento del método	20.44%

Tabla No. 3. Resultados del blanqueamiento.

La muestra obtenida fue sometida al análisis de FTIR (Figura 6) y se comparó con la muestra de referencia Avicel®. En la Figura 6 se observa que la celulosa de referencia a comparación del material obtenido al final del método del pulpeo, desengrasamiento y del blanqueamiento. El FT-IR de la celulosa referencia mostró una banda ancha característica de los grupos OH en la región de los 3.300 cm^{-1}, otra banda debida al estrechamiento C-H alrededor de los 2.900 cm^{-1} y vibraciones observadas cerca de los 1.640 cm^{-1} relacionadas con hemicelulosa y pectinas presentes, que al compararlas con el espectro IR de la celulosa extraída de los residuos de cáscara de plátano (Figura 2) coinciden en forma significativa. De igual manera en la Figura 6, se observó la presencia de otros grupos funcionales como: anhidros, aminas, amidas, cetonas, aldehídos, alquilos, alquenos, ésteres, sulfonas, sulfanatos, óxidos de osfina, etc., demostrando que la banda a 3341 cm^{-1} corresponde a las vibraciones de estiramiento característicos de los grupos O-H, la intensidad de

la banda a 2918 cm^{-1} se le atribuye a las vibraciones de estiramiento de los enlaces C-H, el pico a 1732 cm^{-1} se relaciona con los enlaces *C = O* de cetonas no conjugadas presentes en la hemicelulosa (Morán et al., 2008; Afanas'ev et al., 2007; Pandey, 1999), logrando identificar bandas cercanas a 3270 cm^{-1} y 710 cm^{-1} correspondientes a contribuciones de celulosa I_β como señalan Boisset et al., 1999 y Lu & Hsieh, 2010, estas bandas pertenecen al estiramiento del enlace O-H y a las flexiones fuera del plano.

En comparación con el FT-IR de la muestra la cual fue desengrasada en el número de onda 2892 cm^{-1} (grupo CH) disminuyó el porcentaje de transmitancia, así mismo en la onda 2356 cm^{-1}, 1632 cm^{-1} y 1429 cm^{-1} desaparece, mientras que la onda de 1022 cm^{-1} disminuyó en el porcentaje de transmitancia en comparación a la celulosa de referencia. Con esta técnica se obtuvo un 8.46% de celulosa en base seca, que al compararlos con los resultados obtenidos de Canché-Escamilla et al., 2005 y Bautista & Honorato, 2020 quienes obtuvieron un rendimiento entre el 19 al 27% en celulosa extraída de madera nos indica que el método empleado a pesar de permitir la obtención de celulosa no es el más adecuado, por lo que, se propone ajustar las concentraciones de las solución de la técnica del pulpeo.

Al someter la celulosa al tratamiento de blanqueamiento se observó una banda a 1428 cm^{-1} y a 879 cm^{-1} que en comparación a las demás estas se extendieron en el porcentaje de transmitancia, mientras que la banda que corresponde a las contribuciones de celulosa I_β se mostró una disminución en la transmitancia, lo cual fue por la cantidad de muestra que se usó al realizar la prueba.

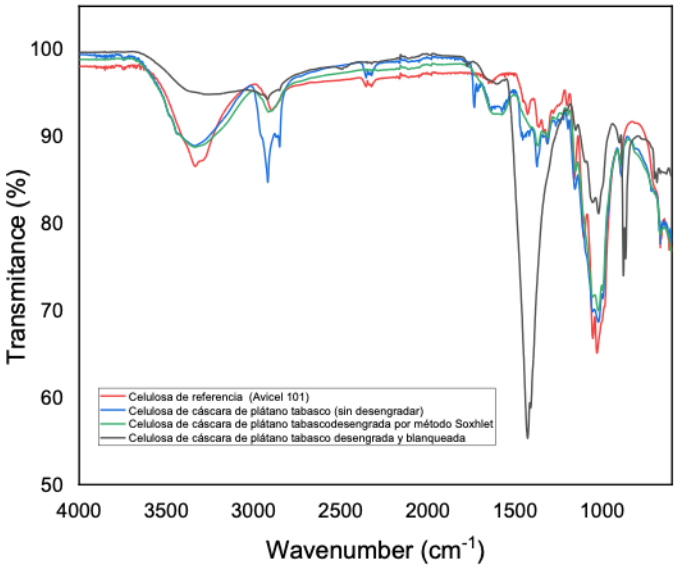


Figura 6. FTIR-ATR corrida de la muestra de celulosa durante el proceso de obtención, desengrasamiento y blanqueamiento.

En la figura 7a se muestra la celulosa de referencia (Avicel 101), los microcristales de celulosa de la referencia se muestra que la morfología de estos son irregulares y con pliegues, observandose a 200x. La celulosa después del pulpeo, se observó que es fibrosa y con pliegues, la cual en la apariencia física esta es fibrosa (hebras), en comparación a la celulosa con el tratamiento de blanqueo tiene un aspecto más fino (polvo), mientras que la figura 7c se puede ver que a comparación de la morfología entre la referencia y la celulosa sin tratamiento, la cual no es similar a ésta, la celulosa de referencia y la blanqueada tiene mayor similitud morfológica en ellas, sin embargo el tamaño varía. En las estructuras obtenidas por el método de blanqueo se esperaba tener una morfología fibrosa, donde las muestras presentaron una morfología de partículas fibrosas con forma irregular semejante a la estructura de la celulosa microcristalina comercial (Viloria et al., 2014).

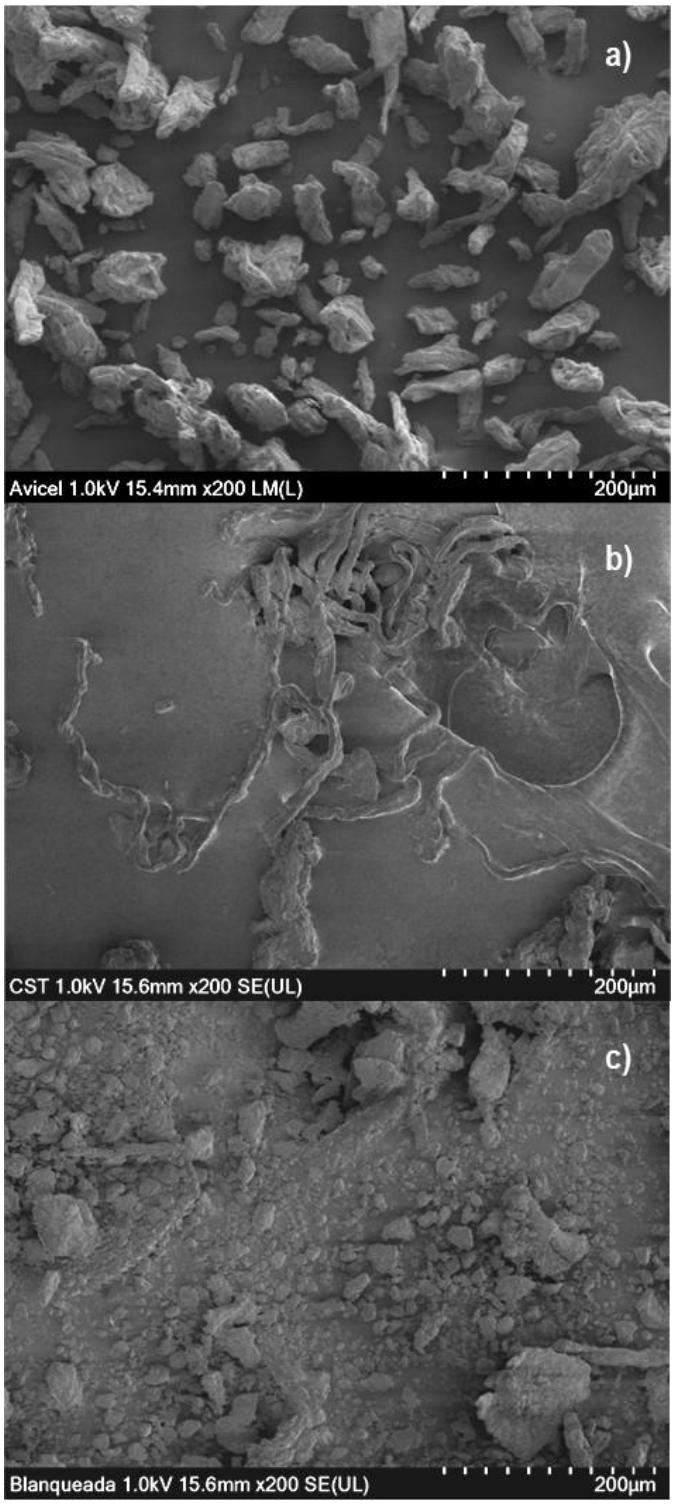


Figura 7. Micrografía SEM de celulosa de cáscara de plátano con tratamiento de blanqueo al 200x a) celulosa Avicel, b) celulosa de cáscara de plátano sin tratamiento y c) celulosa de cácara de plátano blanqueada.

Conclusión

El aprovechamiento de los desechos agroindustriales del banano *Musa* × *paradisiaca* es perfectamente viable para la producción de celulosa, mediante un tratamiento químico de doble hidrólisis ácida. En este trabajo, se obtuvo celulosa a partir de las cáscaras de plátano, comparando y caracterizando el producto para un consecuente aprovechamiento en el desarrollo de materiales biodegradables. Se obtuvo un rendimiento de 7.77% de celulosa a partir de 263.31g de cáscaras de plátano, permitiéndonos identificar que los estadios de maduración no aptas para la obtención de celulosa son cuando el fruto tiene las cáscaras verdes y amarillas, siendo que las más aptas con un mayor contenido de celulosa son las que se encuentran oxidadas o muy maduras (negras). De igual manera, el producto obtenido además de contener celulosa, incluye un porcentaje de contaminación adicional de otras materias orgánicas como: anhidros, aminas, amidas, cetonas, aldehídos, alquilos, alquenos, ésteres, sulfuros, sulfanatos, óxidos de osfina, entre otros. Haciendo la comparación analítica mediante FTIR de la muestra obtenida con la muestra de referencia se observaron la presencia de picos similares, indicando la presencia de celulosa en la cáscara de plátano.

Referencias

Afanas'ev, N. I., Prokshin, G. F., Lichutina, T. F., Gusakova, M. A., Vishnyakova, A. P., Sukhov, D. A., & Derkacheva, O. Yu. (2007). Effect of residual lignin on the supramolecular structure of sulfate hardwood cellulose: A Fourier IR study. *Russian Journal of Applied Chemistry*, *80*(10), 1724–1727. https://doi.org/10.1134/S1070427207100254

Bautista Hernández, R., & Honorato Salazar, J. A. (2020). Composición química de la madera de cuatro especies

del género Quercus. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, *30*(98), 25–49.

Blasco López, G., & Gómez Montaño, F. J. (2014). Functional properties of banana (Musa sp). *Rev Med UV*, *14*(2), 22–26.

BOISSET, C., CHANZY, H., HENRISSAT, B., LAMED, R., SHOHAM, Y., & BAYER, E. A. (1999). Digestion of crystalline cellulose substrates by the Clostridium thermocellum cellulosome: structural and morphological aspects. *Biochemical Journal*, *340*(3), 829–835. https://doi.org/10.1042/bj3400829

Canché-Escamilla, G., de los Santos-Hernández, J. M., Andrade-Canto, S., & Gómez-Cruz, R. (2005). Obtención de Celulosa a Partir de los Desechos Agrícolas del Banano. *Información Tecnológica*, *16*(1), 83–88. https://doi.org/10.4067/S0718-07642005000100012

Dormond, H., Rojas, A., Boschini, C., Mora, G., & Sibaja, G. (2011). Preliminary assessment of ripe banana peel silage material in combination with grass Grass King. *InterSedes: Revista de Las Sedes Regionale*, *12*(23), 17–31.

Hernández Mestanza, L. M., Majano Abrego, G. E., & Mira Martínez, E. A. (2019). *ELABORACIÓN DE UN MATERIAL BIOSORBENTE A PARTIR DE LA CÁSCARA DE PLÁTANO (Musa sp.) PARA SER UTILIZADO EN LA REMOCIÓN DE CROMO VI PROVENIENTE DE LAS AGUAS RESIDUALES DE LA INDUSTRIA DE CURTIEMBRE*. Universidad De El Salvador.

Lu, P., & Hsieh, Y.-L. (2010). Preparation and properties of cellulose nanocrystals: Rods, spheres, and network. *Carbohydrate Polymers*, *82*(2), 329–336. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.04.073

Marcano, D. (2011). *La química de los alimentos*. *1*, 57–59.

Morán, J. I., Alvarez, V. A., Cyras, V. P., & Vázquez, A. (2008). Extraction of cellulose and preparation of nanocellulose from sisal fibers. *Cellulose*, *15*(1), 149–159. https://doi.org/10.1007/s10570-007-9145-9

Pandey, K. K. (1999). A study of chemical structure of soft and hardwood and wood polymers by FTIR spectroscopy. *Journal of Applied Polymer Science*, *71*(12), 1969–1975. https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4628(19990321)71:12<1969::AID-APP6>3.0.CO;2-D

Turrado, J., Saucedo, A. R., Ramos, J., & Reynoso, M. L. (2008). Comportamiento de la Fibra de Celulosa Reciclada en el Proceso de Hidratación. *Información Tecnológica*, *19*(5), 129–136. https://doi.org/10.4067/S0718-07642008000500014

Velasteguí, A., Borja Arévalo, A., & Triviño-Bloisse, S. Y. (2017). Analysis on the use of banana waste, as raw material for the production of biodegradable plastic materials. *Dominio de La Ciencias*, *3*(2).

Viloria R, P., Marfisi, S., Rondón O, P., Gáscue R, B., & Peña, G. (2014). Obtención de celulosa microcristalina a partir de desechos agrícolas del cambur (musa sapientum). Síntesis de celulosa microcristalina. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, *15*(6), 286–300.

Efecto del DEP en la locomoción y mielogénesis del pez cebra

María Guadalupe García Martínez[1]*, Iván Lazcano Sánchez[2], Juan Carlos Solís Sainz[1], Hebert Luis Hernández Montiel[3], Aurea Orozco Rivas[2], Ana Gabriela Hernández Puga[1]*.

[1] Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Querétaro
[2] Instituto de Neurobiología, UNAM-Campus Juriquilla
[3] Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro

* mariagpegarcia224@gmail.com (MGGM); juyastick@gmail.com (AGHP)

Resumen

El dietil ftalato (DEP) es un disruptor endócrino que altera los sistemas endocrinos en humanos y animales; es común encontrarlo en productos como maquillaje, cremas, jabones, biberones, comida, entre otros. Estudios previos han demostrado que el DEP afecta el sistema nervioso durante la gestación, contribuyendo a ser un factor para el desarrollo de patologías neuroendocrinas como la depresión y la demencia, y su efecto sobre el proceso de mielinización y de locomoción no ha sido estudiado, por lo que es importante evaluar los peligros asociados a su exposición. Por lo anterior, el objetivo de la presente tesis fue determinar el efecto del DEP sobre la locomoción y mielinización en el modelo embrionario de pez cebra (*Danio rerio*). Se emplearon embriones de pez cebra que fueron tratados con concentraciones de 50, 500, 5000, 25 000 µg/L durante 120 hpf, y se evaluó su efecto sobre la locomoción, el contenido de mielina y la expresión de genes asociados a la mielinización. Los resultados muestran que el tratamiento con DEP induce una alteración en la locomoción utilizando el sistema a blanco-negro y en la evaluación de la respuesta evocada al tacto. En esta última prueba encontramos que las larvas tratadas con la dosis máxima 25 000 µg/L aumentan el tiempo de reacción y la velocidad disminuía. Adicionalmente se encontró una disminución de la intensidad de las fibras de mielina teñidas con Black Gold II en las larvas tratadas con 500, 5000 y 25,000 µg/L de DEP. Asimismo, la expresión de *mbp* disminuyó en todos los tratamientos con DEP. En conjunto, los resultados obtenidos muestran que la exposición a dosis elevadas de DEP disminuye la formación de mielina en las larvas de pez cebra, repercutiendo en su locomoción.

Palabras clave: disruptor endócrino, dietil ftalato, mielina, pez cebra.

Abstract

Diethyl phthalate (DEP) is an endocrine disruptor that disrupts endocrine systems in humans and animals; It is common to find it in products such as makeup, creams, soaps, baby bottles, food, among others. Previous studies have shown that DEP affects the nervous system during pregnancy, contributing to the development of neuroendocrine pathologies such as depression and dementia, and its effect on the myelination and locomotion processes has not been studied, for so it is important to assess the hazards associated with their exposure. Therefore, the objective of this thesis was to determine the effect of DEP on locomotion and myelination in the embryonic model of zebrafish (Danio rerio). Zebrafish embryos were used that were treated with concentrations of 50, 500, 5000, 25 000 µg/L for 120 hpf, and their effect on locomotion, myelin content and the expression of genes associated with myelination were evaluated. The results show that DEP treatment induces an alteration in locomotion using the black-white system and in the evaluation of the evoked response to touch. In this last test we found that the larvae treated with the maximum dose of 25,000 µg/L

increased the reaction time and the speed decreased. Additionally, a decrease in the intensity of myelin fibers stained with Black Gold II was found in larvae treated with 500, 5000 and 25,000 µg/L of DEP. Likewise, the expression of mbp decreased in all treatments with DEP. Taken together, the results obtained show that exposure to high doses of DEP decreases myelin formation in zebrafish larvae, affecting their locomotion.

Keywords: endocrine disruptor, diethyl phthalate, myelin, zebrafish.

Introducción

El dietil ftalato (DEP) es un compuesto que altera el equilibrio hormonal debido a su capacidad de unirse a receptores hormonales, por lo que se le reconoce como un perturbador endócrino. Las vías de exposición al DEP en los humanos son transdérmica, por inhalación e ingestión y puede una vez metabolizado ser acumulado en diferentes órganos y tejidos. Esta acumulación produce toxicidad, la cual varía en intensidad de acuerdo con la etapa de vida de los organismos, dosis y tiempo de exposición (Gore *et al.,* 2015). El DEP es empleado principalmente para proporcionar flexibilidad a los plásticos por lo que se encuentra en diversos productos de consumo y uso diario como pinturas, juguetes, envases de comida; fármacos, cepillos de dientes, shampoos y perfumes (ATSDR, 1995; You *et al.,* 2018; García *et al.*, 2018). Los niveles de ftalatos en orina han sido relacionados con alteraciones conductuales como problemas de conducta, aumento de ansiedad y TDAH (Engel *et al.,* 2010). Por otro lado, estudios moleculares han mostrado que el tratamiento con DEP induce un aumento en la expresión de la proteína básica de la mielina en embriones de pez cebra, generando alteraciones en la síntesis de mielina y repercutiendo a nivel neurológico (Xu *et al.,* 2013). Sin embargo, aún se desconoce si el DEP podría afectar la mielinización neuronal y a su vez impactar en procesos conductuales. Por lo que en el presente estudio se determinaron los efectos del DEP sobre la locomoción y mielinización en un modelo de pez cebra.

Antecedentes

Dietil ftalato (DEP)

El dietil ftalato (DEP), es un éster de ácido ftálico, de estado líquido ligeramente color amarillo, perteneciente a la familia de los disruptores endocrinos (DE), compuestos que alteran los sistemas endocrinos. El DEP es empleado principalmente para proporcionar flexibilidad a los plásticos y se encuentra en diversos productos como maquillaje, juguetes, envases de comida; muebles; fármacos; cepillos de dientes; shampoos; talcos; perfumes; tortillas de maíz; entre otros (ATSDR, 1995; You *et al.,* 2018; García *et al.,* 2018). El DEP no está unido por enlaces covalentes al plástico, su unión de ambos es débil y puede liberarse a temperaturas moderadamente altas o a una disminución de pH (ligeramente ácido) (National Research Council, 2008). El humano y los animales se encuentran expuestos al DEP a través de la inhalación, ingestión y absorción dérmica (ATSDR, 1995).

Los ftalatos inducen distintas alteraciones en el sistema nervioso con implicaciones funcionales relevantes. En un estudio realizado por Tseng y col. (2013) se encontró que el tratamiento con los ftalatos DEHP, DBP y DIBP modifican la concentración de especies reactivas de oxígeno como iones de oxígeno y peróxido en las neuronas, provocando neurotoxicidad y alteraciones en el sistema locomotor de *Caenorhabditis elegans*. En un modelo experimental empleando embriones de pez cebra que fueron expuestos a dosis de 5, 50 y 500 µg/L de DEP, se encontró que la dosis más alta de DEP aumento la expresión de *mbp (por sus siglas en inglés, proteína básica de mielina),* la cual

es una proteína estructural de la vaina de mielina que rodea los axones de las neuronas e indujo la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa causando neurotoxicidad en los embriones (Xu *et al.*, 2013). En un estudio realizado por Engel *et al.*, (2010) se determinó la concentración de los ftalatos MEP, MiBP, MBP y MMP en orina de madres embarazadas y de sus hijos desde el nacimiento y hasta la edad de 9 años, y se encontró que existía una asociación positiva entre la concentración de ftalatos y un mayor número de niños con diagnóstico con TDAH y ansiedad.

Mielinización

Los oligodendrocitos sintetizan la mielina que recubre los axones neuronales en SNC. (Snell, 2007). Esta oligodendrogénesis comienza en la etapa embrionaria con la formación de la capa germinativa ectodermo, la cual da origen a una placa denominada notocorda en donde se sintetiza la proteína SHH (*por sus siglas en inglés, sonic hedgehog)* para iniciar con la neurogénesis. La expresión de SHH induce la formación del dominio de precursores de neuronas motoras (pMN), que genera a las células progenitoras neurales (NPC) (Rojas *et al.*, 2014; Kuhn *et al.*, 2019) y a las células progenitoras de oligodendrocitos de tipo 2 de astrocitos (O-2A). A su vez, las células O-2A, maduran hacia células precursoras de oligodendrocitos (OPCs), que expresan marcadores específicos como Olig2, Olig1 y SOX10, los cuales son esenciales para la diferenciación celular (Barateiro *et al.*, 2016). La proliferación de OPCs se determina por tres oleadas posterior al cierre del tubo neural en todos los vertebrados: *1*) la primera oleada genera OPCs en prosencéfalo; *2*) la segunda oleada inicia en la zona dorsal y genera OPCs; *3*) la tercera oleada inicia en zonas de la corteza durante etapas postnatales (Kuhn *et al.*, 2019; Barateiro *et al.*, 2016). Las OPCs que están en proscencefalo y zona dorsal comienzan a expresar diferentes mitógenos, los cuales promueven un aumento de la proliferación celular. (Kuhn *et al.*, 2019).

Posteriormente las OPCs migran desde el dominio pMN a otras partes del encéfalo (Barateiro *et al.*, 2016) a través de señalización de morfógenos las cuales actúan como mediadoras cerebrales iniciando con actividad reguladora para la migración (Baumann, 2001; Ackerman *et al*., 2016). Después de que las OPC´s migran y se instalan en las áreas destinadas, inicia la segunda proliferación celular por señales provenientes de astrocitos y neuronas, tales como PDGF (*por sus siglas en inglés, factor de crecimiento derivado de plaquetas*) |0(Kuhn *et al.*, 2019). Una vez concluida la oleada de proliferación, las OPC maduran hacia oligodendrocitos premielinizantes (OL-premielinizantes) (Ackerman *et al.*, 2015). La maduración hacia OL-premielinizante es influenciada por señales de otras células como astrocitos y la actividad neuronal, las cuales ayudan a determinar el número determinado de axones por mielinizar (Farsetti *et al.*, 1992; Baumann, 2001). Posterior los OLs se extienden y retraen hacia los axones neuronales a través de su citoesqueleto, para asentarse en su posición final y dar comienzo a la formación de mielina. Los OL maduros se caracterizan por sintetizar proteínas estructurales de la vaina de mielina: mbp, proteína de proteolípidos (plp), proteína asociada a glucoproteína (mag) y glicoproteína de la mielina de oligodendrocitos (mog) además de expresar el factor regulador del gen de mielina (mrf) (Barateiro *et al.*, 2016).

Además, de las proteínas antes mencionadas, las hormonas participan de manera directa en el proceso de génesis de las células mielinizantes, sin embargo, a pesar de que la mayoría de los procesos por los cuales intervienen no son del todo conocidos, estudios recientes mencionan que varias hormonas juegan un rol importante en este proceso ya que si estas se inhiben o disminuyen el proceso

se ve afectado. Algunas de las hormonas que participan en la oligodendrogénesis son: 1) cortisol, aumenta la diferenciación, maduración, supervivencia y mielinización, a través de la fosforilación de la proteína SGK1 (kinasa 1 de glucocorticoides), la cual a su vez fosforila a NDRG1 y ambos aumentan la expresión de N-cadherina y α/β catenina, manteniendo la estabilización y unión del axón con los OL promoviendo la mielinización; 2) 17β-estradiol, aumenta la proliferación de las NPC a OPC, aumenta la diferenciación y disminuye la salida de las OPC del ciclo celular aumentando así la proliferación, además, aumenta la síntesis de actina para conferir mayor estabilidad a la vaina de mielina; 3) andrógenos, aumentan la diferenciación de los OL; 4) hormonas tiroideas, participan en la regulación de la proliferación, diferenciación y mielinización de los OL y la muerte de las células oligodendocriticas, y su inhibición disminuye la proliferación de los OL (Long *et al.,* 2021).

Composición de la mielina

La mielina se caracteriza por tener una composición en SNC 70% de lípidos y un 30% de proteínas. Entre las proteínas más abundantes se encuentran la MBP, PLP y P0, mientras que las de menor abundancia CNP, MAG, P2 y PMP-22 (Harry *et al*., 1998). Las tres primeras proteínas se encuentran altamente conservadas en humano y pez cebra. Su estudio permite comprender el proceso de mielinización y el rol de factores que pueden afectar su estabilidad y funcionalidad, y favorecer el desarrollo de patologías asociadas a procesos de desmielinización.

En la actualidad existe un elevado uso de productos y comida que contienen DEP. La presencia de DEP y sus metabolitos se ha detectado en diferentes fluidos biológicos en humanos. Asimismo, el DEP posee la capacidad de alterar la homeostasis hormonal y se ha relacionado a la presencia de enfermedades de índole neurológico, siendo la glía uno de los posibles blancos de afectación. El desarrollo de los oligodendrocitos en etapas embrionarias puede afectarse por el DEP que pudiese alterar la formación de mielina y repercutir negativamente en la transmisión del impulso nervioso. Por lo anterior, como un primer acercamiento para comprender los efectos del DEP en sistema nervioso, en el presente trabajo nos planteamos evaluar si el DEP podría alterar la formación de mielina, empleando el modelo experimental de pez cebra (*Danio rerio)*.

Metodología

Para la obtención de embriones de pez cebra, se colocaron peces adultos (un macho y dos hembras) en cajas de reproducción durante toda la noche divididos por un separador en cada caja. Al día siguiente se removió el separador y se dejaron juntos para la reproducción por un tiempo de 20-25 min. Una vez que los embriones fueron expulsados de la hembra fueron agrupados en cajas Petri (n = 25 grupo) con medio de cultivo embrionario (ME) y fueron incubados a 28°C durante 120 h, en presencia o ausencia de DEP (50; 500; 5000; 25,000 µg/L). Las dosis empleadas de DEP equivalen a aquellas administradas en estudios previos (Xu 0063 *et al.,* 2013) y/o concentraciones reportadas en sangre y orina de humano (García *et al.,* 2018). El tratamiento fue administrado por inmersión durante cinco días (120 h) con recambio de medio cada 24 h (**Figura 1**).

Evaluación de la locomoción

Al término de la exposición con DEP, se evaluó la locomoción de las larvas mediante un sistema de imagen blanco y negro automatizado.

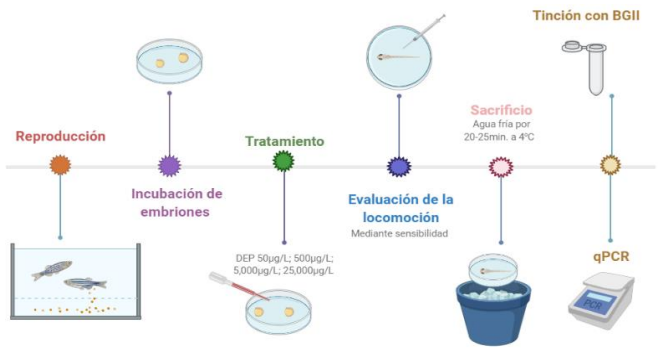


Figura 1. Metodología. Diagrama de flujo del protocolo de experimentación, el cual inicia con la reproducción de los peces hasta obtener los embriones, pasan a ser incubados con los tratamientos con DEP hasta llegar a las 120 hpf. Posteriormente se evalúa la capacidad de locomoción y se sacrifican para analizar el contenido de mielina (BGII) y la cuantificación de genes implicados en la mielogénesis (qPCR).

El fundamento de este sistema es evaluar la movilidad locomotora de las larvas simulando la corriente de los lagos o ríos. El sistema consistió en una imagen con barras negras y blancas intercaladas de forma horizontal que se proyectaban en formato de video creando un movimiento de las líneas. Las cajas Petri con las larvas fueron colocadas sobre el video. (**Figura 2**). Se tomaron fotografías para determinar la posición de las larvas y se registraron por cuadrantes superior e inferior. Dicho proceso se realizó en cuatro ocasiones (Creton, 2009).



Figura 2. Imagen del sistema de imagen blanco y negro. Las cajas Petri que contenían a las larvas fueron posicionadas sobre la imagen en movimiento de barras alternadas de color blanco y negro.

Adicionalmente, se empleó el sistema de locomoción mediante respuesta evocada por el tacto, el cual se fundamenta en la evaluación de la respuesta o movimiento de las larvas provocado por un estímulo externo, el cual se caracteriza por simular una amenaza a la larva, la cual consiste en proporcionar un pequeño toque (en este experimento se realizó con una aguja de insulina) en el tronco de la larva y determinar su reacción en locomoción. Se midió el tiempo de reacción de la larva inmediatamente después del estímulo, la distancia recorrida por la larva después de su respuesta, y la velocidad después del estímulo externo hasta los 0.20 cm como distancia establecida (Sztal, *et al.*, 2016). Los movimientos de las larvas fueron monitoreados a través de una cámara de video durante todo el experimento y los videos obtenidos fueron procesados en el programa Kinovea (versión 0.9.5).

Sacrificio

Una vez concluidas las evaluaciones conductuales se realizó el sacrificio de las larvas mediante frío, durante 25-30 min hasta verificar que su corazón se detuvo, esto mediante microscopia. La manipulación de los animales se realizó de acuerdo a las guías nacionales e internacionales para el uso de animales de laboratorio. El protocolo fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Querétaro (No. de registro 12468).

Tinción de la mielina en el pez cebra

Las larvas fueron divididas en dos grupos para destinarlos a tinción con Black Gold II (BGII) y determinación de la expresión génica (n=12/grupo). El BGII es un aurohalofosfato en polvo color amarillo que se utiliza para marcar fibras de mielina tiñéndola de color violeta. Para esta tinción de las fibras de mielina en el pez cebra se empleó la técnica de BGII en una preparación del animal completo o “whole-mount”. Las fotografías fueron analizadas con el algoritmo de edición de imágenes de Matlab.

Determinación de la expresión *sox10, mbp, plp, p0*

Para determinar el efecto del tratamiento con DEP en la expresión de genes relacionados al proceso de

mielinización, se extrajo el RNA total de las larvas a las 120 hpf mediante el método del TRIzol y las secuencias de interés fueron amplificadas (Laboratorio de Receptores Nucleares y Neurobiología, UNAM Campus Juriquilla). Los resultados obtenidos se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) de una vía acoplado a una prueba post-hoc de Tukey para determinar diferencias entre tratamientos y controles utilizando el programa GraphPad Prism 7.

Resultados

Evaluación de la locomoción

Al emplear el sistema de imagen blanco y negro se encontró que la mayoría de las larvas tratadas realizan el primer desplazamiento hacia abajo; sin embargo, los siguientes movimientos de desplazamiento ya no son comparables con los controles (**Figura 3**).

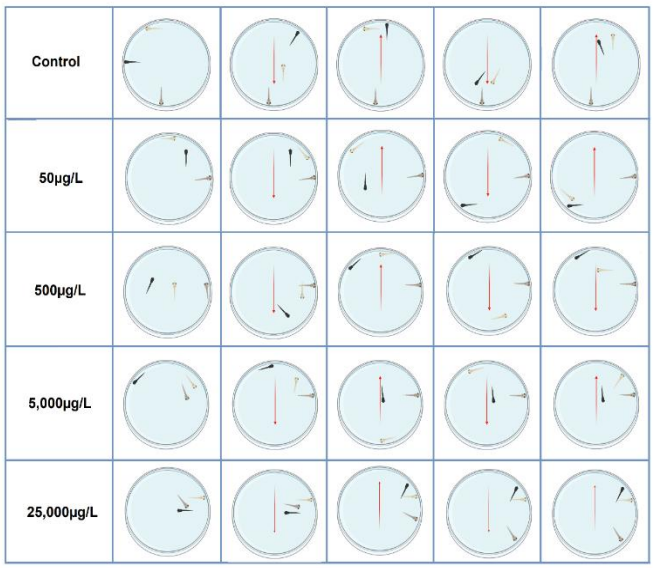


Figura 3. Evaluación de la locomoción mediante el sistema a blanco y negro. Se muestran las ilustraciones del desplazamiento hacia abajo y hacia arriba de las larvas controles y tratadas con DEP (n=3). La primera columna muestra la posición de las larvas antes de la evaluación y después de su adaptación al nuevo ambiente de la imagen. La segunda y cuarta columna muestran el desplazamiento hacia abajo; mientras que la tercera y quinta columna muestran el desplazamiento hacia arriba.

En el sistema de respuesta a un estímulo de sensibilidad proporcionado por un agente externo, se midió la distancia recorrida, el tiempo de reacción de las larvas y el tiempo para recorrer una distancia proporcionada (0.20 cm) una vez que las larvas fueron expuestas al estímulo externo. Los datos del análisis de la distancia recorrida de las larvas no mostraron diferencias significativas entre los grupos (**Figura 4**), sin embargo, el tiempo de reacción aumento en el grupo tratado con 25,000 µg/L DEP (***$p<0.0004$), es decir, las larvas con el tratamiento más agudo reaccionaron al estímulo externo de manera tardía en comparación con el control. En cuanto a la determinación de la velocidad (0.20 cm), las larvas tratadas con la dosis mayor de 25,000 µg/L DEP realizaron el recorrido con una menor velocidad (*$p<0.0139$).

Fibras de mielina con BGII

Las vainas de mielina de las larvas de pez cebra de 120 hpf fueron teñidas utilizando el colorante Black Gold II. Se realizó un análisis de imagen (Matlab, 2019) para determinar el porcentaje de intensidad teñida con BGII del área del tronco (**Figura 5**), el cual mostro una disminución de la intensidad de tinción en todos los tratamientos con DEP: 50 µg/L (*$p<0.0196$); 500 µg/L (**$p<0.018$): 5000 µg/L (***$p<0.0009$); 25 000 µg/L (**$p<0.0013$) (**Figura 6**).

Evaluación de la expresión *de sox10, mbp, plp* y *p0.*

Finalmente se evaluó la expresión génica *de mbp, plp, p0* y *sox 10* (**Figura 7**) en las larvas con y sin tratamiento a las 120 hpf (n=20). Los resultados muestran una disminución de la expresión de *mbp* en todos los tratamientos con DEP (***$p<0.005$); mientras que en la expresión de *p0, plp,* y *sox10* no mostró cambio

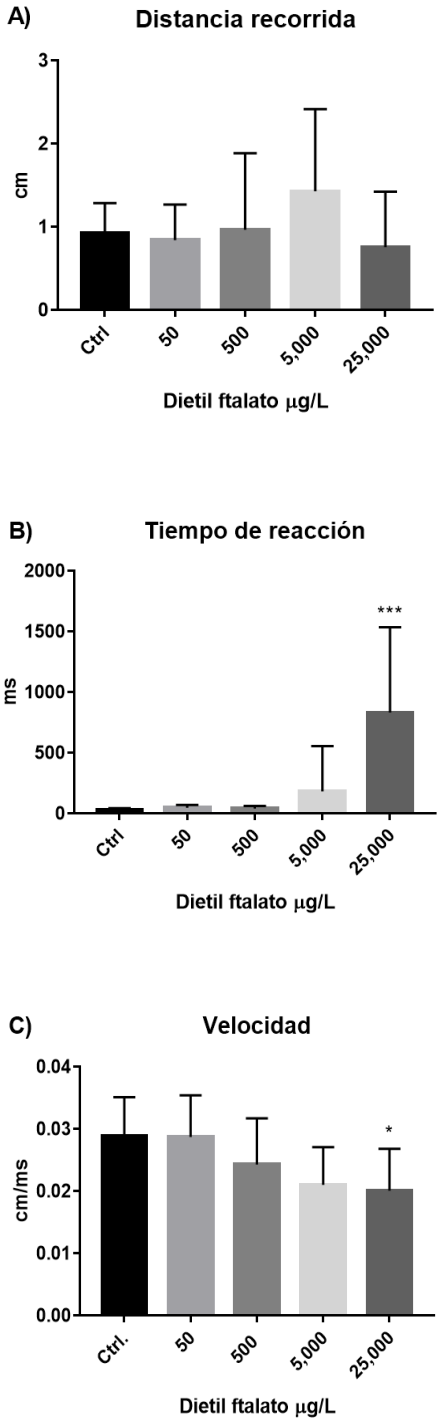


Figura 4. Evaluación de la locomoción mediante una respuesta evocada al tacto. Los gráficos muestran los diferentes parámetros evaluados en respuesta al estímulo externo (n=13). **A.** Distancia recorrida, **B.** Tiempo de reacción de las larvas al recibir el estímulo; **C.** Velocidad del movimiento (0.20 cm). Los datos fueron analizados con ANOVA de una vía (*p<0.0004).

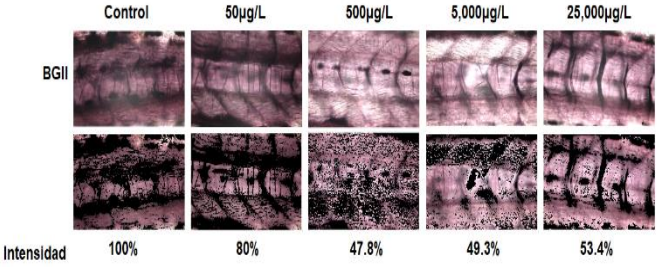


Figura 5. Intensidad de mielina teñida con BGII. Se muestran imágenes representativas del tronco de las larvas para cada tratamiento. La primera fila muestra los troncos teñidos con BGII, la segunda fila muestra los troncos con un enmascaramiento de la señal generada con el programa de Matlab. Se indica el porcentaje de intensidad de mielina para cada dosis.

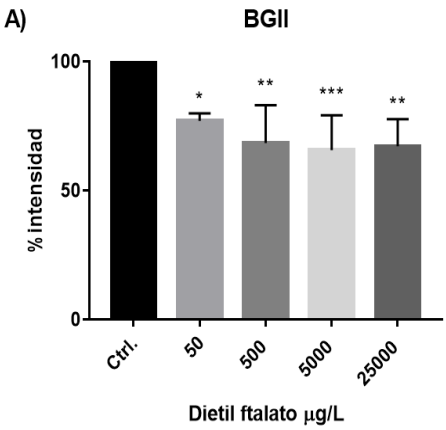


Figura 6. Porcentajes de intensidad de la mielina con BGII. Se muestran el porcentaje de intensidad de la tinción con BGII del tronco de las larvas control y tratadas con DEP (n=4). Los datos fueron analizados con ANOVA de una vía (*P<0.0196; **P<0.0018; ***P<0.0009; **P<0.0013).

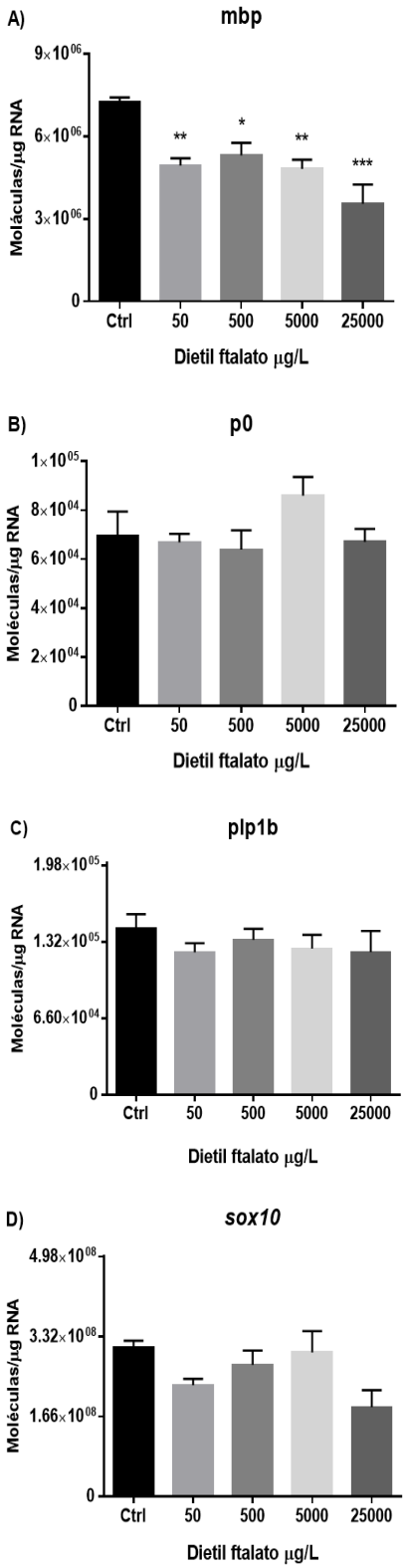


Figura 7. Expresión de *mbp, p0, plp, sox10* en peces con o sin tratamiento con DEP. Las gráficas muestran la expresión de **A.** mbp, **B.** p0, **C.** plp; **D.** sox10. Los datos fueron analizados con ANOVA de una vía (***p<0.005).

Discusión

En el presente estudio se analizaron los efectos del DEP sobre el proceso de mielinización en el SN del pez cebra. Los peces fueron tratados con distintas concentraciones de DEP durante su etapa embrionaria y se evaluó la locomoción del pez cebra mediante un análisis de blanco y negro y un análisis evocado a una respuesta. Además, se analizó la formación de mielina mediante tinción de BGII y la expresión de genes asociados a la mielinización.

El análisis de la locomoción de las larvas del pez cebra con el sistema a blanco y negro mostró una disminución en el desplazamiento en la mayoría de las larvas tratadas con las dosis más altas del DEP, limitándose a realizar un solo movimiento de desplazamiento, quedando en el mismo lugar sin movimiento alguno posteriormente. De igual manera, los resultados del análisis de locomoción con el sistema de una respuesta evocada al tacto mostraron un aumento del tiempo de reacción y una disminución de la velocidad únicamente en las larvas tratadas con las dosis de 25,000 µg/L de DEP. Al respecto, existen estudios similares que muestran resultados contradictorios. Por un lado, el estudio realizado por Tran *et al.*, 2021, quienes expusieron embriones de pez cebra a diferentes concentraciones de DEP (0.5, 5, 50, 500, 1000, 10,000 y 100,000 µg/L) desde las 4 hpf hasta las 120 hpf y evaluaron el movimiento de las larvas mediante pruebas de nado e interrupción del nado, no encontraron diferencias entre los grupos tratados con DEP y el grupo sin tratamiento. Nuestros resultados coinciden con los datos obtenidos de Tran *et al.,* al no encontrar alteraciones del movimiento del pez cebra en las dosis de 50 y 500 µg/L de DEP.

En contraste Pu *et al.* (2020) realizaron tratamientos con DEP en embriones de pez cebra a seis

diferentes dosis (1500, 2000, 4000, 6000, 8000 y 10,000 µg/L) desde las 4 hpf hasta las 120 hpf y evaluaron el movimiento de los embriones a las 24 hpf. Ellos encontraron que el tratamiento con 8,000 µg/L DEP disminuye el movimiento de las larvas mientras que la dosis máxima de 10,000µg/L indujo muerte temprana de las mismas. Los datos obtenidos de Pu *et al.,* aunque no son comparables con nuestros resultados por el tiempo de medición de la locomoción y dosis de DEP empleadas, muestran efectos del DEP en la locomoción de los peces. En conjunto, la evidencia sugiere que el DEP podría alterar la locomoción de los peces; sin embargo, es necesario realizar más estudios para evaluar su efecto en relación a la dosis y tiempo de exposición.

Para determinar el efecto del DEP en el proceso de mielinización, evaluamos las fibras de mielina de las larvas tratadas con DEP a 120 hpf mediante tinción con BGII. La tinción con BGII se ha empleado previamente para tinciones en áreas de medula espinal, tectum, telencéfalo en cortes de pez cebra (Larson *et al.,* 2010) y nuestro estudio analizó la tinción con BGII a su exposición con DEP en una larva completa (*whole-mount*) de acuerdo al protocolo de Farias-Serratos *et al.,* 2021. Nuestros resultados mostraron una disminución de la tinción a partir de la dosis de 50 µg/L de DEP, lo cual indica una disminución en la cantidad de mielina en el sistema nervioso periférico dada por la exposición al DEP durante la etapa embrionaria, lo que podría afectar negativamente a procesos de conducción nerviosa neuronal, en este sentido en nuestro estudio observamos afectaciones funcionales en el movimiento de los peces tratados únicamente con la dosis más alta de DEP; por lo que convendría realizar más estudios para determinar si los cambios observados en el depósito de mielina podrían inducir alteraciones de otros procesos biológicos asociados a sistema nervioso.

Posteriormente, el análisis de la expresión de genes asociados a la mielinización en sistema nervioso central y periférico: *mbp, plp, p0* y *sox10* mostraron una disminución de la expresión de mbp en las larvas tratadas con DEP a las diferentes dosis (50, 500, 5000, 25,000 µg/L) y no se observaron cambios en *plp, p0* y *sox 10*.

La disminución en la expresión de *mbp* podría producir una alteración en la formación de la estructura de la vaina de mielina, generando una estructura inestable y funcional de la misma (Naffaa *et al.,* 2021). Nuestros resultados difieren de aquellos obtenidos por Xu *et al.,* en el año 2013, quienes determinaron la expresión de *mbp* en larvas tratadas con DEP a tres concentraciones (5, 50, 500µg/L) a 96 hpf y encontraron que en la dosis máxima de 500 µg/L, el DEP indujo un aumento de la expresión de *mbp*. Esta discrepancia de los datos de Xu *et al.* con los nuestros podrían ser porque los primeros expusieron a los embriones por solo 96 h, mientras que nosotros los llevamos hasta los 120 hpf; además, Xu remplazó las soluciones con el DEP cada 12 h mientras que en nuestro protocolo se realizó cada 24 h. A la fecha, no existe evidencia sobre los mecanismos que subyacen el efecto del DEP en la expresión de *mbp*; sin embargo, en estudios realizados con otro tipo de disruptores como el BPA encontraron una disminución de la expresión de *mbp* a nivel SNC, la cual se asoció con una reducción de la actividad de exploración en ratones tratados con 50 mg/kg de BPA durante 15 días (Luo *et al.,* 2017). Esta alteración de la expresión podría estar dada en parte por la interferencia de la señalización en parte de hormonas tiroideas, al disminuir la expresión de una de las isoformas de su receptor (TRβ1) produciendo una disminución de la proliferacion, maduración y supervivencia celular (Tandon, *et al.* 2020). Además, se encontró que esta exposición al BPA causa inhibición de la vía del desarrollo

Notch, la cual es esencial para la formación de OL (Tandon *et al.,* 2020). Lo anterior realza la relevancia de estudiar los mecanismos de acción moleculares involucrados en los efectos del DEP a nivel de la regulación génica en el sistema nervioso.

Nuestro estudio es la primera investigación que evalúa el efecto del DEP sobre la formación de mielina y su actividad motora en pez cebra. Nuestro trabajo aprovecho las ventajas que tiene la tinción de BGII en larvas al brindar una visión más completa de estás y no únicamente en cortes como se había realizado anteriormente, además, se puede visualizar la fibra de mielina de manera más completa. Nuestros hallazgos dan pauta a estudios posteriores para investigar los mecanismos que subyacen a los efectos del DEP sobre el proceso de mielinización en etapas embrionarias y adultas.

Entre las limitaciones de nuestro estudio se encuentran evaluar el efecto de la exposición a DEP en etapas adultas del pez y a exposiciones por un tiempo mayor a las 120 hpf, así como determinar los niveles de DEP durante el experimento. Sería interesante analizar el efecto sobre la exposición a DEP sobre la mielinización en etapas adultas y explorar los mecanismos moleculares implicados, esto debido a que el DEP podría estar afectando de manera diferente al sistema nervioso, en cuanto al tipo de células, vías de señalización, etc. y de tal manera posiblemente se encuentre un efecto diferente al encontrado en este trabajo; así como comparar los resultados de la tinción de mielina de BGII contra otra tinción, por ejemplo, el luxol fast blue y dar un seguimiento de la locomoción a las 48, 72 y 96 hpf para poder realizar una comparación con el cambio de exposición al DEP.

Conclusión

El tratamiento con DEP repercute en la locomoción de larvas de pez cebra con la concentración máxima del disruptor (25,000 µg/L), y disminuye la formación de mielina y la expresión de *mbp* en larvas de pez cebra tratados con todas las dosis del disruptor.

Bibliografía

Ackerman, S. D., & Monk, K. R. 2016. Brain research, 1641(Pt A), 79–91.

Baumann, N., & Pham-Dinh, D. 2001. Physiological reviews, 81 2, 871-927.

Chen, L., Huang, C., Hu, C., Yu, K., Yang, L. and Zhou, B. 2012. Environmental Toxicology and Chemistry, 31: 2338-2344.

Creton, R. 2009. Behavioural Brain Research, 203(1), 127–136.

Engel, S. M., Miodovnik, A., Canfield, R. L., Zhu, C., & cols. 2010. Environmental health perspectives. 118(4), 565–571.

García Fabila, M. & cols. 2018. Revista Latinoamericana El Ambiente Y Las Ciencias, 1180-1191.

Gen MBP myelin basic protein [Homo sapiens (human)]. 2019.

Gen PLP1 proteolipid protein 1 [Homo sapiens (human)]. 2019.

Genuis, S. J., Beesoon, S., Lobo, R. A., & Birkholz, D. 2012. TheScientificWorldJournal.

Gore, A. C., Chappell, V. A., Fenton, S. E., Flaws, J. A., Nadal, & cols. 2015. Endocrine reviews, 36(6), E1–E150.

Xu, H., Shao, X., Zhang, Z., Zou, Y., Chen, Y., & cols. 2013. Bulletin of environmental contamination and toxicology, 91(6), 635–639.

Monitoreo microbiológico en chile molido

Yoali Fernanda Hernández Gómez, Jacqueline González Espinosa y Juan Campos Guillén

1. Lic. En biología
2. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, Av. De las Ciencias s/n, Santiago de Querétaro 76220, México
3. Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Cerro de las Campanas s/n, Santiago de Querétaro 76010, México
*Contacto: yhernandez01@alumnos.uaq.mx; jaqui16.je@gmail.com; juan.campos@uaq.mx (J.C.G.)

Resumen: El chile molido es de gran importancia en la industria de los alimentos. Sin embargo, la diseminación de microorganismos a través de este producto es importante y su monitoreo para determinar su calidad es esencial. Nuestros resultados describen una caracterización inicial de la estructura de la comunidad bacteriana en muestras comerciales de chile molido. Se determinó a través de métodos de secuenciación del gen 16S rDNA, que dentro del dominio Bacteria, la familia más abundante fue *Bacillaceae*, con una abundancia relativa del 99 % en el 71,4 % de las muestras de chile molido, mientras que el 28,6 % de las muestras mostró una abundancia relativa promedio del 60 % para la familia *Enterobacteriaceae.* La carga bacteriana de bacterias aerobias mesófilas (AMB) está en un rango de 10^4 a 10^6 UFC/g, mientras que para las bacterias mesófilas esporuladas (SMB), el recuento mostró entre 10^2 a 10^5 UFC/g. *Bacillus cereus sensu lato* (*s.l.*) se observó en un rango de <600 UFC/g, mientras que el recuento de *Enterobacteriaceae* fue de 10^3 a 10^6 UFC/g. Los recuentos de hongos y levaduras oscilaron entre 10^2 a 10^5 UFC/g. Usando perfiles de resistencia a antibióticos y características toxinogénicas, se determinó la presencia de β-lactamasas de espectro extendido (BLEE) y metalo-β-lactamasas (MBL) en aislados de *Bacillus cereus s.l.* y *Kosakonia cowanii*. Estos resultados muestran la presencia de patógenos oportunistas asociados con el chile molido, resaltando los riesgos a la salud debido a la propagación de la resistencia bacteriana y producción de toxinas.

Palabras clave: Diversidad de bacterias; β-lactamasas; chile molido; *Bacillaceae*; *Enterobacteriaceae.*

Abstract

Chili powder is very important in food industry. Therefore, the dissemination of microorganisms associated with chili powder is significant and monitoring is necessary. Our results demonstrate that, the most abundant family was *Bacillaceae*, with a relative abundance of 99% in 71.4% of chili powder samples, while 28.6% of samples show an average relative abundance of 60% for the *Enterobacteriaceae* family. Bacterial load for AMB ranged from 10^4 to 10^6 cfu/g, while SMB count ranged from 10^2 to 10^5 cfu/g. *Bacillus cereus sensu lato* (*s.l.*) was observed at ca. <600 cfu/g, while the count for *Enterobacteriaceae* ranged from 10^3 to 10^6 cfu/g, Fungal and yeast counts ranged from 10^2 to 10^5 cfu/g. Using antibiotic-resistance profiles and toxinogenic characteristics, revealed the presence of extended-spectrum β-lactamases (ESBLs) and Metallo-β-lactamases (MBLs) in *B. cereus s.l.* and *Kosakonia cowanii.* Our results extend our knowledge of bacterial diversity and the presence of opportunistic pathogens associated with chili powder, and highlight the potential health risks posed by its use through the spread of antibiotic-resistance and the production of various toxins.

Keywords: Bacteria diversity; β-lactamases; Chili powder; *Bacillaceae*; *Enterobacteriaceae.*

Introducción

El chile molido es un condimento obtenido a partir de frutos secos de plantas de la familia de las solanáceas, en particular del chile (*Capsicum annuum L.*). La gran diversidad de chiles que existen hace posible producir varias formulaciones de chile molido para diversos alimentos y la industria farmacéutica

(Rincón *et al.*, 2010). Sin embargo, el chile molido es un condimento listo para comer, por lo tanto, el monitoreo microbiológico es necesario para asegurar su calidad. Se han estudiado las prácticas agrícolas y de procesamiento involucradas en la producción de chile molido, indicando la necesidad de una evaluación integral de las posibilidades de contaminación del chile molido por diversos microorganismos, especialmente aquellos con características patogénicas que pueden causar enfermedades transmitidas por los alimentos en los consumidores (Frentzel *et al.*,2018).

Diversos factores ambientales y ecológicos pueden afectar la calidad del chile molido. Entre esos factores se encuentran la diversidad de microorganismos asociados, por lo que la estructura de la comunidad de esas poblaciones microbianas podría analizarse mediante estudios metagenómicos. Sin embargo, se han utilizado enfoques convencionales basados en métodos dependientes del cultivo microbiano en chile molido y han mostrado que podría ser un hábitat para una enorme diversidad de microorganismos (Frentzel *et al.*,2018). Así, por ejemplo, algunos resultados muestran que el chile molido contiene hasta 10^7 UFC/g de bacterias aerobias mesófilas y de bacterias aeróbicas formadoras de esporas pueden alcanzar 10^5–10^7 UFC/g (Benerjee y Sarkar, 2003). *Bacillus cereus* se determinó en algunas muestras en un rango de hasta 10^4 UFC/g (Benerjee y Sarkar, 2003; Celestino *et al.*, 2021). Se han realizado estudios similares para la detección de bacterias patógenas de la familia *Enterobacteriaceae* en chile molido obtenido de la variedad pimentón (paprika) (Benerjee y Sarkar, 2003). Por otro lado, la aparición de resistencia a los antimicrobianos es un desafío y una preocupación relevante para la salud pública. En este sentido, se han detectado diversas cepas de *B. cereus sensu lato* (*s.l.*) con características toxinogénicas y multirresistentes en chile en polvo, paprika y otras especias de diferentes orígenes geográficos (Frentzel *et al.*, 2018; Celestino *et al*., 2021). Adicionalmente, las cepas de *B. cereus s.l.* son naturalmente resistentes a los antibióticos β-lactámicos debido a sus genes de β-lactamasas de espectro extendido (ESBL) y las metalo-β-lactamasas (MBL) (Erickson, 2014). Además, debido a su importancia como patógenos potenciales y portadores determinantes de resistencia a los antibióticos, los miembros de la familia *Enterobacteriaceae* han sido monitoreados como indicadores microbiológicos de la efectividad de las condiciones higiénicas empleadas durante la producción de chile molido (Benerjee y Sarkar, 2003; Ruppé *et al.*, 2015). Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue utilizar procedimientos microbiológicos convencionales y moleculares para analizar muestras de chile molido elaborado a partir de *Capsicum annuum L.* Examinamos la carga bacteriana y fúngica, y la estructura de la comunidad bacteriana utilizando la secuenciación del 16S rDNA, así como los perfiles de susceptibilidad a los antibióticos. También analizamos la presencia de β-lactamasas y el potencial toxinogénico para patógenos oportunistas aislados.

Metodología

2.1. Carga Bacteriana y Fúngica

Se analizaron siete muestras de chile en polvo comercial elaborado a partir de *Capsicum annuum L.* obtenidos de diferentes proveedores. Las muestras A, B y C son muestras obtenidas de un mercado local en la ciudad de Querétaro, México. La muestra D fue obtenida de un productor en el estado de Zacatecas, México. Las muestras E, F y G son muestras obtenidas de productores locales en el estado de Querétaro, México. Para cada muestra, se recolectaron 500 g en matraces Erlenmeyer estériles y se mantuvieron a 10°C hasta el análisis. El contenido de bacterias mesófilas aerobias (AMB), bacterias mesófilas esporuladas (SMB), enterobacterias (E), y hongos y levaduras (F/Y) de cada muestra se determinó de acuerdo con las normas mexicanas (NOM-092, NOM-113 y NOM-111) y las Guías microbiológicas para alimentos de acuerdo con las normas del manual analítico bacteriológico FDA (Center for food Safety and Applied Nutrition, 2022).

2.2. Detección de Salmonella y E. coli

La presencia de *Salmonella* fue determinada de acuerdo con el manual analítico bacteriológico FDA (Center for food Safety and Applied Nutrition, 2022). *E. coli* fue investigado de acuerdo al manual analítico bacteriológico FDA utilizando el método del número más probable (NMP) (Center for food Safety and Applied Nutrition, 2022).

2.3. Detección de B. cereus s.l.

La detección y aislamiento de *B. cereus s.l.* se realizó de acuerdo con el manual analítico bacteriológico FDA (Center for food Safety and Applied Nutrition, 2022). Se seleccionaron colonias con fenotipos típicos de *B. cereus s.l.* y se confirmaron en el mismo medio de cultivo. *B. cereus* ATCC 10876 se utilizó como cepa de referencia para las pruebas fenotípicas y se realizó un análisis filogenético para aislamientos representativos mediante los métodos reportados por nuestro grupo de investigación (Celestino *et al*., 2021; Erickson, 2014; Ruppé *et al.*, 2015).

2.4. Aislamiento y caracterización de bacterias resistentes a ampicilina

Para seleccionar colonias resistentes a ampicilina de *B. cereus s.l.* y miembros de *Enterobacterias*, los medios de cultivo descritos anteriormente se complementaron a una concentración de 100 µg/ml de ampicilina. Las placas se incubaron a 37°C durante 24 h y se aislaron las colonias. Aislados representativos identificados como miembros de la familia *Enterobacteriaceae* fueron adicionalmente confirmados por PCR utilizando los cebadores 27F y 1492R para 16s rDNA (Resendiz *et al.*, 2022). Las susceptibilidades a los antibióticos de 50 colonias para cada grupo bacteriano se probaron utilizando el método de difusión en disco determinado por los criterios de los estándares CLSI (M02-A13, 2018). *B. cereus* ATCC 10876 y *Escherichia coli* XL1blue se utilizaron como controles. Discos de antibiótico (Oxoid, Mmixico) que contiene amikacina (amk 30µg), ampicilina (amp 10µg), amoxicilina/ácido clavulánico (amc 20/10µg), carbenicilina (cabina 100µg), cefalotina (cft 30µg), cefotaxima (ctx 30µg), cloranfenicol (chl 30µg), ciprofloxacina (cip 5µg), clindamicina (cdm 30µg), dicloxacilina (dcx 1µg), eritromicina (ery 15µg), gentamicina (gen 10µg), imipenem (ipm 10µg), meropenem (mem 10µg), netilmicina (neto 30µg), nitrofurantoína (ntf 300µg), norfloxacina (nfx 10 µg), penicilina (pen10 U), tetraciclina (tet 30µg), trimetoprim-sulfametoxazol (sxt 25µg) y vancomicina (vcm 30µg) se utilizaron para las pruebas de susceptibilidad. La actividad antibiótica se expresó como la media de los diámetros de inhibición (mm) producidos en experimentos por duplicado y los perfiles de resistencia se muestran como porcentaje del número total de colonias aisladas que mostraron resistencia a un antibiótico en particular. Para la producción de toxinas por las colonias de *B. cereus s.l.*, se utilizó la prueba de enterotoxinas cerus Duopath® (Merck, Kenilworth, NJ, EE. UU.) para detectar la enterotoxina no hemolítica (Nhe) y la hemolisina BL (HBL) (Krause *et al*., 2010). Todas las cepas fueron confirmadas por PCR para la presencia de genes de enterotoxina representativos (*nheA* y *hblC*) siguiendo la metodología reportada previamente (Hansen y Hendriksen, 2001). La detección de β-lactamasas de espectro extendido (BLEE) pertenecientes a la clase A y metalo-β-lactamasas (MBL) pertenecientes a la clase B se realizó mediante PCR utilizando ADN polimerasa de alta fidelidad Phusion (Thermo Scientific; Waltham, MA, EE. UU.) siguiendo las recomendaciones del proveedor. Los oligonucleótidos para la clase A y B *bla* genes de las especies *B. cereus* fueron; BLA1F 5′-TGCTAAAAATAGGAATATGCGTTGG-3′y BLA1R 5′-CCTTAACTATAACTTYMGTTGCC-3′, para clase A. Para clase B como BLA2F 5′-GGRKTATGTGTWRCTTTACTAGG-3′ y BLA2R 5′- CATTCATTTACRTAMGCATCCG-3′ para obtener productos de amplificación de 894 pb y 629 pb, respectivamente. Las condiciones de PCR fueron las siguientes: después del calentamiento inicial (2 min, 95°C), 35 ciclos a 95°C durante 30 s, 55°C durante 30 s, y 72°C durante 1 min, paso de

elongación final a 72°C durante 5 min. Los oligonucleótidos utilizados para *bla* genes de colonias aisladas para enterobacterias fueron bla-SHV.SE/ AS; TEM-164.SE y TEM-165.AS; universal CTX-M-U1/U2 reportados previamente (Monstein *et al*., 2007). Los productos de PCR se analizaron mediante electroforesis en agarosa al 2,0% (Sigma-Aldrich; St. Louis, MO, EE. UU.) y se visualizaron en un transiluminador UV. Los amplicones se secuenciaron en Macrogen Inc. (Seúl, República de Corea). Las secuencias se analizaron en MEGA X y las distancias evolutivas se calcularon usando el método Jukes-Cantor y se compararon con secuencias representativas de ESBL y MBL usando la base de datos BLDB (Naas *et al*., 2017; Saitou y Nei, 1987; Kumar *et al.*, 2018).

2.5. Análisis de la comunidad bacteriana

Utilizando un enfoque dependiente del cultivo, se agregaron porciones duplicadas de 10 g de cada muestra de chile molido a 90 ml de diluyente de peptona (0,1 %) y las muestras se homogeneizaron durante 5 min. Después se inocularon diluciones decimales en cuatro medios de cultivo; agar nutritivo (Difco), agar Mueller Hinton (Bioxon), agar de soya tríptica (Difco) y agar de infusión de cerebro y corazón (Bioxon). Todas las colonias bacterianas obtenidas para cada medio de cultivo se procesaron para la purificación de ADN genómico (ADNg) utilizando ZymoBIOMICS™ DNA Miniprep Kit (Zymo Research, Irvine, CA, EE. UU.), y en el último paso, se combinó el ADN genómico de cada medio de cultivo y se obtuvieron muestras de ADN duplicadas para cada muestra de chile molido. Las muestras de ADNg se procesaron y analizaron con ZymoBIOMICS® Servicio de secuenciación (Zymo Research, Irvine, CA, EE. UU.). La secuenciación del gen del ARN ribosómico 16S bacteriano se realizó con el kit de preparación de bibliotecas Quick-16S™ NGS (Zymo Research, Irvine, CA, EE. UU.) y se secuenció en Illumina®MiSeq™ con un kit de reactivos v3 (600 ciclos). Para el análisis bioinformático se usó el programa Dada2 (Callahan *et al*., 2016). La asignación de taxonomía se realizó con Uclust de Qiime v.1.9.1 (Caporaso *et al.*, 2010) con la base de datos de Zymo. Las secuencias de ADN se depositaron en NCBI como registro de BioSample PRJNA847909.

Resultados

3.1. Análisis de la comunidad bacteriana

Para obtener información de la diversidad bacteriana utilizamos un enfoque dependiente del cultivo seguido de un análisis del gen 16S rDNA. La secuenciación de muestras duplicadas, como se describe en Metodología, produjo un promedio de 49,546 a 66,091 lecturas de alta calidad que representan 14 unidades taxonómicas operativas (OTU) para géneros bacterianos con un nivel de similitud del 97%. Los miembros de *Bacillaceae* se encontraron en todas las muestras de chile molido, y en el 71,42% de las muestras, el género *Bacillus* fue la más abundante, con una abundancia relativa promedio de 99 a 100% (Figura 1). Sin embargo, el 28,6% de las muestras (muestras D y F) mostraron una abundancia relativa aumentada para los miembros de *Enterobacteriales*, con valores promedio de 42.5% para la muestra D y 77% para la muestra F. En las muestras D y F, *Bacillaceae* mostró una abundancia relativa de 52% y 23%, respectivamente (Figura 1).

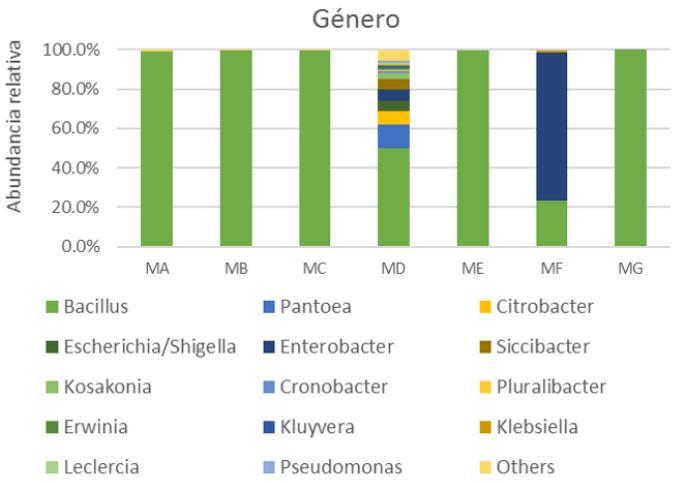


Figura 1. Composición taxonómica en siete muestras comerciales de chile en polvo. El gráfico de barras representa la abundancia relativa en porcentaje y describe la composición promedio de la comunidad de bacterias en las muestras. Los genes de 16S rDNA se amplificaron y secuenciaron por duplicado como se describe en Metodología.

Dentro de la familia *Enterobacteriaceae* para la muestra D, las abundancias relativas promedio para los géneros representativos fueron las siguientes: *Citrobacter* (6,5%); *Cronobacter* (1,5%); *Enterobacter* (5%); *Escherichia/Shigella* (4,5%); *Klebsiella* (0,65%); *Kluyvera* (0,84%); *Kosakonia* (3%); *Leclercia* (0,9%); *Pluralibacter* (1%); y *Siccibacter* (4%). Para la familia *Erwiniaceae*, *Erwinia* y *Pantoea* mostraron abundancias relativas promedio de 0.9% y 12.5%, respectivamente. Para la familia *Pseudomonadaceae*, *Pseudomonas* se detectó al 0,85% de abundancia relativa. Para las *Enterobacteriaceae* de la muestra F, el género con mayor abundancia relativa fue *Enterobacter* con un promedio de 76%, seguido de *Klebsiella* al 0,60%.

3.2. Carga Bacteriana y Fúngica

Para corroborar los resultados de abundancia relativa de *Bacillales* y *Enterobacterales*, analizamos la carga bacteriana. El contenido de bacterias mesófilas aerobias (AMB), bacterias mesófilas esporuladas (SMB), Enterobacteriaceae (E), hongos y levaduras (H/L), *Salmonella* y *E. coli* de siete muestras de chile molido se determinó como se describe en Metodología. Como se muestra en la Tabla 1, los recuentos de AMB para las muestras de chile en polvo oscilaron entre 6.3×10^4 a 1.2×10^6 UFC/g. Las muestras con los niveles más altos de contaminación con AMB fueron D y E, seguidas de las muestras A, B, C y G. La muestra con el recuento más bajo de AMB fue la muestra F. De acuerdo con los criterios microbiológicos de la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (ICMSF) (International Association of Microbiological Societies, 1986), todas las muestras de chile en polvo tienen calidad marginal (10^4–10^6 UFC/g), donde valores superiores a 10^6 UFC/g indican inaceptable y valores de $\leq10^4$ UFC/g indican calidad aceptable.

Tabla 1. Carga bacteriana y fúngica en muestras de chile en polvo.

Muestra	AMB (CFU/g)	SMB (CFU/g)	H/L (CFU/g)	*Enterobacteriaceae* (CFU/g)
A	2.0×10^5	1.7×10^3	2.7×10^2 / 4.2×10^2	1.1×10^3
B	1.6×10^5	8.0×10^2	1.8×10^3 / 9.2×10^2	4.2×10^2
C	1.14×10^5	2.9×10^3	1.7×10^5 / 4.3×10^4	3.7×10^3
D	1.2×10^6	3.2×10^5	5.9×10^4 / 4.0×10^4	1.2×10^5
E	1.0×10^6	4.3×10^3	4.3×10^5 / 5.5×10^4	4.8×10^3
F	6.3×10^4	1.0×10^2	1.1×10^5 / 3.5×10^4	1.4×10^4
G	1.2×10^5	4.5×10^2	2.8×10^3 / 7.5×10^2	9.4×10^2

Como indicador de calidad higiénica y de acuerdo con el análisis del gen 16S rDNA, los resultados para *Enterobacteriaceae* mostraron que las muestras D y F excedieron los criterios microbiológicos para ICMSF ($\leq 10^4$ UFC/g), mientras que el resto de las muestras con valores de $\leq 10^3$ UFC/g mostró una calidad aceptable para este grupo de microorganismos (Tabla1). Los resultados para hongos y levaduras (H/L) mostraron niveles significativos de contaminación en las muestras C, D, E y F que excedieron los criterios microbiológicos para ICMSF ($\leq 10^4$ UFC/g); solo las muestras A, B y G mostraron valores de $\leq 10^4$ UFC/g con calidad aceptable. *E. coli* y *Salmonella* no se detectaron en ninguna de las muestras analizadas.

3.3. Aislamiento y Caracterización de Patógenos Oportunistas

Para la detección y aislamiento de miembros de bacterias mesófilas esporuladas (SMB) y miembros de *Enterobacteriaceae* se utilizó la metodología descrita. Excepto por la muestra D, con un promedio de 600 UFC/g de *B. cereus s.l.*, las otras muestras estaban en el límite de detección de 100 UFC/g. Se seleccionaron colonias de *B. cereus s.l.* de todas las muestras de chile en polvo en función de su fenotipo de resistencia a la ampicilina. Para la confirmación taxonómica de *B. cereus s.l.* usamos el método de $tRNA^{Cis}$-PCR, publicada anteriormente (Celestino *et al.*, 2021; Hernández *et al.*, 2020). Los resultados fueron representados en un árbol filogenético que se muestra en la Figura 2, en comparación con otros miembros relevantes del género *Bacillus*. En la Figura 2 se muestra que varios aislamientos seleccionados de las muestras estaban relacionados filogenéticamente a *Bacillus thuringiensis* (Aislado 2, 3, 4, 5 y 7), mientras que el aislado 1 parecía estar más relacionado con *Bacillus cereus*. Los aislamientos 6, 8, 9 y 10 formaron un clado que contenía a *B. thuringiensis* (Figura 2). Se realizó un análisis similar para caracterizar a los miembros de la familia *Enterobacteriaceae*. Con base en la resistencia a la ampicilina y el análisis taxonómico, identificamos varios aislamientos como miembros de la especie *Kosakonia cowanii*. La similitud del 16S rDNA fue superior al 99% para estos aislamientos (designados como Aislados 23 al 56 en la Figura 2). La presencia de genes de enterotoxinas en los aislados de *B. cereus s.l.* fue investigado por detección de PCR de *hblC* y *nheA* como genes representativos. Los resultados de la PCR mostraron que los aislamientos fueron positivos para ambos genes de toxina en al menos el 95 % de los aislamientos. Los resultados moleculares fueron confirmados por la prueba Duopath para detección de producción de toxina y se observó un resultado positivo para la toxina Hbl en el 90% de los aislados, mientras que se detectó la toxina Nhe en el 100% de los aislados, incluidas las cepas en las que los resultados de PCR fueron negativos para genes de enterotoxinas.

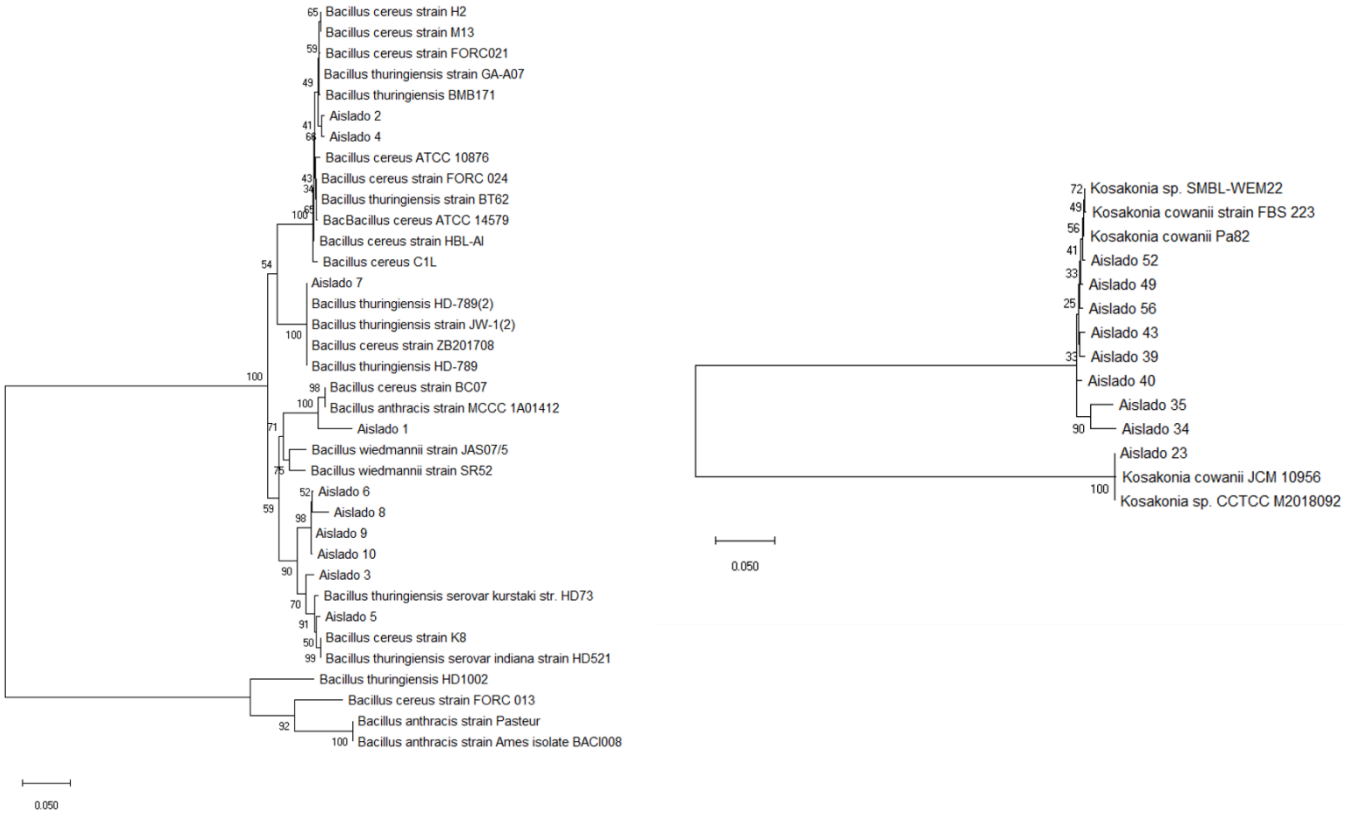


Figura 2 Análisis filogenético para *B. cereus s.l.* (izquierda) y *K. cowanii* (derecha). Los análisis se obtuvieron en MEGA X, las distancias evolutivas se calcularon utilizando el método de Jukes-Cantor (Kumar *et al.*, 2018).

Debido a la preocupación en la diseminación de resistencia a los antibióticos a partir del consumo de alimentos, se analizó el perfil de resistencia a antibiótico de aislados de *B. cereus s.l.* y *K. cowanii* procedentes de muestras de chile en polvo para evaluar el riesgo potencial a la salud que estos podrían representar. Los resultados de este análisis se muestran en la Figura 3 y confirma los siguientes resultados basados en la interpretación de los puntos de corte de CLSI para los antibióticos probados. Los aislados *de B. cereus s.l.* mostraron un alto porcentaje de resistencia a los antibióticos β-lactámicos analizados, como penicilina G (pen), ampicilina (amp), carbenicilina (cab), cefalotina (cft), cefotaxima (ctx), dicloxacilina (dcx) y amoxicilina/ácido clavulánico (amc) en el 100 % de los aislamientos. Además, estos aislados fueron significativamente resistentes a trimetoprimsulfametoxazol (sxt) al 100 %, tetraciclina (tet) al 90 %, eritromicina (ery) al 77 %, clindamicina (cdm) al 74 %, cloranfenicol (chl) al 42 % y en porcentajes menores, amikacina (amk) al 6%, gentamicina (gen) al 6%, netilmicina (net) al 3% y nitrofurantoína (ntf) al 3%. Por otra parte, los aislados de *B. cereus s.l* fueron sensibles a ciprofloxacina (cip) al 100 %, norfloxacina (nfx) al 100 %, vancomicina (vcm) al 100 % e imipenem (ipm) y meropenem (mem) al 100 %. En contraste con los resultados anteriores, los aislados de *K. cowanii* mostraron un menor porcentaje de resistencia para los antibióticos β-lactámicos probados, ya que se observó para penicilina G (pen), ampicilina (amp) y carbenicilina (cab) al 100%, mientras que para cefalotina (cft), cefotaxima (ctx), dicloxacilina (dcx),

amoxicilina/ácido clavulánico (amc), imipenem (ipm) y meropenem (mem) los aislados fueron susceptibles. Además, se observaron que para eritromicina (ery), clindamicina (cdm) y vancomicina (vcm) el 100 % de resistencia. Los aislados de *K. cowanii* mostraron una marcada susceptibilidad a los antibióticos restantes (Figura 3). En base a los resultados de resistencia a los antibióticos β-lactámicos en ambos grupos bacterianos, decidimos investigar la presencia de enzimas β-lactamasas.

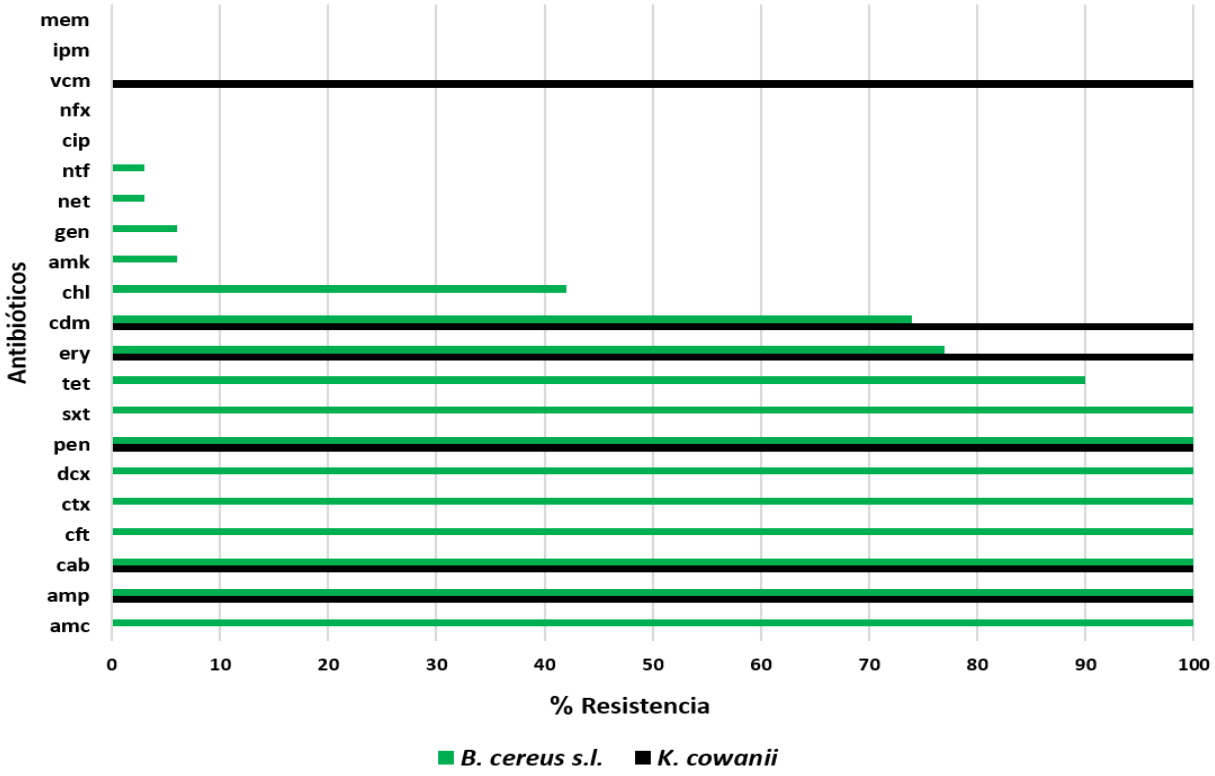


Figura 3. Perfil de resistencia a antibióticos. El gráfico de barras representa el porcentaje de aislamientos de cada especie bacteriana que fueron resistentes a cada antibiótico.

La detección de β-lactamasas de espectro extendido (BLEE) pertenecientes a la clase A y metalo-β-lactamasas (MBL) pertenecientes a la clase B se realizó mediante PCR, secuenciación y análisis como se describe en Metodología. Los resultados muestran que para *B. cereus s.l.*, la presencia de ambas β-lactamasas (clase A y B) fue del 35,5 % de los aislados, mientras que para la β-lactamasa clase A solo estuvo presente en el 58,1 % de aislados y el 6,45 % de los aislados mostró la presencia de β-lactamasa clase B. En el caso de los aislados de *K. cowanii*, la prueba PCR para β-lactamasas detectó β-lactamasas TEM (clase A) en el 100% de los aislados.

Discusión y conclusiones

Los resultados presentados aquí indican claramente que es necesario monitorear el chile molido para detectar una posible contaminación con patógenos oportunistas. Nuestros estudios identificaron patógenos potenciales con diferentes fenotipos toxigénicos y de resistencia a los antibióticos, las cuales podrían presentar riesgos a la salud. Por lo tanto, la evaluación del contenido microbiano debe ser una prioridad en la certificación de la producción de chile molido para la comercialización local, nacional, de importación y exportación. Específicamente, nuestros resultados, basados en

análisis de 16S rDNA y confirmados por análisis de carga microbiana, muestran que, de acuerdo con ICMSF, todas las muestras de chile en polvo examinadas son de calidad marginal (10^4–10^6 UFC/g) en términos de contaminación por AMB. Además, el 28,6% de las muestras superó los criterios microbiológicos ($\leq 10^4$UFC/g) para *Enterobacteriaceae*, mientras que el 57% de las muestras excedieron los criterios microbiológicos ($\leq 10^4$UFC/g) para hongos y levaduras.

Por un lado, en nuestros estudios, la muestra de chile en polvo D, con el mayor conteo de SMB (3.5×10^5 UFC/g, Tabla1), mostró niveles relativamente bajos (<600 UFC/g) de *B. cereus s.l.* Los datos proporcionados por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) especifican que los brotes de origen alimentario causados por *B. cereus* se han asociado con concentraciones bacterianas superiores a 10^5 UFC/g de alimento (Allende *et al*., 2016). Sin embargo, según nuestros resultados y en comparación con otros estudios (Frentzel *et al*., 2018; Celestino *et al.*, 2021), las cepas de *B. cereus* detectadas en chile molido son altamente toxigénicas y muestran una prevalencia de toxinas Hbl y Nhe en el 90 % y el 100 % de los aislamientos, respectivamente. Además, las cepas exhibieron resistencia a múltiples fármacos en casi todos los antibióticos β-lactámicos probados, así como en el 100% de cepas de *B. cereus* resistentes a trimetoprim-sulfametoxazol, 90% a tetraciclina, 77% a eritromicina, 74% a clindamicina y 42% a cloranfenicol. Aunque nuestros resultados muestran que la carga de *B. cereus s.l.* en el chile en polvo no podría ser un factor de riesgo para la salud de los consumidores, sus capacidades de producción de toxinas hacen necesario un programa de monitoreo para evitar posibles brotes bacterianos en el chile molido. La producción de β-lactamasas de espectro extendido (ESBL) y metalo-β-lactamasas (MBL) en miembros de la familia *Enterobacteriaceae* y *B. cereus*, plantea nuevas demandas para la tipificación de β-lactamasas en aislados bacterianos en chile molido. Por lo tanto, los resultados obtenidos aquí reflejan y confirman reportes anteriores sobre la presencia de β-lactamasas, las cuales parecen ser las principales responsables de los perfiles de resistencia a los β-lactámicos, a excepción de los carbapenémicos.

En todos los aislados de *K. cowanii* se mostró resistencia a eritromicina, clindamicina y vancomicina. La presencia de β-lactamasas TEM de clase A también se detectó en nuestros aislamientos, en concordancia con otros reportes (Berinson *et al*., 2020), que mostró resistencia de estas especies a algunas penicilinas, pero no a dicloxacilina, cefalosporinas, amoxicilina/ácido clavulánico, imipenem o meropenem. El género *Kosakonia* surgió de una reclasificación del género *Enterobacter* (Berinson *et al*., 2020), y diversas especies (*K. radicincitans, K. sacchari, K. oryzae, K. cowanii, K. arachidis*) han sido caracterizadas como bacterias promotoras del crecimiento vegetal (Zhang *et al*., 2022). Algunas especies también se han caracterizado como fitopatógenos, por otro lado, las especies *K. radicincitans* y *K. cowanii* se asocian con casos de infecciones humanas (Berinson *et al*., 2020; Zhang *et al*., 2022).

En conclusión, los resultados obtenidos en este estudio muestran que la caracterización de la diversidad bacteriana a través de diversos métodos moleculares y microbiológicos en chile molido es relevante e importante para considerar durante los criterios microbiológicos de calidad. Sin embargo, diversos factores ecológicos durante el cultivo o prácticas agrícolas es importante considerar para evitar contaminación de microorganismos patógenos con resistencia a los antibióticos y capacidades toxinogénicas que puedan ser un factor de riesgo para los consumidores o de propagación ambiental durante la comercialización. Sin duda, la genómica comparativa proporcionará más estudios sobre la relación taxonómica de los aislados obtenidos en este trabajo para comprender sus capacidades metabólicas y patogénicas.

Referencias

1. Allende, A.; Bolton, D.; Chemaly, M.; Davies, R.; Fernández Escámez, P.S.; Gironés, R.; Herman, L.; Koutsoumanis, K.; Lindqvist, R.; Nørrung, B.; et al. Risks for public health related to the presence of Bacillus cereus and other Bacillus spp. including Bacillus thuringiensis in foodstuffs. EFSA J. 2016, 14, e04524.
2. Banerjee, M.; Sarkar, P. Microbiological quality of some retail spices in India. Food Res. Int. 2003, 36, 469–474.
3. Berinson, B.; Bellon, E.; Christner, M.; Both, A.; Aepfelbacher, M.; Rohde, H. Identification of Kosakonia cowanii as a rare cause of acute cholecystitis: Case report and review of the literature. BMC Infect. Dis. 2020, 20, 366.
4. Callahan, B.J.; McMurdie, P.J.; Rosen, M.J.; Han, A.W.; Johnson, A.J.A.; Holmes, S.P. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. Nat. Methods 2016, 13, 581–583.
5. Caporaso, J.G.; Kuczynski, J.; Stombaugh, J.; Bittinger, K.; Bushman, F.D.; Costello, E.K.; Fierer, N.; Gonzalez Peña, A.; Goodrich, J.K.; Gordon, J.I.; et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. Nat. Methods 2010, 7, 335–336.
6. Celestino Hernández, A.G.; Gómez Ortiz, V.; Arvizu Gómez, J.L.; Ramos López, M.Á.; Rodríguez Morales, J.A.; Flores Macías, A.; Álvarez Hidalgo, E.; Nuñez Ramírez, J.; Flores Gallardo, F.J.; García Gutiérrez, M.C.; et al. Detection of Bacillus cereus sensu lato Isolates Posing Potential Health Risks in Mexican Chili Powder. Microorganisms 2021, 9, 2226.
7. Center for Food Safety and Applied Nutrition, U.S.F.a.D.A. Bacteriological Analytical Manual Online. 2022. Available online: http://www.cfsan.fda.gov/$\sim$ebam/bam-1.html (accessed on 5 February 2022).
8. Erickson, B.D.; Elkins, C.A.; Mullis, L.B.; Heinze, T.M.; Wagner, R.D.; Cerniglia, C.E. A metallo-β-lactamase is responsible for the degradation of ceftiofur by the bovine intestinal bacterium Bacillus cereus P41. Vet. Microbiol. 2014, 172, 499–504.
9. Frentzel, H.; Kraushaar, B.; Krause, G.; Bodi, D.; Wichmann-Schauer, H.; Appel, B.; Mader, A. Phylogenetic and toxinogenic characteristics of Bacillus cereus group members isolated from spices and herbs. Food Control 2018, 83, 90–98.
10. Hansen, B.; Hendriksen, N. Detection of Enterotoxic Bacillus cereus and Bacillus thuringiensis Strains by PCR Analysis. Appl. Environ. Microbiol. 2001, 67, 185–189.
11. Hernández Flores, J.L.; Salinas Landaverde, D.; Pacheco Huerta, Y.; Guerra Castillo, V.L.; Barrios Sánchez, M.A.; Arvizu Hernández, I.; Ramos López, M.A.; Álvarez Hidalgo, E.; Jones, G.H.; Campos Guillén, J. Phylogenetic Analysis of Bacillus cereus sensu lato Isolates from Commercial Bee Pollen Using tRNACys-PCR. Microorganisms 2020, 8, 524.
12. Krause, N.; Moravek, M.; Dietrich, R.; Wehrle, E.; Slaghuis, J.; Märtlbauer, E. Performance characteristics of the Duopath® Cereus Enterotoxins assay for rapid detection of enterotoxinogenic Bacillus cereus strains. Int. J. Food Microbiol. 2010, 144, 322–326.
13. Kumar, S.; Stecher, G.; Li, M.; Knyaz, C.; Tamura, K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. Mol. Biol. Evol. 2018, 35, 1547–1549.
14. M02-A13; Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard—12th ed. Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA, USA, 2018.
15. Monstein, H.J.; Östholm-Balkhed, Å.; Nilsson, M.V.; Nilsson, M.; Dornbusch, K.; Nilsson, L.E. Multiplex PCR amplification assay for the detection of blaSHV, blaTEM and blaCTX-M genes in Enterobacteriaceae. APMIS 2007, 115, 1400–1408.
16. Naas, T.; Oueslati, S.; Bonnin, R.A.; Dabos, M.L.; Zavala, A.; Dortet, L.; Retailleau, P.; Iorga, B.I. Beta-lactamase database (BLDB)—structure and function. J. Enzym. Inhib. Med. Chem. 2017, 32, 917–919.
17. Resendiz-Nava, C.N.; Silva-Rojas, H.V.; Rebollar-Alviter, A.; Rivera-Pastrana, D.M.; Mercado-Silva, E.M.; Nava, G.M. A Comprehensive Evaluation of Enterobacteriaceae Primer Sets for Analysis of Host-Associated Microbiota. Pathogens 2022, 11, 17.
18. Rincón, V.H.; Torres, T.C.; López, P.L.; Moreno, L.L.; Meraz, M.R.; Mendoza, H.V.; Castillo, J.A. Los Chiles de México y su Distribución; SINAREFI, COLPOS, INIFAP, ITConkal, UANL, UAN: Montecillo, Texcoco, Estado de México, México, 2010.
19. Ruppé, É.; Woerther, P.L.; Barbier, F. Mechanisms of antimicrobial resistance in Gram-negative bacilli. Ann. Intensive Care 2015, 5, 21.
20. Saitou, N.; Nei, M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol. Biol. Evol. 1987, 4, 406–425.

Modelado de nicho ecológico de algunos musgos epífitos endémicos de México.

Pablo Esteban Guerrero Martínez[1]*, Patricia Herrera-Paniagua[1], Enrique Ortíz-Bermúdez[2], Luis Gerardo Hernández-Sandoval[1]

Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro[1]

Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México[2]

pguerrero02@alumnos.uaq.mx *

Resumen

Las Bryophyta (*sensu stricto*) o musgos es uno de los grupos de plantas más diversos, de distribución cosmopolita y presentes en diferentes ecosistemas, favoreciendo aquellos con alta humedad como el bosque Mesófilo de Montaña (BMM). Sin embargo, aún falta por conocer sobre la ecología y diversidad de los musgos epífitos y endémicos y su relación con el BMM. Lo cual es prioritario porque son plantas vulnerables al cambio climático. El BMM en México es uno de los tipos de vegetación con menor extensión en el país, no obstante, es el ecosistema que contiene más concentración de diversidad en plantas y animales en el país. Recientemente se ha visto afectado por las presiones antropomórficas y el cambio climático llevado a la disminución de más de la mitad de su extensión original y consecuentemente de su diversidad. El objetivo de este estudio es el conocer si existe una relación entre la extensión del BMM y la distribución de algunos musgos epífitos endémicos de México. Se creó una base de datos de distribución geográfica y se analizaron 27 variables asociadas a su distribución geográfica, esto para caracterizar su nicho ecológico en MaxEnt y generar modelos de distribución. Se modelaron cinco especies cuya distribución refleja la distribución del BMM en porciones del Golfo de México, del Pacífico, del centro y sur de México. Siete de las variables resultaron importantes para los modelos. Se concluye que existe una relación entre la distribución del BMM y los modelos de distribución de los musgos epífitos.

Palabras clave: Bosque nublado, máxima entropía, diversidad, distribución potencial, dosel,

Abstract

The Bryophyta (*sensu stricto)* or mosses is one of the most diverse plant groups with a cosmopolitan distribution and presence in different ecosystems, prevailing in those with high humidity like the *Bosque Mesófilo de Montaña* (BMM). However, there's stills gap in the knowledge of epiphytic and endemic mosses and their ecology, diversity and relationship with the BMM. Which it is of importance given their susceptibility to climate change. The BMM in Mexico is one of the vegetations type with less extension in the country, nevertheless, is the ecosystem with the biggest concentration of animals and plants diversity. Recently it has been affected by anthropological pressures and climate change leading to a diminish of more than half of their original extension and consequently a loss of their diversity. The objective of this study it's to know if there is a relationship between the extension of the BMM and the distribution of some epiphytic mosses endemics to Mexico. A database of their geographic distribution was created and 27 variables associated with their distribution are selected, this in order to characterize their ecological niche in MaxEnt and generate distribution models. Five species were modelled which reflect the distribution of the BMM in sections of Gulf of Mexico, Pacific. center and South of Mexico. Seven variables were important for the generation of the models. It's concluded that there is a relationship between the distribution of the BMM and the distribution models for the epiphytic mosses

Keywords: Cloud Forest, maximum entropy, diversity, potential distribution, canopy.

Introducción

El bosque mesófilo de montaña (BMM) es un tipo de vegetación de México caracterizado por su distribución fragmentada, en relieves accidentados y pendientes de montañas con ángulos muy pronunciados. Se encuentran entre los 450 – 2700 m.s.n.m., donde la humedad está presente a lo largo del año en forma de lluvias, nubes y neblina (Gual-Díaz y González-Medrano, 2014; Villaseñor, 2010).

Los BMM están presentes en 1% del territorio nacional; a pesar de su poca extensión son el tipo de vegetación con mayor diversidad por metro cuadrado (Villaseñor, 2010; Gual-Díaz y González-Medrano, 2014). No obstante, factores como el cambio de uso de suelo (CONABIO, 2010; Sánchez-Ramos y Dirzo, 2014) y el cambio climático (Ponce-Reyes *et al*., 2012, Rojas-Soto *et al*., 2012), han reducido la extensión original de los BMM a solo un 0.4% (CONABIO, 2010; Gual-Díaz y González-Medrano, 2014). Por consiguiente, ha disminuido la diversidad y los servicios ecosistémicos (Ponce-Reyes *et al*., 2012; Gual-Díaz y Rendón-Correa, 2014) que ofrecen los BMM.

Las Bryophyta (*sensu stricto*) o musgos son un grupo de plantas características de los BMM. Estas son plantas de tamaño pequeño que van de los milímetros a los centímetros (20-30cm), solo algunas formas colgantes superan el metro (Glime, 2017). Generalmente viven en conjuntos que pueden crecer en diferentes microhábitats como suelos, rocas, troncos y como epífitas (Delgadillo-Moya, 2014), además de encontrarse en todos los continentes y los diferentes lugares donde una planta pueda fotosintetizar (Glime, 2017).

De los musgos, los epífitos componen una gran parte de la diversidad de los BMM (Herrera-Paniagua *et al*. 2017), aunque se sabe que esta diversidad puede estar afectada por diversas características del bosque como la calidad, el tamaño y el manejo del dosel (Herrera-Paniagua, 2017, Wierzcholska *et al*. 2020). También los factores abióticos como temperatura y precipitación pueden influir en la distribución y abundancia de los musgos epífitos (Číhal *et al*. 2017, Wierzcholska *et al*. 2020). A nivel mundial se considera a todas las epifitas de los BMM como las plantas más vulnerables ante el cambio climático (Foster, 2001).

Cuando se habla de nicho generalmente se piensa en la definición de Hutchinson (1957), que es aquel hipervolumen n-dimensional donde se encuentran las condiciones bióticas y abióticas en la que una especie puede desarrollarse y subsistir. Distinguiendo dos tipos de nicho, el fundamental y el efectivo, siendo el segundo aquel en que la distribución está limitada por la interacción con otras especies, mientras que el fundamental es aquel en que la especie podría distribuirse sino es limitada por interacciones bióticas (Araújo y Guisan, 2006; Mota-Vargas *et al*. 2020).

Por otro lado, la dualidad de Hutchinson (1957), explica que una especie ocupa dos espacios a la vez, uno geográfico y otro ecológico. El geográfico, es la localidad de una especie, es decir sus coordenadas geográficas (latitud y longitud) que viene acompañada de otros datos ambientales como vegetación y clima. Mientras que el ecológico, es un espacio dimensional que contiene todas las variables ambientales sobre las que podría desarrollarse una especie (Soberón *et al*. 2020).

La modelación de nicho ecológico, y modelación de áreas de distribución parecen conceptos sinónimos y el percibirlos como tales puede generar confusión al momento de interpretar resultados de trabajos, como el que se pretende en esta investigación. Un modelado de nicho ecológico es aquel que usa los datos colectados en el espacio geográfico, para hacer un modelo del nicho en el espacio ecológico y proyectarlo en el espacio geográfico (Mota-Vargas *et al*. 2020). En cambio, un modelo de distribución de especies utiliza datos abióticos para modelar en el espacio geográfico, esto puede ser para para encontrar lo que podría llamarse un área potencial (Soberón *et al*. 2020).

Materiales y Metodos

La selección de especies de musgos endémicos, epífitos y del BMM inició a partir del listado de Delgadillo-Moya *et al*. (2019), de esta lista se añadieron datos de hábitat y distribución, provenientes de distintas colecciones y bibliografía, para poder descartar y seleccionar especies que cumplan los criterios de epífita y característica del BMM.

De las especies seleccionadas se consultaron bases de datos en línea como la Colección de Briofitas del Herbario Nacional de México (MEXU), El CNABH (Consorcio de herbarios de briofitas de Norte América por sus siglas en inglés) y la GBIF (Infraestructura Mundial de Información en Biodiversidad por sus siglas en inglés), así como material bibliográfico y registros de colectas en colecciones de herbario como el MEXU y el herbario de la Universidad Autónoma de Querétaro (QMEX). Con estos registros se elaboró una base de datos priorizando los datos de coordenadas de colecta, el tipo de vegetación, si se encontró como epífita y la identidad del forófito. Para aquellas especies que no se pueda saber con certeza si son características del BMM, sus registros se sobrepusieron a un mapa de extensión del BMM de Cruz-Cárdenas *et al*. (2012) y aquellas donde sus registros estuvieran en más de un 50% de la capa serán seleccionados.

A la base de datos se le hizo una constante revisión para asegurar que en esta no tuviera errores de Omisión, Tipográfico, Contexto, Redundancia, Convencionalidad, Uniformidad y Congruencia, además de georreferenciar aquellos registros sin coordenadas geográficas.

Para los modelos se usaron las variables climáticas y el modelo digital de altitudinal de WorldClim (Fick y Hijmans, 2017), del modelo altitudinal se usaron dos capas derivadas de este, orientación de la ladera en grados y pendiente de la ladera; además de otras variables como Evotranspiración anual real (López-Mata *et al*. 2012), porcentaje de días con nubes (Wilson y Jetz, 2016), cobertura de árboles (Hansen *et al.* 2013), altura del dosel (Potapov *et al.* 2021) y días de niebla (CONAGUA, 2022), dando un total de 27 variables, 22 de tipo climáticas, 3 topográficas y 2 relevantes al dosel.

Para la selección de las variables a usar en el modelo de distribución de cada especie, primero se aplicó una la prueba de normalidad Shapiro-Wilk a los registros de las especies y de acuerdo a los resultados de distribución ya sea normal o anormal de cada especie se hizo una correlación de Pearson o Spearman, respectivamente, a las variables ambientales y se excluyeron a aquellas variables con un valor de correlación mayor a 0.85 siguiendo el criterio de Syfert *et al*. (2013).

Se corrieron unos modelos de distribución iniciales para cada especie usando el paquete Wallace v 1.1.3 (Kass *et al*. 2018) para R (R Core Team, 2022). Se usó la capa de provincias biogeográficas de CONABIO (2001) como la M adaptándose al caso de cada especie seleccionándose las regiones hubiera registros de la especie, de los registros georreferenciados solamente se les aplico un filtrado espacial a aquellos con más de 10 registros en este caso el filtrado aplicado fue el de Spatial Thin (Aiello-Lammens *et al*., 2015) con una separación de 5 km. Se uso la configuración estándar de muestrear 10,000 puntos al azar del área seleccionada (background). En la partición espacial de los datos, se usó una partición no espacial de Jack kinfe (k=n) para aquellas especies con registros menores a 30 especies y una partición espacial de Bloque (k=4) para aquellas con más de 30 registros.

Finalmente se usó el método de Máxima entropía el cual se ha visto efectivo para casos de pocos registros (Hernandez *et al*. 2006), para esto se utilizó una combinación de diferentes feature class y un regularizador de la multiplicación (Morales *et al*. 2017), en este caso se utilizaron los feature class: Linear, Linear Cuadrático, Hinge, Linear Cuadrático Hinge y Linear Cuadrático Hinge Producto, con un rango del regularizador de la multiplicación de 1 a 5 en incrementos de 1.

De estos primeros modelos se seleccionó la combinación de feature class y regularizador de la multiplicación con el menor valor de Akaike, que en casos donde el tamaño de los datos es pequeño ha demostrado mejor desempeño que otros métodos de evaluación del modelo (Warren y Seifert, 2011). Después de evaluar la mejor combinación se corrieron nuevos modelos en el software MaxEnt v 3.4.4 (Phillips *et al*. 2006), nuevamente se usaron las mismas regiones biogeográficas de CONABIO (2001) como M, se usaron los mismos registros a los que se les aplico un filtrado espacial en los primeros modelos, además que aquellas especies con más de 10 registros se usó el 75% de su registro para entrenar el modelo y el 25% para evaluarlo, nuevamente se usaron 10,000

puntos al azar de background, además del modelo de distribución también se obtuvieron curvas de respuesta y análisis de jacknife para identificar el porcentaje de contribución de las variables en la creación de los modelos. También se obtuvieron valores de Training omission rate, Test omission rate y Cloglog threshold para evaluar diferentes umbrales de corte de modelos bianrios, de estos valores se seleccionó aquel umbral con la mejor combinación de valores bajos. El desempeño de los modelos se evaluó usando el AUC (área bajo la curva) donde un valor mayor a 7.0 es considerado de un desempeño promedio, uno mayor a 8.0 bueno y uno mayor a 9,0 excelente (Li *et al.* 2017).

Una vez seleccionado el umbral, en QGIS se convirtió el modelo de uno continuo a uno binario, convirtiendo el valor de aquellas celdas con un porcentaje de predicción menor al de valor del umbral a un valor de 0 y aquellas con un porcentaje de predicción igual o superior o al del umbral a un valor de 1; es decir ausencia y presencia. La capa resultante del modelo binario se contrasto con la capa del BMM de Cruz-Cárdenas *et al*. (2012) para evaluar la relación entre la distribución del BMM y el modelo de distribución.

Resultados

Se identificaron seis especies de musgos epífitos endémicos de México y presentes en el BMM, estas fueron: *Cyclodictyon richardsii* F.D. Bowers & Magill, *Entodon abbreviatus* (Schimp.) A. Jaeger, *Holomitrium xolocotzianum* H.A. Crum, *Lepidopilum nitidum* Besch., *Neckera angustifolia* Müll. Hal., *Pylaisiadelpha sharpii* H.A. Crum.

De estas especies se tiene un total de 608 registros los cuales fueron depurados a 77 registros únicos y con descripciones de localidades entendibles para georreferenciarlas, *E. abbreviatus* fue la especie con más registros 49, de ahí *N. angustifolia* con 12, la única especie que no contó con los registros suficientes para modelarla fue *L. nitidum*. En cuanto a porcentaje de registros dentro del BMM solo *C. richardsii* tuvo un porcentaje menor al 50% (Tabla 1).

Especies	**Registros totales**	**Registros depurados**	**Registros dentro del BMM**
Neckera angustifolia	46	12	58.33%
Cyclodictyon richardsii	36	4	25%
Pylaisiadelpha sharpii	14	6	50%
Lepidopilum nitidum	14	2	50%
Entodon abbreviatus	465	49	53.19%
Holomitrium xolocotzianum	33	4	75%

Tabla 1. Registros de colectas de especies totales, tras ser depurados y cuanto porcentaje de estos está dentro del BMM.

Una vez removidas las especies que no pudieron modelarse se hizo el modelo de 5 especies, la configuración final de los modelos, número de

Especies	Número de registros	Provincias Biogeográficas de CONABIO 2001	*Feature* y *regularization multiplier*	Umbral aplicado - AUC
N. angustifolia	4	Golfo de México, Sierra Madre Oriental	Linear 2	MTP 0.808
C. richardsii	36*	Altiplano Sur (Zacatecano - Potosino), Costa del Pacífico, Depresión del Balsas, Eje Volcánico, Sierra Madre Occidental, Sierra Madre Oriental, Soconusco	Linear 1	MTSPS 0.966
P. sharpii	4	Costa del Pacífico, Los Altos de	Linear Quadratic Hinge 3	MTP 0.911
E. abbreviatus	11	Golfo de México, Sierra Madre Oriental	Linear Quadratic 2	MTSPS 0.917
H. xolocotzianum	6	Depresión del Balsas, Eje Volcánico, Golfo de México, Sierra Madre Oriental	Hinge 4	MTSPS 0.771

Tabla 2. Configuración de los modelos realizados. * especies a las que se le aplico un filtrado espacial. MTP: Minimum Training Presence MTSPS: Maximum training sensitivity plus specificity

registros usados tras el filtrado espacial, la M, feature y el regularizador de la multiplicación usado, umbral aplicado y valor de AUC se detallan en la tabla 2. De las provincias biogeográficas de CONABIO (2001) fueron las Sierra Madre Oriental y Golfo de México con más registros, cuatro y tres respectivamente, los valores de AUC mostraron un valor mayor a 0.8 salvo uno con un valor de 0.771, por lo que el desempeño de estos fue bueno (Li *et al.* 2017).

Los mapas de los modelos resultantes muestran una relación entre el modelo de distribución y la capa del BMM (Cruz-Cárdenas *et al.* 2012), además del Oriente y Golfo de México los modelos también reflejan asociación al centro y sur del país.

De las 27 variables iniciales para la generación de los modelos, tras descartar aquellas con un valor alto de correlación fueron 19 las variables totales usadas en los modelos de distribución, 14 climáticas, 3 Orográficas y 2 relacionadas a la vegetación. De estas, solo 8 aportaron un valor mayor del 5% en la generación de los modelos de distribución, 5 climáticas, 1 Orográficas y 2 de vegetación (Tabla 3).

De las variables más importantes en la generación de los modelos con una aportación mayor al 5% fue la de Altura del Dosel, la cual estuvo presente en tres diferentes modelos. Después, Porcentaje de Cobertura Vegetal y Temperatura media del trimestre más seco en dos modelos cada una. Finalmente, solo fueron 5 variables más las que aportaron un porcentaje significativo a la generación de los modelos.

Discusión

Los pocos registros de especies encontrados pueden deberse a que son pocas las especies que cumplieron con el criterio de ser epífitas, endémicas y presentes en el BMM. Históricamente la colecta de especies en el país ha estado restringida a ciertas áreas del país como lo son el eje Neovolcánico, además del centro y sur (Delgadillo 2014) regiones identificadas por Delgadillo *et al.* (2019) donde se encuentra la mayor concentración de especies endémicas en México, sin embargo, hay regiones donde está presente el BMM que no han sido tan exploradas como lo son la Sierra Madre Oriental Plegada, Serranías de Nayarit, Huasteca Alta Hidalguense, Sierra Madre del Sur y

Especies	Altura del Dosel	Porcentaje de cobertura de árboles	Temperatura media del trimestre más	Evotranspiración Real Anual	Estacionalidad de la temperatura	Isotermalidad	Porcentaje de días con nubes	Orientación de la ladera en grados
N. angustifolia		99.6						
C. richardsii	5.3	13.6	42.2			18.4	11.2	
P. sharpie				65.4	34.6			
E. abbreviatus	11.2		77.3					9.5
H. xolocotzianu	100							

Tabla 3. Porcentaje de aportación de las variables al modelo de cada especie

Franja Neovolcánica de Jalisco y Cordillera Costera del Sur (nombres de regiones de acuerdo a CONABIO 2010), igualmente existe un déficit en el esfuerzo de colecta como la distribución de algunas especies endémicas en estados como Chiapas donde esta podría extenderse a países colindantes como Guatemala (Delgadillo *et al*. 2019).

En cuanto a la validación de los modelos, solo dos modelos tuvieron un valor de AUC menor 0.9, uno de 0.808 y otro de 0.771, lo cual es bueno de acuerdo a Baldwin (2009) y Li *et al.* (2017).

Figura 1. Modelo de distribución potencial de *Neckera angustifolia*

De las variables que más aportaron en la creación de los modelos, destaca que de las más importantes hayan sido las dos relacionadas con la vegetación (Altura del Dosel y Cobertura Vegetal), lo que concuerda con por Lai *et al*. (2021) quienes encontraron una mayor biomasa de epifitas en aquellas parcelas con los árboles ya que estos pueden proveer de una mayor diversidad de microhábitats para las epífitas, además que igualmente encontraron una alta biomasa en parcelas con árboles más viejos y jóvenes, esto igualmente puede causar una variedad de microhábitats al permitir mayor radiación solar, igualmente ya se ha teorizado antes que la existencia de un dosel alto y complejo como un factor influyente en la diversidad de epifitas (Acebey *et al.* 2003).

En el caso de las variables restantes, la climáticas fueron aquellas relacionadas con la variabilidad de la temperatura (Isotermalidad y Estacionalidad de la

temperatura) además de Evotranspiración real anual, Temperatura media del trimestre más seco y Porcentaje de días con nubes, esto posiblemente a la poca variación de la precipitación dentro del BMM, siendo factores climáticos como temperatura máxima y temperatura media aquellos que más varian de bosque a bosque (Jarvis y Mulligan 2010) así mismo Lai *et al*. (2021) encontró que una temperatura más alta podría suprimir el crecimiento de las briofitas epífitas, así mismo como ya señalaba Hietz (2010) el que en varios BMM exista una estación seca, es prueba que las epífitas están sometidas a un estrés hídrico, por lo que variables como una baja temperatura, un bajo déficit de evotranspiración, así como la entrada de humedad a través de nubes y neblina es importante para hacer frente a ese estrés hídrico.

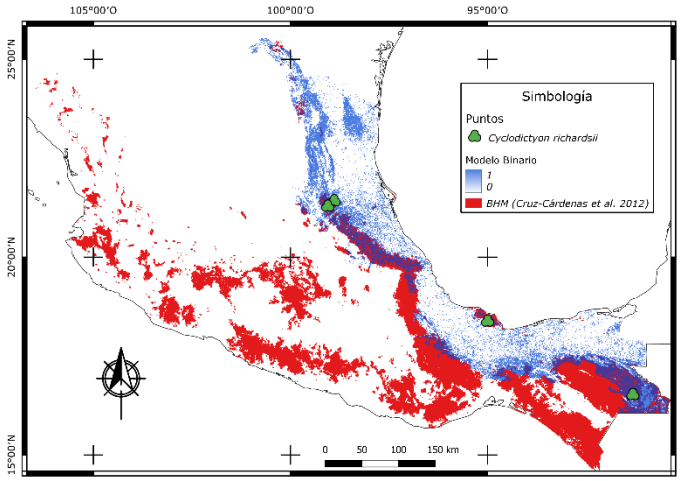


Figura 2. Modelo de distribución potencial de *Cyclodictyon richardsii*

Orográficamente, el que orientación de la ladera haya sido de las más importantes coincide con Jarvis y Mulligan (2010) quienes encontraron que el BMM tiende a encontrarse en sitios más expuestos topográficamente, esto posiblemente relacionado con que aquellos sitios más expuestos a nubes reciben precipitación adicional en forma de nubes.

Los modelos generados reflejan una distribución que se con la capa de extensión del BHM aún para casos de especies como *C. richardsii* donde solo un 25% de sus registros están dentro de esta misma capa. En otros casos como E. abbreviatus hay puntos muys separados de la distribución principal que podrían considerarse outlayers por lo que sería necesario revisar el ejemplar o explorar la zona para comprobar su presencia. En otros modelos como el de N. *angustifolia* y *H. xolocotzianum* la zona de distribución del modelo es más restringida a comparación de los demás modelos.

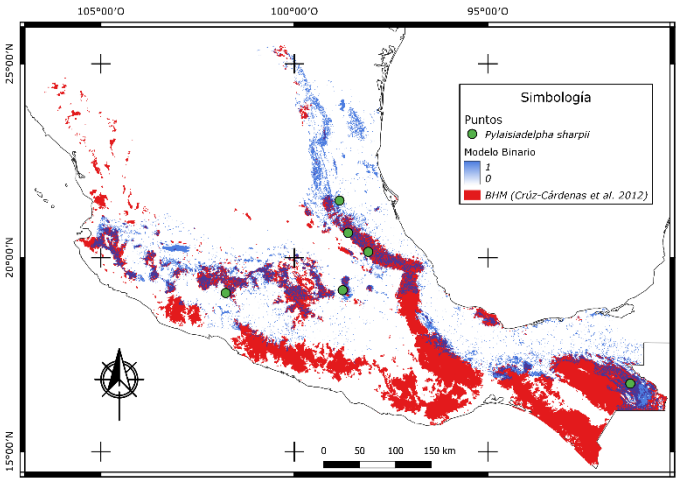


Figura 3. Modelo de distribución potencial de *Pylaisadelpha sharpii*

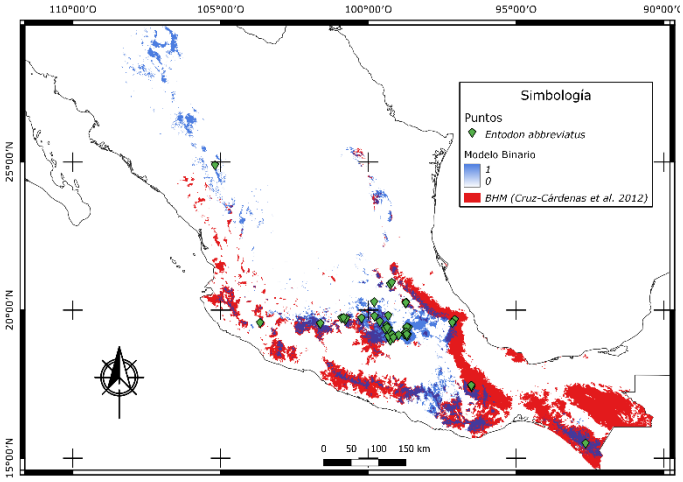


Figura 4. Modelo de distribución potencial de *Entodon abbreviatus*

Conclusión

Son pocas las especies de musgos endémicas a México que puedan considerarse epífitas y asociadas al BMM, así como poco los registros de estas especies por lo que es necesario aun exploraciones biológicas

para conocer mejor su distribución. Las variables explicativas de los modelos que mayor aportación tuvieron a estos, reflejan las presiones ambientales a las que las briofitas epifitas del BMM suelen estar sujetas y delimitan su presencia, como lo son el dosel, la temperatura y la presencia de nubes. Los modelos de distribución reflejan principalmente la distribución sobre las regiones del Golfo de México, del Pacífico, del centro y sur de México.

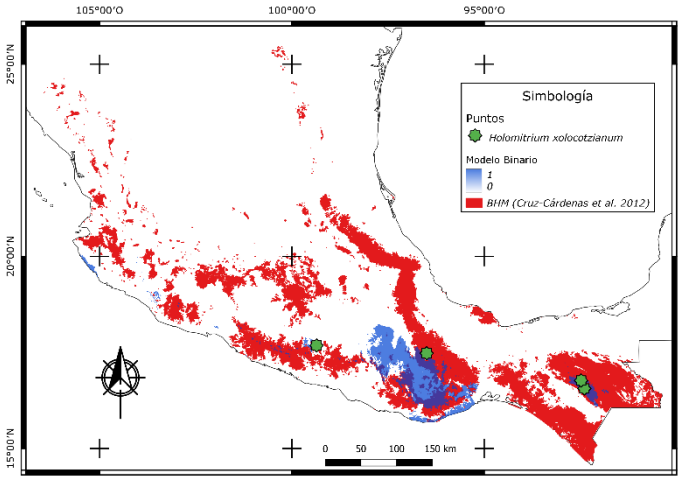


Figura 5. Modelo de distribución potencial de *Holomitrium xolocotzianu*

Referencias Bibliográficas

Acebey A, Gradstein SR, Krömer T. 2003. Species richness and habitat diversification of bryophytes in submontane rain forest and fallows of Bolivia. *Journal of tropical ecology* 19: 9-18. DOI: https://doi.org/10.1017/S026646740300302X

Aiello-Lammens ME, Boria RA, Radosavljevic A, Vilela B, Anderson RP. 2015. spThin: an R package for spatial thinning of species occurrence records for use in ecological niche models. *Ecography* 38: 541-545. DOI: https://doi.org/10.1111/ecog.01132

Araújo MB, Guisan A. 2006. Five (or so) challenges for species distribution modelling. *Journal of Biogeography* 33: 1677-1688. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2006.01584.x

Baldwin RA. 2009. Use of maximum entropy modeling in wildlife research. *Entropy* 11: 854-866. DOI: https://doi.org/10.3390/e11040854

Coordinación General del Servicio Meteorológico Nacional de la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). 2022. Mapas de climatología 1980–2010. https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/informacion-climatologica/mapas-de-climatologia-1981-2010 (Consultada el 22 de abril de 2022).

Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). 2001. 'Provincias biogeográficas de México'. Escala 1:4 000 000. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México, D. F. http://geoportal.conabio.gob.mx/metadatos/doc/html/rbiog4mgw.html (Consultada el 22 de agosto de 2022).

Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). 2010. *El bosque mesófilo de montaña en México: Amenazas y oportunidades para su conservación y manejo sostenible*. D.F., México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. pp 199. ISBN: 978-607-7607-35-9

Cruz-Cárdenas G, Villaseñor JL, López-Mata L, Ortiz E. 2012. Potential distribution of humid mountain forest in Mexico. *Botanical Sciences* 90: 331-340. DOI: https://doi.org/10.17129/BOTSCI.394

Číhal L, Kaláb O, Plášek V. 2017. Modeling the distribution of rare and interesting moss species of the family Orthotrichaceae (Bryophyta) in Tajikistan and Kyrgyzstan. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 86: 1-15. DOI: https://doi.org/10.5586/asbp.3543

Delgadillo-Moya C. 2014. Biodiversidad de Bryophyta (musgos) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 85: S100-S105. DOI: https://doi.org/10.7550/rmb.30953

Delgadillo-Moya C, Peña-Retes AP, Villaseñor JL, Ortiz E. 2019. Moss endemism in the Mexican flora, *Systematics and Biodiversity* 17:458-466. DOI: https://doi.org/10.1080/14772000.2019.1620895

Delgadillo-Moya C, Villaseñor JL, Ortiz E, Campos-Villanueva Á 2017. Floristic richness of the cloud forest moss flora of Veracruz, Mexico. *Nova*

Hedwigia 105: 43-63. DOI: DOI:10.1127/nova_hedwigia/2017/0399

Fick SE, Hijmans RJ. 2017. WorldClim 2: new 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology* 37: 4302-4315. DOI: https://doi.org/10.1002/joc.5086

Foster P 2001. The potential negative impacts of global climate change on tropical montane cloud forests. *Earth-Science Reviews* 55:73-106. DOI: https://doi.org/10.1016/S0012-8252(01)00056-3

Glime JM. 2017. Meet the Bryophytes. Chapt. 2-1. En: Glime JM, ed. *Bryophyte Ecology*. Volume 1. Physiological Ecology. Ebook 2-1-1 sponsored by Michigan Technological University and the International Association of Bryologists. Ultima Actualización 22 August 2020 URL: <http://digitalcommons.mtu.edu/bryophyte-ecology/>.

Gual-Díaz M, González-Medrano F 2014. Los Bosques Mesófilos de Montaña en México. En: Gual-Díaz M y Rendón-Correa R, eds. *Bosques mesófilos de México: diversidad, ecología y manejo*. México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. pp 27-68. ISBN: 978-607-8328-07-9

Hansen MC, Potapov PV, Moore R, Hancher M, Turubanova SA, Tyukavina A, ..., Townshend J. 2013. High-resolution global maps of 21st-century forest cover change. *Science* 342: 850-853. DOI: https://doi.org/10.1126/science.1244693

Herrera-Paniagua P, Martínez M, Hernández-Sandoval L, García-Franco J. 2017. Epiphytic Mosses in the Humid Mountain Forests of the Sierra Madre Oriental, Mexico — Species Richness, Rarity and Composition. *Cryptogamie, Bryologie* 38: 171-190. DOI: https://doi.org/10.7872/cryb/v38.iss2.2017.171

Hernandez PA, Graham CH, Master LL, Albert DL 2006. The effect of sample size and species characteristics on performance of different species distribution modeling methods. *Ecography* 29: 773-785. DOI: https://doi.org/10.1111/j.0906-7590.2006.04700.x

Hietz, P. 2010. Ecology and ecophysiology of epiphytes in tropical montane cloud forests. En: Bruijnzeel LA, Scatena FN, Hamilton LS, eds. *Tropical montane cloud forests: science for conservation and management*. United Kingdom at the University Press, Cambridge pp. 67-76.

Hutchinson GE. 1957. Concluding remarks. population studies: animal ecology and demography. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantative Biology* 22: 415-427.

Jarvis A, Mulligan M. 2010. The climate of cloud forests. En: Bruijnzeel LA, Scatena FN, Hamilton LS, eds. *Tropical montane cloud forests: science for conservation and management*. United Kingdom at the University Press, Cambridge pp. 39-56. DOI: https://doi.org/10.1002/hyp.7847

Kass JM, Vilela B, Aiello-Lammens ME, Muscarella R, Merow C, Anderson RP. 2018. Wallace: A flexible platform for reproducible modeling of species niches and distributions built for community expansion. *Methods in Ecology and Evolution* 9: 1151–1156. DOI: https://doi.org/10.1111/2041-210X.12945

Lai GY, Liu HC, Chung CH, Wang CK, Huang CY. 2021. Lidar-derived environmental drivers of epiphytic bryophyte biomass in tropical montane cloud forests. *Remote Sensing of Environment* 253: 112166. DOI: https://doi.org/10.1016/j.rse.2020.112166

Li Q, Ren H, Zheng L, Cao W, Zhang A, Zhuang D, ..., Jiang H. 2017. Ecological niche modeling identifies fine-scale areas at high risk of dengue fever in the Pearl River Delta, *China. International Journal of Environmental Research and Public Health* 14: 619. DOI: https://doi.org/10.3390/ijerph14060619

López-Mata L., Villaseñor JL, Cruz-Cárdenas G, Ortiz E, Ortiz-Solorio C. 2012. Predictores ambientales de la riqueza de especies de plantas del bosque húmedo de montaña de México. *Botanical Sciences* 90: 27-36. DOI: https://doi.org/10.17129/botsci.383

Morales NS, Fernández IC, Baca-González V. 2017. MaxEnt's parameter configuration and small samples: are we paying attention to recommendations? A

systematic review. *PeerJ* 5: 1-16 [e3093]. DOI: https://doi.org/10.7717/peerj.3093

Mota-Vargas C, Encarnación-Luévano A, Ortega-Andrade HM, Prieto-Torres DA, Peña-Peniche A, Rojas-Soto OR. 2019. *Una breve introducción a los modelos de nicho ecológico*. En: Moreno CE, ed. La biodiversidad en un mundo cambiante: Fundamentos teóricos y metodológicos para su estudio. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo/Libermex, Ciudad de México, pp. 39-63.

Mulligan M. 2010. Modeling the tropics-wide extent and distribution of cloud forest and cloud forest loss, with implications for conservation priority. En: Bruijnzeel LA, Scatena FN, Hamilton LS, eds. *Tropical montane cloud forests: science for conservation and management*. United Kingdom at the University Press, Cambridge pp. 16-38. DOI: https://doi.org/10.1017/CBO9780511778384.004

Phillips SJ, Anderson RP, Schapire RE. 2006. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological modelling* 190: 231-259. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2005.03.026

Ponce-Reyes R, Reynoso-Rosales VH, Watson JEM., Van Der Wal J, Fuller RA, Pressey RL, Possingham HP. 2012. Vulnerability of cloud forest reserves in Mexico to climate change. *Nature Climate Change* 2: 448–452. DOI: https://doi.org/10.1038/nclimate1453

Potapov P, Li X, Hernandez-Serna A, Tyukavina A, Hansen MC, Kommareddy A, ..., Hofton M. 2021. Mapping global forest canopy height through integration of GEDI and Landsat data. *Remote Sensing of Environment* 253: 112165. DOI: https://doi.org/10.1016/j.rse.2020.112165

R Core Team. 2022. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. URL https://www.R-project.org/.

Rojas-Soto O, Sosa V, Ornelas JF. 2012. Forecasting cloud forest in eastern and southern Mexico: conservation insights under future climate change scenarios. *Biodiversity and Conservation* 21: 2671-2690. DOI: https://doi.org/10.1007/s10531-012-0327-x

Sánchez-Ramos G. y Dirzo R. 2014. El bosque mesófilo de montaña: Un ecosistema prioritario amenazado. En: Gual-Díaz M. y Rendón-Correa R. (Compiladores). *Bosques mesófilos de México: diversidad, ecología y manejo*. México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. pp. 109-139. ISBN: 978-607-8328-07-9

Soberón J, Osorio-Olvera L, Peterson T. 2017. Diferencias conceptuales entre modelación de nichos y modelación de áreas de distribución. *Revista mexicana de biodiversidad* 88: 437-441. DOI: https://doi.org/10.1016/j.rmb.2017.03.011

Syfert MM, Smith MJ, Coomes DA. 2013. Correction: The Effects of Sampling Bias and Model Complexity on the Predictive Performance of MaxEnt Species Distribution Models. *PLoS ONE* 8. DOI: https://doi.org/10.1371/annotation/35be5dff-7709-4029-8cfa-f1357e5001f5

Villaseñor J.L. 2010. *El bosque húmedo de montaña en México y sus plantas vasculares: catálogo florístico-taxonómico*. D.F., México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. ISBN: 978-607-02-1557-5

Warren DL, Seifert SN. 2011. Ecological niche modeling in Maxent: the importance of model complexity and the performance of model selection criteria. *Ecological Applications* 21: 335-342. DOI: https://doi.org/10.1890/10-1171.1

Wierzcholska S, Dyderskib MK, Jagodziński AM. 2020. Potential distribution of an epiphytic bryophyte depends on climate and forest continuity. *Global and Planetary Change* 193: 103270. DOI: https://doi.org/10.1016/j.gloplacha.2020.103270

Wilson AM, Jetz W. 2016. Remotely sensed high-resolution global cloud dynamics for predicting ecosystem and biodiversity distributions. *PLoS biology* 14: e1002415. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002415

Flores nativas comestibles de Querétaro: Contenido nutricional y conocimiento tradicional

Lizeth Harzbecher de la Vega*, Rosalinda González Santos, Luis Gerardo Hernández Sandoval, Jorge Luis Chávez Servín

Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro. Av. de las Ciencias S/N, Delegación, 76230 Juriquilla, Qro.
*lizetharzbecher@gmail.com

Resumen

El conocimiento sobre el consumo de las flores ha prevalecido por generaciones dentro de las familias en zonas rurales, incluso trascendiendo internacionalmente. Estas plantas aportan proteínas, minerales, antioxidantes, así como otros nutrientes a la dieta. Para documentar la diversidad, uso y manejo de las flores nativas comestibles de Querétaro, se aplicaron entrevistas semiestructuradas, listados libres y colectas botánicas, en mercados y milpas de tres regiones con población indígena en Querétaro: Amealco, Tolimán y Sierra Gorda (Jalpan, Pinal de Amoles y Landa de Matamoros). Para contabilizar el contenido nutricional y de compuestos bioactivos, se analizaron 15 muestras de flores mediante el Análisis Químico Proximal (AQP) y pruebas colorimétricas. Se encontraron 45 especies de flores nativas comestibles, distribuidas en 18 familias botánicas. De estas, el 51% estaba bajo un sistema de recolección de ejemplares silvestres. La mayoría se consumen guisadas y 24 especies se someten a algún tipo de pretratamiento antes del consumo. Las especies con índices de importancia más altos fueron: *Cucurbita pepo* (0.72), *Chenopodium berlandieri* (0.48) y *Lippia graveolens* (0.41). Los valores en el AQP más resaltantes fueron para *Cercis canadensis* con 20.04% de proteína cruda, 13.3% de fibra y para *Erythrina americana* con 23.58% de proteína cruda y 15.03% de fibra. El conocimiento de las flores nativas útiles de Querétaro es alto, así como el aporte nutricional que integran a la dieta, sin embargo, está en riesgo de desaparecer, por lo que es imprescindible fomentar la conservación del conocimiento y uso sostenible de los recursos en esta región.

Abstract

Knowledge about the consumption of flowers from Queretaro has prevailed for generations within families in rural areas, even transcending internationally. These plants provide protein, minerals, antioxidants, as well as other nutrients to the diet. To document the diversity, use and management of flowers, semi-structured interviews, free lists, and botanical collections were applied in markets and milpas in three regions with indigenous populations in Queretaro: Amealco, Toliman and Sierra Gorda (Jalpan, Pinal de Amoles and Landa de Matamoros). To measure the nutritional content and bioactive compounds, 15 flower samples were analyzed using Proximal Chemical Analysis (PCA)and colorimetric tests. 47 species of edible native flowers were found, distributed in 18 botanical families. Of these, 51% were under a system of wild specimen gathering. Most are eaten stewed, and 24 species undergo some type of pre-treatment before consumption. The species with the highest importance indices were *Cucurbita pepo* (0.72), *Chenopodium berlandieri* (0.48) y *Lippia graveolens* (0.41). The most outstanding values in the PCA were for the flowers of *Cercis canadensis* with 20.04% crude protein, 13.3% fiber and for *Erythrina americana* with 23.58% crude protein and 15.03% fiber. The knowledge of the useful native flowers of Querétaro is high, as well as the nutritional contribution that they integrate into the diet, however, it is at risk of disappearing, so it is essential to promote the conservation of knowledge and sustainable use of resources in this region.

Palabras clave: intensidad de manejo, importancia cultural, frecuencia de mención relativa, contenido nutricional

Key words: management intensity, cultural importance, relative mention frequency, nutrient content

Introducción

El conocimiento sobre el uso y preparación de las flores ha prevalecido por generaciones dentro de las

familias en zonas rurales, incluso trascendiendo internacionalmente. En México, se incluye una amplia variedad de flores dentro de las dietas locales. Estas plantas aportan proteínas, minerales, antioxidantes, así como otros nutrientes a la dieta (Sotelo *et al*., 2007).

Dentro de toda la diversidad de plantas comestibles en México, existen pocos trabajos etnobotánicos que se enfoquen en las flores, menos aún, aquellos que analicen su contenido nutricional y de compuestos bioactivos (Sotelo *et al*., 2007; Pinedo-Espinoza *et al*., 2020). Para Querétaro y regiones adyacentes, hay trabajos donde recopilan distintas recetas de platillos hñähñus preparadas con flores, pero no se usan nombres científicos para su identificación taxonómica (Latapí, 2014; Peña y Hernández, 2014). Aunado a esto, tampoco hay trabajos que contrasten la diversidad de flores comestibles entre las comunidades indígenas del estado de Querétaro, ni estudios bromatológicos y de compuestos bioactivos de estas plantas nativas.

Para aumentar el conocimiento de la flora nativa útil de Querétaro, revalorizar el conocimiento tradicional indígena, y a su vez, promover un uso sostenible de los recursos, se propone elaborar un estudio que documente la riqueza, uso y manejo, así como las propiedades nutricionales y compuestos bioactivos de las flores comestibles nativas en tres regiones con población indígena del estado de Querétaro: Amealco, Tolimán y Sierra Gorda (Jalpan y Landa de Matamoros).

Metodología

Zona de estudio

El presente estudio se llevó a cabo en tres regiones del estado de Querétaro con población indígena. El municipio de Amealco se ubica al sureste del estado, cuenta con clima templado subhúmedo (Cfb) y precipitaciones anuales promedio de 700-1000 mm. Presenta vegetación predominante de bosque de encino con una importante deforestación por uso agrícola y ganadero, así como un suelo tipo phaeozem y luvisol. Es considerado municipio indígena ya que hasta 2020, en él habitan 66,841 personas, de las cuales 11,502 son mayores de 5 años que hablan hñähñu. Tolimán se ubica al oeste del estado, colindando con Guanajuato. Presenta con clima seco semicálido (Cwb) predominante y precipitaciones anuales de 400-700 mm. La vegetación predominante es matorral xerófilo, con elementos de bosque de galería en las cárcavas de los cerros y una zona con bosque de encino y pino piñonero, asimismo, presenta suelos predominantes de tipo phaeozem y leptosol. Tolimán también se considera municipio indígena, con una población de 27,916 habitantes, de los cuales 5,387 se consideran ñhähñu. La región Sierra Gorda engloba tres municipios, los cuales comparten un flujo de población con la huasteca potosina, en las actividades económicas y los días de mercado. En esta región predominan los climas semicálido subhúmedo Cfa, precipitaciones anuales de 600-1300 mm y vegetación predominante bosque de coníferas, de encino y de montaña, presenta sueños de tipo leptosol y luvisol. La población indígena que reside en estos municipios es mínima (alrededor de 60 personas), reconociéndose como Tének o Xi'uy, sin embargo, el intercambio cultural entre los Tének de San Luis Potosí es alto.

Diversidad de especies

La diversidad de especies se estimó mediante colectas botánicas y entrevistas semiestructuradas aleatorias durante 2022. Las colectas se llevaron a cabo en mercados, tianguis semanales, milpas, bosques y cultivos de traspatio en las tres zonas de estudio, registrándose su nombre común e indígena. Se resguardó al menos un ejemplar de cada especie en el herbario Jerzy Rzedowski (QMEX) de la Universidad Autónoma de Querétaro y otra parte de las colectas se destinaron al análisis nutricional.

Uso, manejo y conocimiento tradicional

Se aplicaron 53 entrevistas en total, 18 en Amealco, 19 en Tolimán y 16 en Sierra Gorda. El muestreo se enfocó en comerciantes de alimentos en tianguis y mercados, así como en las personas que adquirían los productos. También se entrevistaron agricultores que se encontraban en sus milpas y amas de casa .

El índice de Importancia Cultural se obtuvo siguiendo la fórmula propuesta por González-Insuasti (2007) y modificada por Blancas *et al*. (2013), con

modificaciones para este estudio. El índice ajustado fue el siguiente:

$$Ic = \frac{P\ Tu\ U\ Udc\ S\ Nsu\ Pac\ C\ PC\ M}{10000}$$

En donde *P* = número de personas entrevistadas que comen la planta, *Tu* = tipo de uso alimenticio (bebida=1, golosina=2, condimento=3, comida =4), *U* = frecuencia de uso (una o menos veces al año = 1; dos o más veces al año = 2; 10 o más veces al año = 3; más de 10 veces al año = 4; más de una vez a la semana = 5), *Udc* = último día de consumo (hace más de un año = 1; hace menos de un año = 2; hace menos de 6 meses = 3; en el último mes = 4; en la última semana = 5), *S* = estructuras usadas como alimento además de la flor (toda la planta =1, flor y hojas tiernas/tallos = 2; botones y flores =3; sólo flores/pétalos = 4), *Nsu* = número total de estructuras consumidas (frutos, raíces, hojas, tallos), *Pac* = pretratamiento antes del consumo (no es necesario = 1; cocción en agua hirviendo = 2; cocción en agua con sal o bicarbonato = 3, cocción con cal / nixtamalización = 4) , *C* = comercialización (no se vende = 1; se vende = 2), *PC* = posibilidad de comercio (no existe mercado para el producto = 1; sí es posible su comercialización =2), *M* = uso medicinal (no tiene uso medicinal además del alimenticio = 1; sí tiene un uso medicinal además del alimenticio = 2) (Blancas *et al.*, 2013).

Adicionalmente, se recopiló información sobre las formas de preparación de las flores agrupándolas en las siguientes 10 categorías: cocinado solo, guisado, en tacos o quesadillas, cocinado con huevo (huevo revuelto o capeado), para la elaboración de bebidas (infusiones), crudo, asado o al vapor, integrado en la masa de tortillas, condimento o tinte y en sopa o con frijoles. calculó la frecuencia de mención relativa (Fmr), usando el listado libre, en donde se acumulan las menciones de las flores comestibles y se divide la suma entre la cantidad de informantes por localidad (Burrola-Aguilar *et al.*, 2012). El grado de manejo se estimó mediante el índice de intensidad de manejo (IM) con la ecuación propuesta por González-Insuasti y Caballero (2007) y modificada por Balcázar-Quiñones *et al.* (2020).

$$IM = \sum MF \times \frac{n}{N}$$

Donde IM es la Intensidad de Manejo de una planta en específico; MF es el manejo de acuerdo con el grado de complejidad (1= recolectada o silvestre con manipulación poco intensiva, 2= manejo incipiente no selectivo (toleradas que crecen en la escarda), 3= manejo incipiente selectivo (protegidas que crecen en la escarda), 4= cultivo *ex situ* incipiente (promovidas que aumentan con podas, dispersión ocasional, etc), 5= agricultura no intensiva (huertos de traspatio, siembra ocasional), 6 = agricultura (cultivo con manipulación muy intensiva); n es el número de informantes entrevistados que practican alguna forma de manejo; y N es el número total de informantes entrevistados.

Análisis Químico Proximal

Se analizaron siete muestras de material vegetal, que se adquirió en mercados, tianguis o fue colectado en milpas o silvestre. El material se deshidrató en estufa, y se siguieron los métodos estandarizados por la AOAC para la cuantificación de proteína cruda (N x 6.25), fibra cruda, contenido etéreo, cenizas y humedad. Las especies analizadas fueron *Leucaena esculenta, Erythrina americana, Agave mapisaga, Opuntia dejecta, Ceris canadensis, Opuntia cochellinifera* y *Yucca treculeana.*

Resultados

Diversidad de especies

Por medio de las entrevistas se obtuvo una diversidad de 47 especies de plantas con flores comestibles, distribuidas en 18 familias y 34 géneros (tabla 1). La familia más diversa fue Asparagaceae con siete especies, seguida por Asteraceae (6), Cactaceae (6), Cucurbitaceae (5), Fabaceae (4) y Lamiaceae (4). En Amealco se mencionaron 30 especies, en Tolimán 14 y en Sierra Gorda 19. Se mencionaron 6 especies introducidas con un uso alimenticio importante (*Aloe sp, Brassica rapa, Nasturtium officinale, Vicia faba, Malva parviflora* y *Bougainvillea spectabilis*). Amealco fue el único sitio en donde se mencionó el consumo de flores de *Cosmos bipinnatus, Dahlia coccinea, Tagetes lucida, Tagetes micrantha, Opuntia*

lasiacantha, Opuntia tomentosa, Ipomoea stans, Agastache mexicana, Clinopodium macrostemum, Salvia mexicana y flores masculinas de *Zea mays*. En Tolimán se hicieron menciones únicas del consumo de la flor o botones florales de *Agave albomarginata, Dasylirion acrotrichum, Chrysactinia mexicana, Heterotheca inuloides, Clinopodium mexicanum* y *Lippia graveolens*. Mientras que para la Sierra Gorda se mencionaron *Agave xylonacantha, Yucca treculeana, Opuntia cochenillifera, Opuntia dejecta, Sechium edule, Cnidosculus multilobus, Cercis canadensis, Leucaena* esculenta y *Tigridia pavonia* como flores comestibles.

Uso, manejo y conocimiento tradicional

Se registraron cuatro usos para las flores: alimenticio (33 especies), condimento (8 especies), golosina (3 especies) y para la elaboración de bebidas (9 especies). De estas, 6 especies tienen más de un uso: *D. coccinea* se usa como comida y condimento añadida a las tortillas, *M. geometrizans* se usa como comida y para la elaboración de infusiones, *O. robusta* como comida y golosina, *O. tomentosa* como comida, condimento en la elaboración de salsas y golosina, *T. lucida* y *T. micrantha* como condimento en la cocción de elotes y en bebidas. De las especies enlistadas, 34 se consumen cocinado (hervido solo, guisado, en tacos o quesadillas, cocinado con huevo, asado o al vapor, integrado en la masa de tortillas y en sopa o con frijoles), mientras que cuatro se consume crudo, siete en bebidas y seis como condimento (cuadro 2). De 11 especies se come exclusivamente la flor madura, en algunos casos retirando la parte reproductiva y consumiendo sólo los pétalos o tépalos, mientras que de 17 especies se puede comer tanto la flor madura como los botones florales y de 19 se come la flor junto con hojas, tallos o raíz. Adicionalmente, los informantes mencionan que 18 especies tienen un uso medicinal, principalmente para tratar afecciones del sistema respiratorio y digestivo (*A. mexicana, A. albomarginata Aloe sp, B. spectabilis, C. canadensis, C. mexicana, C. macrostemum, C. mexicanum, C. bipinnatus, D. ambrosioides, E. americana, H. inuloides, I. stans, L. graveolens, M. parviflora, Salvia mexicana, T. lucida* y *T. micrantha).*

De acuerdo con los informantes, 29 especies son recolectadas o tienen un manejo incipiente, mientras que 16 están bajo un sistema de cultivo de traspatio o intensivo, 14 especies sólo se comen después de haberles dado un pretratamiento (cocción en agua, agua con sal o bicarbonato, agua con cal o nixtamalización). El origen del 92% de las menciones fue a través del conocimiento familiar transmitido, mientras que 4.5% se obtuvo a través de cursos, amigos o experiencia propia y el resto de los informantes no quisieron compartir tal información.

El valor de Importancia Cultural (IC) más alto lo obtuvo *C. pepo* (0.721), *C. berlandieri* (0.481) y *M. parviflora* (0.446) en Amealco. En Tolimán los valores más altos fueron para *C. pepo* (0.441) y *L. graveolens* (0.418), mientras que en Sierra Gorda *E. americana* (0.390), *C. moschata* (0.386) y *Y. treculeana* (0.346) obtuvieron los valores más altos.

El Índice de Manejo (IM) más alto fue para *C. pepo* con 67.5 y 44.21, en Amealco y Tolimán, respectivamente. Le sigue *Y. treculeana* con 47.11, E. *americana* con 37.56 y *C. moschata* con 27.00, en la Sierra Gorda.

La Frecuencia de Mención Relativa (Fmr) más alta para Amealco fue para *C. pepo* (0.83), empatada para *Agave* sp y *B. rapa* (0.56) y *T. lucida* (0.5). En Tolimán los valores más altos fueron para *Aloe* sp (0.74), *Y. filifera* (0.68) y *C. pepo* (0.63). Para la Sierra Gorda resaltan los valores de *Y. treculeana* (0.89) y *E. americana* (0.72).

Análisis Químico Proximal

En el cuadro 3 se muestran los valores obtenidos en el AQP. La especie con mayor fibra cruda fue *E. americana* (15.03%), seguido por *C. canadensis* (13.33%). El mayor contenido de cenizas fue de *O. cochenillifera* (13.16%). Para proteína cruda, los contenidos de *E. americana* (23.58%) y *C. canadensis* (20.04%) fueron los mayores. Para el extracto etéreo, el contenido de *A. mapisaga* (2.95%) fue el mayor.

Cuadro 1. Diversidad, importancia cultural, intensidad de manejo y frecuencia de mención relativa de las especies con uso comestible para tres regiones de Querétaro, nombre local y nombre indígena

				Amealco					Tolimán					Sierra Gorda				
Familia	**Especie**	**Nombre local**	**Nombre indígena**	**NPC**	**NFP**	**IC**	**IM**	**Fmr**	**NPC**	**NFP**	**IC**	**IM**	**Fmr**	**NPC**	**NFP**	**IC**	**IM**	**Fmr**
Amaranthaceae	*Amaranthus hybridus*	quelite		1	2	0.010	0.17	0.06										
	Chenopodium berlandieri	cenizo, huauzontle		6	3	**0.487**	8.67	0.33										
	Dysphania ambrosioides	epazote												1	2	0.205	0.28	0.06
Asparagaceae	*Agave albomarginata*	flor de lechuguilla							1	2	0.005	0.05	0.05					
	Agave mapisaga	flor de maguey		1	3	0.014	0.28	0.06										
	Agave sp	chiveles, chiveles de maguey, flor de maguey, flor de quiote, platanero	doni dega ya wa'da, doni dega 'wa'da	**10**	3	0.175	**17.22**	**0.56**	6	3	0.017	2.84	0.37	8	4	0.042	**12.00**	0.44
	Agave xylonacantha	chiveles de maguey de peña												2	2	0.001	0.22	0.11
	Dasylirion acrotrichum	manitas, cucharilla, pata de gallina	doni 'wa'ni						4	1	0.004	0.84	0.21					
	Yucca filifera	flor de palma, flor de palma de desierto	doni 'bahi, doni dega 'bahi, doni dega ya palma	1	3	0.019	0.06	0.06	**9**	3	0.013	4.26	**0.68**					
	Yucca treculeana	chochas, flor de izote												**16**	3	**0.346**	**47.11**	**0.89**
Asphodelaceae	*Aloe**	chiveles de sábila, flor de sábila	xö'mdo, xö'nta	1	2	0.002	0.28	0.06	**11**	2	0.033	**9.26**	**0.74**	8	2	0.057	**13.33**	0.44
Asteraceae	*Chrysactinia mexicana*	San Nicolás							2	1	0.048	0.21	0.11					
	Cosmos bipinnatus	mirasol		1	1	0.005	0.06	0.06										
	Dahlia coccinea	dalia		4	2	0.030	1.78	0.22										
	Heterotheca inuloides	árnica							1	1	0.002	0.05	0.05					
	Tagetes lucida	pericón		9	2	0.125	5.00	**0.50**										
	Tagetes micrantha	anís, anís de campo		6	2	0.046	2.33	0.33										
Brassicaceae	*Brassica rapa**	nabo		**10**	**4**	0.196	**16.11**	**0.56**										
	*Nasturtium officinale**	berro		3	2	0.018	0.50	0.17										
Cactaceae	*Myrtillocactus geometrizans*	flor de garambullo	doni 'böxtö, doni dega 'möxtö, doni nboxto	2	1	0.014	0.22	0.11	7	3	0.024	2.58	0.47					
	Opuntia cochenillifera	tunitas												4	3	0.109	2.89	0.22
	Opuntia dejecta	tunitas												7	3	0.142	2.72	0.39
	Opuntia lasiacantha	tunitas tuna blanca		1	2	0.003	0.22	0.06										
	Opuntia robusta	flor de bondota, flor de nopal, tunita		4	2	0.012	1.56	0.22	2	2	0.003	0.21	0.11					
	Opuntia tomentosa	coquita, flor de tuna, tunitas tuna roja		4	2	0.054	2.44	0.22										

Convulvulaceae	*Ipomoea stans*	tabaquero, tumba vaquero		3	1	0.051	0.83	0.17											
Cucurbitaceae	*Cucurbita argyrosperma*	flor de calabaza												5	3	0.153	8.33	0.28	
	Cucurbita ficifolia	flor de chilacayote		5	1	0.019	7.22	0.28	1	2	0.001	0.26	0.05	1	2	0.010	0.33	0.06	
	Cucurbita moschata	flor de calabaza	doxmu, doni dega do'mu	3	2	0.134	3.00	0.17	6	3	0.152	**11.37**	0.32	**9**	3	**0.386**	**27.00**	0.50	
	Cucurbita pepo	flor de calabaza, flor de calabaza indita	doni dega doxmu, doni dega mu, doni doxmu, mu	**15**	3	**0.721**	**67.50**	**0.83**	**12**	3	**0.441**	**44.21**	**0.63**	2	4	0.019	1.33	0.11	
	Sechium edule	guía de chayote												8	4	0.153	**18.67**	0.44	
Euphorbiaceae	*Cnidosculus multilobus*	flor de ortiga												8	2	0.177	4.00	0.44	
Fabaceae	*Cercis canadensis*	cachahua, caxahua, cuaresma, flor de cabra, pata de cabra												9	3	0.151	4.50	0.50	
	Erythrina americana	flor de colorín, pemoche		1	1	0.010	0.06	0.06						**13**	2	**0.390**	**37.56**	**0.72**	
	Leucaena esculenta	guañaces												5	2	0.068	2.22	0.28	
	*Vicia faba**	brote de haba		1	1	0.000	0.33	0.06											
Fagaceae	*Quercus rugosa*	cadenitas, flor de encino		6	1	0.007	2.00	0.33						4	2	0.005	0.89	0.22	
Iridaceae	*Tigridia pavonia*	cacomite												1	1	0.010	0.17	0.06	
Lamiaceae	*Agastache mexicana*	toronjil		2	1	0.086	1.22	0.11											
	Clinopodium macrostemum	poleo		1	1	0.051	0.06	0.06											
	Clinopodium mexicanum	poleo verde							1	1	0.026	0.05	0.05						
	Salvia mexicana	flor de güilo		1	1	0.001	0.06	0.06											
Malvaceae	*Malva parviflora**	malva	xiconi	4	2	**0.446**	2.44	0.22											
Nyctaginaceae	*Bougainvillea spectabilis**	camelina morada		1	1	0.026	0.22	0.06											
Poaceae	*Zea mays*	espiga de maíz		5	1	0.014	8.33	0.28											
Portulacaceae	*Portulaca oleracea*	verdolaga		1	1	0.006	0.11	0.06						1	1	0.014	0.17	0.06	
Verbenaceae	*Lippia graveolens*	orégano							5	2	**0.418**	1.32	0.26						

NPC: Número de personas que la consumen; NFP: Número de formas de preparación; IC: importancia Cultural; IM: Intensidad de Manejo; Fmr: Frecuencia de mención relativa. Os asteriscos señalan las especies introducidas.

Cuadro 2. Formas de uso de las especies registradas como comestibles en el área de estudio

Especie	C	G	T	H	B	Cr	A	M	Co	S
Agastache mexicana					X					
Agave albomarginata		X		X						
Agave mapisaga	X	X		X						
Agave sp	X	X		X			X			
Agave xylonacantha		X					X			
Aloe		X		X						
Amaranthus hybridus		X	X							
Bougainvillea spectabilis					X					
Brassica rapa	X	X	X			X				
Cercis canadensis	X	X					X			
Chenopodium berlandieri	X	X		X						
Chrysactinia mexicana					X					
Clinopodium macrostemum					X					
Clinopodium mexicanum					X					
Cnidosculus multilobus		X					X			
Cosmos bipinnatus						X				
Cucurbita argyrosperma		X	X							X
Cucurbita ficifolia		X	X							
Cucurbita moschata		X	X							X
Cucurbita moschata		X	X							X
Cucurbita pepo		X	X				X			X
Dahlia coccinea						X			X	
Dasylirion acrotrichum		X								
Dysphania ambrosioides			X						X	
Erythrina americana		X		X						
Heterotheca inuloides					X					
Ipomoea stans								X		
Leucaena esculenta						X			X	
Lippia graveolens					X				X	
Malva parviflora	X	X								
Myrtillocactus geometrizans		X		X			X			
Nasturtium officinale		X	X							
Opuntia cochenillifera	X	X								X
Opuntia dejecta	X	X								X
Opuntia lasiacantha		X								X
Opuntia robusta		X				X				X
Opuntia tomentosa		X								X
Portulaca oleracea		X								
Portulaca oleracea		X								
Quercus rugosa		X		X						
Salvia mexicana							X			
Sechium edule	X	X						X		X
Tagetes lucida					X				X	
Tagetes micrantha					X				X	
Tigridia pavonia		X								
Vicia faba		X								
Yucca filifera		X		X				X		
Yucca treculeana		X		X				X		
Zea mays									X	

C: cocinado solo; G: guisado; T: en tacos; H: revuelto con huevo o capeado; B: bebidas; Cr: crudo; A: asado o al vapor; M: en la masa de las tortillas; Co: condimento; S: sopa o en los frijoles.

Tabla 3. Análisis Químico Proximal de 4 especies de flores comestibles en el estado de Querétaro

Especie	*SC*	*%H*	*%FC*	*%C*	*%PC*	*%EE*
A. mapisaga	Am	11.2	11.2	5.0	11.0	**2.9**
C. canadensis	LM	7.7	13.3	5.7	**20.0**	1.5
E. americana	LM Ja	6.8	**15.0**	9.4	**23.6**	0.9
O.cochenillifera	LM	6.1	13.0	**13.2**	10.3	1.5
Y.treculeana	LM Ja	7.8	7.3	8.0	11.1	0.9

SC: Sitio de colecta; Am, Amealco; Ja, Jalpan; LM, Landa de Matamoros; %H: porcentaje de humedad; %FC: porcentaje de fibra cruda; %C: porcentaje de cenizas; %PC: porcentaje de proteína cruda; %EE: porcentaje de extracto etéreo.

Discusión

La diversidad de especies cuya flor es consumida fue más alta de lo esperado. En Amealco la población indígena representa el 17% de la población total y el grado de marginación es alto. De acuerdo con lo que menciona Boege (2008), los indígenas y campesinos conservan mucho del conocimiento del uso de la biodiversidad, lo que corresponde con que Amealco fuera el sitio donde más diversidad de flores se consumen y en donde la importancia cultural fue más alta para algunas especies con manejo ocasional, como C. *berlandieri* (0.481) y *M. parviflora* (0.446),

así como lo reporta Balcázar- Quiñonez (2020) para una comunidad otomí en el estado de México. En Tolimán los valores de IC para *C. pepo* fueron de 0.441, a pesar de que la mayoría la siembra, pero no mucha gente la consume. En Tolimán, *L. graveolens* también obtuvo un valor de IC alto (0.418), ya que su colecta y comercio representa una de las principales actividades económicas en la región, a pesar de ser un especie recolectada y usada solo como condimento y ocasionalmente como medicinal. En Sierra Gorda *E. americana* (0.390) y *Y. treculeana* (0.346) destacan al ser especies arborescentes, que crecen en la vegetación aledaña a las comunidades, pero que están bajo un manejo semi intensivo, al ser sembradas en el solar o cerca de las casas de los informantes.

Algunas de estas especies son utilizadas también en otras regiones del país. Se tiene registro del consumo de las flores de 16 especies de *Agave*, sin embargo, no se había registrado el consumo de *A. xylonacantha* ni *A. albomarginata*. D. acrotrichum también se consume en Hidalgo y es comercializada en los mercados de Pachuca (Figueredo-Urbina *et al*., 2021). Las flores de *D. cedrosanum, D. longissimum* y *D. serratifolium* también son consumidas en Oaxaca, Tamaulipas y Puebla (Blancas *et al*., 2013; Figueredo-Urbina *et al*., 2021; Hernández-Sandoval *et al.*, 1991). De Yucca se mencionan ocho especies con flores comestibles en 7 estados de la república (Piedra-Malagón *et al.*, 2022), incluyendo a *Y. filifera* para Querétaro, sin embargo, no se menciona el consumo de *Y. treculeana*. El consumo de *C. canadensis, Leucaena*, y algunas especies de *Erythrina* corresponde a la región de la huasteca, en poblaciones Tének, principalmente (Figueredo-Urbina *et al*., 2021; Hernández-Sandoval *et al.*, 1991; Pinedo-Espinoza *et al*., 2020).

El contenido nutricional de *E. americana* fue cercano a lo reportado por Sotelo (2007) y a Pinedo-Espinoza (2020), a excepción del contenido de proteína cruda que fue ligeramente mayor (23.58 contra 19.64 g/100 g). El mismo caso ocurrió con el contenido de extracto etéreo y fibra cruda para *A. mapisaga*, sin embargo, Sotelo analizó el contenido de *A. salmiana*. Pinedo-Espinoza reporta valores muy elevados en el AQP de *Y. filifera*, en comparación con los obtenidos para *Y. treculeana*, explicando quizás, que el ecosistema en el que crecen las especies determina el contenido de nutrientes que aportan a la dieta.

Conclusiones

La diversidad de flores comestibles en Querétaro es alta y está asociada a un manejo y conocimiento tradicional que se ha transmitido por generaciones. Aunado a esto, el conocimiento sobre la preparación y la forma de hacer más palatable las flores, puede estar relacionada con la eliminación de compuestos tóxicos y también se ha transmitido por la línea familiar. Las flores que se consumen tradicionalmente en las distintas regiones de Querétaro demuestran aportar una buena cantidad de nutrientes a la dieta campesina y a cualquiera que las consuma.

Referencias bibliográficas

AOAC. (1990). Official Methods of Analysis, 15va ed. Association of Analytical Chemists, Arlington, VA.

Balcázar-Quiñones, A., L. White-Olascoaga, C. Chávez-Mejía, y Zepeda-Gómez, C. (2020). Los quelites: riqueza de especies y conocimiento tradicional en la comunidad otomí de San Pedro Arriba, Temoaya, Estado de México. Polibotánica.

Blancas, J., Casas, A., Pérez-Salicrup, D., Caballero, J. y Vega, E. (2013). Ecological and socio-cultural factors influencing plant management in Náhuatl communities of the Tehuacán Valley, Mexico. J. Ethnobiol. Ethnomedicine. 9: 1-22.

Boege, E. (2008). El patrimonio biocultural de los pueblos indígenas de México. Hacia la conservación in situ de la biodiversidad y agrodiversidad en los territorios indígenas INAH-CNDPI. México, D.F. 342 p.

Burrola-Aguilar, C., Montiel, O., Garibay-Orijel, R. y Zizumbo-Villareal, L. (2012). Conocimiento tradicional y aprovechamiento de los hongos comestibles silvestres en la región de Amanalco, Estado de México. Revista Mexicana de Micología. 35:1-16.

Figueredo-Urbina, C.J., Álvarez-Ríos, G. y Cortés, L. (2022). Flores comestibles comercializadas en mercados locales de Pachuca de Soto, Hidalgo, México. Botanical Sciences 100(1):120-138.

González-Insuasti, M. S. y Caballero, J. (2007). Managing plant resources: How intensive can it be?. Hum. Ecol. 35: 303–314.

Hernández-Sandoval, L., González- Romo, C. E., González Medrano, F. (1991). Plantas útiles de Tamaulipas. Anales de Instituto de Biología, 62(1):1-38.

Latapí L., H. (2014). Voces y sabores de la cocina otomí de Querétaro. CONACULTA. Ciudad de México. 156 p.

Peña S. E. Y. y Hernández, A. (2014). Tradiciones de la cocina hñähñu del Valle del Mezquital. CONACULTA. Ciudad de México. 367 p.

Piedra-Malagón, E.M., Sosa, V., Angulo, D.F., Díaz-Toribio, M.H. (2022). Edible native plants of the Gulf of Mexico Province. Biodiversity Data Journal 10: e80565

Pinedo-Espinoza, J. M., Gutiérrez-Tlahque, J., Santiago-Saenz,, Y. O., Aguirre-Mancilla, C. L., Reyes-Fuentes, M.y López-Palestina, C. U. (2020). Nutritional composition, bioactive compounds and antioxidant activity of wild edible flowers consumed in semiarid regions of Mexico. Plant Foods Hum. Nutr. 75: 413–419.

Sotelo, A., López-García, S.y Basurto-Peña, F. (2007). Content of nutrient and antinutrient in edible flowers of wild plants in Mexico. Plant Foods Hum. Nut. 62: 133–138.

Prevalencia de *Salmonella enterica* y *E. coli* patógena en agua de granjas avícolas

Jiménez-Zurita Emanuel I[1], Reséndiz-Nava Carolina N[2], Mercado-Silva Edmundo M[3], Wong-Lizárraga Jesús H[4], Rivera-Pastrana Dulce[5], Nava-Morales Gerardo M[6].

Departamento de Investigación y Posgrado de Alimentos, Facultad de Química, Laboratorio de Microbiología Molecular, Universidad Autónoma de Querétaro. Centro Universitario, Cerro de las Campanas S/N, Col. Las Campanas. C.P. 76010. Querétaro

[1]nutrizurita7@gmail.com
[2] carolina.resendiz.90@gmail.com
[3] mercado501120@gmail.com
[4] jrjhwong@gmail.com
[5]dulceriverap@gmail.com
[6]gerardomnava@gmail.com

Abstract

Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEc) strains and *Salmonella enterica* have been recognized as important causes of foodborne illnesses; also, these pathogens represent an important health issue for animals destined to meat production. For these reasons, it is necessary to perform surveillance of these pathogens in meat production systems. The objective of the present pilot study was to analyse the prevalence of ExPEc and *S. enterica* in water used in chicken meat industry. For this purpose, samples (n = 12) of drinking water from poultry farms intended for animal consumption were collected and subjected to conventional microbiology tests for the isolation of pathogenic *E. coli* and *S. enterica*. For the molecular identification of *S. enterica*, the isolates obtained were subjected to PCR assays aimed to amplify *invA* and *16s rRNA* genes. The identification of ExPEc strains was carried out through the amplification of 5 virulence genes: *iroN*, *hlyF*, *iutA*, *ompT* and *iss*. The preliminary prevalence observed in wate samples were 8.3% and 33.3% for ExPEc and *S. enterica*, respectively. These results suggest that water could be a potential source of ExPEc and *S. enterica* and represents a threat for animal health and meat production. Moreover, these pathogens represent a potential risk for public heath due to the consumption and handling of contaminated meat. Additional sampling and microbial analysis are in progress to uncover the prevalence and antimicrobials resistance profiles of ExPEc and *S. enterica* in poultry farms. This information will be essential to propose and establish surveillance and control programs for these pathogens in the meat production industry.

Key words: Water, *E. coli*, *S. enterica*, PCR, virulence

Resumen

Las cepas de *Escherichia coli* patógena extraintestinal (ExPEc) y *S. enterica* son reconocidas como las principales causas de enfermedades transmitidas por alimentos; además, afectan la salud de animales destinados a la producción de carne. Por estas razones, es necesario monitorear la presencia y prevalencia de estos patógenos en ambientes de producción de carne

destinada al consumo humano. El objetivo de este trabajo fue conocer la prevalencia de ExPEc y *S. enterica* en agua empleada en la industria de producción de carne de pollo. Para este fin, se colectaron muestras (n = 12) de agua potable de granjas avícolas destinada al consumo animal, las cuales fueron sometidas a ensayos de microbiología convencional para el aislamiento de *E. coli* patógena y *S. enterica.* Para la identificación molecular de *S. enterica*, los aislamientos obtenidos fueron sometidos a ensayos de PCR dirigidos a la amplificación de los genes *invA* y *16s rRNA*. La identificación de cepas ExPEc se llevó a cabo a través de la amplificación de 5 genes de virulencia: *iroN, hlyF, iutA, ompT* e *iss*. Estos ensayos, permitieron identificar prevalencias de 8.3% y 33.3% de ExPEc y *S. enterica*, respectivamente en muestras de agua destinada al consumo animal. Estos datos sugieren un potencial riesgo para la salud de los animales de producción y de los humanos que, a través del consumo y manipulación de carne contaminada con estos patógenos, pueden adquirir infecciones intestinales y extraintestinales. Se están realizando estudios adicionales de monitoreo permanente de la prevalencia y resistencia a antimicrobianos de ExPEc y *S. enterica* en granjas avícolas. Esta información servirá para fortalecer las medidas sanitarias y los programas de control de estos patógenos en la industria de producción de carne.

Palabras clave: Agua, *E. coli*, *S. enterica*, PCR, virulencia

Introducción

S. enterica y *Escherichia coli* patógena extraintestinal (ExPEc, por sus siglas en inglés) son bacterias reconocidas como los principales patógenos que afectan la salud de humanos, así como de animales destinados al consumo humano (Kathayat et al., 2021; Soria et al., 2013). Las cepas de ExPEc son las principales causantes de bacteriemias, meningitis y son la principal causa de infecciones del tracto urinario en humanos (Blanco et al., 2016). Además, se ha reportado que cepas de ExPEc están asociadas a enfermedades respiratorias y sistémicas en aves de corral, como la colibacilosis, pericarditis y septicemias (Kathayat et al., 2021). Para la identificación del potencial de virulencia de *E. coli* extraintestinal se han identificado cinco genes considerados como predictores mínimos de ExPEc: *iroN, hlyF, iutA, ompT* e *iss* (Ewbank et al., 2022).

Por otra parte, *S. enterica* es considerada la causa más frecuente de enfermades gastrointestinales transmitidas por alimentos (Soria et al., 2013). Reportes recientes indican que en Estados Unidos, *S. enterica* ocasiona 1,35 millones de infecciones, 26,500 hospitalizaciones y 420 muertes cada año (CDC, 2022). Además, distintos serotipos de *S. enterica* están asociadas a enfermedades de las aves, tales como pullorosis y fiebre tifoidea aviar (Course et al., 2021; Soria et al., 2013).

La transmisión de estos patógenos a través del consumo de carne de ave supone un potencial riesgo para la salud

humana (Guabiraba; & Schouler, 2015; Kathayat et al., 2021). Se ha identificado que el agua destinada al consumo animal es un vehículo importante para la transmisión de estas bacterias patógenas en los sistemas de producción de carne destinada al consumo humano (Andoh et al., 2016; Gu et al., 2019; Helmy et al., 2019; Ibrahim et al., 2019). Por estas razones, es necesario monitorear la presencia y la prevalencia de estos patógenos en granjas de producción de carne de ave.

En el presente trabajo se realizó un estudio de prevalencia de ExPEc y *S. enterica* en el agua destinada al consumo animal en granjas avícolas de la zona centro del país. Estos estudios de vigilancia epidemiológica servirán para fortalecer los sistemas de inocuidad en la industria avícola.

Metodología

Se recolectaron asépticamente 12 muestras de 50 ml de agua potable destinada al consumo animal en granjas avícolas de la zona centro del país.

Aislamiento e identificación molecular de ExPEc

El aislamiento de *E. coli* patógena se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita en reportes previos (Johnson et al., 2008). Para el enriquecimiento de las muestras, se tomaron 25 ml de la muestra de agua y se adicionaron 2.6 ml de Agua Peptonada Amortiguada (APA) preparada a una concentración 10X. Este caldo se incubó a 37°C por 24 h. Posteriormente, se realizó la siembra del caldo de enriquecimiento en medios selectivos, agar Eosina Azul de Metileno (EAM) y agar MacConkey, utilizando el método de extensión en superficie. Las placas se incubaron a 37 °C por 24 h. Se seleccionaron las colonias con morfología típica de *E. coli* en ambos medios selectivos. Las colonias presuntivas se purificaron en placas de Agar Soya Tripticasa y posteriormente se inocularon en 6 ml de Caldo Soya Tripticasa, que fueron incubados a 37 ºC por 24 h. Se colectaron alícuotas de 1 ml del CST inoculado para realizar la extracción de ADN y para el almacenamiento de las cepas en una solución de glicerol al 20% (v/v).

Las muestras de ADN de ExPEc se sometieron a ensayos PCR múltiple utilizando los iniciadores para *iroN*, *ompT* (Johnson et al., 2008), *hlyF* (Morales et al., 2004), *iutA* y *iss* (Johnson et al., 2008) Tabla 1. Desnaturalización inicial a 95 °C por 1 min, seguido de 35 ciclos de 95 °C por 30 s, alineación de 63°C por 30 s, una extensión de 72°C por 30 s y extensión final a 72 °C por 2 min. Los productos de la PCR se analizaron en geles de agarosa al 1,5 % teñidos con bromuro de etidio (Regalado-Pineda et al., 2020).

Gen	Secuencias	Amplicón (Tamaño)
iroN	F: AATCCGGCAAAGAGACGAACCGCCT R: GTTCGGGCAACCCCTGCTTTGACTTT	553 bp
ompT	F: TCATCCCGGAAGCCTCCCTCACTACTAT R: TAGCGTTTGCTGCACTGGCTTCTGATAC	496 bp
hlyF	F: GGCCACAGTCGTTTAGGGTGCTTACC R: GGCGGTTTAGGCATTCCGATACTCAG	450 bp
iutA	F: GGCTGGACATCATGGGAACTGG R: CGTCGGGAACGGGTAGAATCG	300 bp
iss	F: CAGCAACCCGAACCACTTGATG R: AGCATTGCCAGAGCGGCAGAA	323 bp

Tabla 1. Iniciadores para genes de virulencia de ExPEc. (bp) pares de bases.

Aislamiento e identificación molecular de *S. enterica*

El aislamiento de *S. enterica* se realizó siguiendo metodologías descritas en reportes previos (Nidaullah et al., 2017; Regalado-Pineda et al., 2020). Para el enriquecimiento de las muestras, se añadió 25 ml de agua de la muestra 2.6 ml (APA) a una concentración 10X. Este caldo se incubó a 37°C por 24 h. Posteriormente para el enriquecimiento se sembró en los medios caldo Rappaport-Vassiliadis y Tetrationato más yodo. Los caldos se incubaron a 42°C y 37°C por 24 h respectivamente. Posteriormente, se sembró en agar xilosa lisina desoxicolato (XLD) suplementado con novobiocina sódica (0.001% *p/v*) y se incubó a 37 °C por 24 h. Las colonias presuntivas se sembraron en agar xilosa lisina desoxicolato (XLD) para obtener cultivos puros; finalmente se sometieron a prueba de ureasa. Se tomaron 1 ml de CST para la extracción de ADN y para el almacenamiento de las cepas en una solución de glicerol al 20% (v/v).

Las muestras de ADN de *Salmonella* se sometieron a ensayos PCR utilizando iniciadores para invA (Liu et al., 2002), y genes de *16S rRNA* (Søborg et al., 2013) Tabla 2. La amplificación de PCR invA (~437 pb.) consistió en un paso de desnaturalización inicial de 3 min a 94 °C y 35 ciclos de 45 s a 94 °C, 30 s a 57,4 °C y 30 s a 72 °C, seguido de una extensión final de 5 min a 72 °C. El protocolo para *16S sRNA* la amplificación (~402 pb.) fue similar, excepto que se utilizaron 32 ciclos de 20 s a 94 °C, 30 s a 53 °C y 30 s a 72 °C; Los productos de la PCR se analizaron en geles de agarosa al 1,5 % teñidos con bromuro de etidio (Regalado-Pineda et al., 2020).

Gen	Secuencias	Amplicón (Tamaño)
invA	F: CGTTGAACAACCCATTTGT R: CGGATCTCATTAATCAACAAT	437 bp
16s rRNA	F: ACGGTAACAGGAAGMAG R: TATTAACCACAACACCT	402 bp

Tabla 2. Iniciadores para *S. entérica.* (bp) pares de bases.

Resultados

Se recuperaron 9 aislamientos presuntivos de ExPEc a partir de medios selectivos EAM y MacConkey. Estos 9 aislamientos se sometieron a la amplificación de PCR para la detección de genes de virulencia predictores de ExPEc Figura 1. Se detectó la presencia de 3 genes de virulencia en uno de los aislamientos obtenidos; por lo tanto, la prevalencia de ExPEc en agua destinada al consumo animal en granjas avícolas fue de 8.3% (1/12) Figura 2.

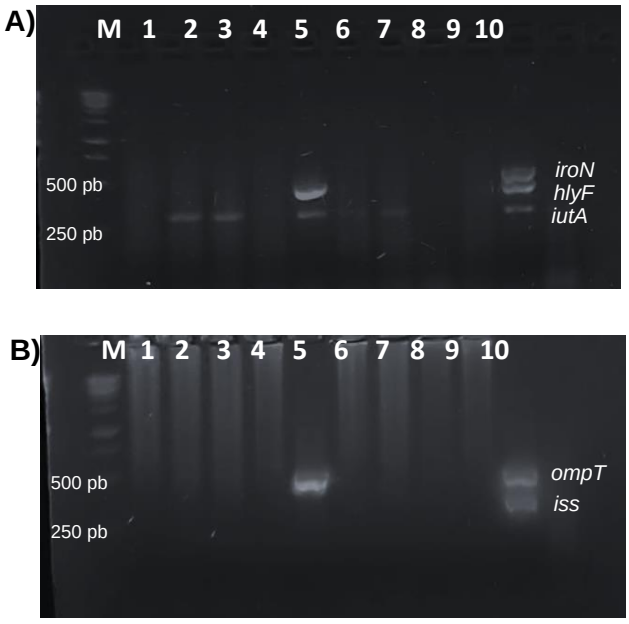


Figura 1. PCR múltiple para detección de 5 genes de virulencia empleados como predictores mínimos de ExPEc. Carriles M: marcador de peso molecular; carriles 1 al 9: aislamientos obtenidos de muestras de agua; carril 10: control positivo. A) Gel con genes iroN, hlyF y iutA, B) Gel con genes ompT y iss

Los aislamientos presuntivos de *S. enterica* fueron 4, asilados del medio XLD. Los 4 aislamientos se sometieron a amplificación de PCR para su confirmación molecular. Se detectó la presencia de los 2 genes para su confirmación en los 4 aislamientos Tabla 3; por lo tanto, prevalencia fue de *S. enterica* 33.3% (4/12) Figura 2.

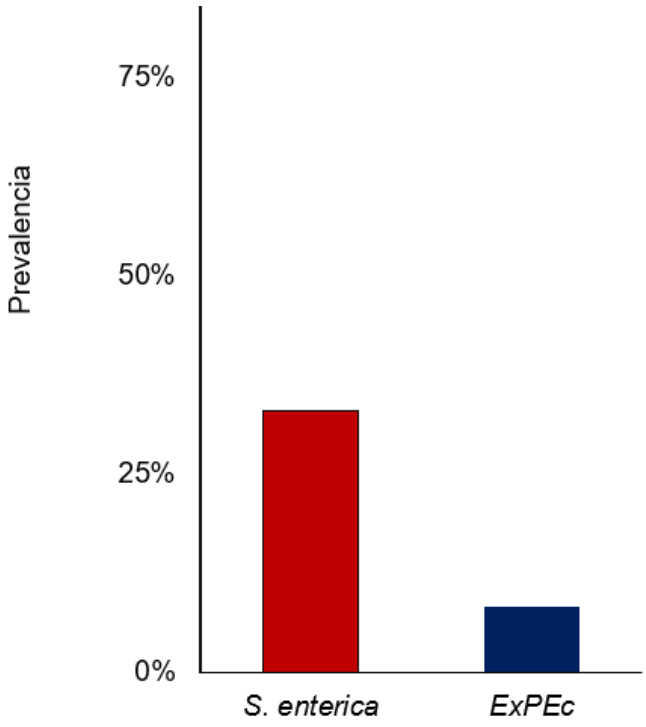


Figura 2. Prevalencia de *S. enterica y ExPEc* en agua destinada al consumo animal

Genes de virulencia para ExPEc						
Muestra	***iroN***	***hlyF***	***iutA***	***ompT***	***iss***	**Total de genes virulencia**
1	-	-	-	-	-	0
2	**-**	-	**+**	-	-	1
3	**+**	-	-	-	-	1
4	-	-	-	-	-	0
5	**-**	**+**	**+**	**-**	**+**	**3**
6	-	-	-	-	-	0
7	**+**	-	-	-	-	1
8	-	-	-	-	-	0
9	-	-	-	-	-	0

Tabla 3. Genes de virulencia para determinar ExPEc.

\+ Presencia del gen

\- Ausencia del gen

Discusión y conclusiones

La prevalencia de *S. entérica* (33.3 %) y ExPEc (8.3%) patógena extraintestinal en agua potable, indica que el agua es una fuente de contaminación para los animales que la consumen y también para la línea de producción. La presencia de estos patógenos en ambientes oligotróficos como el agua potable, denota la capacidad su de supervivencia en fuentes que aún no se contemplan como potenciales para la contaminación y tomando en cuenta nuestros resultados es importante implementar normas de higiene para su control y detección, y así poder eliminar estos patógenos.

El proyecto está en curso y se planea cubrir un mayor número de muestras, los resultados preliminares nos indican que es importante continuar con las investigaciones.

Referencias

Andoh, L. A., Dalsgaard, A., Obiri-Danso, K., Newman, M. J., Barco, L., & Olsen, J. E. (2016). Prevalence and antimicrobial resistance of Salmonella serovars isolated from poultry in Ghana. *Epidemiology and Infection*, *144*(15), 3288. https://doi.org/10.1017/S0950268816001126

Blanco, V. M., Maya, J. J., Correa, A., Perenguez, M., Muñoz, J. S., Motoa, G., Pallares, C. J., Rosso, F., Matta, L., Celis, Y., Garzon, M., & Villegas, y M. V. (2016). Prevalencia y factores de riesgo para infecciones del tracto urinario de inicio en la comunidad causadas por Escherichia coli productor de betalactamasas de espectro extendido en Colombia. *Enfermedades Infecciosas y Microbiologia Clinica*, *34*(9), 559–565. https://doi.org/10.1016/j.eimc.2015.11.017

CDC. (2022, November 16). *Salmonella Página de inicio | Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades*. https://www.cdc.gov/salmonella/index.html

Course, C. E., Boerlin, P., Slavic, D., Vaillancourt, J.-P., & Guerin, M. T. (2021). Factors associated with Salmonella enterica and Escherichia coli during downtime in commercial broiler chicken barns in Ontario. *Poultry Science*, *100*(5), 101065. https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101065

Ewbank, A. C., Fuentes-Castillo, D., Sacristán, C., Esposito, F., Fuga, B., Cardoso, B., Godoy, S. N., Zamana, R. R., Gattamorta, M. A., Catão-Dias, J. L., & Lincopan, N. (2022). World Health Organization critical priority Escherichia coli clone ST648 in magnificent frigatebird (Fregata magnificens) of an uninhabited insular environment. *Frontiers in Microbiology*, *13*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.940600

Gu, G., Strawn, L. K., Zheng, J., Reed, E. A., & Rideout, S. L. (2019). Diversity and Dynamics of Salmonella enterica in Water Sources, Poultry Litters, and Field Soils Amended With Poultry Litter in a Major Agricultural Area of Virginia. *Frontiers in Microbiology*, *10*, 2868. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02868

Guabiraba, R., & Schouler, C. (2015). Avian colibacillosis: Still many black holes. *FEMS Microbiology Letters*, *362*(15), fnv118. https://doi.org/10.1093/femsle/fnv118

Helmy, Y. A., Kathayat, D., Deblais, L., Srivastava, V., Closs, G., Tokarski, R. J., Ayinde, O., Fuchs, J. R., & Rajashekara, G. (2019). Evaluation of Novel Quorum Sensing Inhibitors Targeting Auto-Inducer 2 (AI-2) for the Control of Avian Pathogenic Escherichia coli Infections in Chickens. *Microbiology Spectrum*, *10*(3), e00286-22. https://doi.org/10.1128/spectrum.00286-22

Ibrahim, R. A., Cryer, T. L., Lafi, S. Q., Basha, E.-A., Good, L., & Tarazi, Y. H. (2019). Identification of Escherichia coli from broiler chickens in Jordan, their antimicrobial resistance, gene characterization and the associated risk factors. *BMC Veterinary Research*, *15*, 159. https://doi.org/10.1186/s12917-019-1901-1

Johnson, T. J., Wannemuehler, Y., Doetkott, C., Johnson, S. J., Rosenberger, S. C., & Nolan, L. K. (2008). Identification of Minimal Predictors of Avian Pathogenic Escherichia coli Virulence for Use as a Rapid Diagnostic Tool. *Journal of*

Clinical Microbiology, *46*(12), 3987–3996. https://doi.org/10.1128/JCM.00816-08

Kathayat, D., Lokesh, D., Ranjit, S., & Rajashekara, G. (2021). Avian Pathogenic Escherichia coli (APEC): An Overview of Virulence and Pathogenesis Factors, Zoonotic Potential, and Control Strategies. *Pathogens*, *10*(4). https://doi.org/10.3390/pathogens10040467

Liu, T., Liljebjelke, K., Bartlett, E., Hofacre, C., Sanchez, S., & Maurer, J. J. (2002). Application of nested polymerase chain reaction to detection of Salmonella in poultry environment. *Journal of Food Protection*, *65*(8), 1227–1232. https://doi.org/10.4315/0362-028x-65.8.1227

Morales, C., Lee, M. D., Hofacre, C., & Maurer, J. J. (2004). Detection of a novel virulence gene and a Salmonella virulence homologue among Escherichia coli isolated from broiler chickens. *Foodborne Pathogens and Disease*, *1*(3), 160–165. https://doi.org/10.1089/fpd.2004.1.160

Nidaullah, H., Abirami, N., Shamila-Syuhada, A. K., Chuah, L.-O., Nurul, H., Tan, T. P., Abidin, F. W. Z., & Rusul, G. (2017). Prevalence of Salmonella in poultry processing environments in wet markets in Penang and Perlis, Malaysia. *Veterinary World*, *10*(3), 286–292. https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.286-292

Regalado-Pineda, I. D., Rodarte-Medina, R., Resendiz-Nava, C. N., Saenz-Garcia, C. E., Castañeda-Serrano, P., & Nava, G. M. (2020). Three-Year Longitudinal Study: Prevalence of Salmonella Enterica in Chicken Meat is Higher in Supermarkets than Wet Markets from Mexico. *Foods*, *9*(3), 264. https://doi.org/10.3390/foods9030264

Søborg, D. A., Hendriksen, N. B., Kilian, M., & Kroer, N. (2013). Widespread Occurrence of Bacterial Human Virulence Determinants in Soil and Freshwater Environments. *Applied and Environmental Microbiology*, *79*(18), 5488–5497. https://doi.org/10.1128/AEM.01633-13

Soria, M. C., Soria, M. A., & Bueno, D. J. (2013). A comparative study of culture methods and PCR assay for Salmonella detection in poultry drinking water. *Poultry Science*, *92*(1), 225–232. https://doi.org/10.3382/ps.2012-02254

Efecto de la sustitución de sacarosa en una mermelada de jamaica.

Mariana Lema-González[a], Rosalía Reynoso-Camacho[a], Eduardo Castaño-Tostado[a]., Encarna Aguayo[b,c], Gerardo M. Navaa, M. E. Vázquez-Barrios[a*].

Autor de correspondencia: mevazquez@uaq.edu.mx*

Facultad de Química, Posgrado en Ciencias de Alimentos, Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ), Querétaro, Qro. 76010, Mexico[a]

Grupo de Postcosecha y Refrigeración, Universidad Politécnica de Cartagena (UPCT), Paseo Alfonso XIII, 48, 30203, Cartagena, España[b]

Grupo de Calidad y Sanidad Alimentaria, Instituto de Biotecnología Vegetal (UPCT), Campus Muralla del Mar, 30202, Cartagena, España[c]

Resumen

Se desarrollaron tres mermeladas de jamaica-manzana, mermelada de referencia (MR) con 50% de sacarosa, subproducto y extracto de hibisco. La sacarosa fue sustituida por alulosa (25%) en la mermelada con subproducto y extracto de jamaica (MCE), y en la mermelada con subproducto de jamaica (MSE). El impacto de la sustitución de la sacarosa, así como el uso del subproducto, se evaluó mediante análisis fisicoquímicos, bromatológicos y sensoriales. La sustitución de la sacarosa por la alulosa en MCE y MSE no afectó significativamente a la actividad del agua (≤0,79) ni a las propiedades reológicas que indican un comportamiento de gel (G' > G"), pero sí disminuyó el contenido total de carbohidratos (42,40 - 44,14%) y el contenido calórico (40%). La falta de extracto de jamaica en MSE no afectó al color, pero sí presentó una disminución de la capacidad antioxidante del 30 y 17% (DPPH y ABTS+). Estas diferencias no fueron cruciales en la evaluación sensorial, ya que la aceptación de la MSE fue en general buena, presentando propiedades similares a las de una mermelada con 50% de sacarosa sin un impacto negativo en el color, el sabor y la textura, lo que convierte el uso del subproducto de jamaica en un ingrediente natural sustentable con potencial fitoquímico que contribuye a la reformulación de alimentos. **Palabras Clave:** subproducto de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L), alulosa, propiedades sensoriales, reducción de calorías, mermelada.

Abstract

Three formulations of hibiscus-apple jam, reference jam (RJ) with 50% sucrose, by-product and hibiscus extract were developed. Sucrose was substituted by allulose (25%) in the jam with hibiscus by-product and extract (JREB), and in the jam with hibiscus by-product (JRB). The impact of sucrose substitution, as well as the use of the by-product, was evaluated by physicochemical, bromatological, microbiological and sensory analyses. Substitution of sucrose for allulose in JREB and JRB did not significantly affect water activity (≤0.79) and rheological properties indicate gel-like behavior (G' > G") but did decrease total carbohydrate content (42.40 - 44.14%) and caloric content (40%). The lack of Roselle extract in JRB did not affect color but did present a decrease in antioxidant capacity of 30 and 17% (DPPH and ABTS+). These differences were not crucial in the sensory evaluation, since the acceptance of JRB was generally good, presenting similar properties to a jam with 50% sucrose without a negative impact on color, flavor and texture, making the use of roselle by-product a sustainable natural ingredient with phytochemical potential that contributes to food reformulation. **Keywords:** Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L) by-product, allulose, sensory properties, calorie reduction, jam.

1. Introducción

El procesamiento agroalimentario genera grandes cantidades de residuos o desechos que se conocen actualmente como subproductos, los cuales tienen una gestión deficiente que afecta el entorno social y económico, por lo cual se han considerado como contaminantes ambientales. La economía circular tiene por finalidad valorizar biorresiduos alimentarios como cáscaras, semillas, tallos, raíces, restos de pulpa y bagazos, ya que conservan un alto contenido de compuestos bioactivas (Gómez-García et al., 2021). En este sentido, los cálices secos de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) se utilizan comúnmente en la elaboración de bebidas, generando un extracto con abundantes ácidos orgánicos, polisacáridos, compuestos fenólicos, flavonoides y antocianinas, todos con diversas actividades farmacológicas y antioxidantes; este extracto también se utiliza en la producción de mermeladas como agente saborizante (Riaz & Chopra, 2018). Por otro lado, se genera un subproducto o calices de decocción que conservan hasta en un 50% los mismo compuestos bilógicamente activos del extracto, además de presentar un alto contenido de fibra dietaría (14.6 %) (Amaya-Cruz et al., 2017a), el cual tiene potencial para usarse en el desarrollo de nuevos productos alimentarios.

Las mermeladas son conservas de frutas con un alto contenido de azúcar. Se elaboran concentrando pulpa de la fruta y sacarosa (50:50 p/p), puede añadirse pectina y otros aditivos, hasta obtener un contenido total de sólidos solubles entre 60 y 70% (CXS 296-2009). Sin embargo, el consumo excesivo de azúcar añadido, que está relacionado con enfermedades metabólicas como la obesidad y diabetes (Deliza et al., 2021). Sobre esta base, la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda una ingesta de azúcar libre menor del 10% de la ingesta total de energía (World Health Organization, 2015). En México, mediante Ley Nacional Mexicana NOM-051, correspondiente al etiquetado nutricional de los alimentos envasados ha llevado a la industria a reformular alimentos, reduciendo el contenido de azúcar añadido, pero conservando características sensoriales y fisicoquímicas, por ello, una de las estrategias aplicadas en la reducción de sacarosa, sin comprometer el dulzor es la incorporación de edulcorantes no calóricos que a su vez no afecten la estabilidad del producto (Oliveira et al., 2021).

El uso de sustitutos de sacarosa se considera la estrategia más viable en un contexto industrial. El dulzor del azúcar se puede reemplazar fácilmente por edulcorantes no calóricos. Así, los consumidores que buscan llevar una dieta más saludable y reducir el consumo de sacarosa es una alternativa para reducir la ingesta calórica. No obstante, los requisitos tecnológicos de las mermeladas siguen siendo un desafío. La alulosa, es una opción de sustitución interesante y útil para la sacarosa en aplicaciones donde se requiere dulzura y funcionalidad. Como azúcar de hexosa es altamente soluble, reductor y brindan atributos de volumen similar a la sacarosa. Contando además con un poder edulcorante del 70% y cuenta con un bajo índice glicémico aportando 0.2 Kcal/g (Moss et al., 2022).

El tipo de azúcar utilizado en las mermeladas tienen una gran relevancia, puesto que, influyen directamente en las propiedades fisicoquímicas contribuyendo a una mejor textura, realzan el sabor, el color e incluso actúan como conservantes mediante la retención de humedad. Sin embargo, a nivel metabólico aportan pocos o nulos beneficios nutricionales, asociado a un consumo calórico excesivo (Yeung et al., 2017). En consecuencia, se ha propuesto la sustitución parcial de sacarosa por un edulcorante natural, así como valorizar los subproductos alimentarios mediante su incorporación a la cadena de alimentos como ingrediente alimentario; por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el impacto de la sustitución de sacarosa por alulosa, el uso del subproducto y el extracto de jamaica en términos fisicoquímicos, fitoquímicos, bromatológicos, microbiológicos y sensoriales en mermeladas de jamaica-manzana.

2. Metodología

2.1 Materiales

Semillas de jamaica (Hibiscus sabdariffa L.) variedad "criolla" se sembraron en el mes de agosto de 2021 en la zona de pueblo Madero, El Playón en el estado de Guerrero, México (17.132004° N, 99.6791° O). Posteriormente los cálices se sometieron a un proceso de secado en condiciones controladas. Se adquirió manzana criolla en la central de abastos de Querétaro. Además, se utilizó sacarosa, alulosa y pectina cítrica, todo grado alimenticio, adquiridos en una casa comercial. Todos los reactivos químicos utilizados en este estudio fueron de grado analítico y se adquirieron de Sigma-Aldrich (México).

2.2 Elaboración de las mermelada

Tabla 1. Formulaciones de mermeladas de jamaica-manzana.

Ingredientes	Cantidad (g/100g)		
	MR	**MCE**	**MSE**
Manzana*	7.00	7.00	7.00
Cáliz de jamaica*	25.00	25.00	25.00
Extracto de jamaica	8.00	8.00	---
Agua	10.00	10.00	18.00
Sacarosa	49.00	24.00	24.00
Alulosa	-----	25.00	25.00
Pectina cítrica	1.00	1.00	1.00

*base húmeda

A través del proceso tradicional de decocción de los calices secos en agua (1:9) se obtuvo un extracto y un subproducto de jamaica (Amaya-Cruz et al., 2019b), los cuales fueron separados mediante filtración. El subproducto se molió junto con la pulpa de manzana y extracto de jamaica o agua. Posteriormente, la mezcla se llevó a cocción en marmita; se añadió el edulcorante y pectina (1%) a la mezcla y se continuó la cocción hasta un contenido final de SST del 65%. Se desarrollaron tres formulaciones de mermelada siendo la primera denominada mermelada referencia (MR) la cual contiene extracto, subproducto de jamaica y sacarosa al 50%; mermelada con extracto, subproducto de jamaica y una sustitución de sacarosa por alulosa del 25% (MCE) y una mermelada con el subproducto de jamaica, pero sin extracto y una sustitución de sacarosa por alulosa del 25% (MSS).

Después del proceso de cocción, las mermeladas se vertieron en caliente (80 ºC). Una vez cerrados, se voltearon para permitir la esterilización de la tapa de metal y la generación de vacío. (Cervera-Chiner et al. 2021); el producto final se almacenó a temperatura ambiente (25 °C) hasta sus posteriores análisis.

2.3 Análisis fisicoquímico

los sólidos solubles totales (SST) de las mermeladas se midió utilizando un refractómetro (Hanna instruments Inc. HI 96801; AOAC 932.12); el valor de pH con un medidor básico pH/ORP (Hanna instruments Inc HI2213 pH/ORP Meter; AOAC 981.12). La acidez titulable (AT) se determinó mediante el método potenciométrico (AOAC 942.15) expresando los resultados en porcentaje de ácido cítrico; el valor de actividad de agua (Aa) de las mermeladas se midió utilizando un AquaLab Water Activity Meter serie 3 (Decagon Devices). La sinéresis se determinó siguiendo el procedimiento reportado por Ramírez-Sucre and Vélez-Ruiz (2014); brevemente, se tomó 10 g de mermelada, las cuales se pusieron en tubos falcón y se centrifugaron durante 10 min a 1.200 *g*. Después se retiró el líquido separado por decantación y se pesó. La sinéresis se expresó como porcentaje en peso de la fase líquida.

El contenido de humedad, contenido de cenizas, grasa, proteína y fibra dietaria total (FDT) de las mermeladas se determinaron de acuerdo con los métodos 934.06, 942.05, 948.22, 981.10 y 985.29 de la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC, 2000), respectivamente. Los azucares reductores se determinaron mediante el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) (Miller, 1959). El contenido de carbohidratos se obtuvo por diferencia, restando a 100 la suma de humedad, cenizas, grasa, proteína y FDT. La energía total se obtuvo utilizando los resultados de carbohidratos, proteínas y grasas. Los factores de conversión se basaron en la energía metabolizable y los métodos analíticos: 4 kcal/100g

para carbohidratos, 4 kcal/100g para proteína y 9 kcal/100g para lípidos.

2.4 Análisis de color

El color de las mermeladas se midió utilizando un colorímetro CM-600D portátil (Konica Minolta, Japón) calibrado con una placa de referencia blanca. Los valores de color L* luminosidad (0: negro, 100: blanco), a* (rojo-verde) y b*(amarillo-azul) se determinaron mediante el sistema CIEL*a*b*. Los valores correspondientes al Angulo de matiz (°Hue), Croma (C*) y la diferencia de color total (ΔE*) (Santos et al., 2021).

2.5 Análisis de reología

Las propiedades reológicas de las mermeladas se midieron siguiendo la metodología descrita por Figueroa and Genovese,(2019) en un reómetro Anton Paar Physica MCR 101 (Anton Paar, Austria), utilizando una geometría placa-placa (diámetro d = 25 mm, espacio = 1 mm). La relación del estado estacionario entre el esfuerzo cortante y la velocidad de corte se pudo describir ajustando los datos al modelo de Herschel-Bulkley (Ec. 1)

$$\tau = \tau_0 + k\gamma^n \quad (1)$$

Los módulos elásticos (G ') y viscosos (G") se determinaron a partir de medidas oscilatorias dinámicas a frecuencias angulares (ω) de 0,1 a 100 rad/s, y a una deformación del 0.4 % correspondiente al rango viscoelástico lineal de todas las muestras.

2.6 cuantificación de compuestos fitoquímicos

2.6.1 Preparación del extracto

Se prepararon extractos de las mermeladas según lo reportado por Wang et al. (2020). Brevemente se tomó 2 g de mermelada y se disolvió en 10 ml de etanol al 90%. Las muestras se homogeneizaron con un Ultra-Turrax (IKA, T 25 digital) a una velocidad de 16 rpm por 1 min. Los sobrenadantes se recogieron mediante centrifugación a 4000 ×g durante 20 min (HERMLE Z 326 K) y el sedimento se volvieron a extraer en dos ocasiones utilizando el mismo método.

2.6.2 Contenido total de compuestos fenólicos (CFT)

Para la determinación de CFT, se usó el extracto descrito en el apartado 2.6.1 y el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu como lo reporta Wang et al.(2020) con algunas modificaciones. Se mezcló 0.4 ml del extracto con 2.0 ml del reactivo de Folin-Ciocalteu al 10% (v / v) y 1.0 mL de agua, manteniéndolos en la oscuridad a 25 °C durante 5 min. Posteriormente se mezcló con 2.0 mL de solución de Na_2CO_3 (70 g/L) y 1.4 mL de agua, incubó en la oscuridad durante 60 min. La absorbancia se midió a 750 nm usando un espectrofotómetro (Lamba 365, Perkin Elmer, Inc., USA). El contenido de fenoles totales se expresó como mg equivalentes de ácido gálico (GAE)/g de mermelada en peso húmedo.

2.6.3 Contenido de antocianinas monoméricas

El contenido de antocianinas monoméricas se cuantificó siguiendo el método descrito por Pérez-Herrera et al. (2020) con ligeras modificaciones siguiendo el método diferencial de pH. Se tomaron dos volúmenes de 60 µL de extracto y se mezcló individualmente con 240 µL de una solución tampón de cloruro de potasio (0.025 M, pH 1.0) y con 240 µL de una solución tampón de acetato de sodio (0.4 M, pH 4.5) en una microplaca (Bio-RAD, iMark Microplate Absorbance Reader). Se registró la absorbancia a 520 nm y a 655 nm. El contenido de antocianinas se calculó como equivalentes de cianidin-3-glucósido (mg C_3G)/g de mermeladas mediante la siguiente ecuación (Ecuación 2).

$$Antocianinas\ monomericas = A * \frac{(MW*DF)}{(\varepsilon*D)} \quad (2)$$

$$A = [(Abs_{520nm} - Abs_{655nm})pH1 - (Abs_{520nm} - Abs_{655nm})pH\ 4.5]$$

A, es la diferencia de absorbancia entre los valores de pH y las longitudes de onda
MW, es el peso molecular de C_3G (484,8 g/mol)
DF, es el factor de dilución
ε es la absortividad molar (26.900 $M^{-1}*cm^{-1}$)
D, es para una longitud de camino estándar de 1 cm.

2.6.4 Contenido de proantocianidinas

La cuantificación de proantocianidinas extraíbles se realizó hidrolizando el extracto de la sección 2.6 mediante el método de butanol-HCl reportado por Bordiga et al. (2019). La reacción consistió en añadir 1.0 ml del extracto a un tubo de ensayo con 3 ml de n-BuOH/ HCl (95:5 v/v) con una concentración de 0.37 mM $Fe_2 (SO_4)_3$. La mezcla se calentó en baño de agua a 95 °C durante 60 min con los tubos de ensayo cerrados y luego se enfriaron en agua con hielo (4 °C). La absorbancia se midió a 550 nm usando un espectrofotómetro Lamba 365 (Perkin Elmer, Inc., USA). Se tomó como blanco la misma mezcla reemplazando la muestra por etanol al 90 %. Los resultados se expresaron como mg de proantocianidina (mg PA)/g de mermelada.

2.7 Capacidad antioxidante

2.7.1 Actividad captadora de radicales DPPH

Una solución (1.115×10^{-4} mol. L^{-1}) del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) ajustada a una absorbancia de 1.25 con metanol al 80% se usó para determinar la capacidad antioxidante de las mermeladas (Maciel et al.,2018). La reacción se inició cuando se añadió 100 µL de los extractos (2.6.1) en un vial ámbar que contenía 2900 µL de la solución de DPPH previamente ajustada. Después de 30 min a 25 °C, la absorbancia se midió a 520 nm en un espectrofotómetro Lamba 365 (Perkin Elmer, Inc., USA.). Se utilizó una solución de ácido ascórbico (AA) como estándar usando una curva de calibración (0.05 a 0.25 mg/mL). Los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición.

2.7.2 Actividad captadora de radicales $ABTS^+$

La solución de ABTS (7 mM) se mezcló con $K_2S_2O_8$ (2.45 mM) y se mantuvo en la oscuridad a 25 °C durante 16 h. Después, la solución de $ABTS^+$ se diluyó y se ajustó a una absorbancia de 0.7 con etanol al 90 %. La reacción se llevó a cabo mezclando 2.4 mL de solución de reacción $ABTS^+$ con 0.4 mL de extracto (apartado 2.6.1) y se incubaron en la oscuridad a 25 °C durante 5 min, se midió la absorbancia a 734 nm en un espectrofotómetro Lamba 365 (Perkin Elmer, Inc., USA). Se utilizó ácido ascórbico (A.A) como estándar con una curva de calibración (0.01- 0,12 mg/ml). Los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición (Wang et al., 2020).

2.8 Evaluación sensorial

Antes de realizar la evaluación sensorial, se aseguró que las mermeladas MR, MCE y MSE no representaran algún riesgo microbiológico a los panelistas. Los voluntarios reclutados fueron completamente informados con el fin de tomar una decisión informada sobre su participación y dar su consentimiento informado. La evaluación sensorial se realizó en cabinas individuales con una temperatura ambiente de 25 ± 2 °C.

La evaluación hedónica se realizó por un panel semientrenados formado por 30 personas. Sus edades oscilaron entre 20 y 26 años (media: 23). La metodología que se siguió fue la descrita por Cervera-Chiner et al. (2021) con algunas modificaciones. Las muestras (10 g) se proporcionaron en vasos de plástico blanco etiquetados de acuerdo con la práctica internacional utilizando números aleatorios de 3 dígitos y se aplicó un diseño de bloques balanceados para evitar el sesgo de respuesta potencial y los efectos de arrastre debido al orden de presentación (ISO 6658:2019) y se les pidió a los consumidores que evaluaran en las mermelada atributos de color, olor, la textura (capacidad de untar), el sabor y la aceptación global utilizando una escala hedónica de 9 puntos (1 = me disgusta mucho; 9 = me gusta mucho). Los panelistas recibieron agua potable a temperatura ambiente y galleta simple para limpiar el paladar entre muestras. El estudio recibió la aprobación del comité de Bioética de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro (No. de oficio. CBQ21/054).

2.9 Análisis estadístico

Todas las determinaciones se realizaron por triplicado para dos muestras independientes. Los resultados se expresaron como la media ± DE. Los datos fisicoquímicos, reologícos y fitoquímicos se compraron mediante un análisis de varianza y las medias se compararon mediante la prueba de Tukey ($p < 0.05$). Los resultados de la evaluación sensorial se analizaron mediante la prueba de Kruskal-Wallis. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el paquete estadístico Rstudio (versión 3.6.3).

3. Resultados y discusión

3.1 Análisis fisicoquímico

El contenido de SST de las tres mermeladas estuvo dentro del rango medio de acuerdo con los valores informados por el Codex-Stan 296 para confituras, jaleas y mermeladas (60-65%), el valor de pH de las mermeladas osciló entre 2.44 y 2.51 (**Tabla 2**) sin diferencias significativas entre MR y MCE, pero si con MSS. Estos valores bajos de pH podrían deberse a los abundantes ácidos orgánicos como el ácido hibiscus y el ácido ascórbico del cáliz de jamaica (Huang et al., 2022), por lo cual no se adicionó ácido cítrico. A pesar de que el pH está por debajo a lo recomendado en el Codex-Stan 296 (3.0-3.5), el cual se ha reportado como óptimo para la gelificación de la pectina (Muñoz-Almagro et al., 2021a), no hubo un efecto negativo en la formación de gel característico de una mermelada. La AT fue significativamente mayor en MSE, lo cual era de esperarse ya que esta mermeladas no contiene extracto de jamaica.

Las mermeladas son productos de humedad intermedia con valores de actividad de agua (Aa) en un rango de 0.70 a 0.85 (Qiu et al., 2019). Las tres mermeladas presentaron un valor promedio de 0.78 sin diferencias significativas, relacionado con el alto contenido de SST (66%). Ambos azúcares (sacarosa y alulosa) interactúan con el agua y la pectina reduciendo la disponibilidad de agua libre mediante enlaces de puente de hidrógeno. Los valores de humedad de las tres formulaciones se encuentran en el rango (20-30%) para alimentos de humedad intermedia (Aggarwal et al., 2022). Además de las interacciones de los azúcares con la pectina, la porosidad de la fibra de jamaica pudo contribuir a la retención del agua libre (Amaya-Cruz et al., 2017a), dando como resultado un menor contenido de humedad comparado con lo reportado por Pérez-Herrera et al. (2020) en mermeladas de tomate sin semillas con un contenido final de SST entre el 61.50 y 65.27% y una humedad entre 34.47 y 39.06% y un contenido de fibra dietaria de 0.65%.

Tabla 2. Análisis fisicoquímico de mermeladas de jamaica-manzana

Parámetro	MR	MCE	MSE
SST (°Brix)	66.3 ± 1.27 ^{ab}	65.2 ± 0.77 ^{b}	66.5 ± 0.28 ^{a}
Acidez titulable (%)	0.71 ± 0.01 ^{a}	0.74 ± 0.04 ^{a}	0.62 ± 0.09 ^{b}
pH	2.44 ± 0.04 ^{b}	2.45 ± 0.03 ^{b}	2.51 ± 0.01 ^{a}
Aa	0.77 ± 0.01 ^{a}	0.79 ± 0.01^{a}	0.79 ± 0.01 ^{a}
Sinéresis (%)	0.91 ± 0.40 ^{b}	1.42 ± 0.08 ^{b}	2.60 ± 0.60 ^{a}
Humedad (%)	25.27 ± 1.14 ^{c}	29.68 ± 0.70 ^{b}	28.06 ± 0.55 ^{a}
Cenizas (%)	0.54 ± 0.09 ^{a}	0.49 ± 0.00 ^{a}	0.37 ± 0.00 ^{b}
Grasa (%)	0.06 ± 0.00 ^{a}	0.06 ± 0.04 ^{a}	0.07 ± 0.02 ^{a}
Proteína (%)	1.40 ± 0.01 ^{a}	1.38 ± 0.06 ^{a}	1.35 ± 0.39 ^{a}
Azúcares reductores (%)	59.69 ± 2.10 ^{a}	41.53 ± 1.12 ^{b}	41.54 ± 2.09 ^{b}
Carbohidratos totales (%)	72.46 ± 0.80 ^{a}	42.40 ± 0.74 ^{b}	44.14 ± 0.50 ^{b}
Fibra dietaría ¿soluble o insoluble? (%)	5.05 ± 0.22 ^{a}	4.97 ± 0.10 ^{a}	5.18 ± 0.08 ^{a}
Calorías (Kcal/100g)	307.58 ± 3.17 ^{a}	185.67 ± 2.71 ^{c}	192.67 ± 1.82 ^{b}

MR: Mermelada referencia 50 % sacarosa; **MCE**: Mermelada con extracto de jamaica con 24 % de sacarosa; **MSE:** Mermelada con el subproducto de jamaica con 24 % de sacarosa. Cada valor representa la media de duplicados ± DE. Las filas con las mismas letras no son significativamente diferentes ($p < 0.05$) según la prueba de diferencia significativa Tukey.

La sinéresis se determinó como el porcentaje de agua liberada de las mermeladas. El análisis estadístico no

indicó diferencias ($p<0.05$) entre MR y MCE, pero si hay diferencias significativas respecto a MSS. Estos resultados sugieren que la sustitución de sacarosa por alulosa (25%) provoca una menor retención de agua y podría explicarse por el menor número de grupos -OH de la alulosa que pueden interactuar con la pectina aportada por la pulpa de manzana y la pectina cítrica. No obstante, Figueroa & Genovese, (2018) reportan un valor límite superior de sinéresis de 10 g/100 g (10%) en geles de pectina, en el que si se supera este valor se considerarían inadecuados desde el punto de vista organoléptico, aplicable también para mermeladas. Los valores de sinéresis presentados en las mermeladas están por debajo del límite reportado.

Se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el contenido de cenizas, mientras que en grasa y proteína no se presentaron diferencias entre las mermeladas. Las diferencias en el contenido de cenizas pudieran deberse a un aporte de minerales del extracto de jamaica. Los valores de azúcares reductores de las mermeladas mostraron diferencias significativas ($p< 0.05$). Las mermeladas MCE y MSS con una sustitución del 25% de sacarosa por alulosa presentaron un reducción en el contenido de azúcares reductores de 30.41% respecto a MR (**Tabla 2**). Dentro de este marco, no se ha reportado un valor referencia que las mermeladas deban contener, pero se requiere un alto contenido de azúcares reductores, ya que son esenciales para la conservación de las mermeladas, minimizando la cristalización de la sacarosa favoreciendo las estabilidad del producto en almacenamiento (Bekele et al., 2020).

El contenido de fibra dietaria total (FDT) de las mermeladas estuvo alrededor del 5% (**Tabla 2**.) aportado principalmente por el subproducto de jamaica. Además, de los efectos beneficiosos a la salud que se le atribuyen a su consumo, este polisacárido puede mejorar características en el producto final como una menor sinéresis (0.90, 1.42 y 2.60% < 10%), debido a la capacidad de retener agua, aumentar la viscosidad y consecuentemente mejorar la textura (Pérez-Herrera et al., 2020). Las mermeladas reducidas en sacarosa (MCE y MSS) presentaron un contenido de carbohidratos significativamente menor respecto a MR. Estos resultados eran esperados ya que la sustitución de sacarosa por alulosa en un 25% representa un menor contenido de carbohidratos respecto a MR que contiene 50% de sacarosa, en relación, es conveniente acotar que el aporte calórico de la sacarosa es de 4 Kcal/g, mientras que la alulosa aporta 0.2 Kcal/g, de esta manera la sustitución de sacarosa por alulosa también disminuye el contenido de energía en un 40% aproximadamente.

La **Tabla 3** muestra los resultados de los parámetros de color de las mermeladas después de 24 h de su elaboración a 25 °C. Los valores de luminosidad (L*****) en las tres formulaciones no presentaron diferencias significativas ($p< 0.05$). Los valores del ángulo de matiz (Hue) oscilaron entre 344.75 a 352.09, donde valores de Hue entre 0° o 360° se asocian con colores como el púrpura y rojo (Kamiloglu et al., 2015). Por su lado, Croma (C*) representa la saturación que oscila entre 0 y 60, en este sentido, valores entre 1.68 a 1.84 acompañados de una luminosidad baja indican una alta saturación del color (Berns, 2014).

Tabla 3. Parámetros de color de las mermeladas de jamaica-manzana

Parámetros	MR	MCE	MSE
L*	23.40 ± 0.24 [a]	23.30 ± 0.08 [a]	23.48 ± 0.19 [a]
Hue	349.04 ± 0.45 [a]	352.09 ± 2.70 [a]	344.75 ± 1.59 [a]
C*	1.68 ± 0.03 [a]	1.67 ± 0.01 [a]	1.84 ± 0.01 [a]
ΔE*	------	0.39 ± 0.17 [b]	0.20 ± 0.04 [a]

MR: Mermelada referencia 50 % sacarosa; **MCE**: Mermelada con extracto de jamaica con 24 % de sacarosa; **MSE:** Mermelada con el subproducto de jamaica con 24 % de sacarosa. Cada valor representa la media de duplicados ± DE. Las filas con las mismas letras no son significativamente diferentes ($p < 0,05$) según la prueba de diferencia significativa Tukey.

El medio ácido de las tres mermeladas pudiera haber tenido influencia en estructura de la antocianina es la

forma de catión flavilio y el color, predominando el rojo (Rosales & Fabi, 2022); asimismo, el proceso de cocción-concentración pudo tener un efecto sobre el color, ya que el tiempo y la temperatura de concentración en la marmita, así como, la presencia de sacarosa conduce a obtener un producto más oscuro, aunado a la degradación térmica de las antocianinas. Por otro lado, las diferencias de color (ΔE*) entre MCE y MSS se relacionan con una tonalidad más pardusca en MSS, lo cual se relaciona con la falta de extracto, Sin embargo, ΔE* fue inferior a 1.0, lo que significa que las diferencias de color no son reconocibles por un observador estándar (Jribi et al., 2021).

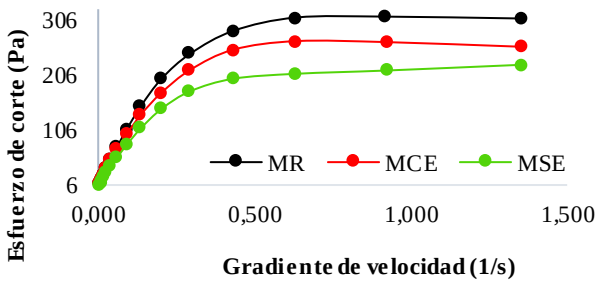


Figura 1. Reogramas de mermeladas de jamaica-manzana a 25 °C; **MR:** Mermelada control; **MCE**: Mermelada con extracto de jamaica; **MSE:** Mermelada con el subproducto de jamaica con 24 % de sacarosa.

Las mediciones de corte en estado estacionario y de corte dinámico de tensión oscilatoria en las tres mermeladas, determinadas a 25 °C evidencian un aumento en la velocidad de cizallamiento, con una fluencia mínima de aproximadamente 8.53 Pa indicando que son cuerpos rígidos a esfuerzos bajos, pero líquidos bajo esfuerzos grandes. De ahí que la pendiente de la curva sea alta a bajas velocidades de deformación y decrece conforme se incrementa el esfuerzo hasta alcanzar un valor asintótico (**Figura 1**); Este comportamiento describe los fluidos no newtonianos independientes del tiempo característico de los fluidos pseudoplásticos (Barbieri et al., 2018).

Los fluidos pseudoplásticos se caracterizan por presentar esfuerzos de corte superiores al umbral y se ajustan mejor al modelo de Herschel-Bulkley. En relación, las características reológicas de las tres mermeladas fueron bien descritas con el modelo mencionado, presentando un R^2 entre 0.97 y 0.98 (**Tabla 4**). Asimismo, mediante este modelo se pueden determinar parámetros como umbral de fluencia (τ_o), índice de consistencia (K) e índice de flujo (n) que indican el grado de desviación con un fluido que presenta un comportamiento newtoniano como el agua.

Tabla 4. Propiedades reológicas de las mermeladas de jamaica-manzana a 25°C.

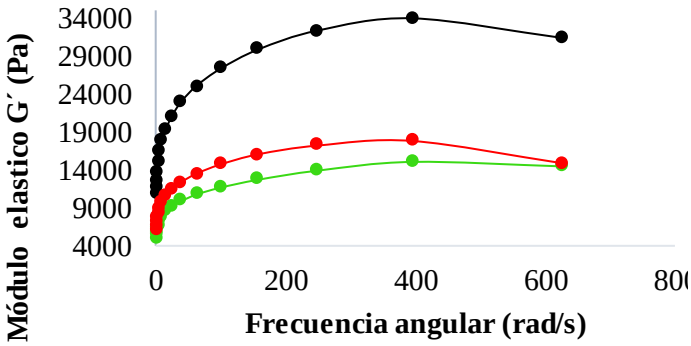
Parámetros	MR	MCE	MSE
Umbral de fluencia τ_o (Pa)	8.535 ± 0. 78 [a]	8.235 ± 1.13 [a]	6.415 ± 0.89 [b]
Índice de consistencia K (Pa. s^n)	6.932 ± 0.10 [a]	6.743 ± 0.13 [a]	5.336 ± 0.13 [b]
Índice de flujo (n)	1.027 ± 0.00 [b]	0.987 ± 0.00 [c]	1.253 ± 0.00 [a]
Coeficiente de determinación (R^2)	0.982 ± 0.00	0.979 ± 0.00	0.973 ± 0.00
Viscosidad aparente (Pa)	1361 ± 125 [a]	1321 ± 181 [a]	1028 ± 145 [b]

MR: Mermelada referencia 50 % sacarosa; **MCE**: Mermelada con extracto de jamaica con 24 % de sacarosa; **MSE:** Mermelada sin extracto de jamaica con 24 % de sacarosa. Cada valor representa la media de duplicados ± DE. Las filas con las mismas letras no son significativamente diferentes ($p < 0,05$) según la prueba de diferencia significativa Tukey.

El índice de consistencia (K) y el umbral de fluencia (τ_o) de MSE fueron significativamente más bajos que MR y MCE, lo que está relacionado con un límite de fuerza gravitacional menor requerido para que la muestra fluya, resultado que se relaciona con un mayor porcentaje de sinéresis. Mientras que el índice de consistencia (K) significativamente más alto en MR y MCE, se podría atribuir a una formación de red más fuerte. Si bien, el índice de flujo (n) de las tres mermeladas fue igual o mayor a 1, los otros parámetros permiten indicar que las mermeladas de jamaica-manzana desarrolladas tienen un comportamiento de adelgazamiento por cizallamiento, característico de los materiales pseudoplásticos, este hecho también se confirma con

la disminución de la viscosidad aparente a medida que aumentaba la velocidad de cizallamiento, contando con una viscosidad aparente inicial de MR, MCE y MSE de 1,361, 1,321 y 1,028 Pa, respectivamente, estos resultados confirman la dependencia de la sacarosa en la formación de un gel más fuerte, ya que da lugar a una mayor resistencia a la deformación y a fluir (Basu et al., 2013).

Por otro lado, en la **Figura 2.** Dependencia de la frecuencia del módulo de almacenamiento o elástico **a)** y módulo de pérdida o viscoso **b)** a 25 °C de las mermeladas de jamaica-manzana**Figura 2** se muestran las propiedades reológicas de oscilación dinámica de las mermeladas; donde el módulo de almacenamiento o elástico (G´) y el módulo de pérdida o viscoso (G´´) están relacionados con propiedades "sólidas" y "líquidas" respectivamente; de manera general ambos módulos aumentaron con el aumento de la frecuencia, evidenciando una dependencia de esta. Las tres formulaciones presentaron valores de G´ superiores a G´´ siendo este un comportamiento típico de los alimentos con carácter elástico predominante (Igual et al., 2014), este comportamiento exhibe una consistencia más rígida, altamente estable en el rango de frecuencia estudiado, además, son dependientes del tiempo de cizallamiento.



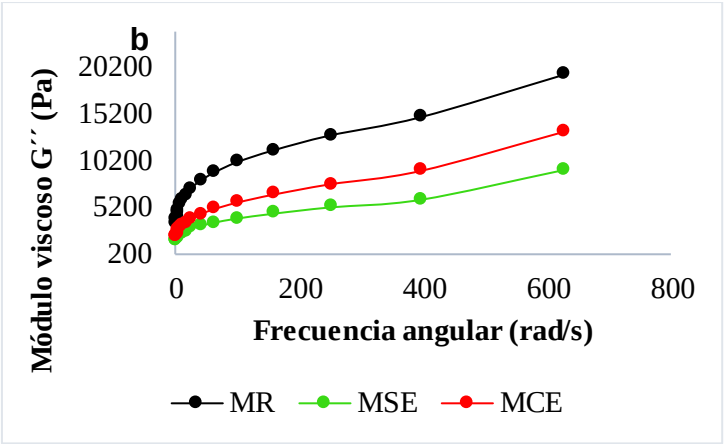


Figura 2. Dependencia de la frecuencia del módulo de almacenamiento o elástico **a)** y módulo de pérdida o viscoso **b)** a 25 °C de las mermeladas de jamaica-manzana.

En este orden de ideas, MR presentó un valor mayor en el módulo elástico (31,350 Pa) en comparación con MCE (14,850 Pa) y MSE (14,450 Pa), lo que indica un gel más rígido, debido a que la sacarosa forma enlaces intermoleculares hidrofóbicos con las cadenas poliméricas de la pectina cítrica y la pectina aportada por la pulpa de manzana, dando como resultado un gel más firme, así mismo, la fibra soluble aportada por la jamaica tiene la capacidad de retener agua contribuyendo a una mayor viscosidad e incluso a la formación de gel (Dong et al., 2020). Este hecho, está relacionado a su vez con el bajo valor de sinéresis y de actividad de agua. Por su parte MCE y MSE que presentaron una menor variación en el módulo elástico con valores de 14,850 y 14,450 Pa, respectivamente y el módulo viscoso con valores de 13,300 y 9215 Pa, respectivamente; lo cual sugiere una unión intermolecular diferente debido al reemplazo de sacarosa por alulosa; no obstante, las mermeladas reducidas en sacarosa (MCE y MSS) presentaron valores más altos en las características dinámicas respecto a lo reportado por Basu et al. (2013) en mermeladas de mango con un reemplazo del 25% de sacarosa por esteviósido, mostrando características de líquido espeso con tendencia newtoniana, por lo que no se podrían considerar como mermelada.

3.2 Análisis fitoquímico

El cáliz de jamaica es reconocido por su contenido de antocianinas, proantocianidinas y compuestos fenólicos; metabolitos secundarios que se caracterizan por actuar como captadores de radicales libres identificado una relación directa entre estos compuestos y su capacidad antioxidante (Sultanbawa & Sivakumar, 2022). Además, se han asociado con propiedades protectoras en los seres humanos (Pérez-Herrera et al., 2020). En este sentido, las mermeladas con el subproducto y extracto de jamaica, MR y MCE, presentaron un contenido significativamente mayor ($p < 0.05$) respecto a MSE en los compuestos antes mencionados y consecuentemente en la capacidad antioxidante.

Se ha reportado que los subproductos agroindustriales como las semillas de cítricos, orujo de uva, residuos de mango, de piña, así como, de jamaica a pesar de presentar una reducción significativa de estos compuestos comparados con su matriz original aún representan una fuente importante de fitoquímicos bioactivos, como compuestos fenólicos, particularmente en el subproducto de jamaica predomina el ácido hidroxicinámico y el alto contenido de fibra dietaría (Pathania & Kaur, 2022).

Tabla 5. Concentración de fenoles, antocianinas, proantocianidinas y capacidad antioxidante de mermeladas de jamaica-manzana.

Compuestos	MR	MCE	MSE
Compuestos fenólicos (mg GAE /g bh)	1.96 ± 0.10 [a]	1.746 ± 0.01 [b]	1.328 ± 0.10 [c]
Antocianinas (mg C_3G / g bh)	0.016 ± 0.02 [a]	0.016 ± 0.01 [a]	0.005 ± 0.02 [b]
Proantocianidinas (mg CE /g bh)	28.26 ± 0.60 [a]	28.02 ± 0.30 [a]	22.14 ± 0.90 [b]
Capacidad Antioxidante			
DPPH (% de inhibición)	32.61 ± 1.18 [a]	32.49 ± 0.80 [a]	23.24 ± 0.48 [b]
ABTS (% de inhibición)	58.89 ± 2.14 [a]	59.40 ± 2.81 [a]	48.72 ± 2.89 [b]

MR: Mermelada referencia 50 % sacarosa; **MCE:** Mermelada con extracto de jamaica con 24 % de sacarosa; **MSE:** Mermelada con el subproducto de jamaica con 24 % de sacarosa. Cada valor representa la media de duplicados ± DE. Las filas con las mismas letras no son significativamente diferentes *($p < 0.05$)* según la prueba de diferencia significativa Tukey. GAE: equivalentes de ácido gálico, C_3G: equivalentes de cianidina-3-glucósido, CE: equivalentes de catequina

Brevemente, las mermeladas MR y MCE presentaron un mayor contenido en los compuestos fenólicos contando con 32% y 24% más respecto a MSE. Por su lado, la concentración de antocianinas y proantocianidinas tanto en MR como en MCE fue de 69% y 22% más alta respecto a MSE. El extracto de jamaica es rico en compuestos fitoquímicos, sin embargo, en el subproducto de jamaica se reporta la presencia polifenoles ligados a la fibra dietaria (Amaya-Cruz et al., 2019b), por lo cual se puede utilizar en productos alimentarios con un aporte alrededor del 30% de compuestos fitoquímicos.

La concentración de compuestos fenólicos de las tres mermeladas, evidencian que el subproducto de jamaica ofrece cantidades significativas de fenoles. Otras mermeladas de frutas, como la de tomate, fresa y kiwi en estos mismos compuestos reportan concentraciones de 0.128 mg GAE/g, 1.000 mg GAE/g y 0.49 mg GAE/g, respectivamente (Pérez-Herrera et al., 2020;Mazur et al., 2014;Cervera-Chiner et al., 2021).

Las antocianinas, son pigmentos polifenólicos con funciones bilógicas responsables de una amplia gama de colores que va desde el purpura, rojo y azul en muchas frutas, flores y hojas. Estos pigmentos son altamente inestables y las temperaturas de procesamiento pueden influir en su contenido final (Rosales & Fabi, 2022). Sin embargo, las mermeladas con extracto de jamaica MR y MCE presentaron un contenido de antocianinas de 0.016 mg C_3G / g de mermelada; valores similares a los reportados por Pérez-Herrera et al. (2020) en mermeladas de tomate *Physalis* spp con un contenido de antocianinas que oscilaron entre 0.0175 y 0.0216 mg C3G/g. Mientras que Scrob et al. (2022) reportan en mermelada de arándanos contenidos de antocianinas entre 0.16 – 0.26 mg C3G/g. Por su parte, las proantocianidinas o taninos condensados son producto de la ruta de los

flavonoides que se caracterizan por impartir astringencia, acidez, dulzura, aroma y color. Sin embargo, su importancia radica en su capacidad antioxidante y los efectos beneficiosos a la salud (Unusan, 2020). Estos compuestos además de encontrarse en el extracto de jamaica, se encuentran en el subproducto de jamaica a pesar de la diminución de 21% en MSE respecto a MR y MCE.

Respecto a la capacidad antioxidante, las mermeladas con extracto de jamaica (MR y MCE) además de presentar un aumento en los compuestos polifenólicos, presentaron una mayor inhibición de la oxidación (32 y 59%) respecto a MSE, en ambos métodos DPPH y ABTS+. Estos resultados confirman una relación directa entre los compuestos polifenólicos (fenoles, antocianinas y proantocianidinas) y la capacidad antioxidante de estos compuestos en las mermeladas. También se observó un aumento en la capacidad antioxidante mediante el ensayo de $ABTS^{+}$ respecto al ensayo de DPPH, en las tres mermeladas, en el que la capacidad antioxidante aumentó alrededor del 26%. Este hecho se debe a factores, como la estereoselectividad de los radicales, la solubilidad de los extractos e incluso aquellos alimentos altamente pigmentados como la cereza, arándanos, repollo rojo e incluso el cáliz de jamaica que puede afectar la capacidad para reaccionar y disminuir la concentración de diferentes radicales (Floegel et al., 2011). Asimismo, Yehye et al.(2015) confirman que una interferencia de color de DPPH con muestras que contienen antocianinas se conduce a una subestimación de la capacidad antioxidante. Por consiguiente, el ensayo de $ABTS^{+}$ refleja mejor los antioxidantes altamente pigmentados e hidrofílicos. En este sentido, las mermeladas elaboradas con extracto de jamaica (MR y MCE) y con el subproducto de jamaica (MSE) representan una buena fuente de antioxidantes que podrían traer beneficios a la salud.

3.3 Evaluación sensorial

Las puntuaciones sensoriales de 30 panelistas semientrenados utilizando una escala hedónica de 9 puntos se presentan en **Figura 3**. La apariencia, color, olor y sabor en las tres mermeladas fueron favorables (>6.9 - 8.1) sin diferencias significativas. Respecto al color, a pesar de que MSE no tiene extracto de jamaica presentó un puntaje igual a MR (8.1) infiriendo que los consumidores no percibieron cambios en el color, hecho que coincide con las mediciones de color, posiblemente por una retención de las antocianinas a la fibra y posible estabilidad de estos compuestos favorecido por el pH ácido (Amaya-Cruz et al., 2019b).

El sabor, es una sensación asociada al dulzor, a la acidez y al amargo; la puntuación media en las tres formulaciones fue de 7.4 a 7.9 sin diferencias significativas ($p < 0.05$); esto indica una similitud en la aceptación de las muestras y corrobora que la sustitución de sacarosa por alulosa en un 25% se puede recomendar como estrategia de una reducción de la sacarosa, que no implica cambios en el sabor; así mismo, la exploración en las tendencias alimentarias mediante el consejo internacional de información alimentaria (Food and Health Survey, 2018) evidencia que un 20% de los consumidores usa edulcorantes no calóricos y que 6 de cada 10 ven negativamente los azúcares añadidos (sacarosa). Estos resultados coinciden con los reportados por de Jribi et al. (2021) con una sustitución parcial de sacarosa del 25% por fructosa y estevia, edulcorantes naturales, en mermeladas de fresa, en las que no se percibieron cambios en el sabor.

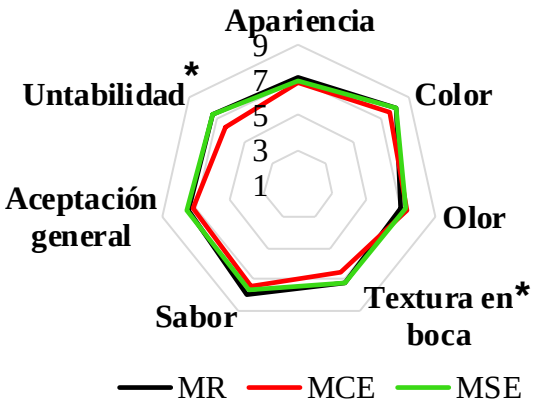


Figura 2. Evaluación sensorial de **MR:** Mermelada referencia 50 % sacarosa; **MCE:** Mermelada con extracto de jamaica con 24 % de sacarosa; **MSE:** Mermelada sin extracto de jamaica con 24 % de sacarosa.

MCE presentó diferencias estadísticas ($p < 0.05$) respecto a MR y MSS en la untabilidad, mientras que en textura en boca presentó diferencias estadísticas respecto a MR, este hecho a su vez se relaciona con una ligera disminución en la puntuación de sabor de MCE. Sobre esta base, la pectina de alto metoxilo aportada por la manzana y la pectina cítrica en sinergia con la alulosa pudo haber formado un gel irreversible al calor, induciendo una sensación en boca más duradera y pegajosa, así como aumentar las propiedades viscosas con una mayor firmeza y una menor untabilidad , además, esta consistencia más firme pudo cubrir los receptores gustativos en los que la integración de los sentidos, es decir, la textura y el sabor pudo alterar las percepción de dulzor (Holm et al., 2009). Por su parte, MSE presentó puntuaciones iguales a MR en textura (7.2) y untabilidad (7.4); resultado que se relaciona con un menor umbral de fluencia y viscosidad aparente; probablemente se deba a que parte de la pectina cítrica no se unió en la fase agua-sacarosa/alulosa (Holm et al., 2009). En general, los atributos sensoriales calificados mediante la aceptación general fueron apreciados positivamente, donde la calificación media de las tres mermeladas tuvo valores entre 7.2 y 7.5 (" Me gusta moderadamente" a "Me gusta mucho") sin diferencias estadísticas, aunado al hecho de una mejor calificación en textura y untabilidad en MSE confirma el hecho de que incluir alulosa como edulcorante natural y utilizar el subproducto de jamaica da como resultado un producto potencialmente aceptable por los consumidores.

4. Conclusiones

En esta investigación se abordó la sustitución parcial de sacarosa por alulosa mediante el desarrollo de mermeladas con el subproducto de jamaica (MCE y MSE) endulzadas con sacarosa y alulosa. Estas mermeladas se caracterizaron por un menor contenido de carbohidratos (40%), valor energético (40%) y un alto contenido de fibra dietaría (5%). Los bajos valores de actividad de agua y el contenido de humedad sugieren que estas mermeladas pueden tener una vida útil prolongada. Además, presentan propiedades fisicoquímicas y sensoriales similares a una mermelada con 50% de sacarosa sin un impacto negativo sobre el color, sabor y textura, por lo que el uso de este subproducto de jamaica es un ingrediente natural sostenible con potencial fitoquímico que contribuye a la reformulación de alimentos entorno al concepto de "alimentos naturales" lo que podría incrementar su valor comercial como parte de la economía circular y minimizar el impacto ambiental

Referencias bibliográficas

Aggarwal, P., Kaur, S., & Kaur, N. (2022). Intermediate moisture kinnow bar from low grade kinnow mandarins: Phytonutritional profile, morphological characterization, and storage stability. *Food Bioscience*, *49*, 101837. https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2022.101837

Amaya-Cruz, D., Peréz-Ramírez, I. F., Pérez-Jiménez, J., Nava, G. M., & Reynoso-Camacho, R. (2019). Comparison of the bioactive potential of Roselle (Hibiscus sabdariffa L.) calyx and its by-product: Phenolic characterization by UPLC-QTOF MSE and their anti-obesity effect in vivo. *Food Research International*, *126*, 108589. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108589

Barbieri, S. F., de Oliveira Petkowicz, C. L., de Godoy, R. C. B., de Azeredo, H. C. M., Franco, C. R. C., & Silveira, J. L. M. (2018). Pulp and Jam of Gabiroba (Campomanesia xanthocarpa Berg): Characterization and Rheological Properties. *Food Chemistry*, *263*, 292–299. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2018.05.004

Basu, S., Shivhare, U. S., & Singh, T. V. (2013). Effect of substitution of stevioside and sucralose on rheological, spectral, color and microstructural characteristics of mango jam. *Journal of Food Engineering*, *114*(4), 465–476. https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2012.08.035

Bekele, M., Satheesh, N., & J.A, S. (2020). Screening of Ethiopian mango cultivars for suitability for preparing jam and determination of pectin, sugar, and acid effects on physico-chemical and sensory properties of mango jam. *Scientific African*, *7*, e00277. https://doi.org/10.1016/J.SCIAF.2020.E00277

Belović, M., Torbica, A., Pajić-Lijaković, I., & Mastilović, J. (2017). Development of low calorie jams with increased content of natural dietary fibre made from tomato pomace. *Food Chemistry*, *237*, 1226–1233. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2017.06.045

Bordiga, M., Travaglia, F., Giuffrida, D., Mangraviti, D., Rigano, F., Mondello, L., Arlorio, M., & Coïsson, J. D. (2019). Characterization of peel and pulp proanthocyanidins and carotenoids during ripening in persimmon "Kaki Tipo" cv, cultivated in Italy. *Food Research International*, *120*, 800–809. https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2018.11.041

Castro-Muñoz, R., Correa-Delgado, M., Córdova-Almeida, R., Lara-Nava, D., Chávez-Muñoz, M., Velásquez-Chávez, V. F., Hernández-Torres, C. E., Gontarek-Castro, E., & Ahmad, M. Z. (2022). Natural

sweeteners: Sources, extraction and current uses in foods and food industries. *Food Chemistry*, *370*, 130991. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2021.130991

Cervera-Chiner, L., Barrera, C., Betoret, N., & Seguí, L. (2021). Impact of sugar replacement by non-centrifugal sugar on physicochemical, antioxidant and sensory properties of strawberry and kiwifruit functional jams. *Heliyon*, *7*(1), e05963. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e05963

Deliza, R., Lima, M. F., & Ares, G. (2021). Rethinking sugar reduction in processed foods. *Current Opinion in Food Science*, *40*, 58–66. https://doi.org/10.1016/J.COFS.2021.01.010

Figueroa, L. E., & Genovese, D. B. (2019). Fruit jellies enriched with dietary fibre: Development and characterization of a novel functional food product. *LWT*, *111*, 423–428. https://doi.org/10.1016/J.LWT.2019.05.031

Floegel, A., Kim, D. O., Chung, S. J., Koo, S. I., & Chun, O. K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, *24*(7), 1043–1048. https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2011.01.008

Maciel, L. G., do Carmo, M. A. V., Azevedo, L., Daguer, H., Molognoni, L., de Almeida, M. M., Granato, D., & Rosso, N. D. (2018). Hibiscus sabdariffa anthocyanins-rich extract: Chemical stability, in vitro antioxidant and antiproliferative activities. *Food and Chemical Toxicology*, *113*, 187–197. https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.01.053

Mazur, S. P., Nes, A., Wold, A. B., Remberg, S. F., Martinsen, B. K., & Aaby, K. (2014). Effects of ripeness and cultivar on chemical composition of strawberry (Fragaria × ananassa Duch.) fruits and their suitability for jam production as a stable product at different storage temperatures. *Food Chemistry*, *146*, 412–422. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2013.09.086

Panwar, D., Saini, A., Panesar, P. S., & Chopra, H. K. (2021). Unraveling the scientific perspectives of citrus by-products utilization: Progress towards circular economy. *Trends in Food Science & Technology*, *111*, 549–562. https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2021.03.018

Pathania, S., & Kaur, N. (2022). Utilization of fruits and vegetable by-products for isolation of dietary fibres and its potential application as functional ingredients. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, *27*, 100295. https://doi.org/10.1016/J.BCDF.2021.100295

Pérez-Herrera, A., Martínez-Gutiérrez, G. A., León-Martínez, F. M., & Sánchez-Medina, M. A. (2020). The effect of the presence of seeds on the nutraceutical, sensory and rheological properties of Physalis spp. Fruits jam: A comparative analysis. *Food Chemistry*, *302*, 125141. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125141

Qiu, L., Zhang, M., Tang, J., Adhikari, B., & Cao, P. (2019). Innovative technologies for producing and preserving intermediate moisture foods: A review. In *Food Research International* (Vol. 116, pp. 90–102). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.12.055

Reynoso-Camacho, R., Sotelo-González, A. M., Patiño-Ortiz, P., Rocha-Guzmán, N. E., & Pérez-Ramírez, I. F. (2021). Berry by-products obtained from a decoction process are a rich source of low- and high-molecular weight extractable and non-extractable polyphenols. *Food and Bioproducts Processing*, *127*, 371–387. https://doi.org/10.1016/J.FBP.2021.03.014

Riaz, G., & Chopra, R. (2018). A review on phytochemistry and therapeutic uses of Hibiscus sabdariffa L. In *Biomedicine and Pharmacotherapy* (Vol. 102, pp. 575–586). Elsevier Masson SAS. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.03.023

Rosales, T. K. O., & Fabi, J. P. (2022). Nanoencapsulated Anthocyanin as a Functional Ingredient: Technological Application and Future Perspectives. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 112707. https://doi.org/10.1016/J.COLSURFB.2022.112707

Santos, K. C., Guedes, J. S., Rojas, M. L., Carvalho, G. R., & Augusto, P. E. D. (2021). Enhancing carrot convective drying by combining ethanol and ultrasound as pre-treatments: Effect on product structure, quality, energy consumption, drying and rehydration kinetics. *Ultrasonics Sonochemistry*, *70*(August 2020), 105304. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105304

Shinwari, K. J., & Rao, P. S. (2018). Stability of bioactive compounds in fruit jam and jelly during processing and storage: A review. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 75, pp. 181–193). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.02.002

Sultanbawa, Y., & Sivakumar, D. (2022). Enhanced nutritional and phytochemical profiles of selected underutilized fruits, vegetables, and legumes. *Current Opinion in Food Science*, *46*, 100853. https://doi.org/10.1016/J.COFS.2022.100853

World Health Organization. (2015). Guideline: Sugars intake for adults and children. In *World Health Organization* (Vol. 57, Issue 6).

Comportamiento de la alfalfa bajo elicitación controlada con H_2O_2

Muñoz Salinas Florencia[a], Loarca Piña Flavia Guadalupe[b], Delis Hechavarría Emilio Andrés[a], Torres Pacheco Irineo[a].

[a] Facultad de Ingeniería, Campus Amazcala, Universidad Autónoma de Querétaro, El Marqués, CP 76265, México. fmunoz03@alumnos.uaq.mx, delisemilio@gmail.com, irineo.torres@uaq.mx.

[b] Departamento de Investigación de Alimentos y Estudios de Posgrado (DIPA) de la Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, CP 76017, México. loarca@uaq.mx.

RESUMEN

En el presente estudio se evaluó el comportamiento de variables fisiológicas y bioquímicas de la alfalfa (*Medicago sativa L.)* bajo elicitación controlada con peróxido de hidrógeno. Cuando las plantas se encuentran en un sistema de estrés leve mediante elicitores, sintetizan bioactivos que puede utilizar el consumidor en beneficio de su salud. La alfalfa es una leguminosa altamente utilizada para la alimentación de ganado productor de carne y leche. Para esta investigación se plantea utilizar al peróxido de hidrógeno como elicitor en campo experimental de cultivo de alfalfa, teniendo 16 tratamientos a diferentes concentraciones y número de aplicaciones de peróxido de hidrógeno. Las variables fisiológicas evaluadas fueron longitud de tallo y retención de agua en la planta. En lo correspondiente a variables bioquímicas se determinó la capacidad antioxidante ABTS y DPPH, además de las enzimas antioxidantes fenilalanina amonoliasa, catalasa y superóxido dismutasa. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo en el programa Statgraphics Centurion XVI. Dentro de los resultados obtenidos se encontró que la elicitación de peróxido de hidrógeno en la planta de alfalfa aumenta la actividad y enzimas antioxidantes en las plantas tratadas. De lo anterior se puede suponer que el peróxido de hidrógeno actúa como elicitor en alfalfa cultivada en condiciones de campo y que pudiera generar un efecto en el consumidor.

ABSTRACT

The present study evaluated the behavior of alfalfa's physiological and biochemical variables (Medicago sativa L.) under controlled elicitation with hydrogen peroxide. When plants are in a mild stress system through elicitors, they synthesize bioactive that the consumer can use to benefit their health. Alfalfa is a legume widely used for feeding cattle and producing meat and milk. For this research, it is proposed to use hydrogen peroxide as an elicitor in an experimental field of alfalfa cultivation, having 16 treatments at different concentrations and some applications of hydrogen peroxide. The physiological variables evaluated were stem length and water retention in the plant.

Regarding biochemical variables, the antioxidant capacity ABTS and DPPH were determined, in addition to the antioxidant enzymes phenylalanine ammonolyase, catalase, and superoxide dismutase. Statistical analyzes were carried out in the Statgraphics Centurion XVI program. Among the results obtained, we found that the elicitation of hydrogen peroxide in the alfalfa plant increases the activity and antioxidant enzymes in the treated plants. From the above, we can assume that hydrogen peroxide acts as an elicitor in alfalfa grown under field conditions and could generate an effect on the consumer.

PALABRAS CLAVE

Alfalfa, elicitación, peróxido de hidrógeno.

Alfalfa, elicitation, hydrogen peroxide.

INTRODUCCIÓN

La alfalfa (*Medicago sativa L.*), es una leguminosa arbustiva y perene, de crecimiento rápido, persistente, con un sistema de raíces primarias profundas, tolerantes al déficit hídrico y al frío, con fijación simbiótica de nitrógeno y semillas con

capacidad de latencia (Sun et al., 2019). La alfalfa es originaria del cercano oriente y ampliamente distribuida en las regiones ganaderas de prácticamente todos los continentes (Wang y Şakiroğlu, 2021). En cuanto a su importancia por indicadores económicos, por ejemplo, tan solo en los USA es el tercer cultivo en importancia con un valor de más de 9 mil millones de dólares al año (Fernández et al., 2019). Adicionalmente, la alfalfa puede contribuir en la formación y protección del suelo por lo que mejora la capacidad de retención de agua. La alfalfa es alimento y hábitat para polinizadores, depredadores de plagas de cultivos y otros insectos benéficos). La alfalfa se usa principalmente como alimento para el ganado, de donde se deriva su incidencia en la producción de carne y productos lácteos. También se usa como alimento para caballos, y como fuente de proteína en alimentos para mascotas, peces e incluso humanos (Rojas et al., 2019).

Por otro lado, a medida que el conocimiento de los consumidores es mayor, la demanda de alimentos funcionales se incrementa debido al impacto positivo en su salud, (Kandylis, 2021). Por eso, los alimentos funcionales se han convertido en una de los principales enfoques en la producción de alimentos debido a su esperado efecto deseable en la salud (Ogori et al., 2021). No obstante, muchos de los productos que se han enviado al mercado no han cumplido con las expectativas debido a que no se ha explorado suficientemente (Menrad, 2003). Es necesario incrementar los procesos de producción de los alimentos funcionales para que conserven la tendencia sostenible en el mercado (Siró et al., 2008). El caso de los productos lácteos no es la excepción porque también se desarrollan prácticas para mejorar su carácter funcional (Carrillo-Lopez et al., 2021).

El manejo de la xenohormesis puede contribuir en ese sentido. En teoría, cuando las plantas se encuentran bajo un estrés leve, proceso llamado hormesis (Agathokleous y Calabrese, 2019), las plantas sintetizan bioactivos que pueden ser usados por los animales que las ingieren para a su vez usarlos o detectarlos para activar su sistema de síntesis *de novo* para su defensa, lo cual es conocido como xenohormesis (Gibert-Ramos et al., 2020).

La hormesis puede ser manejada por medio de la elicitación controlada (Rivero-Montejo et al., 2021). La elicitación es la acción por la cual un agente molecular (elicitor) es capaz de interactuar con un receptor y así activar una respuesta inmune causando variaciones fenológicas y fenotípicas que pueden coincidir con las características deseables de productividad de los cultivos como la estimulación de la floración, la biosíntesis de metabolitos especializados y la resistencia a otros estresores (Vargas-Hernández et al., 2017).

En ese sentido el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), puede ser un elicitor adecuado para la elicitación controlada. El H_2O_2 genera estrés oxidativo e inhibe funciones de las plantas, puede actuar como una molécula de señalización estimulando funciones biológicas y reacciones químicas a concentraciones de nanomoles, regulando el crecimiento y desarrollo de las plantas (Nazir et al., 2020). El peróxido de hidrógeno está involucrado en la transducción de señales que inducen la expresión de genes mejorando la adaptabilidad de las plantas bajo condiciones de estrés (Khan et al., 2018). En un trabajo reportado previamente, la aplicación de H_2O_2 en alfalfa aceleró la germinación e incrementó el crecimiento de alfalfa (Muñoz-Salinas et al., 2021).

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del peróxido de hidrógeno en variables fisiológicas y bioquímicas de la planta de alfalfa a diferentes dosis y tiempos de exposición, modificando así el valor nutracéutico del forraje de alfalfa.

METODOLOGÍA

Semilla y Diseño experimental

La semilla que se usó para el estudio fue variedad San Miguel, California. La siembra se realizó en el mes de enero 2020. Se usó el diseño experimental de bloques al azar en donde la unidad experimental fueron dos surcos de 10 m y se probaron 16 tratamientos con cuatro repeticiones (Cuadro 1). El

control consistió en la aplicación de agua. Los tratamientos fueron preparados el mismo día de aplicación y se protegieron de la luz. La aplicación se realizó semanalmente.

Medición de variables

Longitud del tallo. La medición de la longitud de tallo de la alfalfa se realizó con una escala graduada. Los tallos medidos se seleccionaron aleatoriamente. El número de mediciones fue de 80 eventos por cada tratamiento, acorde con Cruz-Martínez et al. (2016).

Retención de agua. La retención de agua se evaluó mediante la diferencia entre de peso fresco y peso seco de una cantidad de muestra de alfalfa correspondiente a un área de 575 cm^2 de cada tratamiento. En un papel se colocó una cantidad conocida de muestra y se dejó exponiéndose la muestra en el sol hasta que tuviera un peso constante, en ese punto el agua de la muestra ya se había evaporado y sólo quedó la cantidad de biomasa sin agua en cada muestra. Se sacó la relación de porcentaje de biomasa con las dos mediciones. El número de muestras fue de 12 por cada tratamiento (Cruz-Martínez et al., 2016).

Tratamiento	**Dosis de H_2O_2**
1	Control
2	98 mM con 3 aplicaciones
3	98 mM con 2 aplicaciones
4	98 mM con 1 aplicación
5	294 mM con 3 aplicaciones
6	294 mM con 2 aplicaciones
7	294 mM con 1 aplicación
8	490 mM con 3 aplicaciones
9	490 mM con 2 aplicaciones
10	490 mM con 1 aplicación
11	784 mM con 3 aplicaciones
12	784 mM con 2 aplicaciones
13	784 mM con 1 aplicación
14	980 mM con 3 aplicaciones
15	980 mM con 2 aplicaciones
16	980 mM con 1 aplicaciones

Cuadro 1. Los tratamientos para elicitación de alfalfa consistieron en diferentes concentraciones del H_2O_2 y en diferente número de aplicaciones.

Capacidad Antioxidante. El ensayo ABTS se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Nenadis *et al*., (2004). Para la curva estándar se utilizó una solución de Trolox a una concentración de 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 y 800 µM. Para generar el radical ABTS●+ se preparó una solución stock de ABTS 7 mM, se tomaron 5 mL de la solución acuosa, se le adicionaron 88 µL de persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$) 140 mM y se almacenó en oscuridad por 12 h. Después la solución que contiene el radical se midió a una λ= 734 nm y se diluyó en etanol (de 20 a 25 ml) hasta que el valor de la absorbancia alcanzara un valor menor a 1.0. Posteriormente se prepararon las muestras en una placa de 96 pozos, al blanco se le adicionaron a 20 µL de la muestra y 230 µL de etanol, para los controles se adicionaron 20 µL de metanol y agua destilada, finalmente se les adicionaron 230 µL de ABTS●+. La medición de la absorbancia se llevó a cabo a los 730 nm por un lapso de 0-6 min.

El ensayo DPPH se realizó en una placa de 96 pozos, primero se adicionaron 20 µL de los extractos y posteriormente se adicionaron 200 µL de DPPH● al 80% en metanol, para el control positivo se utilizó Trolox y para el negativo todos los reactivos a excepción de los extractos (Fukumoto y Mazza, 2000). Se midió la absorbancia de 520 nm a diferentes tiempos (0, 4, 10, 30, 60, 90 y 120 min). Los resultados se reportaron como % ARA (Capacidad antiradical).

Enzimas Antioxidantes. El contenido de proteína para todas las enzimas fue medido de acuerdo al método de Bradford (1976) por medio de un extracto enzimático.

La actividad de Catalasa (CAT), se evaluó espectroscópicamente de acuerdo a Aebi (1984) para la medición de la tasa de disminución de peróxido de hidrógeno a 240 nm a temperatura ambiente. El cambio de absorbancia a 240 nm fue medido por 6 minutos usando la tasa de descomposición de peróxido de hidrógeno por catalasa (µmol H_2O_2 consumido por minuto). Cada tratamiento fue repetido 3 veces.

El total de actividad de Superóxido Dismutasa (SOD), fue estimada por la inhibición de la reducción fotoquímica de nitroazul de tetrazolio (NBT). La reacción contiene 1.5 mL de bufer de fosfato 0.05 M (pH 7.8), 0.3 mL de EDTA-Na_2 0.1 mmol L^{-1}, 0.3 mL de metionina 0.13 mol L^{-1}, 0.3 mL de NBT 0.75 mmol L^{-1},0.3 mL de riboflavina 0.02 mmol L^{-1}, 0.05 mL de extracto y 0.25 mL de agua destilada. El volumen total de reacción fue de 3 mL. Después de exponer a luz blanca por 30 minutos se mide la absorbancia de la muestra a 560 nm. La actividad de SOD fue determinada como 50% de inhibición de la reducción de NBT causada por el superóxido generado por la reacción de foto reducción de riboflavina y oxígeno. El total de actividad SOD fue expresado en unidades por miligramo de proteína (Gao, 2006).

La actividad de Fenilalanina amonoliasa (PAL), fue determinada de acuerdo al método Mozzetti et al., 1995. Para la determinación se utilizó 200 µL de extracto a los cuales se le adicionaron 2.3 mL de buffer de reacción (borato 0.1 M, 10 mM fenilalanina, pH 8.8). La reacción fue incubada a 40°C por 1 hora. Después de transcurrido el tiempo se le adicionaron 0.5 mL de HCl 5 N. La absorbancia fue determinada a 290 nm. La actividad de PAL fue calculada como los mmol de ácido cinámico por gramo de muestra, producido bajo condiciones específicas y expresadas como unidades por mg de proteína (Mozzetti et al., 1995).

Análisis estadístico. Los datos fueron analizados utilizando el software estadístico Statgraphics Centurion XVI. II. El α usada para establecer las diferencias dependió del tipo de error asumido tanto en los análisis de varianza como en la comparación de medias.

RESULTADOS

Longitud del Tallo. Por considerar la longitud del tallo una característica fisiológica de supervivencia, se evaluó el efecto de la aplicación del H_2O_2 sobre dicha variable. En la Figura 2 se observa el efecto considerando una media de 80 datos por cada tratamiento. Sobresalen los tratamientos 6. 294 mM (3A) y el 11. 784 mM (3A), 3. 98 mM (2A), 5. 294 mM (3A), 9. 490 mM (2A), y 7. 294mM (1A), 980 mM (3A), y 980 mM (1A), asumiendo error tipo A con α=0.05. Acorde con lo observado en el Figura 2, los resultados sugieren que cualquiera de los tratamientos señalados es estadísticamente igual y por lo tanto solo el costo del tratamiento será determinante para su recomendación. Por otro lado, en cuanto a esta variable los resultados coinciden con los reportados por Bagheri et al., (2019) quienes reportaron que en concentraciones de 1-10 mM se tuvo un efecto positivo en el crecimiento del pistacho. El efecto, luce de manera similar al que reportaron en papa Foyer et al., en 1997, es decir, que al parecer a medida que se incrementa la concentración de H_2O_2 puede inducir mayor o menor longitud del tallo. No obstante, es notable el hecho de que el comportamiento de las variables de respuesta no es cuadrático o monotónico, comportamiento de hormesis que ya sido citado previamente (Erofeeva, 2018).

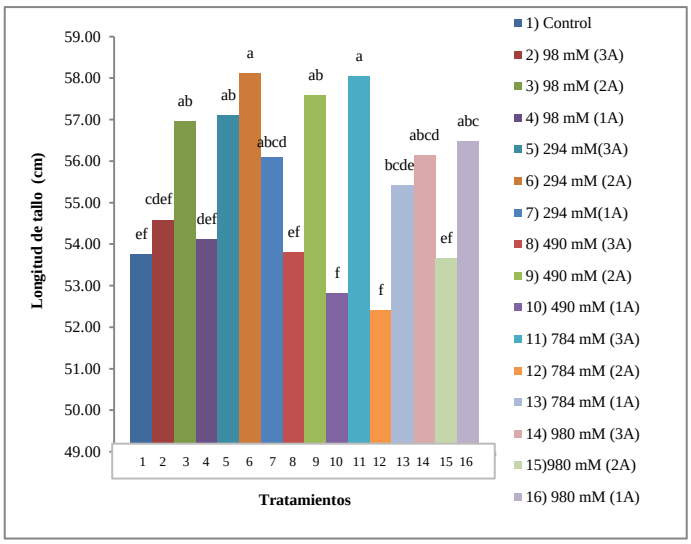


Figura 2. Longitud de tallo (cm) en alfalfa con diferentes concentraciones y número de aplicaciones de peróxido de hidrógeno. A, indica el número de aplicaciones de peróxido de hidrógeno la diferencia estadística de las medias se llevó a cabo con α=0.05.

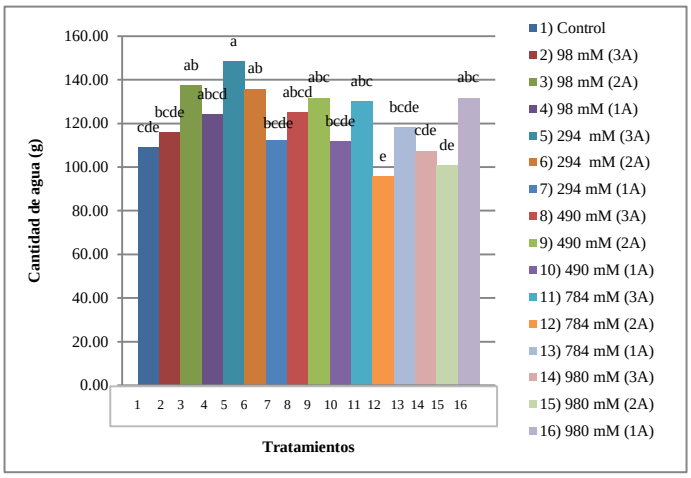


Figura 3. Efecto de la aplicación de peróxido de hidrógeno en cuanto a la retención del agua en planta de alfalfa con diferentes concentraciones y número de aplicaciones de peróxido de hidrógeno. A, indica el número de aplicaciones. La comparación de medias se realizó con α=0.05.

Retención de agua en las plantas. Una variable fisiológica de sobrevivencia evaluada fue la cantidad de agua retenida en la planta de alfalfa, cuyos resultados se observan en la Figura 3. Los tratamientos 5. 294 mM (3A), 3. 98 mM (2A), 6. 294 mM (2A), 8. 490 mM (3A), 9. 490 mM (2A), 11. 784 mM (3A) y 16, 980(1A), son los más destacados. Casi todos los tratamientos sobresalientes en cuanto a cantidad de agua coincidieron con los tratamientos en los que se observó mayor longitud de tallo como respuesta a las diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno. Lo que sugiere una correlación entre las variables longitud de tallo y retención de agua en alfalfa. Investigaciones anteriores han mostrado que el peróxido de hidrógeno puede actuar como una molécula de señalización en las plantas estimulando funciones fisiológicas y bioquímicas regulando el crecimiento y desarrollo de las plantas (Nazir et al., 2020); nuestros resultados ratifican que H_2O_2 y el agua tienen una relación directa por el rol del primero en la fotorespiración y la respuesta al estrés de déficit de agua (Foyer et al., 1997).

Determinación de capacidad antioxidante (ABTS y DPPH). Los resultados se muestran en la Figura 4. Respecto a ABTS, todos los tratamientos a los cuales se les aplicó H_2O_2 tuvieron una mayor actividad antioxidante que el control, excepto el tratamiento 5. 294 mM (3A), (Figura 4A). Obviamente dentro del grupo sobresaliente se encuentran los tratamientos sobresalientes en cuanto a longitud del tallo y retención de agua por la planta.

En cuanto a la actividad antioxidante del radical DPPH (Figura 4B) el tratamiento 11. 784 mM (3A) indujo una actividad antioxidante significativamente mayor al a la que indujeron resto de los tratamientos. Aunque dentro del segundo grupo se ubicaron tratamientos destacados en cuando a las variables previamente analizadas. Aunque ABTS y DPPH son radicales libres artificiales, su actividad antioxidante no representa necesariamente la captura de las especies reactivas del oxígeno (ROS) más comunes producidas en las plantas (Xiuli, et al., 2014), el efecto observado en las variables analizadas sugiere una respuesta consistente en este trabajo. En general en plantas, se presenta una respuesta parecida como efecto de la aplicación exógena de H_2O_2 (Szpunar-Krok et al., 2020; Delis-Hechavarría., 2021).

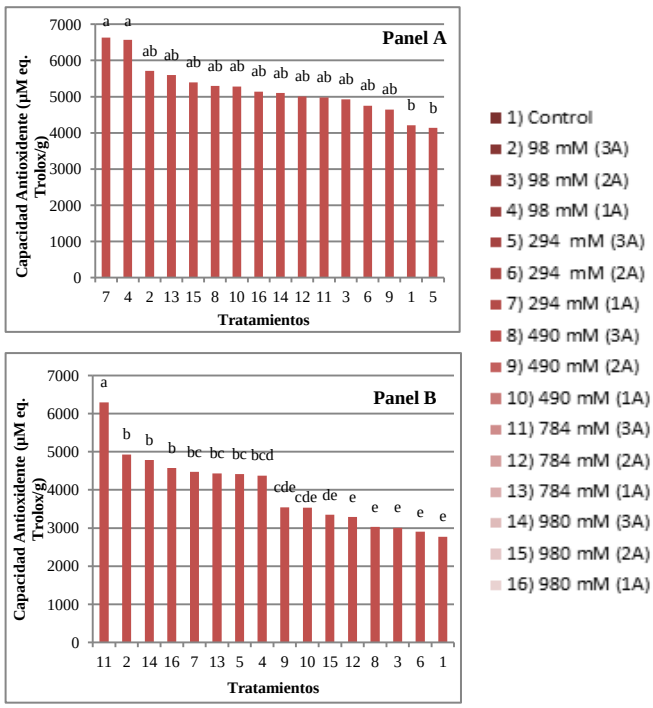


Figura 4. Panel A) Capacidad antioxidante ABTS inducida por los diferentes tratamientos, Panel B) Capacidad antioxidante DPPH desplegada por los tratamientos en alfalfa con diferentes concentraciones de H_2O_2 y diferentes números de aplicaciones; α=0.05).

Enzimas antioxidantes (CAT, SOD, PAL)

Respecto a la enzima PAL, los tratamientos con mayor actividad son los siguientes tratamientos: 13. 784 mM (1A), 7. 294 mM (1A), 5. 294 mM (3A) y 11. 784 mM (3A), los cuales fueron estadísticamente diferentes considerandos una α=0.05. Donde A es el número de aplicaciones semanales de solución de peróxido de hidrógeno (Figura 5). PAL es una enzima relacionada con la síntesis de novo de metabolitos secundarios (fenoles), por lo tanto, pudiera ser que en estos cuatro tratamientos haya mayor cantidad de metabolitos secundarios con respecto al resto de los tratamientos, lo que concuerda con el análisis de capacidad antioxidante, donde los tratamientos con mayor actividad son 784 mM H_2O_2-3A (11) y 294 mM H_2O_2-1A (7). PAL es la enzima responsable de la síntesis de metabolitos secundarios como fenoles totales y de capacidad antioxidante, como lo reportó Swieca, (2015), por ejemplo, el ácido caféico y el ácido ferúlico (Vyas y Mukhopadhyay, 2018). La PAL también, en la alfalfa se asoció con una mayor capacidad antioxidante en brotes de lenteja elicitados con peróxido de hidrógeno 15 y 150 mM (Swieca, 2015). Muñoz-Salinas et al., 2021 también reportaron un incremento en la enzima PAL en plantas de alfalfa bajo un pretratamiento de la semilla con H_2O_2 a 294 y 784 mM de peróxido de hidrógeno.

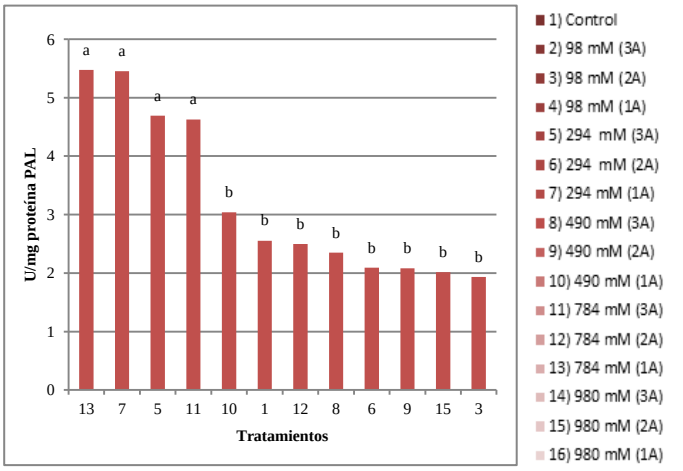


Figura 5. Efecto en la actividad de la Fenilalanina amonoliasa (PAL) de la aplicación exógena de diferentes concentraciones de H_2O_2. α=0.05.

Por su parte la catalasa (CAT) es una enzima que convierte el H_2O_2 producido a H_2O y O_2 procurando el balance entre el sistema antioxidante y las especies reactivas de oxígeno (EROS). En la Figura 6 se observa que los tratamientos con mayor actividad de la CAT fueron: el 11. 784 mM (3A) y el 5. 294 mM (A5) con diferencia estadística significativa respecto a los demás tratamientos. Nazir et al., 2019b reportó que la aplicación exógena de H_2O_2 previene el aumento del estrés oxidativo y un aumento en el H_2O_2 endógeno, generando un incremento en la actividad de enzimas antioxidantes entre las que esta CAT. Otros autores como Grupta et al., 2018 también lo habían asociado con el incremento de la defensa antioxidante de planta.

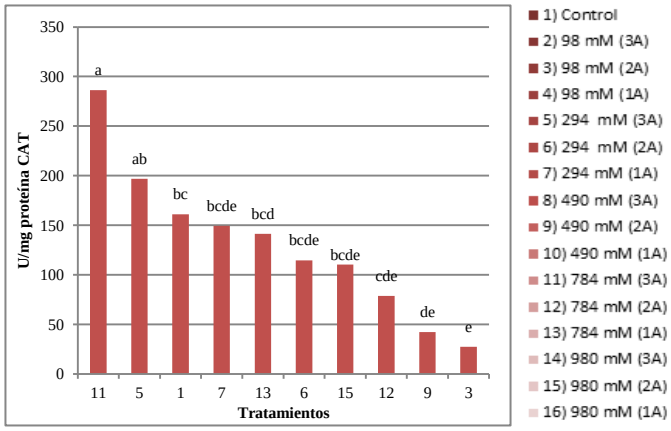


Figura 6: Enzima antioxidante Catalasa (CAT) en alfalfa con diferentes concentraciones y número de aplicaciones de peróxido de hidrógeno (a, b, c, e diferencia estadística significativa con α=0.05.

Por otro lado, superóxido dismutasa (SOD) es la primera enzima en la línea de defensa que convierte el radical superóxido (O_2^-) a H_2O_2 y que contrarresta la oxidación de los organismos (Barba-Espín et al., 2021). Con respecto a esta enzima se puede observan que los tratamientos que indujeron una mayor actividad de SOD fueron el 5. 294 mM (3A), el 12. 784 mM (2A) y el 11. 784 mM (3A) los cuales asumiendo el error tipo B con α=0.10 fueron los que indujeron una mayor actividad de la enzima (Figura 7). Lo anterior coincide con lo que se ha reportado en el sentido de que el peróxido de hidrógeno induce al sistema antioxidante, aumentando la actividad de las enzimas superóxido dismutasa restaurando el metabolismo celular, protegiendo el aparato fotosintético, además del metabolismo de la prolina

y la reducción del estrés oxidativo (Wang et al., 2013; Khan et al., 2016; Nazir et al., 2019a).

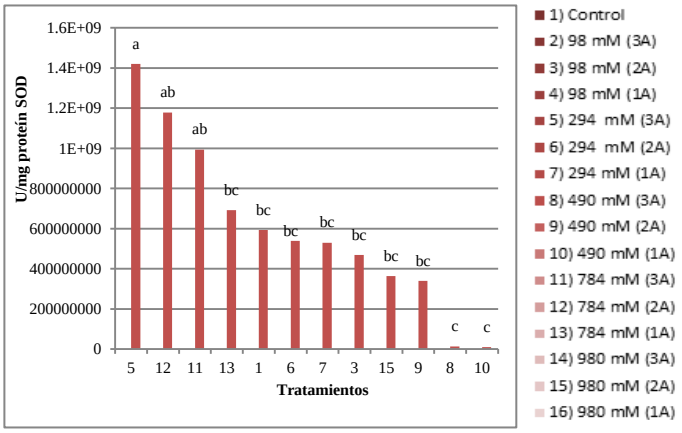


Figura 7: Enzima antioxidante Superóxido dismutasa (SOD) en alfalfa con diferentes concentraciones y número de aplicaciones de peróxido de hidrógeno (a, b, c, diferencia estadística significativa con α=0.10).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los resultados que se obtuvieron en este trabajo sugieren que el peróxido de hidrógeno actuó como elicitor en las plantas de alfalfa cultivadas en condiciones de campo. Las plantas elicitadas tuvieron una mayor actividad antioxidante que las no tratadas, lo cual se observó de manera indirecta a través de la actividad ABTS y DPPH lo cual a su vez coincidió con el incremento de la actividad enzimas PAL, CAT y SOD. Una consecuencia de lo anterior es que se puede suponer una respuesta hormética, lo que a su vez permite esperar que pueda haber xenohormesis en consumidores herbívoros.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. Methods Enzymol. 105: 121-126.

Barba-Espín, G., Martínez-Jiménez, C., Izquierdo-Martínez, A., Acosta-Motos, J.R., Hernández J.A., and Díaz-Vivancos, P. 2021. "H_2O_2-Elicitation of Black Carrot Hairy Roots Induces a Controlled Oxidative Burst Leading to Increased Anthocyanin Production" *Plants* 10, 12: 2753. https://doi.org/10.3390/plants10122753

Cruz, M.A., Pedroza, S.A., Trejo, C.R., Sánchez, C.I., Samaniego, G.J.A., Hernández, S.R. 2016. Captación de agua de lluvia y retención de humedad edáfica en el establecimiento de buffel (*Cenchrus ciliaris L*.)

Delis-Hechavarría, E A., Guevara-González, R. G., Ocampo-Velazquez, R.V., Gómez-Soto, J.G., Tovar-Pérez, E.G., García-Trejo, J.F., Torres-Pacheco, I. 2021. Pre-germination treatment with hydrogen peroxide as a controlled elicitation strategy to improve chemical properties of hydroponic barley fodder. *Crop and Pasture Science* **72**, 815-822.

Erofeeva, E.A. 2018. Hormesis and paradoxical effects of pea (*Pisum sativum* L.) parameters upon exposure to formaldehyde in a wide range of doses. *Ecotoxicology* **27**, 569–577. https://doi.org/10.1007/s10646-018-1928-2

Fernandez, A.L., Sheaffer C.C., Tautges N.E., Putnam, D.H. and Hunter, M.C. 2019. Alfalfa, Wildlife, and the Environment (2nd ed.). National Alfalfa and Forage Alliance, St. Paul, MN.

Foyer, C.H., Lopez-Delgado, H., Dat, J.F. and Scott, I.M. 1997. Hydrogen peroxide-and glutathione associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signalling.- Physiol. Plant. 100: 241-254.

Fukumoto, L.R. and Mazza, G. 2000. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. J Agric Food Chem. 48(8): 3597-3604.

Gao, J. 2006. The Guidance of plant physiology experiments. Higher Education Press. Beijing.

Gibert-Ramos, A., Palacios-Jordan, H., Salvadó, M.J. and Crescenti, A. 2020. Consumption of out-of-season orange modulates fat accumulation, morphology and gene expression in the adipose tissue of Fischer 344 rats. Eur J Nutr 59, 621–631. https://doi.org/10.1007/s00394-019-01930-9

Gupta, D.K., Palma, J.M., Corpas, F.J. 2018. Antioxidants and antioxidant enzymes in higher plants. (Springer) doi: 10.1007/978-3-319-75088-0

Kandylis, P. 2021. Grapes and Their Derivatives in Functional Foods. 10(3), 72. https://doi.org/10.3390/FOODS10030672

Khan, T.A., Qazi, F., Mohammad, Y. 2018. Effect of exogenously sourced hydrogen peroxide treatments on growth, photosynthesis and antioxidant traits in two contrasting cultivars of tomato, a mode and concentration dependent study. Acad J Agric Res. 6(1): 19-29.

Khan, M.I.R., Khan, N.A., Masood, A., Per, T.S., Asgher, M. 2016. Hydrogen peroxide alleviates nickel-inhibited photosynthetic responses through increase in use-

efficiency of nitrogen and sulfur, and glutathione Production in mustard. Front Plant Sci. 7: 44.

Menrad, K. 2003. Market and marketing of functional food in Europe. Journal of Food Engineering, 56(2-3), 181–188. https://doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00247-9.

Mozzetti, C., Ferraris, L., Tamietti, G., Matta, A. 1995. Variation in enzyme activities in leaves and cell suspensions and markers of incompatibility in different Phytophthorapepper interactions. Physiological and Molecular Plant Pathology. 46(2): 95-107.

Muñoz, S.F., Tovar, P.E.G., Guevara, G.R.G., Loarca, P.G.F., Torres, P.I. 2021. Effect of hydrogen peroxide pretreatment on physiological and biochemical variables during germination of alfalfa seeds. Legume Research-An International Journal. 44:1506-1511.

Nazir, F., Furiduddin, Q., Khan, T.A. 2020. Hydrogen peroxide as a signalling molecule in plants and its crosstalk with other plant growth regulators under heavy metal stress. Chemosphere. 252.

Nazir, F., Hussain, A., Fariduddin, Q. 2019b. Hydrogen peroxide modulates photosynthesis and antioxidant systems in tomato (Solanum Lycopersicum L.) plants under copper stress. Chemosphere 230: 544-558.

Nenadis, N.W., Wang, L.F., Tsimidou, M., Zhang, H.Y. 2004. Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using ABTS (*+) assay. J Agric Food Chem. 52(15): 4669-4674.

Ogori, A.F., Amove, J., Aduloju, P., Sardo, G., Okpala, C.O.R., Bono, G., and Korzeniowska, M. 2021. Functional and quality characteristics of ginger, pineapple, and turmeric juice mix as influenced by blend variations. Foods, 10(3), 1–15. https://doi.org/10.3390/foods10030525.

Rojas, A.R., Torres, N., Maldonado, M.A., Herrera, J., Sánchez, P., Cruz, A., et al. 2019. Yield of forage and its components in alfalfa varieties of the Mexican high plateau. *Revista Mexicana de Ciencias. Pecuarias*; 10(1):239-253.

Szpunar-Krok, E., Jańczak-Pieniążek, M., Skrobacz, K., Bobrecka-Jamro, D., and Balawejder, M. 2020. "Response of Potato (*Solanum Tuberosum* L.) Plants to Spraying by Hydrogen Peroxide" *Sustainability* 12(6): 2469. https://doi.org/10.3390/su12062469

Sun, Q.Z., Liu, Q., Li F., Tao, Y, Xu, L.J. 2019. A brief review of the origin and dissemination of Alfalfa[J]. Acta Prataculturae Sinica, 28(6): 204-212.

Vyas, P., Mukhopadhyay, K. 2018. Elicitation of Phenylpropanoids and Expression Analysis of *PAL* Gene in Suspension Cell Culture of *Ocimum tenuiflorum* L. *Proc. Natl. Acad. Sci., India, Sect. B Biol. Sci.* **88**, 1207–1217. https://doi.org/10.1007/s40011-017-0858-8

Wang, Z., Şakiroğlu, M. 2021. The Origin, Evolution, and Genetic Diversity of Alfalfa. In: Yu, LX., Kole, C. (eds) The Alfalfa Genome. Compendium of Plant Genomes. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-74466-3_3

Wang, X., Hou, C., Liu, J., He, W., Nan, W., Gong, H., Bi, Y. 2013. Hydrogen peroxide is involved in the regulation of rice (*Oryza sativa L.*) tolerance to salt stress. Acta Physiol Plant. 35: 891-900.

Xiuli, B., Jiangli, Z., Changsheng, C., Di, Z., Pengmin, L., Fengwang, M. 2014. Anthocyanin contributes more to hydrogen peroxide scavenging than other phenolics in apple peel, Food Chemistry. 152: 205-209, ISSN 0308-8146, https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.088.

Obtención de fibras de celulosa a partir de residuos agroindustriales

B. Ramírez-Ortiz*, M.B. Ortuño-López. C.G. Flores-Hernández**.

Tecnológico Nacional de México Campus Querétaro.

Autor de correspondencia: **cynthia.fh@queretaro.tecnm.mx

Resumen

En este trabajo, se presenta una metodología para la obtención de fibras naturales a partir de residuos como son las hojas de piña, con la finalidad de estudiar la aplicación de las fibras como un material de refuerzo en matrices naturales. Se evaluaron las propiedades morfológicas, estructurales y fisicoquímicas. Por lo que, se realizaron análisis morfológicos, de infrarrojo, pruebas de humedad y solubilidad. En los resultados obtenidos se evaluó el rendimiento obtenido de la fibra de celulosa recuperada después de someterla a varios tratamientos químicos. En el microscopio óptico se observó la morfología de la superficie de la fibra antes y después de las modificaciones químicas. El análisis por espectroscopía de infrarrojo corroboró los grupos funcionales presentes en la fibra de celulosa y que coinciden con los reportados en otros trabajos. Las pruebas fisicoquímicas determinaron la cantidad de humedad y solubilidad presentes en las fibras. La obtención de fibras de celulosa a partir de un material de residuo para su posible aplicación en la fabricación de materiales compuestos es un área de interés prometedora, en la búsqueda de alternativas sustentables y amigables con el ambiente.

Palabras Clave: Fibras naturales, hojas de piña, residuos agroindustriales, celulosa.

Abstract

In this work, a methodology for obtaining natural fibers from waste such as pineapple leaves is presented, in order to study the application of fibers as a reinforcement material in natural matrices. The morphological, structural and physicochemical properties were evaluated. Therefore, morphological, infrared, humidity and solubility tests were carried out. In the results obtained, the yield obtained from the recovered cellulose fiber after subjecting it to various chemical treatments was evaluated. In the optical microscope, the morphology of the fiber surface was observed before and after the chemical modifications. Infrared spectroscopy analysis corroborated the functional groups present in the cellulose fiber and that coincide with those reported in other works. Physicochemical tests determined the amount of moisture and solubility present in the fibers. Obtaining cellulose fibers from a waste material for its possible application in the manufacture of composite materials is a promising area of interest, in the search for sustainable and environmentally friendly alternatives.

Keywords: Natural fibers, pineapple leaves, agro-industrial residues, cellulose.

Introducción

Como resultado de la creciente conciencia ambiental, la preocupación por la sostenibilidad ambiental y el creciente problema mundial de los desechos aumentan año tras año. La producción de plásticos derivados de combustibles es a menudo dañina para el medio ambiente. El aumento de los desechos plásticos y médicos es una realidad en todo el mundo y ha llegado a colapsar los sistemas de reciclaje existentes en algunos lugares. En Singapur, durante

un cierre de ocho semanas, se generaron 1470 toneladas adicionales de desechos plásticos solo a partir de envases para llevar. En Wuhan, China, los desechos médicos aumentaron seis veces a 240 toneladas por día durante la pandemia, sobrecargando la capacidad de incineración de la ciudad de 49 toneladas diarias (ONU, 2021).

El creciente problema ambiental que representa el uso de polímeros no degradables ha despertado gran interés en las últimas décadas, el uso de biofibras naturales derivadas de recursos renovables en lugar de fibras convencionales (vidrio, carbono y aramida) en compuestos de matriz polimérica.

En lo que respecta a los compuestos de polímeros sintéticos, la eliminación de desechos y el reciclaje son problemas importantes en todo el mundo. Además, la preocupación por la preservación de los recursos naturales y el reciclaje ha llevado a un renovado interés en los biomateriales, centrándose en las materias primas renovables. Los biocompuestos ecológicos de fibra derivada de plantas y polímeros derivados de cultivos son materiales novedosos y serían de gran importancia para el mundo de los materiales compuestos (Mohanty, 2002).

Las fibras naturales se han considerado como una nueva generación de materiales de refuerzo que se pueden utilizar en la fabricación de compuestos (Quiquin, 2022). La celulosa es el polímero natural semicristalino más abundante que existe en la tierra. Se encuentra constituida por unidades β-D-glucopiranosa unidas mediante enlaces β-1,4-glucosídicos. Considerando sus características estructurales, la celulosa se compone de regiones amorfas y cristalinas. La celulosa cristalina es mucho más fuerte y rígida que la celulosa amorfa y es considerada como un buen agente de refuerzo (Viridiana, 2014). La fibra de celulosa es uno de los polímeros naturales, que es flexible y relativamente más económico (Habibi & Lucia, 2010).

Las fibras naturales a base de celulosa se obtienen de diversas partes de los vegetales y plantas. La composición química de las fibras de la hoja de piña indica un potencial como fuentes de celulosa que es α-celulosa con una composición de 98,63% (Cherian, 2010). Las ventajas de la α-celulosa en comparación con otros tipos de celulosa son las cadenas poliméricas largas, un alto grado de polimerización y también el más alto grado de pureza y calidad de la celulosa.

Las fibras de celulosa tienen aplicaciones que van desde productos textiles (Arif, 2021), refuerzo en materiales compuestos, adhesivos, selladores, cintas, envasado de alimentos (Shahab, 2021), biosorbente para eliminación de metales pesados (Kotchaporn, 2020), biomedicina, farmacéutica (Nurul & Sarminiyy, 2022), fotocatálisis (TaoWang, 2019), nanocompuestos conductores (Hassan, 2018), hidrogel (Jean Paulo, 2017), compuestos nano-híbridos (Carlos Rafael, 2021), embalaje (Ahmed, 2012).

Existen diversos métodos para la obtención de fibras naturales, dentro de los cuales se destacan los procesos termo-mecánicos, como lo son el proceso kraft y la micromolienda, entre otros. El primer método se fundamenta en la separación de fibras de celulosa mediante proceso alcalino en solución acuosa de NaOH y Na_2S. Durante el proceso la lignina se despolimeriza en fracciones más pequeñas, que son solubles en agua (Federico M. & Jazmin N., 2017). El segundo método de micromolienda consiste en pasar lodos de pulpa entre dos piedras de moler, una piedra permanece estática y la otra gira (Abe *et al.* 2007, Wang *et al.* 2012, Qing *et al.*2013). El mecanismo de fibrilación en la molienda consiste en romper los enlaces de hidrógeno y la estructura de la pared celular mediante fuerzas de cizallamiento e individualización de la pulpa en fibras a nanoescala (Siró y Plackett 2010). Son algunos ejemplos de las técnicas convencionales de la industria papelera, las cuales representan un coste económico y dificultad para traducir los procesos a nivel laboratorio y obtener celulosa con propiedades eficientes.

Las fibras de celulosa han sido pretratadas y tratadas químicamente por métodos más sostenible como los procesos químicos de hidrólisis ácida (Salas, 2014) con ácido sulfúrico, consisten en la degradación parcial de la celulosa, dejando intactas las partes

cristalinas (Siró & Plackett, 2010). El ácido solo reacciona lentamente con las partes cristalinas y, por lo tanto, la degradación ocurre principalmente en la celulosa amorfa.

Por otra parte, el tratamiento alcalino en solución acuosa, ha mostrado eficiencia para romper los enlaces de hidrógeno de la celulosa, la hemicelulosa y la lignina y conduce a la desfibrilación, la descomposición del haz de fibras en fibras más pequeñas e involucra la remoción de grasas, proteínas y de los componentes de la celulosa en la superficie externa, con solventes en condiciones de temperatura, para obtener los resultados deseados para la extracción y obtención de fibras de celulosa.

Los tratamientos químicos son métodos versátiles, con poco impacto ambiental, de bajo costo, su instrumentación es fácil de adquirir, son procesos largos, sin liberación de gases tóxicos al medio ambiente. La energía requerida para estos tratamientos es baja, llegando a una temperatura máxima de 80 °C.

De igual manera, la extracción asistida por microondas consiste en remover grasas, ceras, resinas de la superficie de la pared celular de la fibra por recirculación de agua y con temperaturas elevadas que aumentan la solubilidad de los analitos de interés y baja la viscosidad del disolvente, facilitando la penetración en la matriz.

Metodología

Obtención de las fibras

La obtención de fibras de celulosa se llevó a cabo por medio de tratamientos químicos, mediante varios métodos que se desglosan a continuación.

Pretratamiento de las hojas
Se tomó una corona de piña con un total de 30 hojas, estas pesaron 250 g. Las hojas se cortaron aproximadamente en 5 cm de largo. Posteriormente se lavaron con abundante agua destilada, dejándose macerar en un vaso de precipitado de un 1 L por 24 horas. Se colocaron en un reactor de extracción asistida por microondas ETHOS X (ver figura 1 y 2) y se llenó de agua destilada a la mitad, alcanzando una temperatura máxima de 94 °C con una potencia inicial de 1800 W por 10 minutos, después con 1500 W por 20 minutos y finalmente con 800 w por 30 minutos, este proceso se llevó a cabo en un tiempo de 1 hr 10 minutos. Finalmente se secaron en un horno a 60 °C durante 24 horas.



Figura 1. Microondas ETHOS X



Figura 2. Reactor de extracción con hojas de piña

Extracción de la celulosa
Se realizó la extracción de la celulosa por tratamiento alcalino, de acuerdo con el procedimiento realizado por Balcazar y col. en el 2014. El método consiste en una solución de NaOH al 4% p/p bajo agitación continua a 80 °C por 2 horas. Se filtraron y enjuagaron con abundante agua destilada hasta obtener un pH neutro, este proceso se repitió tres veces.

Blanqueo de fibras de celulosa

Se realizó un tratamiento de blanqueo en solución buffer con 2.86 mL de ácido acético glacial y 1 mL de NaOH en un matraz para aforado de 1 L, a una temperatura de 80 °C, bajo agitación continua durante 2 horas, se enjuagaron con abundante agua destilada hasta obtener un pH neutro, este proceso se realizó cuatro veces.

Tratamiento de fibras de celulosa

Se pesaron 62 g de fibra y se realizó hidrólisis ácida en solución de 10 ml de H_2SO_4 en un matraz para aforado de 1L con agitación continua a 50 °C durante 40 minutos. Se enjuagaron con abundante agua destilada hasta obtener un pH neutro. Se filtraron las fibras con filtración a vacío con compresor, para acelerar la filtración del líquido por medio de presión atmosférica al vacío.

Resultados

Pretratamiento de las hojas

El pretratamiento de las hojas de residuo de la piña después de ser sometidas al proceso de extracción de agua y posibles aceites presentes sin el uso de solventes y reduciendo el tiempo de tratamiento que se sigue con métodos convencionales permitió obtener las fibras libres de residuos (ver figura 3).



Figura 3. Fibras obtenidas después de la extracción por microondas

Extracción de la celulosa

La extracción de la celulosa mediante un tratamiento alcalino (ver figura 4) a 80 °C y 2 horas permitió remover la hemicelulosa, lignina, residuos de grasas, pectinas, proteínas y sílice presentes en la superficie de las hojas de piña. El procedimiento anterior se realizó dos veces y finalmente las fibras se enjuagaron con agua destilada hasta alcanzar un pH neutro.

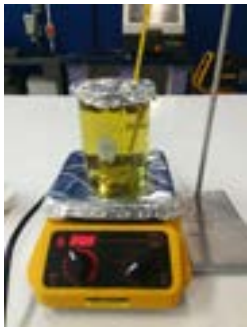


Figura 4. Tratamiento alcalino con NaOH

Blanqueo de fibras de celulosa

El tratamiento de blanqueo con clorito de sodio ($NaClO_2$) se realizó para remover la lignina remanente y de esta manera poder aislar la celulosa. El tratamiento de blanqueo se realizó a 80 °C durante 2 horas y dicho procedimiento se realizó 4 veces. Finalmente las fibras se lavaron con agua destilada hasta obtener un pH neutro.

Tratamiento de fibras de celulosa

El tratamiento con hidrólisis ácida (ver figura 5) permitió la reducción del tamaño de las fibras manteniendo la relación L/D. Las cuales serán evaluadas antes y después del tratamiento como parte de la distribución y compatibilidad en una matriz de un polisacárido, que será estudiada en nuestro grupo de trabajo como parte de las aplicaciones y usos que se pueden realizar con las fibras de celulosa. Por otro lado, la hidrólisis ácida ayuda a un refinamiento de la estructura fibrilar y a la reducción del tamaño de las fibras, como se ha reportado en otros trabajos.



Figura 5. Hidrólisis ácida

En la figura 6 se puede apreciar los cambios del aspecto físico que presentaron las fibras a través de los diferentes tratamientos realizados. La fibra al inicio posee un color verde debido a la presencia de grasas, ceras, pigmentos y otros materiales que constituyen las hojas de piña. Después del pretratamiento de extracción en el equipo de microondas se observa que la fibra presenta un color café, el cual se atribuye a la presencia de la lignina (Dos Santos y col. en el 2013). El tratamiento alcalino elimina la mayor parte de la hemicelulosa. Sin embargo, solo logra disminuir y no eliminar en su totalidad la lignina. Lo anterior, se corrobora con la coloración aún presente en la fibra. Después del proceso de blanqueo, se logra obtener una fibra de color blanco, lo que indica la mayor remoción de lignina y la disminución de residuos de hemicelulosa (Kargarzadeh y col. en el 2012). Finalmente, después de la hidrólisis ácida se observa la disminución del tamaño de la fibra.



Figura 6. Comparación visual de la fibra después de los diferentes tratamientos: a) Fibra inicial, b) Fibra sincera, c) fibra tratada con NaOH, d) fibra blanqueada y e) fibra final.

Conclusiones

Se obtuvieron fibras de celulosa a partir de hojas de piña por medio de hidrólisis ácida y diferentes tratamientos químicos. Las fibras presentaron cambios de coloración durante los diferentes tratamientos atribuidos a la remoción de los componentes (hemicelulosa, lignina, ceras, grasas, etc.). El trabajo a futuro será evaluar el uso de las fibras como un material de refuerzo en la síntesis y obtención de materiales compuestos a partir de una matriz natural y como fuente de un polisacárido, para su posterior análisis y estudio sobre si la relación del tamaño de la fibra es significativo en el comportamiento termomecánico y mecánico de los materiales compuestos con materiales completamente naturales. Por otro lado, evaluar la factibilidad de la obtención de materiales compuestos a partir de un residuo y como una alternativa amigable con el ambiente y en la disminución de materiales sintéticos.

Agradecimientos

Nuestro reconocimiento al Tecnológico Nacional de México Campus Querétaro, por todas las atenciones y facilidades otorgadas para el desarrollo de este proyecto de investigación.

Referencias

ONU (2021). El uso exagerado del plástico durante la pandemia de COVID-19 afecta a los más vulnerables. Naciones Unidas.

Qiuqin L. & Peng J. (2022). Advanced functional materials based on bamboo cellulose fibers with different crystal structures, 154

Viridiana B. (2014). Extracción de nanocelulosa a partir de hojas de piña para reforzar compositos de quitosán-almidón, pp.1

Habibi Y. & Lucian A. (2010). Cellulose Nanocrystals: Chemistry, Self-Assembly, and Applications. 110, 3479–3500

Shabad S. & Coralia V. (2021). Physical and chemical modifications of cellulose fibers for food packaging applications. 28, 8877–8897

Kotchaporn T. & Prapasiri S. (2020). Development of tannin-immobilized cellulose fiber extracted from coconut husk and the application as a biosorbent to remove heavy metal ions, 100389

Nurul H. & Masita M. (2022). Utilización de fibras de nanocelulosa, celulosa nanocristalina y celulosa bacteriana en aplicaciones biomédicas y farmacéuticas, 409-470.

Tao W. (2019). In-situ synthesis of BiVO4 QDs/cellulose fibers composite for photocatalytic application, 44, 31969-31978

Hassan S. (2018). The application of response surface methodology on the synthesis of conductive polyaniline/cellulosic fiber nanocomposites, 194, 384-394

Jean P. (2017). Cellulose fibers extracted from rice and oat husks and their application in hydrogel, 221, 153-160

Ahmed M. (2012). Preparation of conductive paper composites based on natural cellulosic fibers for packaging applications, 89, 1027-1032

Federico M. & Jazmin N. (2017). Determinación de Costos para la Producción de Celulosa mediante Método Kraft y Mecánico, 32, 310.

Anil K & Mathew A. (2018). Lignocellulosic Biorefinery Wastes, or Resources?, 267-297

R. Dos Santos, W. Flauzino Neto y H. Silvério. (2013). Cellulose nanocrystals from pineapple leaf, a new approach for the or the reuse of this agro-waste. Industrial Crops and Products, 50, 707– 714.

H. Kargarzadeh, I. Ahmad, I. D. A. Adbullah, Y. Zainudin y R. Sheltami. (2012) Effects of hydrolysis conditions on the morphology, crystallinity, and thermal stability of cellulose nanocrystals extracted from kenaf bast fibers. Cellulose, 19, 855-866.

Aplicación de agua subcrítica como vía de obtención de péptidos bioactivos de *Sphenarium purpurascens*

Rivas-Vela, Carlos Isac[1a*], Castillo-Herrera, Gustavo Adolfo[2], Cardador-Martínez, Anaberta[3], Amaya-Llano, Silvia Lorena[1b] & Castaño-Tostado, Eduardo[1c]

[1]Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro. [a]carl.rivas.mx@gmail.com, [b]samayal@uaq.mx, [c]ecastano@uaq.mx
[2]Unidad de Tecnología Alimentaria, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. gcastillo@ciatej.mx
[3]Escuela de Ingeniería y Ciencias, Tecnológico de Monterrey campus Querétaro. mcardador@tec.mx

Resumen

Los insectos comestibles han generado interés como una fuente de compuestos bioactivos, como los péptidos. La tecnología de fluidos supercríticos se ha proyectado como una alternativa a procesos convencionales mediante el agua subcrítica (AS), la cual ha sido poco explorada en insectos. Esta investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de AS modificado por ácido cítrico (AC) y por bicarbonato sódico (BS), para la obtención de péptidos del chapulín *Sphenarium purpurascens.* Se realizó la caracterización del material y la obtención del concentrado proteico. Para la hidrólisis, se empleó un diseño factorial 2^3 (temperatura, presión y concentración del modificador) con puntos al centro, evaluando el grado de hidrólisis (GH), la distribución molecular y la evaluación de las actividades antioxidantes (ABTS, DPPH) e inhibición de la enzima convertidora de angiotensina-I (ECA). Se observó GH de hasta 44.56±0.92% para BS y 39.02±0.98% para AC, si bien asociado a una mayor temperatura, la adecuada modulación de la presión y concentración permite alcanzar GH comparables a los de tratamientos de temperaturas altas. Las IC_{50} más bajas para DPPH fueron 20.60±0.67 y 4.06±0.25 mg/ml y para ABTS con 528±30 y 330±32 µg/ml, para BS y AC, respectivamente. La mejor actividad inhibidora de la ECA de los hidrolizados mostró una IC_{50} de 1.65±0.061 y 0.148±0.016 mg/ml, para BS y AC, mostrando mejor actividad en todos los hidrolizados con AC en general, asociado a su menor distribución molecular. El uso de AS con modificadores como medio de hidrólisis para concentrados proteicos de insectos, confirma su eficiencia para la obtención de péptidos bioactivos y resulta comparable con procesos enzimáticos, así mismo, permiten identificar la modulación diferenciada de la hidrólisis según el modificador empleado.

Palabras clave: Agua subcrítica, *Sphenarium purpurascens*, péptidos bioactivos.

Abstract

Edible insects have generated interest as a source of bioactive compounds, such as peptides. Supercritical fluids technology has been projected as an alternative to conventional processes using subcritical water (SW), which has been little explored in insects. The objective of this research was to evaluate the effect of AS modified by citric acid (CA) and by sodium bicarbonate (SB), to obtain peptides from the grasshopper *Sphenarium purpurascens*. The characterization of the material and the obtaining of the protein concentrate were carried out. For hydrolysis, a 2^3 factorial design (temperature, pressure, and modifier concentration) with central points was used, evaluating the degree of hydrolysis (GH), molecular distribution, and evaluation of antioxidant activities (ABTS, DPPH) and inhibition of the angiotensin-I converting enzyme (ACE). GH of up to 44.56±0.92% for SB and 39.02±0.98% for CA was observed, although associated with a higher temperature, the adequate modulation of pressure and concentration allows reaching GH comparable to those of high-temperature treatments. The lowest IC_{50}

for DPPH were 20.60±0.67 and 4.06±0.25 mg/ml and for ABTS with 528±30 and 330±32 µg/ml, for SB and CA, respectively. The best ACE inhibitory activity of the hydrolysates showed an IC_{50} of 1.65±0.061 and 0.148±0.016 mg/ml for SB and CA, showing better activity in all the hydrolysates with CA in general, associated with their lower molecular distribution. The use of SW with modifiers as a means of hydrolysis for insect protein concentrates confirms its efficiency for obtaining bioactive peptides and is comparable with enzymatic processes, likewise, they allow identifying the differentiated modulation of hydrolysis according to the modifier used.
Keywords: Subcritical water, *Sphenarium purpurascens*, bioactive peptides.

1. Introducción

El interés por los insectos comestibles ha aumentado en todo el mundo, ya que se han propuesto como una fuente alternativa de alimento frente al cambio climático y satisfacer las necesidades nutricionales de la creciente población mundial. Los insectos comestibles ofrecen ventajas como su bajo impacto ambiental asociado a su producción, su alta tasa de conversión alimenticia y crecimiento, y sus características nutricionales, principalmente debido a su alto contenido proteico. Además, también se han identificado compuestos con posibles beneficios para la salud asociados a su consumo, como ácidos grasos, fibra dietética y péptidos con actividades biológicas como antioxidantes, antihipertensivos o hipoglucemiantes (Hawkey et al., 2021).

México es uno de los países con mayor diversidad y consumo de insectos, y una de las especies de insectos más consumidas es el saltamontes *Sphenarium purpurascens*, siendo relevante por su concentración proteica de hasta el 65%, y ácidos grasos insaturados. Lo que lo ha proyectado como fuente de compuestos bioactivos de interés, como los péptidos.

La tecnología de fluidos supercríticos se ha proyectado como una de las tecnologías más prometedoras para procesos de extracción e hidrólisis de compuestos bioactivos utilizando dióxido de carbono supercrítico o agua subcrítica. El agua subcrítica (AS), se define como agua líquida puesta por encima de su temperatura de ebullición a 1 atm (> 100 °C a 0,1 MPa) y por debajo de su punto crítico (374 °C a 22 MPa). Bajo estas condiciones, el agua tiene cambios en sus propiedades fisicoquímicas, como la constante dieléctrica, la viscosidad o la constante de ionización (K_w); estos cambios de agua aumentan la formación de iones H_3O^+ y OH^-, lo que le da al agua la capacidad de comportarse como un catalizador ácido o básico. Aunque los métodos químicos, enzimáticos y de fermentación han sido ampliamente utilizados como métodos para la hidrólisis de proteínas, el agua subcrítica se ha destacado como una tecnología verde, rápida y eficiente para este propósito (Ahmed & Chun, 2018).

Los reportes del uso de agua subcrítica como medio proteolítico muestran el uso de altas temperaturas (mayores a 180 °C) o tiempos de reacción prolongados, lo cual puede provocar la pérdidas de aminoácidos y la generación de productos de degradación (como aminas o ácidos orgánicos); sobre ello, la incorporación de modificadores o catalizadores ha mostrado potencial para modular la hidrólisis junto con la reducción de los tiempos de reacción o la minimización de la temperatura de proceso requerida para aumentar el grado de hidrólisis (GH) y/o alterar la distribución del peso molecular de los péptidos (Espinoza & Morawicki, 2012). Algunos de los modificadores que se han explorado han sido como el bicarbonato de sodio, el dióxido de carbono, el ácido acético, el oxígeno, el ácido láctico, el hidróxido de sodio, el ácido clorhídrico, el ácido sulfúrico o el cloruro de sodio (Asaduzzaman et al., 2018).

Aunque se ha explorado la adición de modificadores en procesos hidrolíticos de agua subcrítica, esto se ha centrado principalmente en la obtención de aminoácidos libres o compuestos derivados de ellos como ácidos orgánicos, y no en péptidos. Asimismo, el análisis de los resultados obtenidos ha sido

principalmente descriptivo, dejando de lado la comprensión de la dinámica de los modificadores a diferentes condiciones de temperatura y presión.

El saltamontes *Sphenarium purpurascens* es un insecto que, aunque popularmente es consumido, es considerado una plaga agrícola para diferentes cultivos o zonas de cosecha. La captura de estos insectos para la venta es una actividad local, sin embargo, se desecha una cantidad considerable. Una alternativa para aprovechar estas grandes cantidades de insectos que no se consumen es procesarlos y obtener hidrolizados, facilitando su integración en la industria agroalimentaria como ingredientes funcionales con diferentes actividades biológicas.

Por ello, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de diferentes niveles de temperatura, presión y concentración de modificadores (ácido cítrico y bicarbonato de sodio) sobre la hidrólisis de proteínas de *Sphenarium purpurascens*, evaluando su impacto en la modulación del grado de hidrólisis, distribución molecular y antioxidante y actividades inhibidoras de la ECA *in vitro*.

2. Metodología

2.1 Material

Los saltamontes *Sphenarium purpurascens* fueron suministrados por la empresa Delinsect®; los saltamontes fueron mínimamente procesados, teniendo dos días de ayuno para limpieza del tracto gastrointestinal, luego se realizó un proceso de escaldado como método de sacrificio. Los saltamontes se mantuvieron congelados a -20 °C hasta su análisis.

2.2 Caracterización proximal

La humedad, las proteínas, los lípidos y las cenizas se determinaron mediante los métodos AOAC 925.09, 920.87, 920.39C y 923.03, respectivamente (AOAC, 2012). Los carbohidratos totales se determinaron por diferencia.

2.3 Determinación de fibra dietaria

El análisis de fibra dietética total se realizó según el método 32-45.01 AACC, utilizando un kit enzimático TDF-100 (Sigma-Aldrich). Las muestras se analizaron por triplicado y los resultados se expresan como gramos de fibra por 100 gramos de peso seco.

2.4 Extracción proteica

Los insectos fueron molidos en un molinillo de café (Krups GX410011V) y tamizados (tamiz nº5). Los polvos se desengrasaron y se agitaron con etanol al 97 % en una proporción de 1:10 durante 6 h, se centrifugaron a 3000 x g durante 15 min a 20 °C (Ultracentrífuga Optima™ L-90K, Beckman Coulter Inc, EE. UU.) y se recuperó el pellet. El aislamiento de proteínas se realizó por precipitación de punto isoeléctrico a pH 3. Una vez obtenido el pellet, se mantuvo en agitación durante 1 h con una solución de NaOH al 0.2 % en una proporción de 1:10 (p/v), pH 11, a temperatura ambiente, se centrifugó a 8000 x g durante 20 min. La precipitación por punto isoeléctrico se llevó a cabo a temperatura ambiente. Las proteínas precipitadas se centrifugaron a 4 °C durante 20 min a 8000 x g y se lavaron con agua destilada. Luego, los concentrados de proteína se liofilizaron y se almacenaron a -20 °C.

2.5 Hidrólisis por agua subcrítica

El proceso de hidrólisis de agua subcrítica se realizó utilizando un equipo de reactor por lotes de 500 ml Thar Waters SFE 500 (Waters, EE. UU.). En el reactor de hidrólisis se cargaron 20 g de concentrado proteico, luego se pasó por el calentador 300 ml de agua destilada con el modificador seleccionado hasta alcanzar la temperatura de proceso y se bombeó al recipiente de hidrólisis hasta alcanzar la presión de proceso, el recipiente de hidrólisis tenía calentamiento resistencia eléctrica para mantener la temperatura durante el proceso de hidrólisis. Para evaluar los efectos de agregar modificadores sobre el proceso de hidrólisis de agua subcrítica, se usaron dos modificadores, bicarbonato de sodio y ácido cítrico. Para cada modificador se utilizó un diseño factorial 2^3 completamente al azar con puntos al centro. Los factores fueron temperatura (100 - 130 °C), presión

(1-20 MPa) y concentración de modificador (0.5 - 1 M). El tiempo de hidrólisis fue de 30 min. Se realizó un tratamiento como referencia (agua sola) para cada modificador a 115 °C y 10 MPa. Una vez finalizado cada tratamiento, los hidrolizados se secaron en estufa a 50 °C y se almacenaron a -20 °C hasta su análisis.

2.6 Grado de hidrólisis (GH)

El GH se determinó por el método OPA, descrito por Nielsen et al., (2001). Brevemente, se tomaron 200 µl de la solución y se combinaron con 1.5 ml de reactivo OPA en un tubo Eppendorf de 2 ml, se agito durante 5 s e incubaron por 2 min, se midió la absorbancia en un espectrofotómetro a 340 nm (Halo XB-10 UV- vis, Dynamica Scientific Ltd. EE. UU.). Para la cuantificación se utilizó una curva de calibración con L-serina en un rango de concentración de 0.00625 a 0.1 mg/ml.

2.7 Electroforesis en gel SDS-PAGE

Para electroforesis en gel SDS-PAGE, brevemente, las muestras fueron diluidas a una concentración de proteína de 3 mg/ml. Las soluciones de muestra se combinaron con un tampón (Tris/HCl 20 mM, EDTA 2 mM pH 8.0, SDS al 5 % (p/v), DTT al 0.016 % (p/v), azul de Coomassie al 0.02 %) en una proporción de 1:1. Posteriormente, las muestras se calentaron a 95ºC durante 5 minutos, se centrifugaron a 1000 x g durante 2 minutos (mini centrífuga Sprout™, Heathrow Scientific™ LLC, EE. UU.) y se colocaron en el gel (Novex™ WedgeWell™ 4 a 12%, Tris- Glicina, 1.0 mm, Mini Protein Gel, 10 pocillos, Thermo Scientific™, EE. UU.). La electroforesis se realizó a un voltaje constante de 120 V en una Mini-PROTEAN Tetra Cell (Biorad, EE. UU.). Se usaron proteínas estándar de 10-250 kDa como referencia.

2.8 Actividad antioxidante

2.8.1 ABTS

La técnica descrita por Nenadis et al., (2004) fue utilizado. Se mezclaron 5 ml de una solución acuosa de ácido 2,2'-azinobis 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS) 7 mM y 88 µl de una solución de persulfato de potasio 140 mM y se mantuvieron en oscuridad durante 12 h para la generación radical. Luego, se tomaron 500 µl de solución y se disolvieron en 24 ml de etanol (98 %). Se tomaron 20 µl de la muestra y se depositaron en 54 pocillos de una microplaca de 96 pocillos. Luego, se agregaron 230 µl de solución ABTS a cada pocillo y la microplaca se mantuvo en oscuridad durante 5 minutos y se midió la absorbancia en un espectrofotómetro (Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer, Thermo Scientific™, USA) a una longitud de onda de 734 nm.

El % de inhibición se calculó con la siguiente fórmula:
% inhibición de ABTS= (1-((muestra Abs)/(control Abs)))*100 (2)
Donde Abs muestra es la absorbancia de la solución ABTS con la muestra y Abs control es la absorbancia de la solución ABTS sin la muestra. Los resultados se calcularon como la concentración inhibitoria al 50% (IC_{50}).

2.8.2 DPPH

Se siguió el método descrito por Fukumoto & Mazza (2000). Brevemente, las muestras se disolvieron en agua, se diluyeron a diferentes concentraciones y se agregaron (20 µl) a una microplaca de 96 pocillos, usando etanol como blanco. Se añadieron 200 µl de solución de DPHH (150 µM) y se midió la absorbancia en un espectrofotómetro de microplacas a una longitud de onda de 520 nm. El porcentaje de inhibición se calculó con la misma fórmula descrita anteriormente, los resultados también se informan como su IC_{50}, evaluando la actividad eliminadora de radicales libres de varias diluciones de las muestras.

2.9 Inhibición de la actividad en la enzima convertidora de angiotensina-I (ECA)

Se siguió el método descrito por Cushman & Cheung (1971) con algunas modificaciones. Se combinaron e incubaron 200 µl de solución de sustrato de hipuril-histidil-leucina y 80 µl de agua o muestra (1 mg de proteína/ml) a 37 °C durante 5 minutos. La reacción comienza con la adición de 20 µl de ECA (0.1 U/ml), y se incubó a 37 °C durante 30 minutos. La enzima se inactivó agregando 100 µl de HCl (1 N). El ácido

hipúrico formado por la reacción se cuantificó en un cromatógrafo líquido de alta resolución (Agilent Technologies, EE. UU.) equipado con un detector de matriz de diodos UV-VIS. La separación se llevó a cabo a 30 °C en una columna ZORBAX 300SB-C18, y se utilizó un flujo de 0.8 ml/min con un sistema de disolventes de la siguiente manera: el eluyente A era ácido trifluoroacético al 0.1 % en agua y el disolvente B era ácido trifluoroacético al 01 % en acetonitrilo. Se inyectaron 20 µl de la muestra y se midió la absorbancia a 228 nm. La actividad inhibidora de la ECA se expresa como valor IC_{50}, que representa la concentración de hidrolizado necesaria para reducir la actividad de la enzima en un 50 %.

2.10 Análisis estadístico

Los resultados se presentan como la media (n=3) ± su desviación estándar. Se realizó un análisis de varianza para detectar los factores significativos y las interacciones entre los diferentes niveles de los tratamientos de hidrólisis. Además, se realizó una prueba de Tukey con comparación de medias múltiples ($\alpha = 0.05$). Todos los análisis emplearon el entorno estadístico R-studio.

3. Resultados y discusión

3.1 Composición proximal

En los saltamontes se destaca un alto contenido de proteínas y carbohidratos, seguido de su fracción lipídica (Tabla 1). Asimismo, se identificó como fibra dietaria un 8% de los carbohidratos, de los cuales el 2,18±0,11% corresponde a fibra soluble y el 5,91±0,09% a fibra insoluble. Se confirmó que la quitina es el componente principal de la fibra insoluble en los insectos comestibles (Adámková et al., 2017). Las variaciones menores podrían atribuirse al área geográfica de recolección, el tipo de alimentación o el estado de crecimiento de los insectos.

El proceso de extracción de proteína dio como resultado un aumento en la fracción proteica del concentrado saltamontes. La fracción de lípidos disminuyó y la fracción de fibra dietaria mostró un aumento de 2 veces en comparación con su concentración inicial. El aumento en la concentración total de carbohidratos puede estar asociado con la separación de carbohidratos de bajo peso molecular durante el proceso de concentración y la preservación de carbohidratos complejos que componen la fracción de fibra dietética, como la quitina (Arrese, Estela & Soulages, Jose, 2010).

Tabla 1. Composición proximal del material y el concentrado

Compuesto (%)	*Sphenarium purpurascens* molido	Concentrado proteico
Proteína	63.85 ± 0.33	74.02 ± 1.28
Lípidos	10.06 ± 0.48	0.65 ± 0.10
Cenizas	3.00 ± 0.06	2.61 ± 0.23
Carbohidratos	23.09 ± 0.68	22.72 ± 0.86
Fibra soluble	2.18 ± 0.11	4.55 ± 0.19
Fibra insoluble	5.91 ± 0.09	10.15 ± 0.22
Quitina	5.18 ± 0.40	8.75 ± 1.02

Los datos del concentrado proteico se presentan como el promedio (n=3) ± la desviación estándar.

3.2 Grado de hidrólisis

El agua subcrítica fue capaz de alcanzar un GH de hasta un 44 % de la proteína de *Sphenarium purpurascens* al utilizar bicarbonato de sodio a 130 °C/20 MPa/1 M. Aunque la temperatura fue un factor significativo, la estadística El análisis muestra una interacción triple significativa ($p<0.00001$). Considerando el efecto de interacción (Fig 1.), una alta concentración del modificador y el aumento de la presión de 1 a 20 MPa permite un aumento de la GH aún mayor que cuando la temperatura es de 100 °C; la presión muestra un efecto inverso, cuando la concentración es de 0.5 M. Por otro lado, cuando la temperatura es de 100 °C, el cambio de presión de 1 a 20 MPa reduce el GH cuando la concentración es de 1 M y lo mejora cuando es 0.5 M.

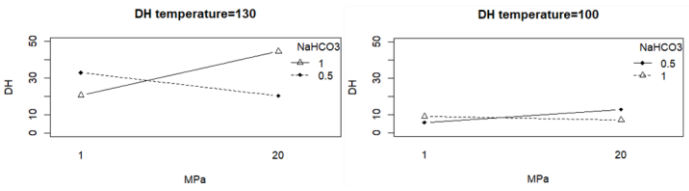


Figura 1. Grafico de interacciones de los parámetros para tratamientos con bicarbonato de sodio.

Las diferencias entre tratamientos (Tabla 2.) podrían estar asociadas a la disociación del bicarbonato de sodio en iones de sodio (Na^+) y bicarbonato (HCO_3), aumentando la hidrólisis a medida que aumenta la temperatura. En base a esto, se observa un GH elevado, ya que a mayor temperatura se produce una mayor descomposición del modificador, provocando una mayor concentración de iones OH- y H+ (debido a la interacción de los iones bicarbonato derivados con las moléculas de agua) que hidrolizarían los enlaces peptídicos. Asimismo, el efecto de la presión podría promover un comportamiento homogéneo en la descomposición evitando la precipitación de iones carbonato.

Tabla 2. Grado de hidrólisis de los tratamientos por agua subcrítica de ambos modificadores

Tratamiento	T (°C)	P (MPa)	C (M)	GH (%)	
				BS	AC
1	130	20	1	44.56±0.92^{A}	38.73±0.58^{a}
2	100	20	0.5	12.87±0.12^{DE}	19.18±1.63^{c}
3	100	1	1	9.15±1.40^{EF}	34.16±1.38^{ab}
4	130	1	0.5	33.04±0.77^{B}	37.63±2.00^{a}
5	115	10.5	0.75	19.06±1.47^{CD}	18.34±0.89^{c}
6	100	1	0.5	5.74±0.24^{F}	11.22±2.05^{d}
7	130	20	0.5	20.36±2.88^{C}	29.39±1.83^{b}
8	100	20	1	7.22±0.89^{EF}	21.63±2.18^{c}
9	130	1	1	20.65±1.98^{C}	35.19±1.47^{ab}

Los datos se presentan como el promedio (n=3) ± la desviación estándar. La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey (α=0.05), letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas (α= 0.05). T: Temperatura; P: Presión; C: Concentración del modificador; BS: Bicarbonato de sodio; AC: Ácido cítrico.

La disociación del modificador a altas temperaturas (130 °C) y bajas presiones (1 MPa) puede fluctuar, ya que el aumento de la temperatura combinado con la baja presión, la solubilidad del bicarbonato de sodio puede disminuir (asociado a una menor densidad del agua), precipitándolo y disminuyendo la generación de iones que afectan la hidrólisis, a través de las reacciones reversibles de los iones bicarbonato (Waldeck et al., 1932). Mientras que el efecto observado a 100 °C con diferentes concentraciones del modificador y los niveles de presión puede estar relacionado con el hecho de que el efecto a bajas temperaturas (100 °C), la alta concentración del modificador y las altas presiones pueden causar un efecto antagónico, debido a la saturación del medio con el modificador, la alta presión precipita los iones carbonato, limitando su acción como modificador de la hidrólisis de proteínas (Ho et al., 2009).

Para los tratamientos con ácido cítrico el mayor grado de hidrólisis fue de 38.73% a 130 °C/20 MPa/1 M (ver Tabla 2). Al igual que el bicarbonato de sodio, la temperatura fue significativa y se detectó una triple interacción de los factores ($p<.00001$). Para una mejor comprensión de los resultados se realizó una un gráfico de interacción respuesta (Fig. 2).

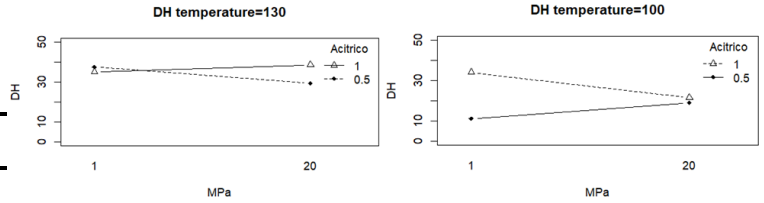


Figura 2. Gráfico de interacciones de los parámetros para tratamientos con ácido cítrico

Al analizar el gráfico de interacción para tratamientos a 130 °C, los cambios en los niveles de presión no resultan tan significativos, a diferencia de los cambios a 100 °C, donde los cambios de presión en la concentración de 1 M aumentan ligeramente la respuesta y muestra un efecto contrario cuando la concentración es de 0.5 M.

Las diferencias entre los tratamientos podrían atribuirse al aumento de la temperatura, pues a menor temperatura el agua tiende a comportarse como un líquido "ordinario" y a altas temperaturas el ácido cítrico tiende a formar cristales con menor disolución, por lo tanto, a menor concentración induce una menor cantidad de iones para la hidrólisis del enlace peptídico (Apelblat, 2014). Mientras que, a 100 °C, el

efecto de la concentración de ácido cítrico es dependiente de la presión, mostrando un efecto significativo en su dinámica de interacción con el agua, ya que a altas concentraciones del ácido y baja presión (1 MPa), la menor densidad del agua en comparación con la presión es alta, podría mejorar la penetración en la matriz proteica, mostrando un mejor rendimiento de hidrólisis. También se observó que a presión atmosférica (0.1 MPa), la solubilidad del ácido cítrico aumenta conforme aumenta la temperatura (Nemdili et al., 2016).

Analizando los principales efectos de los modificadores sobre el GH, el uso del ácido cítrico, muestra 4 tratamientos que obtuvieron GH alto con diferentes niveles de factor, tres de ellos asociados con la alta temperatura, mientras que para el bicarbonato de sodio, esto no se observó, observando claramente el tratamiento 1 (130 °C, 20 MPa, 1 M) muestra una diferencia significativa con el resto de los tratamientos con una GH superior y mejor que con el uso de ácido cítrico, mostrando una diferencia importante entre el comportamiento de ambos modificadores sobre la GH.

Comparando los tratamientos con el tratamiento de referencia sin modificador (115 °C, 10 MPa), que generó un grado de hidrólisis de 15.06±1.26%, se observó una mejora significativa en el grado de hidrólisis con la adición de cualquier modificador, aumentando la GH hasta tres veces con bicarbonato y más de dos veces con ácido cítrico, similar comportamiento reportaron Espinoza & Morawicki (2012) quienes observaron un aumento de hasta 4 veces en el grado de hidrólisis de un hidrolizado de suero de leche utilizando bicarbonato de sodio en comparación con el agua sin modificador. Estos efectos sobre la mejora del grado de hidrólisis también se han observado en subproductos de la industria pesquera, cuando se han utilizado otros modificadores como el ácido acético, ácido fórmico, dióxido de carbono y bicarbonato de sodio en la hidrólisis del músculo de la caballa (Asaduzzaman et al., 2018).

El grado de hidrólisis obtenido por agua subcrítica podría ser un método alternativo a la hidrólisis con enzimas proteolíticas. Donde los procesos enzimáticos requieren tiempos de reacción más prolongados o el uso de múltiples enzimas para obtener grados de hidrólisis similares a los obtenidos en esta investigación, como lo muestran Wang et al., (2013) con una DH de hasta el 60 % por hidrólisis enzimática en dos pasos. Purschke et al., (2018) reportaron una DH de hasta 41.6% en un hidrolizado de *Locusta migratoria* usando una mezcla de diferentes proteasas (Alcalasa, Neutrasa, papaína, y Flavourzyme), con un tiempo de reacción largo de hasta 1440 min.

3.3 Distribución molecular

Se realizó una electroforesis en gel SDS-PAGE para determinar la distribución molecular en los tratamientos como se muestra en la Fig 3. Se utilizó como referencia un marcador de proteína que oscilaba entre 10 y 250 kDa.

El tratamiento de referencia muestra principalmente una distribución molecular inferior a 15 kDa, así como algunos fragmentos inferiores a 37 kDa, lo que supone la generación de algunos fragmentos proteicos de bajo peso molecular durante el proceso de hidrólisis solo con agua subcrítica. En cuanto a los tratamientos con bicarbonato de sodio se observa una amplia distribución molecular de 15 a 250 kDa, mientras que para los tratamientos con ácido cítrico se observa principalmente una distribución molecular menor a 15 kDa y se acentúa la generación de fragmentos menores a 10 kDa como se muestra en el carril 6. Estas diferencias podrían sugerir que el agua podría presentar un efecto modulador de la hidrólisis dependiente de los modificadores, se observó que utilizando bicarbonato de sodio se genera una mejor hidrólisis, pero con fragmentos de diferente tamaño y con el uso de ácido cítrico, se logra la hidrólisis, pero se obtienen fragmentos de bajo peso molecular.

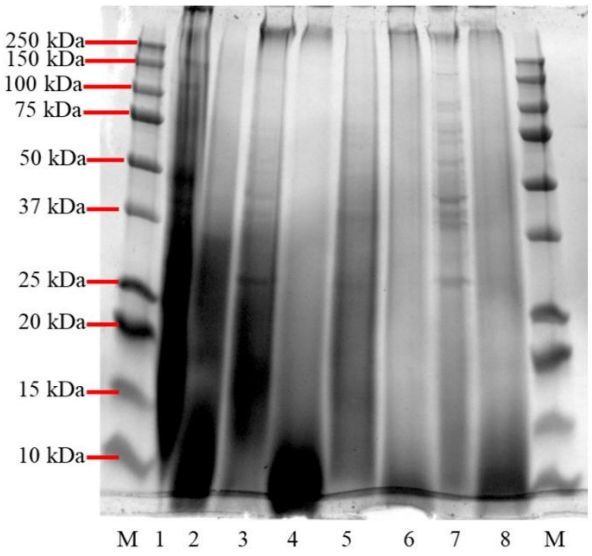
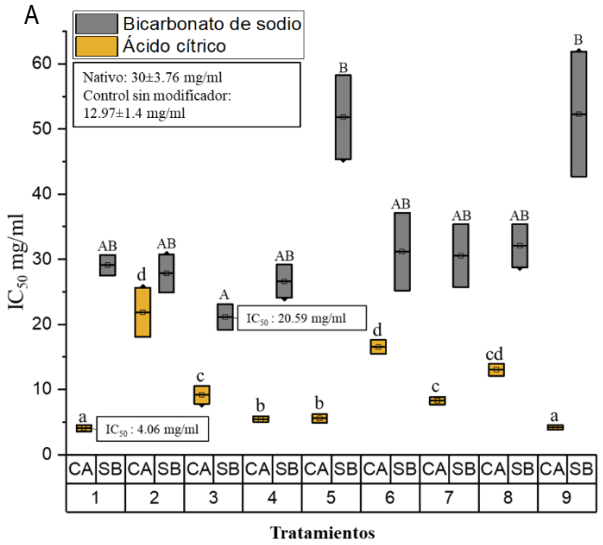


Figura 3. Distribución molecular de tratamientos y la muestra sin tratamiento. (M: marcador, 1: materia prima, 2: tratamiento de agua sola, 3: tratamiento BS 1,4: tratamiento AC 1, 5: tratamiento BS 3, 6: tratamiento AC 3, 7: tratamiento BS 8, 8: tratamiento AC 8; BS: bicarbonato de sodio, AC: ácido cítrico.)

3.4 Actividad de eliminación de radicales

Las actividades de captación de radicales libres ABTS y DPPH de los hidrolizados de Sphenarium purpurascens se muestran en la Fig. 5A y 5B, respectivamente.



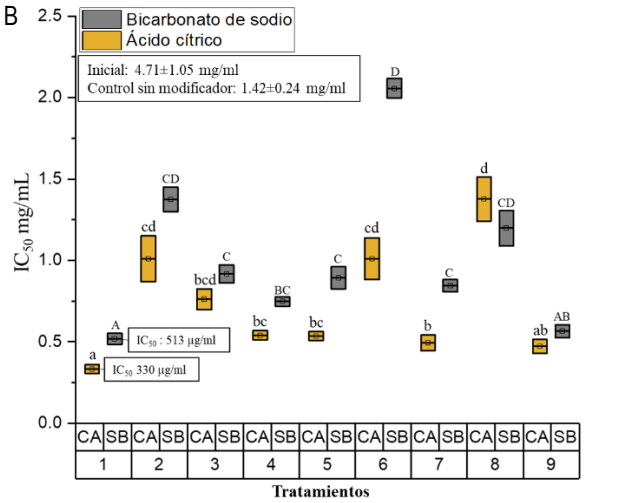


Figura 4. Actividad antirradicalaria DPPH y ABTS. Los resultados representan los promedios de la IC50 del radical (n=3) ± la desviación estándar. La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey (α=0.05)

Todos los hidrolizados mostraron actividad antirradicalaria ante al radical DPPH. El tratamiento con ácido cítrico a 130 °C/20 MPa/1M muestra la mejor actividad con una IC_{50} de 4,06 mg/ml (Fig. 4), asociado principalmente al aumento de temperatura y concentración de este modificador. Los hidrolizados obtenidos con agua subcrítica con bicarbonato de sodio como modificador mostraron una menor actividad captadora de radicales libres DPPH que todos los tratamientos con ácido cítrico como modificador e incluso con agua subcrítica sin modificador. El mejor tratamiento en esta investigación muestra una actividad antirradicalaria de DPPH similar a la reportada en hidrolizado de larva de *Musca domestica* con un IC_{50} de 2.5 mg/ml, usando Flavourzyme y Alcalasa (Wang et al., 2013).

Para la medición de la actividad captadora de radicales ABTS, el mejor tratamiento fue el agua subcrítica con ácido cítrico como modificador a 130 °C/20 MPa/1M, mostrando una IC_{50} de 330 µg/ml, mientras que el mejor tratamiento fue el bicarbonato de sodio. usado como modificador es 130 °C/20 MPa/1M, con un IC_{50} de 513 µg/ml; todos los tratamientos mostraron una mejor actividad secuestrante de radicales ABTS que el tratamiento de referencia (IC_{50} 1.42±0.24 mg/ml). Los aumentos de inhibición observados para este

radical en ambos modificadores están relacionados con el aumento de temperatura, similar a lo observado por Jeong et al., (2021) con hidrolizados de agua subcrítica de *Mytilus edulis*.

Estas actividades antioxidantes fueron similares a las reportadas para un hidrolizado de *Ulomoides dermestoides* con un IC_{50} de 400 µg/ml utilizando proteasas de (Flores et al., 2020).

Los hidrolizados obtenidos con agua subcrítica y ácido cítrico como modificador, muestran una mejor actividad antirradicalaria a la que presenta el agua subcrítica sin modificador, y también superior a los tratamientos con agua subcrítica y bicarbonato de sodio, aun cuando este hidrolizado presentó mayor grado de hidrólisis. Esto podría estar asociado con el hecho de que este modificador genera principalmente fragmentos pequeños (menos de 20 kDa) (ver la Fig. 3), debido a las interacciones entre alta temperatura, alta presión y alta concentración de modificador.

3.5 Actividad de inhibidora de la enzima convertidora de angiotensina I

La mayor actividad de inhibición de la ECA se observó con el tratamiento 1 (agua subcrítica y ácido cítrico), mostrando una IC50 de 0.148±0.016 mg/ml (Fig. 5). La actividad de inhibición de la ECA de los hidrolizados muestra una diferencia significativa entre los dos modificadores, ya que todos los tratamientos con agua subcrítica y bicarbonato de sodio mostraron menor actividad de inhibición que todos los tratamientos con ácido cítrico e incluso menor que el tratamiento sin modificador a 115 °C/ 10 MPa (0.386±0.094 mg/ml), con concentraciones de IC50 desde 1.5 mg/ml hasta 3.25 mg/ml. Las diferencias entre modificadores podrían atribuirse a la distribución molecular de los hidrolizados, como se mencionó anteriormente (ver la Fig. 3), se obtuvieron péptidos de menor peso molecular con tratamientos con ácido cítrico, lo que puede aumentar la generación de péptidos para la inhibición de la actividad de la ECA. El análisis de resultados muestra que aun cuando el agua subcrítica con tratamientos de ácido cítrico presenta una GH más bajo que el agua subcrítica con tratamiento de bicarbonato de sodio, se logró una mayor inhibición de la ECA, pudiendo indicar una probable diferencia en la modulación de los enlaces peptídicos, que se hidrolizan dependiendo del modificador. La actividad de inhibición de los hidrolizados en agua subcrítica fue similar a la reportada por Hall & Liceaga (2020) para un hidrolizado de otra especie de ortóptero *Gryllodes sigillatus* usando Alcalasa con un IC50 de 0.2 mg/ml.

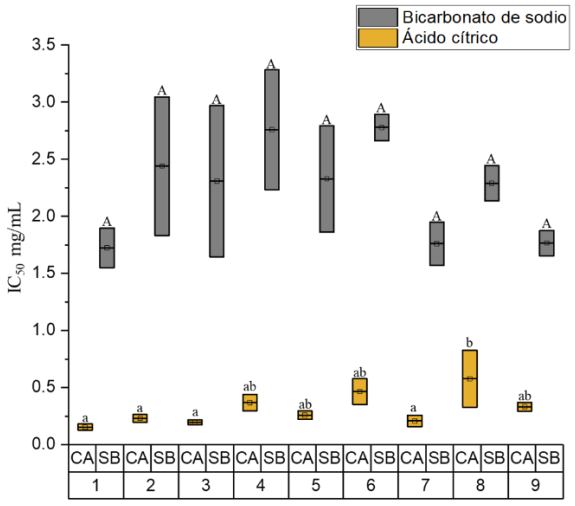


Figura 5. Los resultados representan los promedios de la IC50 del radical (n=3) ± la desviación estándar. La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey (α=0.05)

4. Conclusión

El uso de modificadores en el proceso de hidrólisis de agua subcrítica mejora la reactividad del medio al aumentar la hidrólisis de proteínas, la cual se confirma ser dependiente de una triple interacción, ya que si bien el efecto sobre la GH sigue dependiendo de la temperatura, la concentración del modificador y la presión del proceso puede tener efectos diferenciales, permitiendo alcanzar resultados similares a aquellos tratamientos a altas temperaturas con o sin modificadores o mayor concentración de los mismos. Un tratamiento con bicarbonato de sodio alcanzó el mayor grado de hidrólisis con 44.56±0.92%, en cambio, la mejor condición para la actividad antihipertensiva y captadora de radicales fue el uso de ácido cítrico a 130 °C/20 MPa/ 1 M. La hidrólisis de *Sphenarium purpurascens* muestra una buena

actividad antihipertensiva, pero dependiente del modificador, lo que podría estar correlacionado con la presencia de fragmentos de bajo peso molecular (menos de 20 kDa) o con la diferencia en la ruptura de enlaces entre aminoácidos en los tratamientos con ácido cítrico. Los hidrolizados de Sphenarium purpurascens obtenidos mediante agua subcrítica pueden utilizarse como una buena fuente de productos o ingredientes biofuncionales de alta calidad para la industria agroalimentaria.

5. Referencias

1. Adámková, A., Mlček, J., Kouřimská, L., Borkovcová, M., Bušina, T., Adámek, M., Bednářová, M., & Krajsa, J. (2017). Nutritional potential of selected insect species reared on the island of Sumatra. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *14*(5), 1–10. https://doi.org/10.3390/ijerph14050521
2. Ahmed, R., & Chun, B. S. (2018). Subcritical water hydrolysis for the production of bioactive peptides from tuna skin collagen. *Journal of Supercritical Fluids*, *141*(March), 88–96. https://doi.org/10.1016/j.supflu.2018.03.006
3. AOAC. (2012). *Official methods of analysis of AOAC international* (19th ed). Gaithersburg: AOAC International.
4. Apelblat, A. (2014). Properties of citric acid and its solutions. In *Citric Acid*. https://doi.org/10.1007/978-3-319-11233-6_2
5. Arrese, Estela, L., & Soulages, Jose, L. (2010). Insect fat body: energy, metabolism, and regulation. *Annual Review of Entomology*, *55*, 207–255. https://doi.org/10.1146/annurev-ento-112408-085356
6. Asaduzzaman, A. K. M., Haq, M., & Chun, B. S. (2018). Reduction of histamine and heavy metals in mackerel hydrolyzates produced by catalysts associated-subcritical water hydrolysis. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, *68*, 301–310. https://doi.org/10.1016/j.jiec.2018.08.001
7. Cushman, D. W., & Cheung, H. S. (1971). Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochemical Pharmacology*, *20*(7), 1637–1648. https://doi.org/10.1016/0006-2952(71)90292-9
8. Espinoza, A. D., & Morawicki, R. O. (2012). Effect of additives on subcritical water hydrolysis of whey protein isolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(20), 5250–5256. https://doi.org/10.1021/jf300581r
9. Flores, D. R., Casados, L. E., Velasco, S. F., Ramírez, A. C., & Velázquez, G. (2020). Comparative study of composition, antioxidant and antimicrobial activity of two adult edible insects from Tenebrionidae family. *BMC Chemistry*, *14*(1), 1–9. https://doi.org/10.1186/s13065-020-00707-0
10. Fukumoto, L. R., & Mazza, G. (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(8), 3597–3604. https://doi.org/10.1021/jf000220w
11. Hall, F., & Liceaga, A. (2020). Effect of microwave-assisted enzymatic hydrolysis of cricket (Gryllodes sigillatus) protein on ACE and DPP-IV inhibition and tropomyosin-IgG binding. *Journal of Functional Foods*, *64*(October), 103634. https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103634
12. Hawkey, K. J., Lopez-Viso, C., Brameld, J. M., Parr, T., & Salter, A. M. (2021). Insects: A potential source of protein and other nutrients for feed and food. *Annual Review of Animal Biosciences*, *9*, 333–354. https://doi.org/10.1146/annurev-animal-021419-083930
13. Ho, T.-L., Fieser, M., & Fieser, L. (2009). Sodium carbonate. *Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis*. https://doi.org/10.1002/9780471264194.fos09109.pub2
14. Jeong, Y. R., Park, J. S., Nkurunziza, D., Cho, Y. J., & Chun, B. S. (2021). Valorization of blue mussel for the recovery of free amino acids rich products by subcritical water hydrolysis. *Journal of Supercritical Fluids*, *169*(December), 105135. https://doi.org/10.1016/j.supflu.2020.105135
15. Nemdili, L., Koutchoukali, O., Bouhelassa, M., Seidel, J., Mameri, F., & Ulrich, J. (2016). Crystallization kinetics of citric acid anhydrate. *Journal of Crystal Growth*, *451*(July), 88–94. https://doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2016.07.008
16. Nenadis, N., Wang, L. F., Tsimidou, M., & Zhang, H. Y. (2004). Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS+ assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(15), 4669–4674. https://doi.org/10.1021/jf0400056
17. Nielsen, P. M., Petersen, D., & Dambmann, C. (2001). Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. *Journal of Food Science*, *66*(5), 642–646. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb04614.x
18. Purschke, B., Meinlschmidt, P., Horn, C., Rieder, O., & Jäger, H. (2018). Improvement of techno-functional properties of edible insect protein from migratory locust by enzymatic hydrolysis. *European Food Research and Technology*, *244*(6), 999–1013. https://doi.org/10.1007/s00217-017-3017-9
19. Waldeck, W., Lynn, G., & Hill, A. (1932). Aqueous solubility of salts at high temperatures. Solubility of sodium carbonate from 50 to 348°. *Journal of American Chemistry Society*, *54*(3), 928–936. https://doi.org/https://doi.org/10.1021/ja01342a012
20. Wang, J., Wang, Y., Dang, X., Zheng, X., & Zhang, W. (2013). Housefly larvae hydrolysate: Orthogonal optimization of hydrolysis, antioxidant activity, amino acid composition, and functional properties. *BMC Research Notes*, *6*(1), 197. https://doi.org/10.1186/1756-0500-6-197

Producción de dextrano por *Leuconostoc mesenteroides* bajo un sistema de electrofermentación

Mónica Itzel Rojas Rojas[1], José Adelfo Escalante Lozada[2], Carlos Regalado González[1], Monserrat Escamilla García[1], Rocío Campos Vega[1], Aldo Amaro Reyes[1]*

[1]DIPA, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Santiago de Querétaro, 76010 QRO, México.

[2]Departamento de Ingeniera Celular y Biocatálisis, Instituto de Biotecnología Universidad Nacional Autónoma de México, Avenida Universidad 2001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, 62210, Morelos, México.

*aldo.amaro@uaq.edu.mx

Resumen

Las gomas o exopolisacáridos (EPS) de fuente vegetal son agentes estabilizantes, espesantes y emulsificantes importantes en el procesamiento de alimentos. Los EPS microbianos son una alternativa para evitar la dependencia de la estacionalidad de las fuentes vegetales, inclusive en la sustitución del gluten, considerado un alérgeno. Se evaluó el efecto del voltaje y la concentración del mediador rojo neutro sobre la producción de EPS por *Leuconostoc mesenteroides* en un sistema de electrofermentación utilizando electrodos de carbón. Se evaluó el efecto de la relación C/N en el medio de cultivo sobre el rendimiento en masa de dextrano respecto a la biomasa (Yp/x) de *Leuconostoc mesenteroides*, usando la fuente de nitrógeno que mostró mayor crecimiento. Se evaluó el efecto del voltaje (0-1.4 V) y rojo neutro (0-175 µM) sobre el Yp/x de *Leuconostoc mesenteroides* en el sistema de electrofermentación con electrodos de carbón mediante un diseño factorial. Los EPS y biomasa se cuantificaron por gravimetría. *Leuconostoc mesenteroides* mostró 1.27 veces más crecimiento con $NaNO_3$ comparado con el $Ca(NO_3)_2$ y el rendimiento de dextrano (Yp/x) fue mayor con C/N de 20 y 40. El voltaje, el rojo neutro, así como su interacción mostraron un efecto significativo sobre el Yp/x. La aplicación de 1.4 V sin rojo neutro aumento 8 % el Yp/x de *Leuconostoc mesenteroides* comparado con la fermentación sin voltaje y sin rojo neutro. La fuente de nitrógeno, la relación C/N, el voltaje y el rojo neutro determinan el rendimiento de dextrano respecto a la biomasa en *Leuconostoc mesenteroides.*

Posteriormente, se evaluó el efecto de la relación C/N en el medio de cultivo sobre el rendimiento en masa de dextrano respecto a la biomasa (Yp/x) de *Leuconostoc mesenteroides*, usando la fuente de nitrógeno que mostró mayor crecimiento. La relación C/N que mostró mayor Yp/x fue utilizada en el sistema de electrofermentación. Se evaluó el efecto del voltaje (0-1.4 V) y rojo neutro (0-175 µM) sobre el Yp/x de *Leuconostoc mesenteroides* en el sistema de electrofermentación con electrodos de carbón mediante un diseño factorial. Tanto la producción de exopolisacáridos como de biomasa se cuantificó por gravimetría. La fuente de nitrógeno, la relación C/N, el voltaje y el rojo neutro determinan el rendimiento de dextrano respecto a la biomasa en *Leuconostoc mesenteroides.*

Palabras clave: Exopolisacáridos, relación C/N, fermentación electrostática, *Leuconostoc mesenteroides*, espesantes, estabilizantes, emulsificantes.

Abstrac

Gums or exopolysaccharides (EPS) from vegetable sources are important stabilizing, thickening, and emulsifying agents in food processing. Microbial EPS ar an alternative to avoid dependence on the seasonality of vegetable sources, including in the

substitution of gluten, considered an allergen. The effect of voltage and neutral red mediator concentration on EPS production by *Leuconostoc mesenteroides* in an electrofermentation system using carbon electrodes was evaluated. The effect of the C/N ratio in the culture medium on the mass yield of dextran to biomass (Yp/x) of *Leuconostoc mesenteroides* was evaluated, using the nitrogen source that showed the highest growth. The effect of voltage (0-1.4 V) and neutral red (0-175 µM) on the Yp/x of *Leuconostoc mesenteroides* in the electrofermentation system with carbon electrodes was evaluated using a factorial design. EPS and biomass were quantified by gravimetry. *Leuconostoc mesenteroides* showed 1.27 times more growth with $NaNO_3$ compared to $Ca(NO_3)_2$ and dextran yield (Yp/x) was higher at C/N of 20 and 40. Voltage, neutral red, as well as their interaction showed a significant effect on Yp/x. The application of 1.4 V without neutral red increased the Yp/x of *Leuconostoc mesenteroides* by 8 % compared to fermentation without voltage and neutral red. Nitrogen source, C/N ratio, voltage, and neutral red determine the dextran yield concerning biomass in *Leuconostoc mesenteroides.*

Key words: Exopolysaccharides, C/N ratio, electrostatic fermentation, *Leuconostoc mesenteroides*, thickeners, stabilizers, emulsifiers.

Introducción

"Goma" es un polisacárido que puede o no ser soluble en agua, estos pueden venir de distintos tipos de fuente como vegetales o bien microorganismos capaces de formar geles. Todos y cada uno de estos polisacáridos han sido utilizados en gran diversidad de productos en la industria de los alimentos, cosmética, así como farmacéutica (López Velasco & Sabogal Forero, 2012). Dentro de la industria alimenticia, estos polisacáridos dan al menos tres funciones dentro de su procesamiento: emulsificantes, espesantes y estabilizantes, sin dejar de lado las demás cualidades que pueden proporcionar, cabe mencionar: gelificantes y formadoras de cuerpo. Por ende, dicho lo anterior, la industria alimentaria encuentra imprescindible el uso de las gomas en el procesamiento de alimentos, aprovechando sus propiedades físicas, que son específicas de acuerdo con el alimento que se pretende producir (Barcelos et al., 2020).

Dentro de la industria cabe destacar la propiedad "estabilizante" el cual, aumentará su tiempo de almacenamiento, teniendo en cuenta las manipulaciones post procesado, como su almacenamiento, trasportación o manipulación. El estabilizante evita o retarda efectos indeseables en los alimentos que han sido procesados (Schmid, 2015).

Si bien, se cuenta con gran número existente de estos polisacáridos también llamados "gomas", la creciente demanda de estas gomas empleadas en la industria exige a la par, una alta fabricación de estas, así como, explorar nuevos métodos para su fabricación, el cual, este trabajo estará aportando una alternativa para la industria de los alimentos (Pasquel, 2001).

En la producción de polisacáridos a partir de microorganismos, específicamente de bacterias ácido-lácticas (BAL) considerados microorganismos de grado alimenticio o GRAS (generalmente reconocido como seguro, por sus siglas en inglés), se encuentra la puerta en la producción de exopolisacáridos (EPS) mejor conocido como dextrano, utilizando electrofermentación (Vázquez & López, 2012). La electrofermentación es un proceso novedoso en bioelectroquímica, en el cual, con el empleo de energía y algunos mediadores, se direccionará la vía metabólica para obtener el producto de interés. Lo anterior brinda la posibilidad de inserción de nuevos métodos para la obtención de productos de valor agregado como alternativas para la industria de alimentos (Schievano et al., 2016).

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto del voltaje y el mediador rojo neutro sobre la producción de exopolisacáridos usando *Leuconostoc*

mesenteroides mediante un sistema de electrofermentación utilizando electrodos de carbón.

Metodología

Material biológico

La bacteria ácido-láctica que se usó en este trabajo fue la cepa *Leuconostoc mesenteroides*, donada por el Dr. Adelfo Escalante del Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México. La bacteria fue inoculada en cajas Petri con medio MRS agar (g/L): 20 dextrosa, 10 peptona bacteriológica, 8 extracto de carne, 5 acetato de sodio, 4 extracto de levadura, 2 fosfato dipotásico, 2 citrato de amonio, 1 Tween 80, 0.20 sulfato de magnesio, 0.05 sulfato de manganeso, 10 agar bacteriológico, pH 6.2. Se incubó durante 24 h a 30 °C. Se tomó una unidad formadora de colonias (UFC) y se inoculó en 3 mL de medio MRS caldo, se incubó durante 4 h a 30 °C y 200 rpm. La bacteria se conservó a –80 °C en una solución de glicerol 20% v/v y medio MRS 80 % v/v.

Efecto de la fuente de nitrógeno y la relación carbono nitrógeno (C/N) sobre el crecimiento y producción de dextrano de *Leuconostoc mesenteroides*

El crecimiento de *Leuconostoc mesenteroides* cuantificado por espectrofotometría (Genesys 10S UV-Vis, Thermo Fisher Scientific, EUA) a 600 nm fue evaluado bajo diferentes fuentes de nitrógeno (Tabla 1) modificando el medio Mayeux reportado por (Yáñez-Fernández, y otros, 2021) a las 24 h a 30 °C y 130 rpm. Posteriormente, se evaluó el efecto de la relación C/N en el medio de cultivo Mayeux sobre el rendimiento en masa de dextrano respecto a la biomasa (Yp/x) de *Leuconostoc mesenteroides*, usando la fuente de nitrógeno que mostró mayor crecimiento y manteniendo constante la concentración de fuente de carbono en 100 g/L. La relación C/N que mostró mayor Yp/x fue utilizada en el sistema de electrofermentación.

Efecto del voltaje y rojo neutro sobre la producción de dextrano y crecimiento de *Leuconostoc mesenteroides* en un sistema de electrofermentación

El sistema de electrofermentación (Figura 1) se llevó a cabo en un biorreactor cilíndrico de vidrio de 5.2 cm de diámetro x 7.5 cm de alto, con dos electrodos de carbón sujetos a un tapón de hule, conteniendo 50 mL de medio de fermentación inoculado al 5 % v/v con la bacteria ácido-láctica *Leuconostoc mesenteroides*.

En el sistema de electrofermentación se aplicó voltaje y diferentes concentraciones de rojo neutro, en corriente continúa usando una fuente de poder (GPS-3030DD, GW Instek, Taiwan) y fue monitoreada mediante un amperímetro (Mut-33, Truper, China).

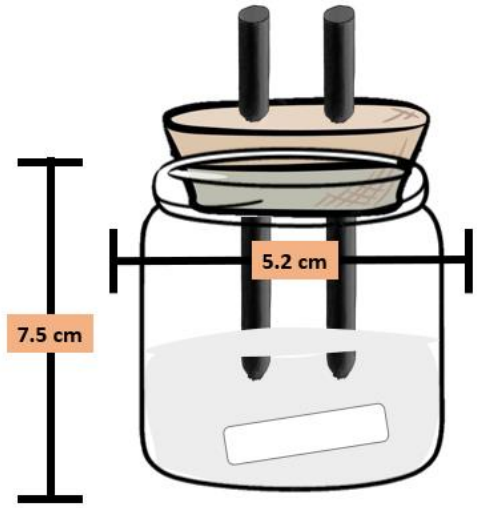


Figura 1 Biorreactor de vidrio con electrodos de carbón para el sistema de electrofermentación

Determinación de biomasa y exopolisacáridos (EPS)

A 10 mL de medio fermentado se le determinó la cantidad de biomasa y exopolisacáridos producidos. La muestra se centrifugó (5804R, Eppendorf, Alemania) a 16,000 x *g* por 30 min a 4 °C (Yáñez Fernández, y otros, 2021) para separar la pastilla celular del medio fermentado. Los EPS en el sobrenadante del medio fermentado se separaron mediante precipitación con un volumen de etanol 96 % v/v a 4 °C que se dejó sedimentar durante 24 h, posteriormente se centrifugó a 10,000 x *g* por 30 min a 4 °C. Tanto la pastilla celular como los EPS precipitados se secaron en horno a 55 °C hasta

alcanzar el peso constante (Dueñas, Munduate, Perea, & Irastorza, 2002).

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental se llevó a cabo en dos etapas: en la primera se seleccionó el medio de cultivo con la relación C/N en donde se obtuvo mayor rendimiento de EPS respecto a la biomasa. En la segunda se utilizó un diseño factorial 4^2 donde los factores fueron el voltaje (0-1.4 V) y la concentración del mediador rojo neutro (0-175 µM). La variable de respuesta fue la relación de masa de EPS por biomasa producida. Como control se realizó una fermentación tradicional sin voltaje utilizando un mismo biorreactor con los electrodos sin conectarlos a la fuente de poder. Las determinaciones se realizaron por triplicado y se reportaron como la media de los ensayos ± desviación estándar. Se realizaron análisis de varianza, así como la comparación de medias por la prueba de Tukey (α=0.05) mediante el programa Minitab 16.2.4 (Minitab, EUA).

Resultados

Efecto de la fuente de nitrógeno y la relación carbono nitrógeno (C/N) sobre el crecimiento de *Leuconostoc mesenteroides*

En la Tabla 1 se muestra el crecimiento a las 24 h de *Leuconostoc mesenteroides* al utilizar diferentes fuentes de nitrógeno incubadas a 30 °C y 130 rpm. *Leuconostoc mesenteroides* mostró 1.27 y 1.15 veces más crecimiento significativo ($p<0.05$) usando nitrato de sodio y amonio en el medio de cultivo, respectivamente, cuando se compararon contra el nitrato de calcio. El nitrato de amonio mostró 1.03 veces más crecimiento que el nitrato de calcio, siendo ésta última la fuente de N que menos crecimiento fomentó en *Leuconostoc mesenteroides.*

La suplementación del medio de cultivo Mayeux con diferentes C/N mostró diferencias significativas ($p<0.05$) en el rendimiento de la producción de dextrano. El rendimiento de dextrano Yp/x fue mayor cuando la C/N fue de 20 y 40, en comparación a cuando se utilizaron C/N de 5 y 20 (Figura 2).

Tabla 1 Crecimiento de *Leuconostoc mesenteroides* en distintas fuentes de nitrógeno expresado en absorbancia a 600 nm a 24 h, 30 °C y 130 rpm.

Medio	Fuente de N	Absorbancia
Mayeux	$Ca(NO_3)_2$	0.881 ± 0.07^C
	$(NH_4)_2SO_4$	0.911 ± 0.08^B
	NH_4NO_3	1.010 ± 0.08^A
	$NaNO_3$	1.122 ± 0.12^A

Letras diferentes indican diferencia estadística significativa ($p<0.05$)

Leuconostoc mesenteroides crece mejor usando sacarosa como fuente de carbono y cuando la fuente de nitrógeno es limitada. El medio definido con C/N 40 denominado “Mayeux 40” fue utilizado en el sistema de electrofermentación.

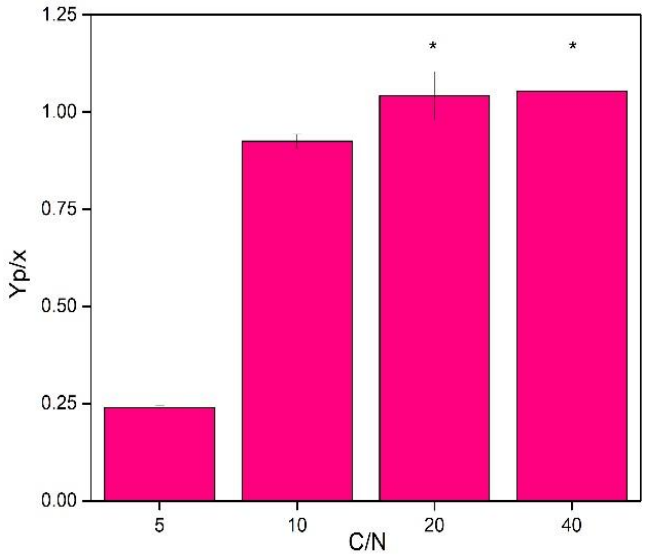


Figura 2. Rendimiento de dextrano respecto a la biomasa producida por *Leuconostoc mesenteroides* en distintas relaciones C/N (5, 10, 20 y 40) en medio Mayeux a 24 h, 30 °C y 130 rpm.

Efecto del voltaje y rojo neutro sobre la producción de dextrano y crecimiento de *Leuconostoc mesenteroides* en un sistema de electrofermentación

En la Tabla 2 y 3 se muestra el rendimiento en masa de dextrano respecto a la biomasa producida por *Leuconostoc mesenteroides* a 24 h, 30 °C y 130 rpm bajo el efecto de voltaje y rojo neutro en un sistema de electrofermentación, así como su análisis de

varianza, respectivamente. El aumento del voltaje con la disminución de la concentración de rojo neutro mostró una correlación positiva sobre el Yp/x de *Leuconostoc mesenteroides*. El voltaje, el rojo neutro, así como su interacción mostraron un efecto estadísticamente significativo sobre el Yp/x. La aplicación de 1.4 V sin rojo neutro mostró un aumento del 8 % sobre el Yp/x de *Leuconostoc mesenteroides* comparado con la fermentación sin voltaje y sin rojo neutro. Cuando se aplicó 1.4 V y 100 µM de rojo neutro se disminuyó 5.05 veces el Yp/x comparado con la fermentación sin voltaje y sin rojo neutro. Se observó un mayor rendimiento cuando no se utiliza rojo neutro en el medio de cultivo, mostrando que el rojo neutro no afecta el nivel de metabolización de la fuente de carbono para la producción de dextrano.

Tabla 2. Rendimiento en masa de dextrano respecto a biomasa producida por *Leuconostoc mesenteroides* a 24 h, 30 °C y 130 rpm bajo el efecto de voltaje y rojo neutro en un sistema de electrofermentación.

Voltaje (V)	Rojo neutro (µM)	Yp/x
0	0	2.0286 ± 0.1353
0	25	1.5124 ± 0.1621
0	100	1.4250 ± 0.4400
0	175	1.2829 ± 0.1553
0.4	0	1.0013 ± 0.0732
0.4	25	0.6179 ± 0.1377
0.4	100	0.7807 ± 0.1331
0.4	175	1.0813 ± 0.2286
0.9	0	0.9154 ± 0.4225
0.9	25	1.2679 ± 0.5497
0.9	100	1.9647 ± 1.4072
0.9	175	1.4073 ± 1.0484
1.4	0	2.1789 ± 0.6651
1.4	25	1.5702 ± 0.8121
1.4	100	0.4003 ± 0.2135
1.4	175	1.0518 ± 0.2968

Tabla 3 Análisis de varianza del rendimiento de dextrano respecto a la biomasa producida por *Leuconostoc mesenteroides* a 24 h, 30 °C y 130 rpm bajo el efecto de voltaje y rojo neutro en un sistema de electrofermentación.

Fuente	GL	SC Sec	SCAjust	MC Ajust	F	P
Voltaje	3	2.9488	2.9488	0.9829	8,11	0
Rojo neutro	3	2.8427	2.8427	0.9476	7.82	0
Voltaje*Rojo neutro	9	5.8577	5.8577	0.6509	5.37	0
Error	32	3.8783	3.8783	0.1212		
Total	47	15.5275				

Discusión

Engel *et al*. (2019) y Joshi et al. (2019) mencionan que se puede controlar el metabolismo de *microorganismos* al aplicar un voltaje. Se ha reportado que la utilización de electrodos en el medio de fermentación puede suministrar electrones para modificar el metabolismo de los microorganismos, dicho proceso es conocido como electrofermentación. Las características que debe tener un electrodo de trabajo dentro de los sistemas bioelectroquímicos son una conductividad de moderada a alta, estabilidad biológica, química y física, económico y una alta superficie específica (Mostafazadeh et al., 2016). El material del electrodo más utilizado en los sistemas de electrofermentación son los derivados del carbono, tal como el grafito o el grafeno, debido a que es un material accesible y versátil, además, su superficie porosa lo convierte en un electrodo con una mayor área electroactiva (Bhagchandanii et al., 2020). También se tienen en consideración los metales como acero inoxidable, níquel, cobre, plata, oro y titanio (Kundi & Dutta, 2018).

El comportamiento del metabolismo celular en un medio de electrofermentación todavía no ha sido dilucidado. Algunos estudios (Mozcoviz et al., 2016) mencionan dos posibles comportamientos que pueden experimentar los electrones disponibles: transferencia directa o a través de mediadores redox. Prassad et al., (2007), han comprobado la transferencia directa de electrones por medio de la pared celular de levaduras gracias a la presencia de enzimas en la membrana celular. Rawson et al., (2012) relacionaron una familia de proteínas en la pared celular denominados proteínas trans de transporte de electrones de

membrana plasmática (tPMET), con la recepción y conducción de los electrones hacia los citocromos mitocondriales, sin embargo, estos mecanismos aún no están claros. Las especies químicas que funcionan como mediadores tal como el rojo neutro pueden ser oxidados y reducidos electroquímicamente en la superficie de un electrodo y este a su vez permitir la oxidoreducción de NAD a NADH en el citoplasma de las células (Shin *et al*., 2002). Además, la presencia de especies electroactivas que pueden estar presentes en el medio o que pudieran ser secretados por el microorganismo (Babanova et al., 2011) son de gran ayuda para mantener la cadena de transporte de electrones. Por otro lado, el flujo adicional de electrones proporcionado por los electrodos en el sistema de electrofermentación puede promover una mayor capacidad de pasar de NAD^+ a NADH en los microorganismos. Los electrones artificialmente suministrados se transfieren del ánodo al cátodo y directamente a la bacteria que permanece en constante agitación en el medio, lo que provoca un contacto con los electrodos, lo que produce interacciones electroestáticas que favorecen la condición redox intracelular. Este aumento en el poder reductor da como resultado una mayor concentración de los productos de (He et al., 2016). El NADH no es el único cofactor que aprovecha el suministro de electrones y que también está inmerso en la ruta metabólica, algunos citocromos, ferredoxinas y el NAD(P) se ven favorecidos en sus estados de oxido-reducción dentro de un sistema de electrofermentación (Hirose et al., 2019).

Conclusiones

La fuente de nitrógeno, así como la relación C/N en el medio de cultivo fue determinante en el rendimiento de dextrano respecto a la biomasa en *Leuconostoc mesenteroides.* La intensidad del voltaje en un sistema de fermentación electrostático promovió y el rojo neutro moduló negativamente el rendimiento en masa de dextrano respecto a la biomasa en *Leuconostoc mesenteroides.* Se necesitan estudios que relacionen el transporte de electrones y la regulación de genes en los microorganismos, así como entender las propiedades físicas involucradas en el sistema de fermentación electrostática para explicar los mecanismos de reacción involucrados en la modulación del metabolismo.

Referencias bibliográficas

Babanova, S., Hubenova, Y., & Mitov, M. (2011). Influence of artificial mediators on yeast-based fuel cell performance. Journal of Bioscience and Bioengineering, 112(4), 379–387.

Barcelos, M. C. S., Vespermann, K. A. C., Pelissari, F. M., & Molina, G. (2020). Current status of biotechnological production and applications of microbial exopolysaccharides. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 60(9), 1475-1495. https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1575791

Bhagchandanii, D. D., Babu, R. P., Sonawane, J. M., Khanna, N., Pandit, S., Jadhav, D. A., ... & Prasad, R. (2020). A comprehensive understanding of electro-fermentation. Fermentation, 6(3), 92.

De la Torre-Vega, M. S., Khosravanipour-Mostafadeh, A., Drogui, P., Leyva-Soto, L. A., & Moroyoqui, P. G. Conversión electroquímica de glicerol crudo para la generación de productos de valor agregado. In memorias arbitradas del v congreso nacional de tecnologías y ciencias ambientales. compiladores (p. 58).

Dueñas, M., Munduate, A., Perea, A., & Irastorza, A. (2003). Exopolysaccharide production by Pediococcus damnosus 2.6 in a semidefined medium under different growth conditions. International journal of food microbiology, 87(1-2), 113-120.

Engel, M., Holtmann, D., Ulber, R., & Tippkötter, N. (2019). Increased biobutanol production by mediator-less electro-fermentation. Biotechnology Journal, 14(4), 1800514.

Freeman, J. V., Varosy, P., Price, M. J., Slotwiner, D., Kusumoto, F. M., Rammohan, C., ... & Masoudi, F. A. (2020). The NCDR left atrial appendage occlusion

registry. Journal of the American College of Cardiology, 75(13), 1503-1518.

He, A. Y., Yin, C. Y., Xu, H., Kong, X. P., Xue, J. W., Zhu, J., ... & Wu, H. (2016). Enhanced butanol production in a microbial electrolysis cell by Clostridium beijerinckii IB4. Bioprocess and biosystems engineering, 39(2), 245-254.

Hirose, A., Kouzuma, A., & Watanabe, K. (2019). Towards development of electrogenetics using electrochemically active bacteria. Biotechnology advances, 37(6), 107351.

Joshi, J., Dhungana, P., Prajapati, B., Maharjan, R., Poudyal, P., Yadav, M., ... & Sreerama, L. (2019). Enhancement of ethanol production in electrochemical cell by Saccharomyces cerevisiae (CDBT2) and Wickerhamomyces anomalus (CDBT7). *Frontiers in Energy Research*, *7*, 70.

Kundi, P.P. & Dutta, K. 2018. Progress and Recent Trends in Microbial Fuel Cells. Elsevier, EE.UU.

López Velasco, D. M., & Sabogal Forero, O. J. (2018). Gomas empleadas en la industria de alimentos.

Moscoviz, R., Toledo-Alarcón, J., Trably, E. & Bernet, N. 2016. ElectroFermentation: How to Drive Fermentation Using Electrochemical Systems.

Mostafazadeh, A. K., Drogui, P., Brar, S. K., Tyagi, R. D., Le Bihan, Y., Buelna, G., & Rasolomanana, S. D. (2016). Enhancement of biobutanol production by electromicrobial glucose conversion in a dual chamber fermentation cell using C. pasteurianum. Energy Conversion and Management, 130, 165-175.

Prasad, D., Arun, S., Murugesan, M., Padmanaban, S., Satyanarayanan, R. S., Berchmans, S., & Yegnaraman, V. 2007. Direct electron transfer with yeast cells and construction of a mediatorless microbial fuel cell. Biosensors and Bioelectronics, 22(11), 2604–2610.

Rawson, F. J., Gross, A. J., Garrett, D. J., Downard, A. J., & Baronian, K. H. R. 2012. Mediated electrochemical detection of electron transfer from the outer surface of the cell wall of Saccharomyces cerevisiae. Electrochemistry Communications, 15(1), 85–87.

Schievano, A., Pepé Sciarria, T., Vanbroekhoven, K., De Wever, H., Puig, S., Andersen, S. J., Rabaey, K., & Pant, D. (2016). Electro-Fermentation – Merging electrochemistry with fermentation in Industrial Applications. Trends in Biotechnology, 34(11), 866-878. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2016.04.007

Schmid, J., Sieber, V., & Rehm, B. (2015). Bacterial exopolysaccharides: Biosynthesis pathways and engineering strategies. Frontiers in Microbiology, 6. https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00496.

Shin, J. Zeikus, M. Jain, H. 2002. Electrically enhanced ethanol fermentation by Clostridium thermocellum and Saccharomyces cerevisiae. Applied Microbiology and Biotechnology, 58, (476 – 481).

Yáñez-Fernández, J., Díaz-Montes, E., & Castro-Muñoz, R. (2021). Characterization of oligodextran produced by *Leuconostoc mesenteroides* SF3 and its effect on film-forming properties of chitosan. *Materials* Today Communications, 28, 102487.

Efecto antiobesogénico y biodisponibilidad de bebidas de frutos rojos

Sotelo-González Ana M[a], Hernández-Calvillo Ana K[b], Castañón-Servín Ana P[a], García-Gutiérrez David G[a], Gómez-Velázquez H[c], Martínez-Maldonado Miguel A[d], de los Ríos Ericka A[e], Reynoso-Camacho Rosalía[a]*, Pérez-Ramírez Iza F[a]*

[a]Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro 76010, Querétaro, México.
[b]Unidad Académica Multidisciplinaria Reynosa-Aztlán, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Reynosa 88740, Tamaulipas, México.
[c]Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara, Lagos de Moreno 47460, Jalisco, México
[d]Instituto Tecnológico Superior de Huichapan, Huichapan 42411, Estado de Hidalgo, México.
[e]Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México campus Juriquilla, Querétaro 76230, Querétaro, México.
*Tel.: +52 442 190 1200. Correo electrónico: rrcamachomx@yahoo.com.mx , iza.perez@uaq.mx.

Resumen

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de bebidas de decocción de fresa y mora azul sobre un modelo de obesidad inducido en ratas con una dieta alta en grasa y fructosa, así como identificar el perfil de metabolitos microbianos y de fase dos generado por el consumo de las bebidas. Se elaboraron bebidas de decocción de fresa (100%), mora azul (100%) y fresa-mora azul (50%-50%), las cuales fueron caracterizadas y administradas a animales alimentados con una dieta alta en grasa y fructosa durante 18 semanas. La administración de las tres bebidas a base de frutos rojos disminuyó la hipertrigliceridemia en ratas obesas de 1.3-1.8 veces y la acumulación de triglicéridos hepáticos de 1.4-1.6 veces, previniendo el desarrollo de esteatosis hepática. Todas las bebidas regularon significativamente la expresión hepática de *Fasn*, mientras que la bebida de mora y fresa-mora mostraron la mayor regulación de *Acaca* (síntesis *de novo* de ácidos grasos). Además, dichas bebidas incrementaron la expresión de *Cpt1* y *Acadm* hepática (β-oxidación de ácidos grasos) y disminuyeron la expresión del gen *Fatp5* (transporte de ácidos grasos). Por otro lado, el consumo crónico de todas las bebidas aumentó significativamente la excreción urinaria de metoxihidroxifenilvalerolactona, siendo que el grupo suplementado con la bebida de fresa excretó urolitinas y otros metabolitos de polifenoles no identificados en los demás grupos experimentales. Estos resultados demuestran que las bebidas funcionales elaboradas con frutos rojos previenen la hipertrigliceridemia y la esteatosis hepática asociado a su alto contenido y diversidad de polifenoles.

Abstract

This research aimed to evaluate the effect of strawberry and blueberry decoction-based beverages on an obesity model of high fat and fructose diet-fed induced rats, as well as to identify the profile of microbial and phase-two metabolites generated by the consumption of the beverages. Strawberry (100%), blueberry (100%) and strawberry-blueberry (50%-50%) decoction beverages were prepared, which were characterized and administered to animals fed a high-fat diet and fructose for 18 weeks. The administration of the three berry-based beverages decreased hypertriglyceridemia in obese rats by 1.3-1.8fold and the accumulation of hepatic triglycerides by 1.4-1.6 fold, preventing the development of hepatic steatosis. Furthermore, all beverages significantly regulated the hepatic expression of *Fasn*, while the blueberry and strawberry-blueberry beverages showed the highest regulation of *Acaca* (*de novo* fatty acid synthesis). In addition, these beverages increased the expression of *Cpt1* and *Acadm* hepatic (β-oxidation of fatty acids) and decreased the expression of the *Fatp5* gene (fatty acid transport). On the other hand, the chronic consumption of all beverages significantly increased urinary excretion of methoxyhydroxyphenylvalerolactone, and the group supplemented with the strawberry beverage excreted urolithins and other polyphenol metabolites not identified in the other experimental groups. These

results demonstrate that berry based functional beverages prevent hypertriglyceridemia and hepatic steatosis due to their high content and diversity of polyphenols.

Palabras clave

Frutos rojos, bebidas funcionales, obesidad, biomarcadores, ratas.

Keywords

Berries, functional beverages, obesity, biomarkers, rats.

Introducción

El consumo global de bebidas azucaradas se ha asociado con condiciones de salud adversas, incluido un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares. Una alternativa es el consumo de bebidas funcionales bajas en calorías, a base de frutas y sin azúcares añadidos. La tendencia en el mercado de consumo de bebidas a partir de infusiones o decocciones, a base de raíces, flores, hojas y frutas se ha incrementado (The Business Research Company, 2022). Los frutos rojos son los más empleados para elaborar este tipo de bebidas, debido a su bajo contenido calórico, aceptación sensorial y alto contenido de compuestos bioactivos, como los compuestos polifenólicos (Pap et al., 2021).

En nuestro grupo de trabajo se encontró que las decocciones a base de fresa y mora azul presentan un perfil importante de compuestos polifenólicos, diferenciándose principalmente en su contenido y variedad de antocianinas, ácidos fenólicos y elagitaninos (Reynoso-Camacho et al., 2021).

Existen reportes que han demostrado los beneficios del consumo de estos frutos rojos en el control de la obesidad y sus complicaciones. En un estudio realizado por Aranaz y colaboradores (2017) sobre animales alimentados con dieta alta en grasa y suplementados con una mezcla de fresa-mora azul liofilizada se observaron mejoras en la resistencia a la insulina, disminución de la inflamación y lipogénesis. El estudio de la biodisponibilidad de los compuestos polifenólicos y de sus metabolitos es una clave importante para la identificación de los compuestos que podrían ser responsables de las actividades biológicas observadas, ya que estos pueden ser metabolizados por la microbiota intestinal y absorberse en el intestino grueso y sufrir diversas modificaciones por parte del llamado metabolismo de fase II (glucuronidación, sulfatación y metilación) para ser distribuidos en los órganos diana correspondientes (di Lorenzo et al., 2021). Con ello se ha definido que el uso de polifenoles urinarios son biomarcadores de ingesta que reflejan la exposición de los tejidos a los polifenoles y una mayor relación de sus beneficios esperados (Pérez-Jiménez et al., 2010).

Por lo tanto, para contribuir al desarrollo de bebidas funcionales con beneficios para la salud, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de bebidas de decocción de fresa y mora azul sobre un modelo de obesidad inducido en ratas con una dieta alta en grasa y fructosa, así como identificar el perfil de metabolitos microbianos y de fase dos generado por el consumo de las bebidas.

Metodología

Elaboración de bebidas. Se prepararon decocciones (95 °C por 15 min) al 10% (w/v) de frutos secos de fresa y mora azul. Las bebidas se realizaron a partir de decocciones de fresa (100%), mora azul (100%) y una combinación de ambos frutos (50% fresa/50% mora azul) utilizando edulcorantes no calóricos (sucralosa y acesulfame K), regulador de pH (ácido cítrico) y conservador (sorbato de potasio). Las bebidas se pasteurizaron a 73 °C por 15 s y se resguardaron a 4 °C hasta su uso (no más de 3 días).

Perfil de compuestos polifenólicos por UPLC-Q-ToF MS. Las bebidas de frutos rojos se filtraron (0.45 μm) y se inyectaron en una columna BEH Acquity C18 (2.1 x 100 mm, 1.7 μm) a 35 °C en un UPLC acoplado a un MS de cuadrupolo-tiempo de vuelo (Q-ToF MSE) con una interfase ESI (Vion, Waters Co). Se utilizó una fase móvil (A) de agua con 0.1% ácido fórmico y una (B) de acetonitrilo con 0.1% ácido fórmico a 0.5 mL/min. La ionización aplicada fue en modo negativo y positivo (ESI- y ESI+) con un rango de masas de 100-1200 Da, realizando la corrección de la masa de bloqueo con leucina-encefalina (50 pg/mL) a 10 μL/min. Los polifenoles se identificaron analizando su masa exacta (error de masa <5 ppm), distribución de isótopos y patrón de fragmentación. Las curvas de calibración se construyeron con ácido elágico (ácidos hidroxicinámicos y elagitaninos), ácido gálico (ácidos hidroxibenzoicos), (-)-

epicatequina (flavanoles), naringenina (flavanonas), quercetina (flavonoles) y cloruro de cianidina (antocianinas) (Reynoso-Camacho et al., 2021).

Diseño experimental *in vivo*. El experimento se realizó de acuerdo con los lineamientos del Consejo Nacional de Investigaciones para el uso de animales en experimentación y aprobado por el comité de bioética de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro (Número de aprobación: CBQ16/0831). Se utilizaron 50 ratas macho Wistar de 160-180 g de peso corporal, las cuales se mantuvieron a 24 ± 1 °C y 50 ± 10% de humedad relativa en un ciclo de luz/oscuridad de 12/12 h. Tras una semana de aclimatación, las ratas se dividieron aleatoriamente en 5 grupos experimentales (n=10): a) dieta estándar (DE) (Rodent Lab Chow 5001); b) dieta alta en grasa y fructosa (DAGF) (DE más 20% de grasa y 18% de fructosa); c) DAGF suplementada con la bebida de fresa (BF); d) DAGF suplementada con la bebida de mora azul (BM) y e) DAGF suplementada con la bebida de fresa-mora azul (BFM). Las bebidas correspondientes se administraron por 12 h durante la noche, seguidas de 12 h con agua potable, mientras que el resto de grupos consumió agua potable *ad libitum*. Después de 18 semanas de experimentación, las ratas fueron colocadas en jaulas metabólicas para la recolección de orina y heces. Posteriormente, fueron anestesiadas con pentobarbital (0.4 mL/kg de peso corporal) y se decapitaron. La sangre se recolectó en tubos Vacutainer de tapón rojo (BD Co, NJ, USA) y se centrifugó a 1000 x *g* por 10 min para separar el suero. El hígado se recolectó y congeló con nitrógeno líquido y se almacenó a -80 °C hasta su análisis.

Determinación de triglicéridos en hígado y heces. Las muestras de hígado (200 mg) se mezclaron con 350 uL de KNaOH (30%) y etanol (2:1, v/v) a 55 °C durante la noche. Después, se agregaron 650 µL de una solución etanol:agua (1:1, v/v) y se centrifugaron a 6000 x *g* por 5 min. Se tomaron 200 µL de sobrenadante y se mezclaron con 215 µL de $MgCl_2$ (Norris et al., 2003).

Las muestras de heces se secaron (45 °C, 24 h) y se mezclaron 200 mg con 2 mL de NaCl (0.9%) y 2 mL de una solución de cloroformo:metanol (2:1, v/v). Las muestras se centrifugaron a 6000 x *g* por 5 min y se recolectó 1 mL de la fase inferior en un tubo nuevo. Posteriormente, las muestras se secaron al vacío a 35 °C y se resuspendieron en 200 µL de etanol (Kraus et al., 2015). Los triglicéridos de hígado y de heces se determinaron en los extractos obtenidos a partir de un kit comercial colorimétrico enzimático (Spinreact). Los resultados se expresaron como mg de triglicéridos/g de hígado o g de heces.

Perfil de ácidos grasos en hígado. Se tomaron 50 mg de hígado congelado y se mezclaron con 400 µL de KOH (1.25 M) en metanol por 60 s y se sonicaron por 5 min a temperatura ambiente. Las muestras se mezclaron con 400 µL de H_2SO4 (1.75 M) en metanol por 60 s y se sonicaron nuevamente. Finalmente, las muestras se mexclaron con 0.8 mL de n-hexano por 30 s, se centrifugaron a 10,000 x *g* por 5 min a 25 °C y se recuperaron los sobrenadantes (Sinosaki et al., 2019). Las muestras derivadas (1 µL) se inyectaron en una columna de capilaridad HP-88 (30 m x 0.25 mm, 0.25 µm) en un cromatógrafo de gases (Agilent 7890ª, CA, USA) acoplado a un espectrómetro de masas simple cuadrupolo (Agilent 5976C) con una fuente de ionización de impacto de electrones (EI) (GC/EI-Q MS). La temperatura del inyector fue de 250 °C en modo Split (1:50). Se usó helio como gas acarreador (1 mL/min). Los resultados se expresaron como mg/g de hígado.

Expresión relativa de genes relacionados con el metabolismo de lípidos en hígado. Se extrajo el ARN de muestras de hígado (30-50 mg) con reactivo Trizol a partir de las instrucciones del fabricante. La integridad del ARN se confirmó por electroforesis en gel de agarosa (0.5%), mientras que la pureza se determinó por espectrofotometría (260/280 y 260/230 ratios) (Nanodrop). La síntesis de ADNc se realizó mezclando 2 µg de ARN total con 2 µL de oligo(dT) a 2 µg/mL (Promega) y agua libre de ARNasa hasta un volumen total de 15 µL. Las muestras se incubaron a 70 °C por 5 min en un termociclador y se enfriaron con hielo. Posteriormente, las muestras se mezclaron con 5 µL de solución tampón de reacción M-MLV 5x (Promega), 1.25 µL de mezcla de 10 mM dNTP (Promega), 7 µL de inhibidor de ARNasa (Promega), 1 µL de M-MLV RT (Promega) y agua libre de ARNasa hasta completar un volumen de 25 µL. Las muestras se incubaron a 37 °C por 60 min.

La expresión de ARNm se llevó a cabo por PCR en tiempo real. Se midió la expresión de genes

relacionados con el metabolismo de lípidos en hígado correspondiente a *Fasn* y *Acaca* (síntesis *de novo* de ácidos grasos), *Ctp1* y *Acadm* (β-oxidación de ácidos grasos) y *Cd36* y *Fatp5* (transporte de ácidos grasos). La expresión relativa de ARNm se calculó mediante la normalización frente a *Actb* (gen endógeno) según el método $2^{-\Delta\Delta CT}$ (Livak y Schmittgen, 2001).

Extracción e identificación de metabolitos de polifenoles en orina. Las muestras de orina se sometieron a una extracción en fase sólida utilizando cartuchos Supel-Select HLB SPE (60 mg/3mL), los cuales se activaron con 3 mL de metanol y 3 mL de agua. Dos mL de orina se adicionaron, seguido de una limpieza con 2 mL de ácido fórmico (1.5 M) y 2 mL de agua:metanol 95:5 (v/v). Finalmente, los metabolitos derivados de polifenoles se eluyeron con 2 mL de metanol (Roura et al., 2006). El perfil de metabolitos derivados de polifenoles se evaluó mediante UPLC-Q-Tof MS siguiendo la metodología descrita anteriormente. Para la cuantificación se construyeron curvas de calibración con ácido 4-hidroxifenilpropiónico (ácidos fenilpropiónicos y valerolactonas), ácido 4-hidroxifenilacético (ácidos fenilacéticos), enterodiol (lignanos) y ácido hipúrico (ácidos benzoicos glicinados).

Análisis estadístico. Todos los datos se expresaron como la media ± desviación estándar (n=10). Se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para la evaluación de la normalidad y la prueba de Levene para la evaluación de la homogeneidad de la varianza. Se realizaron comparaciones múltiples con la prueba de Tukey para variables paramétricas y de Friedman para parámetros no paramétricos. Las diferencias con $p<0.05$ se consideraron significativas. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo en el software JMP versión 11. Se construyeron gráficos de análisis de componentes principales (PCA) y gráficos de K-means con el perfil de metabolitos urinarios de cada grupo experimental utilizando el software en línea Metaboanalyst 5.0.

Resultados

Perfil de compuestos polifenólicos por UPLC-Q-ToF MS. Se identificaron 55 polifenoles en las bebidas de frutos rojos (datos no mostrados). De manera importante, la BM presentó diversos flavonoides no pigmentados como procianidina dímero B2 y eriodictiol. Cabe destacar que la BM mostró un perfil rico en antocianinas como malvidina hexósido > malvidina pentósido > peonidina hexósido > cianidina hexósido > petunidina hexósido > delfinidina hexósido, así como un perfil pobre de ácidos hidroxibenzoicos pero con un alto contenido de ácido clorogénico. Por lo contrario, la BF mostró un alto contenido de ácidos fenólicos, principalmente ácido cumárico hexósido > ácido elágico > ácido dihidroxibenzoico. Además presentó pelargonidina como antocianina mayoritaria y elagitaninos como peduncalagina y estrictinina, siendo que estos no fueron detectados en la BM. Finalmente, la BFM tuvo un perfil polifenólico combinado de ambos frutos rojos.

Efecto de las bebidas de frutos rojos sobre el metabolismo de triglicéridos. De acuerdo con los resultados mostrados en la Tabla 1, la inducción con DAGF aumentó los niveles de triglicéridos en suero e hígado en comparación con la DE (2.5 y 2.6 veces, respectivamente), así como la excreción de triglicéridos fecales (1.4 veces).

La suplementación con las tres bebidas de frutos rojos durante 18 semanas disminuyó los niveles de triglicéridos en suero (1.3-1.8 veces) e hígado(1.4-1.6 veces) con respecto al grupo enfermo (DAGF), siendo que los grupos DAGF+BF y DAGF+BM mostraron valores similares al grupo control control (DE).

Con respecto al perfil de ácidos grasos en hígado, el grupo enfermo (DAGF) mostró una concentración significativamente mayor de ácidos grasos saturados y monoinsaturados con respecto al grupo control (DE; 1.7 y 3.9 veces, respectivamente). La suplementación con la BF disminuyó significativamente los niveles hepáticos de ácidos grasos aturados en comparación con el grupo enfermo (DAGF; 1.4 veces), principalmente del ácido palmítico (C16:0, datos no mostrados), mostrando niveles similares al grupo control (DE).

Tabla 1. Efecto de las bebidas de frutos rojos sobre los triglicéridos en suero, fecales y hepáticos, y sobre el perfil de ácidos grasos en hígado.

DE	DAGF	DAGF+BF	DAGF+BM	DAGF+BFM
Triglicéridos en suero (mg/dL)				
65.44± 19.97c[†]	160.44± 48.70a	90.13± 21.14bc[†]	100.44± 23.38bc[†]	124.20± 58.60b[†]

Triglicéridos fecales (mg/g)				
0.14± 0.07c†	0.20± 0.05ab	0.29± 0.05a	0.17± 0.07bc	0.18± 0.07bc
Triglicéridos hepáticos (mg/g)				
23.84± 7.24c†	62.69± 15.95a	38.31± 9.30bc†	38.97± 9.47bc†	45.38± 14.07b†
Ácidos grasos saturados (mg/g)				
7.72± 1.72c†	12.79± 2.28a	9.32± 2.85bc†	10.20± 2.13abc	11.86± 2.28ab
Ácidos grasos monoinsaturados (mg/g)				
2.20± 0.94b†	8.49± 3.89a	6.21± 3.91ab	6.53± 2.64a	8.38± 3.92a
Ácidos grasos poliinsaturados (mg/g)				
13.54± 5.82a	20.38± 7.08a	15.03± 7.72a	17.68± 6.68a	19.90± 6.85a

Datos expresados como la media± desviación estándar (n=10). Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0.05) entre muestras por la prueba de Tukey o Friedman. †Indica diferencias significativas (p<0.05) comparado con el grupo DAGF por prueba Dunnet o Wilcoxon. DE: dieta estándar, DAGF:dieta alta en grasa y fructosa, BF:bebida de fresa, BM: bebida de mora azul, BFM: bebida de fresa-mora azul.

<u>Efecto de las bebidas de frutos rojos sobre la expresión relativa de genes relacionados con el metabolismo de lípidos en hígado.</u>

En la Figura 1 se observa que el grupo enfermo (DAGF) mostró un aumento en la expresión relativa de *Acaca* y *Fasn* (1.4 y 1.5 veces, respectivamente), *Fatp5* y *Cd36* (~1.5 veces), así como una disminución de *Acadm* y *Cpt1* (~1.7 veces) con respecto al grupo control (DE).

La suplementación con las tres bebidas de frutos rojos disminuyó significativamente la expresión del gen *Fasn* (1.4-1.7 veces), mientras que la suplementación con BM y BFM disminuyeron significativamente la expresión de *Acaca* (1.9-2.3 veces) en comparación con el grupo enfermo (DAGF), los cuales son genes involucrados a la síntesis *de novo* de ácidos grasos en hígado. Por otro lado, la expresión relativa del gen *Fatp5* fue disminuida significativamente con la suplementación de BM y BFM, mientras que las bebidas de BF y BM disminuyeron la expresión del gen *Cd36* en comparación con el grupo enfermo (DAGF), los cuales están asociados con una disminución en el transporte de ácidos grasos.

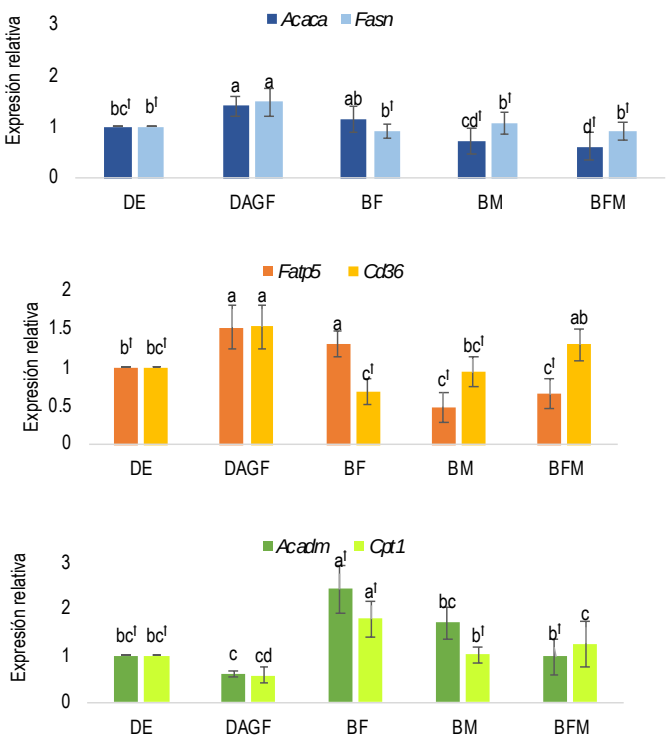


Figura 1. Efecto de las bebidas de frutos rojos en la expresión de genes involucrados en el metabolismo de lípidos en hígado. Datos expresados como la media ± error estándar (n=10). Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0.05) entre muestras por la prueba de Tukey o Friedman. †Indica diferencias significativas (p<0.05) comparado con el grupo DAGF por prueba Dunnet o Wilcoxon. DE: dieta estándar, DAGF:dieta alta en grasa y fructosa, BF:bebida de fresa, BM: bebida de mora azul, BFM: bebida de fresa-mora azul.

Finalmente, en relación con la expresión de genes involucrados en la β-oxidación, la suplementación con BF y BFM aumentó significativamente la expresión hepática de *Acadm* (4.1 y 1.6 veces, respectivamente), con respecto al grupo enfermo (DAGF), mientras que se observó una sobre-expresión de *Cpt1* con la suplementación de BF y BM (3 y 1.7 veces, respectivamente).

<u>Efecto de las bebidas de frutos rojos en el perfil de metabolitos de polifenoles en orina.</u> Se identificaron 23 metabolitos urinarios en los grupos de estudio, siendo que se presentan los metabolitos más importantes en la Tabla 2. De manera general, los metabolitos de polifenoles mayoritarios identificados pertenecen a las familias de elagitaninos, flavonas, isoflavonas y valerolactonas.

Tabla 2. Perfil de metabolitos de polifenoles en orina de animales suplementados con bebidas de frutos rojos.

Metabolito*	DE	DAGF	DAGF +BF	DAGF +BM	DAGF +BFM
Metabolitos de elagitaninos					
Urolitina B glucurónido	ND	ND	2.91± 0.17	ND	ND
Urolitina A	ND	ND	8.25± 0.49a	ND	2.32± 0.24b
Urolitina B	ND	ND	5.93± 0.41a	ND	1.81± 0.14a
Metabolitos de flavonas					
Apigenina glucurónido	7.37± 0.57ab	6.37± 1.23b	9.13± 0.29a†	6.74± 1.07b	7.76± 0.90ab†
Metabolitos de isoflavonas					
Gliciteína glucurónido	2.37± 0.76ab	2.55± 0.35b	2.68± 0.27ab	3.06± 0.37ab†	7.76± 0.90ab†
Equol glucurónido	12.10± 0.58a	9.95± 1.91a	10.58± 0.69a	9.58± 1.65a	9.52± 1.83a
Hidroxi-daidzeina	12.94± 1.04bc	11.4± 2.00c	12.84± 1.43bc	14.74± 2.12b†	17.47± 1.76a†
Entero-lactona	4.26± 0.19ab†	2.98± 0.30b	3.12± 0.24b	9.02± 0.44a†	7.59± 1.05a†
Metabolitos de valerolactonas					
Metoxihidro-xifenilvalero-lactona	1.89± 0.10a	1.74± 0.14a	1.65± 0.05ab†	1.20± 0.09b†	0.67± 0.03b†

Datos expresados como la media ± desviación estándar (n=10). *µg/mg de creatinina. Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0.05) entre muestras por la prueba de Tukey o Friedman. †Indica diferencias significativas (p<0.05) comparado con el grupo DAGF por prueba Dunnet o Wilcoxon. DE: dieta estándar, DAGF:dieta alta en grasa y fructosa, BF:bebida de fresa, BM: bebida de mora azul, BFM: bebida de fresa-mora azul.

Todos los grupos experimentales, incluyendo el grupo control (DE) y enfermo (DAGF), mostraron metabolitos urinarios derivados del consumo de isoflavonas (equol glucurónido e hidroxidaidzeina) y flavonas (apigenina glucurónido). Con respecto a los grupos tratamientos, los animales suplementados con la BF tuvieron una mayor excreción de metabolitos derivados del consumo de elagitaninos, principalmente urolitinas A y B, los cuales no fueron detectados en el resto de los grupos de estudio.

Por otro lado, los animales suplementados con BM y BFM excretaron una alta concentración de metabolitos derivados del consumo de isoflavonas en comparación con el grupo enfermo (DAGF), principalmente la metoxihidroxifenilvalerolactona.

El análisis multivariado del perfil de metabolitos urinarios se muestra en la Figuras 2 y 3. El modelo no supervisado de PCA mostró una varianza explicada del 54.8%, observándose la discriminación entre algunos grupos experimentales; sin embargo, se muestran algunos clústers (Figura 2).

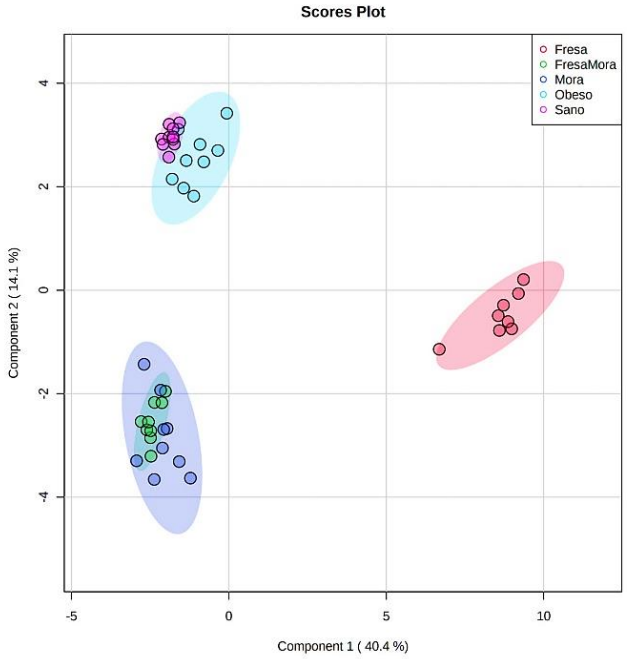


Figura 2. Gráfico de análisis de componentes principales de metabolitos de polifenoles urinarios de los grupos suplementados con bebidas de frutos rojos. Los datos se normalizaron por suma, se transformaron en raíz cuadrada y se escalaron automáticamente.

Es por ello que se obtuvo el gráfico correspondiente al modelo K-means, el cual confirma que los grupos control (DE) y enfermo (DAGF) muestran un perfil de metabolitos de polifenoles urinarios similar (clúster 1; Figura 3) caracterizado por una diversidad de metabolitos derivados del consumo de flavonas e isoflavonas (datos no mostrados). Por otro lado, se observó un clúster integrado únicamente el grupo alimentado con DAGF y suplementedo con BF (clúster 2; Figura 3), el cual se caracterizó por numerosos metabolitos derivados del consumo de ácidos fenólicos y elagitaninos (datos no mostrados). Finalmente, el grupo alimentado con DAGF y suplementados con BM y BFM conformaron el clúster 3 (Figura 3), el cual no mostró claras

características discriminantes como las observadas en los clústers 1 y 2.

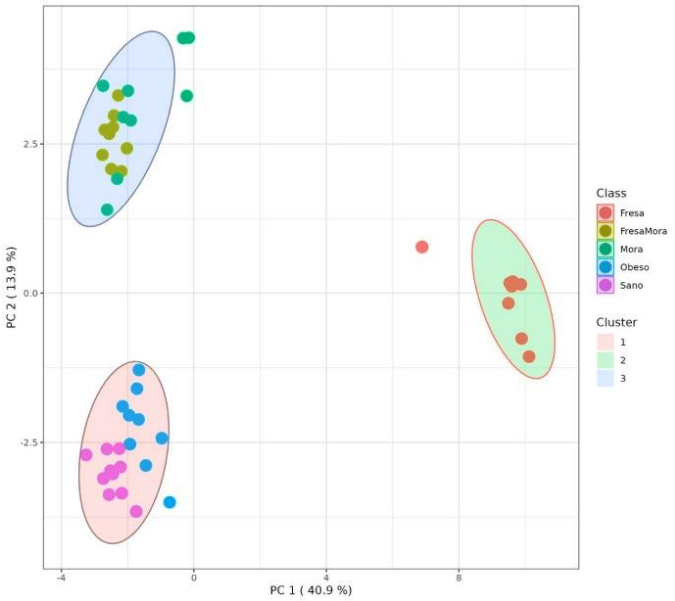


Figura 3. Gráfico de K-means de metabolitos de polifenoles urinarios de los grupos suplementados con bebidas de frutos rojos. Los datos se normalizaron por suma, se transformaron en raíz cuadrada y se escalaron automáticamente.

Discusión y conclusiones

La fresa y la mora azul se consideran frutos rojos de alto valor comercial, con alta demanda mundial y con múltiples beneficios a la salud asociados a su alto contenido de polifenoles. En concreto, la mora azul presenta una mayor concentración de polifenoles totales que las fresas (1.77 veces), flavonoides (6.89 veces) y antocianinas (5.54 veces) (Mustafa et al., 2022). Por el contrario, las fresas son ricas en elagitaninos (71-83 mg/100 g), como la casuarictina, la pedunculagina y la sanguina H6 (Bobinaitė *et al*., 2016). Las diferencias en dichos perfiles sugieren diferentes mecanismos de acción para el control de enfermedades como la obesidad y sus complicaciones, así como diferentes biomarcadores de absorción de estos.

Resultados similares fueron observados en este estudio, en donde se observó que las bebidas desarrolladas son ricas en diversos polifenoles, presentando perfiles contrastantes entre la BF y la BM. Estudios previos han reportado la biodisponibilidad de frutos rojos en diversas presentaciones (frutos frescos, frutos congelados, extractos y jugos) en animales o humanos sanos.

En este sentido, se han identificado glucósidos de malvidina como metabolitos mayoritarios derivados del consumo de mora azul (Del Bo et al., 2012); sin embargo, en nuestro estudio no se identificaron metabolitos de antocianinas, lo cual podría estar relacionado con su alta inestabilidad química que conlleva a que se encuentren por debajo del límite de detección de los espectrómetros de masas (Ulaszewska et al., 2020).

Adicionalmente, se han identificado alteraciones en la excreción de metabolitos derivados de ácido benzoico, catecol y ácido hipúrico tras el consumo de mora azul (Feliciano et al. 2016), los cuales también fueron identificados en nuestro estudio. Sin embargo, estos metabolitos urinarios también han sido ampliamente reportados tras el consumo de numerosas frutas, verduras, leguminosas y oleaginosas (Ulaszewska et al., 2020), por lo que no se pueden considerar candidatos a biomarcador de consumo de la BM. Lo anterior coincide con la falta de identificación de características discrimianntes del modelo de K-means para los grupos experimentales suplementados con la BF y la BFM.

Por otro lado, el consumo de fresa ha sido también asociado con la excreción urinaria de metabolitos de pelargonidina, la antocianina mayoritaria de este fruto rojo (Cahyana et al., 2019); sin embargo, en este estudio no se identificaron metabolitos derivados del consumo de antocianinas como se describió anteriormente. Adicionalmente, la presencia de urolitinas en diversos fluidos biológicos tras el consumo agudo y crónico de fresa ha sido previamente demostrado en animales y sujetos sanos, identificando la urolitina A como el metabolito mayoritario, seguido de urolitina B y urolitina B glucurónido (Truchado et al., 2012); resultado similar al observado en nuestro estudio.

El consumo excesivo de fructosa y grasa saturada promueve la acumulación de lípidos en suero e hígado, lo cual a largo plazo puede contribuir al desarrollo de esteatosis hepática, respectivamente (Taskinen, Packard y Borén, 2019). Es por ello que en este estudio se evaluó el efecto preventivo de bebidas a base de decocción de fresa y mora azul en un modelo de obesidad inducido con una dieta alta en grasa y

fructosa. Los efectos observados después de 18 semanas de tratamiento fueron contrastantes en cada bebida, lo cual se relaciona a las diferencias en su perfil de compuestos polifenólicos, principalmente de antocianinas, ácidos fenólicos y elagitaninos.

Todas las bebidas de frutos rojos lograron una disminución significativa de triglicéridos en suero e hígado. No obstante, la BF además incrementó la excreción de dichos triglicéridos en heces lo cual indica una disminución en el intestino delgado de la absorción de grasa de la dieta y con ello la reducción de estos lípidos en suero y menor acumulación en el organismo. De acuerdo con Leamy et al. (2013), la disminución de la concentración de ácidos grasos libres en el hígado, especialmente saturados, sugiere una prevención importante de lipotoxicidad ya reportada para estos compuestos, que evita la progresión de esteatosis hepática no alcohólica.

Estudios previos han demostrado que las antocianinas mayoritarias de fresa y mora azul disminuyen la acumulación de triglicéridos en hepatocitos inducidos a esteatosis hepática con ácido oleico, proponiendo su potencial efecto preventivo para el desarrollo de esteatosis hepática (Wang et al., 2016). De manera interesante, las bebidas desarrolladas en este estudio previnieron el desarrollo de hipertrigliceridemia y esteatosis hepática asociada al consumo crónico de ADGF. Si bien todas las bebidas presentaron un efecto benefico global similar, cada una ejerció un mecanismo de acción distinto, los cuales fueron relacionados con la sobre-expresión de genes relacionados con la β-oxidación de ácidos grasos y con la inhibición de la expresión de genes relacionados con la síntesis *de novo* y el transporte de ácidos grasos en hígado, mecanismos que han sido extensamente estudiado en diversas fuentes de polifenoles (Bayram et al., 2021).

Debido a la asociación entre el alto consumo de jugos de frutas con alto contenido de azúcares con el desarrollo de obesidad y sus complicaciones metabólicas (Collin et al., 2019), los resultados obtenidos en este estudio demuestran que es viable elaborar decocciones de fresa y mora azul como base para el desarrollo de bebidas funcionales con alto contenido de polifenoles biodisponibles, los cuales previenen el desarrollo de hipertrigliceridemia y esteatosis hepática asociada a la obesidad inducida por una dieta hipercalórica.

Referencias bibliográficas

1. Aranaz, P., Romo-Hualde, A., Zabala, M., Navarro-Herrera, D., de Galarreta, M. R., Gil, A. G., Martintez, J. A., Milagro, F. I., González-Navarro, C. J. (2017). Freeze-dried strawberry and blueberry attenuates diet-induced obesity and insulin resistance in rats by inhibiting adipogenesis and lipogenesis. Food & Function, 8, 3999-4013.
2. Bayram, H. M., Majoo, F. M., & Ozturkcan, A. (2021). Polyphenols in the prevention and treatment of non-alcoholic fatty liver disease: An update of preclinical and clinical studies. Clinical Nutrition ESPEN, 44, 1-14.
3. Bobinaitė, R., Viskelis, P., Bobinas, Č., Mieželienė, A., Alenčikienė, G., Venskutonis, P.R. (2016) Raspberry marc extracts increase antioxidative potential, ellagic acid, ellagitannin and anthocyanin concentrations in fruit purees. LWT-Food Science and Technology, 66, 60-467.
4. Cahyana, Y., Gordon, M. H., & Gibson, T. M. (2019). Urinary excretion of anthocyanins following consumption of strawberry and red grape juice. International Journal for Vitamin and Nutrition Research.
5. Del Bo', C., Riso, P., Brambilla, A., Gardana, C., Rizzolo, A., Simonetti, P., Porrini, M. (2012). Blanching improves anthocyanin absorption from highbush blueberry (Vaccinium corymbosum L.) purée in healthy human volunteers: A pilot study. Journal of agricultural and food chemistry, 60(36), 9298-9304.
6. di Lorenzo, C., Colombo, F., Biella, S., Stockley, C., & Restani, P. (2021). Polyphenols and human health: The role of bioavailability. Nutrients, 13(1), 273.
7. Feliciano, R. P., Istas, G., Heiss, C., Rodriguez-Mateos, A. (2016). Plasma and urinary phenolic profiles after acute and repetitive intake of wild blueberry. Molecules, 21(9), 1120.

8. Kraus, D., Yang, Q., & Kahn, B. B. (2015). Lipid extraction from mouse feces. Bio-protocol, 5(1), e1375-e1375.
9. Livak, K. J., Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2−ΔΔCT method. Methods, 25(4), 402-408.
10. Mustafa, A.M., Angeloni, S., Abouelenein, D., Acquaticci, L., Xiao, J., Sagratini, G., Maggi, F., Vittori, S., Caprioli, G. (2022) A new HPLC-MS/MS method for the simultaneous determination of 36 polyphenols in blueberry, strawberry and their commercial products and determination of antioxidant activity. Food Chemistry, 367, 130743.
11. Norris, A. W., Chen, L., Fisher, S. J., Szanto, I., Ristow, M., Jozsi, A. C., Hirshman, M. F., Rosen, E. D., Goodyear, L. J., Gonzalez, F. J., Spiegelman, B. M., Kahn, C. R. (2003). Muscle-specific PPARγ-deficient mice develop increased adiposity and insulin resistance but respond to thiazolidinediones. The Journal of Clinical Investigation, 112(4), 608-618.
12. Pap, N., Fidelis, M., Azevedo, L., do Carmo, M.A.V., Wang, D., Mocan, A., Rodriguez-Pereira, E.P., Xavier-Santos, D., Sant'Ana, A.S., Yang, B., Granato, D. (2021) Berry polyphenols and human health: Evidence of antioxidant, anti-inflammatory, microbiota modulation, and cell-protecting effects. Current Opinion in Food Science, 42, 167-186.
13. Perez-Jimenez, J., Hubert, J., Hooper, L., Cassidy, A., Manach, C., Williamson, G., Scalbert, A. (2010). Urinary metabolites as biomarkers of polyphenol intake in humans: a systematic review. The American Journal of Clinical Nutrition, 92(4), 801-809.
14. Reynoso-Camacho, R., Sotelo-González, A.M., Patiño-Ortiz, P., Rocha-Guzmán, N.E., Pérez-Ramírez, I.F. (2021) Berry by-products obtained from a decoction process are a rich source of low-and high-molecular weight extractable and non-extractable polyphenols. Food and Bioproducts Processing, 127, 371-387.
15. Roura, E., Andrés-Lacueva, C., Estruch, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (2006). Total polyphenol intake estimated by a modified Folin–Ciocalteu assay of urine. Clinical Chemistry, 52(4), 749-752.
16. Sinosaki, N. B. M., dos Santos, P. D. D. S., Galuch, M. B., da Silveira, R., Bonafé, E. G., Visentainer, J. V., Santos Júnior, O. D. O. (2019). Analytical method of direct derivatization of fatty acids in seeds. Chemical Papers, 73(10), 2399-2407.
17. The Business Research Company. (2021). Functional beverages global market report 2022 – by type (energy drinks, sport drinks, nutraceutical drinks, dairy-based beverages, juices, enhances water, other types), by function (health & wellness, weight management), by distribution channel (brick & mortar, online) – market size, trends, and global forecast 2022-2026.
18. Truchado, P., Larrosa, M., García-Conesa, M. T., Cerdá, B., Vidal-Guevara, M. L., Tomás-Barberán, F. A., Espín, J. C. (2012). Strawberry processing does not affect the production and urinary excretion of urolithins, ellagic acid metabolites, in humans. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 60(23), 5749-5754.
19. Wang, Y., Zhao, L., Wang, D., Huo, Y., & Ji, B. (2016). Anthocyanin-rich extracts from blackberry, wild blueberry, strawberry, and chokeberry: antioxidant activity and inhibitory effect on oleic acid-induced hepatic steatosis in vitro. Journal of the Science of Food and Agriculture, 96(7), 2494-2503.

Bagazo de betabel como agente antimicrobiano e indicador de pH

Noemi Takebayashi-Caballero[1], Monserrat Escamilla-García[*1]

[1] Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro 76010, México; ntakebayashi13@alumnos.uaq.mx
*monse41214@gmail.com

Resumen

Debido al uso excesivo de plástico en los empaques, se ha optado por producir empaques comestibles a partir de biopolímeros naturales. Recientemente se han popularizado los empaques activos, que se encargan de inhibir o reducir la carga microbiana de los alimentos, y los empaques inteligentes, que se encargan de monitorear la calidad de los alimentos. Una manera de monitorear la calidad de los alimentos es a través de pH ya que cambia según los metabolitos que los microorganismos presentes producen. El objetivo del presente trabajo es aprovechar el bagazo de betabel para extraer betalaínas para su uso como agente antimicrobiano e indicador de pH. Se extrajo betalaínas a partir de bagazo de betabel (producto de desecho) con agitación en ácido cítrico 2%. La solución de betalaínas obtenidas se acidificó o alcalinizó cubriendo toda la escala de pH para observar el cambio de color de éstas. Los resultados mostraron que las betalaínas actúan como indicador de pH. También se realizaron cinéticas de crecimiento para observar la actividad antimicrobiana de las betalaínas ante *Listeria innocua* y *Salmonella enterica*. Se obtuvo que a mayor concentración de betalaínas, menor densidad óptica en la curva de crecimiento, así como una menor velocidad específica de crecimiento, mientras que el tiempo de duplicación aumentó. Para inhibir a *Salmonella enterica*, se usó mayor porcentaje de betalaínas ya que es menos susceptible por la membrana externa extra de las Gram negativas. La incorporación de betalaínas ante un empaque inteligente podría brindar actividad antimicrobiana, así como la capacidad de actuar como indicador de pH.

Summary

Due to the excessive use of plastic in packaging, edible packaging has been produced from natural biopolymers. Recently, active packaging, which inhibits or reduces the microbial load of food, and intelligent packaging, which monitors food quality, have become popular. One way to monitor food quality is through pH, since it changes according to the metabolites produced by the microorganisms present. The objective of the present work is to extract betalains from beetroot bagasse to use them as an antimicrobial agent and pH indicator. Betalains were extracted from beetroot bagasse (waste product) with agitation in 2% citric acid. The obtained betalains solution was acidified or alkalinized covering the whole pH scale to observe the color change of betalains. The results showed that betalains act as a pH indicator. Growth kinetics were also performed to observe the antimicrobial activity of betalains against *Listeria innocua* and *Salmonella enterica*. It was found that the higher the concentration of betalains, the lower the optical density in the growth curve and the specific growth velocity, while the doubling time increased. To inhibit *Salmonella enterica*, a higher percentage of betalains was used since it is less susceptible due to the extra external membrane of Gram negative bacteria. The incorporation of betalains before a smart packaging could provide antimicrobial activity, as well as the ability to act as a pH indicator.

Palabras clave: betalaínas, indicador de pH, agente antimicrobiano, *Listeria innocua*, *Salmonella enterica*

Key words: betalains, pH indicator, antimicrobial agent, *Listeria innocua*, *Salmonella enterica*

1. Introducción

El propósito de los empaques es proteger al alimento del ambiente. El material más usado para empaques es el plástico ya que es barato, sin embargo, es difícil

de reciclar y contribuye a la contaminación ambiental. Es por ello que se ha tratado de remplazar por polímeros naturales como polisacáridos, proteínas y lípidos y a estos empaques se les denomina como empaques comestibles. Además, existen empaques denominados activos, que son adicionados con agentes antimicrobianos para inhibir o reducir la carga microbiana de los alimentos. Por último, los empaques inteligentes tratan de monitorear la calidad de los alimentos detectando factores como la temperatura, la composición de gases y el cambio de pH (Mataragas y col., 2019).

Una manera de monitorear el cambio de pH es a través de indicadores. Se ha empleado colorantes sintéticos los cuales son estables, de bajo costo y eficientes para cambiar de color, sin embargo, son tóxicos. Por ello se ha buscado la forma de remplazarlos por pigmentos naturales, tales como las betalaínas. El betabel es consumido por sus beneficios a la salud en forma de jugo, produciendo bagazo como producto de desecho. Éste se puede aprovechar ya que posee pigmentos llamados betalaínas las cuales, se ha reportado que pueden cambiar de color a diferente pH y presentar actividad antimicrobiana (Chhikara y col., 2019).

El objetivo de este trabajo es evaluar la capacidad de las betalaínas para actuar como indicador de pH y determinar la actividad inhibitoria de las betalaínas ante *Listeria innocua* y *Salmonella enterica*, calculando la velocidad específica de crecimiento, así como el tiempo de duplicación.

2. Metodología

2.1. Extracción de betalaínas

Se siguió el método propuesto por Halwani y col. (2018). Se recolectó el bagazo de betabel de diferentes locales del mercado Escobedo (Santiago de Querétaro, Qro.). Se agitó bagazo de betabel en ácido cítrico (2%) en una proporción 1:3 durante 5 min, posteriormente se filtró con papel Whatman No. 4.

2.2. Cambio de color de las betalaínas ante el pH

El cambio de color se evaluó mediante el método descrito por Zhang y col. (2022) con modificaciones. Se midió el pH inicial de la solución de betalaínas con un potenciómetro (PHS-3CU, Yueping, Shanghai) y se añadió hidróxido de sodio 0.1 M para alcalinizar o ácido clorhídrico 1 N para acidificar, de modo que se obtuvo la solución de betalaínas en pH 1-12.

2.3. Actividad antimicrobiana de las betalaínas ante *Listeria innocua* y *Salmonella enterica*

La actividad antimicrobiana se llevó a cabo de acuerdo a lo reportado por Pérez (2016). Primero se realizó una cinética de crecimiento para *Listeria innocua* en caldo *Listeria*. Se activó un inóculo de 10^6 UFC/mL y se transfirió a matraces Erlenmeyer de 25 mL con 20 mL de caldo *Listeria*. Se midió la densidad óptica a 600 nm usando un espectrofotómetro UV-VIS (Genesys 10, Thermo Scientific, Massachusetts, Estados Unidos), tomando lecturas cada hora hasta alcanzar la fase estacionaria. Se usó un agitador orbital (MaxQ 6000, Thermo Scientific, Massachusetts, Estados Unidos) a 120 rpm, y 30 °C. Para medir la inhibición de las betalaínas se añadió 1 y 2% del extracto de betalaínas al caldo antes de inocular.

Para la cinética de crecimiento de *Salmonella enterica* se siguió el mismo procedimiento descrito anteriormente, cambiando el caldo *Listeria* por soya tripticaseína y añadiendo 5, 20 y 50% de betalaínas.

Se calculó el tiempo de duplicación y velocidad específica de crecimiento usando GraphPad Prism 8.0.

3. Resultados

Se observó que, a diferente pH, las betalaínas cambian de color. En pH 1-5 se obtuvo una tonalidad rosa, en pH de 7-9 morado, en pH de 6 una transición entre rosa y morado y finalmente, en un pH mayor a 10, se observa una tonalidad amarilla (Figura 1).

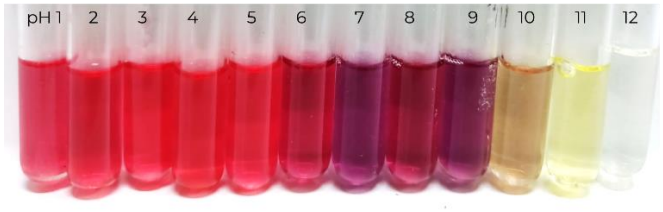


Figura 1. Cambio de color dependiente de pH.

La cinética de crecimiento de *Listeria innocua* (Figura 2) muestra que ésta es más susceptible ante las betalaínas, obteniendo una mínima concentración inhibitoria (MIC) de 2%, mientras que para *Salmonella enterica* se alcanzó un decremento en la densidad óptica con 5 y 20% de betalaínas, sin embargo, la MIC fue con 50% (Figura 2)

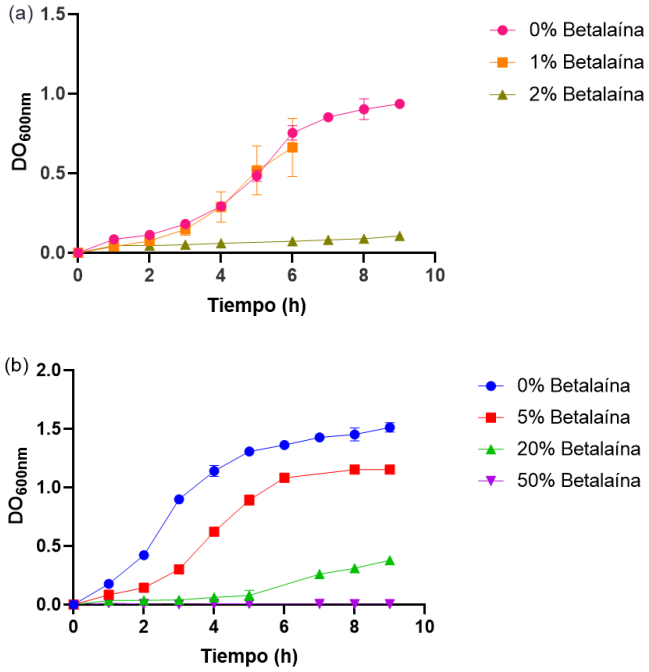


Figura 2. Cinéticas de crecimiento ante la presencia de betalaínas. *Listeria innocua (a)* y *Salmonella enterica* (b).

La velocidad de crecimiento específica (μ) muestra que la adición de 2% de betalaínas baja la μ significativamente ($p<0.5$) ante *Listeria innocua*. Para *Salmonella*, se encontró que la μ fue significativa para todos los tratamientos, sin embargo, la adición de 50% permitió una μ cercana a 0 (Figura 3)

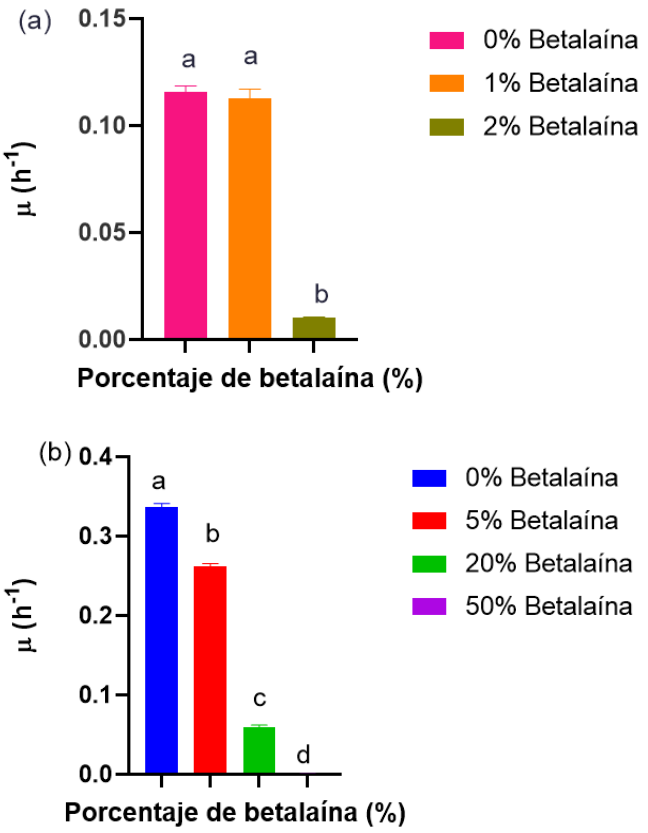


Figura 3. Velocidad específica de crecimiento de *Listeria innocua* (a) y *Salmonella enterica* (b).

Asimismo, se puede observar que el aumento en el tiempo de duplicación (TD) es directamente proporcional al incremento en la concentración de betalaínas. En *Listeria innocua*, la concentración de 2% de betalaína presentó el mayor TD (3.88±0.014 h), mientras que el TD del control y la concentración de 1% no presentaron diferencia significativa. *Salmonella enterica* presentó un TD de 1.4±0.11 h, con betalaína el TD aumentó, presentando valores de 2.03±0.086 h y 3.68±0.023 h para las concentraciones de 5 y 20% respectivamente. Las concentraciones de 5 y 20% mostraron inhibición, sin embargo, la concentración mínima bactericida (MBC) obtenida fue de 50%, con un TD de 27.18±0.014 h (Figura 4).

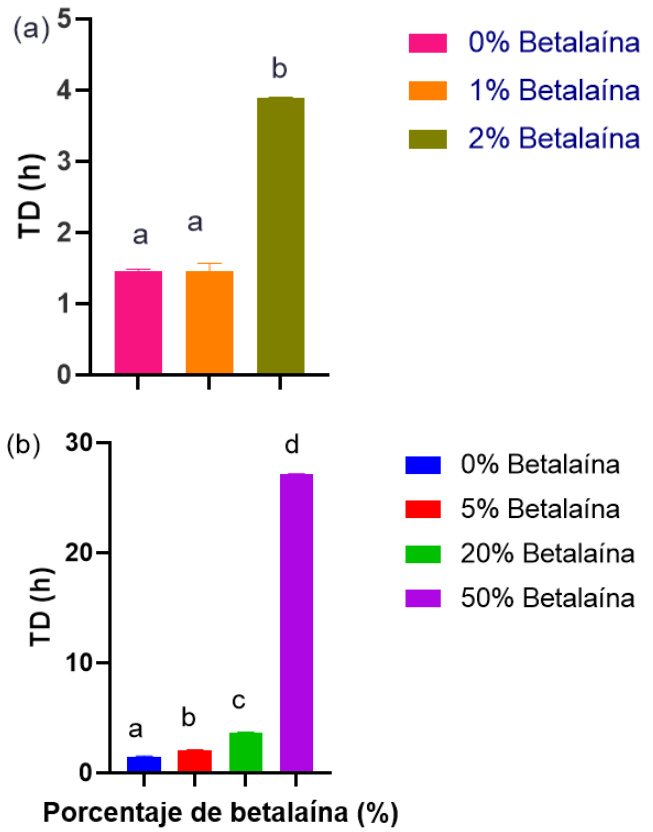


Figura 4. Tiempo de duplicación de *Listeria innocua* (a) y *Salmonella enterica* (b).

4. Discusión y conclusión

4.1. Cambio de color dependiente de pH

Como se mencionó anteriormente, las betalaínas presentaron un cambio de color ante los diferentes valores de pH (Figura 1), estos cambios son similares a los reportados por Calva-Estrada y col. (2022) quienes observaron que las betalaínas son estables en un pH de 3-7 presentando una tonalidad roja, cambiando a un color morado a pH 7 y color azul a pH de 8-9, y finalmente a pH alcalino se obtiene un color amarillo. Estos cambios se deben a los cambios estructurales de las betalaínas, ya que éstas se degradan por hidrólisis de los enlaces aldimina, produciendo ácido ferúlico con un grupo amino. Este cambio estructural se debe a que la betalaína posee en un extremo un grupo electro-donador y en el otro extremo un grupo electro-aceptor, lo que genera una transferencia electrónica intramolecular (Mancha y col., 2019). La capacidad de la betalaína para virar de color a diferentes pH, la convierte en una alternativa viable para el monitoreo de la calidad de los alimentos. El cambio de pH es un indicador de la degradación de los alimentos, generado principalmente por la actividad de microorganismos, afectando a su vez las propiedades sensoriales de los alimentos, generando compuestos nitrogenados volátiles (Ziyaina y col., 2018; Lorenzo y col., 2018).

La adición de betalaínas en empaques podría ayudar al monitoreo del pH de los alimentos y de esta manera identificar el estado de la comida. La coloración en el empaque por efecto del pH ayudará al consumidor evaluar la calidad del alimento sin tener que percibir cambios sensoriales como agriado, producción de limo y formación de gases.

4.2. Actividad antimicrobiana

Los resultados obtenidos muestran que la betalaína posee actividad antimicrobiana ante *Salmonella enterica* y *Listeria innocua.* Las betalaínas mostraron mayor inhibición ante *Listeria* (2% betalaína), mientras que *Salmonella* requirió una mayor concentración de éstas para lograr inhibición (50%).

La velocidad específica de crecimiento obtenida fue inversamente proporcional a la concentración de betalaínas, es decir, a mayor concentración menor velocidad específica de crecimiento. La velocidad específica de crecimiento obtenida para *Listeria innocua* disminuyó 11.4 veces en presencia de betalaína 2% en comparación a *Listeria innocua* sin betalaína. *Salmonella enterica* presentó una velocidad específica casi nula con una concentración de betalaína al 50%. El tiempo de duplicación obtenido para ambos microorganismos aumentó al incrementar la concentración de betalaína. El TD de Listeria innocua aumentó 2.6 veces utilizando una concentración de 2%, mientras que el TD de *Salmonella* aumentó 19 veces con la concentración de 50 %.

Los resultados indican que las betalaínas permiten inhibir al crecimiento de *Listeria innocua* y *Salmonella enterica. Listeria innocua* presentó una mayor susceptibilidad a la betalaína. Esto se puede deber a la diferencia estructural entre Gram negativas y positivas. *Salmonella*, como Gram negativa,

presenta una membrana externa que le confiere resistencia a antibióticos y antimicrobianos (Breijyeh y col., 2020). Este resultado fue reportado por Khorshidian y col., (2022) usando lisozima como agente antimicrobiano, obteniendo que ésta sí actúa ante Gram positivas, pero no ante negativas, debido a que la membrana externa actúa como barrera que limita el acceso. De manera similar, Čanadanović-Brunet et al. (2021) lograron inhibir mediante un extracto de betabel a Gram positivas y Gram negativas. Esto lo atribuyeron a los compuestos fenólicos, encargados de aumentar la permeabilidad de la membrana citoplasmática causando una disminución de los niveles de ATP y pérdida de la fuerza motriz del protón, lo que se traduce a muerte celular. Además, obtuvieron que la MIC fue menor para las Gram positivas (0.75 y 0.5 mg/mL para *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus* respectivamente) en comparación a las Gram negativas (1.5 y 4.5 mg/mL para *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*) debido a la membrana exterior que le confiere resistencia.

Gong y col. (2022) estudiaron la actividad de un extracto comercial de betabel ante *Listeria monocytogenes* y describieron que la muerte celular es causada por "muerte similar a la apoptosis" o ALD por sus siglas en inglés (apoptosis-like death) inducida por daño severo en el ADN, exposición a ambientes estresantes, estrés oxidativo y tratamiento farmacológico. Encontraron que *Listeria* tratada con el extracto disminuyó el niel intracelular de ATP debido al agotamiento y fuga de ATP intracelular. En condiciones normales, el potencial de membrana se mantiene, mientras que, en apoptosis, el potencial se interrumpe, dando como resultado la despolarización de la membrana. El betabel, como agente antimicrobiano causa una despolarización.

A partir de esto, podemos deducir que la actividad antimicrobiana de la solución de betalaínas radica en la depleción de ATP por despolarización de la membrana, así como un aumento en su permeabilidad. A pesar de que las Gram negativas son menos susceptibles ante las betalaínas, se pudo inhibir a *Salmonella enterica*, decrementando su velocidad específica de crecimiento significativamente y aumentando su tiempo de duplicación, lo que se traduce en que tomará más tiempo para que una bacteria pueda duplicarse, por lo tanto, se tendrá una menor carga microbiana al usar betabel como agente antimicrobiano.

Las betalaínas son efectivas para actuar como indicador de pH, cambiando de rosa a morado y amarillo en condiciones alcalinas. Por otra parte, se encontró que la solución de betalaínas tiene actividad ante *Listeria innocua* y *Salmonella enterica*, por lo cual podríamos deducir que tiene actividad ante Gram positivas y Gram negativas (aunque futuros estudios son necesarios para confirmar).

La solución de betalaínas se podría incorporar a películas comestibles, pudiendo producir una película inteligente, por su capacidad de monitoreo de pH, y con características de película activa, por su capacidad de inhibición de microorganismos. Ya que se probó que las betalaínas actúan como indicador de pH y agente antimicrobiano, se podría tomar ventaja de esto, y al momento de incorporarlas en una película inteligente, en lugar de costear para un agente antimicrobiano como aceites esenciales e indicador de pH, se podría omitir la adición de un agente antimicrobiano extra ya que las betalaínas cumplen con dicha función, permitiendo reducir los costos finales si dicha película se llegara a producir o comercializar.

5. Referencias

Breijyeh, Z., Jubeh, B., & Karaman, R. (2020). Resistance of Gram-Negative Bacteria to Current Antibacterial Agents and Approaches to Resolve It. Molecules (Basel, Switzerland), 25(6), 1340. https://doi.org/10.3390/molecules25061340

Calva-Estrada, S. J., Jiménez-Fernández, M., & Lugo-Cervantes, E. (2022). Betalains and their applications in food: The current state of processing, stability and future opportunities in the industry. Food Chemistry: Molecular Sciences, 4, 100089.

Čanadanović-Brunet, J. M., Savatović, S. S., Ćetković, G. S., Vulić, J. J., Djilas, S. M., Markov, S. L., & Cvetković, D. D. (2011). Antioxidant and antimicrobial activities of beet root pomace extracts. Czech Journal of Food Sciences, 29(6), 575-585.

Chhikara, N., Kushwaha, K., Sharma, P., Gat, Y., & Panghal, A. (2019). Bioactive compounds of beetroot and utilization in food processing industry: A critical review. Food chemistry, 272, 192-200.

Gong, S., Jiao, C., & Guo, L. (2022). Antibacterial mechanism of beetroot (Beta vulgaris) extract against Listeria monocytogenes through apoptosis-like death and its application in cooked pork. LWT, 165, 113711.

Halwani, A. F., Sindi, H. A., & Jambi, H. A. (2018). Characterization of physical properties of red beet pigments. Journal of Biochemical Technology, 9(2), 16.

Khorshidian, N., Khanniri, E., Koushki, M. R., Sohrabvandi, S., & Yousefi, M. (2022). An overview of antimicrobial activity of lysozyme and its functionality in cheese. Frontiers in Nutrition, 325.

Lorenzo, J. M., Munekata, P. E., Dominguez, R., Pateiro, M., Saraiva, J. A., & Franco, D. (2018). Main groups of microorganisms of relevance for food safety and stability: general aspects and overall description. In Innovative technologies for food preservation (pp. 53-107). Academic Press.

Mancha, M. A. F., Monterrubio, A. L. R., Vega, R. S., & Martínez, A. C. (2019). Estructura y estabilidad de las betalaínas. Interciencia, 44(6), 318-325.

Mataragas, M., Bikouli, V. C., Korre, M., Sterioti, A., & Skandamis, P. N. (2019). Development of a microbial Time Temperature Indicator for monitoring the shelf life of meat. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 52, 89-99.

Pérez, S. (2016). Informe científico de Beca de Perfeccionamiento: Pérez, Silvina (2015-2016).

Ziyaina, M., Govindan, B. N., Rasco, B., Coffey, T., & Sablani, S. S. (2018). Monitoring shelf life of pasteurized whole milk under refrigerated storage conditions: Predictive models for quality loss. Journal of food science, 83(2), 409-418.

Nest-site characteristics, diet, and activity patterns of *Sciurus oculatus* in a mixed forest

José Pablo Torres Campos
Arkansas State University, Campus Querétaro
Carretera Estatal 100, Km. 17.5, Colón en Querétaro, México
jose.torres@smail.astate.edu

Ximena Zamora Prieto
Arkansas State University, Campus Querétaro
Carretera Estatal 100, Km. 17.5, Colón en Querétaro, México
ximena.zamorapr@smail.astate.edu

Diego Emilio Aznar Cruz
Arkansas State University, Campus Querétaro
Carretera Estatal 100, Km. 17.5, Colón en Querétaro, México
diegoemi.aznarcru@smail.astate.edu

Dr. Nicolás Ramos-Lara
Arkansas State University, Campus Querétaro
Carretera Estatal 100, Km. 17.5, Colón en Querétaro, México
nramoslara@astate.edu

Abstract — The Peters's squirrel (*Sciurus oculatus*) is a poorly studied species of tree squirrel inhabiting oak-pine forests along the Trans-Mexican neovolcanic belt. There is a severe lack of information about the ecology, diet, and behavior of this squirrel species. We examined nest-site characteristics, diet, and activity patterns of *S. oculatus* in an oak-pine forest in Querétaro. Squirrels nested mostly on top of the tree canopy, nesting similarly in oak and pine trees, and diet consisted primarily of pine seeds. Arboreal traverse was the most common behavior observed in *S. oculatus* during the study, with mating chases observed in May. Our findings provide a baseline of information for further studies involving *S. oculatus* as well as conservation efforts for this endemic species and other arboreal species in neotropical forests.

Resumen — La ardilla de Peter (*Sciurus oculatus*) es una especie de ardilla arborícola poco estudiada que habita los bosques de pino-encino a lo largo del Eje Neovolcánico. Existe una severa falta de información acerca de la ecología, dieta, y comportamiento de esta especie de ardilla. Se examinaron las características de anidación, dieta, y patrones de actividad de *S. oculatus* en un bosque de pino-encino ubicado en Querétaro. Las ardillas anidaron principalmente en el dosel arbóreo, anidando equitativamente en pinos y encinos, y su dieta consistió principalmente de semillas de pino. El comportamiento más observado en *S. oculatus* fue desplazamiento arbóreo. En mayo se observaron persecuciones de apareamiento. Estos resultados brindan una base de información para estudios futuros que involucren a *S. oculatus* así como planes de conservación para esta especie y otras ardillas neotropicales.

Keywords — Nests, endemic species, *Sciurus oculatus*, behavior.

Palabras Clave — Nidos, especie endémica, *Sciurus oculatus*, comportamiento.

I. INTRODUCTION

Activity patterns are an effective tool for understanding the ecology of an organism, including its foraging strategies, adaptations, and physiological responses to the environment [1,2] Studying the activity patterns of tree-dwelling mammals is beneficial for understanding their behavior. However, this information is commonly sampled using animals in captivity or laboratory conditions, since sampling is easier [3]. The study of tree squirrel behavior is seldom practiced, especially in more elusive and less charismatic species, which makes them more vulnerable to anthropogenic threats [4,5].

The Peters's squirrel (*Sciurus oculatus*) is an arboreal squirrel endemic to Mexico [9]. Although studies assessing their exact geographic range are scarce, the species is estimated to be distributed along the Trans-Mexican neovolcanic belt [7,8], inhabiting mainly pine (*Pinus*) and oak (*Quercus*) forests at elevations ranging 1,500 and 3,600 m [9]. Although listed as *Least Concern* by the International Union for Conservation of Nature (IUCN) [10], the species is federally listed in Mexico as *subject to special protection* [11].

Due to the benefits that nests provide, nest site selection is a crucial behavior of arboreal squirrels that has a direct impact on their survival and reproduction [7]. Furthermore, nests and nest sites affect the density and reproduction of a variety of mammals and are a critical resource for conservation [12,13,14,15,16]. Although the nesting behavior of *S. oculatus* has been poorly studied, other arboreal squirrel species commonly use either tree cavities or leaf nests (dreys). Dreys are woven structures constructed in the branches or forks of a variety of trees. These nests may be lined with grass, moss, and

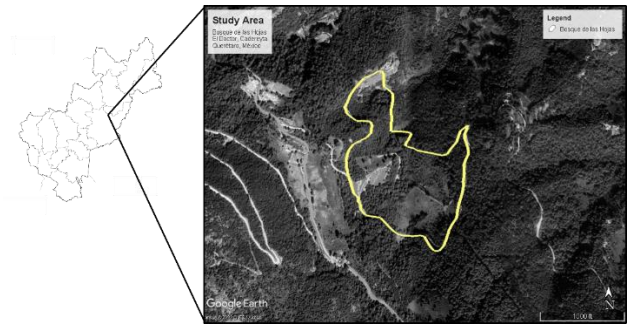
fur [17]. Arboreal squirrels are good indicators of forest condition. This is because they depend directly on the quality of trees to provide food, nest sites, and launch sites [7,18]. Furthermore, practically nothing is known about the ecology, diet, and behavior of *S. oculatus* [4,7]. Thus, more information regarding this species is needed to construct conservation plans of both *S. oculatus* and the forest ecosystems that they occupy.

Due to the preference for nest stability, the negative effect of wind on nest structure, and the risk of predation from ground and aerial predators, we predicted that nests would be located close to the tree trunk, opposite to the wind's direction, and located in the lowest section of the tree canopy. And due to the benefit of greater food availability and protection from the environment, we also predicted that nests would be located mostly on oak (*Quercus*) trees, with a higher number of interlocked trees, with greater basal diameters, and with a higher canopy cover average. Similarly, we predicted that tree squirrels would be more active during the morning and evening before dark due to the lower temperature and higher moisture values at this time of day. And since our study was conducted during the dry season, we predicted that *S. oculatus* would spend most of the time foraging, feeding mainly on pine (*Pinus*) seeds.

II. MATERIALS AND METHODS

Study area—The study was conducted in *Bosque de las Hojas* (20°51N, 99°35W; elevation 2,616 m), a private oak-pine forest located near the town of El Doctor, in the state of Querétaro, México. The highest temperatures in the study area occur during the summer, and highest precipitations range from June to October. From April to July 2022, we searched for leaf nests, tree squirrels, and feeding signs while walking quietly along trails (Fig. 1). Observations of nests and tree squirrels were performed using binoculars (Celestron Outland X). We only considered nests in relatively good condition (i.e., shape, structural integrity) to maximize the probability that they were actively used by squirrels [7,19].

When a nest was sighted, we recorded the date and the coordinates of the nest tree (UTM format), as well as the condition of the tree (live or dead). For each tree, we measured height in meters using an electronic clinometer (Haglöf). We measured basal diameter and distance to nearest tree using a DBH measuring tape. We measured canopy cover for each nest tree using a GRS densitometer in all cardinal directions. We counted the number of interlocked



Fig, 1. Location of the study area in Querétaro, México.

trees by considering direct connections of branches with the nest tree. For each nest, we measured its height, aspect, support (branch or fork), position relative to the tree canopy (crown, top, middle, or bottom), distance to trunk, materials (oak branches, pine needles, etc.), and condition (fresh or dry).

When a squirrel was sighted, we recorded the date, coordinates (UTM format), time, temperature and moisture using a hygrometer, weather, and the tree species where the squirrel was first located. We also recorded height of first sighting, place of first sighting (tree, ground, rock, etc.), and the diet (if eating). While maintaining a distance of at least 10 m, we performed a behavioral observation of the tree squirrel. Behaviors were recorded for 10 min and we didn't return to the site of first sighting for two hours after observation to avoid observing the same squirrel.

Statistical analysis—We used circular analyses for nest aspect and tree squirrel activity. We used chi-square tests for the genus of nesting trees and the position of nests on the tree canopy.

III. RESULTS

Nests—We measured a total of 17 nests, of which 70.6% were dry and 29.4% fresh. We found that most nests were built in tree branches (64.7%) whereas

forks (35.3%) were scarcely used (X^2 = 0.752, *df* = 1, *P* = 0.386). Nests were placed on average at 13.36 m (± 5.57 *SD;* range = 4.5-26 m) above the ground. Nests were placed mostly at the top (76.4%) of the tree canopy, with 11.8% at the middle, and 11.8% at the bottom (X^2 = 6.354, *df* = 2, *P* = 0.041). On average, nests were found at 3.44 m (± 2.02 *SD;* range = 0-5.6 m) from the tree trunk. Nests were not oriented in any particular direction (Rayleigh, *R* = 0.351, *P* = 0.122).

Nest trees—We measured a total of 17 nest trees, of which 47.05% belonged to *Quercus* and 52.95% to *Pinus* (X^2 = 0.029, *df* = 1, *P* = 0.864; Fig. 2). Tree species mostly used by *S. oculatus* for nesting were *P. pseudostrobus* and *Q. laurina* (Fig. 2). On average, nest tree height was 16.86 m (± 5.84 *SD;* range = 10-33.1 m). The average basal diameter of nest trees was 51.52 cm (± 15.22 *SD;* range = 31.3-81 cm), and the average canopy cover was 74.68% (± 15.25 *SD;* range = 45-96.25 %). We found that nest trees were

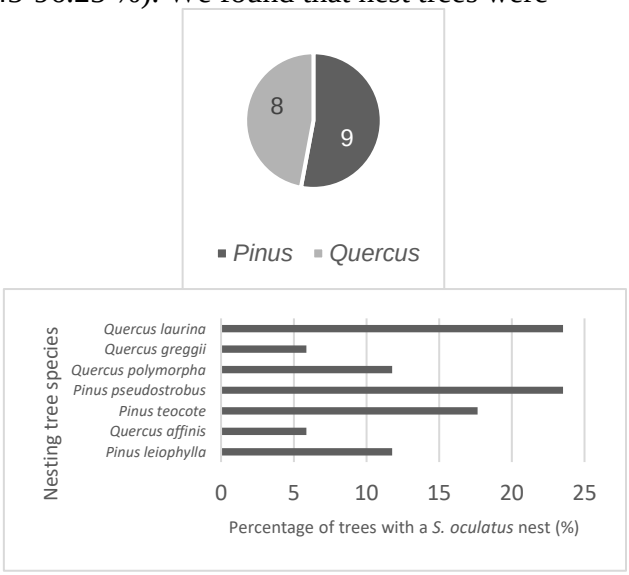


Fig. 2. Genus and species of nesting trees used by *S. oculatus.*

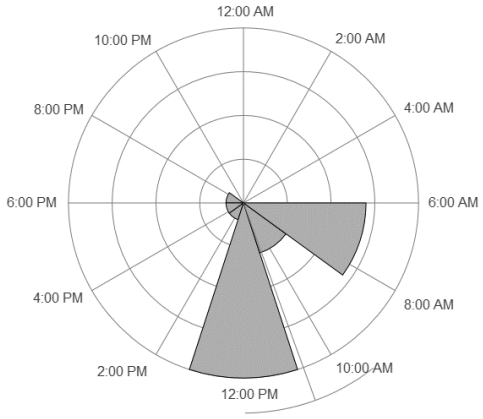


Fig. 3. Activity pattern of *S. oculatus.*

connected to an average of 6.53 (± 2.63 *SD;* range = 3-11) other trees, with an average distance to the nearest tree of 5.78 m (± 14.14 *SD;* range = 0.45-60 m). We found no evidence of *S. oculatus* nesting on dead trees.

Diet—We found feeding signs on 7 occasions. In April, we observed that squirrels fed mostly on pine seeds and pine strobili. In May, squirrels were feeding on pine seeds and apples (*Malus domestica*). In June and July, squirrels still fed on pine seeds, apples, mushrooms, and seeds from *Cupressus sp*. In July, we also observed the first production of acorns by oak trees (*Q. mexicana*, *Q. crassipes*) within the study area.

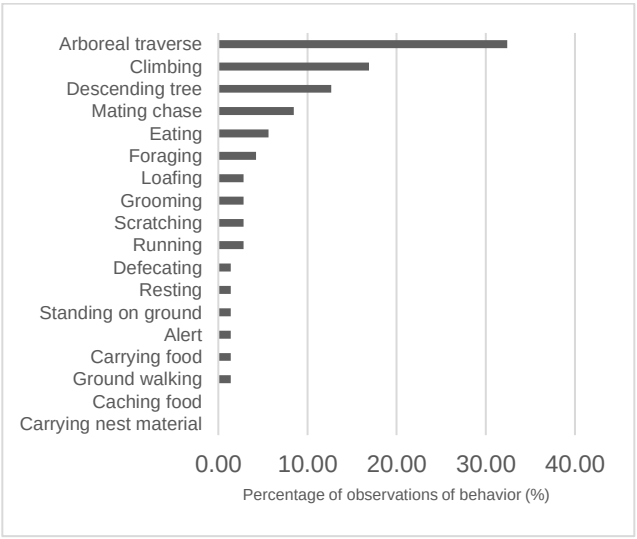


Fig. 4. Behavior of *S. oculatus.*

Activity patterns—We sighted a total of 23 squirrels. Squirrels were active mostly in the morning

hours (Rayleigh, $R = 0.725$; $P < 0.0001$; Fig. 3). Squirrels were mostly sighted on
tree branches (47.83%, $n = 11$), with the least common sighting places being the tree canopy (26.09%, $n = 6$), the ground (13.04%, $n = 3$) and tree trunks (13.04%, $n = 3$). Most sighted tree squirrels displayed a gray coloration, with only 2 individuals having melanistic fur pigmentation (8.70%). The most common behavior observed in *S. oculatus* was arboreal traverse with 23 occurrences (Fig. 4). Mating chases were observed on May 22, 2022, with males displaying scrotal testes and chasing females along the canopy.

IV. DISCUSSION

Contrary to our predictions, nests were not found close to the tree trunk, opposite to the wind's direction, or in the lowest section of the tree canopy. *S. oculatus* showed no preference regarding the orientation of the nest. Furthermore, nests were found in the highest section of the tree canopy, suggesting that this particular forest might have a greater degree of ground predators rather than aerial, or that due to the density of the canopy cover, *S. oculatus* prefers sunlight availability while risking a higher chance of predation from aerial predators. Furthermore, nesting higher in the tree canopy could lead to more food access, which has been observed with other species, like the fox squirrel (*Sciurus niger*) [21,22,23,24]. *S. oculatus* showed no preference between trees belonging to the genus *Quercus* or *Pinus*, which might be due to the resources that each tree species provides. Oak trees *(Quercus)* often provide more nesting material while being less preferable for food, since acorns are not produced year-round. Conversely, pine trees provide more food but nesting material of a lesser quality, since more pine needles are needed to build a nest in comparison to oak leaves [7,25]. Our prediction on nest trees with more interlocked trees, more basal diameter, and more canopy cover was supported. *S. oculatus* may benefit from trees with higher connectivity with other trees since they provide routes of transport without the need of descending to the ground where predators are plenty [25]. A higher canopy cover for nest trees suggests more protection from abiotic factors like wind and rain, which is beneficial for nest maintenance and stability. And a greater basal diameter is directly related with the resistance a tree may have to wind, as well as to the age of the tree and the amount of food it provides for the tree squirrel [7,25,26].

Arboreal traverse was the most common behavior observed, which supports our prediction of *S. oculatus* spending most of their time foraging for food during dry seasons. Arboreal traverse is directly related to tree squirrels actively seeking food, which has been reported before in other studies of *S. oculatus* [7]. Though our data collection on diet was limited, our results on the diet composition of *S. oculatus* suggests that (at least during the dry season) most of their diet is composed of pinecone seeds, which confirms our prediction and is in accordance with other studies [7,9]. Having also found feeding signs of acorns towards the end of the dry season suggests that *S. oculatus* could shift to this food during the rainy season, which would be in line with studies of *S. aureogaster* in Michoacán, a species that is commonly found in sympatry with *S. oculatus* [27]. Further studies are still needed to discern the diet composition of this species, particularly due to warmer temperatures caused by climate change.

Our prediction regarding *S. oculatus* being more active during morning and evening hours was partially supported. *S. oculatus* seems to prefer morning hours, while being less active during the afternoon before dusk. This behavior is consistent with *S. oculatus* populations occurring in sympatry with *S. aureogaster* [7]. And although our study population of *S. oculatus* is not sympatric with other species of tree squirrels, diurnal activity may still be beneficial due to lower temperatures and higher moisture values, which might reduce dehydration.

V. CONCLUSIONS

There is a significant lack of studies addressing the ecology of neotropical tree squirrels, and *S. oculatus* is among the least studied species in this group [4]. Research on these squirrels is imperative for the formation of conservation strategies and wildlife management efforts. Our results suggest that *S.*

oculatus is mainly active in the morning with no preference for nest tree species, commonly nesting on top of the tree canopy, and mainly feeds on pine seeds. This study seeks to contribute with more information on the ecology of this poorly studied endemic species. Nonetheless, more studies are still needed to generate sound plans for the conservation of this species and other arboreal squirrels in neotropical forests.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the Trejo family for enabling a study site for our work, as well as providing food and hospitality during field research. We also thank Ximena Zamora Prieto and Diego Emilio Aznar Cruz for aid during field visits and data collection. Finally, we thank Arkansas State University, Campus Querétaro, for providing free access to scientific literature.

REFERENCES

[1] Zhang, J., Hull, V., Ouyang, Z., He, L., Connor, T., Yang, H., Huang, J., Zhou, S., Zhang, Z., Zhou, C., Zhang, H., & Liu, J. (2017). Modeling activity patterns of wildlife using time-series analysis. *Ecology and Evolution*, *7*(8), 2575–2584. https://doi.org/10.1002/ece3.2873

[2] Aschoff, J. (1966). Circadian Activity Pattern with Two Peaks. Ecology, 47(4), 657–662. https://doi.org/10.2307/1933949

[3] Astiazarán Azcarraga, A., Gallina Tessaro, S., & Delfin-Alfonso, C. A. (2020). Activity patterns of arboreal mammals in a tropical rain forest in México. Therya, 11(2), 225–231. https://doi.org/10.12933/therya-20-779

[4] Ramos-Lara, N., & Koprowski, J. L. (2014). Deforestation and knowledge gaps threaten conservation of less charismatic species: status of the arboreal squirrels of Mexico. Mammalia, 78(4). https://doi.org/10.1515/mammalia-2013-0115

[5] Garnett, S., Crowley, G., & Balmford, A. (2003). The costs and effectiveness of funding the conservation of australian threatened birds. Bioscience, 53(7), 658. doi:https://doi.org/10.1641/0006-3568(2003)053[0658:TCAEOF]2.0.CO;2

[6] Barua, M., Root-Bernstein, M., Ladle, R. J., & Jepson, P. (2011). Defining Flagship Uses is Critical for Flagship Selection: A Critique of the IUCN Climate Change Flagship Fleet. AMBIO, 40(4), 431–435. https://doi.org/10.1007/s13280-010-0116-2

[7] Ramos-Lara, N., & López-González, C. A. (2017). Niche segregation between Sciurus aureogaster and S. oculatus in a disturbed forest in central Mexico. Journal of Mammalogy, 98(6). https://doi.org/10.1093/jmammal/gyx136

[8] Thorington, R., & Hoffmann, R. Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference (3rd edition). (2006). Reference Reviews, 20(5), 754–818. https://doi.org/10.1108/09504120610673024

[9] Best, T. L. 1995. Sciurus oculatus. Mammalian Species 498:1–3.

[10] Álvarez-Castañeda, S.T., Castro-Arellano, I., Lacher, T. & Vázquez, E. 2016. *Sciurus oculatus*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2016: e.T20017A22246721. https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-2.RLTS.T20017A22246721.en

[11] NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. (2010). Diario Oficial de La Federación. https://dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5173091

[12] Cudworth, N. L., & Koprowski, J. L. (2011). Importance of scale in nest-site selection by arizona gray squirrels. Journal of Wildlife Management, 75(7), 1668-1674. Retrieved from https://ezproxy.library.astate.edu/login?qurl=https%3A%2F%2Fwww.proquest.com%2Fscholarly-journals%2Fimportance-scale-nest-site-selection-arizona-gray%2Fdocview%2F919424985%2Fse-2%3Faccountid%3D8363

[13] Doncaster, C. P., & Woodroffe, R. (1993). Den Site Can Determine Shape and Size of Badger Territories: Implications for Group-Living. Oikos, 66(1). https://doi.org/10.2307/3545199

[14] Carey, A. B., Wilson, T. M., Maguire, C. C., & Biswell, B. L. (1997). Dens of Northern Flying Squirrels in the Pacific Northwest. The Journal of Wildlife Management, 61(3). https://doi.org/10.2307/3802176

[15] Magoun, A. J., & Copeland, J. P. (1998). Characteristics of Wolverine Reproductive Den Sites. The Journal of Wildlife Management, 62(4). https://doi.org/10.2307/3801996

[16] Smith, G. C., Mathieson, M., & Hogan, L. (2007). Home range and habitat use of a low-density population of greater gliders, Petauroides volans (Pseudocheiridae: Marsupialia), in a hollow-limiting environment. Wildlife Research, 34(6). https://doi.org/10.1071/wr06063

[17] Gurnell, J. (1987). The Natural History of Squirrels (1st ed.). Christopher Helm Publishers Ltd.

[18] Koprowski, J. L., and R. Nandini. 2008. Global hotspots and knowledge gaps for tree and flying squirrels. Current Science 95:851–856

[19] Palmer, G. H., J. L. Koprowski, and A. J. Pernas. 2013. Nest tree and site selection of an introduced population of red-bellied squirrels (Sciurus aureogaster). Journal of Mammalogy 94:1274–1281.

[20] Gómez-Sánchez, M. and Meraz-Pérez, B. 2016. Encinos (Fagaceae: Quercus): Su panorama en Querétaro. In: Historia Natural de Querétaro (Jones, R. W. and Serrano-Cárdenas, V, eds.). Pp. 178-195. Universidad Autónoma de Querétaro.

[21] Sovie, A. R., Greene, D. U., & McCleery, R. A. (2020). Woody Cover Mediates Fox and Gray Squirrel Interactions. Frontiers in Ecology and Evolution, 8. https://doi.org/10.3389/fevo.2020.00239

[22] Caswell, H. (1978). Predator-mediated coexistence: a nonequilibrium model. Am. Nat. 112, 127–154. doi: 10.1086/283257

[23] Van Der Merwe, M., Brown, J. S., and Jackson, W. M. (2005). The coexistence of fox (Sciurus niger) and gray (S. caroliniensis) squirrels in the Chicago metropolitan area. Urban Ecosyst. 8:335. doi: 10.1007/s11252-005-4865-9

[24] Potash, A. D., Conner, L. M., and McCleery, R. A. (2019). Vertical and horizontal vegetation cover synergistically shape prey behaviour. Anim. Behav. 152, 39–44.

[25] Riege, D. A. 1991. Habitat specialization and social factors in distribution of red and gray squirrels. Journal of Mammalogy 72:152–162.

[26] Edelman, A. J., and J. L. Koprowski. 2005. Diet and tree use of Abert's squirrels (Sciurus aberti) in a mixed-conifer forest. Southwestern Naturalist 50:461–465.

[27] Ramos-Lara, N., & Cervantes, F. A. (2011). Ecology of the Mexican Red-Bellied Squirrel (Sciurus aureogaster) in Michoacán, Mexico. The Southwestern Naturalist, 56(3), 400–403. https://doi.org/10.1894/n02-rts-11.1

Peludos en aprietos: clima, genes y enfermedades

Verónica Torres-Solórzano[1]; Karina Acevedo-Whitehouse[1]

[1] Laboratorio de Plasticidad Inmune y Fisiología de la Conservación, Unidad de Microbiología Básica y Aplicada, Universidad Autónoma de Querétaro, México. torressol.v@gmail.com

Resumen

La capacidad del sistema inmune para reconocer antígenos depende de características del hospedero y de condiciones externas. Este trabajo exploró la relación entre inmunidad, clima y susceptibilidad a patógenos. Se usó como modelo de estudio al lobo marino de California (LMC), quien habita la costa del Pacífico nororiental, donde se han registrado anomalías climáticas que limitan la disponibilidad de alimentos y la supervivencia. Hipotetizamos que la diversidad de los genes MHC-DRB, claves para la presentación de antígenos, varía de acuerdo a la temperatura superficial del mar, y esto, a su vez, cambia la susceptibilidad a patógenos, de forma diferencial entre sexos, al ser una especie dimórfica. Se cuantificó la diversidad del MHC-DRB en 165 cachorros de LMC nacidas en Benito del Oeste (2014-2019). Se determinó la presencia de *Streptococcus* beta hemolítico y de Herpesvirus Otarino 1. Se registró la anomalía en la temperatura superficial del mar (ATSM) anual. Se construyeron modelos generalizados lineales para desafiar las hipótesis planteadas. La diversidad del MHC-DRB de las crías fue menor al incrementar la ATSM, sugiriendo que en esas condiciones ambientales los adultos con mayor variabilidad genética fueron desplazados por individuos con menor diversidad. La presencia de los patógenos fue influenciada por la diversidad MHC-DRB, y por la presencia de genes específicos, de forma diferente entre sexos, lo que sugiere que el dimorfismo sexual inmune es evidente incluso en crías. Nuestro estudio muestra el impacto del clima en la conformación del MHC y su importancia en la susceptibilidad a patógenos.

Palabras clave: Dimorfismo sexual inmune, anomalia climática, MHC-DRB, Lobo marino de California, patógenos

Summary

The ability of the immune system to recognize antigens depends on traits of the host and external conditions. This work explored the relationship between immunity, climate and susceptibility to pathogens. The California sea lion (LMC), which inhabits the northeastern Pacific coast, where climatic anomalies, that limit food availability and survival, have been reported was used as a study model. We hypothesize that the diversity of MHC-DRB genes, key for antigen presentation, varies according to sea surface temperature, and this, in turn, influences susceptibility to pathogens, differentially between sexes, given the species' Sexual dimorphism. The diversity of the MHC-DRB was quantified in 165 CML pups born in Benito del Oeste (2014-2019). The presence of beta hemolytic streptococci and Otarine Herpesvirus 1 was determined. The annual sea surface temperature anomaly (ATSM) was recorded. Generalized linear models were built to challenge the hypotheses. The diversity of the MHC-DRB of the pups was lower with increasing ATSM, suggesting that in these environmental conditions adult males with greater genetic variability were displaced by individuals with lower diversity. The presence of pathogens was influenced by MHC-DRB diversity, and by the presence of specific genes, differently between sexes, suggesting that immune sexual dimorphism is evident even in pups. Our study shows the impact of climate on the conformation of the MHC and its importance in susceptibility to pathogens.

Key words: Immune sexual dimorphism, climate anomaly, MHC-DRB, California sea lion, pathogens

Introducción

El lobo marino de California (*Zalophus californiannus*) es una especie pinnípeda sexualmente dimórfica que en términos tróficos es un depredador tope en el ecosistema marino costero, por lo que es considerado un indicador de la salud ecosistémica (CONANP, 2013). También es considerada una especie centinela (Schwacke *et al.* 2013), pues, a través de varios parámetros fisiológicos puede servir como indicador de riesgos ambientales al proporcionar alerta anticipada de una posible amenaza ambiental, como anomalías en la temperatura superficial del mar (ATSM). Las ATSM muestran la variación cálida o fría en la temperatura actual con respecto a la temperatura promedio a largo plazo (NOAA 2010). Debido a que los valores altos de una ATSM impactan la productividad primaria de la columna de agua, afectan a todos los niveles tróficos, incluyendo la alimentación del lobo marino de California (Elorriaga-Verplancken *et al*. 2016). Esto último tiene impactos a nivel fisiológico de las crías que nacen durante temporadas de alta ATSM (Banuet-Martínez *et al.* 2017).

El impacto fisiológico de una ATSM alta impacta en la disponibilidad de recursos disponibles para la lactancia de las crías. A la fecha no se ha estudiado si puede, además, influir en la expresión de genes bajo selección, como el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). El MHC es una familia de genes estrechamente ligados y altamente polimórficos, que presentan antígenos foráneos o endógenos alterados ante los linfocitos, y por eso, son esenciales en la activación de respuestas inmunes adaptativas (Janeway *et al.* 2001). Hay dos familias principales de genes del MHC, las de clase I, que son expresadas por todas las células nucleadas, y las de clase II, que expresan las células inmunes presentadoras de antígenos extracelulares e intracelulares. Normalmente el polimorfismo del MHC se basa en alelos, generados por variaciones nucleotídicas. En el lobo marino de California, el mecanismo de generación de polimorfismos del MHC es inusual, ya que se basa en la poligenia y solamente son polimórficos en la región DRB de los genes del MHC clase II (Bowen *et al.* 2004).

Un estudio piloto realizado en pocos animales nacidos durante un año de ATSM inusualmente alto mostró que había diferencias en la diversidad del MHC de animales nacidos ese año con respecto a años cálidos, y se especuló que esta baja variabilidad podría aumentar la susceptibilidad a enfermedades (Acevedo-Whitehouse, datos no publicados) y comprometer la salud, como se ha visto para la baja diversidad genética no codificante (Acevedo-Whitehouse *et al*. 2003). En el lobo marino de California se han detectado diversos patógenos con potencial de ocasionar enfermedad. Uno de ellos es de relevancia poblacional, el Herpesvirus Otarino 1 (OtHV-1), un virus con tropismo linfoepitelial que tiene potencial oncogénico y que se considera un factor de riesgo para el carcinoma urogenital que aqueja a esta especie (Gulland *et al.* 2020). Otro microorganismo con potencial patogénico con las bacterias *Streptococcus* beta hemolítico, que, aunque es oportunista, se ha asociado a septicemia y neumonía en diversas especies de mamíferos marinos, y en el lobo marino también está asociado al carcinoma urogenital (Gulland *et al*. 2020). En ese sentido, comprender la importancia de factores genéticos y ambientales para influir en la susceptibilidad a estos patógenos, es de alta relevancia.

A la fecha se desconoce si las anomalías climáticas pueden impactar la diversidad genética constitutiva y expresada del MHC-DRB del lobo marino de California, y si esto, a su vez, pudiera influir en relación la salud de crías hembras y machos. La posibilidad de diferencias entre sexos es importante de considerar ya que es una especie sexualmente dimórfica, y se especula que sus respuestas inmunes podrían diferir debido a las presiones impuestas por su historia de vida diferencial. Es por eso que esta tesis tiene como objetivo estudiar la relación de la conformación constitutiva y la diversidad expresada

del MHC-DRB de las crías de lobo marino de California nacidos entre 2014 y 2019, años caracterizados por diferentes valores de ATSM. Se investigará si la relación entre la diversidad constitutiva y expresada del MHC-DRB y las ATSM difiere entre sexos y si impacta la susceptibilidad a los dos patógenos de forma diferente.

Métodos

Se colectó por captura oportunista de acecho y contención manual a 165 cachorros nacidos durante el mes de julio entre los años 2014 y 2019, en la Isla San Benito del Oeste, archipiélago localizado en la costa del Pacífico nororiental de la Península de California. A cada individuo se le tomó una muestra de piel y otra de sangre de la aleta caudal para la posterior realización del análisis de la conformación y expresión del MHC-DRB. En campo, las muestras de piel se almacenaron en EtOH al 96% y las muestras de sangre fueron centrifugadas, se separó la capa flogística y esta se almacenó en RNAlater©. También, a partir de un hisopado genital almacenado en EtOH al 95%, se extrajo el ADN total y se detectó la presencia de *Streptococcus* beta hemolítico y OtHV-1 mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés).

Análisis de la conformación y expresión del MHC-DRB

A partir de muestras de piel, se extrajo el ADN total mediante el protocolo fenol:cloroformo:alcohol isoamílico, para la determinación de la conformación del MHC-DRB genómico. A partir de y para la capa leucocitaria se extrajo el ARN total con el protocolo para el Trizol (Invitrogen) y se transformó a ADNc con el kit de transcripción inversa QuantiTect (Qiagen). La amplificación de la región Zaca-DRB para ADN y ADNc siguió el mismo procedimiento, cada reacción de 12 ul contenía <1 ug de templete, uno de diez cebadores específicos de Zaca-DRB a 10 uM, Reverse Primer 10 uM, Buffer 10x, $MgCl_2$ 25nM, dNTPs, Taq DNA polimerasa y ddH_2O. La reacción se configuró con las siguientes condiciones: 3 min a 95 °C, 35 ciclos de 45 s a 94 °C, 30 s a 58 °C y 60 s a 72°, finalizando con un ciclo de extensión a 72° por 10 min. El amplicón resultante se cargó con TBE1x y Loading buffer 6x en un gel de agarosa al 1% con bromuro de etidio y se corrió a 100V por 35min. El gel se visualizó en un fotodocumentador. Se confirmó la presencia o ausencia de una banda de 250 pb para cada gen del MHC-DRB.

Registro de las anomalías climáticas

Se utilizó la información del Programa de Acceso a Datos de la División de Investigación Ambiental (ERDDAP, por sus siglas en inglés) de la Administración Nacional Oceánica y Atmosférica (NOAA, por sus siglas en inglés) y se seleccionó el título del conjunto de datos: SST, Daily Optimum Interpolation (OI), AVHRR Only, Version 2.1, Final, Global, 0.25°, 1981-present, Lon+/-180 para generar la base de datos para exportar. Dentro del conjunto de datos se definió un área de 100 km a la redonda del Archipiélago San Benito, que corresponde a las latitudes de: 27.875° y 28.875°, y longitudes de: -116.125° y -115.125°. Las ATSM se registraron para los meses de junio a julio.

Análisis estadístico

Se construyó una base de datos binaria con los datos de presencia o ausencia de los 10 genes (A-J) en la región DRB del MHC clase II y con los datos de la presencia o ausencia de los patógenos. La base se complementó con las ATSM durante junio y julio, así como del sexo de cada individuo.

Las hipótesis propuestas se analizaron mediante la construcción de modelos lineales generalizados (GLM, por sus siglas en inglés), definiendo la distribución de los residuales de acuerdo a la variable explicativa. La significancia de los modelos se determinó por un análisis de varianzas (ANOVA), para variables respuestas contínuas o por una prueba de Chi-cuadrada (χ^2) para variables respuestas binomiales o discretas. La significancia estadística se determinó en $P < 0.05$. Para el cálculo de la razón de momios (OR, por sus siglas en inglés) se empleó el

programa SISA y la prevalencia se calculó con las frecuencias de la presencia de un gen particular en las crías.

Resultados

Se encontró que cuando la ATSM era mayor (>1.20 °C con respecto al promedio histórico), menor era la diversidad constitutiva del MHC-DRB de las crías (Fig. 1). También se encontró evidencia de que aquellas crías con menor diversidad en la expresión del MHC-DRB tenían mayor probabilidad de una infección por OtHV-1 y *Streptoccocus* beta hemolítico (Fig.2).

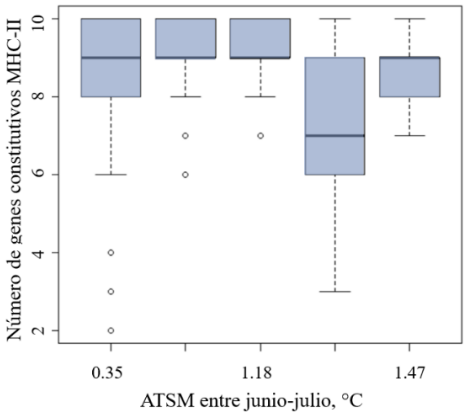


Figura 1. Número de genes constitutivos del MHC clase II en relación con las ATSM registradas durante junio-julio (Diversidad constitutiva: GLM; 361.56, Desv Res=, gl=159, p=0.02781).

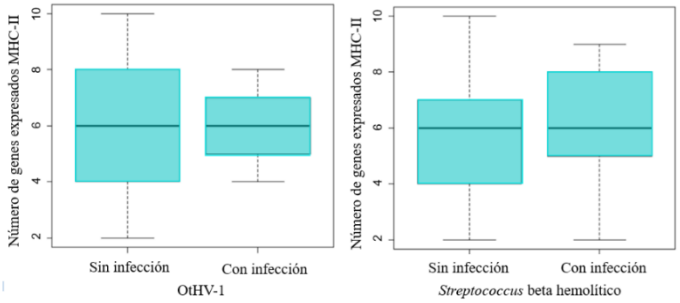


Figura 2. Número de genes expresados del MHC clase II en relación a la infección por OtHV-1 (izquierda) y *Streptococcus* beta hemolítico (derecha) (OtHV-1: GLM; Desv Res=119.22, gl=39, p=0.06621; *Streptococcus* beta hemolítico: GLM; Desv Res=131.28, gl=41, p=0.04067).

Al analizar la diversidad constitutiva y expresada de cada gen MHC-DRB de acuerdo a la presencia de cada patógeno, se encontraron asociaciones significativas (Cuadro 1). Al graficar las prevalencias de infección con respecto a la presencia o ausencia de los genes detectados en el modelo, se puede observar su importancia hacia la susceptibilidad de infección por cada patógeno (Fig. 3).

Cuadro 1. Resultados de los modelos generalizados lineares que investigaron la asociación entre la presencia genómica (C) de un gen del MHC-DRB y la expresión (E) de un gen MHC-DRB en crías hembras o machos y la presencia del gammaherpesvirus otárino (OtHV-1) y *Streptococcus* beta hemolítico (EBH). Se muestra el número de crías (n) que tienen y expresan el gen o que no lo tienen o expresan. Solo se presentan los resultados que fueron significativos en los modelos.

Sexo	Diversida MHC-DRB	Gen	Patógeno	N presente	N ausente	p	OR	Intervalo confianza 95%
H	C	G	EBH	25	10	0.017	11.111	1.092<11.111>113.061
	E	G	OtHV-1	4	0	0.032	1.846	1.278<1.846>2.667
M	C	B	OtHV-1	5	0	0.035	1.586	1.271<1.586>1.979

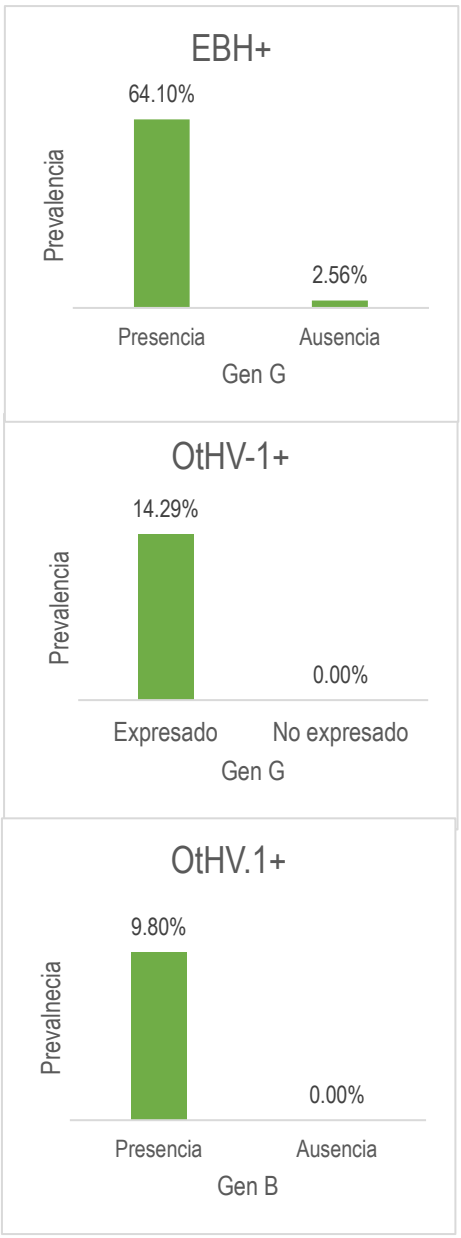


Figura 3. Porcentaje de prevalencia de un gen especifico en relación a la ocurrencia de la infección. Panel superior: Prevalencia del gen G constitutivo en crías hembras infectadas por *Streptococcus* beta hemolitico (EBH). Panel medio: Prevalencia de la expresión del gen G en crías hembras infectadas por gammaherpesvirus otárino (OtHV-1). Panel inferior: Prevalencia del gen B constitutivo en crías machos infectados por OtHV-1.

Discusión

El sistema inmune es indispensable para la supervivencia de un individuo, y, por ende, para asegurar la viabilidad de las poblaciones. Para activar las respuestas inmunes adaptativas luego de la infección por un parásito (Janeway *et al*. 2001), la presentación de antígenos por parte de las moléculas del MHC es clave para montar dicha respuesta adaptativa, que llevará a la expansión clonal de linfocitos B y T específicos contra los patógenos que tengan ese antígeno (Janeway *et al*. 2001). Sin embargo, la efectividad de esta y otras respuestas inmunes puede ser impactada por fenómenos climáticos (Altizer *et al.* 2013, Banuet-Martínez *et al.* 2017, Scharsack y Franke 2022). Nosotras investigamos si un fenómeno anormal como lo es el calentamiento de la temperatura superficial del agua, compromete la diversidad constitutiva y expresada del MHC en crías de una especie centinela del ambiente marino costero, y exploramos si puede impactar en la susceptibilidad a patógenos. Encontramos evidencia que cuando la ATSM era mayor, menor era la diversidad constitutiva del MHC-DRB de las crías. Esto podría deberse a que las condiciones climáticas atípicas afectan negativamente, durante su migración estacional desde Columbia Británica y el norte de los Estados Unidos (Gearin *et al.* 2017), la supervivencia de los machos adultos más exitosos, que son los que cada año regresan a las colonias reproductivas a aparearse con las hembras, mismas que permanecen en las colonias reproductivas todo el año (Melin *et al.* 2000). Si dadas las condiciones climáticas anormales no pueden completar su migración, entonces los machos adultos de menor calidad genética, que incluso pueden permanecer más cerca de las colonias reproductivas durante el año, y que normalmente no podrían competir con los machos de mejor calidad para reproducirse, ahora podrían hacerlo. Bajo la hipótesis de los buenos genes propuesta por Hamilton y Zuk (Hamilton y Zuk 1982), se esperaría que los machos exitosos tuvieran mayor diversidad de MHC para heredar a sus crías. A partir de los resultados obtenidos, proponemos que las ATSM afectan el establecimiento de los machos con mayor variabilidad genética lo que reduce la diversidad constitutiva de estos genes esenciales para el sistema inmune en las

crías nacidas esos años. Se sabe que una baja diversidad del MHC puede ser perjudicial para la viabilidad de las poblaciones (Kohn *et al.* 2006).

No todos los genes que se tienen, son expresados. Por eso, investigamos si la expresión del MHC-DRB en células sanguíneas de las crías de lobo marino de California impactaba en la susceptibilidad de infección por cada uno de los patógenos estudiados. Se observó que cuando hay infección de *Streptococcus* beta hemolítico, se reduce ligeramente la expresión de los genes del MHC, que cuando no hay infección, pero esto no se observó para OtHV-1. Esto sugiere dos escenarios posibles que no son mutuamente excluyentes: 1) los animales infectados tienen menos recursos bioenergéticos para destinar a la expresión, costosa, del MHC (Lochmiller y Deerenberg 2003), y 2) EBH cuenta con mecanismos para reducir la expresión del MHC, como estrategia de evasión inmune. Esto no se ha reportado para las infecciones de EBH en otras especies, aunque sí se ha reportado mecanismos de evasión de otros componentes del sistema inmune (Syed *et al.* 2020). También se encontró evidencia de asociaciones significativas entre la presencia constitutiva de genes del MHC y la susceptibilidad a patógenos, lo que concuerda con McClelland y colaboradores (2003). Proponemos que se está dando una combinación de eventos, evolutivos y fisiológicos, donde ciertos genes están siendo seleccionados en la población por la presión ejercida por los patógenos (Borghans *et al.* 2004), mientras que la expresión de genes particulares está siendo afectada por OtHV-1 y EBH para asegurar su establecimiento.

Las especies sexualmente dimórficas, como el LMC, pueden presentar, debido a sus historias de vida diferentes, variaciones en sus respuestas inmunes (Klein y Flanagan 2016) Por eso se investigó si los genes expresados del MHC-DRB en crías de lobo marino de California se asocian con la presencia de patógenos específicos en forma diferente entre sexos. Encontramos evidencia de genes constitutivos y expresados asociados a patógenos. Esto se relaciona con el trabajo previo de Matzaraki y colabores (2017), que reportó que la diversidad del MHC es un factor de riesgo para infecciones que pueden estar involucradas en enfermedades autoinmunes en mujeres. En este trabajo, la prevalencia constitutiva y expresada de genes se asoció con la ocurrencia de OtHV-1 y *Streptococcus* beta hemolítico en hembras, no así en machos, donde la presencia de genes en particular confería un riesgo hasta 111 veces mayor de infección que el carecer del gen. Esto es relevante, ya que los dos patógenos han sido correlacionados con el cáncer urogenital (Gulland *et al.* 2020).

Conclusión

En el contexto actual de un clima cambiante, con ambientes naturales que están siendo afectados por calentamientos inusuales, la respuesta inmune de organismos sensibles a estos cambios se puede afectar negativamente. Hemos demostrado que el aumento en la temperatura superficial del mar modifica la constitución del MHC-DRB posiblemente reflejando un impacto en los apareamientos de la población. Si, debido a la anomalía climática los machos de buena calidad genética son menos capaces de completar su migración reproductiva y, como consecuencia, los machos de menor calidad son los que se reproducen, heredarán a las crías su limitado repertorio. La constitución limitada del MHC-DRB cambia el patrón de expresión y puede aumentar la susceptibilidad de ser infectado por patógenos potenciales. Esto lo pudimos constatar para dos patógenos, OtHV-1 y *Streptococcus* beta hemolítico. Nuestros resultados constituyen evidencia de que la constitución y expresión de genes claves para las respuestas inmunes innatas de las crías de lobo marino de California son impactadas por los cambios ambientales atípicos que experimenta la zona marina costera desde hace unos años. La especie de estudio, el lobo marino de California, puede ser considerado un monitor de alerta anticipada de los desafíos que enfrenta fisiológicamente y los posibles fenómenos que puede haber en especies silvestres con una potencial

relevancia para la conservación y manejo de sus poblaciones.

Referencias bibliográficas

Acevedo-Whitehouse, Gulland, Greig, et al. (2003). Disease susceptibility in California sea lions. *Nature* 422, 35. Doi:10.1038/422035a

Altizer, Ostfeld, Johnson, Kutz y Harvell. (2013). Climate Change and Infectious Diseases: From Evidence to a Predictive Framework. *Science Spetial Section.* Doi: 10.1126/science.1239401

Banuet-Martínez, Espinosa-de Aquino, Elorriaga-Verplancken, Flores-Morán, García, Camacho, Acevedo-Whitehouse. (2017). Climatic anomaly affects the immune competence of California sea lions. *PLoS ONE* 12(6): e0179359. Doi: 10.1371/journal.pone.0179359

Borghans, Beltman y De Boer, R.J. (2004). MHC polymorphism under host-pathogen coevolution. *Immunogenetics* 55, 732–739 Doi: 10.1007/s00251-003-0630-5

Bowen, Aldridge, Gulland, et al. (2004). Class II multiformity generated by variable MHC-DRB region configurations in the California sea lion (Zalophus californianus). *Immunogenetics* 56, 12–27. Doi:10.1007/s00251-004-0655-4

CONANP. (2013). Monitoreo del Lobo Marino de California (*Zalophus californianus californianu*s) en la Reserva de la Biosfera Isla San Pedro Mártir y Área de Protección de Flora y Fauna Islas del Golfo de California. Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. Disponible en: https://simec.conanp.gob.mx/pdf_monitoreo/25-martin_lobo_marino.pdf

Elorriaga-Verplancken, Sierra-Rodríguez, Rosales-Nanduca, Acevedo-Whitehouse y Sandoval-Sierra. (2016). Impact of the 2015 El Niño-Southern Oscillation on the Abundance and Foraging Habits of Guadalupe Fur Seals and California Sea Lions from the San Benito Archipelago, Mexico. *PLoS ONE*. 11(5). Doi: 10.1371/journal.pone.0155034

Gearin, Melin, DeLong, Gosho y Jeffries. (2017). Migration Patterns of Adult Male California Sea Lions (*Zalophus californianus*). *National Oceanic and Atmospheric Administration* Doi:10.7289/V5/TM-AFSC-346

Gulland, Hall, Ylitalo, Colegrove, Norris, Duignan, Halaska, Acevedo Whitehouse, Lowenstine, Deming y Rowles. (2020). Persistent Contaminants and Herpesvirus OtHV1 Are Positively Associated With Cancer in Wild California Sea Lions (*Zalophus californianus). Front. Mar. Sci*. 7:602565. doi: 10.3389/fmars.2020.602565

Hamilton y Zuk. (1982). Heritable true fitness and bright birde: a role for parasites? *Science* 218,384-387

Janeway, Travers , Walport M, *et al*. (2001). Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. 5th edition. New York: Garland Science; The major histocompatibility complex and its functions. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK27156/

Klein y Flanagan. (2016). Sex differences in immune responses. *Nat Rev Immunol* 16, 626–638 Doi: 10.1038/nri.2016.90

Kohn, Murphy, Ostrander y Wayne. (2006). Genomics and conservation genetics. *Trends Ecol. Evol.* 21, 629–637 Doi: 10.1016/j.tree.2006.08.001

Lochmiller y Deerenberg. (2003). Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity? *OIKOS* 88,87-98 Doi: Doi: 10.1034/j.1600-0706.2000.880110.x

Matzaraki, Kumar, Wijmenga y Zhernakova. (2017). The MHC locus and genetic susceptibility to autoimmune and infectious diseases. *Genome Biol*. 27;18(1):76. Doi: 10.1186/s13059-017-1207-1.

McClelland, Penn y Potts. (2003). Major histocompatibility complex heterozygote superiority during coinfection. *Infect. Immun*. 71:2079:2086

Melin, DeLong, Thomason y Van Blaricom. (2000). Attendance patterns of California sea lion (*Zalophus californianus*) females and pups during the non-breeding season at San Miguel Island. *Mar. Mammal Sci*. 16(1): 169-185. Doi:/10.1111/j.1748-7692.2000.tb00911.x

NOAA. (2010). Sea Surface Temperature Anomaly - Real-time. National Oceanic and Atmospheric Administration. Disponible en: https://sos.noaa.gov/catalog/datasets/sea-surface-temperature-anomaly-realtime.

Scharsack y Franke. (2022). Temperature effects on teleost immunity in the light of climate change. *J Fish Biol*. 101:780–796. Doi: 10.1111/jfb.15163

Schwack, Gulland y White. (2013). Sentinel Species in Oceans and Human Health. In: Laws, E. (eds) Environmental Toxicology. Springer, New York, NY. Doi:10.1007/978-1-4614-5764-0_18

Syed, Viazmina, Mager, Meri1 y Haapasalo. (2020).Streptococci and the complement system: interplay duringinfection, inflammation and autoimmunity. *FEBS Letters* 594, 2570–2585
Doi: 10.1002/1873-3468.13872

Perfil fenólico y capacidad antioxidante de *Chenopodium berlandieri*

Ángel Félix Vargas-Madriz[1], Aarón Kuri-García[1], Haidel Vargas-Madriz[2], Anaya-Loyola Miriam Aracely[1], Margarita Teresa de Jesús García-Gasca[1] Roberto Augusto Ferriz-Martínez[1], Luis Gerardo Hernández-Sandoval[3], Jorge Luis Chávez-Servín[1]*

[1] Laboratory of Cellular and Molecular Biology, School of Natural Science, Autonomous University of Queretaro, Av. de las Ciencias S/N, Juriquilla, CP 76230 Queretaro, QRO, Mexico.

[2] Department of Agricultural Production, University Center of the South Coast, UDG, Av. Independencia Nacional, No 151, CP 48900 Autlan, JAL, Mexico.

[3] Botanical Laboratory, School of Natural Science, Autonomous University of Queretaro, Av. de las Ciencias S/N, Juriquilla, CP 76230 Queretaro, QRO, Mexico.

Autor de correspondencia: Jorge Luis Chávez Servín Jorge.chavez@uaq.mx

Resumen

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto que tiene el secado por horno y el liofilizado en la calidad nutricional de la hoja e inflorescencia de *Chenopodium berlandieri* (*C. berlandieri*), además de analizar efecto térmico (hervir) en la composición fenólica y capacidad antioxidante. Dentro del estudio se determinó los compuestos fenólicos totales (TPC), compuestos flavonoides totales (TFC), la capacidad antioxidante mediante los ensayos de DPPH, ABTS, FRAP y se determinó el perfil fenólico por medio de UPLC-QTOF MS. Los resultados mostraron diferencia significativa en relación con la fibra, carbohidratos y el extracto etéreo de las muestras entre ambos tipos de secado. Con base a los ensayo de TPC, TFC y de capacidad antioxidante, las muestras liofilizadas presentaron mejores resultados, sin embargo, las muestras secadas por horno aumentaron su concentración después del tratamiento térmico, mientras que las muestras liofilizadas disminuyeron. Por medio de UPLC-QTOF MS se detectaron 23 compuestos fenólicos en la inflorescencia, presentando mayor cantidad en la muestra liofilizada (3,6713.14 ± 1,623.42 µg/g EL). Por otra parte, en la hoja no se detectó el dímero de procianidina B2 por ambos tipos de secado. Se detectaron (+)-catequina, kaempferol y hexósido de ácido ferúlico en la hoja hervida, los cuales no se detectaron en la hoja cruda secada por horno. En general la hoja e inflorescencia son ricos en compuestos antioxidantes que pueden ser aprovechados dentro de la dieta humana.

Palabras clave: Compuestos fenólicos, capacidad antioxidante, composición nutricional, quelites

Summary

The objective of this study was to determine the effect of oven-drying and freeze-drying on the nutritional quality of the leaf and inflorescence of *Chenopodium berlandieri* (*C. berlandieri*), in addition to analyzing the thermal effect on the phenolic composition and antioxidant capacity. Within the study, total phenolic compounds (TPC), total flavonoid compounds (TFC), antioxidant capacity were profiled by means of DPPH, ABTS, FRAP assays, and phenolic was prolonged by means of UPLC-QTOF MS. The results showed a significant difference in relation to the fiber, carbohydrates and ethereal extract of the samples between both types of drying. Based on the TPC, TFC and antioxidant capacity assays, the lyophilized samples presented better results, however, the oven-dried samples increased their concentration after heat treatment, while the lyophilized samples decreased. By means of the quantity UPLC-QTOF MS, 23 phenolic compounds are detected in the inflorescence, presenting higher in the lyophilized sample (3,6713.14 ± 1,623.42 µg/g EL). On the other hand, the procyanidin B2 dimer was not detected in the leaf by both types of drying. (+)-Catechin, kaempferol and ferulic acid hexoside are detected in the boiled leaf, which are not detected in the oven-dried raw leaf. In general, the leaf and inflorescence are rich in antioxidant compounds that can be used in the human diet.

Key words: Phenolic compounds, antioxidant capacity, nutritional composition, quelites

Introducción

En la actualidad los compuestos fenólicos y sus efectos antioxidantes han tomado mayor interés en la industria alimentaria y farmacéutica, debido al aumento de las enfermedades degenerativas producto del estilo de vida y la alimentación, además de los efectos negativos que se han observado en los antioxidantes artificiales, teniendo mayor relevancia los estudios relacionados con plantas utilizadas en tratamientos tradicionales (Ghout et al., 2018).

Los quelites son plantas nativas de México cuyas hojas, tallos tiernos y la inflorescencia se incorporan en la dieta humana desde la época prehispánica, además se han utilizado como remedio tradicional en diferentes enfermedades. Existen alrededor de 500 especies de quelites dentro de las cuales las de mayor importancia gastronómica y uso cotidiano se encuentran las especies del género Amaranthus spp. (quintonil), Portulaca oleracea (verdolaga), Cnidoscolus aconitifolius (chaya) y Chenopodium berlandieri (quelite cenizo), Suaeda nigra (romerito), Chenopodium berlandieri subsp. nuttaliiae (huazontle), Chenopodium ambrosioides (epazote) (Santiago-Saenz et al., 2019). Estas plantas tienen un importante valor nutricional aportando proteínas, fibra dietética, y minerales, además de sus compuestos bioactivos como betalaínas, carotenóides, ácidos fenólicos y flavonoides (Santiago-Saenz et al., 2019, 2020). Estas plantas son consumidas de forma cruda y en la cocina tradicional mexicana son preparadas utilizando diferentes técnicas culinarias, es decir, hervido, freído, y también se secan para posteriormente ser consumidos. Los procesos térmicos como el escaldado o hervido proporcionan sabor, color, textura al alimento. Estos procesos además de otorgar las cualidades organolépticas provocar afectaciones a los compuestos fitoquímicos de la muestra vegetal, sin embargo, esta técnica culinaria puede eliminar compuestos antinutricios o no deseados, por ejemplo en la hoja de *Cnidoscolus aconitifolius* contiene un glucósido cianogénico llamado linamarina que puede ser tóxico su consumo en grandes cantidades (Godínez-Santillán et al., 2019).

El quelite cenizo ha sido utilizado en la medicina tradicional por su efecto antibacteriano y anticancerígeno, por otro lado, en estudios científicos se ha observado su efecto hepatoprotector, antiinflamatorio y antioxidante (Santiago-Saenz et al., 2019). Los efectos biológicos del quelite cenizo pueden estar relacionados con sus compuestos bioactivos, principalmente con los compuestos fenólicos, sin embargo estos suelen estar propensos a la degradación por diferentes factores como: la luz UV, temperatura, oxigeno, actividad de agua, proceso de secado, entre otros, por lo que su procesamiento para su obtención es primordial (Vargas-Madriz et al., 2020). El secado de la muestra vegetal regularmente alarga el periodo de su consumo y trata de mantener la calidad y cantidad de los componentes de la muestra, sin embargo existen diferentes tipos de secado que pueden afectar estos compuestos por efectos enzimáticos y no enzimáticos que suceden durante el proceso de secado (Dong et al., 2019).

El objetivo de este estudio fue investigar los efectos del tipo de secado (por horno y liofilizado) en la calidad nutrimental así como la forma de preparación (crudo y hervido) en el perfil fenólico y la capacidad antioxidante de las hojas e inflorescencia del quelite cenizo mediante una extracción hidroalcohólica (metanol-agua). Los hallazgos en este estudio podrían determinar el mejor tipo de proceso de secado y preparación para la obtención de los compuestos fenólicos de Chenopodium berlandieri.

Objetivo específico. Evaluar el efecto del tipo de secado por horno y liofilizado en la composición nutricional y el efecto térmico (hervido) en el perfil fenólico y la capacidad antioxidante de la hoja e inflorescencia de *C. berlandieri*.

Objetivos generales.

1) Comparar la composición química proximal de la hoja e inflorescencia cruda de *C. berlandieri* mediante el secado por horno y liofilización.

2) Evaluar el efecto del secado por horno y liofilización así como el método de preparación crudo y hervido en el contenido de compuestos fenólicos totales, flavonoides y taninos en la hoja e inflorescencia de *C. berlandieri* mediante técnicas colorimétricas.

3) Determinar el efecto del secado por horno y liofilización y el método de preparación crudo y hervido en la capacidad antioxidante de la hoja e inflorescencia de *C. berlandieri* mediante las técnicas de DPPH, FRAP, TEAC y ORAC.

4) Evaluar el efecto del secado por horno y liofilización y la forma de preparación crudo y hervido de la hoja e inflorescencia de *C. berlandieri* en el contenido de compuestos fenólicos determinados por UPLC-QTOF MS.

Metodología

Recolección de la muestra

La muestra vegetal de quelite cenizo fue recolectada el 22 de septiembre del 2021 en la localidad de La Barreta del estado de Querétaro, México, ubicada a 20°49'47.6" latitud norte, y 100°30'11.9" longitud oeste, a una altitud de 2,150 msnm. Se identificaron y registraron tres ejemplares (código no. 00006282) en el herbario "Dr. Jerzy Rzedowski" (QMEX) de la Facultad de Ciencias Naturales. Se recolectaron 1,883.7 g de hoja y 2,498.3 g de inflorescencia que fueron llevados al laboratorio de biología celular y molecular de la Facultad de Ciencias Naturales en menos de 6 horas.

Proceso de secado

Después de la colecta, la muestra vegetal se limpió y se separó para someterse al secado por horno de ventilación forzada y liofilización. En el secado por horno de ventilación forzada (Shel lab Fx 1375, Carolina del Norte, EE. UU.) la muestra vegetal se sometió a 40 °C durante 48 horas. Por otro lado, en el liofilizado la muestra vegetal se congeló inicialmente a -80 °C por 24 h, posteriormente se colocaron en la liofilizadora (SCIENTZ-10N) a una temperatura de -80 °C y una presión de 1 pa. Posteriormente todas las muestras se molieron en un molino eléctrico (Thomas Wiley Model 4 Scientific, Nueva Jersey, UU.) utilizando un tamiz de 0.5 mm de diámetro. El polvo molido se recolectó en bolsas herméticas y se almacenó en un ultracongelador (REVCO last II, Ohio, USA) a -80 °C hasta su futuro análisis.

Análisis bromatológico:

El análisis bromatológico se realizó a partir de la materia vegetal seca y molida. En los dos tratamientos se determinó siguiendo los métodos estándar de la (AOAC, 1990): cenizas (942,05), proteína bruta (AOAC 2001), extracto etéreo (AOAC 920,39), fibra (962,09), y finalmente los carbohidratos se calcularon por diferencia.

Proceso de extracción

La muestra pulverizada y tamizada (secado al horno y liofilizado) se sometió a extracción hidroalcohólica: metanol/agua 80:20 (v/v). La extracción se realizó por medio de dos procesos: hervido (durante 5 minutos a 100 °C) y crudo, se utilizó una relación de solido/líquido de 1:10 (p/v). La extracción se dejó en agitación magnética (modelo OM10E, marca OVAN, Burladingen, Alemania) a 100 rpm durante 16 horas a temperatura ambiente y en ausencia de luz. Posteriormente la muestra se filtró a través de papel Whatman (0,20 μm) y se lavó varias veces con la solución extractante. El extracto filtrado se llevó a sequedad por medio de un rotaevaporador (Rotavapor Büchi R-200, Essen, Alemania) a 40 °C, con una presión al vacío aproximada de 100 mmHg y después se sometió a liofilización (SCIENTZ-10N). Finalmente el extracto liofilizado se colocó en recipientes herméticos protegidos de la luz y se almacenó en un ultra congelador (REVCO last II, Ohio, USA) a -80 °C hasta su futuro análisis.

Extracción de polifenoles

Para la determinación de los compuestos fenólicos se utilizaron 100 mg del extracto liofilizado en 5 ml de metanol al 80%, se colocó en baño de ultrasonido (model BRANSON 5510, EU) por 30 minutos, después la solución se centrifugó a 4,000 rpm durante 10 min a 4 °C, se recolectó el sobrenadante y se filtraron utilizando un filtro de membrana (0.20 μm). Posteriormente la solución filtrada se utilizó para medir los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante.

Determinación de compuestos fenólicos

El contenido de los compuestos fenólicos totales (TPC) se determinó por medio de la técnica colorimétrica del método de Folín-Ciocalteu

(Singleton et al., 1999). Los TPC fueron expresados en mg de equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto liofilizado (mg GAE/g EL). Los flavonoides totales (TFC) se determinaron colorimétricamente como lo describe Zhishen et al. (Zhishen et al., 1999). Los taninos condensados (TC) se determinaron espectrofotométricamente como lo describe Feregrino-Pérez et al. (Feregrino-Pérez et al., 2008). Los TFC y TC fueron expresados en mg de equivalentes de (+)- catequina por gramo de extracto liofilizado (mg CE/g EL).

Determinación de capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) se determinó por medio de la técnica colorimétrica descrita por Brand et al. (Brand-Williams et al., 1995). El ensayo del poder antioxidante reductor férrico (FRAP) se realizó de acuerdo al método descrito por Benzie and Strain (Benzie & Strain, 1996). El ensayo de capacidad antioxidante equivalente de trolox (TEAC) fue llevado a cabo de acuerdo con el método establecido por Miller et al. (Van Den Berg et al., 1999). Para todas las determinaciones colorimétricas se utilizó el Trolox como antioxidante de referencia, finalmente todos los resultados fueron expresados como µM equivalentes de Trolox/g de extracto liofilizado (µM TE/g EL).

Identificación y cuantificación por UPLC-DAD-Q-ToF MS

La identificación y cuantificación de compuestos fenólicos se evaluó por cromatografía liquida de ultra resolución (UPLC) acoplado a un detector de diodos (DAD) y un espectrómetro de masas (MS) de tiempo de vuelo cuadripolar (QToFMS) con una interfase de ionización por electropulverización (ESI) (Reynoso-Camacho, et al., 2021). Para la preparación de las muestras 25 mg de extracto liofilizado se resuspendieron en 500 uL de agua grado masas. Posteriormente 2 µl de muestra fueron inyectados en una columna BEH Acquity C18 (2.1 × 100 mm, 1.7 µm) a 35°C. Para la separación cromatográfica se utilizó agua con 0.1% de ácido fórmico (A) y acetonitrilo (B) como fase móvil con un flujo de 0.5 ml/min. Las condiciones del gradiente fueron 0% B/0 min, 15% B/2.5 min, 21% B/ 10 min, 90% B/12 min, 95% B/13 min, 0% B/15 min, y 0% B/17 min. Las absorbancias se midieron a 214, 280, 320, and 360 nm. Los siguientes estándares comerciales se usaron para la cuantificación: ácido coumárico (ácidos hidroxicinámicos), ácido hidroxibenzóico (ácidos hidroxibenzóicos), hesperidina (flavanones) y quercetina rutinósido o rutina (flavonoles). Los resultados se expresaron como µg/g de extracto liofilizado. Se utilizaron las siguientes condiciones para el espectrómetro de masas (MS): voltaje capilar de 2.0 kV; voltaje del cono de 40 eV; baja energía de colisión de 6 V; alta energía de colisión de 15-45 V; temperatura de 120°C; flujo del cono de gas 50 L/h; gas de desolvatación, N2 a 450°C y 800 L/h. la adquisición de los datos se llevó a cabo en un modo de ionización negativo (ESI-) con un rango de masa de 100-1200 Da. Se utilizó solución de leucina-encefalina (50 pg/ml) para corrección de bloqueo de masa a 10 µl/min. La identificación se llevó a cabo mediante el análisis de la masa exacta del ión pseudomolecular (error de masa < 5 ppm), distribución del isótopo y patrón de fragmentación. Los resultados se expresaron en microgramos por gramo de extracto liofilizado (µg/ g EL).

Análisis estadístico

Todos los resultados se realizaron por triplicado y los resultados obtenidos se expresaron como media ± desviación estándar. El análisis se realizó en el software estadístico GraphPad Prism version 9.2, se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía seguido de la prueba post hoc de Tukey. Para los análisis se utilizó un intervalo de confianza del 95% y un nivel de significancia de $p<0.05$.

Resultados

Efecto del proceso de secado en la composición nutrimental

En el análisis proximal de las hojas secadas en horno (HH), hojas secadas por liofilizado (HL), de la inflorescencia secada en horno (IH) y la inflorescencia secada por liofilizado (IL) se observan en la Tabla 1. La pérdida de humedad fue similar en todas las muestras y aun que no existe diferencia significativa, su contenido de humedad se encuentra dentro de lo recomendado para las hortalizas secas

(10%) preservando de esta forma mejor sus cualidades de conservación de la muestra (Adeboye et al., 2019). El contenido de proteína también presentó cantidades similares en todas las muestras por ambos tratamientos. Por otro lado, el contenido de fibra varió en ambas muestras vegetales por los dos procesos de secado. Las HH presentaron mayor contenido de fibra comparado con las HL, contrariamente, la IL evidenció mayor cantidad de fibra. En el presente estudio el contenido de cenizas es mayor en la hoja sin presentar diferencia significativa por ambos procesos de secado, representando mayor cantidad de minerales en la hoja comparado con la inflorescencia. En general ambos procesos de secado muestran conservación en la composición nutrimental, sin embargo, el proceso de secado por horno podría utilizarse a nivel industrial además de ser de bajo costo comparado con el proceso de liofilización.

Tabla 1. Composición nutricional de la hoja e inflorescencia *C. berlandieri*

Componente (%)	Muestra vegetal			
	HH	HL	IH	IL
Humedad	2.91 ± 0.08^{a}	2.66 ± 0.04^{a}	2.59 ± 0.01^{a}	2.80 ± 0.02^{a}
Proteína	23.17 ± 1.79^{a}	23.97 ± 0.55^{a}	23.28 ± 0.72^{a}	23.00 ± 0.10^{a}
Fibra cruda	19.23 ± 1.96^{b}	17.61 ± 2.45^{c}	15.92 ± 0.40^{d}	22.76 ± 0.93^{a}
Extracto etéreo	0.71 ± 0.02^{b}	0.72 ± 0.02^{b}	0.55 ± 0.54^{c}	1.06 ± 0.05^{a}
Ceniza	24.19 ± 0.22^{a}	22.59 ± 0.04^{a}	15.95 ± 0.18^{b}	14.71 ± 0.33^{b}
Carbohidratos	29.79 ± 0.26^{d}	32.45 ± 0.26^{c}	41.71 ± 0.02^{a}	35.67 ± 0.23^{b}

HH: hoja crudo horno, HL: Hoja cruda liofilizada, IH: inflorescencia cruda horno, IL: Inflorescencia cruda liofilizada. Los resultados son la media de 3 repeticiones ± una desviación estándar. Diferentes letras indican diferencias entre los grupos (ANOVA, *pos hoc* Tukey test, $p<0.05$).

Efecto del proceso de secado y tratamiento térmico en los compuestos fenólicos

El tipo de proceso de secado y tratamiento térmico afectó los compuestos fenólicos de *C. berlandieri* como se muestra en la tabla 2. En el presente estudio ambas muestras vegetales presentaron mayor cantidad de TPC, TFC, y de CT a través del secado por liofilizado. Por otro lado, el proceso térmico (muestra hervida) afectó a los compuestos fenólicos de ambas muestra vegetales. En la HH aumentaron los TPC mientras que en la HL su contenido bajo, ambos resultados fueron estadísticamente significativos. En el caso de la inflorescencia, el proceso térmico disminuyó la cantidad de los TPC de forma significativa en ambas muestras. Por otra parte, el TFC de la HH aumento su contenido mientras que la HL disminuyó por el proceso térmico, ambos datos fueron estadísticamente significativos. En general la inflorescencia de *C. berlandieri* presentó mayor concentración de TPC y TFC comparado con las hojas como se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. Contenido de fenólicos totales y flavonoides totales de la hoja e inflorescencia de *C. berlandieri*

Método de secado	Fenoles totales (TPC) (mg GAE / g LE)			
	Hoja		Inflorescencia	
	Crudo	Hervido	Crudo	Hervido
Horno	23.29 ± 0.11^{e}	26.09 ± 0.13^{d}	27.69 ± 0.10^{c}	26.60 ± 0.11^{d}
Liofilizado	26.38 ± 0.08^{d}	22.06 ± 0.10^{f}	52.52 ± 0.15^{a}	34.77 ± 0.18^{b}
	Flavonoides totales (TFC) (mg CE / g EL)			
	Hoja		Inflorescencia	
	Crudo	Hervido	Crudo	Hervido
Horno	6.79 ± 0.11^{g}	8.02 ± 0.07^{f}	11.99 ± 0.44^{c}	10.92 ± 0.07^{d}
Liofilizado	9.24 ± 0.08^{e}	7.92 ± 0.13^{f}	23.14 ± 0.13^{a}	20.30 ± 0.10^{b}

Los resultados son la media de 3 repeticiones ± una desviación estándar. Diferentes letras indican diferencias entre los grupos (ANOVA, *pos hoc* Tukey test, $p<0.05$)

Efecto del proceso de secado y tratamiento térmico en la capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante de las hojas e inflorescencia de *C. berlandieri* también se vio afectada por el tipo de secado y el tratamiento térmico de blanqueado mediante los ensayos de DPPH, FRAP y ABTS. Como se observa en la tabla 3, la HL y la IL presentaron mayor actividad de eliminación de radicales DPPH comparado con la HH y la IH, sin embargo, la HL y la IL disminuyó significativamente su capacidad antioxidante mediante el proceso térmico. Contrariamente, el proceso térmico aumentó la capacidad de captación de radicales en la HH y la IH. Mediante el ensayo de ABTS la HH y la HL no mostraron diferencias significativas sin embargo, el contenido de la HH aumentó significativamente por efecto térmico mientras que la HL no presentó cambio significativo. La IL obtuvo mayor capacidad antioxidante comparada con la IH, sin embargo la IL disminuyó significativamente su capacidad antioxidante mediante el proceso térmico mientras que la IH disminuyó pero no significativamente. Con respecto al ensayo de FRAP, la HH y la HL no mostraron diferencias significativas sin embargo, la HL aumentó de manera significativa mediante el efecto térmico mientras que la HH no provocó cambios significativos. Por otra parte, la IL mostró mayor capacidad antioxidante comparado con la IH, no provoco cambios significativos el proceso térmico en la IL mientras que la IH disminuyó su capacidad antioxidante de forma significativa.

Tabla 3. Capacidad antioxidante de la hoja e inflorescencia de *C. berlandieri*

Método de secado	Muestra vegetal			
	Hoja		Inflorescencia	
	Crudo	Hervido	Crudo	Hervido
	DPPH (µmol ET / g EL)			
Horno	100.32 ± 171^{d}	114.68 ± 1.85^{c}	117.76 ± 0.18^{c}	119.63 ± 0.21^{c}
Liofilizado	116.58 ± 0.93^{c}	101.52 ± 1.20^{d}	337.15 ± 7.75^{a}	255.40 ± 3.39^{b}
	ABTS (µmol ET / g EL)			
Horno	384.15 ± 20.9^{d}	424.80 ± 11.1^{c}	554.52±15.8^{b}	536.48±36.3^{b}
Liofilizado	387.01 ± 28.3^{d}	341.82 ± 20.1^{d}	732.99±61.3^{a}	501.26±38.9^{b}
	FRAP (µmol ET / g EL)			
Horno	528.21 ± 15.9^{c}	525.12 ± 8.35^{c}	656.60 ± 20.3^{b}	570.19 ± 20.6^{c}
Liofilizado	545.49 ± 25.6^{c}	635.00 ± 16.6^{b}	803.52 ± 53.3^{a}	757.22 ± 52.8^{a}

Los resultados son la media de 3 repeticiones ± una desviación estándar. Diferentes letras indican diferencias entre los grupos (ANOVA, *pos hoc* Tukey test, $p<0.05$)

Compuestos fenólicos individuales

Por medio del UPLC-DAD-Q-ToF MS se obtuvo el perfil fenólico de la inflorescencia y hoja de *C. berlandieri* como se muestra en la tabla 4 (dato no mostrado). El análisis permitió la detección de 23 compuestos fenólicos entre los que se encuentran: ácidos hidroxibenzoicos, ácidos hidroxicinámicos, flavanoles, flavanonas y flavonoles. En ambas muestras se obtuvo mayor cantidad de compuestos flavonoides comparado con los ácidos fenólicos. En las muestras crudas liofilizadas se detectó mayor cantidad de polifenoles principalmente en la inflorescencia con 36,713.14 ± 1,623.42 µg/g EL y 27,606.06 ± 3,379.86 µg/g EL en hoja. Por otro lado, las muestras crudas secadas por horno presentaron una disminución del 15.47 y 22.67 % en la inflorescencia y hoja respectivamente con respecto a las muestras liofilizadas. Sin embargo, curiosamente las muestras secadas por horno presentaron un aumento del 6.24 y 12.78 % en la inflorescencia y hoja respectivamente posterior al proceso de hervir, mientras que las muestras liofilizadas la cantidad de polifenoles disminuyó 1.50 y 16.79 % en inflorescencia y hoja respectivamente. En el presente estudio los flavonoles fueron los principales compuestos identificados en mayor proporción principalmente en las muestras crudas liofilizadas. Se reporta 16.87 y 12.95% en inflorescecnia y hoja liofilizada respectivamente, mientras que las muestras secadas por horno se reporta 12.95 y 8.32% en inflorescencia y hoja respectivamente. Por otro lado, las muestras liofilizadas disminuyeron su concentración de flavonoles 1.25 y 2.19% en la inflorescencia y hoja respectivamente posterior al proceso térmico, mientras que las muestras secadas por horno se observó un aumento del 0.69 y 1.42% en inflorescencia y hoja respectivamente.

Discusión y Conclusiones

En el caso de la composición nutrimental, otros estudios se ha observado la disminución del contenido de proteína en muestras secadas por procesos térmicos superiores a los 40 °C, esto debido a la desnaturalización de las proteínas por elevadas temperaturas (Oliveira-Alves et al., 2021). Los valores obtenidos de proteína en la hoja del quelite cenizo son superiores comparado con lo reportado por Santiago-Saenz et al. (Santiago-Saenz et al., 2018) en el género *Amaranthus hybridus* (1.81%), *Chenopodium berlandieri* (3.45%), *Portulaca oleracea* (3.65%) y por Fukalova et al. (Fukalova et al., 2022) en género de *P. ruderale* (1.89%) y *P. oleracea* (1.56%), así como en *Chenopodium album* (3.7% hasta 5.0 %) (Poonia & Upadhayay, 2015). Sin embargo estos estudios se han reportado en materia fresca, por lo que el proceso de secado estaría concentrando este y otros nutrientes de la materia vegetal (Adeboye et al., 2019). Los resultados reportados en el estudio de Román-Cortés et al. (Román-Cortés et al., 2018) presentan similitud en la cantidad de proteína del género *C. berlandieri subsp. nuttaliiae* y *S. nigra* con 23.1%, sin embargo reportan mayor cantidad de proteína en *P. oleracea* y *Amaranthus spp* con 26%. En general el contenido de proteína obtenido en el presente estudio es superior comparado con verduras convencionales como el repollo (12.8%) y la lechuga (14%), además se ha evidenciado el aumento del valor biológico de las proteínas vegetales al combinarse con otros alimentos (Adeboye et al., 2019). La variación de fibra puede atribuirse a una modificación de la estructura química de los carbohidratos que también se vieron afectados, reorganizando los polisacáridos y aumentando de esta manera la cantidad de la fibra (Oliveira-Alves et al., 2021). La concentración de fibra en el presente estudio fue mayor comparado con el género de *C. album* (0.81% hasta 1.9%) (Poonia & Upadhayay, 2015), *Amaranthus spp* (8.5%), *P. oleracea* (12.3%), *S. nigra* (6.9%) (Román-Cortés et al., 2018), *C.*

conitifolius (1.9%) (Kuri-García et al., 2017), *P. oleracea* (0.98%), *A. hybridus* (1.18%) incluso con el mismo género de *C. berlandieri* (1.15%) (Santiago-Saenz et al., 2018). En el estudio de Femenia et al. (1999) se pueden observar resultados similares con la coliflor, donde la cantidad de fibra en materia fresca es similar con la muestra liofilizada, mientras que las muestras secadas por procesos térmicos afectan la estructura y las propiedades funcionales de la fibra. Diversos estudios han demostrado la relación del consumo de alimentos con fibra y los beneficios a la salud humana, principalmente en la prevención de enfermedades metabólicas (Román-Cortés et al., 2018; Santiago-Saenz et al., 2018).

Con respecto a la determinación de compuestos fenólicos, Al igual que en este estudio, Li et al. (2015) y Kraujalis et al. (2013) también encontraron variaciones en las concentraciones de compuestos fenólicos en diferentes partes de la planta del género *Amaranthus spp* (semillas, tallos, hojas, flores y brotes), sin embargo, ellos reportaron concentraciones elevadas en las hojas comparados con las otras partes. Los resultados obtenidos en la hoja de *C. berlandieri* presentaron mayor cantidad de TPC comparado con otros estudios de la misma especies e incluso de otros géneros de quelites como *Amaranthus spp*, *S. nigra*, *C. nuttaliiae*, *C. ambrosioides*, *P. oleracea*, *A. hybridus*, *A. cristata*, *C. aconitifolius*, *C. pumila*, *Crotalaria longirostrata* (Arias-Rico et al., 2020; Gomez-Chang et al., 2018; Jiménez-Aguilar & Grusak, 2015; Khanam & Oba, 2013; Li et al., 2015; Román-Cortés et al., 2018; Santiago-Saenz et al., 2018). Los TFC obtenidos en este estudio fueron menor comparado con la hoja de *P. oleracea A. hybridus* y *C. berlandieri* (Santiago-Saenz et al., 2018). Actualmente no existen estudios sobre los compuestos fenólicos de la inflorescencia de *C. berlandieri*, sin embargo, las concentraciones de TPC y TFC son mayores comparado con flores de diferentes especies del género *Amaranthus spp*. (Kraujalis et al., 2013; Li et al., 2015), además de algunas otras flores comestibles como *Plumeria rubra* L. cv, *Acutifolia, Tagetes erecta L* (Mulík & Ozuna, 2020), *A. salmiana, A. salmiana*, *E. americana*, y *M. geometrizans* (Pinedo-espinoza et al., 2020). En el presente estudio las muestras secadas en horno aumentaron la cantidad de compuestos fenólicos posterior al proceso térmico, mientras que las muestras liofilizadas disminuyeron su concentración. Esto puede deberse a un desprendimiento de compuestos fenólicos de bajo peso molecular que se encuentran ligados a la fibra vegetal y probablemente no se desprendieron a través del tipo de secado (Arias-Rico et al., 2020). Resultados similares se reporta en el estudio de Godínez-Santillán et al. (2019) obteniendo mayor cantidad de compuestos fenólicos en las hojas de *C. aconitifolius* secadas en horno a 40 °C y hervidas durante 10 min comparadas con las hojas crudas. Otros estudios han demostrado el efecto térmico en diferentes alimentos vegetales, provocando un aumento o disminución en la cantidad de los compuestos fenólicos dependiendo tipo de materia vegetal y el tiempo invertido en el proceso (Balunkeswar et al., 2015). Con respecto a la capacidad antioxidante Otros estudios han presentado menor concentración de captación de radicales por medio de los ensayos de DPPH, ABTS y FRAP en las hojas de *C. berlandieri*, *P. oleracea*, *A. hybridus*, *A. hypochondriacus* y *A. caudatu* (Fukalova et al., 2022; Kraujalis et al., 2013; Li et al., 2015; Santiago-Saenz et al., 2018). Por otro lado, la inflorescencia presenta mayor capacidad de captación de radicales comparado con algunas flores comestibles como *Cucurbita pepo*, *Plumeria rubra* L. cv. *Acutifolia*, *Tagetes erecta* (Mulík & Ozuna, 2020). En el presente estudio, la capacidad antioxidante de la hoja e inflorescencia puede atribuirse a la variación de los compuestos bioactivos de ambas muestras vegetales (Kraujalis et al., 2013; Li et al., 2015). El efecto de secado y el efecto térmico, son un paso importante para desactivar algunas enzimas (POD y PPO) de la materia vegetal que pueden causar pardeamiento o reacciones de oxidación, sin embargo, este proceso puede afectar a los compuestos antioxidantes como los compuestos fenólicos aumentando o disminuyendo su cantidad (Balunkeswar et al., 2015). El secado por liofilizado puede estar provocando desprendimiento de los compuestos fenólicos que se encuentran en la pared vegetal, haciendo mayor su obtención por medio de la molienda y la extracción aunado con los solventes (Siti Mahirah et al., 2018). Sin embargo el secado por liofilizado y el proceso térmico podría estar degradando los compuestos fenólicos o generando compuestos con actividad

prooxidante (Arias-Rico et al., 2020). Por otra parte, en las muestras secadas por horno junto con el efecto térmico puede estar provocando la extracción de compuestos fenólicos que se encuentran unidos a la pared celular y los compartimentos subcelulares, probablemente estos compuestos pueden tener mayor cantidad de grupos hidroxilos aumentando la donación de hidrógenos (Godínez-Santillán et al., 2019). El ensayo que presentó mayor capacidad antioxidante fue FRAP, seguido de ABTS y finalmente DPPH, estas discrepancias que existen entre los ensayos utilizados se deben a los diferentes mecanismos de reacción con los compuestos antioxidantes de las muestras vegetales (Kraujalis et al., 2013; Li et al., 2015).

Con relación a los compuestos bioactivos individuales, en general la quercetina rutinósido (rutina) (T_R 4.73 min, $[M-H]^-$ at *m/z* 609.1447) fue el flavanoles identificado en mayor concentración en *C. berlandieri* el cual fue comparado con un estándar comercial, y este resultado es similar a lo reportado por Santiago-Saenz et al. (2018) así como en otras variedades de quelites como *C. ambrosioides* (Jesus et al., 2018). Por otro lado, el kaempferol (T_R 11.28 min, $[M-H]^-$ at *m/z* 285.0411) fue el compuesto flavanoles que se encontró en menor proporción en ambas muestras vegetales. Al respecto, en el estudio de Santiago-Saenz et al. (2018) no se reportó este compuesto por medio de HPLC, y tampoco se ha reportado en otros quelites como *C. aconitifolius* y *C. ambrosioides* (Godínez-Santillán et al., 2019; Jesus et al., 2018). Por otro lado, el compuesto que se encontró con mayor cantidad en la inflorescencia fue el (Iso)-hexósido de ramnetina (T_R 6.70 min, $[M-H]^-$ at *m/z* 477.1042) principalmente en la muestra cruda liofilizada (5,876.02 ± 197.77 µg/g), además solo en la inflorescencia se detectó dímero de procianidina B2 (T_R 3.17 min, $[M-H]^-$ at *m/z* 577.1331).

En el presente estudio se detectó mínimas diferencias en la calidad nutricional mediante el tipo de secado, además se observó que el tipo de secado aunado al proceso térmico presentó efectos positivos y negativos relacionados con la composición fenólica y su capacidad antioxidante en ambas muestras vegetales. En general las muestras crudas secadas por liofilizado obtuvieron mejores rendimientos relacionados con los compuestos fenólicos y condujo a mayor actividad de eliminación de radicales DPPH, ABTS y FRAP, sin embargo las concentraciones disminuyeron posterior al proceso térmico, y contrariamente sucede con las muestras crudas secadas por horno. En la inflorescencia se detectaron 23 compuestos fenólicos por medio de UPLC-QTOF MS, mientras que en la hoja no se detectó el dímero de procianidina B2, además en la hoja hervida se detectaron (+)-catequina, kaempferol y hexósido de ácido ferúlico, los cuales no se presentan en la hoja cruda secada por horno. Ambas muestras vegetales son ricas en polifenoles principalmente en flavonoides que pueden variar dependiendo el método de secado, además estos compuestos bioactivos pueden ser aprovechados dentro de la dieta humana para la prevención de enfermedades crónicas.

Referencias bibliográficas

Adeboye, A. O., Bolaji, O. A., Fasogbon, B. M., & Okunyemi, B. M. (2019). An Evaluation of the Impact of Drying on the Nutritional Composition, Functional Properties, and Sensory Characteristics of a Ready-to-Cook C.volubile Leaf Soup Powder. *Journal of Culinary Science and Technology*, *0*(0), 1–10. https://doi.org/10.1080/15428052.2019.1610988

AOAC. (1990). Official Methods of Analysis. Association of Official Agricultural Chemists. USA. In *A.O.A.C* (Vol. 1, Issue Volume 1). https://doi.org/10.7312/seir17116-004

Arias-Rico, J., Macías-León, F. J., Alanís-García, E., Cruz-Cansino, N. del S., Jaramillo-Morales, O. A., Barrera-Gálvez, R., & Ramírez-Moreno, E. (2020). Study of edible plants: Effects of boiling on nutritional, antioxidant, and physicochemical properties. *Foods*, *9*(5), 1–14. https://doi.org/10.3390/foods9050599

Balunkeswar, N., Rui Hai, L., & Juming, T. (2015). Effect of Processing on Phenolic Antioxidants of Effect of Processing on Phenolic Antioxidants of Fruits , Vegetables , and Grains — A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition ISSN:*, *55*(7), 887–918. https://doi.org/10.1080/10408398.2011.654142

Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "' Antioxidant Power "': The FRAP Assay. *Analitycal Biochemistry*, *76*, 70–76.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie*, *28*, 25–30. https://ac.els-cdn.com/S0023643895800085/1-s2.0-S0023643895800085-main.pdf?_tid=c64294b8-c748-4f43-9a77-a1e5df2577f8&acdnat=1540234319_61280d7505794fd063952caea9709ade

Dong, Q., He, D., Ni, X., Zhou, H., & Yang, H. (2019). Comparative study on phenolic compounds, triterpenoids, and antioxidant activity of Ganoderma lucidum affected by different drying methods. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *13*(4), 3198–3205. https://doi.org/10.1007/s11694-019-00242-0

Femenia, A., Selvendran, R. R., Ring, S. G., & Robertson, J. A. (1999). Effects of Heat Treatment and Dehydration on Properties of Cauliflower Fiber. *Ournal of Agricultural and Food Chemistry*, *47*(2), 728–732.

Feregrino-Pérez, A. A., Berumen, L. C., García-Alcocer, G., Guevara-Gonzalez, R. G., Ramos-Gomez, M., Reynoso-Camacho, R., Acosta-Gallegos, J. A., & Loarca-Piña, G. (2008). Composition and chemopreventive effect of polysaccharides from common beans (Phaseolus vulgaris L.) on azoxymethane-induced colon cancer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*(18), 8737–8744. https://doi.org/10.1021/jf8007162

Fukalova, T. F., García-Martínez, M. D., & Raigón, M. D. (2022). Nutritional Composition, Bioactive Compounds, and Volatiles Profile Characterization of Two Edible Undervalued Plants: Portulaca oleracea L. and Porophyllum ruderale (Jacq.) Cass. *Plants*, *11*(3), 377. https://doi.org/10.3390/PLANTS11030377

Ghout, A., Zellagui, A., Gherraf, N., Demirtas, I., Sahin, Y. A., Boukhenaf, M., Lahouel, M., Nieto, G., & Akkal, S. (2018). Antiproliferative and Antioxidant Activities of Two Extracts of the Plant Species Euphorbia dendroides L. *Medicines 2018*, *Vol. 5*, *Page 36*, *5*(2), 36. https://doi.org/10.3390/MEDICINES5020036

Godínez-Santillán, R. I., Chávez-Servín, J. L., García-Gasca, T., & Guzmán-Maldonado, S. H. (2019). Caracterización fenólica y capacidad antioxidante de extractos alcohólicos de hojas crudas y hervidas de Cnidoscolus aconitifolius (Euphorbiaceae). *Acta Botanica Mexicana*, *126*, 1–15. https://doi.org/10.21829/abm126.2019.1493

Gomez-Chang, E., Uribe-Estanislao, G. V., Martinez-Martinez, M., Gálvez-Mariscal, A., & Romero, I. (2018). Anti-helicobacter pylori potential of three edible plants known as quelites in Mexico. *Journal of Medicinal Food*, *21*(11), 1150–1157. https://doi.org/10.1089/JMF.2017.0137

Jesus, R. S., Piana, M., Freitas, R. B., Brum, T. F., Alves, C. F. S., Belke, B. V., Mossmann, N. J., Cruz, R. C., Santos, R. C. V., Dalmolin, T. V., Bianchini, B. V., Campos, M. M. A., & Bauermann, L. de F. (2018). In vitro antimicrobial and antimycobacterial activity and HPLC–DAD screening of phenolics from Chenopodium ambrosioides L. *Brazilian Journal of Microbiology*, *49*(2), 296. https://doi.org/10.1016/J.BJM.2017.02.012

Jiménez-Aguilar, D. M., & Grusak, M. A. (2015). Evaluation of Minerals, Phytochemical Compounds and Antioxidant Activity of Mexican, Central American, and African Green Leafy Vegetables. *Plant Foods for Human Nutrition*, *70*(4), 357–364. https://doi.org/10.1007/s11130-015-0512-7

Khanam, U. K. S., & Oba, S. (2013). Bioactive substances in leaves of two amaranth species, Amaranthus tricolor and A. hypochondriacus. *Canadian Journal of Plant Science*, *93*(1), 47–58. https://doi.org/10.4141/CJPS2012-117/ASSET/IMAGES/LARGE/CJPS2012-117F3.JPEG

Kraujalis, P., Venskutonis, P. R., Kraujalienė, V., & Pukalskas, A. (2013). Antioxidant Properties and Preliminary Evaluation of Phytochemical Composition of Different Anatomical Parts of Amaranth. *Plant Foods for Human Nutrition*, *68*(3), 322–328. https://doi.org/10.1007/S11130-013-0375-8

Kuri-García, A., Chávez-Servín, J. L., & Guzmán-Maldonado, S. H. (2017). Phenolic profile and antioxidant capacity of Cnidoscolus chayamansa and Cnidoscolus aconitifolius: A review. *Journal of Medicinal Plants Research*, *11*(45), 713–727. https://doi.org/10.5897/JMPR2017.6512

Li, H., Deng, Z., Liu, R., Zhu, H., Draves, J., Marcone, M., Sun, Y., & Tsao, R. (2015). Characterization of phenolics, betacyanins and antioxidant activities of the seed, leaf, sprout, flower and stalk extracts of three Amaranthus species. *Journal of Food Composition and Analysis*, *37*, 75–81. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.09.003

Mulík, S., & Ozuna, C. (2020). Mexican edible flowers: Cultural background, traditional culinary uses, and potential health benefits. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, *21*, 100235. https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100235

Oliveira-Alves, S. C., Andrade, F., Prazeres, I., Silva, A. B., Capelo, J., Duarte, B., Caçador, I., Coelho, J., Serra, A. T., & Bronze, M. R. (2021). Impact of drying processes on the nutritional composition, volatile profile, phytochemical content and bioactivity of salicornia ramosissima j. Woods. *Antioxidants*, *10*(8). https://doi.org/10.3390/ANTIOX10081312/S1

Pinedo-espinoza, J. M., Gutiérrez-tlahque, J., & Santiago-saenz, Y. O. (2020). Nutritional Composition , Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Wild Edible Flowers Consumed in Semiarid Regions of Mexico. *Plant Foods for Human Nutrition*, *75*(3), 413–419.

Poonia, A., & Upadhayay, A. (2015). Chenopodium album Linn: review of nutritive value and biological properties. *Journal of Food Science and Technology*, *52*(7), 3977–3985. https://doi.org/10.1007/s13197-014-1553-x

Román-Cortés, N. R., García-Mateos, M. del R., Castillo-González, A. M., Sahagún-castellanos, J., & Jiménez-Arellanes, M. A. (2018). Características nutricionales y nutracéuticas de hortalizas de uso ancestral en México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, *41*(3), 245–253.

Santiago-Saenz, Y. O., Hernández-Fuentes, A. D., López-Palestina, C. U., Garrido-Cauich, J. H., Alatorre-Cruz, J. M., Monroy-Torres, R., Santiago-Saenz, Y. O., Hernández-Fuentes, A. D., López-Palestina, C. U., Garrido-Cauich, J. H., Alatorre-Cruz, J. M., & Monroy-Torres, R. (2019). Importancia nutricional y actividad biológica de los compuestos bioactivos de quelites consumidos en México. *Revista Chilena de Nutrición*, *46*(5), 593–605. https://doi.org/10.4067/S0717-

75182019000500593

Santiago-Saenz, Y. O., Hernández-Fuentes, A. D., Monroy-Torres, R., Cariño-Cortés, R., & Jiménez-Alvarado, R. (2018). Physicochemical, nutritional and antioxidant characterization of three vegetables (Amaranthus hybridus L., Chenopodium berlandieri L., Portulaca oleracea L.) as potential sources of phytochemicals and bioactive compounds. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *12*(4), 2855–2864. https://doi.org/10.1007/S11694-018-9900-7

Santiago-Saenz, Y. O., Monroy-Torres, R., Rocha-Amador, D. O., & Hernández-Fuentes, A. D. (2020). Effect of a supplementation with two quelites on urinary excretion of arsenic in adolescents exposed to water contaminated with the metalloid in a community in the state of Guanajuato, Mexico. *Nutrients*, *12*(1), 1–22. https://doi.org/10.3390/nu12010098

Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, *299*, 152–178. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1

Siti Mahirah, Y., Rabeta, M. S., & Antora, R. A. (2018). Effects of different drying methods on the proximate composition and antioxidant activities of Ocimum basilicum leaves. *Food Research*, *2*(5), 421–428.

Van Den Berg, R., Haenen, G. R. M. M., Van Den Berg, H., & Bast, A. (1999). Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chemistry*, *66*(4), 511–517.

Vargas-Madriz, Á. F., Kuri-García, A., Vargas-Madriz, H., Chávez-Servín, J. L., Ferriz-Martínez, R. A., Hernández-Sandoval, L. G., & Guzmán-Maldonado, S. H. (2020). Phenolic profile and antioxidant capacity of Pithecellobium dulce (Roxb) Benth: a review. *Journal of Food Science and Technology*, *57*(12), 1–21. https://doi.org/10.1007/s13197-020-04453-y

Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, *64*(4), 555–559.

Prevalencia de *Giardia intestinalis* en gatos de Querétaro y su riesgo en salud pública

Nerina P. Veyna-Salazar[1], Germinal J. Cantó-Alarcón[2], Andrea M. Olvera-Ramírez[3], Felipe J. Ruiz-López[4], Rodolfo Bernal-Reynaga[5], Marina Duran-Aguilar[2]

[1] Doctorado en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro, Avenida de las Ciencias S/N Juriquilla, Delegación Santa Rosa Jáuregui, Querétaro, C.P. 76230, México.

[2] Cuerpo Académico Mejoramiento Animal integral. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro, Avenida de las Ciencias S/N Juriquilla, Delegación Santa Rosa Jáuregui, Querétaro, C.P. 76230, México.

[3] Cuerpo Académico Salud Animal y Microbiología Ambiental. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro, Avenida de las Ciencias S/N Juriquilla, Delegación Santa Rosa Jauregui, Querétaro, C.P. 76230, México.

[4] Centro Nacional de Investigación en Fisiología y Mejoramiento Animal. INIFAP-SAGARPA, México. Km1. Carr. Ajuchitlán-Colón. Ajuchitlán Querétaro, C.P. 76280, México.

[5] Cuerpo Académico de Salud Pública. Unidad de Investigaciones en Salud Pública "Dra. Kaethe Willms", Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Ave. de las Américas y Blvd. Universitarios, Ciudad Universitaria, Culiacán, Sinaloa, C.P. 80100, México

Resumen: *Giardia intestinalis* es un protozoario que afecta a humanos, así como a una amplia variedad de animales domésticos, su distribución es mundial con una mayor prevalencia en países en vías de desarrollo en donde los hábitos de higiene no son los adecuados, debido a que el gato puede ser portador de este parásito e infectar al humano es de importancia conocer el riesgo de transmisión. Por esta razón el objetivo de este estudio es estimar la prevalencia del parásito en la población de gatos de Santiago de Querétaro, así como determinar los genotipos presentes en dicha población y si estos juegan un papel importante en la salud pública, siendo este, el primer estudio que se desarrolla en el país. Se llevó a cabo un estudio transversal en donde se recolectaron 200 muestras fecales de gatos de ambos sexos, edad y estrato de procedencia. Las muestras fueron procesadas mediante microscopía por la técnica de flotación obteniendo una prevalencia general del 25%. Los quistes de *Giardia* se presentaron con mayor frecuencia en muestras pastosas y gatos con propietario. Los genotipos encontrados durante este trabajo fueron zoonóticos, específicamente el genotipo A, lo que sugiere que el gato es un factor de riesgo importante en cuanto a la diseminación del parásito hacia los humanos, ubicándolos como un problema en salud pública.

Palabras clave *Giardia*, Zoonosis, genotipos, gatos, Riesgo

Abstract

Giardia intestinalis is a protozoan that affects humans, as well as a wide variety of domestic animals, its distribution is worldwide with a higher prevalence in developing countries where hygiene habits are not adequate, because the cat can be a

carrier of this parasite and infect humans it is important to know the risk of transmission. For this reason, the objective of this study is to estimate the prevalence of the parasite in the cat population of Santiago de Querétaro, as well as to determine the genotypes present in this population and if they play an important role in public health, being this the first study developed in the country. A cross-sectional study was carried out in which 200 fecal samples were collected from cats of both sexes, age and stratum of origin. The samples were processed by flotation microscopy, obtaining an overall prevalence of 25%. Giardia cysts occurred more frequently in pasty samples and cats with owners. The genotypes found during this work were zoonotic, specifically genotype A, which suggests that cats are an important risk factor for the dissemination of the parasite to humans, making them a public health problem**.**

Keywords Giardia, Zoonoses, Genotypes Cats, Risk

1. Introducción

Giardia es transmitido por vía oro-fecal frecuentemente por medio de la ingestión de agua o alimentos contaminados por quistes del parásito o de hospedero a hospedero , los factores de riesgo de infección incluyen infantes en guarderías, trabajadores de guarderías, viajeros de zonas endémicas del protozoario, ingestión de agua contaminada, hospederos con inmunodeficiencia, fibrosis cística y prácticas sexuales orales y anales (Lujan, 2006).

Giardia intestinalis posee un ciclo de vida directo, este presenta dos fases morfológicamente diferentes, por un lado, el infectivo denominado quiste, el cuál es responsable de causar la infección. Puede sobrevivir en el medio ambiente por meses si las condiciones son óptimas (4 °C).

La frecuencia de *Giardia* en humanos en México es muy variable con cifras que oscilan entre el 2 al 50% dependiendo de la región, siendo los niños en edades de prescolar los más propensos a contraer el parásito (Eligio-García, et al., 2005. Estudios en heces de gato describen prevalencias que van del 1 al 43% en países como EE.UU., Japón (de Santis-Kerr et al., 2006; Itoh et al., 2007). Mientras que en Sudamérica las prevalencias van del 6 al 57% en países como Brasil, Colombia y Costa Rica (Coelho et al., 2009; Scorza et al., 2012). *Giardia* tiene un amplio rango de especies a las que afecta. El hecho de que pueda infectar a humanos y animales, eleva la preocupación en relación al riesgo en salud pública a partir de animales de compañía (Thompson et al., 2008). Estos niveles de riesgo dependerán de la prevalencia y los genotipos presentes, los gatos son reservorios de estos parásitos causando problemas de salud pública, afectando la salud de humanos y animales.

La magnitud del riesgo de transmisión de gatos a humanos hasta la fecha no es bien conocida. Se ha descrito anteriormente en estudios moleculares la presencia de diferentes grupos genéticos del parásito. Los humanos son afectados por los grupos A y B, mientras que los perros por los grupos C y D y los gatos por el grupo F. Sin embargo, se ha evidenciado que gatos y perros pueden estar infectados con los genotipos A y B. El grupo A, presenta cuatro subgrupos de AI a AIV. AI y AII en humanos y animales, y AIII y AIV exclusivamente en animales (Abe, et al., 2005). En México solo existen estudios de prevalencia y presencia de genotipos zoonóticos en perros (Godínez-Galaz et al., 2019), sin embargo no hay publicaciones que indiquen prevalencias o genotipos en gatos. Este trabajo pretende

investigar con qué frecuencia se presentan los genotipos que afectan al humano y dar a conocer si el gato es un importante transmisor de este protozoario o de lo contrario presenta con mayor frecuencia su propio genotipo.

2. Material y Métodos

2.1.Lugar de estudio y muestreo

Para el estudio se obtuvieron 200 muestras fecales de gatos provenientes de dos ambientes diferentes, sin propietario de la unidad de control animal municipal (UCAM) y con propietario de clínicas particulares. Las muestras fueron identificadas y se obtuvieron datos de edad, género y consistencia de las heces, posteriormente se trasladaron al laboratorio de parasitología de la Universidad Autónoma de Querétaro en donde se almacenaron a 4ºC.

2.2 Análisis coproparasitoscópico.

Para determinar la frecuencia del parásito se realizó un análisis coproparasitoscópico, por medio de la técnica de flotación con sulfato de zinc. Una vez obtenidos los animales positivos, se realizó un pool de muestras, esto con el fin de obtener un mayor volumen para realizar una concentración de quistes por gradientes de sacarosa (Minvielle et al., 2008a).

2.3 Extracción de ADN

Las heces positivas se agruparon en 7 grupos de 4 muestras cada uno, esto con el fin de obtener los 5 gr necesarios para realizar una concentración de quistes (Minvielle et al., 2008b) previo a la extracción de ADN, dichos grupos se clasificaron por estrato, sexo y edad.

La obtención de ADN se realizó siguiendo la metodología propuesta por Babaei, et al., en el 2011 con algunas modificaciones.

2.4 PCR

Se amplificó el gen ß-giardin utilizando los iniciadores G7 AAGCCCGACGACCTCACCCGCAGT GC, G759 GAGGCCGCCCTGGATCTTCGAGAC GAC para una primera reacción y se realizó una segunda reacción con los iniciadores G376 CATAACGAC-GCCATCGCGGCTCTCAGGAA y G759. (Cacciò et al., 2019).

2.5 RFLP

Con el fin de obtener los genotipos del parásito se realizó una digestión, haciendo uso del segundo producto de PCR (380 pb) utilizando la enzima HhaI, la reacción se realizó en un volumen total de 10.25 µl que contiene 10 µl del segundo producto de PCR y 0.25 µl de enzima, posteriorente se incubo a baño maría a 37ºC durante 2 hr.

2.6 Secuenciación

Para verificar que el amplicón obtenido pertenecía a *Giardia intestinalis* se mando a secuenciar el segundo producto de PCR con un peso de 380 pb, utilizando los iniciadores G7 y G376 antes mencionados. La secuenciación fue realizada por el laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad (LANGEBIO- CINVESTAB, Irapuato, Guanajuato, México). Las secuencias se compararon con las del GenBank mediante una busqueda BLAST para su validación.

3. Resultados

De un total de 200 muestras recolectadas se obtuvo la siguiente distribución: por estrato, 103 con propietario y 97 sin propietario; por edad, 72 menores a 6 meses y 128 mayores a 6 meses; por género, 109 hembras y 91 machos; por consistencia de las heces 139 firmes y 61 pastosas.

3.1. Estudio coproparasitoscópico

Con base en la técnica de flotación por sulfato de zinc, se detectaron quistes por microscopía en 50 muestras de 200, obteniendo una prevalencia general del 25%. A las muestras analizadas se les realizó una prueba estadística de xi^2 para conocer si existía asociación de factores (cuadro 1). La detección de *G. intestinalis* fue similar en gatos con propietario, que en gatos sin propietario ($P>0.05$), en cuanto a la edad la prevalencia en gatos jóvenes fue mayor (33%) que en adultos (20%) ($P<0.05$). Por consistencia de las heces, la prevalencia del parásito fue mayor en gatos que presentaron heces pastosas (44%) a los que presentaron heces firmes (16%) ($P<0.05$). Por sexo la prevalencia se mantuvo similar en ambos grupos, machos (24%) hembras (24%) ($P>0.05$). En cuanto a la edad se observa una mayor prevalencia en los animales jóvenes que en adultos, de igual manera los animales que presentaron heces pastosas presentaron una mayor prevalencia, obteniendo una $P< 0.05$.

3.2 PCR y Genotipificación

Los siete grupos (pools de 4 muestras c/u), se formaron de acuerdo a la edad, sexo y origen de los animales con el fin de obtener una mayor cantidad de muestra para extracción y una mayor cantidad de quistes para la amplificación del gen ß-giardin. Se logró la amplificación de los 7 pools, los fragmentos obtenidos fueron de 753 pb para el primera PCR y 384pb para la segunda reacción (Figura 1).

Cuadro 1. Distribución de las muestras y análisis de asociación estadístico por estrato, edad, consistencia de las heces y género.

	Positivo	*Negativo*	*Prevalencia (%)*	*Valor de P*	*Odds Ratio*
Total	50	150	25%		

Estrato					
Con propietario	29	74	28%	0.28827	1.41
Sin propietario	21	76	21%		
Edad					
< 6 meses	24	48	33%	0.041227	1.96
> 6 meses	26	102	20%		
Consistencia de las heces					
Pastosas	27	34	44%	0.000031	4.00
Firmes	23	116	16%		
Sexo					
Machos	22	69	24%	0.805723	0.92
Hembras	28	81	25%		

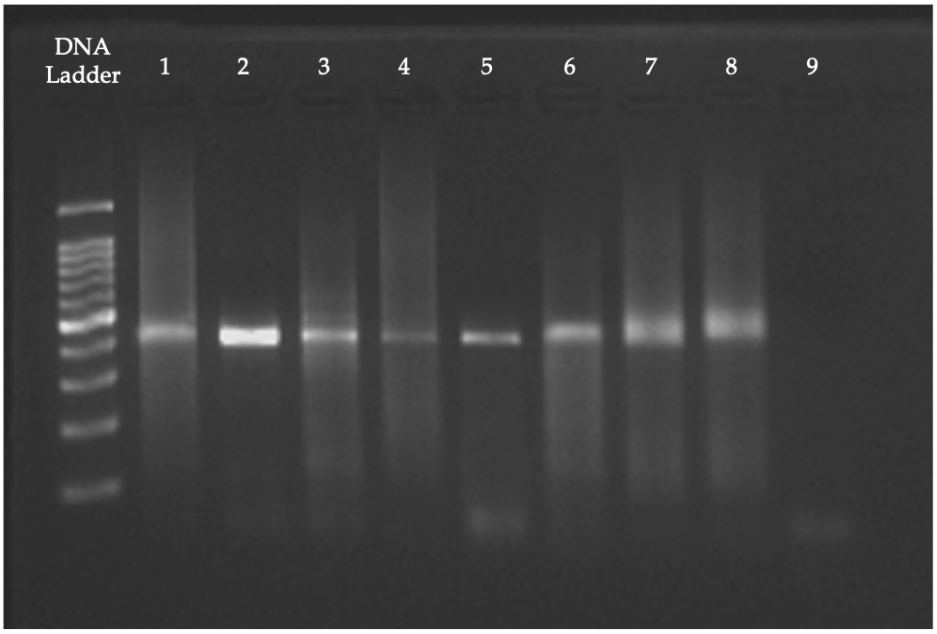


Figura 1. Segunda reacción de PCR fragmento de 384 pb (G. intestinalis). Carril 1-8 muestras, 9 control negativo.

Se realizó una reestriccción enzimática a los aislados previamente amplificados correspondientes al segundo producto de PCR (384 pb), con el fin de obtener su genotipo, resultando que un 100% presentaron el genotipo A, tres muestras resultaron con el genotipo A1 (70, 100 y 190 pb) y 4 muestras con el genotipo A2 (70 y 210pb) (Figura 2).

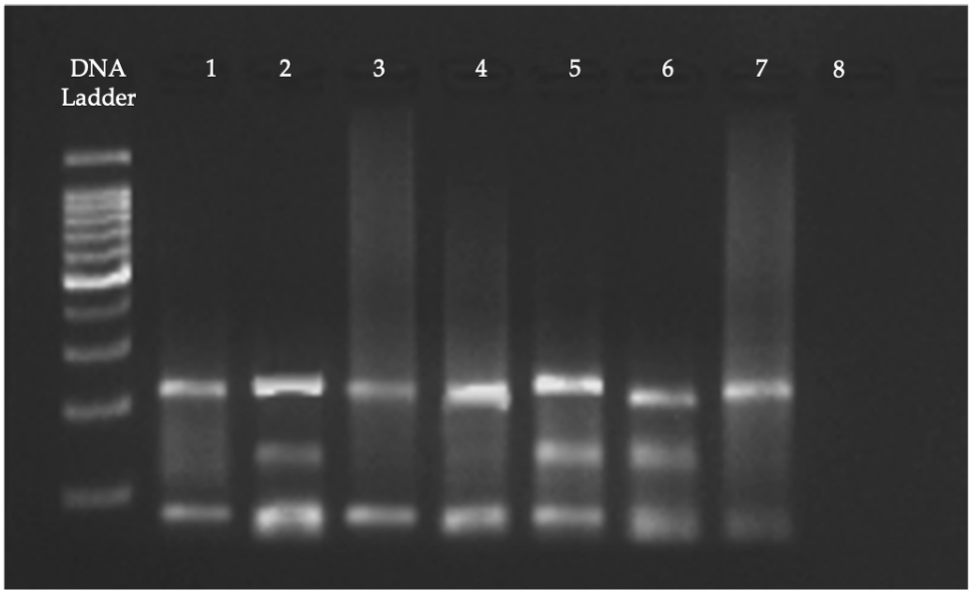


Figura 2. Análisis RFLP del fragmento de 384 pb (G. intestinalis). Los carriles 2, 5 y 6 corresponden al subgenotipo AI (190, 100 y 70 pb) y los carriles 1, 3, 4 y 7 corresponden al subegenotipo AII (210 y 70).

4. Discusión

La prevalencia y genotipos presentes indican que los gatos representan un riesgo importante para la transmisión del protozoario a los humanos, siendo este el primer estudio llevado a cabo en México. La prevalencia general del protozoario fue del 25%, similar a la obtenida por estudios llevados a cabo en gatos de Colombia (López-Arias et al., 2019), sin embargo fue menor a la obtenida por Dall'Agnol y colaboradores en Brasil, en el 2010, la prevalencia obtenida en este estudio podría estar subestimada debido a que la excreción de quistes se puede dar de manera intermitente y para el presente trabajo solo se analizó una muestra en lugar de las 3 recomendadas (Decock et al., 2003).

Los resultados presentes en este estudio en cuanto la edad fueron significativos ($p>0.05$), los gatos jóvenes presentaron una mayor prevalencia del protozoario (30%) que los adultos (21%), estos resultados coinciden con los publicados por NiKolic en donde los gatos jóvenes presentaron una frecuencia del 30.4% y los adultos del 19%, por lo tanto la edad de los animales podría representar un riesgo para la presencia del protozoario debido a que los cachorros aun no desarrollan una inmunidad adaptativa en contra de este y son considerados como una amplia fuente de infección por las altas cantidades de quistes excretados en heces por gramo (Nikolic et al., 2002). La consistencia de las heces es importante en la presencia del protozoario debido a que uno de los principales signos de este es la diarrea o las heces pastosas con esteatorrea, los resultados obtenidos en el presente estudio fueron significativos ($P<0.05$) demostrando que los gatos que presentaron heces pastosas (44%) tienen más posibilidades de presentar el parásito que aquellos que presentaron heces firmes (16%) (Cuadro1), estos resultados son similares a estudios en donde los animales que presentaron heces

diarreicas tuvieron mayor frecuencia del parásito (Sursal et al., 2020).

Respecto al análisis molecular, la estrategia de realizar pooles con el fin de obtener la mayor cantidad posible de muestra para la extracción de ADN, ha demostrado ser rentable y efectiva, arrojando resultados precisos, además de ser utilizada en el ámbito de la medicina veterinaria para una estimación rápida y segura en estudios de prevalencia basados en resultados de microscopía . Los pooles se han hecho en estudios moleculares de igual manera para aumentar la sensibilidad diagnóstica a nivel de grupo, a su vez se ha demostrado que a nivel PCR la agrupación de muestras es un método fiable para la detección de microorganismos (Clasen et al., 2016).

En relación al PCR se realizó una amplificación de cada uno de los 7 pooles utilizando únicamente el gen ß-giardin, debido a que el gen ha demostrado ser de los más eficaces para la detección del protozoario, además de ser altamente sensible para la caracterización genotipica del mismo, por lo que dicho gen cumple con el objetivo del presente trabajo (Covacin et al., 2011).

Los resultados mostraron únicamente el ensamblaje A, lo que indica que el gato podría ser un transmisor importante de este protozoario hacia los humanos, lo que coincide con otros estudios en donde los genotipos zoonóticos predominaron en su población (Procesi et al., 2022). Se realizó una sub genotipificación para identificar si el tipo de sub ensamblaje representa un riesgo para la salud pública, demostrando que el sub genotipo AII estuvo presente con una mayor proporción en este estudio (57%) sobre el genotipo A1 (42%), coincidiendo con lo publicado por Procesi et al. 2022, debido a que el sub genotipo AII se encuentra presente de manera predominante en humanos eleva la preocupación de una posible transmisión zoonótica . Al vagar libremente, los gatos pueden interactuar con más animales y llevar el parásito a sus hogares generando problemas de salud en los seres humanos, además de fungir como una fuente importante de transmisión a sus congéneres y a otras especies.

El estrecho contacto entre los humanos y los gatos, debe tomarse en consideración debido la alta prevalencia y genotipos observados.

NOTA. MUCHO AGRADECERE QUE, DE SER ACEPTADO Y ELEGIDO COMO UNO DE LOS TRABAJOS A PUBLICAR EN LA REVISTA NTHE, POR FAVOR ESTO NO SE REALICE, YA QUE POR MOTIVOS DE MI TITULACIÓN EL TRABAJO DEBE SER PUBLICADO EN UNA REVISTA JCR

5. Referencias bibliográficas

Abe, N., Kimata, I., & Tokoro, M. (2005). Genotyping of Giardia isolates from humans in Japan using the small subunit ribosomal RNA and glutamate dehydrogenase gene sequences. Japanese Journal of Infectious Diseases, 58(1), 57–58.

Babaei, Z., Oormazdi, H., Rezaie, S., Rezaeian, M., & Razmjou, E. (2011). Giardia intestinalis: DNA extraction approaches to improve PCR results. Experimental Parasitology, 128(2), 159–162. doi: 10.1016/j.exppara.2011.02.001

Cacciò, S. M., de Giacomo, M., & Pozio, E. (2019). Sequence analysis of the b-giardin gene and development of a polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism assay to genotype Giardia duodenalis cysts from

human faecal samples q. Retrieved from www.parasitology-online.com

Clasen, J., Mellerup, A., Olsen, J. E., Angen, Ø., Folkesson, A., Halasa, T., Toft, N., & Birkegård, A. C. (2016). Determining the optimal number of individual samples to pool for quantification of average herd levels of antimicrobial resistance genes in Danish pig herds using high-throughput qPCR. Veterinary Microbiology, 189, 46–51. doi: 10.1016/j.vetmic.2016.04.017

Coelho, W. M. D., do Amarante, A. F. T., de Soutello, R. V. G., Meireles, M. V., & Bresciani, K. D. S. (2009). Ocorrência de parasitos gastrintestinais em amostras fecais de felinos no município de Andradina, São Paulo. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria, 18(2), 46–49. doi: 10.4322/rbpv.01802010

Covacin, C., Aucoin, D. P., Elliot, A., & Thompson, R. C. A. (2011). Genotypic characterisation of Giardia from domestic dogs in the USA. Veterinary Parasitology, 177(1–2), 28–32. doi: 10.1016/j.vetpar.2010.11.029

Dall´agnol, L. P., Otto, M. A., da Silva, A. S., & Gonzalez Monteiro, S. (2010). Gastrointestinal parasites in naturally infected cats in the municipality of Santa Maria in Rio Grande do Sul, Brazil. In Acta Veterinaria Brasilica.

de Santis-Kerr, A. C., Raghavan, M., Glickman, N. W., Caldanaro, R. J., Moore, G. E., Lewis, H. B., Schantz, P. M., & Glickman, L. T. (2006). Prevalence and risk factors for Giardia and coccidia species of pet cats in 2003-2004. Journal of Feline Medicine and Surgery, 8(5), 292–301. doi: 10.1016/j.jfms.2006.02.005

Decock, C., Cadiergues, M. C., Larcher, M., Vermot, S., & Franc, M. (2003). Comparison of two techniques for diagnosis of giardiasis in dogs. Parasite, 10(1), 69–72. doi: 10.1051/parasite/2003101p69

Eligio-García, L., Cortes-Campos, A., & Jiménez-Cardoso, E. (2005). Genotype of Giardia intestinalis isolates from children and dogs and its relationship to host origin. Parasitology Research, 97(1), 1–6. doi: 10.1007/s00436-005-1368-9

Godínez-Galaz, E. M., Veyna-Salazar, N. P., Olvera-Ramírez, A. M., Milián-Suazo, F., Perea-Razo, C. A., Bernal-Reynaga, R., & Cantó-Alarcón, G. J. (2019). Prevalence and zoonotic potential of giardia intestinalis in dogs of the central region of Mexico. Animals, 9(6). doi: 10.3390/ani9060325

Procesi, I., Carnio, A., Berrilli, F., Montalbano Di Filippo, M., Scarito, A., Amoruso, C., Barni, M., Ruffini, M., Barlozzari, G., Scarpulla, M., & de Liberato, C. (2022). Giardia duodenalis in colony stray cats from Italy. Zoonoses and Public Health, 69(1), 46–54. doi: 10.1111/zph.12894

Itoh, N., Muraoka, N., Saeki, H., Aoki, M., & Itagaki, T. (n.d.). Prevalence of Giardia intestinalis Infection in Dogs of Breeding Kennels in Japan.

López-Arias, Á., Villar, D., López-Osorio, S., Calle-Vélez, D., & Chaparro-Gutiérrez, J. J. (2019). Giardia is the most prevalent parasitic infection in dogs and cats with diarrhea in the city of Medellín, Colombia. Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports, 18. doi: 10.1016/j.vprsr.2019.100335

Lujan, H. D. (2006). Giardia y giardiasis. Medicina, 66(1), 70–74.

Minvielle, M. C., Molina, N. B., Polverino, D., & Basualdo, J. A. (2008a). First genotyping of Giardia lamblia from human and animal feces in Argentina, South America. Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz, 103(1), 98–103. doi: 10.1590/S0074-02762008000100015

Nikolic, A., Dimitrijevic, S., Djurkovic-Djarkovic, O., Bobic, B., & Maksimovic-Mihajlovic, O. (2002). Giardiasis in dogs and cats in the Belgrade area. Acta Veterinaria, 52(1), 43–48.

Scorza, A. v., Ballweber, L. R., Tangtrongsup, S., Panuska, C., & Lappin, M. R. (2012). Comparisons of mammalian Giardia duodenalis assemblages based on the β-giardin, glutamate dehydrogenase and triose phosphate isomerase genes. Veterinary Parasitology, 189(2–4), 182–188. doi: 10.1016/j.vetpar.2012.04.032

Sursal, N., Simsek, E., & Yildiz, K. (2020). FELINE GIARDIASIS IN TURKEY: PREVALENCE AND GENETIC AND HAPLOTYPE DIVERSITY OF GIARDIA DUODENALIS BASED ON THE β-GIARDIN GENE SEQUENCE IN SYMPTOMATIC CATS. The Journal of

Parasitology, 106(5), 699–706. doi: 10.1645/19-183

Thompson, R. C. A., Palmer, C. S., & O'Handley, R. (2008). The public health and clinical significance of Giardia and Cryptosporidium in domestic animals. Veterinary Journal, 177(1), 18–25. doi: 10.1016/j.tvjl.2007.09.022

Producción de carotenoides en sistema de fermentación electrostática

IAG Sandra Denisse Zavala Aranda[1]; Dr. Aldo Amaro Reyes[2]; Dr. José Utrilla Carreri[3]; Dr. Carlos Regalado González[2]; Dr. Jorge Noel Gracida Rodríguez[2]; Dra. Silvia Lorena Amaya Llano[2].

Resumen

Los colorantes en la industria alimentaria se encuentran dentro de los aditivos de mayor interés por su aporte de atractivo visual en los productos. La mayoría de estos son sintéticos pero su ingesta afecta a los consumidores con sensibilidad a los químicos, por lo tanto, obtener pigmentos naturales de los metabolitos de plantas y microorganismos resulta una alternativa de solución a tal problemática. Sin embargo, los retos que se presentan para emplear únicamente colorantes naturales en los alimentos es la escasez de materias primas, en el caso de extracción de estos de fuentes vegetales, ya que estas se emplean para otros fines. Por otra parte, producirlos con microorganismos conlleva mayor tiempo de proceso y la cantidad producida no cubre la demanda de la industria alimentaria. En la presente investigación se evaluó el efecto de la relación C/N (20-90) para identificar la condición que propició la mayor producción de carotenoides. También, se empleó un sistema de fermentación electrostática conformada por cátodo de acero inoxidable y ánodo de alambre de cobre aislado, calibre 24, para aplicación de voltaje (0-30 V) de manera continua e intermitente durante el proceso fermentativo de *Rhodotorula mucilaginosa*. Se demostró que la relación C/N 50 fue el tratamiento con mayor producción de biomasa y carotenoides que requiere menor cantidad de fuente de carbono. Además, la aplicación de voltaje a 10 V de forma continua favorece el crecimiento de *R. mucilaginosa* con un 30% de reducción en el tiempo de duplicación, comparado con el control.

Palabras clave: Colorantes alimentarios, relación C/N, fermentación electrostática, *Rhodotorula mucilaginosa*, carotenoides.

Abstract

Colorants in the food industry are among the most interesting additives for their contribution to the visual attractiveness of products. Most of these are synthetic but their intake affects consumers with sensitivity to chemicals, therefore, obtaining natural pigments from plant metabolites and microorganisms is an alternative solution to this problem. However, the challenges to use only natural colorants in food is the scarcity of raw materials, in the case of extraction of these from vegetable sources, since these are used for other purposes. On the other hand, producing them by microorganisms involves longer processing time and the amount produced does not meet the demand of the food industry. In this research, the effect of the C/N ratio (20-90) was evaluated to identify the condition that led to the highest carotenoid production. Also, an electrostatic fermentation system consisting of a stainless steel cathode and a 24-gauge insulated copper wire anode was used to apply voltage (0-30 V) continuously and intermittently during the fermentation process by *Rhodotorula mucilaginosa*. It was shown that the C/N 50 ratio was the treatment with the highest biomass and carotenoid production requiring the least amount of carbon source. In addition, the application of voltage at 10 V continuously favors the growth of *R. mucilaginosa* with a 30% reduction in doubling time compared to the control.

[1] IAG Sandra Denisse Zavala Aranda es estudiante de posgrado DIPA, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Cerro de las Campanas S/N, Col. Las Campanas, 76010 Santiago de Querétaro, Qro, México. Szavala16@alumnos.uaq.mx (autor corresponsal).

[2] Profesor- investigador de posgrado DIPA, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Cerro de las Campanas S/N, Col. Las Campanas, 76010 Santiago de Querétaro, Qro, México. aldo.amaro@uaq.edu.mx regcarlos@gmail.com gracidaj@netscape.net samayal@uaq.edu.mx

[3] Dr. José Utrilla Carreri es profesor-investigador del Centro de Ciencias Genómicas de la Universidad Autónoma de México, Cuernavaca, Morelos. utrilla@ccg.unam.mx

Key words: Food colorants, C/N ratio, electrostatic fermentation, *Rhodotorula mucilaginosa*, carotenoids.

Introducción

El color es uno de los principales atributos de los alimentos que se asocia con frescura, calidad y tiempo de vida útil. Durante generaciones hemos recibido instrucciones y adquiriendo experiencia respecto al color correspondiente para cada producto alimenticio. Por lo tanto, buscamos que se conserven los colores característicos a pesar de ser sometidos a procesos que degradan tales pigmentos. Una de las alternativas más frecuentes para estandarizar el color en los alimentos procesados es adicionar colorantes similares a los originales de ese mismo alimento. Del mismo modo, existe una tendencia por cambiar el color de los alimentos con el objetivo de llamar la atención de los consumidores y para ello se emplean colores brillantes e incluso algunos poco convencionales en alimentos como neón, plateado y dorado.

De manera general, los colorantes se clasifican en naturales y sintéticos. Los primeros se refieren a extracciones de fuentes vegetales y microorganismos. El segundo caso aplica para los tintes obtenidos mediante síntesis química, principalmente por diazotación de aminas aromáticas, de los cuales se ha demostrado poder carcinogénico, reacciones alérgicas y otras consecuencias adversas a la salud de los consumidores. De acuerdo con lo anterior, el área de oportunidad para la industria es ofrecer una alternativa de sustitución de tales pigmentos y en su lugar se empleen únicamente los de origen natural (Coultate y Blackburn, 2018). Mientras tanto se continua con el uso de colorantes sintéticos en cantidades permitidas, según lo indicado en los acuerdos correspondientes de cada país para uso de aditivos en alimentos.

El uso de colorantes naturales presenta un reto, ya que la principal fuente de obtención es directamente extraerlos de vegetales, por lo tanto, la cantidad que la industria alimentaria demanda es mayor a la cantidad de materia prima que se dispone para tal fin. La mayoría de los vegetales ricos en pigmentos son consumidos en fresco o como ingrediente en otros productos, la concentración de tintes en sus células es baja, aunado a las diversas etapas del proceso para su extracción, encarece los colorantes y resulta poco viable a gran escala.

Diversos estudios han reportado diferencias significativas en síntesis de metabolitos de interés de *Rhodotorula glutinis* al variar las fuentes de carbono y nitrógeno durante la fermentación, sin embargo, indican que la producción de biomasa resulta favorecida a menor cantidad de carbono (Braunwald et al., 2013; Saenge et al., 2011; Tkáčová et al., 2017; Zhang et al., 2014). Libkind et al., (2004) reportan que no se encontraron cambios significativos en la síntesis de carotenoides al aumentar la relación C/N en niveles de 5, 20 y 100 durante la fermentación de *Rhodotorula mucilaginosa.* Por otra parte, da Silva et al., (2020), reportan que la síntesis de carotenoides se ve favorecida por la limitación de un nutriente, principalmente nitrógeno, emplear una relación C/N alta representa mayor cantidad de glucosa y menor cantidad de sulfato de amonio, favoreciendo consecuentemente la síntesis de pigmentos.

Existe una amplia gama de biorreactores industriales dentro de la que se encuentran los reactores electroquímicos, por otro lado, los que deben fusionarse simultáneamente para optimizar electroquímicos, biológicos o hidráulicos. De acuerdo con el tipo de reacción por inducir, componentes del medio de cultivo, organismo y producto de interés, será el biorreactor por emplear (Schievano et al., 2016).

En recientes investigaciones se ha aplicado fermentación electrostática para mejorar la producción de metabolitos secundarios en levaduras. Tal es el ejemplo del etanol producido por *Saccharomyces cerevisiae* así como producción de lípidos y ácidos orgánicos por *Rhodosporium toruloides* (Arbter et al., 2019; Mathew et al., 2015)

Por lo tanto, en la presente investigación se evaluó el efecto de la relación C/N sobre la producción de biomasa y carotenoides por *R. mucilaginosa*, empleando un medio de fermentación restringido de nutrientes, ante diferentes relaciones C/N, compuesto por glucosa como fuente de carbono y sulfato de

amonio como fuente de nitrógeno. Posteriormente se estimó el efecto de la aplicación de diferentes voltajes, tanto continuos como intermitentes (0-30 V), sobre la producción de carotenoides en el sistema de fermentación electrostática. Finalmente, se analizó el consumo de azúcares reductores y generación de biomasa en el tratamiento que propició la mayor producción de carotenoides por *R. mucilaginosa* en el sistema de fermentación electrostática.

Metodología

Material biológico

La levadura *Rhodotorula mucilaginosa* que se empleó en la presente investigación pertenece a la colección de cepas de la planta piloto de Biotecnología de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro y cuenta con identificación molecular por el Centro de Biotecnología Genómica del Instituto Politécnico Nacional. Se encontraba conservada a -70 °C en suspensión con glicerol al 20 % v/v.

Pre-inóculo

El medio líquido que se empleó fue YPS (g/L): 10 extracto de levadura, 20 peptona de caseína y 20 sacarosa, pH 5. *R. mucilaginosa* se inoculó en 15 mL de medio YPS y se incubó durante 24 h a 30 °C y 150 rpm para activarla. Se empleó medio agar YPD (g/L): 10 extracto de levadura, 20 peptona de caseína, 20 sacarosa y 15 agar base, pH 5. Se vertió el agar YPD en cajas Petri, se inoculó la levadura y se incubó durante 48 h a 30 °C. Se tomó una Unidad Formadora de Colonias (UFC) definida y se inoculó en 15 mL de medio YPS, se incubó durante 15 h a 30 °C y 150 rpm. Se centrifugó a 4,500 x *g*, a 4 °C durante 15 min para sedimentar las células, las cuales se suspendieron en una solución de glicerol 20 % y medio YPS 80 %

Medio de fermentación

El medio de fermentación se elaboró de acuerdo con lo reportado por Wang et al. (2017) ajustando las cantidades de glucosa y manteniendo constante la cantidad de sulfato de amonio para establecer las relaciones C/N 20, 50, 70 y 90, de acuerdo con los tratamientos para esta investigación: glucosa 11.0, 27.5, 38.5 y 49.5 g L^{-1}, $(NH_4)_2SO_4$ 1 g L^{-1}, KH_2PO_4 1 g L^{-1}, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 g L^{-1}, $CaCl_2$ 0.1 g L^{-1} y NaCl 0.3 g L^{-1}, el pH se ajustó a 7.0

Sistema de fermentación electrostática

El sistema de fermentación electrostática fue diseñado y probado por el grupo de trabajo del parque biotecnológico de la Universidad Autónoma de Querétaro. Consta de un recipiente de polipropileno de 5.2 x 7.5 x 5 cm de volumen, con 100 mL de medio de fermentación inoculado con levadura *R. mucilaginosa*, un electrodo de acero inoxidable como cátodo y el biorreactor embobinado con alambre de cobre aislado, calibre 24 como ánodo. En el cual se aplicaron los voltajes de 0 V, 10 V, 20 V y 30 V, se aplicó la corriente eléctrica de forma continua (C) e intermitente (I). El electrodo de acero inoxidable, así como el cable de cobre se conectaron a una fuente con voltaje en corriente continua modelo GPS-3030DD y un amperímetro (Mut-33, Truper, China). El electrodo se sujetó de la tapa del recipiente y se conectó a una fuente de voltaje tal como se muestra en la Figura 1.



Figura 1. Sistema de fermentación electrostática en incubadora. 1) Fuente de poder, 2) Biorreactores, 3) Placa de agitación (Elaboración propia).

Determinación de biomasa

La biomasa se determinó como peso seco celular (PSC), se tomaron 10 mL de muestra de cada biorreactor a las 0 h y 72 h, inicio y fin de la fermentación. Se centrifugaron a 1600 x *g* por 15 min, la pastilla celular se lavó dos veces con agua destilada, se suspendió en 2 mL de agua destilada, se vertió en una charola de aluminio y se secó en el horno a 105 °C durante 2 h monitoreando la masa hasta llegar a peso constante (Kanzy et al., 2015) en una balanza analítica (Pioneer, modelo PX224/E AM- Ohaus).

Determinación de carotenoides

Se tomaron 10 mL de muestra del biorreactor y se centrifugaron a 1600 x *g* por 15 min, la pastilla celular se lavó tres veces con agua destilada. La pastilla celular restante se suspendió en 1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) precalentado a 55 °C, se agitó en un vórtex durante 10 s y se centrifugó a 4,500 x *g* durante 15 min. El proceso de lavado con DMSO, agitación y centrifugación se repitió tres veces. El sobrenadante obtenido se empleó como muestra para medir la absorbancia en el espectrofotómetro (Thermoscientific, Genesys 10s UV-Vis spectrophotometer) a una densidad óptica (DO) de 501 nm. Posteriormente, se emplearon las fórmulas para cálculo de carotenoides por volumen (Cv) como se muestra en la Ecuación 1 y carotenoides en masa (Cm) como se muestra en la Ecuación 2 (Kanzy et al., 2015).

$$C_V\left(\frac{mg}{L}\right) = \frac{A * V * 10^6}{E^{1\%}_{1cm} * 100} \qquad \text{Ecuación 1}$$

Donde Cv es la cantidad de carotenoides en el medio líquido, se expresa en mg/L, A es la lectura de absorbancia, V es el volumen de la muestra inicial, expresado en L, $E\frac{1\%}{1cm}{}^{1\%}{}_{1cm}$ corresponde al coeficiente de extinción, que para carotenoides se considera el valor de 2040 de acuerdo con lo reportado por Kanzy et al. (2015).

$$C_m\left(\frac{mg}{g}\right) = \frac{C_V}{PSC} \qquad \text{Ecuación 2}$$

Donde Cm es la cantidad de carotenoides con relación a la cantidad de biomasa, expresada en mg/g, PSC es el peso seco celular y se expresa en g.

Cuantificación de consumo de azúcares reductores

Se tomó el sobrenadante de las muestras empleadas para cuantificación de carotenoides y se cuantificaron los azúcares reductores por el método del ácido dinitrosalicílico (DNS) (Miller, 1959), empleando una curva estándar de glucosa y el resultado se expresó en gramos de glucosa reducida por litro.

Análisis estadístico

Todas las determinaciones, así como cada control, se realizaron por triplicado y se reportaron como la media de los ensayos ± desviación estándar. Se aplicó el ANOVA, seguido de una comparación múltiple por la prueba de Tuckey o Dunnett, cuando se comparó con un control, considerando un $p< 0.05$

Resultados

En la Tabla 1 se muestra la producción de biomasa y carotenoides por *R. mucilaginosa* ante las diferentes relaciones C/N (20-90). La comparación de medias por la prueba de Tuckey ($p< 0.05$) resultó que la relación C/N 20 produjo menor cantidad de biomasa con 0.79 ± 0.06 g L^{-1b}, mientras que la relación C/N 50 tuvo la mayor producción de biomasa con 1.41 ± 0.27 g L^{-1a}. Sin embargo, las relaciones C/N 70 y 90 no presentan diferencias significativas con valores de 1.18 ± 0.10 y 1.28 ± 0.24 g L^{-1ab}, respectivamente y menores que la relación C/N 50.

Respecto a la producción de carotenoides ante las cuatro relaciones C/N durante 72 h, se puede apreciar que la síntesis de estos pigmentos presentó un comportamiento similar a la producción de biomasa por *R. mucilaginosa*. De nueva cuenta, la relación C/N 20 resultó con el valor más bajo con 29.16 ± 5.65 µg L^{-1b}. Sin embargo, considerando el análisis estadístico, la producción de carotenoides de las relaciones C/N 50, 70 y 90 resultan similares con valores de 59.64 ± 8.38, 53.01 ± 0.74 y 62.09 ± 0.28 µg L^{-1a}, respectivamente. También se estimó la productividad de carotenoides respecto a la biomasa,

la cual no arrojó diferencias significativas entre los tratamientos.

Tabla 1. Producción de biomasa y carotenoides por R. mucilaginosa a diferentes relaciones C/N.

Relación C/N	Biomasa (g/L)	Carotenoides (µg/L)	Productividad (µg/g)
20	0.79 ± 0.06^{b}	29.16 ± 5.65^{b}	18.46 ± 3.83^{a}
50	1.41 ± 0.27^{a}	59.64 ± 8.38^{a}	20.97 ± 1.72^{a}
70	1.18 ± 0.10^{ab}	53.01 ± 0.74^{a}	22.34 ± 2.05^{a}
90	1.22 ± 0.24^{ab}	62.09 ± 0.28^{a}	24.73 ± 5.32^{a}
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.			

En la Tabla 2 se presenta la cuantificación de azúcares reductores presentes en el medio de cultivo al inicio y final de la fermentación para cada relación C/N. En los tratamientos de las relaciones C/N 20 y 50 se observó un consumo de 23.81 y 13.57 % respectivamente. Sin embargo, en las relaciones C/N 70 y 90 se presentó un incremento en la concentración de azúcares reductores en el medio al final de la fermentación, con 4.49 y 4.64 % de diferencia, respectivamente.

Tabla 2. Cuantificación de azúcares reductores en el medio de fermentación.

Relación C/N	0 h ($g_{glucosa}$/ L $_{medio}$)	72 h ($g_{glucosa}$/ L $_{medio}$)	Dif. %
20	18.26 ± 0.01	13.91 ± 5.67	23.81
50	50.24 ± 0.01	43.42 ± 5.66	13.57
70	86.31 ± 0.02	90.19 ± 13.49	4.49
90	100.23 ± 0.2	104.88 ± 22.37	4.64

En la Tabla 3 se muestran los resultados de la producción de biomasa y carotenoides por *R. mucilaginosa* al aplicar corriente eléctrica de forma continua a diferentes voltajes (0-30 V) en el sistema de fermentación electrostática. La comparación de medias demostró que no se encuentran diferencias significativas en la producción de biomasa. Sin embargo, la síntesis de carotenoides resultó beneficiada significativamente en el tratamiento al que se aplicaron 10 V obteniendo la concentración más alta con 110.60 ± 4.91 µg L^{-1b}. Seguido por los tratamientos con aplicación de voltaje a 20 y 30 V con 100.80 ± 2.83 y 96.10 ± 4.82 µg L^{-1ab}, respectivamente. Por su parte, en el cálculo de productividad resultó diferencia favorecedora al aplicar voltaje, en comparación con el control (0 V) que obtuvo el menor valor con 45.54 ± 3.57 µg g^{-1a}. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos con aplicación de voltaje a 10, 20 y 30 V con valores de 62.70 ± 1.88, 63.40 ± 4.37 y 62.23 ± 3.41 µg g^{-1b}, respectivamente.

Tabla 3. Producción de biomasa y carotenoides por *R. mucilaginosa* a diferentes voltajes en sistema de fermentación electrostática.

Voltaje	Biomasa (g/L)	Carotenoides (µg/L)	Productividad (µg/g)
0	1.72 ± 0.14^{a}	77.80 ± 0.28^{a}	45.54 ± 3.57^{a}
10	1.76 ± 0.05^{a}	110.60 ± 4.91^{b}	62.70 ± 1.88^{b}
20	1.60 ± 0.09^{a}	100.80 ± 2.83^{ab}	63.40 ± 4.37^{b}
30	1.54 ± 0.06^{a}	96.10 ± 4.82^{ab}	62.23 ± 3.41^{b}
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.			

También se realizaron experimentos aplicando corriente eléctrica de forma intermitente, encendiendo (c) y apagando (s) la fuente de poder durante diferentes intervalos de tiempo, como se muestra en la Tabla 4. Se observó que el tratamiento con intervalos de 12 h con voltaje y 12 h sin voltaje hasta concluir el periodo de fermentación benefició el crecimiento de R. mucilaginosa expresado como biomasa y a su vez la síntesis de carotenoides. El resto de los tratamientos no presentaron diferencias significativas. Por otra parte, la productividad tampoco mostró diferencias significativas.

Tabla 4. Producción de biomasa y carotenoides por *R. mucilaginosa* a 10 V con intervalos de intermitencia en sistema de fermentación electrostática.

Nivel	Biomasa (g/L)	Carotenoides (µg/L)	Productividad (µg/g)
0 V	1.38 ± 0.07[a]	81.34 ± 5.40[a]	61.65 ± 3.51[a]
12s/48c	1.35 ± 0.04[a]	87.74 ± 1.69[a]	65.13 ± 1.22[a]
24s/36c	1.30 ± 0.02[a]	90.35 ± 3.93[a]	69.61 ± 3.74[a]
24s/24c /12s	1.35 ± 0.04[a]	80.71 ± 18.96[a]	59.51 ± 13.15[a]
12s/12c /12s /12c/12s	1.93 ± 0.03[b]	135.45 ± 14.67[b]	73.70 ± 4.54[a]

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Se seleccionó el tratamiento con mejor resultado de ambas formas de aplicación de voltaje, continua (C) e intermitente (I) y se llevó a cabo la evaluación comparativa con el control, tomando muestras cada 12 h para monitorear la producción de biomasa (Figura 2) y carotenoides (Figura 3), en las que se aprecia que el mejor tratamiento fue el de aplicación continua de 10 V, seguido por el de aplicación intermitente de 10 V.

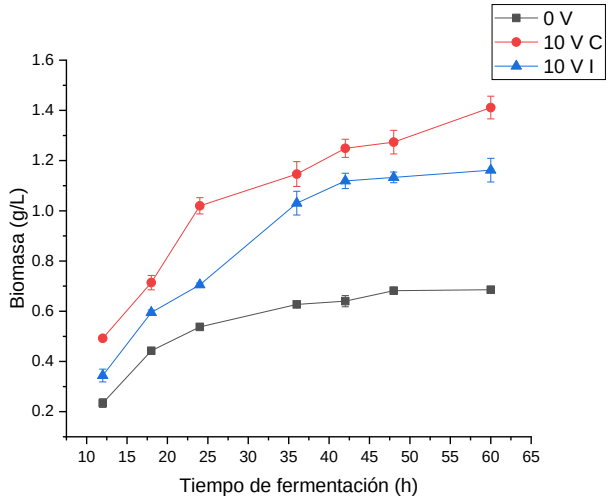


Figura 2. Producción de biomasa de *R. mucilaginosa*, comparación de aplicación de voltaje continuo (C) e intermitente (I) en el sistema de fermentación electrostática

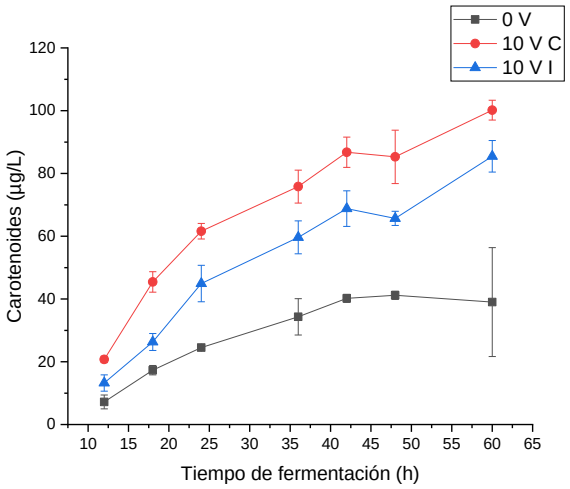


Figura 3. Producción de carotenoides por *R. mucilaginosa*, comparación de aplicación de voltaje continuo (C) e intermitente (I) en el sistema de fermentación electrostática.

Por último, se analizó el consumo de azúcares reductores y generación de biomasa en el tratamiento de aplicación continua de 10 V, que condujo a la mayor producción de carotenoides por *R. mucilaginosa* en el sistema de fermentación electrostática, como se aprecia en la Tabla 5. Este fue evaluado durante 240 h de fermentación. Se demostró que al aplicar 10 V de forma continua durante la fermentación de R. mucilaginosa se logra incrementar 46.7% su crecimiento, expresado en producción de biomasa, en comparación con el tratamiento sin aplicación de voltaje. Por consecuencia, la concentración de glucosa en el medio de fermentación es consumida en mayor cantidad durante el mismo tiempo, el tratamiento sin aplicación de voltaje consumió el 26.10 % de glucosa, mientras que el tratamiento con aplicación continua de 10 V consumió el 59.34 %

Tabla 5. Comparación de producción de biomasa y consumo de glucosa del medio de fermentación por *R. mucilaginosa* sin aplicación de voltaje (0 V) y con aplicación de voltaje de forma continua (10 V C) en sistema de fermentación electrostática.

	Biomasa (g/L)			
	Inicial	**Final**	**Incremento**	**Dif %**
0 V	0.01± 0.0[a]	1.68 ± 0.03 [a]	1.67	46.7
10 V C	0.01 ± 0.0[a]	2.46 ± 0.08	2.45	
	Glucosa (g/L)			
	Inicial	**Final**	**Consumo**	**Dif %**
0 V	56.68 ± 0.01[a]	41.89 ± 1.48[a]	14.79	26.10
10 V C	55.34 ± 0.01[a]	22.50 ± 4.20	32.84	59.34

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Discusión y conclusiones

Se esperaba que el incremento en la relación C/N beneficiaría la producción de biomasa y por consecuencia de carotenoides, no obstante, esta condición se encuentra limitada por el tiempo de fermentación, ya que según lo reportado por Tkáčová et al. (2017) al emplear una relación C/N mayor o igual a 70 se extiende el tiempo de la fase de adaptación. Además, Okoro et al. (2021), reportaron que el uso de un medio de fermentación con alta concentración de glucosa favorece la producción de exopolisacáridos, empleando la glucosa como precursora de estos en lugar de la síntesis de carotenoides, lo que se vio reflejado en los resultados de la concentración de azúcares reductores para las relaciones C/N 70 y 90. Por otra parte, Braunwald et al. (2013) mencionan en su investigación que la baja concentración inicial de glucosa en el medio limita la síntesis de carotenoides debido a que las células dan prioridad al metabolismo primario, como fue el caso de la relación C/N 20. Por lo tanto, es indispensable considerar la concentración de la fuente de carbono en el medio en combinación con el tiempo de fermentación de los tratamientos para obtener los resultados esperados. Considerando lo anterior, se seleccionó la relación C/N 50 como mejor opción para llevar a cabo los tratamientos en el sistema de fermentación electrostática en esta investigación.

La aplicación de voltaje de forma continua demostró que, a pesar de no obtener diferencias a producción de biomasa, la síntesis de carotenoides por *R. mucilaginosa* se encuentra beneficiada significativamente. Lo cual coincide por lo reportado por Schievano et al. (2016) quienes mencionan que el metabolismo de las levaduras resulta afectado por el suministro de electrones y se emplean para redirigir las vías metabólicas hacia la producción de compuestos de carbono múltiple.

La evaluación de producción de biomasa y consumo de azúcares reductores en el medio de fermentación durante 240 h, comparando la aplicación de 10 V C y 0 V demostró que R. mucilaginosa tiene la posibilidad de seguir creciendo bajo las condiciones de estos tratamientos. Lo anterior, debido a que no se consumió del todo la glucosa en el medio y coincide con lo reportado por Wang et al. (2017). No obstante, será necesario evaluar el consumo de sustrato en general, incluyendo la fuente de nitrógeno, en el medio de cultivo para delimitar el tiempo de fermentación para la obtención máxima de carotenoides.

Referencias bibliográficas

Arbter, P., Sinha, A., Troesch, J., Utesch, T., & Zeng, A. P. (2019). Redox governed electro-fermentation improves lipid production by the oleaginous yeast *Rhodosporidium toruloides*. Bioresource Technology, 294(September), 122122. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122122

Braunwald, T., Schwemmlein, L., Graeff-Hönninger, S., French, W. T., Hernandez, R., Holmes, W. E., & Claupein, W. (2013). Effect of different C/N ratios on carotenoid and lipid production by *Rhodotorula glutinis*. Applied Microbiology and Biotechnology, 97(14), 6581–6588. https://doi.org/10.1007/s00253-013-5005-8

Coultate, T., & Blackburn, R. S. (2018). Food colorants: their past, present and future. Coloration Technology, 134(3), 165–186. https://doi.org/10.1111/cote.12334

da Silva, J., Honorato da Silva, F. L., Santos Ribeiro, J. E., Nóbrega de Melo, D. J., Santos, F. A., & Lucena de Medeiros, L. (2020). Effect of supplementation, temperature and pH on carotenoids and lipids production by *Rhodotorula mucilaginosa* on sisal bagasse hydrolyzate. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 30, 101847. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101847

Kanzy, H. M., Nasr, N. F., El-Shazly, H. A. M., & Barakat, O. S. (2015). Optimization of Carotenoids production by yeast strains of Rhodotorula using salted cheese whey. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 4(1), 456–469.

Libkind, D., Brizzio, S., & Van Broock, M. (2004). *Rhodotorula mucilaginosa*, a carotenoid producing yeast strain from a Patagonian high-altitude Lake. Folia Microbiologica, 49(1), 19–25. https://doi.org/10.1007/BF02931640

Mathew, A. S., Wang, J., Luo, J., & Yau, S. T. (2015). Enhanced ethanol production via electrostatically accelerated fermentation of glucose using *Saccharomyces cerevisiae*. Scientific Reports, 5(October), 1–6. https://doi.org/10.1038/srep15713

Miller, G. L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. Analytical Chemistry, 31(3), 426–428. https://doi.org/10.1021/ac60147a030

Okoro, O. V., Gholipour, A. R., Sedighi, F., Shavandi, A., & Hamidi, M. (2021). Optimization of exopolysaccharide (Eps) production by *Rhodotorula mucilaginosa* sp. gums16. ChemEngineering, 5(3), 1–11. https://doi.org/10.3390/chemengineering5030039

Saenge, C., Cheirsilp, B., Suksaroge, T. T., & Bourtoom, T. (2011). Efficient concomitant production of lipids and carotenoids by oleaginous red yeast *Rhodotorula glutinis* cultured in palm oil mill effluent and application of lipids for biodiesel production. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 16(1), 23–33. https://doi.org/10.1007/s12257-010-0083-2

Schievano, A., Pepé Sciarria, T., Vanbroekhoven, K., De Wever, H., Puig, S., Andersen, S. J., Rabaey, K., & Pant, D. (2016). Electro-Fermentation – Merging Electrochemistry with Fermentation in Industrial Applications. Trends in Biotechnology, 34(11), 866–878. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2016.04.007

Tkáčová, J., Čaplová, J., Klempová, T., & Čertík, M. (2017). Correlation between lipid and carotenoid synthesis in torularhodin-producing *Rhodotorula glutinis*. Annals of Microbiology, 67(8), 541–551. https://doi.org/10.1007/s13213-017-1284-0

Wang, Q., Liu, D., Yang, Q., & Wang, P. (2017). Enhancing carotenoid production in Rhodotorula mucilaginosa KC8 by combining mutation and metabolic engineering. Annals of Microbiology, 67(6), 425–431. https://doi.org/10.1007/s13213-017-1274-2

Zhang, Z., Zhang, X., & Tan, T. (2014). Lipid and carotenoid production by Rhodotorula glutinis under irradiation/high-temperature and dark/low-temperature cultivation. Bioresource Technology, 157, 149–153. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.039

Evaluación del crecimiento de las plantas de pepino cultivadas en sustrato de agave (*Agave tequilana* Weber var. Azul) en condiciones de invernadero

Zúñiga López, S. M.*; Vázquez Barrios, M. E. (2133); Urrestarazu Gavilán, M.; Castaño Tostado, E. (3878); Ramos López, M. A. & Rivera Pastrana, D. M. (9225)

Resumen

La producción hortícola bajo sistemas de invernadero en México ha ido en aumento en los últimos años. El principal sustrato orgánico utilizado en este sistema es la fibra de coco (FC); sin embargo, a su alto costo de producción se suma su bajo volumen de rendimiento en los próximos años. La industria tequilera genera más de un millón de toneladas de bagazo al año, que podría ser una alternativa a la FC. Por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar el rendimiento de la fibra de agave (FA) en comparación con el FC. Los valores de pH se encontraron dentro del rango óptimo (CF=5,6; AF=4,5), la conductividad eléctrica de CF y AF presentó valores superiores a los recomendados (2,46 y 4,96 dS/cm, respectivamente). CF mostró mayor capacidad de retención de agua (52,63%) que AF (31,67%); y, asimismo, mayor capacidad de intercambio catiónico (CF=76,42; AF=56,28), lo que se reflejó en un mejor desarrollo de la planta, logrando un mayor tamaño (312,20 cm) y, por tanto, un mayor número de frutos que las plantas AF (265,13 cm). La fibra de agave presentó valores químicos adecuados para ser considerada un sustrato hortícola; sin embargo, debido a sus características físicas, principalmente la baja capacidad de retención de agua limitó el crecimiento de las plantas.

Palabras clave: fibra de agave, sustrato, invernadero, calidad pepino

Abstract

Horticultural production under greenhouse systems in Mexico has been increasing in recent years. The main organic substrate used in this system is coconut fiber (CF); however, its high production cost is coupled with its low yield volume in the coming years. The tequila industry generates more than one million tons of bagasse per year, which could be an alternative to CF. Therefore, the objective of this work was to evaluate the performance of agave fiber (AF) compared to CF. The pH values were found to be within the optimal range (CF=5.6; AF=4.5), the electrical conductivity of CF and AF presented higher values than recommended (2.46 and 4.96 dS/cm, respectively). CF showed higher water retention capacity (52.63%) than AF (31.67%); and, likewise, higher cation exchange capacity (CF=76.42; AF=56.28), which was reflected in better plant development, achieving a larger size (312.20 cm) and, therefore, a higher number of fruits than AF plants (265.13 cm). Agave fiber presented adequate chemical values to be considered a horticultural substrate; however, due to its physical characteristics, mainly low water retention capacity, limited plant growth.

Keywords: agave fiber; susbstrate; greenhouse; cucumber quality

Introducción

El pepino (*Cucumis sativus* L) es una de las principales hortalizas cultivadas en el mundo, siendo la segunda cucurbitácea más cultivada después del melón (Pal et al., 2020). En 2020, México fue el quinto productor mundial de esta hortaliza, después de China, Turquía, la Federación

Rusa e Irán (FAO, 2022), al obtener un valor de producción de 1 674 millones de pesos (SIAP, 2022).

La agricultura en México se desarrolla en dos sistemas de producción: siembra en suelo directo y con sustratos bajo sistemas de agricultura protegida; este último ofrece ventajas como el aumento de la producción, la posibilidad de tener cultivos en todo el año, productos de mayor calidad, uso más eficiente del agua e insumos; mayor control de plagas, malezas y enfermedades; así como el reciclado y/o reutilizado de residuos industriales (Urrestarazu et al., 2002; Tecnoagro, 2022; Trejo et al., 2014).

Un sustrato como un material sólido distinto al suelo, ya sea natural o de síntesis residual, mineral u orgánico, que, colocado en un contenedor, en forma pura o en mezcla permite el anclaje del sistema radicular de la planta, desarrollando el papel de soporte de estas; así como proveer agua y nutrimentos, permitiendo el intercambio gaseoso desde y hacia la raíz para su apropiado funcionamiento (Abad et al., 2004; Villegas et al., 2017).

Existen diferentes formas y criterios para clasificar los sustratos, pero de manera general se catalogan según sus propiedades dependiendo si presentan o no una capacidad de intercambio catiónico; y por su origen mineral u orgánico (Florián et al., 2011).

Actualmente uno de los sustratos más utilizados para la agricultura protegida es la fibra de coco (FC), el cual es un material que se forma en las capas intermedias o mesocarpio de los frutos del coco (Cocos nucifera L.), de color café claro, esponjoso y lignocelulósico; las fibras no presentan olor, son ligeras, gruesas, fuertes y resistentes a la abrasión; son hidrofílicas, no presenta patógenos y es un material renovable (Gruda et al., 2019).

A pesar de la alta demanda en mercados internacionales, han bajado las exportaciones de la fibra de coco, debido a la baja producción, por diversos problemas ambientales, tecnológicos y de manejo del cultivo (Mahavidyalaka et al., 2013; Moreno et al., 2013).

Por lo que es necesario buscar nuevos materiales orgánicos provenientes de materia-les locales como los subproductos de la industria para poder ser usados como sustrato (Gruda et al., 2019; Moreno et al., 2013), un ejemplo de esto son los residuos de la industria del tequila, que produce más 1 200 mil toneladas de bagazo anuales (Gallardo et al., 2017; CRT, 2022), estos no tienen un manejo para su deposición, por lo cual generan lixiviados los cuales contaminan el suelo y el agua; además, de crear malos olores (Saval, 2012; CRT, 2022; Vargas et al., 2018), asimismo, puede ser usado como hospedero para plagas (insectos y roedores) y debido al contenido de azúcares remanentes permite el crecimiento de hongos y levaduras fermentadoras que pueden generar productos indeseables (Rodríguez et al., 2010).

Por esta razón, el objetivo del presente estudio fue caracterizar el bagazo de agave para proponerlo como sustituto a la fibra de coco en la producción de pepino bajo el sistema de cultivo protegido.

Metodología

2.1. Material biológico

El bagazo de agave fue donado por la empresa productora de tequila “Corralejo” ubicada en Pénjamo, Guanajuato, México. La fibra de coco y la variedad de pepino fueron proporcionados por los invernaderos CEICKOR S.A. de C.V. ubicado en la Carretera Bernal-Ezequiel Montes Km. 3, Los Benitos, Querétaro, México. La fibra de coco se utilizó como sustrato control y el pepino utilizado fue una variedad americana (Cucumis sativus) con código Parth 552.

La muestra de bagazo, una vez en el laboratorio, se sometió a un proceso de secado en aire forzado a 60 °C (Memmert UF 450) para bajar la humedad a 5%.

2.2. Análisis fisicoquímico del bagazo

Se realizó un análisis de conductividad eléctrica (EC) y pH por el método de extracto saturado (Warncke, 1988) utilizando un conductímetro (Conducronic CL35) y un potenciómetro (HANNA Instruments HI98103) respectivamente. De igual

manera se midió la cantidad de TSS en una solución 1:5 con un refractómetro (HANNA Instruments HI 9126).

2.3. Análisis fisicoquímico de la fibra

Se realizó una prueba de cenizas, por el método de calcinación en mufla a ±550°C (Castro et al., 2019); con este dato y al obtener el nitrógeno orgánico por el método de micro Kjeldahl, se obtuvo la relación C/N. Para medir la capacidad de intercambio catiónico (CCI) se utilizó el método de acetato de amonio 1N a pH 7 (IGAC, 2006).

Para las pruebas físicas de densidad aparente (AD), densidad real (RD), porosidad total (TP), porosidad de aireación (AP) y capacidad de retención de agua (WRC), se utilizó el método de los porómetros (Pire y Pereira, 2003), con tubos de plástico de 7.62 cm de diámetro y 15 cm de longitud, en uno de los extremos se fijó una tapa y se perforaron cuatro orificios equidistantes y en el otro extremo se puso un cople. Se llenaron los porómetros hasta su máxima capacidad y se presionó la misma rellenando el cilindro hasta el borde superior. Se colocaron los cilindros en un recipiente con agua cuyo nivel se encontraba debajo del borde de los porómetros y se dejó reposar durante 24 horas, pasado el tiempo se quitó el cople y se deja la muestra al raz del cilindro, se tapó con una manta cielo y el porómetro es colocado de nuevo en el agua, pero esta vez cubierto totalmente. Al pasar 30 minutos, se colocaron tapones en los orificios inferiores y la muestra se retiró del agua, se pusieron de manera vertical sobre un recipiente y se retiraron los tapones para medir el volumen drenado por un periodo de 10 minutos (Va), se extrajo la muestra húmeda y se obtuvo el peso (PH) y se secaron en un horno de aire forzado (Excalibur Food Dehydratos Economy) a 50 °C durante 24 horas para obtener el peso seco (PS) y se realizaron las siguientes fórmulas:

$$AD = PS/Vc \quad (1)$$

$$TP = [(Va+((PH-PS)/Pa))/Vc]x100 \quad (2)$$

$$RD = DA/1-(PT/100) \quad (3)$$

$$AP = (Va/Vc)x100 \quad (4)$$

$$WRC = [((PH-PS)xPa)/Vc]x100 \quad (5)$$

Donde: Vc = volumen del cilindro; Pa = peso específico del agua.

2.4. Evaluación de los sustratos en invernadero

Se pusieron las fibras de agave en un invernadero con plántulas de pepino, midiendo cada semana la altura de las plantas, diámetro del tallo, número de hojas, tamaño de las hojas, número de flores y frutos.

2.6. Análisis estadístico

El diseño del experimento fue completamente al azar, para el estudio en invernadero se utilizaron 27 macetas por tratamiento, divididas en 3 réplicas con 9 unidades experimentales. Cada UE fue representada por 4 plantas, para un total de 108 plantas por tratamiento.

Los análisis se realizaron por triplicado y los datos generados se analizaron a través de un análisis de varianza (ANOVA) para evaluar los efectos de las fibras en el desempeño de las plantas de pepino mediante la comparación de medias a través de la prueba de Dunnett al nivel de significancia al 5%, teniendo como control positivo a la fibra de coco. Los análisis se llevarán a cabo utilizando el paquete de RStudio.

Resultados

3.1. Análisis fisicoquímicos de las fibras

Los análisis químicos realizados en las fibras se pueden observar en la Tabla 1, la CE fue diferente entre ellas, donde la CF presentó valores menores que la AF, sin embargo, esta fue la que presentó valores menores de pH, siendo en ambos valores estadísticamente diferentes a la CF. Los valores de CE presentados en este trabajo son mayores que los presentados por Meza (2022) (FC = 0.76 ± 0.057 y FA = 0.46 ± 0.04 dS/cm), esto puede estar relacionado a la naturaleza de los materiales presentando mayor cantidad de sales disueltas en los mismos; referente al pH de igual manera se

reportaron valores similares tanto en la FC como en la FA.

A pesar de estas diferencias se sabe que el valor de pH y CE pueden ser modificados y controlados con el riego y la nutrición aplicados al cultivo, por lo cual se informó al grower y personal del invernadero, ya que es recomendable que un sustrato presente un pH ligeramente ácido, para que los nutrientes se encuentres disponibles, y una conductividad eléctrica baja, para que no presente toxicidad por sales (Bárbaro et al., 2019).

Tabla 1. Características químicas de fibra de coco (FC) y fibra de agave (FA).

Prueba	FC	FA
CE (dS/cm)	2.46 ± 0.47	4.96 ± 1.35 *
pH	5.6 ± 0.26	4.56 ± 0.05 *
CEI (meq/100 g)	76.42 ± 0.64	56.28 ± 0.72 *
% cenizas	6.88 ± 0.83	8.09 ± 0.69
Relación C/N	181. 14 ± 5.30	142.51 ± 2.18 *

Cada valor representa la media de triplicados ± desviación estándar. * en la misma fila indican diferencias significativas con el control FC por prueba de Dunnett ($p<0.05$).

El contenido de cenizas es la cantidad de minerales que se encuentran en los sustra-os hortícolas, lo cual permite evaluar la necesidad de modificar o no la solución nutritiva que requiere el cultivo en cuestión. Como se puede observar en el cuadro 1 la FA presentó un valor significativamente igual ($p<0.05$) en el porcentaje de cenizas que la FC; valores bajos en FA también fueron reportados por Íñiguez et al. (2011) al analizar bagazo de agave sin compostear de dos tequileras distintas (3.10 y 5.30%), aunque también se han repostado valores mayores por Rodríguez et al. (2013) con 11.40% en bagazo de agave, es-tas variaciones en el porcentaje de cenizas en las fibras se podrían relacionar a la naturaleza y origen del material.

La relación C/N es un indicador del grado de degradación biológica de un material orgánico, una relación baja de C/N (<30) indica que los materiales pueden sufrir un proceso de transformación biológica (mineralización y humidificación), en cambio, si esta es alta (>40), la actividad biológica disminuye hasta llegar a niveles de muy poca degradación (>85) (Crespo et al., 2018). En la Tabla 1 se observa los dos tipos de fibras evaluadas presentan valores muy altos, siendo la FC la que tuvo niveles más altos; esto sucede debido a que son materiales ricos en lignina y celulosa, con una alta concentración de carbono y menor contenido de nitrógeno, lo cual ocasiona una alta relación de C/N (Íñiguez et al., 2011; Gayosso-Rodríguez et al., 2018).

La CEC es la capacidad de los suelos para liberar y retener cationes, en el Cuadro 1 se observa que la FC presenta valores significativamente más altos ($p<0.05$) que los de la AF, lo cual indica que la FC va a tener mayor disponibilidad de los nutrientes que la FA.

Las propiedades físicas más reportadas en los sustratos hortícolas son la porosidad total (PT), la densidad aparente (DA), la densidad real (DR), la porosidad de aireación (PA) y la capacidad de retención de agua (CRA). Según la FAO (2002) y Urrestarazu (2004), un sustrato hortícola debe presentar una PT de >85%, un valor de DA de 0.22 g/cm3 y una DR de 1.44 g/cm3. Por su parte, Cruz-Crespo et al., 2013 reportan que debe tener un PA de 10-35%; mientras que Abad et al. (1993) indicaron que la CRA dese ser de 55-70% como características físicas ideales para permitir el desarrollo de los cultivos hortícolas. En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos de cada una de las fibras evaluadas.

La PT es la parte no sólida de un sustrato hortícola, que equivale al volumen de poros que están llenos de aire y agua contenidos en el sustrato, que debe tener un valor igual o superior al 85% respecto al volumen total del material (Ansorena, 1994; FAO, 2002; Cruz-Crespo et al, 2013); la PA es la proporción de aire que queda en el sustrato después de saturarlo con agua y dejarlo drenar; el rango adecuado para esta característica es del 15-30% (Abad et al., 1993; Abad et al., 2005). La Tabla 2 muestra que la FA presentó valores de PT similares a los recomendados, mientras que la FC presentó

valores más bajos y por tanto significativamente diferentes. Mientras que la PA, la FC presentó valores dentro del rango recomendado y la FA tuvo valores más altos, mostrando diferencias con el control ($p<0,05$). Estas diferencias pueden deberse a la estructura física de las fibras, ya que la FC está formada por fibra, chips y polvo; y la FA sólo está formada por fibras alargadas que permiten un mayor espacio de aire. Es importante considerar que el porcentaje de PA debe ser controlado antes de llevar el sustrato al invernadero, ya que puede haber poca oxigenación en el sustrato y podría provocar el deterioro de las raíces (Pire y Pereira, 2003).

Tabla 2. Característica físicas de la fibta de coco (FC) y fibra de agave (FA).

Prueba	FC	FA
PT (%)	77.67 ± 1.94	83.42 ± 1.21 *
PA (%)	25.05 ± 3.75	51.75 ± 3.75 *
CRA (%)	52.63 ± 1.91	31.67 ± 2.76 *
DA (g/cm^3)	0.0965 ± 0.01	0.0965 ± 0.01
DR (g/cm^3)	0.4330 ± 0.01	0.5887 ± 0.03 *

Cada valor representa la media de triplicados ± desviación estándar. * en la misma fila indican diferencias significativas con el control FC por prueba de Dunnett ($p<0.05$).

La CRA se define como la cantidad de agua retenida por el sustrato después de haber sido regado y dejado drenar, los valores reportados deben oscilar entre el 55-70% (Abad et al., 1993; FAO, 2002; Cruz-Crespo et al., 2013). En la Tabla 2 se observa que la FC es la fibra con los valores más altos; la CRA está relacionada con la PA, es decir, los valores de porosidad de aireación más altos harán que el sustrato tenga una menor retención de agua (Cruz-Crespo et al., 2013), en este sentido se esperaba que los valores de CRA en la FA fueran bajos y estadísticamente diferentes de la FC ($p<0,05$). En el caso de la FC, la mayor CRA puede estar relacionada con la presencia de polvo, en comparación con la FA que presenta un mayor número de partículas grandes (Hernández et al., 2014; y Gayosso et al 2018).

La DA es el peso seco ocupado por el sustrato en centímetro cúbico, incluyendo el volumen de los poros, y está relacionada con el grado de compactación y el tamaño de las partículas (FAO, 2002; Cruz-Crespo et al., 2013), por lo que valores más bajos de este parámetro sugieren que el sustrato tiene menos peso y, por tanto, es propenso a no soportar las plantas y éstas pueden volcarse (Pire y Pereira, 2003). En cuanto a la DR, se define como el cociente entre la masa de las partículas del sustrato y el volumen que ocupan sin considerar los poros, por lo que esta propiedad no depende del grado de compactación ni del tamaño de las partículas, siendo el valor recomendado para un sustrato seco de 1,44 g/cm3 para sustratos hortícolas (FAO, 2002; Cruz-Crespo et al., 2013). En la Tabla 2 se observa que tanto los valores de DA como de DR son bajos; sin embargo, para evitar el problema de la falta de soporte en los invernaderos en este trabajo, las plantas de pepino fueron apoyadas con tutores, lo que ayudó a evitar que se cayeran.

3.2. Evaluación de los sustratos bajo condiciones de invernadero

El crecimiento de las plantas de pepino se presenta en la Figura 1; de manera general se observó un crecimiento normal desde el día cero y hasta el día 84 de cultivo en las tres fibras evaluadas. Sin embargo, a partir del día 21 del cultivo se observa que las plan-tas que crecían en la FC eran un 32.72% más altas que las crecidas en la FA ($p<0.05$). Las plantas presentaron una altura total de 312.20 cm (FC) y 265.13 cm (FA), más altas que en un experimento realizado por Łaźny et al., (2021) evaluaron lana de roca y lignito en plantas de pepino durante 12 semanas obteniendo un crecimiento promedio de 213.60 y 212.10 cm respectivamente. EL mayor crecimiento de las plantas se observe en la FC, esto se relaciona a su mayor WRC y CEC, debido a que presentaban mayor cantidad de agua y nutrientes disponibles, reflejándose en el mayor desarrollo de éstas como lo indica Peyvast et al., (2007).

El diámetro del tallo de las plantas de pepino en crecimiento fue importante determinarlo debido a

que permite el transporte de nutrientes (Yang et al., 2022); en la Figura 2 muestra los resultados obtenidos; se observa que el diámetro de las plantas no presenta diferencias significativas ($p<0.05$) entre las plantas que crecieron en ambas fibras y varía entre 2-6 mm con un promedio aproximado de 4.5 mm; parecidos a los reportados por Meza (2022) quien registro diámetros que variaron entre 4.4-7.4 mm en plantas que crecieron en fibra de agave derivado de la industria del tequila y de inulina.

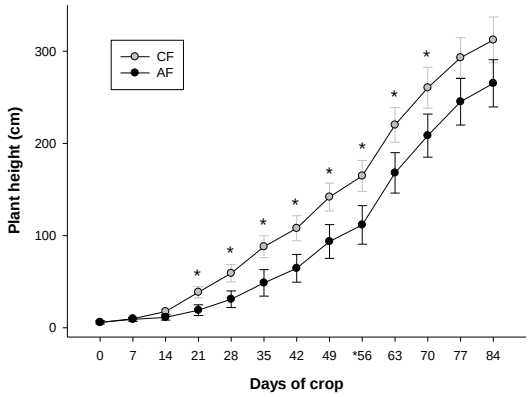


Figura 1: Desarrollo de plantas de pepino en FC y FA.

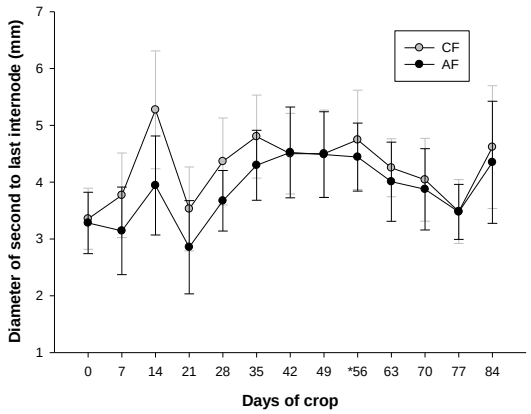


Figura 2: Diámetro del penúltimo entrenudo de las plantas de pepino en diferentes tipos de fibra.

El desarrollo de las hojas de las plantas cultivadas en ambas fibras se muestra en la Figura 3, se puede observar que el desarrollo es paulatino hasta lograr un promedio de 16 hojas desde el día 49 hasta el día 84 de cultivo, esto se debe al trabajo cultural en el invernadero que mantuvo este número de hojas para promover un mayor crecimiento del fruto, sin embargo, a lo largo del ciclo de cultivo las plantas cultivadas en FA presentaron menor número de hojas que las FC, encontrando diferencias ($p<0.05$) en los días 21 y 28 de cultivo, esto podría estar relacionado con su baja CIC y CRA, lo que significa que hay menos agua y nutrientes disponibles para el crecimiento de las hojas. El número promedio de hojas fue el mismo en Sallam et al., (2021) quienes reportaron un promedio de 17 hojas en el mismo cultivo utilizando fibra de coco, y es el mismo (16) que reporta Meza, (2022).

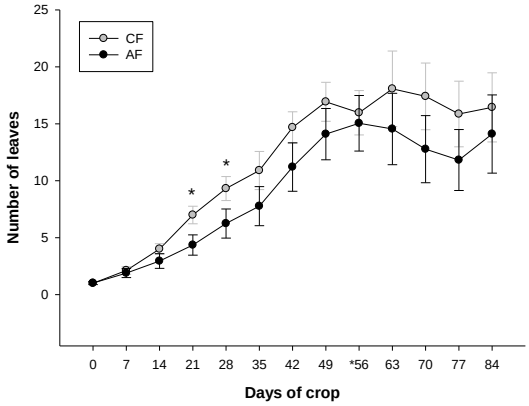


Figura 3: Número de hojas de plantas de pepino por tratamiento en el ciclo de cultivo.

En cuanto al tamaño de las hojas, cabe señalar que se comenzó a medir a partir del día 35, ya que no se había considerado desde el inicio y se observaron marcadas diferencias entre las plantas de los dos tratamientos. Se puede observar en la Figura 4 que se encuentran diferencias entre FC y FA, esto puede estar relacionado al igual que en el número de hojas con la baja disponibilidad de nutrientes y agua en FA debido a sus bajos valores de CRA y CIC.

La floración en las plantas de pepino comenzó a partir del día 21 después del trasplante en ambos substratos; este tiempo fue inferior al reportado por Premalatha et al. (2006), ya que ellos observaron la floración alrededor de los 30 días después del trasplante. A los 49 días de cultivo las plantas de FC presentaron 5,10 ± 1,43 flores mientras que en las plantas de FA florecieron menos 4,62 ± 1,88, sin ser

estadísticamente diferentes ($p<0,05$). A los 84 días de cultivo, las plantas de FA presentaron más flores (7,02 ± 2,06) que las cultivadas en FC (6,96 ± 2,30); sin ser estadísticamente diferentes ($p<0,05$).

Los primeros frutos se observaron a los 35 días de cultivo, en ambos sustratos; esto fue similar (31 ddt) a los reportados por Chacón-Padilla y Monge-Pérez, (2020), en el sustrato de coco. Al día 56 de cultivo, las plantas que crecieron en la FC registraron el mayor número de frutos (146) en comparación con la FA (108); al día 84 después del trasplante, el comportamiento fue el contrario ya que la FA presentó más frutos que la FC (174 y 156, respectivamente); sin encontrar diferencias a lo largo del ciclo de cultivo. Dado que el régimen de riego, la temperatura y las condiciones de radiación fueron las mismas para todos los sustratos porque el experimento se realizó en el mismo invernadero, el hecho de que la FC haya podido producir un mayor número de frutos al inicio del ciclo productivo se debió al mayor CRA y CIC de esta fibra con respecto a la FA.

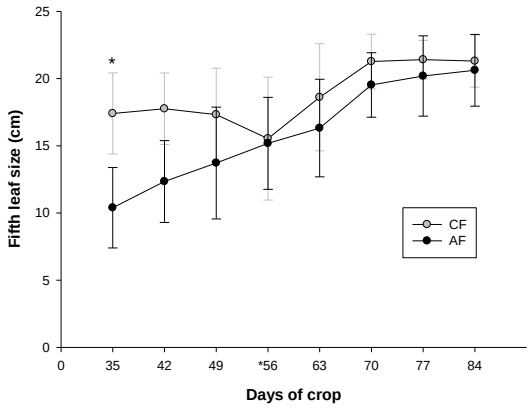


Figura 4: Tamaño de la quinta hoja de plantas de pepino por tratamiento en el ciclo de cultivo.

Conclusiones

Los valores de los parámetros fisicoquímicos (pH, CE, % de cenizas y relación C/N) de las fibras de agave (FA) estuvieron dentro de los establecidos para los sustratos hortícolas. Aunque el rendimiento de las fibras orgánicas en el invernadero fue similar entre ellas, la FA al presentar una baja CIC y CRA promovió un menor tamaño de planta de pepino y por tanto un menor rendimiento (44,4%) que la FC.

Referencias

1. Pal, A.; Adhikary, R.; Shankar, T.; Kumar, S. A.; Maitra, S. Cultivation of Cucumber in Greenhouse. In *Protected Cultivation and Smart Agriculture*; Maitra, S., Gaikwad, D. J., Shankar, T., Eds.; New Delhi Publishers: New Delhi, India, 2020, Chapter 14, pp. 139-145. 10.30954/NDP-PCSA.2020.14
2. Cultivos y productos de ganadería. https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL (accesed on 22 June 2022).
3. Estadístico de la Producción Agrícola. https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/ (accesed on 22 June 2022).
4. Urrestarazu, M.; Salas Sanjuán, M. C. El papel de los cultivos sin suelo en la moderna agronomía. *Vida rural* **2002**, 54-57.
5. Agricultura Protegida (Ventajas y Desventajas en el uso de invernaderos). https://tecnoagro.com.mx/no.-69/agricultura-protegida-ventajas-y-desventajas-en-el-uso-de-invernaderos (accesed on 22 July 2022).
6. Trejo Rangel, R. Evaluación de sustratos y enarenados en producción de tomate bola (*Solanum lycopersicum* L) en invernadero. Masther´s tesis, Universidad Autónoma de Nuevo León, Escobedo, Nuevo León, México, August 2014.
7. Abad Berjón, M.; Noguera Murray, P.; Carrión Benedito, C. Los sustratos en los cultivos sin suelo; Urrestarazu Gavilán, M., Ed.; Ediciones Mundi-Prensa: España; pp. 113-158.
8. Villegas Torres, O.G.; Domínguez Patiño, M.L.; Albavera Pérez, M.; Andrade Rodríguez, M.; Sotelo Nava, H.; Martínez Rangel, M. G.; Aguilar Cortés, M.; Castillo Carpintero, C.; Magadan Salazar, M.C. *Sustratos como material de última generación*; OmniaScience: 2017.
9. Florián Martínez, P.; Roca, D. Sustratos para el cultivo sin suelo. Materiales, propiedades y manejo. In *Sustratos, manejo del clima, automatización y control en sistemad de cultivo sin suelo*; Flórez, V.

Ed.; Editorial Universidad Nacional de Colombia: Bogotá, Colombia, 2011, pp: 37-78.

10. Gruda, N. S. Increasing Sustainability of Growing Media Constituents and Stand-Alone Substrates in Soilless Culture Systems. *Agronomy* **2019**, *9*, 1-24. https://doi.org/10.3390/agronomy9060298

11. Mahavidyalaya, K. S. Problems of Coir Industry in West Bengal: An Analysis. *Business Studies* **2013**, *XXXIII, 125-135.*

12. Moreno, M. L.; Kuwornu, J. K.; Szabo, S. Overview and Constraints of the Coconut Supply Chain in the Philippines. *Int. J. Fruit Sci* **2020**, *20*, S524-S541. https://doi.org/10.1080/15538362.2020.1746727

13. Carlile, W. R.; Raviv, M.; Prasad, M. Organic Soilless Media Components. In *Soilless Culture*, 2nd ed., Raviv, M., Lieth, J.H., Bar-Tal, A., Eds.; Academic Press: London, United Kingdom, 2019, Chapter 8, pp. 303-378. https://doi.org/10.1016/C2015-0-01470-8

14. Gallardo Valdez, J. Industria del tequila y generación de residuos. *CIATEJ* **2017**, *291*, 48-53.

15. Información Estadística. https://www.crt.org.mx/estadisticascrtweb/ (accesed on 07 June 2022).

16. Saval, S. Aprovechamiento de residuos agroindustriales: pasado, presente y fututo. *BioTecnología* **2012**, *16*, 14-46.

17. Impacto de los residuos de la industria tequilera. https://www.crt.org.mx/estadisticascrtweb/ (accesed on 21 July 2022).

18. Vargas Corredor, Y. A.; Pérez Pérez, L. I. Aprovechamiendo de residuos agroindustriales para el mejoramiento de la calidad del ambiente. *Revista Facultad de Ciencias Básicas* **2018**, *14*, 59-72. https://doi.org/10.18359/rfcb.3108

19. Rodríguez Macías, R.; Alcantar González, E. G.; Íñiguez Covarrubias, G.; Zamora Natera, F.; García López, P.M.; Ruiz López, M. A.; Salcedo Pérez, E. Caracterización fisicoquímica de sustratos agrícolas a partir de bagazo de agave tequilero. *Interciencia* **2010**, *35*, 515-520.

20. Warncke, D. Greenhouse Root Media. In *Recommended Chemical Soil Test Procedures for the North Central Region*; Brown, J. R.; National Central Regional Research Publication, 1988, pp. 61-64.

21. Castro, S.L.; Aldrete, A.; López, J.; Ordaz, V. M. Caracterización física y química de sustratos con base en corteza y aserrín de pino. *Madera y Bosques* **2019**, *25*, 1-10.

22. IGAC, I. G. Métodos Anañíticos de Laboratorio de Suelos. In *Análisis de Capacidad de Intercambio Catiónico, Método Acetato de amonio 1N, 7 pH*, 6th ed.; Imprenta Nacional de Colombia: Colombia; pp. 83-87.

23. Pire, R.; Pereira, A. Propiedades físicas de componentes de sustratos de uso común en la horticultura del estado Iara, Venezuela, propuesta metodológica. *Bioagro* **2003**, *5*, 55-63.

24. Meza, E.N. Efecto de la fibra de agave (Agave tequilana Weber var. Azul) como sustrato en la producción bajo invernadero de pepino (Cucumis sativus) y su calidad poscosecha. Master´s thesis, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, June 1st 2022.

25. Bárbaro, L.; Karlanian, M.; Rizzo, P.; Riera, N. Caracterización de diferentes compost para su uso como componente de sustratos. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences* **2019**, *35*, pp. 126-136.

26. Íñiguez, G.; Martínez, G.A.; Flores, P.; Virgen, G.. Utilización de subproductos de la industria tequilera: Parte 9. Monitoreo de la evolución del compostaje de dos fuentes distintas de bagazo de agave para la obtención de un substrato para jitomate. *Rev. Int. De Contam. Ambient.* **2011**, *27*, 47-59.

27. Rodríguez, R.; Jiménez, J. F.; Del Real, J.I.; Salcedo, E.; Zamora, J.F.; Íñiguez, G. Utilización de subproductos de la industria tequilera. Parte 11. Compostaje de bagazo de agave crudo y biosólidos provenientes de una planta de tratamiento de vinazas tequileras. *Rev. Int. De Contam. Ambient.* **2013**, *29*, 303-313.

28. Crespo, M.R.; González, D.R.; Rodríguez, R.; Ruiz, J.A.; Durán, N. Caracterización química y física del bagazo de agave tequilero compostado con biosólidos de vinaza como componente de sustratos para cultivos en contenedor. *Rev. Int. De Contam. Ambient.* **2018**, *34*, 373-382.

29. Gayosso-Rodríguez, S.; Villanueva-Couoh, E.; Estrada-Botello, M.A.; Garruña, R. Caracterización físico-química de mezclas de residuos orgánicos utilizados como sustratos agrícolas. *Bioagro* **2018**, *30*, 179-190.

30. El cultivo protegido en clima mediterráneo. Available online: s8630s.pdf (fao.org) (accessed on 23 November 2022)

31. Cruz-Crespo, E.; Can-Chulim, A.; Sandoval-Villa, M.; Bugarín-Montoya, R.; Robles-Bermúdez, A.; Juárez-López, P. Sustratos en la horticultura. *Revista Bio Ciencias* **2013**, *2*, 17-26.

32. Abad, M.; Martínez, P.F.; Martínez, M.D. Evaluación agronómica de los sustratos de cultivo. *Acta Hortic.* **1993**, *11*, 141-154.

33. Ansorena, M.J. *Sustratos. Propiedades y Caracterización*; Ediciones Mundi-Prensa: España, 1994.

34. Abad, M.; Noguera, P.; Carrión, C. Sustratos en los cultivos sin suelo y fertirrigación. In *Fertirrigación: Cu.tivos Hortícolas y Ornamentales*; Cadahía, C.L., Ed.; Ediciones Mundi-Prensa: España, 2005, pp. 299-352,

35. Hernández, L.; Aldrete, A.; Ordaz-Chaparro, V.M.; López-Upton, J.; López-López, M.A. Crecimiento de Pinus montezumae Lamb. En vivero influenciado por diferentes mezclas de sustratos. *Agrociencia* **2014**, *48*, 627-637.

36. Łaźny, R.; Mirgos, M.; Przbyl, J.L.; Nowak, J.; Kunka, M.; Gajc-Wolska, J.; Kowalczyk, K. Effect of Re-Used Lignite and Mineral Wool Growing Mats on Plant Growth, Yield and Fruit Quality of Cucumber and Physical Parameters of Substrates in Hydroponic Cultivation. *Agronomy* **2021**, *11*, 1-14.

37. Peyvast, G.; Noorizadeth, M.; Hamidoghli, J.; Ramezani-Kharazi, P. Effect of Four Different Substrates in Growth, Yield and Some Fruit Quality Parameters of Cucumber in Bag Culture. *Acta Hortic.* **2007**, 175-182.

38. Yang, Y.; Dong, S.; Miao, H.; Liu, X.; Dai, Z.; Li, X.; Gu, X.; Gu, X.; Zhang, S. Genome-Wide Association Studies Reveal Candidate Genes Related to Stem Diameter in Cucumber (Cucumis sativus L.). *Genes* **2022**, *13*, 1-14.

39. Sallam, B.N.; Lu, T.; Yu, H.; Li, Q.; Sarfraz, Z.; Iqbal, M.S.; Khan, S.; Wang, H.; Wang, H.; Liu, P.; Jiang, W. Productivity Enhacenment of Cucumber (Cucumis sativus L.) through Optimized Use of Poultry Manure and Mineral Fertilizers under Greenhouse Cultivation. *Horticulturae* **2017**, *7*, 1-14.

40. Premalatga, W.; Wahundeniya, K,B.; Weerakkody, W.; Wicramathunga, C.K. Plant Traininf and Spatial Arrangement for Yield Improvements in Greenhouse Cucumber (Cucumis sativis L.) Varieties. *Trop. Agric.* **2006**, *18*, 346-357.

41. Chacón-Padilla, K.; Monge-Pérez, J.E. Producción de pepino (Cucumis sativus L.) bajo invernadero: comparación entre tipos de pepino. *Tecnol. Marcha* **2020**, *33*, 17-35.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

SOMOS UAQ®
SERVIR CONSTRUIR TRANSFORMAR

MEMORIAS DEL 10° ENCUENTRO DE JÓVENES INVESTIGADORAS E INVESTIGADORES DEL ESTADO DE QUERÉTARO.

BLOQUE

CIENCIAS SOCIALES Y HUMANIDADES

10° ENCUENTRO DE JÓVENES INVESTIGADORAS E INVESTIGADORES DEL ESTADO DE QUERÉTARO

"Ideas jóvenes para impulsar el crecimiento del país"

"Ideas jóvenes para impulsar el crecimiento del país"

INDICE

Ana Sofía Apodaca Cabrera y Betsabee Fortanell Trejo	Una cultura que evalúa por el cuerpo: Adolescentes con TCA y RRSS
J. S. Avendaño-Vega, A. J. Reséndiz, V. L. González-Ajuech, A. Hernández-Rodríguez, M. B. Ortuño-López	Laboratorio móvil para la demostración empírica de fenómenos físicos oscilatorios.
José Martín Carrillo-Romero, Miriam Herrera-Aguilar, María Antonieta Mendoza-Flores y Luis Francisco Pardo-Perea	Una metodología para la resiliencia de universitarios en contexto post pandemia
Emmanuel Castro Ramírez y Karla Itzel Castro Campos	Enseñanza del teatro musical a través de Jesucristo Superestrella en producción de Camilo Sesto
Ana Fernanda García Riva Palacio y Miriam Herrera-Aguilar	Potencialidades y limitaciones de las redes sociodigitales en la construcción de aprendizajes
Ofelia Elizabeth González Franco, Elia Haydée Carrasco Ortiz, Eva Patricia Velásquez Upegui	Reconocimiento de pistas prosódicas de las emociones del español
Paulina Hernández Mendoza y Enrique Leonardo Kato Vidal	Obstáculos en PYME y la idoneidad de políticas públicas
María Fernanda Jiménez Torres, Luisa Josefina Alarcón Neve y Karina Paola García Mejía	La paradoja como generador de discusiones críticas en primaria
Yuvia Ixchel León Trejo y José de Jesús Fernández Malváez	Guía metodológica para el estudio de la danza folklórica mexicana
Carlos Alberto Lugo Lugo, Erika García Torres, Santiago Alonso Palmas Pérez	Razonamiento proporcional y micromundos: un estudio en telesecundaria unitaria
Brenda Luna Granados, Karina Hess Zimmermann, Lucero Díaz Calzada y Gloria Nélida Avecilla Ramírez	¿Se vale ironizar si eres niña? Un estudio electrofisiológico.

Paula Mariana Padilla Sánchez y Enrique Leonardo Kato Vidal	La experiencia inflacionaria en hogares de ingresos altos y bajos
Vargas García, Elsa M; Carrasco Ortiz, E. Haydée y Rodríguez Sánchez, Ignacio	Red partes del cuerpo en el léxico mental adolescente.
Irving Said Vázquez Huerta y Rolando Javier Salinas García	Construcción social de la ocupación de jóvenes estudiantes de Bachillerato Técnico

Una cultura que evalúa por el cuerpo: Adolescentes con TCA y RRSS

Autora: Ana Sofía Apodaca Cabrera - aapodaca12@alumnos.uaq.mx
Asesora de investigación: Betsabee Fortanell Trejo betsabeefortanell@gmail.com
Facultad de Ciencias Políticas y Sociales: Universidad Autónoma de Querétaro

Resumen

Esta investigación pretende comprender el papel de las Redes Sociodigitales (RRSS) en la construcción de la Imagen Corporal (IC) de mujeres adolescentes latinoamericanas diagnosticadas con un Trastorno de la Conducta Alimentaria (TCA).

Para ello, se elaboraron 5 historias de vida, a mujeres jóvenes y adolescentes en recuperación de un TCA. Además, se utilizó la observación participante digital para revisar los perfiles de sus cuentas en *Instagram* sobre su recuperación [*YouTube* y *TikTok* de forma complementaria].

Los hallazgos indican las prácticas en RRSS y los hábitos de consumo en relación con la temporalidad del padecimiento e historia de vida aunado al entorno social (principalmente familia y pares) y cultural, que abarca la comparación, el algoritmo, *selfies,* filtros, diseño de las RRSS y otros medios de comunicación; contribuyendo en la construcción de la IC.

También, se identifica el rol positivo y negativo de los profesionales de la salud y la atención en los centros de salud pública durante las trayectorias. Por lo que, se invita a reflexionar sobre la labor que ellos tienen para la prevención de estos padecimientos; a través de sus cuentas de RRSS y de forma presencial en consulta.

Finalmente, los resultados ponen de manifiesto la necesidad de un posicionamiento que considere la situación de las mujeres latinoamericanas; en donde el cuerpo femenino, cultural y socialmente, es percibido de cierta forma, exponiendo formas de opresión en esa localización.

Esto es parte de un trabajo mayor, en desarrollo, para obtener el grado de Maestría en Comunicación y Cultura Digital [CONACYT].

Palabras clave

Trastornos de la Conducta Alimentaria (TCA), Imagen Corporal (IC), Redes Sociodigitales (RRSS), Mujeres Adolescentes, Perspectiva de Género

Abstract

This research aims to understand the role of Social Networking Sites (SNS) in the construction of Body Image (BI) of latin adolescent women diagnosed with an Eating Disorder (ED).

For this, 5 life stories were elaborated to women and adolescent women in recovery of an ED. Also, digital participant observations were used to review her *Instagram* profiles [*YouTube* and *TikTok* in a complementary way] about her recovery.

The findings indicate the SNS practices and consumption habits in relation to the temporality of the ED, joined to the social (mainly family and peers) and cultural environment, covering comparison with other people, algorithm, *selfies*, SNS design and mass media. Which contributes to the construction of the BI.

Likewise, the positive and negative role of health professionals and public health centers attention during women´s ED trajectories is identified. Therefore, is invited to reflect on their work in the prevention of these diseases; through their SNS accounts and at face-to-face medical consultation.

Finally, the results highlight the need for a position that takes into account the situation of Latin American women; where BI, culturally and socially, is perceived in a certain way, exposing forms of oppression of the female gender in that location.

This research is part of a thesis work in development, to obtain a Master's Degree in Communication and Digital Culture, ascribed to CONACYT.

Keywords

Eating Disorders (ED), Body Image (BI), Social Networking Sites (SNS), Adolescent Women, Gender Perspective

Introducción

El presente trabajo es un avance de tesis que gira en torno al cuestionamiento: ¿cómo ha cambiado la construcción de la Imagen Corporal (IC) de mujeres adolescentes latinoamericanas, usuarias de Redes Sociodigitales (RRSS), antes y después de ser diagnosticadas con un Trastorno de la Conducta Alimentaria (TCA)? Por lo que, la mirada principal de la investigación parte de las prácticas en RRSS de las mujeres adolescentes diagnosticadas con un TCA y el papel que juega en los procesos de construcción de la IC en relación con la historia de su padecimiento.

A nivel nacional, según el Boletín Epidemiológico del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica de la Secretaría de Salud, a la semana 52 (26 de diciembre del 2021 a 1 de enero del 2022) del año 2021 se presentaron 3054 casos de TCA: 2,309 casos en mujeres y 745 en hombres.

Además, proyecciones realizadas por la Secretaría de Salud y CEAMEG estiman que hay 18 mil personas enfermas al año sin diagnóstico (El Universal Querétaro, 2017). De hecho, Cecilia Silva Gutiérrez, investigadora de la Facultad de Psicología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), señala que México no tiene una estadística precisa sobre los casos de TCA, ya que los datos registrados son únicamente de la gente que asiste a un tratamiento; muchas personas no buscan ayuda porque ha faltado conciencia sobre la problemática de estos trastornos (El Universal, 2016).

Ahora bien; dentro del panorama de la salud y el cuerpo femenino, mediado por valores culturales y sociales en un determinado entorno, los medios de comunicación pueden participar en función de las articulaciones entre la cultura y el poder (Bordo, 1995), que toman influencia hacia los TCA y hacia la toma de decisiones sobre la IC.

En este sentido, las RRSS son parte de un contexto social y cultural que participa en la construcción de la IC, especialmente en los casos de TCA (Izydorczyck, et al. 2020; Saul y Rodgers, 2018); y se sostiene la idea de que estas son un elemento en la configuración del cuerpo femenino, que ofrece nuevas formas de pensar y de tratarlo. Pueden participar de diversas formas, siendo un punto a considerar al hablar sobre el entorno sociocultural de estos padecimientos.

Investigaciones coinciden en que los componentes socioculturales (incluyendo las RRSS) participan en la construcción de la IC y en el desarrollo de un TCA (Cortez et al. 2016; Engeln, 2017; Engeln et al. 2020; Gerbasi et al, 2014; Izydorczyk, et. al, 2020; Saul y Rodgers, 2018).

Además; los TCA, en mayor medida, se presentan en mujeres adolescentes y jóvenes (Cortez, et. al, 2016; Engeln, 2017; Papalia y Martorell, 2015; Tiggeman y Slater, 2013). Lo cual, puede deberse a las demandas sociales y culturales propias de su sexo, mismas que abarcan la corporalidad. Por lo tanto, este fenómeno se relaciona con las construcciones culturales de la feminidad, situándose como prácticas de las feminidades normativas.

Asimismo, la adolescencia no es sólo una transición del desarrollo entre la niñez y la adultez, es una construcción que envuelve aspectos culturales y sociales en la cual la persona enfrenta cambios

físicos, cognitivos y psicosociales (Papalia y Martorell, 2015). Se atraviesan diversos procesos en donde el uso de las RRSS, puede orientar hacia la percepción de uno mismo, participando como educadores para reconocer cómo se debe ser.

La relación entre la adolescente, las RRSS y los TCA involucra tanto a los cambios propios de su etapa de vida, como a las actuales industrias tecnológicas y de salud aunado a los factores socioculturales dentro de su entorno, incluyendo la percepción de la feminidad que desde años anteriores ha existido. Como refiere Pineda (2020), las virtudes físicas son parte de la identidad femenina, mientras que la belleza se representa como un elemento del poder, donde el valor social depende de la belleza.

Hablando exclusivamente sobre la cultura digital, las adolescentes se vuelven aún más vulnerables frente a las RRSS, ya que posibilitan la legitimación, reproducción y divulgación de estereotipos corporales, así como códigos y valores culturales que pueden afectar a su salud. Se promueve la comparación con estándares de belleza poco realistas y se propicia la inseguridad corporal en las mujeres, especialmente en las plataformas donde se les brinda mayor importancia a la imagen, como *Instagram* (Engeln et al. 2020).

Sin embargo, las RRSS pueden participar no únicamente como productores o co-desencadenantes en este fenómeno (Peter y Brosius, 2021), sino también como un proceso dinámico (Eikey y Reddy, 2017), en donde el contexto social y cultural, al igual que la temporalidad de su padecimiento, tomará un papel importante para definir las prácticas y los usos de las mismas.

Por lo tanto, este texto invita a pensar en las RRSS no como un binomio positivo-negativo, sino bajo una postura abierta, en la que el uso en un contexto determinado le otorgará un sentido a la forma de utilización, apropiación y participación de estas.

Entonces, las RRSS, ligadas a una cultura que se articula en función de determinados componentes que le dan un sentido a las prácticas, percepciones y conductas; participan en la construcción de la IC en mujeres adolescentes, tomando un papel en el proceso de su padecimiento, el TCA. Lo cual, se puede relacionar con elementos particularmente derivados de la concepción y representación de las mujeres en el entorno.

La forma en la que las personas se adentran al entorno digital, resulta en función de normas sociales y culturales, y esto varía entre géneros. En relación a las mujeres, un cierto *habitus* tecnológico se va construyendo en función de la cultura, de manera jerárquica y vulnerable a las niñas (Natansohn, 2013).

En este sentido, la presente investigación también se coloca desde la perspectiva de género para cuestionar, contextualizar y problematizar cómo los ideales de belleza femenina aunado a los estereotipos de género están permeando en las RRSS, siendo necesario cuestionar el sistema en el que se están constituyendo las RRSS, en donde predomina una estructura patriarcal (Natansohn, 2013).

No obstante, es pertinente recordar la necesidad de abordajes interdisciplinarios que ayuden a una mejor comprensión de esta problemática, y se reconoce que esta investigación no engloba el fenómeno en su totalidad. El trabajo se enfoca principalmente desde una mirada sociocultural de los TCA y RRSS, las adolescentes latinoamericanas y la construcción de la IC.

Por lo anterior, este texto de carácter cualitativo con corte comprensivo, tiene como propósito principal comprender el papel de las RRSS en la construcción de la IC de mujeres adolescentes latinoamericanas que tienen diagnosticado un TCA.

Metodología

Con la finalidad de cumplir el objetivo principal de la investigación, se tuvo interés en escuchar y observar a mujeres latinoamericanas en recuperación de un TCA, a través de observación participante

digital y entrevista a profundidad con base en la noción de historia de vida; la cual busca "conocer la perspectiva del sujeto en relación a su propia vida, a los puntos clave o de inflexión, a los hechos del pasado que dejaron huellas en el presente" (Schettini y Cortazzo, 2015, p. 82).

La muestra de informantes es no probabilística y se formó con el efecto bola de nieve. Asimismo, para esta investigación la adolescencia se considera mediante dos sentidos: 1) como un grupo de edad que abarca de los 11 a los 20 años (Papalia y Martorell, 2015) y 2) como un momento de vida en las mujeres.

Primero, se hizo un ejercicio exploratorio. A través de la cuenta de *Instagram* de la investigadora, se buscó "*tcarecovery*". En este sentido, se observaron las cuentas que aparecieron; las cuales, en su mayoría solían ser adolescentes o mujeres entre 23-27 años que contaban su experiencia y su día a día a partir de su historia de vida en lo que concierne al TCA. Principalmente situadas en España y Latinoamérica [Argentina, México, Colombia, Perú, Bolivia], así como en Estados Unidos pero de ascendencia latina.

En función de esta exploración se eligieron a ciertas cuentas y mujeres para platicar con ellas y realizar observaciones en sus RRSS, bajo los siguientes criterios: 1) son latinoamericanas, 2) son adolescentes o mujeres jóvenes que pasaron por un TCA en su adolescencia, 3) están en recuperación del TCA, 4) hicieron público su TCA en RRSS y son activas en el entorno digital, 5) accedieron a platicar con la investigadora, reconociendo las condiciones éticas que se están manejando en la tesis (incluyendo una carta de consentimiento informado y explicación sobre qué implica colaborar en la investigación).

Adicionalmente, se contempla el muestreo por conveniencia (Hernández et al. 2014); debido a la accesibilidad y disponibilidad de las usuarias en RRSS con un TCA.

Al seleccionar a las participantes y al previamente platicar con ellas vía *Whatsapp* [mensaje y llamada] e *Instagram* [mensaje de voz]; durante el periodo agosto-octubre del 2022 se realizaron 5 historias de vida. Tres de las mujeres son mexicanas [18, 24 y 27 años], dos son argentinas [16 y 27 años].

A su vez, se tuvo [y se tiene] comunicación con las participantes para aclarar dudas en función de su trayectoria. Las historias de vida duraron de 81 a 165 minutos, en una sola sesión individual; una conversación basada en la horizontalidad, vía *Zoom*. Además, las sesiones fueron grabadas y transcritas a formato electrónico [en total son 174 páginas].

Con la finalidad de generar un clima de confianza, la plática inició con *rapport.* Después se tuvieron algunas preguntas introductorias sobre el nivel socioeconómico de las participantes. Posteriormente, con la ayuda de una guía temática y a medida que la plática fluía, durante toda la sesión se les invitó a reflexionar principalmente sobre su trayectoria con TCA; desde antes del diagnóstico hasta el día a día en recuperación y la actualidad, y cómo han utilizado las RRSS a lo largo del tiempo.

La estructura de la guía sostenía la división entre antes y después del diagnóstico; sin embargo, mientras surgía la conversación, se solían combinar momentos y temporalidades en la historia. Por lo que, al momento del análisis, los momentos se estructuran en función de la comunicación de la trayectoria del padecimiento.

Adicionalmente, se les pidió que contaran sobre el entorno social [familia, pares, amistades, pareja, etc.] en el que se han encontrado, así como sus experiencias en relación con la IC, el TCA y el contexto [el entorno social y los medios de comunicación] durante su vida.

Es importante mencionar que, con la finalidad de describir las prácticas relacionadas con el TCA que ayuden a identificar los significados sobre la construcción de la IC, se crearon guías para las observaciones [en función de los objetivos de la

tesis], que sirven de ayuda para la recolección de información en el trabajo de campo.

También; en relación al ejercicio exploratorio, las historias de vida y las observaciones en las cuentas de *Instagram* específicamente de las mujeres participantes con las que se platicó, se llevaron a cabo observaciones complementarias en *Tik Tok* y en *YouTube.*

De hecho, actualmente la investigación se encuentra en esta fase; trabajando en las observaciones de las cuentas de *Instagram* [y otras RRSS complementarias según la participante] de las mujeres y en el análisis del trabajo de campo [ejercicio exploratorio, historias de vida, observaciones].

Para el análisis de los datos se parte de Marcus Banks (2010) y del análisis crítico del discurso (ACD) de Van Dijk (1999); el cual refiere a:

> Un tipo de investigación analítica sobre el discurso que estudia primariamente el modo en que el abuso del poder social, el dominio y la desigualdad son practicados, reproducidos, y ocasionalmente combatidos, por los textos y el habla en el contexto social y político (Van-Dijk, 1999, p.185).

El conjunto de datos se está categorizando por temáticas para posteriormente revisar y agrupar los contenidos. Lo anterior, lleva a temas que ayudan a la comprensión del sentido de las RRSS en el TCA y en la construcción de la IC en las mujeres adolescentes.

De igual forma, se está trabajando en identificar la relación entre trayectorias, al mismo tiempo que se regresa al campo para encontrar coherencia en la información recolectada.

Cuando la etapa de análisis y redacción de resultados esté por concluirse; se tendrá comunicación con cada una de las participantes [de manera individual] para poder crear un diálogo entre la interpretación de la mujer y adolescente [su historia de vida y las observaciones en RRSS] por parte de la investigadora. Esto, para estar en sintonía; en acuerdo mútuo, horizontal, colaborativo, con respeto y atendiendo la voz de cada una de ellas.

A continuación, se presenta una parte de los hallazgos que hasta el momento se tienen.

Resultados

Como ya se mencionó, la mirada principal de esta tesis parte de las prácticas en RRSS de las mujeres adolescentes diagnosticadas con un TCA y el papel que juega en los procesos de construcción de la IC en relación con la historia de su padecimiento.

Para el propósito de este ejercicio de divulgación, solamente se presentarán datos generales con respecto a los resultados que se tienen actualmente, y se incluyen algunas citas de la comunicación con las mujeres a manera de ejemplificación.

También, con la intención de tener un mayor orden en la presentación, los hallazgos se dividieron en 2 partes: antes y después del diagnóstico de TCA.

Antes del diagnóstico

Primero; se encuentra el rol principal de la familia y los pares, así como del contexto sociocultural en las formas de utilización de RRSS en el proceso del TCA y la construcción de la IC en las mujeres y las adolescentes:

> *"Yo creo que fue un rol importante* [las RRSS] *porque, para que se desarrolle también, porque digo… Muchas veces podemos estar en desacuerdo con la forma de cómo vive la gente en nuestra casa, ¿no? O en nuestro contexto, cuáles son sus reglas, cuáles son las normas digamos, ¿no? De qué es lo que está bien y qué es lo que está mal. Ahora, cuando miras para afuera y ves que todos cumplen esa misma norma, dices "ah okay esto es lo correcto, ¿no?" Como… en el*

momento en el que consumes algún medio de comunicación que te está diciendo lo mismo que estaba escuchando en este caso en mi casa; era como "okay, entonces está bien, esto está correcto". Entonces, es como, avanzó creo yo mi castigo hacia mi cuerpo y hacia mi forma de vincularme con mi alimentación de una forma como casi que en transparencia, ¿no? Como que casi sin darme cuenta como que me fui adentrando y decir "ah okay esto es normal, no pasa nada"...Creo que cumplió ese rol; fue como un contexto que avaló que se desarrollen un montón de cosas" [Participante 1].

Los profesionales de la salud también cumplen un papel relevante en las temporalidades del padecimiento. Cuando atendieron a las mujeres adolescentes antes del diagnóstico y en la atención del TCA, provocaron malestar con su cuerpo y con su salud. Tanto en las 5 participantes con las que se platicó, como en las cuentas de *Instagram,* se expresó alguna experiencia negativa por parte de algún profesional de la salud:

"-Resultó que con la terapeuta que yo iba, literal me dijo "es que es fuerza de voluntad… tú haces eso porque no tienes fuerza de voluntad, llama a un buen nutriólogo"; que no sé qué tanto. Literal me dio una tarjeta de otro nutriólogo…
-¿La psicóloga?
-Mi psicóloga, sí…" [Participante 2].

Este tipo de situaciones, repercuten en las prácticas de uso de RRSS, así como en la expresión del TCA y en lo que significa ser una persona del género femenino con una apariencia física "fuera de los estándares":

"*[...] qué es lo que soy si no soy mi cuerpo, qué es lo que soy si no soy esta imagen… ¿no? ¿Qué es lo que tengo para decir al mundo? ¿Qué es lo que soy? ¿Qué es mi identidad?*" [Participante 1].

Otro acontecimiento que sucedía, era la comparación con las profesionales de la salud en RRSS:

"[...] Instagram…. Esto fue otra cosa que me ha ayudado mucho. Yo limpié mi Instagram porque literal, yo me la pasaba viendo "rutinas para cintura, rutinas…". Y hasta que no dejé de seguir eso, pude controlarme también. Yo me la pasaba viendo el perfil de la nutrióloga con la que yo iba…. Literal, ella tiene una cintura de niña y tiene unas pompas enormes… Y yo me la pasaba viéndola…" [Participante 2].

Por otra parte, se identifica que ellas le otorgaron un significado al cuerpo gordo [feo], pero a partir de que esta concepción es percibida en el entorno social (familia, pares y RRSS, principalmente). Es de ahí, que inician con las prácticas en RRSS e internet en relación con la búsqueda de un cuerpo que no sea feo, y sea afín a lo que socialmente se considera adecuado. Esto solía ser reforzado por parte de algunas nutriólogas.

Además, las mujeres jóvenes y las adolescentes sentían que, en el tejido social [*offline* y *online*], las valoraban en función de su cuerpo, observando su apariencia física. Y, a partir de ahí, opinaban sobre ellas. "Una cultura que evalúa por el cuerpo", según una de las mujeres con las que se platicó:

"Un sonido de fondo diciéndome pum pum pum… Como "gorda, horrible, fea", como "mira ese grano, mira cómo estás, mira qué es lo que pasa, mira cómo te ves, qué te vas a poner, qué comiste, qué vas a comer, y qué y cómo vas a compensar lo que comiste hoy a medio día, cuántas calorías tiene lo que hoy comiste, y cómo vas a estar bajando, aún tienes que ir a ponerte las zapatillas y salir a correr"... Pum, pum pum, todo el tiempo así… Está ahí, ¿no? Pero está" [Participante 1].

Es de gran relevancia señalar que los comentarios sobre el cuerpo, tanto *offline* como *online*, participan en el TCA. Lo cual dio pie a utilizar RRSS y construir su IC de cierta forma:

> *"-Ya en verano me acuerdo que hubo un día que salí con mi mamá y yo tenía ropa, o sea ropa de verano: shorts y remeras cortas, y ella me hizo un comentario como de que había subido de peso y… me acuerdo de que cuando yo escuchaba cosas así… era cuando me desesperaba. Y recuerdo que, no es que estaba todo el tiempo pensando en eso, pero sí era más consciente…"* [Participante 3].

> *"El comentario del otro determinaba quién era yo. A ese punto. Entonces, era muy exigente para conmigo, para poder responder a ese canon de esa exigencia, digamos, ¿no? Entonces, quizás en principio sí podrían llegar a opinar de una forma que no me gustara tanto, pero hacía todo mi esfuerzo para que eso no suceda. Entonces como hacía todo mi esfuerzo, la mayoría de los comentarios siempre eran: "Ay qué flaquita que estás, qué bonita"... Como porque claro, yo estaba haciendo todo para que eso suceda, ¿no?…"* [Participante 1].

> *"Entonces pues empezó todo: "no, qué bien te ves"... Un maestro incluso me dijo "¿qué has hecho?" y yo "nada".... Ese nada era no comer… Y matarme de ejercicio…. [...] o sea muchos comentarios, ¿no? Y ahí me empezó el miedo, el miedo, el miedo…"* [Participante 4].

> *"Por un lado me hacían sentir triste, porque yo decía "¡es que no! O sea no soy mi cuerpo, ¿por qué me hacen esos comentarios?"... O sea como si mi cuerpo de verdad valiera lo de sus comentarios… Pero por otro lado, o sea como que me motivaban a cada vez querer bajar más; porque yo decía "puedo bajar más entonces, sí lo puedo lograr" y… Bueno…."* [Participante 5].

Esta relación entre el cuerpo delgado y lo bello, refuerza estereotipos sobre las mujeres e insatisfacción corporal, promoviendo la cosificación del género femenino y cumpliendo un rol en el TCA.

Entonces, dependiendo del contexto en el que se encuentran, se suelen definir las prácticas y las formas de uso de las RRSS; como el querer descargar aplicaciones para contar las calorías, seguir a ciertas *influencers*, o compararse con perfiles en RRSS [esto es muy recurrente].

Aunado a lo anterior, los servicios de salud pública y algunos profesionales de la salud no tenían conocimiento o preparación sobre el tratamiento de los TCA. Por lo que ellas decidieron buscar en internet [*Google*] y RRSS [*YouTube*] sobre qué podrían tener, y es a través del entorno digital y la escritura en papel que pudieron expresar lo que realmente estaban pasando en ese momento.

Adicionalmente, las RRSS participaron en la propia detección del TCA y búsqueda de ayuda, pero también en buscar alternativas para "estar en los huesos" (participante 4); o sea, buscar tips en páginas y cuentas pro-TCA (*ana* y *mia*) para bajar más de peso o para realizar conductas de riesgo (vómito autoinducido, ejercicio excesivo, etc). También, como inspiración para estar acorde a lo estético en el entorno digital.

No obstante, la pandemia por covid-19 fue un periodo importante en el TCA y el uso de RRSS en adolescentes. Algunas de ellas consideran que el confinamiento y el consumo de RRSS, en mayor medida, dio motivo de desarrollar el padecimiento:

> *"Yo siempre había sido una persona muy robusta, pero no me sentía como tal. O sea, yo llegué a la pandemia, y… como que el contenido, las redes sociales y todo eso… crearon en mí como una inseguridad, de que… O sea, tal vez mi cuerpo está mal,*

debería cambiarlo. Y pues ya, me veía al espejo y me veía con asco; y yo decía "pues es que tengo que cambiar, ¡por mi salud!", y ¡sí! ¡Empecé por mi salud! Porque dije "pues me voy a cuidar, voy a cuidar mi cuerpo", todo, o sea todo en mí, pero ya después de eso se fueron dando unas conductas que pues no estaban correctas… [...] fue de que "tengo que cambiar"; porque yo veía a todas mis amigas, o sea todas, ¡todas!, bueno la mayoría… y… eran más delgadas[...]" [Participante 5].

Cabe señalar que la cultura de dieta y el *fitness* se mencionan constantemente. Algunas inician cambiando sus hábitos alimenticios con la finalidad de obtener una mayor salud; relacionado también con una inspiración por parte de *influencers* de estilo de vida y salud.

Sobre la presentación de su IC en RRSS, las *selfies* y los filtros para fotografías solía ser algo cotidiano. El procedimiento para tomar y publicar la foto era producido y planeado acorde a la "norma", viendo a otras chicas para decidir cómo se tomarían las fotografías. Y, para algunas, los *likes* definían la satisfacción con su IC, si la foto no tuvo tantos *likes*, significa que "no agradó lo suficiente" (participante 1).

También se habló sobre la representación social del TCA. Cuando ellas pensaban si estaban pasando por este padecimiento o no, dudaban; porque la representación que se le daba a una persona con TCA no era como ellas lo estaban afrontando:

-También en el colegio teníamos una materia que era como para tratar temas que a nosotros nos gustaría, y me acuerdo que había ganado lo de trastornos alimenticios…
-¡¿A poco?!
-Sí, y yo recuerdo que decía… Solo habíamos dado bulimia, anorexia, y no sé si otro más o qué; pero como que lo que vimos era muy poco por arriba quizás y yo decía "Bueno, pero yo no estoy así de flaca como… como la chica de esta imagen… Entonces yo no tengo eso"... [Participante 3].

Después del diagnóstico

Se encuentra que algunas cuentas en RRSS de profesionales de la salud que las mujeres y adolescentes siguen, les es de gran ayuda al momento de afrontar el TCA y la recuperación.

Con respecto a sus cuentas de *Instagram* de recuperación; utilizan RRSS como un diario y medio de expresión, como un lugar de resistencia ante los ideales estéticos dirigidos al cuerpo femenino y como una forma de ayudar a las personas con tal de que no pasen por la misma situación que ellas, creando comunidades de apoyo.

Además, a raíz de que expresan su TCA en RRSS y lo hablan en entornos *offline* [escuela, principalmente], esta problemática empieza a conocerse de otra forma, menos "estereotipada", como lo hacían llamar; y se percatan de que otras personas pasaban por lo mismo:

"Al yo recuperarme me voy dando cuenta de que otras personas también pasaron por lo mismo, pero nunca tuvieron el valor o, la fortuna de decirlo" [Participante 5].

"[...] pero un papá que me conoce, me conoció bien, me conoció enferma y ahora me conoce, siempre me ha conocido… es papá de una chiquilla de ahí. Y pues ya, me dijeron "no pues habla con ellas, la niña pues no quiere comer, que se siente gorda…" Se preocupó, ¿no? Entonces pues ya, hablé con las directoras…. Entonces la directora dijo "no es que lo tienes que hacer con todas, porque no sólo es ella", dice…. Todas están así" [Participante 4].

Asimismo, las participantes (principalmente las de mayor edad) consideran que las RRSS pueden ayudar a promover mayor diversidad corporal. Sin

embargo, piensan que son un arma de doble filo, por lo que es necesario una alfabetización acerca del manejo del entorno digital y RRSS para que contribuya a la prevención de los TCA.

Durante la plática, se nombró al algoritmo como un elemento que actúa en el TCA, y que es necesario reconocer por qué aparece tal contenido relacionado, así como saber qué hacer para cambiarlo y consumir contenido de ayuda para la recuperación. En este sentido, también se definió como detonante el hecho de que en las recomendaciones, antes del diagnóstico, aparecía puro contenido que invitaba a adelgazar a partir de conductas no saludables, y un cuerpo delgado o un cuerpo estético con muchas curvas.

Todas las participantes comentaron la necesidad de elaborar estrategias que traten específicamente sobre la prevención de un TCA. También, sensibilizar a las familias acerca de cómo educar para tener una IC saludable; considerando el tema de la salud bajo un enfoque no peso-centrista [*haes*].

La acción de comer, hacer ejercicio y cuidarse; de percibir el propio cuerpo, adquiere otro significado al momento de estar en recuperación; y esto tuvo relación con los cambios de hábitos en consumo de RRSS. Antes, a los alimentos y el ejercicio físico se les atribuía significados relacionados con alcanzar aceptación social. Ahora, las participantes definen a su IC como algo más que un cuerpo y una talla, como un motor para disfrutar la vida.

Discusión y Conclusiones

Como ya referían Eikey y Reddy (2017), las RRSS participan como un proceso dinámico a lo largo de la trayectoria del TCA. Antes del diagnóstico como un reforzador de estereotipos, desde la desesperación por alcanzar un ideal corporal afín a lo que en el entorno sociocultural se promovía. Al afrontar el TCA, las RRSS fueron utilizadas como forma de diario, de resistencia ante ideales y como una forma de apoyo que permitiera construir una ayuda colectiva entre las personas que están pasando por la misma situación.

El tema de las comparaciones con otras personas de forma *online* y *offline* también se expresó de forma recurrente, lo cuál se refuerza en RRSS. Adicionalmente, la mayoría percibió cambios en el algoritmo y en los contenidos relacionados en sus cuentas de RRSS; por lo que, después del diagnóstico, fueron conscientes de la influencia que puede llegar a tener sobre el TCA.

Las RRSS participan en la percepción de la propia IC; por ejemplo, a través de prácticas como las *selfies* y los filtros. Lo cual, deja entrever cómo es considerado el cuerpo bajo los ojos de ellas y de los que las observan. Por lo anterior, al igual que en Cortez et al. (2016), se identifica la relación entre los factores socioculturales y los TCA, incluyendo las industrias creativas, tecnológicas y de salud bajo una estructura patriarcal (Natansohn, 2013; Pineda, 2020).

Ahora bien, los comentarios sobre el cuerpo [*online* y *offline*] contribuyen a la reproducción de estereotipos corporales y de género, los cuales influyen en la cosificación del cuerpo femenino, desde pequeñas (Pineda et al. 2020) y en relación con la localidad geográfica-cultural en la que se encuentran; tal como ocurre con las adolescentes y las mujeres jóvenes de este estudio. Es pertinente reflexionar sobre la forma en la que se habla sobre la propia IC y de las otras personas.

Finalmente, así como en el modelo de influencia tripartita (Shroff y Thompson, 2006) se indica la relación entre la familia, los pares y los medios de comunicación en la influencia de insatisfacción corporal y la generación de un TCA, también se debe contemplar a los profesionales de la salud involucrados en esta problemática. Ya que, están participando vía *online* [a través de sus cuentas de RRSS] y *offline* [en los centros de salud pública y las consultas médicas personales], especialmente en la representación de la IC y el género femenino.

Sin embargo, se recuerda que este trabajo aún no está terminado, todavía quedan temas por analizar y plasmar en el texto. Por ejemplo, la búsqueda de pareja en algunas de las participantes tomó un rol importante en el consumo de contenido en RRSS en relación con alcanzar un ideal corporal acorde a los estándares culturales de belleza. También, se señala la representación de la mujer latinoamericana bajo ciertos valores culturales, diferentes a algunos cánones hegemónicos de belleza corporal (Pineda, 2020).

Por lo tanto, estos hallazgos son preliminares, y están ayudando a la construcción de un análisis que englobe más factores y aspectos que posiblemente aún no se han identificado respecto a esta problemática multifactorial.

Referencias

Banks, M. (2010). *Los datos visuales en Investigación Cualitativa.* Ediciones Morata.

Bordo, S. (1995). *Unbearable Weight, Feminism, Western Culture, and the Body*. University of California Press.

Cortez, D., Gallegos, M., Jiménez, T., Martínez, P., Saravia, S., Cruzat-Mandich, C., Díaz-Castrillón, F., Behar, R., & Arancibia, M. (2016). Influence of sociocultural factors on body image from the perspective of adolescent girls. *Revista Mexicana de Trastornos Alimentarios, 7*(2), 116–124. https://doi.org/10.1016/j.rmta.2016.05.001

Eikey, E. V., y Reddy, M. C. (2017, mayo). "It's definitely been a journey": A qualitative study on how women with eating disorders use weight loss apps [conferencia]. *Conference on Human Factors in Computing Systems - Proceedings,* 642–654. https://doi.org/10.1145/3025453.3025591

El Universal Querétaro. (2017, agosto 20). Anorexia. Una enfermedad silenciosa. *El Universal Querétaro.* https://www.eluniversal.com.mx/nacion/sociedad/anorexia-enfermedad-que-ataca-ninas-y-ninos

El Universal (2016, diciembre 23). Trastornos de la Conducta Alimentaria. *El Universal.* https://www.eluniversal.com.mx/articulo/ciencia-y-salud/2016/12/23/trastornos-de-la-conducta-alimentaria

Engeln, R., Loach, R., Imundo, M., y Zola, A. (2020). Compared to Facebook, Instagram use causes more appearance comparison and lower body satisfaction in college women. *Body Image, 34,* 38–45. https://doi.org/10.1016/j.bodyim.2020.04.007

Engeln, R. (2017). *Enfermas de belleza: Cómo la obsesión de nuestra cultura por el aspecto físico perjudica a niñas y mujeres* (G. Lelli, ed.). Editorial HarperCollins Español. Impreso en Estados Unidos, Nueva York (primera edición en 2017).

Gerbasi, M. E., Richards, L. K., Thomas, J. J., Agnew-Blais, J. C., Thompson-Brenner, H., Gilman, S. E., y Becker, A. E. (2014). Globalization and eating disorder risk: Peer influence, perceived social norms, and adolescent disordered eating in Fiji. *International Journal of Eating Disorders, 47*(7), 727–737. https://doi.org/10.1002/eat.22349

Hernández Sampieri, R., Fernández Collado, C., & Baptista Lucio, P. (2014). *Metodología de la Investigación* (6th ed.). McGrawHill. https://doi.org/10.1192/bjp.112.483.211-a

Izydorczyk, B., Sitnik-Warchulska, K., Lizińczyk, S., & Lipowska, M. (2020). Socio-Cultural Standards Promoted by the Mass Media as Predictors of Restrictive and Bulimic Behavior. *Frontiers in psychiatry, 11.* https://doi.org/10.3389/fpsyt.2020.00506

Natansohn, G. (coord). (2013). *Internet en código femenino. Teorías y prácticas.* La Crujía Ediciones.

Papalia, D. y Martorell, G. (2015). *Desarrollo humano (13ª ed.).* Editorial McGraw-Hill Interamericana.

Peter, C., & Brosius, H. B. (2021). Die Rolle der Medien bei Entstehung, Verlauf und Bewältigung von Essstörungen Bundesgesundheitsblatt, *Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz, 64*(1), 55–61. https://doi.org/10.1007/s00103-020-03256-y

Pineda, E. (2020). *Bellas para morir: estereotipos de género y violencia estética contra la mujer.* Prometeo libros.

Saul, J. S. y Rodgers, R. F. (2018). Adolescent Eating Disorder Risk and the Online World. *Child and Adolescent Psychiatric Clinics of North America, 27*(2), 221–228. doi:10.1016/j.chc.2017.11.011

Schettini, P. y Cortazzo, I (coords). (2015). *Técnicas y estrategias en la investigación cualitativa.* Editorial de la Universidad de la Plata.

Secretaría de Salud. (2021). Boletín Epidemiológico Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Sistema Único de Información (No. 52)

Shroff H. y Thompson JK. (2006) The tripartite influence model of body image and eating disturbance: A replication with adolescent girls. *Body Image. 3* (1):17-23. 10.1016/j.bodyim.2005.10.004.

Tiggemann, M., y Slater, A. (2013). NetGirls: The internet, facebook, and body image concern in adolescent girls. *International Journal of Eating Disorders, 46*(6), 630–633. https://doi.org/10.1002/eat.22141

Van-Dijk, T. A. (1999): "El Análisis Crítico del Discurso". R*evista Anthropos* (186), pp. 23-36.

Laboratorio móvil para la demostración empírica de fenómenos físicos oscilatorios.

J. S. Avendaño-Vega, A. J. Reséndiz, V. L. González-Ajuech, A. Hernández-Rodríguez, M. B. Ortuño-López*.
Tecnológico Nacional de México Campus Querétaro.

Autor de correspondencia: **monica.ol@queretaro.tecnm.mx

Resumen

Con la presente investigación se realizó un estudio que incluye el diseño y construcción de un laboratorio móvil, con el propósito de lograr en los estudiantes, a través de la práctica, la comprensión de un fenómeno físico vibracional, sin tener aún conocimiento teórico alguno sobre los conceptos relacionados con los movimientos oscilatorios de sistemas de un grado de libertad. Esto como una estrategia didáctica innovadora para despertar el interés de los estudiantes de nivel medio superior en la selección de carreras relacionadas con la ingeniería, además para el proceso enseñanza aprendizaje de los temas básicos de los programas de física en las ingenierías.

Palabras Clave: Enseñanza remota, estrategias didácticas, actividades experimentales, laboratorio móvil.

Abstract

With the present investigation, a study was carried out that includes the design and construction of a mobile laboratory, with the purpose of achieving in the students, through practice, the understanding of a vibrational physical phenomenon, without even having any theoretical knowledge about the Concepts related to the oscillatory movements of systems with one degree of freedom. This as an innovative didactic strategy to arouse the interest of high school students in the selection of careers related to engineering, in addition to the teaching-learning process of the basic topics of physics programs in engineering.

Keywords: Remote teaching, didactic strategies, experimental activities, mobile laboratory.

Introducción

De acuerdo con la Escuela Nacional de Administración Pública (2021) “La enseñanza remota es una forma de educación a distancia, en la que el docente dicta clases en tiempo real y se apoya en diferentes entornos de aprendizaje digital”.

En cuanto al concepto de enseñanza remota de emergencia, García Peñalvo, (2020) lo considera en su modelo de referencia para la enseñanza no presencial en universidades presenciales.

Ahora bien, para Idoyaga et al. (2020) durante la pandemia de COVID-19 los docentes tuvieron la necesidad de implementar estrategias de enseñanza remotas de emergencia para garantizar la continuidad de los procesos de aprendizaje, dentro de estas estrategias este autor considera a las actividades experimentales con la implementación de laboratorios remotos ya que estos permiten vincular el conocimiento empírico de estudiantes a nivel superior.

Por su parte Herrera et al. (2020) hace referencia a los laboratorios remotos y virtuales mismos que complementan los experimentos presenciales de los estudiantes de nivel superior y cuyo avance en este tipo de enseñanza es principalmente por el uso de las tecnologías de la información que se incrementaron durante la pandemia de COVID-19 como herramienta fundamental en la educación.

Vargas (2020) hacer referencia a los laboratorios remotos enfocándose a las ciencias básicas de ingeniería, realiza específicamente un estudio de caso en ingeniería de control utilizando herramientas digitales, en donde los percibieron una sensación de inmersión en un laboratorio real a pesar de que la

experimentación fue en la web, demostrando con ello la importancia que en el aprendizaje tienen los laboratorios remotos.

Chadwick et al. (2021) en su afán de impulsar la enseñanza en tiempos de COVID-19 analizaron estrategias didácticas relacionadas con materias de física básica. En este sentido, Pardo et al. (2020) realiza un estudio sobre la física, refiere a las prácticas de laboratorio del movimiento rectilíneo uniforme que elaboran los estudiantes con dispositivos móviles, mismo que permitió medir las variables del Movimiento Armónico Simple y almacenar información en unidades menores a milésimas de segundo, generando con ello un aprendizaje significativo.

En base a lo anterior, el objetivo del presente proyecto de investigación es mostrar que el laboratorio móvil es una herramienta didáctica para la comprensión empírica de los fenómenos físicos oscilatorios, para ello se incluye el diseño y construcción del prototipo que permitirá realizar las prácticas remotas, la elaboración de un manual de actividades experimentales, el diseño del instrumento para la evaluación de la comprensión del fenómeno y sus variables por parte de los estudiantes que conforman la muestra, el análisis del costo beneficio y finalmente la interpretación y conclusiones de los resultados obtenidos.

Metodología

Para llevar a cabo el desarrollo del proyecto, se realizó la búsqueda sistemática del estado del arte relacionado con el objetivo del estudio, el enfoque es cuantitativo, el cual busca especificar las propiedades, características de fenómeno que sea sometido a experimentos o análisis, de manera tal que permitieron el establecimiento de un modelo o interpretación de resultados cuantificables (Hernández-Sampieri y Mendoza, 2018), con un alcance exploratorio y descriptivo, el diseño es experimental, llevado a cabo en dos momentos.

En la primera etapa se diseñó y construyó una herramienta didáctica para el desarrollo de las actividades experimentales asociadas al fenómeno del movimiento oscilatorio de un péndulo y sus variables.

Asimismo para la evaluación de la comprensión de los estudiantes del fenómeno físico, se diseñó un instrumento el cual consta de un cuestionario elaborado en Google Form, con una Escala de Likert, mismo que contiene 10 preguntas, su aplicación se llevará a cabo en una segunda etapa y será enviado a los correos institucionales de los participantes. La población que se tiene contemplada consta de 120 estudiantes de nuevo ingresos a las carreras de las ingenierías mecánica, mecatrónica, industrial y en materiales del Tecnológico Nacional de México, Campus Querétaro, el tamaño de la muestra representativa es de 92 participantes, para obtener un nivel de confianza del 95% y un margen de error del 5%, la muestra fue determinada a través del programa *Survey Monkey*.

Para llevar a cabo las actividades experimentales se realizaron las siguientes actividades:

1. Diseño y construcción del laboratorio móvil

A pesar de que el laboratorio tiene una gran variedad de configuraciones para un gran número de prácticas, sólo nos concentramos en los que sirven para 4 de las variaciones del péndulo (péndulo simple, péndulo simple amortiguado con agua, péndulo con un cuerpo rígido regular y péndulo con un cuerpo rígido irregular.

previamente diseñado en el software Solid Works se buscó que fuera de construcción simple y con materiales relativamente muy económicos en este primer prototipo con material que cualquier persona puede conseguir en una ferretería.

2. Metodología de la práctica

Teniendo la totalidad de los materiales dentro de nuestro laboratorio móvil, usaremos la base especialmente hecha para un péndulo y se harán un total de 4 prácticas que harán que los sujetos de la muestra ejemplifican y comprendan los modelos físicos antes mencionados así como sus implicaciones similares en la ejecución pero con

diferencias importantes que nos darán diferentes perspectivas sobre temas en específico

Después de colocar la base en una mesa, se determinaron un total de 3 longitudes a las que se va a poner la cuerda (la medida que se tomará será desde el punto donde la cuerda se apoya de la base hasta el centro de la esfera).

Por cada longitud se harán oscilar las 3 diferentes esferas para obtener un total de 9 datos midiendo el tiempo de oscilación y obtener los valores de frecuencia en cada prueba y se discutirán a continuación.

Después se repetirá la misma práctica con la diferencia de que llenaremos la tina (que también está incluida en el material) con agua y dejamos oscilar dentro de la tina únicamente la esfera de metal ya que el fluido nos limita a solo usar esta esfera, significa que solo se harán tres medidas de frecuencia

La base de péndulo está diseñada para también colocar cuerpos rígidos ya sean regulares o irregulares (ambos los usaremos a continuación).

primero con un objeto simple y de geometría regular (en este caso una regla) buscaremos su centro de masa balanceandolo en nuestro dedo, después procederemos a hacerlo oscilar lo que nos ayudará a obtener una frecuencia que nos permitirá obtener a qué distancia del centro de masa está el punto (eje), del cual está sujeto. este resultado lo compararemos con el resultado de balancear la regla sobre nuestro dedo y comprobaremos aunque con una posibilidad de mínimo error que nuestro resultado está muy cerca de la realidad.

Después de lo que se hizo con el objeto regular y sabemos que el método funciona, procedemos a cambiar el objeto por uno irregular la diferencia entre estas dos prácticas es que en el caso de este objeto nosotros ya tenemos su centro de masa pero tiene orificios en diferentes puntos del cuerpo en los cuales haremos el mismo procedimiento para obtener la excentricidad del orificio y comprobar que el método funciona teniendo un centro de masa muy aproximado por lo menos delimitando un área.

Evaluación de la comprensión de los fenómenos

Diseño del instrumento de evaluación (cuestionario)

Evaluación costo/beneficio
se efectuará un experimento aplicado en una muestra de n estudiantes de educación media superior en el cual con la finalidad de saber aproximadamente cuanto dinero y tiempo un individuo gastara en efectuar el listado de prácticas dentro del compendio de este documento, de esta manera se busca demostrar que el laboratorio móvil es una mejor opción que da la posibilidad de tener un espacio idóneo para aprender desde nuestra casa, o cualquier otro lugar ajeno a las instalaciones educativas.

será cronometrado el tiempo desde que el individuo tenga la metodología individual de cada práctica hasta que termine los resultados y será comparado el gasto total por individuo comparando las distintas zonas de la ciudad en las que vivan

3. Diseño del instrumento de evaluación

Por favor marca con una "X" en la columna de cada frase que mejor corresponde a tu respuesta, tomando en consideración la siguiente nomenclatura:

1 Si

2 No

Preguntas	1	2
1. ¿Sabes que es un péndulo?		
2. ¿Estás consciente del movimiento de un péndulo?.		

Por favor marca con una "X" en la columna de cada frase que mejor corresponde a tu respuesta, tomando en consideración la siguiente nomenclatura:

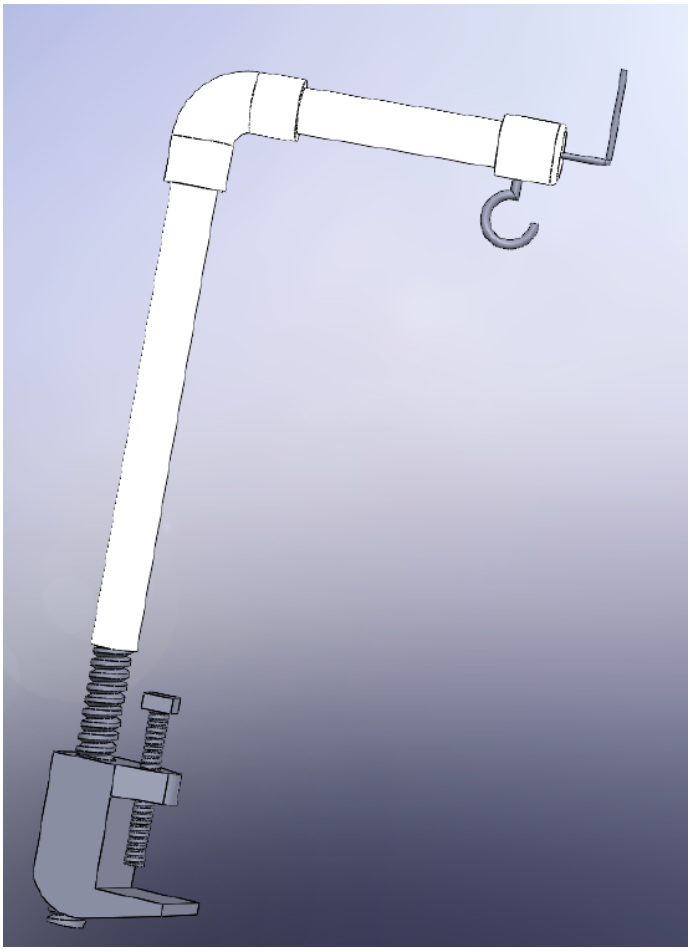
1 Totalmente en desacuerdo	2 En desacuerdo	3 Ni de acuerdo ni en desacuerdo	4 De acuerdo	5 Totalmente de acuerdo

Por favor, evita como sea posible seleccionar la columna neutral.

Afirmaciones	1	2	3	4	5
3. La frecuencia teórica de un pendulo raíz (g/l), se puede obtener en función de la solución de su movimiento.					
4. Experimentalmente se puede obtener una frecuencia contando las oscilaciones en un determinado tiempo.					
5. El error que hay entre la solución de movimiento del péndulo y las oscilaciones en un determinado tiempo se debe tanto al error de medición como a la fricción del aire.					
6. Si no se considera el error de medición, es posible calcular el coeficiente de amortiguamiento que ocasiona el aire, comparando el resultado del punto 3 y 4.					
7. El experimento de usar un péndulo es muy adecuado y fácil para obtener la frecuencia de oscilación de un movimiento armónico.					
8. El experimento de usar un péndulo es muy adecuado y fácil para entender el concepto de frecuencia amortiguada.					
9. El experimento del péndulo en el aire se puede extender a un medio más viscoso como el agua, para dejar más claro el concepto de movimiento amortiguado.					
10. El experimento del péndulo simple se puede extender a un péndulo con objeto irregular a fin de obtener su momento de inercia de masa de forma experimental.					

Resultados

Diseño y construcción (herramientas)



Metodología de la práctica

con un prototipo funcional ya hecho y una metodología bien planteada y se generará un manual de prácticas y armado que facilitaran a los usuarios del laboratorio a desempeñarse en sus prácticas con una guia que no necesita de un profesor para llegar a los resultados dando de manera detallada y explicita los pasos a seguir en todo momento. este manual estará como una herramienta más dentro del laboratorio.

Conclusiones

Agradecimientos

Al Tecnológico Nacional de México Campus Querétaro, por las facilidades otorgadas para el desarrollo de este proyecto de investigación.

Referencias

1. Chadwick, G., Gerbec, H., & Guillermo, V. (2021). Análisis de estrategias virtuales en actividades experimentales sobre cinemática en tiempos de pandemia de covid-19. *Revista de Enseñanza de La Física*, *33*(extra), 155–163. https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/148402

2. García Peñalvo, F. J. (2020). Modelo de referencia para la enseñanza no presencial en universidades presenciales. *Campus Virtuales*, *9*(1), 41–56. http://www.uajournals.com/ojs/index.php/campusvirtuales/article/view/625

3. Hernández-Sampieri, R. y Mendoza, C (2018). *Metodología de la investigación. Las rutas cuantitativas, cualitativa y mixta*. Mc Graw Hill Education.

4. Herrera, D. C., Triana, K., & Mesa, W. (2020). Vista de Importancia de los laboratorios remotos y virtuales en la educación superior.pdf. *Working Papers ECTI*, *1*(1). https://doi.org/https://doi.org/10.22490/ECBTI.3976

5. Idoyaga, I. J., Badilla, L. V., & Montero-miranda, E. (2020). " El Laboratorio Remoto : una alternativa para extender la actividad experimental ". *Revista de Educación Superior*, *2*(December). https://www.researchgate.net/profile/Eric-Montero-Miranda/publication/347112572_El_Laboratorio_Remoto_una_alternativa_para_extender_la_actividad_experimental/links/5fd811dfa6fdccdcb8c9bb66/El-Laboratorio-Remoto-una-alternativa-para-extender-la-actividad-experimental.pdf

6. Pardo Beainy, C., Caceres, E., Sosa Quintero, L., Barrera Molina, T., & Camargo Amezquita, O. (2020). Instrumento para el aprendizaje del movimiento armónico simple. *South Florida Journal of Development*, *2*(1), 839–851. https://ojs.southfloridapublishing.com/ojs/index.php/jdev/article/view/177

7. Vargas, J., Cuero, J., & Torres, C. (2020). Laboratorios Remotos e IOT una oportunidad para la formación en ciencias e ingeniería en tiempos del COVID-19: Caso de Estudio en Ingeniería de Control. *Espacios*, *41*(42),

188–198.
https://doi.org/10.48082/espacios-a20v41n42p16

Una metodología para la resiliencia de universitarios en contexto post pandemia

José Martín Carrillo-Romero

Miriam Herrera-Aguilar

María Antonieta Mendoza-Flores

Luis Francisco Pardo-Perea

jcarrillo07@alumnos.uaq.mx

Facultad de Ciencias Políticas y Sociales,
Universidad Autónoma de Querétaro

Resumen

El objetivo de este trabajo es proponer una metodología que permita conocer las condiciones materiales, de aprendizaje, de salud física y emocional, en que estudiantes universitarios concretaron su quehacer académico durante el confinamiento que resultó de la pandemia generada por el virus SARS-CoV2 (COVID-19), iniciado en marzo de 2020, y concretar un ejercicio participativo de concientización encaminado a la resiliencia. La perspectiva teórica es interdisciplinar desde las ciencias sociales y las humanidades. El enfoque metodológico es mixto, predominantemente cualitativo, y el diseño se centra en la investigación-acción. La propuesta integra dos etapas: a) la aplicación de un cuestionario para explorar la vivencia del quehacer universitario de los participantes durante el confinamiento y b) la participación en un "taller dialógico educomunicacional" diseñado a partir de los resultados del primer instrumento. El cuestionario ha sido validado; primero a través de una prueba piloto aplicada a tres informantes de perfil idóneo cuyos comentarios permitieron afinarlo y, posteriormente, a través de su aplicación a un primer grupo de estudio de 49 estudiantes de licenciatura. Los resultados dejan que el instrumento se encamine al cumplimiento de los objetivos y, además, sirven de insumo para el diseño de la segunda etapa, también expuesta en este trabajo.

Palabras clave: confinamiento, educomunicación, investigación-acción, TIC, resiliencia.

Abstract

The objective of this work is to propose a methodology that allows us to know the material, learning, physical and emotional health conditions, in which students from different universities completed their academic work during the confinement that results from the pandemic produced by the SARS-CoV2 virus. (COVID-19) and carry out a participatory awareness exercise aimed at resilience. The theoretical perspective of this work is interdisciplinary, from the social sciences and humanities. The methodological approach is mixed, predominantly qualitative and cross-sectional, whose design focuses on action research. The proposal integrates two stages: a) the application of a questionnaire to explore the experience of the university work of the participants during the confinement and b) the participation in a "creative dialogic workshop" designed from the results of the first instrument. The questionnaire has been validated; first through a pilot test applied to three informants with an ideal profile whose comments allowed it to be fine-tuned and, later, through its application to a first study group of 48 undergraduate students. The results allow the instrument to be directed towards the fulfillment of the objectives and, in addition, serve as input for the design of the second stage, also exposed in this work.

Keywords: confinement, educommunication, research-action, ICT, resilience.

Introducción

En los últimos tres años, el contexto global ha estado permeado por la pandemia generada por el virus

SARS-CoV2 (COVID-19). La presencia de este último alteró la vida de las personas de todo el mundo en diferentes dimensiones, incluida la educativa. Si bien hoy en día se dice que estamos en un momento post-pandemia, no porque el virus esté erradicado sino porque está más controlado, los actores sociales aún vivimos sus consecuencias de manera directa.

En lo que respecta a la educación, sus actores tuvieron que adoptar un modelo emergente para continuar con su quehacer y, al mismo tiempo, establecer una "sana distancia". A nivel internacional, a finales de marzo de 2020, 1 370 millones de estudiantes habían tenido que abandonar las aulas de escuelas y universidades; esto es, "más de tres de cada cuatro niños y jóvenes en el mundo o cerca del 80% de la población estudiantil" (ONU, 2020 marzo 26).

En lo que respecta a la región, la cifra estimada en ese momento era de más de 156 millones; es decir, más del 95% de los alumnos latinoamericanos de todos los niveles formales de educación (ONU, 2020 marzo 26) estaban confinados.

En México, más de 36 millones de niños y jóvenes (INEE, 2019) migraron de las aulas al hogar para continuar su trayectoria educativa o, por distintos factores, interrumpirla.

En lo que concierne a la educación superior del país, estudios realizados en diferentes entidades (Flores-Crespo, Herrera-Aguilar, Solís Hernández O. & Solís Hernández E., 2020, 2021; Gamboa Esteves & Martínez López, 2021; Marín Villegas, 2021; Ortiz Henderson, Hernández Gutiérrez & Cruz Quintana, 2021; Velázquez Bañales & Garay Cruz, 2021) muestran que tal cambio reveló diversas problemáticas aunadas a la contingencia sanitaria; entre ellas destacan: a) desigualdad en las condiciones materiales, tanto de espacio para desempeñar la labor universitaria como de acceso a la tecnología y a la conectividad; b) falta de habilidades y actitudes para concretar un modelo educativo a distancia, tanto por parte de docentes como de estudiantes; c) un malestar emocional en distintos niveles ante el confinamiento y/o exceso de "conectividad".

En este marco, el presente trabajo tiene por objetivo proponer una metodología que permita, en un primer momento, conocer las condiciones materiales, de aprendizaje, de salud física y emocional, en que estudiantes de diferentes universidades concretaron su quehacer académico durante el confinamiento que resultó de la pandemia generada por el virus SARS-CoV2 (COVID-19), iniciado en marzo de 2020 y, en un segundo momento, concretar un ejercicio participativo de concientización encaminado a la resiliencia.

La perspectiva teórica del presente trabajo es interdisciplinar, donde las miradas educomunicacional, psicológica y antropológica son privilegiadas.

En lo que concierne a la primera, se entiende a la educomunicación como la formación alrededor de la "hiperlectura" (Burbules & Callister, 2008), en un contexto donde convergen los medios tradicionales y las tecnologías digitales de información y de comunicación; donde el rol de "hiperlector" se enriquece con la participación y la creación en la red; lo anterior en contextos escolarizados y no escolarizados, a lo largo de toda la vida (Aparici y Osuna, 2010).

En cuanto al aspecto psicológico, resulta de alta utilidad para abordar la noción de resiliencia, definida como la adaptabilidad de los individuos o los grupos frente a los retos o amenazas; en otras palabras, es la capacidad para vivir, desarrollarse positivamente o superarse frente al estrés o las adversidades que pueden, normalmente, ser causa de conciencias negativas. Tal concepto se ha construido en el marco de la investigación en psicología positiva y actualmente es retomando para los estudios en inteligencia emocional y salud mental; ya que desde esta perspectiva se reconocen los mecanismos para hacer frente exitosamente a los contratiempos y a las adversidades, fortaleciendo a los individuos (Oriol-Bosh, 2012).

La tercera mirada se concreta en la antropología de la comunicación, entendida como el quehacer etnográfico alrededor de los procesos comunicacionales en sus dimensiones intrapersonal, interpersonal y grupal (Herrera-Aguilar, 2015); pero

también como una actitud de investigación frente al mundo social, como trabajo de campo sistematizado en un "espacio natural"; llevado a cabo por antropólogos, sociólogos y comunicólogos (Winkin, 2001), entre otros.

Tal perspectiva ofrece elementos para tener claridad conceptual y procedural en la práctica investigativa a desarrollar.

Método

El enfoque desde el que se desarrolla la presente propuesta metodológica es mixto con preponderancia cualitativa (Hernández Sampieri, Fernández Collado & Baptista Lucio, 2010); ya que combina componentes cuantitativos y cualitativos en un sentido de complementación, encaminado a ofrecer "mayor entendimiento, ilustración o clarificación de los resultados de un método sobre la base de los resultados de otro método" (p. 561).

El tipo de muestra con el que se valida la propuesta es el de casos-tipo, cuyo "objetivo es la riqueza, profundidad y calidad de la información, no la cantidad ni la estandarización" (Hernández Sampieri et al., 2010, p. 397); y los grupos de trabajo se construyen con base en determinadas características sociales y demográficas de los integrantes. En este caso se trabaja con los estudiantes de quinto semestre de la Licenciatura en Comunicación y Periodismo de la Universidad Autónoma de Querétaro; quienes iniciaron sus estudios universitarios durante el confinamiento y, a partir del semestre 2022-B se integraron a las aulas para continuar sus estudios.

El diseño se centra en la investigación-acción, entendida como "el estudio de un contexto social donde mediante un proceso de investigación con pasos 'en espiral', se investiga al mismo tiempo que se interviene" (León & Montero, 2002; en Hernández Sampieri et al., 2010, p. 509). Ésta también es vista como "el estudio de una situación social con miras a mejorar la calidad de la acción dentro de ella" (Elliot, 1991; en Hernández Sampieri et al., 2010, p. 509).

Dado que el presente trabajo tiene por objetivo, precisamente, proponer una metodología, sus resultados se concretan en el diseño completo de la misma.

Resultados: Investigación-acción hacia la resiliencia

Dado el uso de la espiral para representar el proceso de investigación-acción, tratamos de desarrollar el diseño metodológico a partir de tal figura.

Del punto de partida a la educomunicación

Así, el punto céntrico de la espiral se concreta como la pandemia generada por el virus SARS-CoV2 (COVID-19), seguido del necesario confinamiento que busca mermar los contagios.

El siguiente paso se define al conocer los estudios, ya citados, que dejan ver las distintas problemáticas de la educación superior, surgidas alrededor de la contingencia sanitaria, que siguen latentes hoy en día. Desde la educomunicación, no se puede permanecer indiferente ante tales dificultades, ya que este campo "se estructura a partir de acciones solidarias en áreas específicas … la educomunicación es sentida como una unidad conceptual movilizadora, a pesar de presentarse como un concepto polisémico que, a su vez, comprende diferentes formas del hacer" (de Oliveira Soares, 2009, p. 195).

En esta línea, con base en las propuestas de Herrera-Aguilar y Sepúlveda-Hernández (2017), se decide trabajar con los participantes en dos etapas: a) la aplicación de un cuestionario con preguntas abiertas y cerradas, cuyos resultados permiten tener un acercamiento a la vivencia del quehacer universitario de los participantes, durante el confinamiento, y, b) a partir de los resultados obtenidos en la primera etapa, se diseña un "taller dialógico educomunicacional". Si bien la segunda etapa aún no se pone en práctica, ésta sigue los lineamientos tanto de la educomunicación como de la investigación-acción, donde la participación de los sujetos de estudio es clave. Ambas etapas se desarrollan enseguida.

Primera etapa: el cuestionario

El cuestionario de preguntas abiertas y cerradas está basado en los instrumentos de recolección de datos

que Flores-Crespo et al. (2020, 2021) utilizaron para sus estudios, pero se reestructura ampliamente para encaminarse al cumplimiento del objetivo citado en este trabajo en un contexto post pandemia.

La primera versión del cuestionario se sometió a una prueba piloto aplicada a tres informantes de perfil idóneo cuyos comentarios permitieron afinar su estructura. La versión afinada se aplica a un primer grupo de estudio integrado por 48 estudiantes de licenciatura, cuyos resultados dejan ver que el instrumento se encamina al cumplimiento de los objetivos propuestos y, además, sirven de insumo para el diseño de la segunda etapa. Así, el primer instrumento de recolección de datos ha sido completamente validado y se expone enseguida.

Cómo se muestra en la Figura 1, el cuestionario informa a los participantes sobre el objetivo del estudio; garantiza el anonimato absoluto de las respuestas obtenidas, la protección de los datos personales y el uso institucional de los resultados; además de ofrecer las instrucciones.

Figura 1

Carátula del cuestionario de la primera etapa



Nota: Elaboración propia.

Su contenido se desarrolló en cinco secciones: 1) "datos personales", para conocer la edad, sexo, ocupación de los padres, ciudad de origen y si los participantes, además de estudiar, laboran o no; 2) la "residencia durante la contingencia", cuya única pregunta es ¿dónde residiste durante el periodo de contingencia por el Covid-19 para cursar tus clases en línea? para saber si los participantes regresaron o se mantuvieron en la casa familiar o si los estudiantes foráneos conservaron el domicilio que rentan en Querétaro para continuar sus estudios; 3) "situación de salud frente al virus SARS-CoV2 (COVID-19)"; 4) "acervo tecnológico de los estudiantes y espacios de trabajo"; y 5) "prácticas de aprendizaje durante la emergencia".

Dada el objetivo de este trabajo y la relevancia en la investigación de las secciones 3, 4 y 5 del cuestionario, éstas se desglosan a continuación con sus opciones de respuesta correspondientes:

Sección 3. Situación de salud frente al COVID-19.

8. ¿A cuál o cuáles de las siguientes situaciones de salud física, frente al virus SARS-CoV2 (COVID-19), te enfrentaste? (*Puedes marcar las opciones que consideres necesarias.*)

☐ No presenté ningún síntoma al respecto.
☐ Presenté síntomas pero no me atendí médicamente.
☐ Fui diagnosticado con COVID-19, recibí atención médica y sané.
☐ Fui diagnosticado con COVID-19, recibí atención médica y aún tengo secuelas.
☐ Un miembro de mi familia enfermó de COVID-19 y sanó.
☐ Diferentes miembros de mi familia enfermaron de COVID 19 y sanaron.
☐ He perdido un familiar a causa del virus COVID-19.
☐ He perdido a más de un familiar a causa del virus COVID-19.
☐ He perdido un amigo(a) a causa del virus COVID-19.
☐ He perdido a más de un amigo(a) a causa del virus COVID-19
☐ Fui responsable de cuidar un enfermo de COVID-19 de tiempo completo.
☐ Fui responsable de cuidar un enfermo de COVID-19 por tiempo parcial.
☐ Otra _____

9. ¿Cuáles fueron las situaciones emocionales que experimentaste frente al virus SARS-CoV2 (COVID-19) durante el confinamiento? (*Puedes marcar las opciones que consideres necesarias.*)

☐ Viví el confinamiento con tranquilidad.
☐ Viví el confinamiento con seguridad.
☐ A pesar del confinamiento traté de disfrutar el tiempo en familia.
☐ Sabía que era un problema de salud serio pero guardaba la calma.
☐ A pesar de la situación en pandemia tuve esperanza en el futuro.
☐ Durante el confinamiento extrañaba mi vida social.
☐ Durante el confinamiento extrañaba a mis amigos/as.
☐ Durante el confinamiento extrañaba a mis compañeros de clase.
☐ Durante el confinamiento me sentía aislado/a
☐ Viví el confinamiento con dificultades para relajarme.
☐ Viví el confinamiento con estrés pero pude continuar con mis actividades.
☐ Viví el confinamiento con ansiedad, lo que me impedía concentrarme y continuar con mis actividades.
☐ Me diagnosticaron o experimenté depresión durante la contingencia.
☐ Viví con temor durante la contingencia.
☐ Viví con irritabilidad durante la contingencia.
☐ Viví con enojo durante la contingencia.
☐ Temía mucho ser contagiado.
☐ Perdí seres queridos a causa del COVID-19 y eso me tuvo triste.
☐ Perdí seres queridos a causa del COVID-19 y eso me entristece aún.
☐ Otra _____

10. ¿Cuál es tu situación actual frente a la pandemia por COVID-19? (*Puedes marcar las opciones que consideres necesarias.*)
☐ Me siento tranquilo y con calma.
☐ Me siento orgulloso de lo que he podido lograr a pesar de la pandemia.
☐ La contingencia me fortaleció y me siento más capaz para resolver problemas.
☐ Superé la situación que enfrenté durante la pandemia.
☐ Me siento tranquilo pero con temor de que vuelva el virus.
☐ Tengo miedo de que vuelva el virus y el confinamiento.
☐ Sería incapaz de superar otra pandemia o suceso similar.
☐ Aún guardo muchas emociones negativas de la pandemia.
☐ Revivo constantemente los momentos difíciles que pasé durante la contingencia.
☐ Tengo un plan de contingencia por si ocurre algo similar.
☐ Otra _____

Como se puede observar, esta sección busca conocer la situación de salud física y emocional de los participantes y propone opciones de respuesta de una amplia escala de posibilidades.

Sección 4. Acervo tecnológico de los estudiantes y espacios de trabajo.

11. Durante la contingencia, ¿contaste con los dispositivos tecnológicos necesarios para cumplir con tu quehacer universitario cabalmente?
☐ Sí
☐ Casi completamente
☐ Medianamente
☐ Escasamente
☐ No

12. ¿Qué problemas enfrentaste para acceder a una conexión a internet? (Puedes marcar hasta tres opciones.)
☐ Ninguno, siempre tuve acceso a una buena conectividad por tiempo ilimitado.
☐ No siempre tenía acceso a internet.
☐ En ocasiones la conectividad era lenta.
☐ Muy frecuentemente la conectividad era lenta.
☐ La conectividad siempre fue lenta.
☐ Debía desplazarme para tener acceso a internet.
☐ El costo de conectividad era caro.

13. ¿Desde qué espacio físico cursaste tus clases en línea? Marca los dos principales por favor:
☐ En el estudio de casa
☐ En mi habitación
☐ En el comedor de casa
☐ En la sala de casa
☐ Entre los espacios de mi casa y espacios públicos
☐ En el negocio familiar
☐ En espacios públicos
☐ Otra _____

14. De manera general, ¿cómo se dio el uso de los espacios físicos para tu trabajo universitario durante la pandemia?
☐ No aplica, no cursé semestres durante la pandemia.
☐ Contaba con un espacio para trabajar solo(a).

☐ Debía compartir los espacios de trabajo con otros miembros de la familia.
☐ Llevaba a cabo una combinación de las dos opciones anteriores.
☐ Otra _____

En este apartado se trata de conocer las condiciones materiales en que los estudiantes trabajaron durante el confinamiento; esto debido a que tales condiciones se relacionan directamente con un estado emocional ante el quehacer universitario.

Sección 5. Prácticas de aprendizaje durante la emergencia

15. ¿Consideras que, independientemente del formato en línea, se logró cumplir con los objetivos de los programas de las diferentes materias que cursaste?
☐ Completamente
☐ Casi completamente
☐ Medianamente
☐ Escasamente
☐ Nulamente
¿Por qué? _____

16. ¿Cómo defines tu experiencia de enseñanza aprendizaje en las clases en línea durante la contingencia? _____

17. ¿Cuál fue tu sensación principal al llevar clases en línea? _____

En esta última sección del cuestionario se busca conocer cómo los participantes evalúan tal experiencia frente a los resultados de aprendizaje esperados.

Además de que los informantes del primer grupo de estudio respondieron cabalmente a todas las preguntas, de manera general, expresaron que el instrumento estaba bien diseñado, que era interesante y que proyectaba preocupación por los estudiantes.

Hallazgos de la primera etapa en el primer grupo sujeto de estudio

Los hallazgos obtenidos en la primera etapa, además de dar cuenta de las condiciones materiales, de aprendizaje, de salud física y emocional, en que estudiantes concretaron su quehacer académico durante el confinamiento, también ofrecen elementos para la segunda etapa. A continuación, se presentan los resultados más sobresalientes.

Condiciones materiales

En lo que concierne a las condiciones materiales en que los estudiantes concretan su quehacer universitario durante la contingencia, se observa que la gran mayoría (85 %) permanece en o regresa a (en el caso de los estudiantes foráneos) la casa familiar y, el resto, permanece en el domicilio que rentan en Querétaro para continuar sus estudios. En el mismo sentido, sólo 3 de cada 10 estudiantes pudo trabajar en el estudio de la casa, la mayoría (8 de cada 10) disponía de su habitación para ello, mientras que un poco más de la mitad trabajó en el comedor del hogar y una minoría (15%) hizo sus deberes entre los espacios de la casa y espacios públicos.

En cuanto a la accesibilidad a la infraestructura digital, 70% de los estudiantes afirma haber contado con los dispositivos tecnológicos necesarios para cumplir con su quehacer universitario “cabalmente”, 25% dice haber tenido un acceso “casi completo” y 5% señala que esto se dio “medianamente”.

Condiciones de aprendizaje

En cuanto a la enseñanza de aprendizaje en línea, se observa la prevalencia de palabras como; desafiante, reto, caótico, estresante, complicado.

Sin embargo, en el cumplimiento de los objetivos en clases, un 48.9% indicó que se complieron medianamente, un 32.6% casi por completo y 8.1% completamente

Y al observar la prevalencia de palabras en la pregunta; ¿Cuál fue tu sensación principal al llevar clases en línea? Se observaron la frecuencia de palabras cómo decepción, estrés, frustración, decepción, estrés y frustración, Ansiedad, flojera, etc.

Condiciones de salud física y emocional

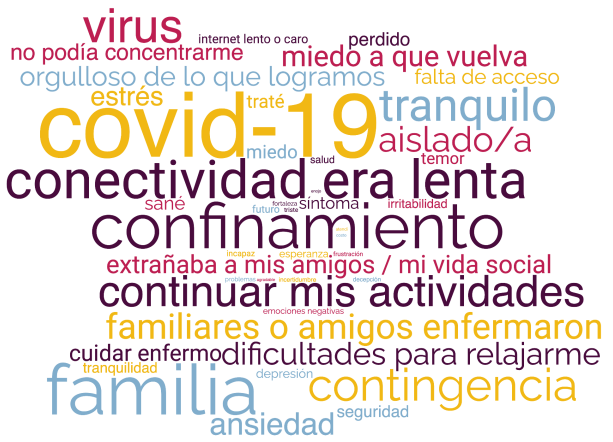
Se observa una prevalencia de emociones negativas por parte de las y los alumnos universitarios que respondieron el cuestionario, sin embargo al preguntarles ¿Cuál es tu situación actual frente a la pandemia por COVID-19? la mayoría respondió que se sienten tranquilos y con calma con un 63.2%, mientras que el 46.9% indica que se siente orgulloso

de lo que logró en pandemia, sin embargo un 34.6% indica aun sentir miedo de volver a pasar por una situación similar.

Así mismo, en la pregunta ¿Cuáles fueron las situaciones emocionales que experimentaste frente al virus SARS-CoV2 (COVID-19) durante el confinamiento? el 55.1% mencionó que durante el confinamiento extrañó su vida social, mientras que el 32.6% respondió que a pesar del confinamiento trató de disfrutar el tiempo con su familiar y un 48.9% vivió el confinamiento con dificultades para relajarse.

Figura 2

Problemáticas y dificultades, vividas por los informantes, durante el confinamiento.



Nota: Elaboración propia.

Segunda etapa: taller dialógico educomunicacional

Al tomar en cuenta los resultados de la primera etapa, se observa que no todos los participantes vivieron el confinamiento en las mismas condiciones materiales, de aprendizaje, de salud física y emocional, además de que existe cierta insatisfacción académica y emocional, producto de la contingencia. Si bien esto último no es generalizable, resulta pertinente llevar a cabo un ejercicio grupal que se encamine a la resiliencia de quienes aún mantienen sensaciones negativas en un contexto solidario.

En tal marco se diseña un "taller dialógico educomunicacional" dirigido a estudiantes universitarios, con el objetivo de dialogar, reflexionar y despertar la conciencia en los participantes sobre la importancia de la salud emocional y la resiliencia en tiempos post pandémicos.

En esta línea, la educomunicación cobra relevancia nuevamente al definirse como "la búsqueda sistemática de la autonomía de la palabra. …la raíz de la perspectiva dialéctica de la educación para la comunicación" (de Oliveira Soares, 2009, p. 195); al tiempo que busca desarrollar proyectos culturales que faciliten tal acción comunicativa en todos los participantes de distintos espacios educativos.

El taller consta de dos partes. En la primera, después de una presentación del grupo de investigación-acción y del objetivo de la dinámica, se abordan los resultados del cuestionario a partir de la Figura 2, de manera sintética, con el objetivo de contextualizar la problemática e interpelar a los participantes; esto último para desatar una discusión que permita concientizarlos sobre las problemáticas que prevalecen alrededor de la contingencia sanitaria por Covid-19 y la necesidad de encaminarse a un estado de resiliencia. Enseguida, se realiza la proyección de un video con el objetivo de concientizar específicamente sobre la importancia de la salud mental y emocional en la realidad post pandémica con una duración de aproximadamente 7 minutos y se ponen sobre la mesa algunos cuestionamientos sobre salud, resiliencia y aprendizajes para la vida para que los participantes tomen la palabra. Se finaliza esta primera etapa con la proyección de un video de una duración de un minuto que versa en los problemas que atañen a la juventud en un contexto post pandemia y la necesidad de resiliencia.

En la segunda parte, se realiza una serie de actividades lúdicas y se propone que los participantes elaboren propuestas que permitan concretar tal resiliencia en los jóvenes desde una posición horizontal, entre pares, a partir de las preguntas: ¿Qué nos ha dejado como aprendizajes la pandemia por COVID-19 en el contexto universitario y social? ¿Cómo encaminarnos a un ejercicio de resiliencia post pandemia?

Las opciones son:

a) Organización de un foro ficticio sobre "la educación superior en un contexto post pandemia por COVID-19" donde "expertos" buscan elaborar propuestas, tratados o declaraciones al respecto.
b) Realización de un Tik Tok al respecto.
c) Realización de un Reel de Facebook/Instagram al respecto.
d) Realización de un meme al respecto.

Enseguida se presenta la guía del taller:

Tabla 1

Ficha informativa y cronológica del taller dialógico educomunicacional

Tiempo	Actividad
Parte I. Diálogo (30- 40 min.)	
10 min.	Bienvenida y presentación
30 min.	Discusión grupal: Con base en las situaciones materiales, de salud, de aprendizaje y emocional de los estudiantes.
5 min.	Conclusión sobre la situación actual de los estudiantes frente a la pandemia por COVID-19.
7 min.	Proyección de video e identificación de reacciones y primeros comentarios frente a los cuestionamientos propuestos: - NO TE PASA SOLO A TI - Cortometraje Salud Mental COVID-19 https://www.youtube.com/watch?v=eiSMntD4bTQ&t=317s Proyección del segundo video para poner énfasis en la necesidad de resiliencia: - Encuesta de la OIT sobre los efectos de la COVID-19 en el empleo juvenil https://www.youtube.com/watch?v=jQz7NZLf7C4&t=1s
8 min.	Realización de reflexión individual: situación de salud, condiciones materiales de óptimas a precarias, situación emocional y aprendizajes para la vida.
Receso o corte (0 a 5 minutos	
Parte II: Taller La educación en un contexto post pandemia por COVID-19" (30 minutos)	
3 min.	Organización de equipos de trabajo para desarrollar producto digital.
10 min.	De forma lúdica, organizar un foro o dejar plasmado en un Tik Tok, Reel de facebook/Instagram o un meme: ¿Que nos ha dejado como aprendizajes la pandemia por COVID-19 en el contexto universitario y social? ¿Cómo encaminarnos a un ejercicio de resiliencia post pandemia?
10 min.	Presentación de al menos un par de productos digitales.
7 min.	Finalizar la sesión. Concluir sobre los aprendizajes que nos deja la pandemia por Covid -19.

Nota: Elaboración propia.

El taller finalizará con las conclusiones que nos ha dejado la pandemia por COVID-19.

Discusión

Con respecto a los primeros resultados que se obtuvieron mediante los cuestionarios, se observa una prevalencia de emociones que versan en la negatividad con la frecuencia de palabras como decepción, ansiedad, incertidumbre, estrés, etc. Emociones relacionadas con estados depresivos, aislamiento social y problemas de aprendizaje.

De acuerdo con Frijda (2017), tales emociones se encuentran completamente relacionadas con problemas de aprendizaje y con una poca o nula inteligencia emocional.

Así mismo, entre las observaciones más relevantes de los resultados del cuestionario, versan en problemas de la digitalidad, como clases en línea, aprendizaje significativo en línea y problemas en conectividad e infraestructura digital.

Otro de los puntos importante a observar y destacar es la prevalencia de estados emocionales negativos y emociones que se encuentran relacionadas con problemas sociales y depresivos, como ansiedad, estrés, frustración e incertidumbre.

Por lo tanto, a pesar de que no es posible el brindar soluciones a los problemas de conectividad o infraestructura digital, o bien a la asesoría para mejorar las clase en línea. Es posible otorgar

asesorías o capacitación mediante un taller para la salud emocional y mental.

Conclusiones

De acuerdo con los resultados y las discusiones, se percibe la necesidad de realizar un taller que verse en la salud mental y la inteligencia emocional para los estudiantes universitarios; si bien muchas de las necesidades que acontecen a la realidad post pandémica se encuentran relacionadas con el uso de las tecnologías digitales y la alfabetización digital, la salud mental y la emocional resultan una dimensión de suma importancia a atender en el sector universitario.

La resiliencia y la inteligencia emocional resultan conceptos importantes a abordar para buscar el bienestar entre los estudiantes universitarios, acompañándolos para que logren sus objetivos académicos.

Si bien, mucha de la investigación científica demuestra la importancia y la relación del bienestar mental y emocional para el rendimiento académico, el aprendizaje significativo y la alfabetización digital, aún no es prioridad dentro de la educación universitaria.

La perspectiva interdisciplinar resulta de gran utilidad para estructurar metodologías de investigación acción horizontales encaminadas a beneficiar a los actores participantes.

La metodología aquí planteada puede concretarse con diferentes tipos de muestreo cualitativa: estudios de casos, estudios comparativos, etc.

Referencias

Aparici, R. y Osuna, S. (2010). Educomunicación y cultura digital. En Aparici, R. (Ed.). *Educomunicación: más allá del 2.0*. Barcelona: Gedisa

Burbules, N. C. & Callister T. A. (2008). *Educación: riesgos y promesas de las nuevas tecnologías de la información*. Buenos Aires: Granica.

de Oliveira Soares, I. (2009). Caminos de la educomunicación: utopías, confrontaciones, reconocimientos. *Nómadas (Col)*, (30), 194-207. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=105112060015

Flores-Crespo, P.; Herrera-Aguilar, M.; Solís-Hernández, O. y Solís-Hernández, E. (2020). *Quehacer académico durante la emergencia sanitaria. Un sondeo.* Reporte de resultados. Sin publicar. México: FCPyS-UAQ.

Flores-Crespo, P.; Herrera-Aguilar, M.; Solís Hernández, O. & Solís Hernández, E. (2021). Política educativa y pandemia en México: "¿Qué quieren que aprenda?". En Gorostiaga, J.; Almada, J. & Flach, S. de F. (Eds.). *Educación, desigualdad y pandemia en América Latina: miradas desde el campo de la política educativa.* São Luís: CIEPP. pp. 75-96

Frijda, N. H. (2017). *The laws of emotion*. Psychology Press.

Gamboa, A.,C & Martínez, N., A. (2021). Enseñanza remota emergente: resultados y oportunidades para la interacción digital (Caso BUAP, Puebla) *ENCUENTROS AMIC*, ENCUENTROS AMIC 2021.

Hernández Sampieri, R.; Fernández Collado, C. y Baptista Lucio, M. P. (2010). *Metodología de la investigación*. México: McGraw-Hill.

Herrera-Aguilar, M. (2015). La construcción de la antropología de la comunicación: hacia una propuesta teórico metodológica. CIENCIA ergo-sum, *Revista Científica Multidisciplinaria de Prospectiva*, *22*(2),125-135. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=10439327003http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=10439327003

Herrera-Aguilar, M. Sepúlveda Hernández, A. T. (2017 abril 27-28). Una metodología para el estudio de la privacidad en internet y los jóvenes (ponencia). En *XXVIII Encuentro Nacional AMIC: Comunicación y crisis democrática en México*. Universidad de Guanajuato. Guanajuato.

INEE. (2019). *Panorama Educativo de México 2018*. México: INEE.

Marín, E. (2021). Educación virtual universitaria en tiempos de pandemia: mutaciones, ventajas y desventajas (Caso UJAT, Tabasco). *ENCUENTROS AMIC*, ENCUENTRO AMIC 2021.

Oriol-Bosch, Albert. (2012). Resiliencia. *Educación Médica*, *15*(2), 77-78. http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1575-18132012000200004&lng=es&tlng=es.

Organización de las Naciones Unidas (ONU), (2020 marzo 26) Más de 156 millones de estudiantes están fuera de la escuela en América Latina debido al coronavirus). *Noticias ONU*. https://news.un.org/es/story/2020/03/1471822

Ortíz, G., Hernández, D. & Cruz, F. (2020). Retos para la enseñanza presencial: experiencias universitarias para pensar el regreso a clases (UAM-Lerma, Estado de México). *ENCUENTROS AMIC*, ENCUENTRO AMIC 2021.

Velázquez, L., D & Garay, L., M. (2021) Desarrollo de habilidades comunicativas durante la pandemia, jóvenes universitarios confinados (el caso de la UNAM y la UPN en la Ciudad de México, *ENCUENTROS AMIC*, ENCUENTRO AMIC 2021.

Winkin, Y. (2001). *Anthropologie de la communication: De la théorie au terrain*. Paris, Bruxelles: De Boeck Université.

Enseñanza del teatro musical a través de *Jesucristo Superestrella* en producción de Camilo Sesto

Autor

Emmanuel Castro Ramírez

Asesora

Lic. Karla Itzel Castro Campos

RESUMEN

La juventud tiene un papel protagónico en la sociedad artística, por lo que la urgencia radica en hacer nuevos planteamientos para que desde la enseñanza se haga efectiva la formación artística de los estudiantes; plantear nuevas perspectivas de enseñanza que se adecuen a los cambios y necesidades actuales.

Es importante basarse en referentes significativos del medio artístico para que los estudiantes tomen en cuenta su trayectoria y las revoluciones sociales que produjeron a partir de sus obras. Por ello, se considera que en el campo del teatro musical Camilo Sesto se ha aportado nuevas perspectivas artísticas de las que se es posible basarse para la enseñanza de dicha disciplina.

Camilo Sesto ha sido un referente de la música española desde la década de 1970 hasta nuestros días. Trasladó a España la obra Jesucristo Superestrella al financiar y actuar en ella, lo que provocó en él una nueva perspectiva como artista y un cambio en las producciones de teatro de dicho país.

La educación en el teatro musical no se da de forma sencilla, es necesario hacerse de los aprendizajes de las diferentes disciplinas artísticas; así como de innovar en la forma de instruir a los estudiantes de carreras artísticas. Para ello, es importante que como docentes cambien la perspectiva de enseñanza, por medio de referentes artísticos importantes para el conjunto de la escena musical y teatral. Es por ello que, en la presente investigación, se aborda a Camilo Sesto y la obra de Jesucristo Superestrella, ya que fueron grandes referentes de cambios positivos en las disciplinas artísticas de la música y el teatro.

Palabras clave: educación, música, teatro

ABSTRACT

Youth has a leading role in the artistic society, so the urgency lies in making new approaches to make the artistic education of students effective from teaching; to raise new teaching perspectives that are adapted to current changes and needs.

It is important to rely on significant referents of the artistic environment so that students take into account their trajectory and the social revolutions they produced through their works. Therefore, it is considered that in the field of musical theater, Camilo Sesto has contributed new artistic perspectives on which it is possible to base the teaching of this discipline.

Camilo Sesto has been a reference in Spanish music from the 1970s to the present day. He brought the play Jesus Christ Superstar to Spain by financing and performing in it, which provoked in him a new perspective as an artist and a change in the country's theater productions.

Education in musical theater does not happen in a simple way, it is necessary to learn from the different artistic disciplines, as well as to innovate in the way of instructing students in artistic careers. For

this, it is important that teachers change the teaching perspective, by means of important artistic references for the musical and theatrical scene as a whole. That is why, in this research, Camilo Sesto and the work of Jesus Christ Superstar are approached, since they were great referents of positive changes in the artistic disciplines of music and theater.

Key words:

education, music, theater

INTRODUCCIÓN

La presente investigación se centra en la importancia de un cambio de perspectiva artística para los estudiantes de las diferentes disciplinas artísticas, a partir de referentes innovadores que transformaron el contexto del arte; considerando a Camilo Sesto un artista clave en los cambios de perspectiva musical y artística de su época y del tiempo actual. Lo anterior porque se cree que los estudiantes experimentan una educación tradicional, basada en el academicismo y en donde ellos aparecen como un actor pasivo del aprendizaje artístico. Es así como se resalta la importancia que en el proceso de enseñanza-aprendizaje se innove a partir de herramientas pedagógicas transdiciplinarias desde el teatro musical, para hacer efectivo el cambio de perspectiva artística.

Además, se busca innovar en la perspectiva de la enseñanza del teatro y la música a estudiantes de las diferentes disciplinas artísticas, con base en la referencia de Camilo Sesto en el teatro musical. Con la finalidad de que los estudiantes de carreras musicales participen en experiencias nuevas y de manera activa que beneficien en su aprendizaje significativo.

METODOLOGÍA

La propuesta metodológica desarrollada en la presente investigación se centra en la realización de una investigación básica, la cual busca conocer la comprensión del entorno social, frente a un tema específico. Se ha desarrollado un enfoque cualitativo, ya que, funciona como un cimiento científico; puesto que, a través de una investigación documental. El enfoque cualitativo se observa en el diálogo que se sostiene en la presente investigación expuesta, con los distintos teóricos que han aborda.

RESULTADOS

El teatro musical como medio de expresión

El teatro musical ha destacado como forma de expresión del arte escénico, centrándose en la actuación, el baile y el canto; también haciendo uso de grandes escenarios que apoyan en la admiración de la obra. En el proceso histórico existen cambios evolutivos de la interpretación, los estilos y la significación del teatro musical, estos cambios han reestructurado lo que en el presente se conoce del musical.

El teatro musical contemporáneo pertenece al género del arte teatral, en el que se incluyen disciplinas como la música y la danza. Este surgió a principios del siglo XX, a partir de la evolución de las operetas y el teatro de variedades, para dar paso a un espectáculo con más organización. Actualmente el teatro contemporáneo utiliza la misma estructura, con pequeñas modificaciones. (Castellanos, 2013)

Como no han surgido grandes modificaciones desde los inicios del teatro musical a la fecha, es indispensable destacar los cambios que se han buscado en esta disciplina y no seguir reproduciendo las estructuras artísticas que no se adecuan a las necesidades de aquellos que buscan gozar de nuevas expresiones.

Es así como el teatro musical se ha dedicado a trabajar con la misma estructura

narrativa desde hace cien años; ya que, tiene un proceso bien definido de los hechos, en donde se desprende de la organización clásica del cuento y del discurso del héroe. A partir de éstos se construyó la composición que sirvió a lo largo de los años para producir nuevos espectáculos. (Castellanos, 2013)

Los inicios de la fusión entre el teatro y la música son sumamente importantes, porque desde ahí surgieron modificaciones en las perspectivas artísticas, se dejó de reproducir lo que ya estaba instaurado, para darle al público una nueva forma de expresión.

La aparición de la música en el teatro se diseña como un principio del drama que corresponde a la narración, pero no como parte de un medio estético en el montaje; en consecuencia, la música se convierte en la primordial diferenciación del teatro musical con otros espectáculos de la misma disciplina.

En el musical hay una pérdida del naturalismo teatral, en donde se busca ser predominantemente mimético a lo que es el contexto real. Cada uno de los personajes cantan sin justificación, rompiendo las presunciones realistas del arte dramático. Y de esa manera se considera que el musical contiene aspectos del surrealismo, ya que, la música se encuentra comprendida en el contexto realizado en escena, externamente de la realidad en la que vive el público.

Es importante recalcar que la música busca la apreciación del entorno sonoro por medio de experiencias sobre el uso adecuado de la voz, el oído musical y el movimiento de la música. Por otra parte, la dramatización se basa en la destreza de la socialización, en donde se observa la conducta, y de la misma manera el entendimiento del contexto cultural.

Jesucristo superestrella

Jesucristo Superestrella surgió primero como un álbum conceptual en 1970, después de un año se llevó la obra a Broadway, en donde se adaptaron de forma contemporánea los últimos siete días de vida de Jesús desde la perspectiva de Judas; esta adaptación no ha sido bien recibida por la iglesia y los seguidores de la religión católica - cristiana.

Hace algunas décadas John Lennon afirmaría que los Beatles eran más famosos que Jesucristo, y aunque por algún tiempo pudo ser cierto pronto la mirada y el sacrilegio se centrarían en el musical "Jesus Christ Superstar" acompañado del Rock and Roll profano, ostentoso y con complicados decorados. La ópera rock sobre la Pasión, es una forma artística de la contracultura hippie con grandes posibilidades: danza, música rock, inciensos, montaje psicodélico y el tema de la vida y muerte de Jesús. (Rogue & Racionero, 1972)

La llegada de la ópera rock trajo consigo una nueva mirada en cuanto al teatro musical. No podemos dejar de lado toda la contracultura hippie que dio las pautas para crear la atmósfera y la escena de lo que se convertiría esta obra. La historia de Jesucristo quería ser mostrada de esta manera con atuendos hippies muy atemporales además de música y baile. Gracias al contexto y a la época, finales de los 60´s, en la que se desarrolló esta obra no fue difícil recrear toda una escenografía psicodélica ya que todos los referentes en cuanto a vestuario y música eran contemporáneos.

Cabe recalcar que el teatro musical es un medio para llevar a cabo un análisis político y social de diferentes épocas. También, aunque la investigación del teatro musical en el entorno educativo es limitada existen múltiples herramientas que se pueden abordar para el acercamiento a éste como el hecho de que es posible

calificarlo como educación estética, ya que da apertura a experiencias artísticas incorporadas en el sistema educativo, siendo aprovechada por los docentes para atraer a los estudiantes de diferentes áreas de estudio del arte. Por ello, los profesores deberían proporcionar a sus estudiantes la enseñanza de un teatro musical abundante y valioso en experiencias. (Pérez-Aldeguer , 2013)

El tema de Jesucristo brinda la posibilidad de un enfoque contracultural haciendo notar la armonía de la ideología hippie y la de Jesucristo. La obra representa los últimos días de la vida de Jesús y su llegada a Broadway lo puso a nivel de otros musicales como "Oh Calcutta" y "Hair". La música y letra es composición de Andrew Lloyd Webber y Tim Rice, ingleses como los Beatles. (Rogue & Racionero, 1972)

La música rock estaba en su apogeo y el teatro musical quería apoderarse de este medio de expresión para recrear historias como la de Jesucristo Superestrella. Esta gran proeza con perspectiva contracultural sería tomada por dos jóvenes hasta entonces desconocidos que venían de la misma tierra de donde salió una irrupción musical conocida como "La invasión inglesa".

A finales de 1969 salió a la venta, en Inglaterra y Estados Unidos, el sencillo cuyo título principal era "Superstar". El lado A del disco con la canción homónima, y en el lado B "Juan 19:41". Tal vez este previo lanzamiento era una prueba de qué tan exitoso podría llegar a ser toda una obra musical sobre la vida y obra de Jesucristo bajo la mirada de Judas. Este sencillo llegó a los oídos de David Land, un muy establecido" Show business", el cual observó que las ideas del dúo de jóvenes que tenían veintitrés y veintiséis años, poseían un gran potencial comercial. Es importante mencionar que grabar y producir una ópera acerca de los últimos siete días en la vida de Jesucristo no era tarea fácil y mucho menos barata. (Manrique, 1950).

Por lo que el logro de la creación y producción musical es sumamente impresionante no solo por el derroche monetario sino por todo el paisaje sonoro que aportó tan solo estas dos piezas *"Superstar"* y "*Juan 19:41*" creando un punto de inflexión en el negocio del teatro musical. Fue necesario solo un "single" para entregar toda una visión de lo que se convertiría esta creación musical. Con "Superstar" entregaron una mirada de la crucifixión de Jesús desde la perspectiva de Judas preguntando si ha valido de algo su sacrificio y "Juan 19:41" se expresa de manera instrumental a cargo de arreglos de cuerda y de una sinfonía la nostalgia y aflicción de la muerte de Jesucristo. "Cerca del lugar donde crucificaron a Jesús había un huerto, y en el huerto, un sepulcro nuevo, donde nadie había sido enterrado" (Ricciardi & Hurault, 1972, Juan 19:41)

La música predilecta claro que era el rock y para ser más precisos una ópera rock, un género prácticamente nuevo, pero que se había utilizado por vez primera en el álbum doble de los Who, "Tommy", que por aquellos días era uno de los LPs más vendidos en USA lo cual convenció a la compañía Decca de las posibilidades del proyecto "Superstar". (Manrique, 1950)

Es importante hacer un paréntesis para definir ópera rock, teatro musical y teatro lirico, ya que existen algunas diferencias entre las tres mencionadas. El teatro lirico también conocido como Ópera es una forma teatral surgida del ensamble de las distintas experiencias artísticas propias del renacimiento que se fue transformando a los subsecuentes cambios que sufrió el arte europeo. (Alier, 2002)

El teatro musical aparece a finales del siglo XVIII y principios del XIX en Estados Unidos y es un estilo de teatro que conjunta canciones, actuación, diálogos hablados y danza. (Pérez-Aldeguer, 2013). Por otro lado, la Ópera rock nace a partir de la cultura creciente de finales de los años 60`s en Estados Unidos inspirada en el Rock and Roll. (Pérez-Aldeguer , 2013)

Lloyd Webber y Rice, se enfocaron en la producción de la Ópera en Londres; se utilizaron todos los recursos disponibles, sin recabar en gastos, usaron en la grabación una orquesta sinfónica de más de 80 miembros, un sintetizador Moog para efectos electrónicos, tres coros, distinguidos músicos de Jazz y Rock y ocho cantantes en los papeles principales. Para mediados de 1970, tras discusiones, mezclas y meses de grabaciones los ochenta y siete minutos de música tomaron su forma definitiva ocupando dos discos LPs, cuatro caras de Rock Ópera. (Manrique, 1950)

Para este momento de la producción el reto era crear y moldear todo el musical en un par de discos de vinilo. Todo el álbum tiene un gran panorama en lo que respecta a la música, por sí solo permite ver el horizonte hacia el cual se dirige la obra. Tiene grandes cambios musicales y no solo se centra en el rock, ya que incorpora elementos del rock sinfónico; además de hacer cambios de tempo o usar un compás de 5/4 en canciones como "Everything´s Alright" que no son técnicas tan comunes en esta corriente musical. Sin embargo, sigue ocupando la sección rítmica apropiada para este género: batería, bajo, piano y guitarra eléctrica. Utiliza muchos otros recursos que dan mayor carácter e intención a las piezas construyendo un gran paisaje y expectativa de lo que sería la puesta en escena.

Cuando Jesucristo Superestrella llegó a Broadway fue dirigido por Tom O´Horgan y aunque no tuvo la aceptación de la crítica que se esperaba se registraron ventas y llenos impresionantes. Posterior a todo el éxito comercial se grabó el disco "Jesus Christ Superstar- The Broadway Original Cast" con la parte sonora de la versión de Teatro además de la versión cinematográfica de "JSC" estrenada en 1973. (Manrique, 1950)

Todo el producto audiovisual que se creó a partir de la aparición de JCS en teatros y cine tuvo un gran impacto tanto comercial como en la cultura quedando el legado en generaciones posteriores que pudieron disfrutar de esta obra. Aunque en su momento los especialistas no le dieron la mejor crítica se puede decir que dejó una gran huella musical dejándola como una obra de culto.

Jesucristo súper estrella Camilo Sesto (Camilo Superestrella)

Como expresa Camilo Blanes Cortés en su cabeza resonaban los gritos atormentados y agónicos, dejaría de ser Camilo Sesto por un momento para ocupar la piel de Jesucristo Superstar. (García Sarabia, 2015)

> "Cristo hinca sus rodillas en el suelo absolutamente personificado en mi ser. La pasión, el éxtasis, la emoción contenida me tenía totalmente absorto. La caída del telón, en el punto álgido de la representación, me brindaba esos minutos imprescindibles para volver a la realidad". (García Sarabia, 2015, pág. 11)

Tratándose de Camilo sesto es evidente decir que es un artista que manifiesta deliberadamente gran sentimiento y expresividad en sus interpretaciones tal como es el caso de Jesucristo superestrella donde lo caracterizó a la perfección entregando una audición del

> teatro musical a la altura de las producciones de Broadway.

Para Camilo esto representa uno de los momentos más álgidos de su carrera musical. La ópera rock estrenada en el invierno de 1975 no solo simboliza una de las mejores etapas para Camilo sino también para el teatro musical de la lengua española. (García Sarabia, 2015)

"Esto se tiene ver en España y lo tengo que hacer yo, solo yo" es lo que diría el cantautor tras ver por primera vez la ópera del Superstar en Londres y así demostraría tener las cualidades interpretativas y vocales para darle vida a Jesucristo Superestrella, aunque se tuvo que enfrentar a varios obstáculos como la censura y la falta de financiamiento o patrocinio. Todo tuvo que salir del propio bolsillo de Camilo. Además, que hasta este punto no había una escena teatral establecida en España lo cual sumó el desafío de encontrar profesionales que supieran bailar, cantar y actuar al mismo tiempo para darle vida a todos los personajes que constituían esta gran puesta en escena. El triunfo del musical en el Teatro Alcalá Palace demostró y dio apertura a esta forma de expresión. (García Sarabia, 2015, pág. 12)

El cantautor dio una de sus mejores interpretaciones a mediados de los 70´s. Por si sola las composiciones de Lloyd y Rice muestran gran calidad compositiva pero Camilo aportó a la obra una nueva presentación totalmente en español. La traducción rescata las partes esenciales del musical, pero también le dan un mejor sentido en el idioma español. No se pierde nada, pero al mismo tiempo escuchar la versión discográfica de Camilo en su idioma.

En la noche del seis de noviembre de 1975, en el Teatro Alcalá Palace, se cierra el telón seguido de un estruendo de aplausos y ovaciones que se extenderían por veintiún minutos. No libre de polémica, el primer gran musical de Broadway nunca antes visto en España, tuvo un gran impacto y aprobación por parte del público. (García Sarabia, 2015)

En esta interpretación en castellano no solo cuenta con la aparición de Camilo, detrás de Judas, también se encuentra Teddy Bautista y en el papel de María Magdalena la cantante, actriz y compositora dominicana Ángela Carrasco. Además, el Teatro ubicado en Madrid, España fue testigo del arranque de la escena del musical en este país que logró asentarse gracias a esta obra.

La "*Jesús-manía*" tuvo un gran impacto entre la sociedad de los años 70s, llegando especialmente entre la juventud. (García Sarabia, 2015). La pregunta para Camilo Sesto sería ¿De qué ha servido tu sacrificio?, como pregunta Judas a Jesucristo en la versión en español de "*Superstar*", se puede explicar que el sacrificio tanto monetario como interpretativo, valió la pena para demostrar que el teatro musical en español tiene una voz que debe ser escuchada en el mundo. No se puede negar, ni siquiera tres veces como Pedro, que Camilo estuvo a la altura de esta producción y su legado quedará para la posteridad no solo como compositor, sino como intérprete. Es importante mencionar que Camilo Sesto dejaría de ser Jesucristo por última vez el 28 de febrero de 1976, pero nunca dejaría de ser una Superestrella.

Referenciando a (Pérez-Aldeguer , 2013). Se puede enlazar la Ópera rock "Jesucristo superestrella" producida por Camilo Sesto con el aprendizaje transdisciplinario, porque los docentes que forman a futuros artistas se ven en la necesidad de aprender nuevas estrategias y repensar los métodos de evaluación, para preparar a mejores estudiantes y artistas. Es importante escuchar y analizar diferentes musicales, tal como "Jesucristo Superestrella" ya que tiene es de gran relevancia que los artistas

formen un pensamiento crítico. El papel que desempeña Camilo Sesto, además de su labor como artista, es el de productor, el cual posiblemente no es tan apreciado en el teatro musical, pero ejerce una función muy importante; en algunos casos este trabajo tan fundamental lo llevan a cabo los profesores, siendo los encargados de definir los objetivos en la producción, con valores educativos, promover la colaboración entre actividades musicales y otras áreas de aprendizaje artístico, así como planear y fomentar la participación. Por eso es importante resaltar el papel que desempeñan los docentes en el teatro musical fuera y dentro de escena.

La educación y el arte

Para la sociedad moderna las artes no ocupan un lugar importante, sin embargo, las artes son una necesidad primaria y sirven como una oportunidad de liberar al individuo de la deshumanización en la que se sumerge la sociedad actual. Quienes se atreven a adentrarse al mundo del arte chocan con estas adversidades de su propio contexto, para ir hacia la búsqueda de la expresión, creatividad y sensaciones que el estudio del arte les proporciona.

Ya en la formación académica, el proceso de aprendizaje de las artes debería de apoyar al desarrollo interdisciplinario de los estudiantes. Sin embargo, es importante tener una relación de enseñanza – aprendizaje óptimo para lograr el aprendizaje significativo.

La expresión artística es un eje explícito y creativo, que posee su propio lenguaje de líneas, formas, signos, texturas, matices, colores, entre otros; de esa forma cimienta dispositivos que simbolizan emociones y sentimientos, basado en un lenguaje plástico, músico, dancístico, literato y teatral que es orientado o enfatizado hacia el progreso de la autoexpresión y el conocimiento de sí mismos.

Las artes posibilitan el aprendizaje de las estructuras y la percepción de todo lo que nos rodea; de la misma manera, las artes ayudan aprender, a observar las particularidades, se afina la atención y se perfecciona la habilidad para diferenciar las cualidades específicas de los objetos y los fenómenos de la realidad. (Palacios 2006)

Además, es importante considerar que el arte posibilita las capacidades sensitivas, con las que es posible que los estudiantes agudicen sus sentidos y percepción. De esa forma se reconocería que una de las funciones más importantes de la educación es que el estudiante comprenda y se preparé para vivir en su realidad y la educación artística logra dicha formación.

> Con el arte se desarrollan capacidades cognitivas lógico-verbales al conceptuar, razonar, valorar y enjuiciar estéticamente los trabajos artísticos propios y ajenos. También se reflexiona en torno a los hechos y cosas de la realidad circundante que han de inspirar la obra del estudiante, estos hechos pueden ser dados como temas en la clase de Educación Artística. (García Ríos, 2005)

Es de suma importancia que como maestros y artistas se reflexione acerca de las repercusiones didácticas de la propia práctica docente; para no continuar con la educación tradicional en donde solo se repetían conocimientos, antiguas disciplinas y se reproducían antiguas metodologías. Es necesario que el docente se abra a la innovación educativa y artista y utilice nuevos referentes para posibilitar el aprendizaje.

Benavidez (2017) menciona a Elliot Eisner, quien da evidencia de la aportación de ésta en creatividad, sentido de estética y sensibilidad de la formación educativa. Propone a la educación artística para conocer las necesidades contextuales y de los individuos, sirviendo como herramienta

de la planificación curricular; de la misma manera, las artes son parte de la cultura y del contexto para que los valores sobresalgan y así cada uno de los individuos desarrollen sus sentimientos y emociones. Resaltando que las artes apoyan al conocimiento del mundo, la interpretación y observación.

Por otra parte, se hace la referencia de los aportes de Vygotsky en cuanto a las artes en relación con el aprendizaje, en donde se plantea que las percepciones conceptuales e intelectuales son los conductos que enlazan el aprendizaje con las artes y así el individuo logre su formación; por ello, es importante que la educación, así como los modelos de aprendizaje integren las artes como la forma más factible para la construcción de la sociedad. Es así como el arte y el aprendizaje se encuentran en estrecha relación al facilitar y aportar a la formación integral del individuo.

En la educación artística se ha acostumbrado a seguir un sinfín de reglas y aprender los mismos referentes artísticos, lo cual coartan la expresión artística; cuando el ideal del arte es la libertad de expresión. Por ello en la presente investigación se recurre a Camilo Sesto como un referente artístico que logró modificar la forma de producción e interpretación del musical en su país, lo que provocó, una de las mejores etapas de las obras de teatro en España; y es por ello, que se considera importante dicho personaje para innovar en los procesos de formación artística.

Es indispensable ofrecer herramientas pedagógicas artísticas a los estudiantes que aporten a las necesidades de cada uno; es por ello que se recomienda hacer uso del teatro musical como recurso didáctico transdiciplinar. La obra de "Jesucristo Superestrella" producida por Camilo Sesto contribuye a los estudiantes de las diferentes disciplinas artísticas la posibilidad de aprender significativamente; así como de desarrollar habilidades personales, emocionales, comunicativas y sociales que son indispensables para su desarrollo educativo. Dicha obra de teatro musical pertenece a un tronco artístico que permite la transmisión de emociones por medio de la interpretación de los personajes, en donde también se hace uso del canto, la lectura, la interpretación y la danza; las cuales se pueden incluir a los contenidos curriculares de las otras disciplinas artísticas, considerando el trabajo gestual, dramático, musical y de movimiento que engrandece el fondo comunicativo del teatro y le provee un valor educativo significativo, por lo cual se le estima como una disciplina educativa totalmente transversal.

La innovación educativa recae en la transversalidad, ya que la ésta tiene como objetivo sumar a la tarea formativa, por que enlaza y pronuncia los saberes de los diferentes fragmentos del aprendizaje y les da orientación a los aprendizajes disciplinares, al instaurar vínculos entre lo instructivo y lo formativo.

Referenciando a la (UNESCO, 2014) la innovación educativa es un hecho premeditado y planeado para la solución de problemas, que busca lograr mayor calidad en los aprendizajes de cada uno de los estudiantes, sobresaliendo el paradigma que se tiene tradicional. Supone trascender el conocimiento academicista y transitar del aprendizaje pasivo del estudiante a un pensamiento donde el aprendizaje es interacción y se construye entre todos.
La transversalidad explora toda la práctica educativa como una ventaja para que los aprendizajes completen sus dimensiones cognitivas y formativas, por lo que impacta no sólo en el currículum establecido, sino que también interpela a la cultura escolar y a todos los actores que forman parte de ella.

Las bases de la educación en México reconocen y apoyan la importancia de las artes para el individuo; sin embargo, se puede notar que el gran peso recae en el docente quien debe familiarizarse con las

artes, investigar, innovar en su práctica docente para propiciar el aprendizaje significativo. La labor docente no es fácil y no es suficiente con la transmisión de conocimientos, sino que se debe trabajar la transposición educativa.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

A partir de lo investigado se ha podido concluir que Camilo Sesto, en conjunto con el musical Jesucristo Superestrella, fueron un parteaguas para el teatro musical; por una parte, se tiene a la versión en castellano interpretada por Camilo que aporta gran sensibilidad y expresividad dando cátedra no solo para el teatro musical, sino también vocal. No se puede dejar de lado la musicalidad con la que aborda cada tema, tanto de su carrera artística como del musical presentado. Esto se convierte en un gran referente en la formación artística, ya que hace un perfecto trabajo artístico y así se compone el teatro musical.

Se debe dar mayor importancia al trabajo docente ya que son el vínculo entre el arte y el estudiante. La búsqueda de la creatividad y sensibilidad es un trabajo en conjunto entre el educador y el alumno que dan forma a la expresión artística.

Al mismo tiempo se tienen todas las piezas musicales creadas por Lloyd y Rice para el musical, otro referente para la formación académica dentro de la composición y el arte. Ejecutar un instrumento o componer una pieza musical responden a las horas de estudio y una pedagogía bien estructurada.

Mientras más herramientas interpretativas, técnicas y artísticas lleguen a cultivarse, de manera más factible se podrá llegar al trabajo final que es tocar e interpretar lo que el artista quiere transmitir o hacer sentir.

El teatro musical aporta la misma elocuencia en cuanto al trabajo artístico y sobre todo transdisciplinario. El conjunto de diferentes técnicas creativas y artísticas como la música, la danza y la actuación hacen que el teatro musical sea una de las disciplinas más completas.

Se recomienda a los artistas y docentes cambiar la perspectiva del teatro musical, al implementar este medio de manera pedagógica para la formación de nuevos y mejores artistas. Incluir al teatro musical como herramienta pedagógica transversal, desde el estudio y ejecución de las piezas musicales de “Jesucristo Superestrella” producida por Camilo Sesto, la interpretación de la obra, así como la adaptación de “Jesucristo Superestrella” desde el contexto de los estudiantes. Es indispensable que con la ejecución de estas herramientas pedagógicas se aborden saberes, habilidades personales, emocionales, comunicativas y sociales; así como contenidos curriculares de las otras áreas artísticas propias de los estudiantes.

Para realizar cambios en los procesos de formación artística es de suma importancia hacer uso de estrategias que sean acordes a las necesidades académicas de los estudiantes, para lograrlo primero se deben identificar dichas necesidades y posteriormente buscar el desarrollo de las competencias, con base en nuevos referentes artísticos.

Las bases de la educación reconocen y apoyan la importancia de las artes para el individuo; sin embargo, se puede notar que el gran peso recae en el docente quien debe familiarizarse con las artes, investigar, innovar en su práctica docente para propiciar el aprendizaje significativo. La labor docente no es fácil y no es suficiente con la transmisión de conocimientos, sino que se debe trabajar la transposición didáctica. Pensar en esta profesión como una tarea utópica de formación de personas.

REFERENCIAS

Alier, R. (2002). *Historia de la ópera*. España: ROBINBOOK.

Benavidez, J. (2017). El arte como medio para potenciar la capacidad emocional de los agentes educativos. Recuperado de: https://repository.libertadores.edu.co/bitstream/handle/11371/1327/benavidesjulieth2017.pdf?sequence=1

Beucheot, M, 2014. Perfiles esenciales de la hermenéutica. México: FCE/UNAM, IIF,2008. ISBN: 978-968-16-8596-6

Castellanos, T. (2013). La estructura del teatro musical moderno: un estudio semiótico sobre la composición del género y delimitación de su estructura. *Telón de fondo*, 25. Obtenido de http://revistascientificas.filo.uba.ar/index.php/telondefondo/article/view/6644/586

García Ríos, A. S. (2005). Enseñanza y aprendizaje en la educación artística. *EL ARTISTA* . Obtenido de https://www.redalyc.org/pdf/874/87400207.pdf

Palacios, L. (2006). El valor del arte en el proceso educativo. Reencuentro. Análisis de Problemas Universitarios. (pp. 46) ISSN: 0188-168X. Obtenido de: https://www.redalyc.org/comocitar.oa?id=34004607

Pérez-Aldeguer , S. (2013). El teatro musical como vehículo de aprendizaje: un proyecto de innovación docente en la universidad. *une*.

Ricciardi, R., & Hurault, B. (1972). Juan 19:41. *La Biblia Latinoamericana.* Verbo divino.

Sarabia, G. (2015). *Jesucristo Superstar.* Madrid. Obtenido de https://www.edmilenio.com/media/docs/9788497437349_L33_23.pdf

UNESCO. (2014). *Nuevo tiempo, nuevos desafios de la educación con enfoque de derecho e innovaciones educativas*. Obtenido de Experiencias de innovación educativa: https://uai.edu.ar/media/117274/art-unesco-innovaciones-educativas-e-metodologc3ada-4-innov-educ.pdf

Potencialidades y limitaciones de las redes sociodigitales en la construcción de aprendizajes

Ana Fernanda García Riva Palacio
Miriam Herrera-Aguilar
Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ciencias Políticas y Sociales
Contacto: anafergrp@gmail.com

RESUMEN

Resulta incuestionable el cambio paradigmático que han propiciado las nuevas tecnologías de la información y de la comunicación. Particularmente, el salto a la web 2.0 no solo ha traído la aparición de las redes sociodigitales, sino también ha representado una modificación en las estructuras de pensamiento de los seres humanos; imposible mantener estos cambios alejados del terreno de la educación. Sin embargo, a pesar de que los estudiantes hayan convertido a las redes sociodigitales en la actividad extracurricular más común, el potencial educativo de estas continúa con una extensa serie de limitantes.

En este marco, el objetivo de este trabajo es conocer cómo estudiantes universitarios de tres universidades mexicanas usan las redes sociodigitales en su formación, lo anterior alrededor de una alfabetización mediática.

La perspectiva teórica desde la que se enmarca este trabajo es la educación para y con los medios, específicamente en un contexto de digitalización.

Metodológicamente, la perspectiva es mixta y se concreta a través de cuestionarios aplicado a universitarios pertenecientes a tres distintas instituciones educativas en México, este estudio pretende examinar la manera en la que influye la autopercepción que tienen los alumnos sobre su alfabetización mediática en la construcción y vinculación de los aprendizajes obtenidos mediante redes sociodigitales. A su vez, esta investigación busca determinar si los universitarios están construyendo aprendizajes significativos en las redes sociodigitales destinadas al entretenimiento y al ocio o cuáles son las limitantes que estos perciben para lograr considerarlas un terreno apto para el aprendizaje orientado a su desarrollo profesional.

Palabras clave: alfabetización mediática, redes sociodigitales, educación informal, aprendizaje significativo

ABSTRACT

The paradigm shift brought about by the new information and communication technologies is unquestionable. In particular, the leap to Web 2.0 has not only brought the emergence of socio-digital networks, it has also represented a modification in the cognitive structures of human beings; it is impossible to keep these changes away from the field of education.

In the face of all these changes, multiple hopeful promises were built around the use of the new technologies in the area of education; howerever, despite the fact that students have turned socio-digital networks into the most common extracurricular activity, the educational potential of these continues with an extensive series of limitations.

In this framework, the objective of this paper is to know how university students from three Mexican universities use socio-digital networks in their education, based on media literacy.

The theoretical perspective from which this work is framed is education for and with the media, specifically in a context of digitalization.

Methodologically, the perspective is mixed and it is materialized through questionnaires applied to university students belonging to three different educational institutions in Mexico.

With the help of online surveys of university students from three different institutions, this study aims to examine the way in which students self-perception of their media literacy influences the construction and linking of learning obtaned through social-digital networks. At the same time, this research seeks to determine whether university students are constructing signficant learning in socio-digital networks for entertainment and leisure or what are the limitations they perceive to consider them a

suitable place for learning oriented to their professional development.

Keywords: media literacy, social-digital networks, informal education, significative learning

INTRODUCCIÓN

El potencial educativo con el que cuentan las nuevas tecnologías parecería resultar incuestionable; a través de estas, los estudiantes han aprendido a generar estrategias con el objetivo de resolver sus necesidades de manera autónoma (Álvarez y López, 2013). Por otro lado, la aparición y el auge en el uso de las redes sociodigitales ha sido sinónimo de colaboración, participación, interacción y conexión. Actualmente, los estudiantes destinan la mayor parte de su tiempo de ocio al uso de estas, razón por la que resulta importante conocer qué potencialidades educativas le están otorgando.

Para Buckingham (2008), la distinción binaria entre los aprendizajes formales e informales ha resultado inútil cuando se habla de nuevas tecnologías debido a que estas dos formas de aprendizaje, constantemente están interactuando entre sí.

Cuando se habla de aprendizaje, automáticamente se piensa en institutos y universidades. Cuando se va un poco más allá, se evocan los museos o distintos centros de enseñanza; no obstante, es importante observar más allá del contexto institucional y prestar atención a las implicaciones de los jóvenes usando las nuevas tecnologías como herramientas para su aprendizaje cotidiano. Del mismo modo, cuando se trae a discusión el tema educativo, no se puede mantener alejado el concepto de alfabetización y el cómo los estudiantes desarrollan sus competencias mediáticas e informacionales a lo largo de su formación.

Para Sonia Livingstone (2011), la alfabetización mediática comprende tres ejes esenciales: la búsqueda, identificación y selección de información; la comprensión, reflexión y crítica hacia los medios y la participación y creación de contenido en las nuevas plataformas. Este último punto resulta esencial para autores como de Peppino Barale (2004), pues considera que un factor clave para que las TIC tengan éxito en el ámbito educativo es la conversión de los alumnos en generadores de información.

Sefton-Green (2004) apunta que a pesar del gran número de actividades y experiencias que ofrecen las TICs que pudiesen relacionarse con el aprendizaje, estas podrían no ser consideradas educativas debido a la dificultad de separar los procesos de aprendizaje de la concepción de educación formal cuando el aprendizaje por sí mismo siempre ha estado profundamente ligado a los sistemas formales.

En medio de la discusión y del debate entre los tipos de aprendizaje, resulta interesante abordar, desde la perspectiva de David Ausubel (1980) la teoría del aprendizaje significativo; esta teoría logra lo que otros autores consideran imposible: poner en armonía la coexistencia e interdependencia entre aprendizaje formal, no formal e informal. Ausubel (1980) expone que, si se tuviera que reducir toda la psicología educativa a un principio, sería que de todos los factores que influyen en el aprendizaje, el más importante consiste en lo que los alumnos ya saben.

En el contexto de las nuevas tecnologías, David Buckingham (2016) habla de una nueva brecha digital: esa que no va encaminada hacia las posibilidades de acceso sino a la separación existente entre los aprendizajes obtenidos en casa y los aprendizajes obtenidos en la escuela. La vida de los estudiantes fuera de las aulas se ha transformado debido a que gran parte del tiempo de ocio, ahora se destina al uso de nuevas tecnologías.

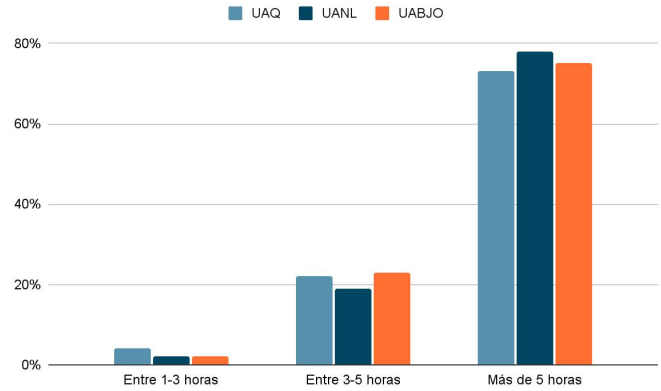
METODOLOGÍA

La metodología de este trabajo es de tipo mixto, pues a través de un cuestionario en línea con preguntas cerradas y abiertas se buscó encaminarse a conocer cómo los estudiantes sujetos de estudio usan las redes sociodigitales en su formación, lo anterior alrededor de una alfabetización mediática. Lo anterior, de acuerdo al concepto de Sonia Livingstone (2011), a saber, la vinculación de lo aprendido en redes sociodigitales con la formación académica y con la vida cotidiana (aprendizajes significativos), así como las ventajas y desventajas (potencialidades y limitaciones) a las que los estudiantes universitarios se enfrentan durante sus procesos de aprendizaje mediante redes sociodigitales.

A partir de una muestra de estudiantes voluntarios, se abarcaron tres universidades de tres regiones diferentes del país: centro-norte, noreste y suroeste. Las instituciones educativas involucradas fueron la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ), la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL) y la Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca (UABJO). En cada una de estas universidades se trabajó con estudiantes pertenecientes a distintas áreas del conocimiento; así, trabajó con seis categorías en total: estudiantes pertenecientes al área de ciencias sociales y humanidades de la UAQ, estudiantes pertenecientes al área de ciencias exactas de la UAQ, estudiantes pertenecientes al área de ciencias sociales y humanidades de la UANL, estudiantes pertenecientes al área de ciencias exactas de la UANL, estudiantes pertenecientes al área de ciencias sociales y humanidades de la UABJO y estudiantes pertenecientes al área de ciencias exactas de la UABJO.

RESULTADOS

Este estudio hace constar que en las tres instituciones educativas, más del 70% de los universitarios en todos los casos destinan más de cinco horas al día al uso de internet (sin diferenciar el uso de redes sociodigitales), mientras que menos del 5% en las tres universidades hacen uso de entre una y tres horas.



Gráfica 1. Tiempo destinado al uso de internet. Fuente: Elaboración propia

Cuando la pregunta se orienta hacia el uso destinado a redes sociodigitales al día, se hace constar que más del 35% en todos los casos destina entre una y tres horas. Esta pregunta también deja ver que menos del 13% en todos los casos utiliza las redes sociodigitales menos de una hora al día; exceptuando a los estudiantes del área de ciencias exactas de la UABJO, los cuales indican en un 37% que utilizan estas redes menos de una hora por día.

Ante la pregunta de cuál es la red sociodigital favorita, más del 40% de estudiantes pertenecientes a la UAQ (en ámbas áreas de estudio) determinaron a Instagram, del mismo modo que los alumnos pertenecientes al área de ciencias sociales de la UANL; sin embargo, los estudiantes pertenecientes al área de ciencias exactas de esta universidad, seleccionaron a la plataforma YouTube como la favorita, del mismo modo que los estudiantes de la UABJO de ciencias exactas. Por otro lado, los estudiantes de la UABJO pertenecientes al área de ciencias sociales marcaron a la red sociogital TikTok como su preferida.

De acuerdo al concepto de alfabetización mediática construido por Sonia Livingstone (2011), las competencias básicas a desarrollar son el análisis de la información disponible, la evaluación de la información y de los medios y la participación y generación de contenido. Con base en este concepto, se le preguntó a los alumnos qué tan hábiles se consideran para localizar información relacionada a su formación; sorprendió que ningún alumno se autopercibió como ‘nada hábil’. El 40% de los estudiantes pertenecientes a la UAQ se autopercibieron como ‘muy hábiles’ al momento de localizar información, mientras que en la UABJO esta cifra descendió al 30% y en la UANL ascendió al 60% de los estudiantes.

Se le cuestionó a los estudiantes la frecuencia con la que reflexionan ante el material que consumen redes sociodigitales, donde el 49% de los estudiantes pertenecientes al área de ciencias sociales de la UAQ respondió que lo hacían de manera ‘muy frecuente’, mientras que en las categorías restantes la respuesta ‘algo frecuente’ fue la que obtuvo mayores porcentajes. Este resultado demuestra, que la mayoría de los estudiantes consideran que reflexionan con frecuencia al material visualizado en redes sociodigitales; no obstante, el porcentaje de alumnos que reflexionan poco o nada frecuentemente en el área de ciencias exactas de la UABJO asciende a un 29% cuando en las otras instituciones educativas no superan el 16%.

En esta pregunta orientada a la reflexión, resulta interesante analizar cómo los estudiantes del área de ciencias sociales en las tres instituciones educativas reflexionan de manera más frecuente al contenido que consumen en las redes sociodigitales en comparación a los estudiantes de ciencias exactas.

El fomento al interés para investigar más a fondo otros temas también ha resultado un eje central de las redes sociodigitales pues más del 50% de los alumnos se posicionan de acuerdo o totalmente de acuerdo en este precepto. Otro punto destacable es que en más del 70% de todos los casos, los estudiantes se consideran capaces de relacionar lo aprendido en redes sociodigitales con lo aprendido dentro de las aulas.

Por otro lado, los alumnos se posicionaron de acuerdo o totalmente de acuerdo ante la afirmación de que las redes sociodigitales los han ayudado a adquirir conocimientos para su vida cotidiano; empero, la situación cambia cuando se les cuestiona si las redes sociodigitales han complementado su formación académica pues el posicionamiento de 'algo en desacuerdo' aumenta considerablemente en ambas áreas de la UAQ y de la UANL.

Cuando se cuestionó a los estudiantes sobre la utilidad del contenido de aprendizaje proporcionado por redes sociodigitales, en todos los casos se les consideró mayoritariamente de una utilidad media; no obstante, en el área de ciencias sociales de la UANL y de la UABJO el porcentaje de alumnos que califican el contenido como 'completamente útil' ascendió a 40%.

Cuando se cuestionó a los alumnos pertenecientes al área de ciencias sociales de la UAQ sobre qué es lo que más les gusta de las redes sociodigitales, las respuestas que más se repitieron fueron la diversidad de contenido, la practicidad y la posibilidad de mantenerse en contacto. En contraparte, para los alumnos pertenecientes al área de ciencias exactas de esta universidad, sus razones se orientaron a la distracción y al entretenimiento que estas les ofrecen.

Del mismo modo, se preguntó a los estudiantes cuál era la red socio digital que consideraban de mayor utilidad para su formación académica, donde en las seis categorías los alumnos mayoritariamente escogieron a YouTube por diversas razones, siendo la posibilidad de realizar contenido de larga duración una de estas así como la "limpieza" de algoritmo con la que cuenta.

Otro punto rescatable del por qué consideraron YouTube la red con mayor utilidad fue porque es la red sociodigital donde los estudiantes consideran que tienen menos distracciones y que la información proviene de fuentes más confiables.

De igual manera, se le cuestionó a los estudiantes si consideraban que las nuevas tecnologías ayudaban a crear estudiantes autodidactas, donde la mayoría en todos los casos respondió que sí: "creo que aunque las redes son una buena herramienta de investigación, el análisis no es una habilidad que adquieres con las redes sociales o con la tecnología, aprendo con el diálogo con otros y luego se refuerza o se utiliza este aprendizaje en redes sociales".

Cuando se cuestionó a los estudiantes sobre las ventajas de aprender mediante redes sociodigitales, las respuestas repetidas con mayor frecuencia eluden a la inmediatez, a la actualización y a la instantaneidad de estas. Sin embargo, cuando se les cuestionó sobre las desventajas, se puede observar que los estudiantes presentan una importante desconfianza a la información que visualizan así como severos conflictos de distracción y poca posibilidad retención de información debido al exceso de estímulos que reciben a partir de estas.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

A través de la realización de este trabajo, se puede concluir que existe una serie importante de potencialidades y de limitaciones alrededor de las redes sociodigitales en la construcción de aprendizajes significativos.

Las nuevas tecnologías llegaron cargadas de promesas y optimismo; sin embargo, este estudio hace constar que navegar en un oceáno tan extenso de información, resulta contraproducente para los estudiantes. Es importante destacar -como se ha destacado de igual manera en otros estudios- que el uso de YouTube resulta una estrategia auxiliar para reforzar temas inconclusos en aulas gracias a la especificidad con la que cuenta el contenido que ahí se concentra.

A pesar de que -de manera general- no se encontraron diferencias significativas entre las respuestas de los estudiantes de diferentes regiones, estas sí se pudieron apreciar en las

diferentes áreas de estudio. Es importante destacar la importancia del papel docente en el aprovechamiento y en el desarrollo de competencias mediáticas para los estudiantes, particularmente para el área de ciencias exactas, quienes mostraron una actitud más escéptica hacia la utilidad de las redes sociodigitales consideradas de carácter comercial.

De igual manera, resulta importante que se fomente la participación activa de los estudiantes en redes sociodigitales para que estos no únicamente tengan un papel de audiencia pasiva frente al contenido que visualizan. Es necesario fomentar el diálogo tanto en instituciones educativas como en redes sociodigitales con el fin de construir aprendizajes que puedan orientarse hacia la formación profesional de los universitarios.

A pesar de todas las potencialidades que las redes sociodigitales ofrecen (practicidad, inmediatez, instantaneidad, formatos amigables, diversidad), estas podrían verse obstruidas por la serie de limitaciones ante mencionadas mientras los alumnos no continúen desarrollando una alfabetización mediática que les permita enfrentarse a todos los desafíos que conlleva la democratización del contenido publicado y compartido.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Álvarez, G., & López, M. (2013). Análisis del uso de Facebook en el ámbito universitario desde la perspectiva del Aprendizaje colaborativo a través de la computadora. Edutec. Revista Electrónica De Tecnología Educativa, (43), a226. https://doi.org/10.21556/edutec.2013.43.8

Ausubel, D. (1980) Psicología educativa: un punto de vista cognoscitivo Editorial Trillas México

Buckingham, D. (2016). Defining digital literacy. Nordic journal of digital literacy, 21-34.

Buckingham, D. (2008). Repensar el aprendizaje en la era de la cultura digital. El monitor, 18, 27-30.

Peppino, A. (2004) La docencia universitaria ante un nuevo paradigma educativo Revista diálogo educacional, vol. 4 num. 13 septiembre-diciembre 2004 pp. 1-10 Pontificia Universidad Católica do Paraná, Brasil

Sefton-Green, J. (2004). Literature review in informal learning with technology outside school.

Livingstone, S. (2011). Concepciones convergentes sobre alfabetización: Perspectiva democrática y crítica. Infoamérica: Iberoamerican Communication Review, (5), 25-37.

Reconocimiento de pistas prosódicas de las emociones del español

Autora: Ofelia Elizabeth González Franco*
Asesora: Elia Haydée Carrasco Ortiz*.
Eva Patricia Velásquez Upegui*.
Contacto: ofelizza@gmail.com
* Facultad de Lenguas y Letras.
Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ).

Resumen

Los estados emocionales pueden transmitirse de forma no verbal y verbal, no sólo a través de las palabras, sino también en las variaciones suprasegmentales de la voz. Se ha encontrado que, desde etapas muy tempranas, las personas pueden identificar emociones discretas o bien sus propiedades intrínsecas, como las dimensiones de Valencia y Activación propuestas en la teoría bio-informacional. Existen estudios del reconocimiento de patrones prosódicos de las emociones en otras lenguas y en español de otras variantes, pero no en México.

Este trabajo parte de los resultados del análisis acústico y la descripción previa de un corpus actuado por 3 hablantes mujeres en cinco emociones: enojado, triste, neutral, tranquilo y emocionado. Al agrupar las emociones por sus niveles de Activación y Valencia, los datos muestran regularidades prosódicas que las emociones aisladas no muestran.

El objetivo de este trabajo es relacionar estos indicios suprasegmentales con el nivel de reconocimiento de las propiedades de Activación y Valencia. Se realizó una selección de las 41 oraciones más cercanas al prototipo encontrado por emoción y se integraron en una prueba de percepción en Psychopy, que fue aplicada a una población WEIRD de estudiantes universitarios (n=26, edad promedio=27, H=2, M=24). Se realizaron 2 tareas: una de identificación de Activación (alta-neutra-baja) y Valencia (positiva-neutra-negativa); registrando tiempos de reacción y respuestas correctas. El análisis de las respuestas de esta población se relaciona con los rasgos distintivos encontrados en la descripción acústica.

Palabras clave: Prosodia emocional. Español mexicano. Percepción. Teoría Bio-informacional. Frecuencia Fundamental-F0.

Abstract

Emotional states can be transmitted nonverbally and verbally, not only through words, but also in suprasegmental variations of the voice. Previous studies found that from very early stages, people can identify discrete emotions or their intrinsic properties, such as the dimensions of valence and arousal proposed in the bio-informational theory. There are studies on the recognition of prosodic patterns of emotions in other languages and in Spanish of other dialects, but not in Mexico.

This work is based on the results of the acoustic analysis and the previous description of a corpus performed by 3 female speakers in five emotions: angry, sad, neutral, calm and excited. By grouping emotions by their arousal and valence levels, the data show prosodic regularities that isolated emotions do not.

The objective of this work is to relate these suprasegmental cues with the level of recognition of arousal and valence. A selection of the 41 sentences closest to the prototype found by emotion was made and they were integrated into a perception test in Psychopy, which was applied to a WEIRD population of university students (n=26, mean age=27, H=2, M=24). Two tasks were performed: one to identify Arousal (high-neutral-low) and Valence (positive-neutral-negative); recording reaction times and correct answers. The analysis of the responses of this population is related to the distinctive features found in the acoustic description.

Keywords: Emotional prosody. Mexican Spanish. Perception. Bio-informational theory. Fundamental Frequency-F0

Introducción

Las emociones son una característica inherente a los seres humanos que acompaña la mayoría de las acciones diarias y determina la interacción con los otros. Durante la comunicación verbal se transmite de forma implícita gran parte del contenido emocional que acompaña al mensaje explícito, lo complementa, modifica o en ocasiones cambia totalmente su significado. Esta información implícita o indexical está guardada en las propiedades suprasegmentales del habla también conocidas como prosodia y se refiere a las variaciones de un conjunto de fenómenos fónicos que abarcan: el tono, el timbre, la intensidad, el ritmo y la duración.

La naturaleza de las emociones ha generado interés desde muchas perspectivas y campos de estudio, especialmente la filosofía y la psicología, pero también la sociología, la lingüística y en específico la fonética. Charles Darwin en su *Monografía de la expresión de las emociones en animales y humanos* (1872) ya hablaba de la voz como una reacción física portadora de señales afectivas relacionadas con la lucha por la supervivencia. En este documento describe como estos patrones, al igual que otros comportamientos humanos, han evolucionado para resolver ciertos problemas de la especie. En esta misma línea de se desprenden un sinnúmero de trabajos en los que se afirma que la expresión de las emociones es muy similar en todos los seres humanos. A pesar de las diferencias socioculturales, se han encontrado expresiones faciales universales, por ejemplo, el psicólogo Paul Ekman (1972) describe seis relacionadas con emociones básicas conocidas como el Big Six: la ira, el asco, el miedo, la alegría, la tristeza y la sorpresa.

En la literatura pueden encontrase múltiples definiciones de las emociones como estados de la mente al detectar reacciones físicas. En su artículo *What is an emotion?*, William James (1884) define las emociones como la forma en se perciben los cambios físicos ante un hecho excitante. Estos cambios involucran cambios coordinados en varios componentes como: activación neuropsicológica, expresión motriz, sentimientos subjetivos, posiblemente también tendencias a la acción y procesos cognitivos (Scherer, 2005) con una duración determinada y una intensidad decreciente. La emoción es una disposición para la acción, no un acto en sí mismo que tiene como base un componente corporal y una sensación consciente, con una determinada dirección (Chronaki et al., 2018).

Las emociones han sido estudiadas desde distintos enfoques que pueden agruparse en modelos discretos o continuos. Los enfoques discretos asumen que existen emociones básicas bien caracterizadas, como las mencionadas anteriormente de Paul Ekman (1972), de las que se generan las demás. Por otro lado, están los enfoques continuos que describen las emociones dentro de un plano multidimensional, relacionándose entre sí con propiedades subjetivas como la teoría de las escalas (Russell & Mehrabian, 1977) que incluyen tres: la de evaluación o valencia (bueno-malo, positivo-negativo), la de fuerza o potencia (dominante-dominado, fuerte-débil) y la actividad o activación (tenso-relajado, intenso-suave).

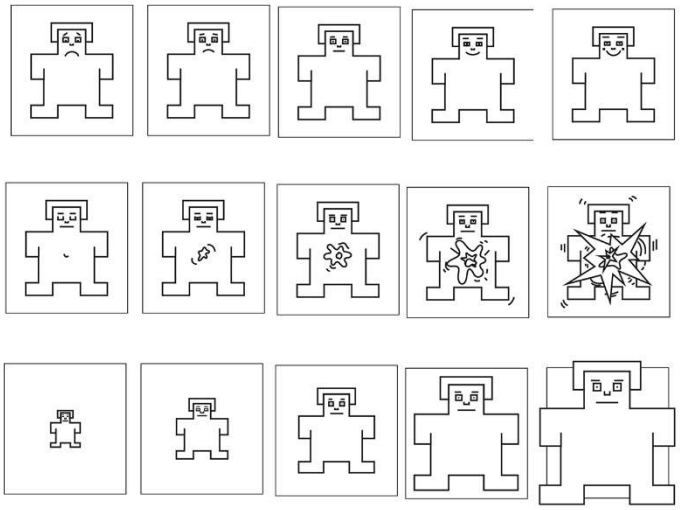
El modelo bio-informacional de Peter Lang integra estas tres dimensiones para describir diferentes experiencias humanas, tanto semánticas, como afectivas, pues forman parte de los patrones somato-sensoriales que se desencadenan al crear imágenes del mundo externo. Para medir estas reacciones afectivas mediante un diferencial semántico que no estuviera ligado a una cultura específica, Bradley & Lang (1994) crearon una prueba denominada SAM (Self-Assesment Manikin) en la que se establece una escala Likert ordinal con íconos simples que se muestra en la Figura 1. Esta escala no es cuantitativa, por lo que requiere un análisis estadístico no paramétrico y posee una correlación 0.9 en diversos estudios, con diferentes lenguas (Fernández-Abascal et al., 2008;Moltó et al., 2013) que le da una alta validez.

Este modelo y la escala SAM resultan útiles para el estudio de las emociones más allá de las expresiones visibles (gestos, emociones, movimientos, etc.) en donde se encuentra el habla: “evento acústico que refleja el funcionamiento del sistema nervioso central y por lo tanto acarrea información sobre el estado

emocional de un individuo" (Espinosa et al., 2010, p. 5).

Figura 1

Self-Assessment Manikin- SAM (Bradley & Lang, 1994)



Nota. Gráficos para las tres dimensiones: Valencia-Activación-Dominancia en ese orden de arriba hacia abajo.

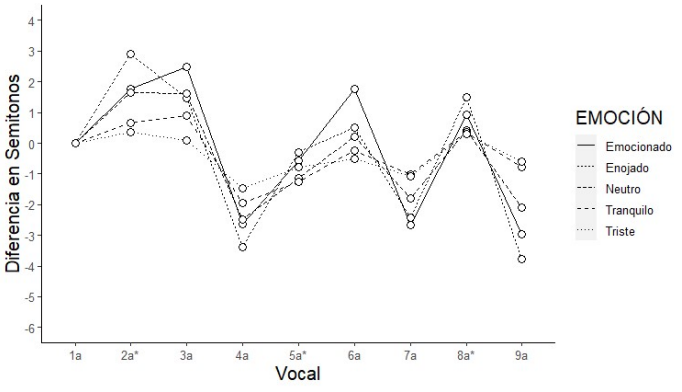
De este modelo se rescatan las propiedades de Activación y Valencia pues en ellas se presenta la mayor variabilidad y se ha observado mayor relación con las propiedades acústicas de la voz. La Valencia, también llamada placer, describe qué tan negativa o positiva es una emoción específica, mientras que la Activación, también llamada intensidad, describe la excitación o alerta interna de un individuo Este modelo también tiene la dimensión de Dominación que describe el grado de control del individuo sobre la situación, pero no se ha encontrado relación evidente de esta con patrones suprasegmentales de la emoción.

Las propiedades de Activación y Valencia han sido utilizadas como marco de múltiples estudios en torno a las propiedades suprasegmentales de las emociones Charpentier et al., 2018; Gilbers et al., 2015), pues parten del supuesto de que éstas van acompañadas de cambios fisiológicos que afectan la respiración, la fonación y la articulación y de patrones o configuraciones acústicas específicas según el tipo de emoción (Scherer, 2003). Investigaciones en diversas lenguas, tanto en poblaciones típicas, como atípicas (autismo, esquizofrenia, demencia, Alzheimer, etc.) han demostrado que las emociones pueden ser reconocidas a través del habla, sin necesidad de pistas semánticas desde edades muy tempranas (Banse & Scherer, 1996; Garrido-Vásquez et al., 2018; Paulmann & Kotz, 2008). La percepción de los contrastes prosódicos a lo largo del desarrollo va cambiando en función de las pistas acústicas de F0, intensidad o duración. (Kalathottukaren & C Purdy, 2017).

En un análisis prosódico previo (González Franco et al., en prensa.), realizado con los estímulos de los que parte este trabajo, no se encontraron diferencias tonales significativas al comparar el punto de inicio de las emociones, ni las variaciones en el núcleo de la oración. Pero al realizar el análisis agrupando las emociones por sus niveles de activación y valencia sí se encontraron regularidades que permiten diferenciar acústicamente las emociones dependiendo de su nivel de Activación y Valencia, tanto por el rango tonal, como por la altura de la F0 en la sílaba inicial, la configuración del segmento prenuclear y la caída tonal en el núcleo. Dicha diferencia se muestra en la Figura 2.

Figura 2

Coonfiguración tonal por emoción a partir del promedio de diferencias de st entre núcleos vocálicos



Partiendo de los estudios realizados en torno al tema y la falta de referentes para el español mexicano, surgen las preguntas que guían este trabajo: ¿Los hablantes del español mexicano son capaces de

identificar emociones por sus rasgos suprasegmentales?, ¿los indicios prosódicos de las emociones brindan información suficiente para diferenciar los rasgos de Activación y Valencia?, ¿el modelo continuo bidimensional de Valencia-Activación puede ser utilizado para la evaluación de la percepción de prosodia emocional? y ¿cuáles son los rasgos de Valencia y Activación más sencillos de reconocer?

El objetivo de esta investigación es relacionar los indicios suprasegmentales de las emociones en un corpus oral actuado con el nivel de reconocimiento de las propiedades de activación y valencia en adultos con un sistema consolidado de reconocimiento de prosodia emocional. Para ello buscaremos los siguientes objetivos específicos:

- Determinar qué propiedad de las emociones, ya sea la Activación o la Valencia, es más fácil de identificar mediante patrones prosódicos.
- Describir qué niveles de Valencia y Activación son más sencillos de identificar.
- Verificar que el instrumento es sensible a la identificación de indicios de prosodia emocional.
- Determinar la viabilidad de presentación de los estímulos.

Metodología

Creación del Instrumento

El corpus se integró con enunciados creados adhoc sin un contenido emocional semántico evidente. Manteniendo la misma estructura acentual y número de sílabas. Posteriormente fueron grabados tres veces cada uno para cada emoción a partir de un estereotipo de nivel (Scherer, 2003). Primero se elicitaron de forma neutra y después se proporcionó el contexto mediante entradas, sinónimos y gestos las emociones: emocionado, enojado, triste y tranquilo. Fueron grabadas por dos mujeres adultas, ambas nativo-hablantes del español, con formación actoral y experiencia de trabajo con niños, con una tesitura de voz similar.

Los audios fueron segmentados y limpiados, para posteriormente realizar un análisis acústico con el software Praat (Boersma & Weenik, 2019) para obtener los valores absolutos de tono, intensidad y duración de todas las vocales. Los resultados del análisis (mostrados en la Figura 2) muestran curvas definidas para cada emoción, por lo que se eligió la versión de la oración que más siguiera la curva descrita.

Tarea

Fueron seleccionados 43 participantes (edad X=27años), hablantes nativos de español, estudiantes universitarios, sin antecedentes médicos. Cuatro de ellos con visión corregida. Se seleccionaron las oraciones con la caracterización más cercana a su emoción en la descripción realizada previamente, 41 oraciones para cada emoción: enojado, triste, neutral, tranquilo y emocionado.

Se administra la prueba montada en Psychopy (Pierce, 2007) en una laptop HP Pavilion, procesador AMD Ryzen 3, con el teclado cubierto y sólo con tres teclas a la vista con las marcas ← -- → y la guía visual del SAM en la parte superior de las teclas, como se muestra el ejemplo de valencia en la Figura 3. Se dio la indicación de seleccionar la tecla izquierda para Valencia negativa, la de en medio para neutro y la derecha para positiva. Mientras que para la tarea de Activación, debían seleccionar la derecha para suave, la de en medio para neutro y la derecha para fuerte. La secuencia de la tarea se explica en la Figura 4.

Figura 3
Presentación de escala Likert en el teclado

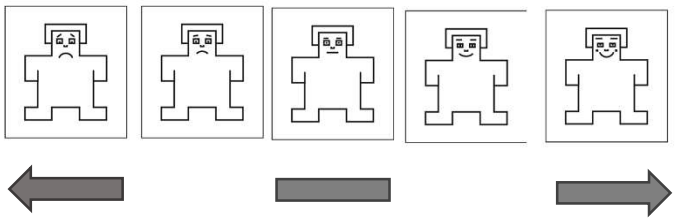
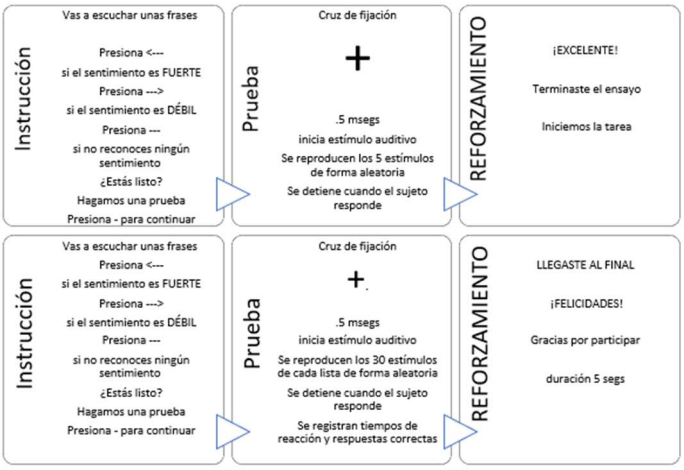


Figura 4

Ejemplo del diseño de la tarea



En cada experimento se presentan 36 estímulos (12 para cada condición) contrabalanceados para las dos tareas por separado: reconocimiento de Valencia y reconocimiento de Activación. Antes de iniciar, se muestran 5 estímulos de prueba. Se registran tiempos de reacción y porcentaje de respuestas correctas.

Resultados

Como puede observarse en la Tabla 1, los participantes lograron niveles de identificación por arriba del chance en la mayoría de las emociones, excepto al asignar el nivel de valencia en los casos de Tranquilo y enojado, los cuales, al hacer el análisis cualitativo, se observó que fueron asignados a valores más neutros.

También en esa tabla se observa que la tarea de asignación de Activación parece más sencilla que la de valencia, pues tuvo mayor porcentaje de respuestas correctas y menores tiempos de reacción. Otro elemento importante es reconocer que integrar el nivel "neutro" fue como punto de referencia, pero al hacer un análisis más profundo se observa que los niveles de identificación se reducen por la confusión que crea este concepto en la propiedad de valencia.

Tabla 1

Medias de porcentaje de respuesta correcta y tiempos de reacción para Activación y Valencia en total y por emoción

ACTIVACIÓN		VALENCIA	
Respuesta correctas 80.6% (SD 6.8)	Tiempo de reacción 2.05	Respuesta correctas 60.4% (SD 15.8)	Tiempo de reacción 2.82
ALTA 88.2%		POSITIVA 58.47%	
BAJA 75.08%		NEUTRA 77.10%	
NEUTRA 78.53%		NEGATIVA 45.68%	
EMOCIONADO 94 %		EMOCIONADO 88 %	
ENOJADO 82,7 %		ENOJADO 36,9 %	
NEUTRO 78,5 %		NEUTRO 77,1 %	
TRANQUILO 67,7 %		TRANQUILO 3,3 %	
TRISTE 82,4 %		TRISTE 80,1 %	

Discusión y Conclusiones

Con el análisis de los resultados obtenidos se observa que los participantes adultos pueden reconocer las características de Activación y Valencia. También se encuentra que el porcentaje de acierto es similar a los encontrados en otros estudios (Banse & Scherer, 1996). Además, se puede observar que las emociones que presentan una Valencia positiva y las de Activación alta son más sencillas de identificar.

En cuanto a la metodología se observó que el diseño y presentación de los estímulos es adecuado. Los participantes demostraron la comprensión de la consigna y hubo muy pocos estímulos que salieran del rango general. A este respecto, podría mejorarse la indicación, agregando una pauta para aclarar que la velocidad es importante, por ejemplo: "aprieta… en cuanto reconozcas…".

En las respuestas obtenidas resalta que las emociones negativas no fueron asociadas correctamente con su valencia. Al hacer una matriz de error, sobresale el hecho de que a la tristeza generalmente se le asigna una valencia neutra y que el enojo se confunde con la alegría, probablemente por que comparten el mismo rango tonal.

También en la matriz de errores, se observó que la presencia de los estímulos denominados "neutros" no lo son para los oyentes, pues generalmente le asignan un valor o bien integran en este otras emociones de activación baja o valencia negativa. Es por ello que se plantea eliminar los estímulos neutros para tener una

tarea que permita discriminar mejor los extremos de cada dimensión.

Las respuestas encontradas en esta población se relacionan con la descripción acústica realizada previamente con este corpus y también con las descripciones en otras lenguas. La integración de ambos elementos: la descripción acústica de las emociones y la caracterización a través de la dimensión de activación y valencia; es la aportación principal de este trabajo.

A partir de estos resultados se plantea ajustar el instrumento eliminando el neutro y continuar su aplicación y estandarización en este y otros grupos etarios. Será importante también validarlo con otras pruebas de desarrollo lingüístico y cognitivo, como de teoría de la mente.

Referencias bibliográficas

Banse, R., & Scherer, K. R. (1996). Acoustic Profiles in Vocal Emotion Expression. In *Journal of Personality and Social Psychology Psychological Association, inc* (Vol. 70, Issue 3). Murray.

Boersma, P., & Weenik, D. (2019). *PRAAT*.

Bradley, M., & Lang, P. J. (1994). Measuring emotion: The self-assesment manikin and the semantic differential. *Journal of Behavior Therapy and Experimental Psychiatry*, *25*(1), 49–59. https://doi.org/00057916(93)EOO16-Z

Charpentier, J., Kovarski, K., Houy-Durand, E., Malvy, J., Saby, A., Bonnet-Brilhault, F., Latinus, M., & Gomot, M. (2018). Emotional prosodic change detection in autism Spectrum disorder: An electrophysiological investigation in children and adults. *Journal of Neurodevelopmental Disorders*, *10*(1), 1–16. https://doi.org/10.1186/s11689-018-9246-9

Chronaki, G., Wigelsworth, M., Pell, M. D., & Kotz, S. A. (2018). The development of cross-cultural recognition of vocal emotion during childhood and adolescence. *Scientific Reports*, *8*(1), 1–17. https://doi.org/10.1038/s41598-018-26889-1

Darwin, C. (1872). *The expression of the emotions in man and animals* (Murray, Ed.). https://doi.org/10.1037/10025-007

Ekman, P. (1972). Universals and Cultural Differences in Facial Expressions of Emotion. In *Nebraska Symposium on Motivation* (Vol. 19, pp. 207–282). papers3://publication/uuid/FDC5E29A-0E28-4DDF-B1A4-F53FEE0B4F70

Espinosa, H. P., Alberto, C., & García, R. (2010). *Reconocimiento de Emociones a Partir de Voz Basado en un Modelo Emocional Continuo*. INAOE-Puebla.

Fernández-Abascal, E. G., Guerra, P., Martínez, F., Domínguez, F. J., Muñoz, M. Á., Egea, D. A., Martín, M. D., Mata, J. L., Rodríguez, S., & Vila, J. (2008). El Sistema Internacional de Sonidos Afectivos (IADS): Adaptación española. *Psicothema*, *20*(1), 104–113.

Garrido-Vásquez, P., Pell, M. D., Paulmann, S., & Kotz, S. A. (2018). Dynamic Facial Expressions Prime the Processing of Emotional Prosody. *Frontiers in Human Neuroscience*, *12*(June). https://doi.org/10.3389/fnhum.2018.00244

Gilbers, S., Fuller, C., Gilbers, D., Broersma, M., Goudbeek, M., Free, R., & Başkent, D. (2015). Normal-hearing listeners' and cochlear implant users' perception of pitch cues in emotional speech. *I-Perception*, *6*(5), 1–19. https://doi.org/10.1177/0301006615599139

González Franco, O. E., Carrasco Ortiz, E. H., & Velásquez Upegui, E. P. (n.d.). Descripción prosódica de las emociones actuadas en español mexicano. In *Lingüística y Literatura*.

James, W. (1884). What is an Emotion ? *Mind Association*, *9*(34), 188–205. https://doi.org/10.1093/mind/LI.202.200

Kalathottukaren, R. T., & C Purdy, S. (2017). Prosody Perception in Typically Developing School-aged Children. *Journal of Phonetics & Audiology*, *03*(01), 1–9. https://doi.org/10.4172/2471-9455.1000131

Lang, P., Bradley, M., & Cutbert, B. N. (1997). International Affective Picture System (IAPS): Technical Manual and Affective Ratings. *Psychology*, *77*, 1–5. https://doi.org/10.1016/j.epsr.2006.03.016

Luo, X. (2016). Talker variability effects on vocal emotion recognition in acoustic and simulated electric hearing. *The Journal of the Acoustical Society of America*, *140*(6), EL497–EL503. https://doi.org/10.1121/1.4971758

Moltó, J., Segarra, P., López, R., Esteller, À., Fonfría, A., Pastor, M. C., & Poy, R. (2013). Adaptación española del "International Affective Picture System" (IAPS). Tercera parte. *Anales de Psicologia*, *29*(3), 965–984. https://doi.org/10.6018/analesps.29.3.153591

Paulmann, S., & Kotz, S. A. (2008). Early emotional prosody perception based on different speaker voices. *NeuroReport*, *19*(2), 209–213. https://doi.org/10.1097/WNR.0b013e3282f454db

Russell, J. A. (1980). A circumplex model of affect. *Journal of Personality and Social Psychology*, *39*(6), 1161–1178. https://doi.org/10.1037/h0077714

Russell, J. A., & Mehrabian, A. (1977). Evidence for a three-factor theory of emotions. *Journal of Research in Personality*, *11*(3), 273–294. https://doi.org/10.1016/0092-6566(77)90037-X

Scherer, K. R. (2003). Vocal communication of emotion: A review of research paradigms. *Speech Communication*, *40*(1–2), 227–256. https://doi.org/10.1016/S0167-6393(02)00084-5

Scherer, K. R. (2005). What are emotions? and how can they be measured? *Social Science Information*, *44*(4), 695–729. https://doi.org/10.1177/0539018405058216

Obstáculos en PYME y la idoneidad de políticas públicas

Paulina Hernández Mendoza (FCA, UAQ),
phernandezm23@gmail.com

Enrique Leonardo Kato Vidal (FCA, UAQ)
enriquekato@uaq.mx

Resumen

Como parte de su agenda los gobiernos ofrecen un conjunto de programas para dar apoyos a las micro y pequeñas empresas. Al revisar las convocatorias y las reglas de operación es posible describir a qué y a quiénes se dirigen los apoyos. En cambio, suele pasar desapercibido el punto de vista de las empresas, dado que no es sencillo tener un diagnóstico de los obstáculos que enfrentan las empresas de la región y, en esa medida, poder comparar el grado y magnitud en que coinciden los apoyos gubernamentales y las necesidades apremiantes en las empresas. El objetivo de esta ponencia fue conciliar la oferta de los apoyos estatales en relación a los obstáculos autorreportados por gerentes y dueños de pequeñas y medianas empresas. Para ello se hizo una recopilación de los programas en los portales de los gobiernos estatales, se describieron cuáles eran los principales problemas de las pequeñas empresas en los 32 estados y a través de una revisión de la literatura se reseñó qué características tenían los programas con impacto o efectividad. Estos resultados sirven para valorar el rango de áreas atendidas por los gobiernos locales de México y lograr una perspectiva de lo que faltaría por hacer.

Palabras clave

Obstáculos empresariales, Programas públicos, PYME, Economía subnacional, México.

Abstract

As part of their agenda, governments offer a set of programs to support small and medium-sized enterprises. By reviewing the calls and the rules of operation it is possible to describe to what and to whom the supports are addressed. On the other hand, the point of view of companies often goes unnoticed, since it is not easy to have a diagnosis of the obstacles faced by companies in the region and, to that extent, to be able to compare the degree and extent to which government support and the pressing needs of businesses coincide. The aim of this paper was to reconcile the offer of state support in relation to the obstacles self-reported by managers and owners of small and medium enterprises. For this purpose, a compilation of the programs was made in the portals of the state governments, the main problems faced by small businesses in the 32 states were described and a review of the literature reviewed the characteristics of programs with impact or effectiveness. Among the results, they highlight that although the programs face certain problems, the governments still do not propose programs that diminish or eliminate those that affect companies. These results serve to assess the range of areas served by the local governments of Mexico and achieve a perspective of what would remain to be done.

Keywords

Business barriers, Public policies, SME, Subnational economy, Mexico.

Introducción

Las pequeñas y medianas empresas, de acuerdo con el Directorio Estadístico Nacional de Unidades Económicas representan cerca del 6.4% del total de empresas a nivel nacional. Si bien, no representan una porción grande, pues las micro empresas tienen la mayor presencia en el país (93.3%), las pequeñas y medianas empresas mantienen una importante cantidad de la fuerza laboral, por lo que hacer frente a los retos y limitaciones que experimentan es de gran relevancia, asegurando así su posicionamiento y continuidad dentro del mercado.

Los gobiernos tienen un gran reto, a través de la creación de programas y políticas, atacar la mayor cantidad de problemáticas comunes que enfrentan las pequeñas y medianas empresas, así como disminuir o erradicar el impacto de las diversas fallas de mercado (problemas estructurales). A pesar de la diversidad de programas y políticas existentes, no todo resulta en casos de éxito, debido a que las políticas no se enfocan directamente en la problemática o porque existen otros factores externos no considerados (Carvalho y Yordanova, 2018).

Para llevar a cabo el presente análisis se consideraron dos fuentes de información. En primer lugar, se consideró la Encuesta Nacional de Productividad y Competitividad (ENAPROCE), en su versión más reciente de 2018, la cual es publicada por el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). Esta encuesta reporta las problemáticas que enfrentan las pequeñas y medianas empresas. En segundo lugar, se consideraron las páginas oficiales de los gobiernos estatales con el fin de conocer los programas de apoyo implementados para las mismas empresas. Dichas fuentes de información fueron útiles, pues permitieron contrastar las problemáticas reportadas por las empresas y los programas que los diferentes gobiernos han puesto en marcha.

Entre los principales resultados encontrados están: i) en las empresas de comercio las problemáticas principales fueron problemas de inseguridad pública y la competencia de empresas informales; ii) las empresas de servicios reportaron también problemas de inseguridad pública, así como altos impuestos; y iii) las empresas manufactureras presentaron como problemáticas los costos de energía y la competencia de empresas informales.

Para enfrentar las problemáticas empresariales, los gobiernos estatales postulan diversos programas. Como ejemplo, en Querétaro la Secretaría de Desarrollo Sustentable auspicia el “Programa para la Competitividad de las empresas”, el cual tiene como objetivos: 1) Fomentar la creación, desarrollo, consolidación, viabilidad, productividad, competitividad y sustentabilidad de las empresas y emprendedores, y 2) Impulsar a emprendedores, así como la inversión productiva, la innovación y el desarrollo tecnológico para generar empleo, y el aumento de la competitividad empresarial. Este programa en 2021 (tercer trimestre) tuvo un alcance de 57 personas físicas y morales y una bolsa de 11 millones de pesos ¿Son este tipo de programas los que demandan los dueños y gerentes de las empresas pequeñas?

El objetivo del presente estudio es conciliar la oferta de los apoyos estatales respecto a los obstáculos autorreportados por gerentes y dueños de pequeñas y medianas empresas. El documento se estructura de la siguiente manera: En la primera sección se expone la revisión de literatura, en la que se postulan diversos ejemplos de políticas a nivel internacional. Enseguida, se describe la información utilizada y reportan los resultados obtenidos. Posteriormente, se presenta la discusión y las conclusiones. Al final, se incluyeron tres anexos.

Revisión de literatura

Esta sección contiene tres apartados. En el primero se describen políticas para empresas nuevas; en el segundo, se retoma un meta análisis de la experiencia europea; y finalmente se exponen algunos motivos de por qué deben existir las políticas para emprendedores.

a) Políticas para la creación y supervivencia de las empresas.

Las empresas de nueva o reciente creación enfrentan retos y barreras importantes que les dificultan su continuidad y estabilidad dentro del mercado. Por lo

que la creación de políticas que disminuyan el impacto de dichos retos o barreras es esencial para permitir el progreso de las mismas y con ello fortalecer la economía, la creación de empleo, entre otras variables. El reto de las personas que postulan dichas políticas es crear los mecanismos correctos acorde a las necesidades que demandan las empresas y con ello tener las condiciones para mantenerse en el mercado. Un caso de éxito lo exponen Butler, Galassi y Ruffo (2016), denominado programa "Buenos Aires Emprende", creado en 2008, con el objetivo identificar y apoyar a los empresarios con nuevas ideas.

El programa se enfoca en dos etapas. Una primera etapa hace la selección de las instituciones, organizaciones y universidades que serán apoyo para que las empresas diseñen su plan de negocios y las guíen durante el proceso de aplicación. En la segunda etapa se evalúan a los solicitantes y sus proyectos, tanto en la viabilidad del proyecto como en su capacidad emprendedora. En ambas etapas, los participantes acumulan puntos y serán seleccionados si obtienen un puntaje igual o superior a 55 puntos. Resulta interesante que tanto los participantes como los asesores reciben incentivos económicos. Los beneficiarios reciben un apoyo de 70 000 pesos argentinos (ARS) y las instituciones colaboradoras reciben dos montos: 3 000 ARS por cada proyecto asignado y 2 000 ARS mensuales durante el periodo de tutorías. En 2012, cuando se aplicó la encuesta, 1 000 ARS equivalía a 3 000 pesos mexicanos (MXN).

De acuerdo con una encuesta realizada a 108 empresas, de las cuales 68 eran beneficiarias del programa y 40 no, fue posible conocer el segmento de la población en el que el programa tenía mayor participación. La edad media de los empresarios beneficiados era 36 años, 70% eran hombres, 42% eran graduados de universidad y 40% tenían maestría. Los sectores a los que se apoyaron eran diversos, sin embargo, el 33% tenían relación con las empresas de Tecnologías de la Información (TI) y el 16% eran empresas manufactureras. Como se mencionó, el programa expuesto ha sido un caso de éxito debido a que ha mostrado un impacto positivo en la creación de empresas, la supervivencia y la duración en el mercado.

Referente a la creación de empresas, los resultados muestran que el 97% de los beneficiarios comenzaron sus proyectos, mientras que de los no beneficiarios únicamente el 63% lo hizo. Por otra parte, al ser aprobado en el programa la probabilidad de ejecutar un proyecto aumenta entre un 20% y un 32%. En cuanto a la supervivencia de las empresas, los resultados muestran que el 92% de los beneficiarios tiene una mayor probabilidad de continuar el proyecto, frente al 79% de los no beneficiarios (Butler, Galassi y Ruffo, 2016).

Finalmente, conocer la duración de las empresas fue útil para profundizar en el tema de la supervivencia. Para este punto, se obtuvo que ser beneficiario reduce la probabilidad de salida en el mercado (Butler, Galassi y Ruffo, 2016). Una vez presentados los resultados, se concluyó que el programa tiene un impacto positivo en la tasa de creación y supervivencia de empresas, con diferencias que no solo son estadísticamente significativas, sino también importantes desde una perspectiva económica.

b) Las políticas de la experiencia europea

Además de Argentina, los países de la Unión Europea han puesto en marcha programas y políticas con el objetivo de apoyar el espíritu empresarial, buscando incrementar su competitividad y la riqueza de las economías, superando las principales fallas de mercado. Sin embargo, no todas las políticas han resultado en casos de éxito. En un análisis de 30 estudios empíricos, Dvouletý, Srhoj y Pantea (2021) revisó políticas basadas en subvenciones (subsidios), así como el impacto que tuvieron dentro de las empresas. En todos los casos, esos programas otorgaban apoyos a las pequeñas y medianas empresas en materia de competitividad o espíritu empresarial.

Los países que se tomaron en cuenta fueron: Italia (8 estudios), Reino Unido (4), Croacia (3), República Checa (3), Irlanda (3) y Alemania (2), así como un estudio de Bélgica, Estonia, Finlandia, Hungría, Letonia, España y Suecia. La mayoría de los estudios evaluaron los efectos a corto plazo, los cuales

generalmente se capturan dos años después del final de la intervención. Al igual que el estudio realizado por Butler, Galassi y Ruffo (2016), la efectividad de los programas implementados fue medida a través de la supervivencia de las empresas, sin embargo, también se tomó en cuenta el efecto sobre la productividad.

Los resultados de Butler, Galassi y Ruffo (2016) varían según el indicador estudiado. En las investigaciones que analizaron la variable de supervivencia, se reportaron que existen mayores tasas de supervivencia si las empresas fueron subsidiadas (18 estudios muestran resultados positivos). En cuanto al crecimiento de las empresas, se consideró el crecimiento de los activos tangibles-fijos (Nueve estudios obtuvieron resultados positivos sobre los activos materiales o fijos).

En tercer lugar, para evaluar la productividad de las empresas, se consideró tanto la productividad laboral, como la productividad total de los factores. La productividad laboral se utilizó más frecuentemente porque puede calcularse fácilmente a partir de los registros financieros de la empresa (Seis estudios mostraron efectos positivos). Los resultados que hicieron referencia a la productividad total de los factores son menos favorables a incrementos de la productividad (Cinco estudios mostraron efectos positivos).

Evaluando los efectos de las políticas bajo distintos panoramas fue posible determinar en qué programa hubo un mayor impacto. Al respecto, en 14 estudios se observó que las subvenciones concedidas en las regiones menos desarrolladas tuvieron efectos positivos en el rendimiento de las empresas. Por otra parte, al evaluar los resultados comparando empresas pequeñas y grandes, se muestran pruebas no confirmadas de los efectos positivos en las empresas más pequeñas. Por otra parte, las subvenciones muestran efectos positivos en el desempeño de las empresas cuando el monto de la subvención es mayor al 10% de los beneficios del año previo, mientras que no se mostraron efectos cuando el importe de la subvención es inferior al 10%. Como se puede observar, los diversos estudios muestran panoramas distintos para las diferentes variables, es decir, efectos positivos ante algunas circunstancias y efectos negativos en otras.

c) Las políticas públicas para emprendedores

En diferentes países, los emprendedores tienen un papel importante, pues son reconocidos como creadores de empleo y catalizadores de crecimiento económico, por lo que, al igual que con las empresas de reciente creación, los gobiernos tienen políticas públicas que se enfoquen a incrementar el número de emprendedores. Para reducir las barreras que dificultan que las personas se vuelvan emprendedoras, los gobiernos implementan políticas públicas para hacer frente a las diversas fallas de mercado y externalidades (Acs, Åstebro, Audretsch y Robinson, 2016).

Entre las externalidades reconocidas pueden citarse cuatro: i) tecnológicas, ii) de conocimiento, iii) de fracaso y iv) de demostración. Las externalidades tecnológicas se pueden observar como la escasez de emprendedores tecnológicos que generan una barrera en la atracción de emprendedores. En segundo lugar, existe una externalidad de conocimiento, dado que el conocimiento creado por una empresa u organización -como una universidad- puede ser usado por otros emprendedores para empezar o hacer crecer sus propios emprendimientos.

Una tercera externalidad hace referencia al fracaso, puesto que puede haber valor cuando algunos emprendedores fracasan, ya que, aunque un emprendimiento falle, el conocimiento generado, así como la experiencia, las ideas y la innovación, puede ser retomado por otros emprendedores para crear nuevos emprendimientos. En cuarto, y último lugar, se encuentra la externalidad por demostración. En este caso se reconoce a los emprendedores como un modelo positivo a seguir, independientemente del resultado, el cual puede influir en la decisión de otros de convertirse en emprendedores.

Aunque se han descrito los tipos de externalidades asociadas al emprendimiento, persiste la posibilidad de las políticas implementadas no siempre alcancen los resultados previstos y en el proceso ocurran afectaciones al mercado laboral y el mercado de capitales. Por ello, deben reconocerse que existen las

externalidades, para prever posibles efectos secundarios, superarlos y poder mejorar las condiciones de los emprendedores, así como de las empresas, fortaleciendo la economía, el mercado laboral y las condiciones de los menos favorecidos.

Metodología y resultados

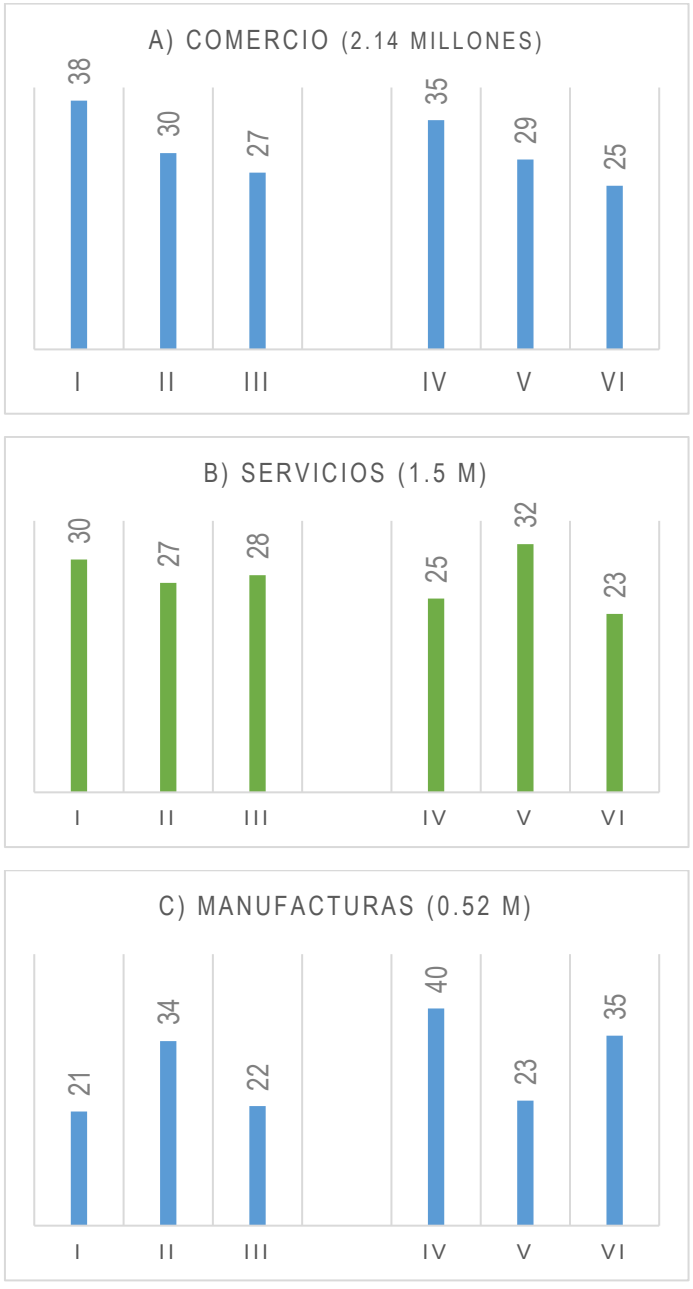
Primero se expone cuáles son los principales problemas que reportan las pequeñas empresas en México. Posteriormente, se describen el tipo de programas o políticas vigentes de los gobiernos estatales.

a) Problemas autorreportados de las pequeñas empresas mexicanas para crecer

En la revisión de la literatura se ofreció una perspectiva internacional de las políticas públicas destinadas a apoyar a empresas. También se recopiló información sobre las políticas subnacionales para apoyar a micro y pequeños empresarios. En esta sección, se muestran cuáles son los principales problemas que declaran tener los pequeños empresarios en México. La fuente de información fue la Encuesta Nacional de Productividad y Competitividad (ENAPROCE), cuya edición más reciente es 2018. La ENAPROCE es publicada por el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI).

Para identificar cuáles son los tres principales problemas que tienen las empresas para crecer, en la pregunta 81 de la ENAPROCE se enlistan los 15 diferentes problemas y se incluye un ítem 16 para considerar como respuesta "No tiene problemas". Quizá no sorprenda que la gran mayoría de las empresas reporta tener algún obstáculo. Sólo una de cada 10 empresas eligió la opción: No tener problemas. No sólo es grande la cantidad de pequeños empresarios con dificultades, además las problemáticas son diversas. En la figura 1 se muestran los seis principales obstáculos, aunque los problemas son comunes difieren en intensidad por sector.

Figura 1 Problemas que enfrentan las empresas para crecer (Porcentaje por gran sector)



Leyendas: I Problemas de inseguridad pública; II Costo de energía; III Falta de crédito; IV Competencia de empresas informales; V Impuestos altos; VI Baja demanda de sus productos. *Nota.* Las empresas eligieron hasta tres problemas, los porcentajes suman más del 100. Fuente: ENAPROCE, INEGI, 2018.

Los seis principales problemas pueden subdividirse en dos grupos, los problemas relacionados al mercado (ventas) y problemas no de mercado. En la parte izquierda de la figura 1, se muestran los problemas no de mercado, estos son: la inseguridad pública, el costo de la energía y la falta de crédito. Estos problemas fueron reportados aproximadamente por un 30% de las empresas de los sectores comercio y servicio; el impacto de la inseguridad y la escasez de crédito fue menor en la industria manufacturera. Cabe señalar que las manufacturas es un sector con diferentes problemáticas y también es el sector relativamente más pequeño, con cerca de 520 mil empresas, en comparación al comercio con más de dos millones de negocios y servicios con 1.5 millones de empresas.

Respecto a los problemas de mercado, se identifican tres tipos: i) la excesiva competencia con empresas informales, que reducen las ventas; ii) los impuestos altos, que reduce la rentabilidad y el margen de ganancia; y iii) la baja demanda de los productos, es decir, un volumen de clientes menor al esperado, además implica algún grado de capacidad instalada ociosa. Del lado derecho de la figura 1 se muestra la intensidad con que se identifican estos problemas en cada sector. Cerca del 30% de las empresas en los sectores de comercio y servicio respondió que los problemas de mercado son un obstáculo para el crecimiento. En manufactura, los problemas de mercado son un obstáculo mucho más frecuente, particularmente la competencia con empresas informales y la baja demanda de sus productos. Una vez descritos los problemas autorreportados por las pequeñas empresas en México, corresponde valorar qué políticas existen y qué problemas buscan resolver.

b) ¿Están alineados los apoyos públicos a las necesidades de las empresas?

Una vez identificados los problemas que las empresas reportan como principales amenazas para su crecimiento, se recurrió a identificar los programas realizados por los gobiernos estatales, los cuales ponen a disposición de las empresas. Para ello, se realizó una búsqueda en las páginas oficiales de los gobiernos, con el fin de conocer el abanico de programas disponibles para las pequeñas y medianas empresas. De los 32 estados, fue posible obtener información de programas en 20 estados, entre los que destacan con el mayor número Baja California Sur, Coahuila, Guanajuato, Morelos, Yucatán y Zacatecas. Dentro de dichos estados se reportaron un total de 48 programas, es importante mencionar, que únicamente se consideraron los programas que estaban disponibles durante el tiempo de estudio (octubre y noviembre), aclaración que se realiza debido a que posiblemente en algún otro periodo de tiempo los gobiernos postulan una mayor cantidad de programas, e incluso, nuevos programas (ver anexo 1).

Los programas tienen cuatro objetivos prioritarios. Primero, se busca aumentar la demanda de los productos; esto a través del mejoramiento de los productos, la comercialización, el aumento de la competitividad y calidad de los mismos. Del total de 48 programas que se encontraron, se identificó que 25 programas eran para estimular la demanda de productos (el 52%). Segundo, otra prioridad en el otorgamiento de créditos y financiamiento (18 programas, 38%), los cuales pueden ser utilizados para la compra de maquinaria y equipo, como capital de trabajo o para la compra de materias primas. Los siguientes dos rubros fueron menos frecuentes. Tercero, existen programas que fomentan la utilización de energías limpias (tres programas, 6%), en Ciudad de México, Guanajuato y Morelos, que otorgan financiamiento para la compra e instalación de sistemas de aprovechamiento de energía solar o maquinaria y equipo ahorrador de energía. Cuarto y último, se identificaron dos programas (el 4%) dedicados a la reducción de costos para tramites, permisos, licencias, registro de marca, entre otros (ver ejemplos en anexo 3).

Discusión

Una vez planteadas las problemáticas reportadas por las empresas y las generalidades de los programas, fue posible identificar a qué problemática iba enfocado cada programa y si los programas propuestos resolvían o hacían frente directamente a las problemáticas que afectan con mayor frecuencia a las empresas. De las seis problemáticas reportadas por las empresas, los diversos programas hacen frente a cinco de ellas:

Problemas de mercado:

- *Baja demanda de productos y competencia de empresas informales*: la mayor cantidad de programas se enfocan en mejorar los productos, hacerlos más competitivos tanto en precio y calidad, así como facilitar su comercialización y posicionamiento de los mismos, lo anterior, con la finalidad de aumentar la demanda y compra, buscando convertirlos en la opción más viable para todos.
- *Impuestos altos*: Si bien, no existen programas enfocados directamente en la reducción de impuestos, algunos de ellos proponen la disminución de costos en trámites administrativos.

Problemas no de mercado:

- *Costos de energía*: Hay pocos programas en esta materia, los cuales buscan la integración de sistemas o maquinarias que hacen uso de energías renovables con el fin de disminuir el consumo de energía convencional y con ello el gasto en dicho servicio.
- *Falta de crédito*: una cantidad importante de programas otorgan financiamiento para las empresas, tanto para la adquisición de maquinaria y equipo, como de insumos, con el fin de mejorar la productividad, rentabilidad, progreso y crecimiento de las mismas.

A pesar de todos los programas propuestos en cada entidad, los problemas no de mercado son poco atendidos, pues de las tres problemáticas expuestas, la de *inseguridad pública* no ha sido tomada en cuenta y la de costo de energía únicamente es considerada en tres estados. Por su parte, respecto a los problemas de mercado, si bien, los programas no resuelven de forma directa todas las problemáticas, los tres problemas de mercado cuentan con programas que eliminan o disminuyen los efectos negativos en las empresas.

Es importante que existan programas públicos para que las empresas reduzcan situaciones de riesgo o inestabilidad en las mismas. Tal como lo postulan Butler, Galassi y Ruffo (2016), las empresas que son aprobadas en un programa tienen desde un 20% hasta un 32% más de probabilidad de ejecutar un proyecto, respecto a las que no. Asimismo, sostienen que este hecho, reduce la probabilidad de salir del mercado.

No basta con implementar programas para resolver todas las problemáticas de las empresas; además, se necesita hacer evaluaciones, con el fin de conocer qué medidas, montos y condiciones de apoyo pueden mejorar efectivamente las condiciones negativas de las empresas (Storey y Potter, 2020). Un ejemplo consiste en el otorgamiento de crédito. De acuerdo con Dvouletý, Srhoj y Pantea (2021), el monto de apoyo debería ser superior al 10% de los beneficios que la empresa tuvo el año anterior, con el fin de que este muestre efectos positivos.

Conclusiones

En el presente análisis, se buscó responder si la oferta de los apoyos estatales responde a los obstáculos autorreportados por gerentes y dueños de pequeñas y medianas empresas. Para ello se documentó que los gobiernos estatales tienen en marcha diversos programas, con el fin de hacer frente a los retos de las pequeñas y medianas empresas. Sin embargo, la mayoría de los estados cuentan con una cantidad muy limitada de los mismos, aun cuando las empresas reportan una gama más amplia de problemáticas.

Entre los programas existentes se encontraron aquellos enfocados principalmente en el otorgamiento de apoyos y financiamientos, así como en la mejora y competitividad de los productos. Sin embargo, los apoyos no consideran algunas problemáticas que las empresas postulan como importantes, situación que se podría entender como que los programas no son del todo idóneos. Para lograr reducir la intensidad de las problemáticas empresariales, los programas deberían combatir la inseguridad pública como parte esencial de las políticas empresariales, así como, aumentar los apoyos para disminuir los costos de energía y los impuestos.

Los gobiernos deben escuchar a las empresas, conocer los panoramas que enfrentan y con ello, adaptar los programas a las necesidades que tengan en determinado momento (Potter, et al., 2013). Se sabe de las dificultades para atender simultáneamente todas las problemáticas; sin embargo, se podrían alinear los apoyos a los obstáculos empresariales y avanzar gradualmente. Así mismo, resulta de gran importancia determinar apropiadamente los montos de apoyo y lograr incrementar el número de empresas beneficiarias. De esa manera, trascendería el impacto de los programas en las economías de los estados.

Para postular un mayor número de programas, los gobiernos locales pueden recurrir a modelos como el que se propone en el programa "Buenos Aires Emprende", en donde el gobierno se alió con instituciones (universidades), buscando que estas desarrollen programas que las instancias gubernamentales no consideran. Las instituciones, más allá de considerar las problemáticas reportadas por las empresas, pueden ser importantes para incorporar programas que permitan a las empresas contar con asesorías financieras, tanto para superar el obstáculo de impuestos altos, como para lograr mayor flujo de efectivo, qué a su vez, reduzca la necesidad de crédito.

Para futuras investigaciones sería de gran interés identificar si los programas postulados por los gobiernos son utilizados preferentemente por las empresas que más necesitan los recursos, así como poder evaluar si con el paso del tiempo disminuyen las problemáticas atendidas en las empresas beneficiadas.

Referencias

Acs, Z., Åstebro, T., Audretsch, D., & Robinson, D. T. (2016). Public policy to promote entrepreneurship a call to arms. *Small business economics*, 47(1), 35-51.

Butler, I., Galassi, G. & Ruffo, H. (2016). Public funding for startups in Argentina: an impact evaluation. *Small Business Econo*mics, 46(2), 295-309.

Carvalho, N., & Yordanova, Z. (2018). Why say no to innovation? Evidence from industrial SMEs in European Union. *Journal of technology management & innovation*, 13(2), 43-56.

Dvouletý, O., Srhoj, S. & Pantea, S. (2021). Public SME grants and firm performance in European Union: A systematic review of empirical evidence. *Small Business Economics*, 57(1), 243-263.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía -INEGI-. (2018). Encuesta Nacional de Productividad y Competitividad, INEGI. México.

Potter, J., Marchese, M., Feldman, M., Kemeny, T., Lawton-Smith, H., & Pike, A. (2013). The Local Dimension of SME and Entrepreneurship Issues and Policies in Mexico. *OECD Local Economic and Employment Development -LEED- Papers 2013/14*. OECD.

Storey, D., & Potter, J. (2020). A research agenda for entrepreneurship policy. En Smallbone, D. y Welter, F. (Eds.), *A Research Agenda for Entrepreneurship Policy*, Edward Elgar, 47-68.

Fuentes consultadas

Gobierno del Estado de Baja California (2022). Secretaría de Economía e Innovación. Recuperado el 28 de octubre de 2022, de https://www.bajacalifornia.gob.mx/sei/

Gobierno del Estado de Baja California Sur (2022). Secretaría de Turismo y Economía. Recuperado el de 28 octubre de 2022, de https://setuesbcs.gob.mx/

Gobierno de la Ciudad de México (2022). Secretaría de Desarrollo Económico. Recuperado el 28 de octubre de 2022, de https://www.sedeco.cdmx.gob.mx/

Gobierno del Estado de Chihuahua (2022). Secretaría de Innovación y Desarrollo Económico. Recuperado el 28 de octubre de 2022, de https://www.chihuahua.com.mx/

Gobierno del Estado de Coahuila (2022). Secretaría de Economía. Recuperado el 28 de octubre de 2022, de http://www.seccoahuila.gob.mx/

Gobierno del Estado de Durango (2022). Secretaría de Desarrollo Económico. Recuperado el 28 de octubre de 2022, de http://sedeco.durango.gob.mx/

Gobierno del Estado de Guanajuato (2022). Secretaría de Desarrollo Económico Sustentable. Recuperado el 28 de octubre de 2022, de https://sde.guanajuato.gob.mx/sdes/

Gobierno del Estado de Guerrero (2022). Secretaría de Fomento y Desarrollo Económico. Recuperado el 28 de octubre de 2022, de https://www.guerrero.gob.mx/dependencia/sector-central/secretaria-de-fomento-y-desarrollo-economico/

Gobierno del Estado de Jalisco (2022). Secretaría de Desarrollo Económico. Recuperado el 28 de octubre de 2022, de https://sedeco.jalisco.gob.mx/

Gobierno del Estado de Morelos (2022). Secretaría de Desarrollo Económico y del Trabajo. Recuperado el 28 de octubre de 2022, de https://economiaytrabajo.morelos.gob.mx

Gobierno del Estado de Nuevo León (2022). Secretaría Economía. Recuperado el 28 de octubre de 2022, de https://www.nl.gob.mx/economia

Gobierno del Estado de Puebla (2022). Secretaría de Economía. Recuperado el 28 de octubre de 2022, de https://se.puebla.gob.mx/

Gobierno del Estado de Querétaro (2022). Secretaría de Desarrollo Sustentable. Recuperado el 28 de octubre de 2022, de https://www.queretaro.gob.mx/sedesu/

Gobierno del Estado de Sinaloa (2022). Secretaría de Economía. Recuperado el 28 de octubre de 2022, de https://economia.sinaloa.gob.mx/

Gobierno del Estado de Sonora (2022). Secretaría de Economía. Recuperado el 28 de octubre de 2022, de https://economiasonora.gob.mx/

Gobierno del Estado de Tabasco (2022). Secretaría para el Desarrollo Económico y la Competitividad. Recuperado el 28 de octubre de 2022, de https://tabasco.gob.mx/sedec

Gobierno del Estado de Tlaxcala (2022). Secretaría de Desarrollo Económico. Recuperado el 28 de octubre de 2022, de http://www.sedecotlaxcala.gob.mx/

Gobierno del Estado de Veracruz (2022). Secretaría de Desarrollo Económico y Portuario. Recuperado el 28 de octubre de 2022, de http://www.veracruz.gob.mx/desarrolloeconomico/

Gobierno del Estado de Yucatán (2022). Secretaría de Fomento Económico y Trabajo. Recuperado el 28 de octubre de 2022, de https://sefoet.yucatan.gob.mx/

Gobierno del Estado de Zacatecas (2022). Secretaría de Economía. Recuperado el 28 de octubre de 2022, de https://economia.zacatecas.gob.mx/

Anexos

Anexo 1 México. Principales problemas atendidos por los gobiernos locales

Problema identificado	Programas
Baja demanda de sus productos	25
Falta de crédito	18
Costos de energía	3
Impuestos altos	2
Total de programas	48

Fuente: Elaboración propia a través de consultas a las páginas web de los gobiernos locales (octubre de 2022). Nota. No hubo información disponible en los siguientes estados: Aguascalientes, Campeche, Chiapas, Colima, Hidalgo, Estado de México, Michoacán, Nayarit, Oaxaca, Quintana Roo, San Luis Potosí, Tamaulipas.

Anexo 2. México. Número de programas por estado

Número de programas	Lista de estados
Uno	Chihuahua, Guerrero, Nuevo León, Puebla, Querétaro, Tlaxcala, Veracruz.
Dos	Baja California, Ciudad de México, Durango, Sinaloa, Sonora, Tabasco.
Tres	Baja California Sur, Yucatán, Zacatecas.
Cinco	Coahuila, Jalisco.
Seis	Guanajuato, Morelos.

Fuente: Elaboración propia. Ver detalles al pie del anexo 1.

Anexo 3 Ejemplos de los programas para PYME

Panel a Estado de Guanajuato

Problemática	Programa
Baja demanda de sus productos	Mipyme al 100
Baja demanda de sus productos	Distintivo marca Guanajuato
Falta de crédito	Fábrica de empresas
Costos de energía	Gto sustentable (Energía limpia)
Falta de crédito	Crédito mayor
Falta de crédito	Crédito menor

Panel b Estado de Querétaro

Problemática	*Programa*
Baja demanda de sus productos	Programa para la profesionalización de empresas (Pro - empresa)

Fuente: Elaboración propia con información de las páginas web de los gobiernos estatales.

LA PARADOJA COMO GENERADOR DE DISCUSIONES CRÍTICAS EN PRIMARIA

María Fernanda Jiménez Torres, Luisa Josefina Alarcón Neve, Karina Paola García Mejía
Universidad Autónoma de Querétaro
Correspondencia:
mjimenez101@alumnos.uaq.mx,
lalarcon@uaq.edu.mx,
karina.paola.garcia@uaq.edu.mx

Resumen

En esta investigación exploratoria se indagó sobre los elementos de una discusión crítica que se generan al usar una paradoja entre niñas y niños de sexto grado de primaria en una escuela rural del Estado de Querétaro. Para ello, se partió de la teoría de la argumentación Pragmadialéctica en la cual se caracteriza una discusión crítica. Así, se estructuró una discusión que partió de la presentación de una paradoja por medio de un video animado, en la cual se exponía un tema de interés: los animales de crianza doméstica para el consumo. Igualmente, se realizó una entrevista individual antes y después de la discusión entre niñas y niños, para reconocer el impacto que tuvo participar en una discusión crítica.

En esa medida, se identificó que las niñas y los niños usan los actos de habla característicos de una discusión crítica. Sin embargo, se señala que el acto de habla directivo/declarativo de uso es usado con poca frecuencia. Adicionalmente, se reconoce que hay un movimiento dialéctico que permite tejer colectivamente una nueva postura frente a la paradoja, como lo fue en este caso con la construcción de una postura concesiva. Además, se observó que, tras participar en una discusión crítica, las niñas y los niños retoman los argumentos construidos colectivamente para defender sus puntos de vista. En consecuencia, se reconoce la importancia de la paradoja para suscitar una oposición inicial que permita que surja una discusión crítica. Asimismo, con estos resultados se espera suscitar nuevas reflexiones para generar estrategias que promuevan esta propuesta de una argumentación dialógica.

Palabras clave: Pragmadialéctica, discusión crítica, paradoja, argumentación oral, escuela primaria.

Abstract

In this exploratory research, it was investigated what elements of a critical discussion are generated when using a paradox between girls and boys in the sixth grade of primary school in a rural school in the State of Querétaro. To achieve this, we based our investigation on the theory of Pragmadialectics in which a critical discussion is characterized. Thus, we organized a discussion that began with the presentation of a paradox through an animated video, in which the topic of interest was presented: animals raised domestically for consumption. Likewise, an individual interview was conducted before and after the discussion to assess the impact of participating in a critical discussion.

To this extent, it was identified that girls and boys use the characteristic speech acts of a critical discussion. However, it is noted that the directive/declarative speech act of use is only used rarely. Additionally, it is observed that there is a dialectical movement that allows collectively building a new stance in relation to the paradox, as it was in this case with the development of a concessive stance. In addition, it was noted that after participating in a critical discussion, the girls and boys use the arguments built collectively to defend their points of view. Consequently, we can assert the importance of the paradox to provoke an starting opposite stance that allows a critical discussion to arise. Likewise, with these results it

is expected to promote new reflections that help generate strategies to promote this kind of dialogical argumentation.

Keywords: Pragmadialectic theory, critical discussion, paradox, oral argument, primary school.

Introducción

En México existe una necesidad de fomentar una actitud crítica y reflexiva en las y los estudiantes (SEP, 2017). En esa medida, entendemos la argumentación como una herramienta indispensable para construir seres críticos y reflexivos. Por tal razón, es importante indagar sobre la argumentación oral en primaria, ya que esta es la base de la argumentación escrita y permite consolidar las bases para mejorar las habilidades argumentativas a futuro (Santos, 2012; Kuhn y Crowell, 2011). Además, profundizar en estas investigaciones permite ampliar las estrategias didácticas que favorecen el aprendizaje de niñas y niños en este campo.

De acuerdo a la teoría Pragmadialéctica (Van Eemeren y Grootendorst, 2011) la argumentación se entiende como un acto de habla[1] complejo, caracterizado por ser una actividad verbal, social y racional, en tanto que hace uso del lenguaje en un determinado contexto de interacción social y se apoya en consideraciones intelectuales. Igualmente, se afirma que este acto de habla complejo consta de una o varias expresiones que implican una toma de posición dirigida a refutar o justificar un determinado punto de vista.

Esta teoría permite construir una concepción de la argumentación amplia. Dicha perspectiva facilita dimensionar el ejercicio argumentativo como un movimiento constante y bidireccional, en el cual ambas partes tienen intercambios críticos, racionales y contextualizados. De igual forma, dicho carácter dialéctico implica un movimiento en las posiciones tomadas inicialmente, ya sea porque el antagonista se convenza y/o porque el protagonista reformule sus proposiciones presentadas inicialmente para defender su punto de vista. Todo ello dentro del modelo de discusión crítica planteado por la Pragmadialéctica, que propone una perspectiva dialógica de la argumentación.

Este modelo implica intercambiar y analizar los diferentes argumentos expuestos respecto a una diferencia de opinión por medio de un diálogo organizado y, así, identificar la solidez del argumento frente a las objeciones que se puedan presentar (Van Eemeren y Grootendorst, 2011). De este modo, la discusión crítica implica a grandes rasgos un carácter dialéctico, es decir, un movimiento en el cual los sujetos intercambian puntos de vista y un carácter pragmático en tanto que hacen uso de los actos de habla desde un contexto específico.

En relación a este modelo de discusión crítica Van Eemeren y Grootendorst (2011) proponen unas etapas argumentativas en relación con los actos de habla. De acuerdo con los autores mencionados anteriormente, la primera etapa es la confrontación en tanto que hay desacuerdo o duda respecto a un punto de vista. Luego, aparece la etapa de apertura en la cual se crean las bases o compromisos entre las partes para la consecución del intercambio argumentativo. Posteriormente, surge la etapa de argumentación en la cual se genera el intercambio argumentativo. Finalmente, la etapa de clausura presenta una resolución sobre la diferencia de opinión inicial. Dichas etapas argumentativas y actos de habla se distribuyen según se observa en la Tabla 1:

[1] Los autores parten de la propuesta de los Actos de habla de Searle (1969, 1979).

Distribución de los actos de habla en una discusión crítica	
Etapas argumentativas	**Actos de habla**
I. Confrontación	*Asertivo:* Expresar un punto de vista *Compromisorio:* Aceptar o no aceptar un punto de vista, mantener la no aceptación de un punto de vista *Directivo:* Solicitar un declarativo de uso *Directivo de uso:* Definición, especificación, amplificación, etc.
II. Apertura	*Directivo:* Desafiar a defender un punto de vista *Compromisorio:* Aceptar el desafío de defender un punto de vista. Concordar con las premisas y las reglas de la discusión. Decidir comenzar una discusión *Directivo:* Solicitar un declarativo de uso *Declarativo de uso:* Definición, especificación, ampliación, etc.
III. Argumentación	*Directivo:* Solicitar argumentación *Asertivo:* Presentar argumentación *Compromisorio:* Aceptar o no aceptar la argumentación *Directivo:* Solicitar un declarativo de uso *Declarativo de uso:* Definición, especificación, amplificación, etc.
IV. Clausura	*Compromisorio:* Aceptar o no aceptar un punto de vista *Asertivo:* Mantener o retractarse de un punto de vista. Establecer el resultado de la discusión *Directivo:* Solicitar un declarativo de uso *Declarativo de uso:* Definición, especificación, amplificación, etc.

Tabla 1. Basada en la propuesta de distribución de los actos de habla en una discusión crítica de Van Eemeren y Grootendorst (2011).

Dentro de esta teoría, Van Eemeren y Grootendorst, (2011) consideran que la vida cotidiana es una fuente de desafíos epistemológicos, morales y prácticos, lo cual se convierte en una oportunidad para generar una teorización de la argumentación a partir de la práctica de la misma. Así, la paradoja puede ser situada en el nivel práctico de la Pragmadialéctica, en tanto que implica una práctica argumentativa motivada por una situación desafiante para unos interlocutores específicos.

En ese sentido, para Sopeña y Olivares (2002) la paradoja, entendida desde la retórica, va más allá de una figura de estilo, ya que se trata de una "figura macroestructural" y no de una "microestructural". Así, la paradoja es definida como macro-figura en tanto que implica la confrontación de dos términos opuestos semánticamente con la finalidad de abrir una nueva concepción del mundo, según afirman las autoras anteriormente mencionadas. Por consiguiente, la perspectiva pragmática y dialéctica crea un vínculo entre la teoría argumentativa aquí expuesta y la configuración de la paradoja como macro-figura. En tal medida, la paradoja se presenta como un elemento potenciador de una discusión crítica. Asimismo, una discusión crítica impulsada por una paradoja puede ser evaluada bajo los criterios de la Pragmadialéctica.

Bajo este orden de ideas, la presente investigación se enfocó en indagar qué elementos de una discusión crítica se pueden presentar al usar una paradoja en una discusión entre niñas y niños que están finalizando la primaria en una escuela rural en el Estado de Querétaro. Para dicho análisis se retomaron las características de una discusión crítica mencionadas anteriormente. Además, se construyó una paradoja que parte del contexto y la vida cotidiana de las niñas y niños de la comunidad.

Metodología

Esta investigación tiene un enfoque cualitativo y un alcance exploratorio. Pues, no se han presentado estudios preliminares sobre el alcance de la paradoja en relación a una discusión crítica en el desarrollo argumentativo de niñas y niños en primaria. Este alcance exploratorio permite obtener información que posibilite abrir nuevas rutas de trabajo en futuras investigaciones.

Asimismo, con el enfoque cualitativo se profundiza en la indagación exploratoria, a través de herramientas que facilitaron un análisis holístico y hermenéutico de los datos recolectados.

De manera que, se trabajó con un grupo de cinco niñas y cinco niños, cuyas edades oscilaban entre los 11 a 13 años y estaban cursando sexto grado de primaria en la Escuela Rural Matutina Ignacio Zaragoza ubicada en la comunidad El Organal del Municipio de San Juan del Río, Querétaro. Dado que, en ese grado había un total de 30 estudiantes, se le pidió a la maestra del grupo que identificara diez estudiantes (5 niñas, 5 niños) que se encontraran en un punto medio entre quienes nunca participan y quienes siempre toman totalmente la palabra en los debates.

Para la obtención de datos se diseñó una entrevista semiestructurada, un video animado y un guion de debate. Para la entrevista, se formuló una pregunta relacionada con el tema de la paradoja y que, a su vez, correspondiera a la tensión que implica la misma. Esta pregunta se aplicó antes y después del debate, y fue la siguiente: Si las personas cuidan, juegan y quieren a los animales de sus casas, pero después los preparan para comerlos en las festividades, ¿son amigos o no de esos animales?, ¿Por qué?

De acuerdo con las características e intereses de la comunidad a la que pertenece la población participante en esta investigación, se diseñó un video animado. La finalidad de usar este recurso audiovisual fue introducir la paradoja a partir de la narración de una historia que se discutió a lo largo de la sesión. La historia narrada audiovisualmente, corresponde a la paradoja titulada "Animales de Crianza Doméstica para el Consumo"; ésta presentó la relación de una pareja de hermanos pequeños con los animales que cuidaban, alimentaban y con los que jugaban en su casa: borregos, gatos, perros y gallinas. La situación que detona la paradoja parte de esa relación y del hecho de comer a una de sus gallinas en el cumpleaños de uno de los hermanos.

Después de visualizar el video, la paradoja es retomada desde el guion preestablecido para el debate. La estructura del debate consistió en establecer unas preguntas orientadoras de acuerdo a cada una de las cuatro fases argumentativas (confrontación, apertura, argumentación, cierre) propuestas por la Pragmadialéctica, tal como se muestra en la Tabla 2:

Estructura de la discusión crítica realizada	
Etapa argumentativa	**Preguntas formuladas**
Confrontación y apertura	¿Son los hermanos Juan y Sofía amigos de la gallina Lili, aunque sea la cena en el cumpleaños de Juan? ¿Por qué?
Argumentación	• ¿Juan y Sofía se divertían jugando con las gallinas, borregos, gatos y perros? • ¿Juan y Sofía consideraban como amigos a todos los animales con los que jugaban (borregos, gallinas, perros, gatos)? • Si consideraban como amigos a las gallinas y borregos ¿Por qué cenaron a la gallina Lili en su Cumpleaños?, ¿Querían a la gallina como amiga o no?
Cierre	Entonces, ¿Son los hermanos Juan y Sofía amigos de la gallina Lili, aunque sea la cena en el cumpleaños de Juan? ¿Por qué?

Tabla 2. Preguntas formuladas en relación a cada una de las etapas argumentativas de una discusión crítica.

Toda la sesión realizada fue audio-grabada y posteriormente transcrita. Asimismo, para poder analizar los datos obtenidos se organizó la información de acuerdo a cada fase argumentativa y pregunta que orientó la discusión. De esta forma, se procedió a clasificar las respuestas en argumentos a favor, en contra y concesivos. Adicionalmente, se identificó el tipo de acto de habla usado en cada uno de esos argumentos, según los postulados de la Pragmadialéctica. Igualmente, las entrevistas fueron agrupadas según las respuestas obtenidas por los participantes: a favor, en contra o concesivo. También, se analizó

la transformación cualitativa de los argumentos que usó cada participante de forma individual, para saber si se retomaron los que construyeron colectivamente en la discusión crítica.

Resultados

Tras presentar la paradoja por medio del video y de la pregunta inicial del debate, se presentan dos posturas a favor y ocho en contra. La manifestación de unas posturas a favor y otras en contra marcan la fase de confrontación y las razones de cada participante dan pauta para la fase de apertura en la discusión.

En este punto se pueden identificar los actos de habla asertivo y compromisorio. El primer acto de habla corresponde a la manifestación de argumentos que sustentan el punto de vista a favor o en contra. De acuerdo con Van Eemeren & Grootendorst (2011) el acto compromisorio puede tener diferentes roles dentro de una discusión. En esta discusión el acto de habla compromisorio se identifica al tomar una postura a favor o en contra ante la paradoja. Por ejemplo, manifiestan los participantes:

Participante 4: No, porque lo están matando (…) Un amigo no te mata, un amigo no te traiciona.
Participante 1: Sí, la iban a matar, pero se divierten.

Adicionalmente, cabe mencionar que los actos de habla directivo y declarativo de uso son realizados por la investigadora. En esta primera parte de la discusión estos actos de habla son expresados en forma de preguntas que solicitan alguna ampliación o definición sobre las posturas de las y los participantes.

En el inicio de la fase argumentativa de la discusión, ante la primera pregunta hubo acuerdo general de que se divertían con la gallina. Sin embargo, no manifestaron algún otro argumento reconociendo el conflicto entre divertirse y ser amigos. Por tal razón, se presentó la siguiente pregunta preestablecida para motivar más la reflexión ante dicho conflicto. En esta pregunta se hizo énfasis en si consideraban a todos los animales como amigos por igual. En consecuencia, se empezó a abrir una postura concesiva, la cual permitió construir un punto medio entre las dos posibilidades discutidas hasta el momento.

En cuanto a los actos de habla, se presentó el uso del acto de habla asertivo cuando las y los participantes presentaron argumentación a favor, en contra y para justificar una postura concesiva. Igualmente, se manifestó el acto de habla compromisorio cuando algunas y algunos aceptaron los argumentos presentados por otros participantes. Por ejemplo, se acepta la posibilidad de que los niños no tienen responsabilidad, porque fue decisión de sus padres cocinar a la gallina.

Participante 3: Que sí la querían antes, la alimentaban y la fueron alimentando y ya después ya cuando vieron que estaba creciendo y engordando, pues a lo mejor no quisieron comprar pollo y ya la cocinaron.

En el caso del acto de habla directivo y declarativo de uso, éste fue usado una sola vez por un integrante de la discusión. En este caso, se usó el declarativo de uso al solicitar que se ampliara la información respecto a la posible edad que tenían los niños. Pues, estaban discutiendo si la hermana y hermano del video eran responsables de la muerte de la gallina, pues ellos no podían cocinarla porque eran pequeños.

Participante 4: Sí, no creo que fueran pues que ellos pudieran cocinar, bueno sí, pero ¿Cuántos años tenían?, ¿Cómo 7 y 8?

Durante esta fase argumentativa, las primeras respuestas se fueron apoyando en uno de los argumentos que ya habían presentado anteriormente. Así, algunos manifestaron que, aunque se comieron a la gallina, no fue por decisión de los niños. Sin embargo, algunos estudiantes se posicionaron en contra al argumentar que ese era el destino que tenían y

siempre iban a tener las gallinas. La mayoría de los estudiantes empezaron a inclinarse por argumentos concesivos frente a la situación paradójica. Estos argumentos sostenían como idea central que sí querían a la gallina hasta el momento que tuvieron que cenar al animal.

Participante 6: Yo digo que sí la querían, pero ya la mataron para que tuvieran comida en el cumpleaños.

Principalmente, los actos de habla usados fueron el asertivo y compromisorio. El primero, se evidencia con la formulación de argumentos para sostener un punto de vista. El segundo acto de habla mencionado, se presenta ante la postura de no aceptar los argumentos concesivos de los demás compañeros y mantener un punto de vista en contra. Igualmente, la aceptación de argumentos propuestos con anterioridad para ampliar un punto de vista concesivo, es manifestación de este acto de habla compromisorio.

Para finalizar la discusión crítica se presentó la misma pregunta que se usó al inicio de la discusión. En las respuestas expresadas solo se evidenció un argumento que expresó un punto de vista totalmente a favor de que eran amigos de la gallina. Igualmente, se empezaron a formular argumentos en contra, pero la mayoría usó argumentos concesivos para expresar su punto de vista.

Participante 6: Que sí eran amigos, porque antes jugaban con ella y hacían cosas con ella y la querían (A favor).
Participante 4: Como estaba diciendo antes, no eran amigos porque no lo hubieran permitido y además lo estás traicionando, si lo hubieran querido hubieran dicho que no, pero y también al parecer ya no quieres a los animales, por ejemplo, los niños así ya no tenían tiempo y ellos crecieron, entonces no lo querían (En contra).
Participante 2: Sí la querían, pero con el paso de los años empezaron a perder interés con ella (Concesivo).

Respecto a los actos de habla usados, en esta fase aparece el acto de habla compromisorio cuando aceptan un punto de vista concesivo y al retomar argumentos que se fueron tejiendo a lo largo de la discusión. Igualmente, este acto de habla aparece cuando algunos participantes no aceptan los argumentos concesivos y mantienen un punto de vista en contra o a favor. En el caso del acto de habla asertivo, éste se encuentra cuando argumentan para mantenerse en un punto de vista en contra, a favor o para sostener su punto de vista concesivo. A partir de estos resultados, se puede afirmar que no hubo un acuerdo general, pero sí hubo dos tipos de acuerdo para establecer el resultado de la discusión. Por un lado, un grupo mayoritario estableció una posición concesiva como resultado y por otro, un grupo minoritario mantuvo su posición inicial en contra o a favor.

Dado que algunos insistían en que los niños tenían la posibilidad de intervenir ante la muerte de la gallina, se propuso una pregunta para profundizar en ese punto de vista. Si bien la participación fue muy concreta, el niño que al principio argumentó que los niños podían detener la muerte de la gallina, empezó a construir un argumento concesivo, que corresponde con su postura ante la pregunta de cierre previamente establecida.

Cabe señalar que los actos de habla usados corresponden al asertivo y compromisorio porque aceptan un punto de vista y luego se retractan de este a partir de la construcción de un argumento concesivo para cerrar. Además, se manifestó un acto de habla directivo/declarativo de uso cuando uno de los niños cuestiona la posibilidad de que los niños pudieran detener la muerte de la gallina, al preguntar qué pasa si los padres no quieren.

Participante 1: Yo creo que sí porque si la querían, yo digo que la esconderían o se las quitaban a sus papás o lo impedirían.
Participante 3: Pero A ¿si los papás no quieren?

Participante 1: No pues, pues por eso estoy diciendo en qué hubieran hecho los niños.

En consecuencia, se puede decir que en esta discusión crítica entre niñas y niños de primaria que surgió a partir de la paradoja, se evidencia un tejido entre fases argumentativas y actos de habla expuestos por los postulados de la Pragmadialéctica. De acuerdo a lo descrito anteriormente se clasificaron los resultados obtenidos en la Tabla 3:

Etapa argumentativa / Acto de habla	**Confrontación y apertura**	**Argumentación**	**Cierre**
Asertivo y compromisorio	Se manifestaron posturas opuestas	Construyeron un punto de vista concesivo con los argumentos expuestos a lo largo de la discusión	Un grupo asume el punto de vista concesivo y otro grupo un punto de vista en contra
Directivo/declarativo de uso	No se presentó por parte de las y los participantes	Se usó para solicitar ampliación de información	Se usó para solicitar por medio de una pregunta especificar un punto de vista

Tabla 3. Resultados de los actos de habla usados por niñas y niños en relación a cada etapa argumentativa.

Es importante mencionar que en las dos primeras fases la mayoría de niñas y niños asumen una postura en contra de la posibilidad de ser amigos de la gallina. En cambio, al finalizar el debate el giro consta de que la mayoría asume un punto de vista concesivo y otro minoritario en contra o a favor. Esta transformación es posible por el movimiento dialéctico en el desarrollo de la discusión, ya que con los argumentos expresados colectivamente se fue construyendo un punto de vista nuevo y concesivo, el cual implicaba aceptar la amistad de los niños con la gallina hasta cierto punto.

¿Qué impacto tuvo participar en una discusión crítica?

En relación con los resultados de las entrevistas que se aplicaron antes y después del debate, se observó que hubo un cambio en el punto de vista de las niñas y niños tras participar en una discusión crítica. Además, se logró identificar si los argumentos usados en la entrevista individual eran los mismos de la entrevista inicial, o si recuperaban elementos construidos durante la discusión crítica.

En la entrevista inicial se encontraron ocho puntos de vista en contra y dos a favor. En el caso de la entrevista final, los resultados fueron dos puntos de vista en contra, uno a favor y siete concesivos. En esa medida, se puede ver entre la entrevista inicial y final un cambio cuantitativo, pues disminuyó la posición a favor y en contra, mientras que aumentó el punto de vista concesivo, ya que la mayoría finalmente se posicionó en este último.

De manera que, se identificó que hubo un cambio de opinión en la mayoría, lo cual coincide con el cierre de la discusión crítica. Asimismo, se retoman los argumentos construidos durante la discusión crítica para defender el punto de vista que asumieron en la entrevista final. Adicionalmente, se refleja un incremento de los argumentos expresados, no solo por parte de quienes asumen una postura concesiva, sino también por quienes se quedan en un punto de vista en contra o a favor. Por ejemplo, en la entrevista inicial el participante 7 manifestó una postura en contra argumentando que “a los animales se le cuida y no se hace eso, no se deben de comer” y en la entrevista final expresó que “a los amigos no se mata (…) y si hubieran sido amigos de los animales

lo hubieran impedido", en esta última parte retomó un argumento que surgió de la discusión crítica al intentar identificar si los niños podían o no podían impedir la muerte de la gallina.

En el caso de quien manifestó al inicio y al final estar a favor, se puede identificar un cambio en sus argumentos. En la entrevista inicial el participante 6 afirmó que "puede ser que sí sean amigos porque conviven" y en la entrevista final expresó que "pues yo digo que sí son amigos porque al final mataron a la gallina por necesidad para que el niño tuviera comida en su fiesta". En ambas respuestas asume que los niños son amigos de la gallina, pero en la respuesta de la entrevista final retoma de la discusión crítica el argumento que expresaron grupalmente de que se mataba a la gallina por necesidad y no por falta de cariño o amistad hacia la gallina.

De igual forma, se reconoce en las respuestas de la entrevista final que se apoyaron en los argumentos concesivos de la discusión crítica. Un ejemplo se encuentra en las respuestas del participante 8, éste participante afirma en la entrevista inicial que "no son amigos porque se la comen" y en la entrevista final dice "sí son amigos en ese momento, pero ya después cuando los comen ya no porque un amigo no se traiciona". En este caso se evidencia un cambio de postura en contra a un punto de vista concesivo. Además, para justificar su punto de vista final se apoya en los argumentos de la discusión crítica, pues retoma la idea de que eran amigos hasta que se genera una traición que rompería con la posible amistad que tenían los niños con la gallina hasta ese momento.

En consecuencia, se puede afirmar que tras participar en una discusión crítica las niñas y los niños pueden reconsiderar sus puntos de vista iniciales, ya sea para cambiarla o para acoplar argumentos más sólidos para su defensa. En tal medida, esta investigación evidencia la importancia de considerar posturas dialógicas al igual que la Pragmadialéctica, para promover situaciones interactivas que desarrollen las habilidades argumentativas a nivel oral desde temprana edad.

Conclusiones

A partir de los análisis realizados, se han formulado cuatro conclusiones puntuales en esta investigación. La primera consiste en la importancia que tiene evidenciar una oposición inicial entre las y los participantes, para que surja una discusión crítica. Esta necesidad de oposición es esencial para el intercambio dialéctico de argumentos, de acuerdo a la teoría Pragmadialéctica. Así, la paradoja al estar caracterizada por una contradicción, permite plantear un desafío que promueva esta oposición inicial entre las y los integrantes de una discusión crítica.

En segundo lugar, se puede afirmar que la confrontación inicial genera un movimiento entre los argumentos expuestos en la discusión crítica. De esta forma, los puntos de vista iniciales no son estáticos, aún cuando al final se mantenga el mismo punto de vista. Dicha aseveración es posible ya que se evidenció en los resultados de la discusión crítica y el análisis de las entrevistas; que quienes mantuvieron su punto de vista inicial, retomaron argumentos que se construyeron colectivamente y que les permitieron defender con mayor amplitud su posición original.

En tercer lugar, los actos de habla que se usan con frecuencia en una discusión crítica entre niñas y niños de primaria son los asertivos y compromisorios. En el caso de los actos asertivos se usan para expresar el punto de vista inicial, presentar argumentación y mantener o retractarse de su punto de vista. Por su parte, el uso de los actos de habla compromisorios se identifica cuando las y los participantes aceptan o no aceptan el punto de vista y la argumentación presentada por las otras partes. En cambio, el acto de habla

directivo/declarativo de uso es poco frecuente, ya que requiere que las y los participantes soliciten aclaraciones o especificaciones a las otras partes involucradas en la discusión. Esta dificultad con este último acto de habla se puede relacionar con el hecho de que las y los estudiantes suelen entender la argumentación como una exposición armónica y sin oposiciones, según mencionan Kuhn y Crowell (2011). Sin embargo, la poca frecuencia del uso de este acto de habla, según se reporta aquí, debe suscitar una reflexión a futuro para generar estrategias que promuevan su apropiación y uso en los espacios de discusiones críticas en el aula.

Finalmente, se observó que es posible encontrar una salida interpretativa a una paradoja dentro de una discusión crítica. Pues, este tipo de discusión implica un movimiento dialéctico y la confrontación de puntos de vista, que conlleven a una resolución. En este caso, se evidenció que las y los participantes se posicionaron en un punto de vista concesivo o mantuvieron su punto de vista inicial gracias a las reflexiones que los llevaron al convencimiento de las mismas.

Cabe mencionar que el análisis de esta discusión crítica, permite trazar nuevas rutas de reflexión para futuras investigaciones en el área de la didáctica de la lengua, especialmente en el campo de la argumentación. Por ello, será importante seguir reflexionando sobre cómo promover una práctica argumentativa dialógica dentro del aula, a partir de la teoría de la Pragmadialéctica.

Referencias

García Mejía, K. (2019). Desarrollo de estrategias argumentativas en el nivel Medio Superior a través de un programa de intervención [Tesis de Doctorado].

García Mejía, K. P., & Alarcón Neve, L. J. (2018). El problema de la enseñanza de la argumentación en la escuela mexicana. Pensamiento Educativo, 55(2). https://doi.org/10.7764/PEL.55.2.2018.10

Hess Zimmermann, K. (2011). El papel que juega la cultura escrita en la reflexión metalingüística: reflexiones de adolescentes de dos entornos diferentes. En K. Hess, G. Calderón, S. Vernon y M. Alvarado (Coord.), Desarrollo lingüístico y cultura escrita (pp. 191-210). Miguel Ángel Porrúa.

Kuhn, D., & Crowell, A. (2011). Dialogic argumentation as a vehicle for developing young adolescents' thinking. Psychological Science, 22(4), 545–552. https://doi.org/10.1177/0956797611402512

Navarro, P. (2015) La paradoja en el discurso. Paradoja y discurso didáctico: la explicación del pensamiento saussureano a partir de las nuevas lecturas de su obra. Tópicos del Seminario, 34. pp. 13-28.

Padilla, C. (2020) Enseñar y aprender a argumentar a lo largo de la escolaridad: desafíos actitudinales, epistémicos, colaborativos y situados. Revista Iberoamericana de Argumentación, (20), 7-29. http://doi.org/10.15366/ria2020.20.001

Peña, L & Ausín, T. (2011). Compendio de lógica, argumentación y retórica. Paradoja. Trotta.

Rodríguez Hernández, B. A., Jorge Enrique, V. U., & Barrera Retana, A. (2017). Análisis microgenético de las producciones textuales de alumnos de primaria y telesecundaria. Perfiles Educativos, XXXIX (156), 37–57.

Rodríguez Hernández, B. A., & Martínez Serna, C. N. (2018). Análisis del uso de conectores discursivos en la argumentación escrita de alumnos de primaria. Entreciencias: Diálogos En La Sociedad Del Conocimiento, 6(18), 93–107. https://doi.org/10.22201/enesl.20078064e.2018.18.65583

Rodríguez León, D. M., & Valencia Leguizamón, L. M. (2013). Análisis pragma-dialéctico en la argumentación oral formal de estudiantes universitarios. Sophia, 9, 180–195.

Rodríguez Hernández, B. A., Martínez Serna, C. N., & Ruíz Reyna, N. S. (2020). Enseñar a argumentar en la escuela primaria: una secuencia didáctica basada en el género textual. Aula de Encuentro, 22(1), 163–193.

Sánchez Ceballos, L. M. (2015). La enseñanza de la argumentación escrita desde la teoría de la pragmadialéctica y la lingüística textual. Revista Reflexiones y Saberes, 2(2), 21–31. http://revistavirtual.ucn.edu.co/index.php/RevistaRyS/article/view/598/1134

Santos Velandia, N. P. (2012). La argumentación oral: propuesta en las aulas de primaria. Infancias Imágenes, 11(2), 8–15.

Serrano, S. (2016). Paradox and argumentation. Mètode Science Studies Journal, 6. https://metode.es/revistas-metode/monograficos/paradojas-y-argumentacion.html

Sopeña Balordi, E. & Olivares Pardo, A. (2001). La paradoja lingüística. Aspectos semánticos pragmáticos. Estudio de casos. Universidad de Lleida.

Tomasini, A. (2002). Russell y Wittgenstein: sobre contradicciones y paradojas. Theoría. Revista Del Colegio De Filosofía, (13), 83-99. https://doi.org/10.22201/ffyl.16656415p.2002.13.287

Van Eemeren, F., & Grootendorst, R. (2011). Una teoría sistemática de la argumentación: la perspectiva pragmadialéctica (Trad. C. López y A. Vicuña). Biblos (Trabajo original publicado en 2003).

Vicuña, A. M., & Marinkovich, J. (2008). Un análisis de la discusión acerca de temas controversiales en Enseñanza Media desde la pragma-dialéctica. Revista Signos, 41(68), 439–457.

Guía metodológica para el estudio de la danza folklórica mexicana

Autora: Yuvia Ixchel León Trejo. Licenciada en Danza Folklórica Mexicana, por la Universidad Autónoma de Querétaro
Correo: ixchelyuvia@gmail.com

Asesor Mtro. José de Jesús Fernández Malváez
Correo: Jose.dejesus.fernandez@uaq.mx

Resumen

Se presenta la propuesta de una guía metodológica para el estudio de la danza folklórica mexicana, que tiene como objetivo brindar al lector, profesor, estudiante o investigador de danza folklórica, una estrategia que permita indagar en las danzas desde elementos implícitos en la misma, hasta adentrarse en la parte subjetiva, destacando aspectos necesarios y relevantes para el entendimiento único de las expresiones dancísticas. Los elementos que incluye la propuesta han sido obtenidos mediante la metodología de observación participante en experiencias de campo y la aplicación de cuestionarios electrónicos a maestros, maestras y estudiantes de danza folklórica de la Universidad Autónoma de Querétaro, así como a antropólogos.

Como conclusión, tomando en cuenta los resultados que arrojaron las entrevistas, se aborda la importancia de una guía metodológica para la investigación de la danza folklórica, afirmando efectivamente la necesidad de dicha guía, agregando y justificando la información de cada tópico.

Palabras clave: danza, cuerpo, cultura, guía metodológica

Abstract

It is presented the proposal of a methodological guide for the study of Mexican folkloric dance, which aims to provide the reader, teacher, student or researcher of folkloric dance, a strategy that allows to investigate in dances from elements implicit in the same, until delve into the subjective part, highlighting necessary and relevant aspects for the unique understanding of dance expressions. The elements included in the proposal have been obtained through the methodology of participant observation in field experiences and the application of electronic questionnaires to teachers and students of folkloric dance of the Autonomous University of Querétaro, as well as anthropologists.

In conclusion taking into account the results of the interviews, the importance of a methodological guide for the research of folkloric dance is addressed, effectively affirming the need for such a guide, adding and justifying the information of each topic.

Keywords: dance, body, culture, methodological guide

Introducción

A continuación se muestra una de las dos caras de la investigación frente al tema de la danza, desde qué perspectivas y cómo abordar todos los temas sin caer en asuntos externos.

La elección de este tema es pensando hacia donde dirigen las investigaciones que mayormente se encuentran en internet o en las redes sociales acerca de las danzas de México, posteriormente se abordan dos maneras de ver a las investigaciones acerca de la danza al momento de la recopilación de información, el siguiente producto se adentra en la parte subjetiva y en todo lo que no siempre es tomando en cuenta durante una investigación.

Una maneras de ver a la danza es desde la parte objetiva que son todos los documentos de monografías donde se abordan los elementos externos que propicia el contexto en donde se desarrollan la danzas como lo es el clima, en ocasiones la vestimenta depende de las temperaturas en que se encuentren; flora y fauna, son elementos tan importantes para los diseños en la vestimenta al plasmarlos de acuerdo a los animales o vegetación típica

de la región, la gastronomía que aborda cada etnia, misma que tiene su auge en las celebraciones como las fiestas patronales; las artesanías que al ser un elemento que siempre destaca en todas las culturas igual es parte de las danzas como por ejemplo en las máscaras, los vestuarios, bordados, los accesorios que se utilizan, etc. Esta información es encontrada mayormente en monografías que tienen diversos puntos de vista sobre el tema a tratar, utiliza diversas fuentes compiladas y procesadas por uno o por varios autores.

Para la realización de la guía se toma como base la guía Murdock (Murdock, 1989), en donde se rescatan los elementos importantes, así como complementarla con algunos factores pertinentes desde la experiencia en la danza folklórica.

Es sumamente complicado investigar a la danza sin caer en una monografía, conocer cuáles son esos elementos únicos que se ven implicados sólo dentro de la danza. La danza en México es una riqueza cultural que tiene consigo elementos muy significativo en la cultura mexicana, son conocidas a través de los vistosos vestuarios, por lo rituales que realizan, por los accesorios que destacan en las danzas, y es de aquí de donde algunas investigaciones parten para mostrar al mundo lo que es una danza, se parte así de la idea de una guía que abarque elementos significativos en las danzas y para orientar la investigación, se ha tomado como base e inicio a Durand (2014) "Coordenadas metodológicas. De cómo armar el rompecabezas" (p.261), un enramado de datos relacionados para concluir una investigación que tiene como fin resolver un enigma. Él menciona cuatro coordenadas, las cuales se usan para mantener una línea en la investigación usando preguntas; territorial ¿Dónde?, temporal ¿Cuánto tiempo?, temática ¿Qué se investiga? y teoría ¿Cómo se desarrolla?, mismas que son tomadas en cuenta para la clasificación y desglose de la guía, así como analizar la importancia de la misma con ejemplos de diversas danzas de México encontrados entre líneas en las etnografías del Instituto Nacional de Pueblos Indígenas (INPI), como instrumento de investigación y contribución a la veracidad, se realizaron entrevistas a maestros, maestras, estudiantes y antropólogos sobre la importancia de una guía la investigación de la danza en México.

Metodología

La investigación realizada fue de tipo Básica, con un enfoque cualitativo. Se realizó investigación documental y se aplicaron como herramientas metodológicas, entrevistas de tipo semi estructuradas a estudiantes, docentes y antropólogos del medio queretano.

La investigación de corte cualitativo permite la comprensión total de la información recabada, profundiza en el análisis y se centra en las manifestaciones históricas, sociales y culturales para la obtención de conclusiones científicas.

Como herramientas de investigación se utilizaron:

Observación participante: fue llevada a cabo en experiencias propias de campo anteriores en la investigación de algunas danzas, para dar cuenta de la necesidad de una guía metodológica que se fundamenta en la siguiente herramienta metodológica.

La entrevista: la cual fue llevada a cabo a partir de una previa formulación de preguntas, las cuales dieron pauta para la obtención de elementos a incluir en guía metodológica, así como la importancia de la misma, seguid de ellos, se registraron y graficaron los datos obtenidos y el análisis de la opinión personal de los sujetos de estudio.

Se manejaron tres entrevistas de tipo semi estructuradas con preguntas abiertas previamente analizadas, las cuales se aplicaron a tres grupos, la primera a estudiantes, la segunda a docentes y la tercera a antropólogos(as), entablando una conversación que permitiera abordar los temas de manera clara y precisa, enriqueciendo la información ya recopilada para la elaboración de una guía metodológica para el estudio de la danza folklórica.

Resultados.

Los resultados que esta investigación arroja a raíz de la metodología y herramientas de investigación empleadas se muestran en el análisis de la propuesta de una guía metodológica para el estudio de la danza en México, seccionada en cinco tópicos, inspirados en la metodología de Durán (2014) y en la guía Murdock (1989).

Se presenta a continuación y de primer momento el balance general realizado con cada grupo de los sujetos de estudio, en donde su colaboración sirvió de ayuda en la realización de la guía.

Balance general de la aplicación del instrumento de investigación "Entrevista" a estudiantes de la licenciatura en Danza Folklórica Mexicana de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Debido a la actual pandemia ocasionada por el virus Covid-19 y las medidas de sanidad que deben tomarse para evitar los contagios, fue imposible realizar las entrevistas personales, en primer lugar, las clases presenciales fueron suspendidas, adecuándose a la nueva modalidad virtual, así como evitar salir de casa, usar el cubrebocas, evitar lugares concurridos. Por esta razón se optó por realizar las entrevistas de manera virtual mediante la página web Google, elaborando formularios de Google, en donde realizadas las preguntas pertinentes, se crea el formulario.

Una vez contestadas las preguntas, se analizaron las respuestas, graficando y generando así un análisis que favorezca a los resultados de la investigación.

Se compartió a 29 estudiantes, de los cuales se obtuvo la participación de 15, se elaboraron 21 preguntas, de las cuales 12 fueron graficadas. La participación de los estudiantes fue de un 51%, de los que participaron 2 hombres y 13 mujeres.

De igual forma se analizó la participación de 3 grupos en la licenciatura.

El grupo de tercer semestre mostró que, de 11 estudiantes, solo 4 mujeres colaboraron.

El grupo de quinto semestre arrojó que, de 10 estudiantes, solo 4 colaboraron.

El grupo de octavo semestre colaboró en su totalidad con 7 estudiantes.

La decisión de aplicar las interrogantes a este grupo de sujetos se debe a la carrera universitaria que estudian y que la línea terminal del programa educativo es en docencia e investigación. Cabe aclarar que se solo se tomaron en cuenta a los semestres que ya cuentan con materias de investigación, mismos que en alguna ocasión ya habían realizado investigaciones de campo dentro en la licenciatura.

Balance general de la aplicación del instrumento de investigación "Entrevista" a docentes inmersos en la danza folklórica de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Las preguntas fueron compartidas a 12 profesionales inmersos en la danza, de los cuales se obtuvo la participación de 3, este formulario contenía 20 preguntas, de las cuales 6 fueron graficadas, y el resto de información fue analizada de manera escrita. La participación de los estudiantes fue de un 25%, de los que participaron 1 hombre y 2 mujeres .

Se decidió aplicar las interrogantes a este grupo de personas por la trayectoria y experiencia que tiene en torno a la danza, y de la cual han realizado investigaciones sobre la misma, de este modo las respuestas aportadas por ellos y ellas generarían un impacto sobre la guía presentada.

En este caso las respuestas se presentaron muy completas, hubo desglose en las preguntas abiertas, mismas que ayudaron de manera benéfica en la guía metodológica.

Balance general de la aplicación del instrumento de investigación "Entrevista" a antropólogos y antropólogas.

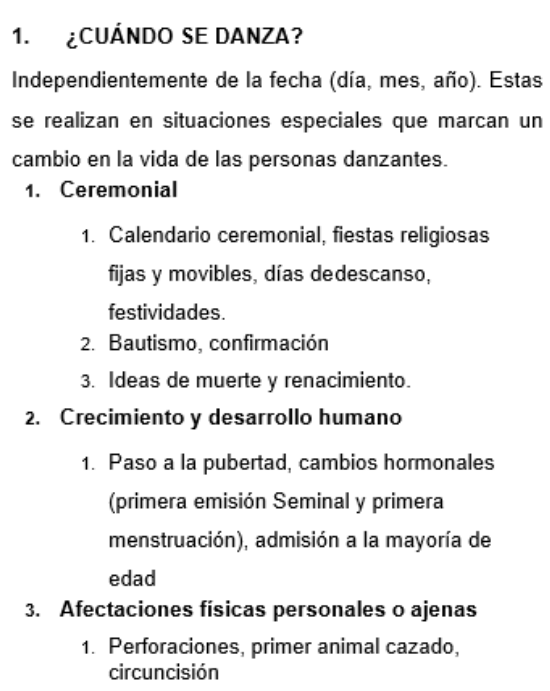
Se realizó el mismo proceso para la elaboración y entrega de interrogantes y se contó con la participación de 3, el formulario aplicado a ellos y ellas contenía 19 preguntas, de las cuales 2 fueron graficadas, y el resto de información fue analizada y plasmada de manera escrita.

Las preguntas aplicadas a este grupo de personas, se debe a que se basan en el estudio de las sociedades y sus culturas, siendo la danza una expresión realizada a manera de tradición y conservación entre diversas culturas. Resultó interesante para la investigación conocer las variantes que los antropólogos consideran necesarias para investigar a la danza en México, generando aportaciones de gran importancia dentro de esta investigación.

Como antropólogos destacan la importancia del ritual y sus simbolismos, mismos que deberían integrarse en la guía metodológica.

Propuesta de la guía metodológica para el estudio de la danza folklórica en México

De acuerdo con las coordenadas metodológicas con fundamento en la metodología propuesta por Duran (2014), se presenta la primera coordenada metodológica plasmada en la guía, que se muestra en la figura 1.



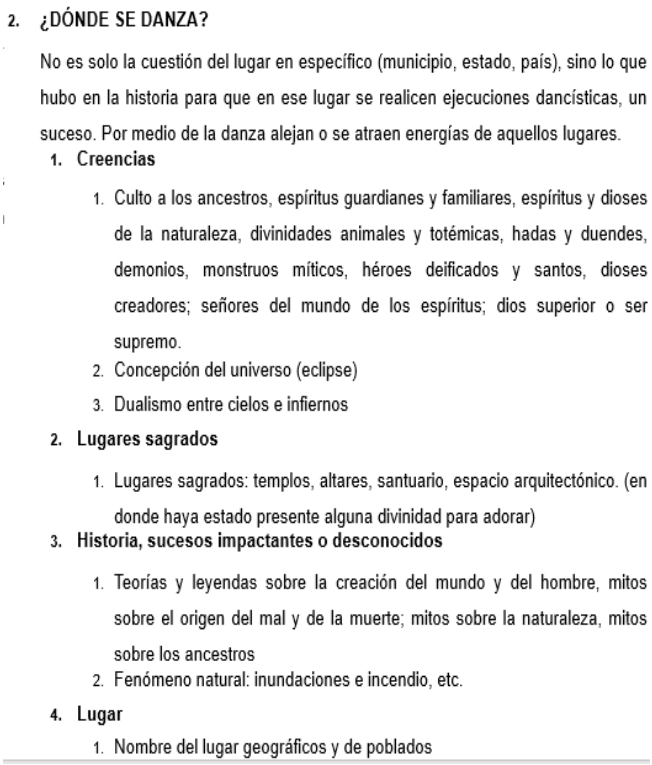
1. **¿CUÁNDO SE DANZA?**

Independientemente de la fecha (día, mes, año). Estas se realizan en situaciones especiales que marcan un cambio en la vida de las personas danzantes.

1. **Ceremonial**
    1. Calendario ceremonial, fiestas religiosas fijas y movibles, días dedescanso, festividades.
    2. Bautismo, confirmación
    3. Ideas de muerte y renacimiento.
2. **Crecimiento y desarrollo humano**
    1. Paso a la pubertad, cambios hormonales (primera emisión Seminal y primera menstruación), admisión a la mayoría de edad
3. **Afectaciones físicas personales o ajenas**
    1. Perforaciones, primer animal cazado, circuncisión

Figura 1 Adaptado de *Guía metodológica para el estudio de la danza folklórica en México,* León (2022).

Un ejemplo de las ideas sobre la muerte es la etnia Tarahumara que se encuentra en el estado de Chihuahua y Durango en donde “La danza del Paskol” se encarga de que todo lo que está abajo en el inframundo no suba: las enfermedades vienen de abajo; de esta manera se debe bailar para que no lleguen a la tierra Pintado (2004). Otro ejemplo es la celebración de la etnia teneek o huastecos Valle (2003), el Xantolo donde se da la danza de la Viejada en honor a la celebración de día de muertos, analizando otro ejemplo sería la danza de Xochipitzahuatl de la etnia otomí y huastecos al ser una danza de fertilidad no solo en cuanto a los cultivos, sino al nacimiento, a la vida y por último está la danza del venado que se ejecuta principalmente en la etnia de los Yaquis, Moctezuma (2007) y Mayos de Sonora y Sinaloa, quienes realizan la danza del venado en celebraciones patronales o cuando los hombres cumplen la mayoría de edad y es momento de cazar su primer animal.



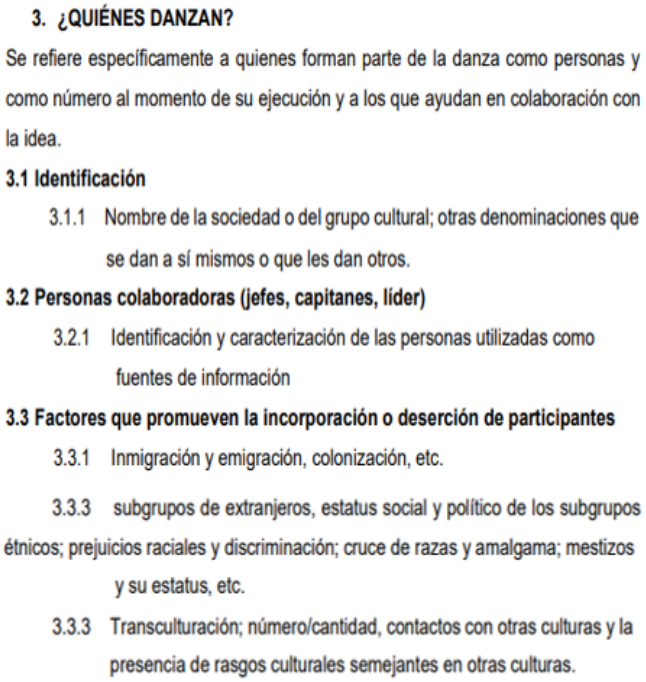
2. ¿DÓNDE SE DANZA?

No es solo la cuestión del lugar en específico (municipio, estado, país), sino lo que hubo en la historia para que en ese lugar se realicen ejecuciones dancísticas, un suceso. Por medio de la danza alejan o se atraen energías de aquellos lugares.

1. Creencias
    1. Culto a los ancestros, espíritus guardianes y familiares, espíritus y dioses de la naturaleza, divinidades animales y totémicas, hadas y duendes, demonios, monstruos míticos, héroes deificados y santos, dioses creadores; señores del mundo de los espíritus; dios superior o ser supremo.
    2. Concepción del universo (eclipse)
    3. Dualismo entre cielos e infiernos
2. Lugares sagrados
    1. Lugares sagrados: templos, altares, santuario, espacio arquitectónico. (en donde haya estado presente alguna divinidad para adorar)
3. Historia, sucesos impactantes o desconocidos
    1. Teorías y leyendas sobre la creación del mundo y del hombre, mitos sobre el origen del mal y de la muerte; mitos sobre la naturaleza, mitos sobre los ancestros
    2. Fenómeno natural: inundaciones e incendio, etc.
4. Lugar
    1. Nombre del lugar geográficos y de poblados

Figura 2 Adaptado de *Guía metodológica para el estudio de la danza folklórica en México,* León (2022).

Un ejemplo con las danzas de México es la danza de Chicaleros de Galeana, Nuevo León, la cual se baila en semana Santa, los danzante pasan por las calles de Galeana pidiendo el tradicional "chical" y de ahí se dirigen a la iglesia, frente a ella realizan un pequeño ritual y continúan con la danza, otro ejemplo con base en la historia, es la danza de tecuanes de Morelos, la cual nace a partir de una historia que ocurrió en una hacienda hace muchos años, la hacienda pertenecía a don Salvadorchi, quien estaba preocupado porque un animal estaba terminando con su granja. Debido a que ya tenían pocos animales, se tomó la decisión de hacer algo para evitar que el animal se siga alimentando de la granja; la decisión final, fue cazar, para esto se contrató a varias personas expertas en la caza, algunos de ellos fueron "el Flechero", "el Lancero", "el Yerbero" quienes traen consigo utilería como flecha, arcos, lanza, pistola que utilizan para lograr su objetivo, participa un venado como carnada para atraer al Tecuan quien cae en la trampa, esta información se recaba de Cortés Palma (2016) de *Tecuanes, tlacololeros y tlamiques*. Este es un ejemplo muy evidente de conocer la historia ya que se logran analizar contextos, épocas, personajes que traen consigo otras historias para deconstruirlas.



3. ¿QUIÉNES DANZAN?

Se refiere específicamente a quienes forman parte de la danza como personas y como número al momento de su ejecución y a los que ayudan en colaboración con la idea.

3.1 Identificación

3.1.1 Nombre de la sociedad o del grupo cultural; otras denominaciones que se dan a sí mismos o que les dan otros.

3.2 Personas colaboradoras (jefes, capitanes, líder)

3.2.1 Identificación y caracterización de las personas utilizadas como fuentes de información

3.3 Factores que promueven la incorporación o deserción de participantes

3.3.1 Inmigración y emigración, colonización, etc.

3.3.3 subgrupos de extranjeros, estatus social y político de los subgrupos étnicos; prejuicios raciales y discriminación; cruce de razas y amalgama; mestizos y su estatus, etc.

3.3.3 Transculturación; número/cantidad, contactos con otras culturas y la presencia de rasgos culturales semejantes en otras culturas.

Figura 3 Adaptado de *Guía metodológica para el estudio de la danza folklórica en México,* León (2022).

Los ejemplos de acuerdo a esto son la danza de pascolas, matachines, fariseos, danza del venado que se centran en estados del norte, Sonora, Chihuahua, Sinaloa y Durango que parecieran ser completamente iguales pero tienen sus diferencias, una de ellas son las Pascolas que en Moctezuma (2007) en la etnia yaquis, las máscaras son con las cejas cortadas; la danza del venado va con el torso descubierto y en la etnia de los mayos se utilizan en pascolas las máscaras con las cejas largas, por su parte la danza del venado va completamente vestido de blanco; otro ejemplo es la de tecuanes que se encuentra en Morelos, Puebla, Oaxaca; danza de diablos en Guerrero y Oaxaca; danza de concheros en Ciudad de México, Querétaro, Guanajuato entre otros.

4. ¿POR QUÉ SE DANZA?

La danza es un arte que el ser humano manifiesta de forma instintiva, independientemente de la categoría en que acomode.

4.1 Terminología de parentesco directo e indirecto

4.1.1 Cuadros genealógicos, generación, sexo, parentesco político, colateral, personas difuntas, parientes cercanos de un individuo, situaciones excepcionales una generación que carece de herederos masculinos directos, abarcan a las personas que pueden trazar su descendencia real de un ancestro común; tradiciones; organización; jefatura y sucesión.

4.1.2 Sentimiento: ayuda mutua, venganza de sangre); solidaridad y responsabilidad de grupo.

4.2 Estructura de la comunidad

4.2.1 Banda migratoria, poblado fijo, vecindades, barrios y otras subdivisiones de un pueblo comunidad segmentada de clan-barrios asociados, subdivisiones locales de la comunidad; población de la comunidad

4.2.2 Estatus de los sexos derechos, privilegios, poderes, deberes y restricciones de cada sexo: domésticos, económicos, políticos, ceremoniales), estatus de inferioridad o superioridad de la mujer. Situaciones especiales: espíritu de caballería, nociones acerca de la impureza de las mujeres)

4.3 Transmisión de creencias que involucran sentimiento y/o emoción

4.3.1 Ideas sobre la vida y la muerte; concepto de una fuerza vital; concepto de la muerte, creencias sobre las causas de la muerte; actitud ante la muerte (confianza, miedo)

4.3.2 Manipulación de la ansiedad para sostener las creencias (suscitando, aliviando o reforzando la ansiedad); papel de lo accidental y de las coincidencias para confirmar las creencias sobrenaturales

4.4 Necesidad expresiva y comunicativa

4.4.1 Comunicación no verbal del ser humano

4.4.2 Emociones positivas que liberan

4.4.3 Expresión de las emociones en la danza

4.5 Factor externo

4.5.1 Recolección de materias comestibles (v.g.: raíces; frutas; semillas; insectos; miel;
Huevos), importancia económica de la recolección, creencias y Prácticas asociadas, etc.

5 ¿CÓMO SE DANZA? (LA MANERA EN QUE SE HACE Y LO RECURSOS UTILIZADOS) A PARTIR DE...

Implica mover el cuerpo y las extremidades con ritmo siguiendo el compás de una pieza musical; la persona porta una indumentaria especial para las danzas con accesorios que la identifican.

5.1 Gestos, ademanes y señas

5.1.1 Expresión de las emociones (afecto, agresión, burla, miedo, repugnancia); gestos de afirmación y de negación; indicación del tamaño y de la forma; ademanes para indicar la situación, proximidad, lejanía. Lenguaje entre las tribus.

5.2 Lenguaje por otros medios

5.2.1 Fuego, humo, luces, código de señales, por medio de tambores.

5.2.2 Practicas propiciatorias (medio de reconciliación): reverencia, alabanzas, plegarias, sacrificios, quema de incienso, donaciones a templos y santuarios.

5.3 Vestimenta

5.3.1 Vestido habitual partes del cuerpo cubiertas y descubiertas; función del vestido: protección, pudor, vanidad), diferencias según la edad y el sexo; variaciones según las estaciones, descripción de las prendas; medios para sujetar y colgar: cinturones, etc.

5.3.2 Vestidos especiales: ropa para fiestas, rituales, funerales; tocado y calzado especiales; vestidos asociados con estatus y actividades especiales, etc.

5.3.3 Adornos tipos de adornos de la vestimenta (collares, brazaletes, anillos, tobilleras, pendientes, bezotes, adornos del pelo); forma de colgarlos o sujetarlos; diferencias según la edad, sexo, estatus, materiales y manufactura; ocasiones en que se usan, etc.

5.3.4 Simbolismo que tiene y contiene la vestimenta

5.4 Música

5.4.1 Estilos de canciones (de danza, de guerra, de amor, de cuna, de iglesia, etc.) Cantos cosmogónicos, de lloro o de funeral, de juego de peón, de cuna o de temas
Cotidianos y de curación.

5.4.2 Organización: número de personas, instrumentos que tocan.

5.4.3 instrumentos musicales idiófonos (v.g.: sonajas, matracas, gongs); Membranófonos (tambores)

5.5 Movimientos de la danza

5.5.1 Estilos de la danza (simbólica)

5.5.2 Técnicas (movimiento de la cabeza, del tronco y de las extremidades)

5.5.3 Individual o grupal

5.5.4 Patrones coreográficos

5.5.5 Ritmo; acompañamiento música

5.5.6 Significado de los movimientos

5.5.7 Tipo de danza (de guerra, de salón, ritual)

5.6 Rituales

5.6.1 Prácticas que reflejan alivio de la ansiedad por medio de la ejecución repetitiva u obsesivamente precisa de actos simbólicos; gestos compulsivos, conducta repetitiva, toque de campana, alumbrar las velas, rociar con agua bendita); recitación de fórmulas estereotipadas, plegarias mecánicas, recitación de letanías y liturgias, procesiones; peregrinaciones.

5.7 Conocimiento corporal

5.7.1 Concepto de las proporciones ideales del cuerpo; ideas sobre el tronco y sus partes: vientre, pechos, nalgas, ombligo, cuello, columna vertebral); la piel y la pigmentación, el pelo (axilar, corporal, facial, cabellera); la cabeza y sus partes (cerebro, orejas, ojos, labios, boca, nariz, dientes, lengua); las extremidades (brazos, piernas, manos, pies, dedos, uñas); la sangre, las venas y arterias, los huesos, la grasa y los músculos, los nervios y tendones, los órganos internos (corazón, intestinos, riñones, hígado, pulmones, estómago).

5.7.2 Interpretación de las anormalidades físicas (pie plano, jorobado).

5.7.3 Patrones de conducta asociados.

Figura 4 Adaptado de *Guía metodológica para el estudio de la danza folklórica en México,* León (2022).

Algunos ejemplos que pueden darse sobre este apartado son: la necesidad expresiva y comunicativa a través de una comunicación no verbal que es la danza, dando como ejemplo: las danzas guerreras y danzas petitorias, con un efecto espiritual. En cuanto a la comunicación no verbal, la fiesta de la vendimia en Baja California Norte, se realizan una danza que hace alusión a la cosecha de la uva, el vestuario de este baile pues está basado más que nada en las haciendas tipo vaquero, y las mujeres con vestido largo de hacienda. No es necesario tener que explicar esta danza al momento de presenciarla ya que las mujeres llevan consigo una canasta de uvas y realizan movimientos sutiles de la danza.

Figura 5 Adaptado de *Guía metodológica para el estudio de la danza folklórica en México,* León (2022).

Las danzas realizan movimientos que contienen cierta significación, un ejemplo de ellos son todas las danzas que nacieron a partir de la conquista de los españoles en donde ellos realizaban bailes de salón, en círculos, con portes elegantes, y por el otro lado las personas de pueblo en las fiestas paganas que realizaban en contra de lo eclesiástico, donde imitaban esos bailes con danzas burlándose de los españoles, por esa razón la cultura está llena de danzas como la danza de los cuchillos y Danzas de las cintas de Tlaxcala, danza de huehues, danza de chinelos, comparsas de Chimalhuacán, entre otros, las cuales a través de las máscaras representan la cara de los españoles y realizan movimientos jocosos, brincos, caminar elegante moviendo el cuerpo, giros, etc.

Otro factor importante es integrando el lenguaje por otros medios, como es el fuego, humo, luces, código de señales, por medio de tambores, que de igual forma contienen un significado, un ejemplo de ellos es en la danza de cocheros, que podría abordar todas las características ya dichas en sentido de que en la parte ritual antes de la ejecución hacen uso de humo que es el copal para rendir tributo a los ancestros, al igual del huehuetl que marca procesos tanto en la ceremonia ritual, como en la ejecución de la danza.

En las danzas, la vestimenta contienen un simbolismo donde interviene lo antes dicho sobre la simbología del color, las bordados como por ejemplo la danza del peyote de los huicholes Neurath (2003) en donde el traje masculino huichol es uno de los pocos trajes indígenas que presenta más decoración que la vestimenta de sus mujeres, las figuras del venado y la ardilla expresan peticiones de protección a la deidad que representan; el águila, a veces bicéfala, se cree que cuida al maíz joven; las líneas en zig-zag sugieren relámpagos que están asociados con la lluvia; las plantas y flores se convierten en símbolos de vida.

Por otro lado está el maquillaje que actualmente ya no es muy visto en las culturas y por ende en las danzas, ya que en la mayoría que deciden utilizar algo en el rostro es a través de máscaras que forman parte de las artesanías de la cultura, en los casos excepcionales se encuentra la danza de concheros al seguir siendo de origen prehispánico donde siguen pintando el rostro y el cuerpo, así como la danza de xinacates de Puebla, entre otras ,se aprecia desde otro punto el tipo de maquillajes de los bailes regionales con características más estéticas.

Deben ser tomados en cuenta los patrones coreográficos que se llevan a cabo, los cuales podrían ser danzas circulares, lineales, o mixtas etc., así como el significado que llevan, por ejemplo la danza de tejoneros de Veracruz es una danza circular ya que se realiza en sentido de las mancillas del reloj, forman parte de este ritual doce danzantes, todos enmascarados, la mitad de ellos van vestidos de mujer y bailan alrededor de una tela circular que se encuentra agarrada de unas estacas clavadas al piso, dentro de la tela se coloca un tarro forrado de hojas de papatla, el cual tiene un mecanismo compuesto de cuerdas para hacer salir del tarro un pájaro de madera, el cual acciona uno de los ejecutantes.

Por último, se alude al conocimiento corporal, en una danza siempre se debe tener un previo conocimiento del cuerpo, en donde intervienen varios factores, los cuerpos de las personas que viven en las costas no son los mismo que los cuerpos de personas del norte, o del sur, son completamente distintos, su anotomía es diferente, la alimentación tiene mucho que ver.

Conclusiones

De acuerdo con las gráficas que se presentan anteriormente, nos damos cuenta de que para las personas implícitas en el mundo de la danza que han realizado investigación, se requiere de una guía de apoyo para la investigación de la danza folklórica.

Es común que, al buscar información en internet, no se encuentre el significado de los vestuarios, el tipo de

danza, conceptos que aborden la parte ritual, o en ocasiones el ritual no se presenta como parte de la danza. Por esta razón reitero la necesidad de una guía con información, investigaciones y autores que nos dirijan hacia una fundamentación clara de lo que queremos saber, es trabajo de todas las personas inmersa en el mundo de la danza buscar e indagar acerca de lo que ya está, pero que aún no se conoce, plasmarlo en papel y en documentos válidos, hacerlos públicos para que la sociedad los tenga a su alcance y se eviten textos no fundamentados que generen un cierto valor a conceptos erróneos sobre las danzas.

Es interesante poder pensar a la danza desde la danza, pero podría ser vista desde alguna otra característica o elementos que investiguen a la danza desde una perspectiva emocional, podológica, psicológica, de género etc. Me gustaría que estas aportaciones contribuyan de igual manera a la práctica de la danza de aquellas personas que realizan representaciones, que sen realizados desde el conocimiento de la originalidad en donde lo estilizado no está mal en la aplicación escénica mientras se conozca el origen cultural de lo que se va a llevar a cabo, así como en el ámbito de la docencia y los elementos recabados en las investigaciones que son dadas a conocer al público para conocer a fondo las danzas que forman parte de nuestra cultura, proporcionando información clara y concisa de las danza en México. Los datos obtenidos de las entrevistas mostraron elementos que la guía debe incluir, alumnos y alumnas mencionaron que la vestimenta, historia, música, expresión corporal, pasos coreografía, fiestas patronales y los docentes además de las anteriores agregaron simbolismos de las danzas y por otro lado los antropólogos reiteran la necesidad de poner énfasis en el elemento ritual y los simbolismos.

En cuanto a la relación de las guías existentes con la guía metodológica expuesta, se puede comprobar que las encontradas en internet se basan en el instrumento de trabajo “cuerpo” pensando en los movimientos ejecutados con el mismo y lo que desea plantear la guía metodológica es abarcar diversos elementos que tengan implícitos los simbolismos de las danzas, pensando en la danza no solo como un cuerpo sino como una cultura que involucra diversos elementos, significados y significantes que deben ser investigados para el entendimiento y conocimiento de las danzas.

De este modo, se presenta la necesidad de una guía metodológica para la danza folklórica mexicana, que sea utilizada por personas interesadas en la investigación de la Danza.

Referencias bibliográficas

Cortés Palma, Ó. (2016). *Libro: Tecuanes, tlacololeros y tlaminques*. México.

Durand, J. (2014). *La etnografía y el trabajo de campo en las ciencias sociales.* México: Universidad Nacional Autónoma de México.

George P. Murdock, C. S. (1989). *Guía para la clasificación de los datos culturales.* México, D.F, México: Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa.

Moctezuma Zamarrón, J. L. (2007). *Yaquis.* México: Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas.

Neurath, J. (2003). *Huicholes.* México: Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas.

Pintado Cortina, A. P. (2004). *Tarahumaras.* México: Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas. R

Valle Esquivel, J. (2003). *Nahuas de la Huasteca.* México: Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas.

Razonamiento proporcional y micromundos: un estudio en telesecundaria unitaria

Carlos Alberto Lugo Lugo[1], Erika García Torres[1], Santiago Alonso Palmas Pérez[2]
[1]Universidad Autónoma de Querétaro, [2]Universidad Autónoma Metropolitana
Correspondencia: clugo26@alumnos.uaq.mx, erika.garcia@uaq.edu.mx, santiagopalmas@gamil.com

Resumen

El razonamiento proporcional es una idea fundamental en matemáticas, surge inicialmente de manera cualitativa hasta transformarse a un razonamiento cuantitativo, pero durante su desarrollo existen diferentes aproximaciones que irrumpen con su comprensión como o el empleo injustificado de la regla de tres. El objetivo del trabajo es explorar el razonamiento proporcional de alumnos de telesecundaria unitaria a través de micromundos, identificando niveles de razonamiento que permitan caracterizarlo en esta modalidad educativa. A partir de los niveles de razonamiento proporcional propuestos por Karplus (1983) se han diseñado actividades matemáticas en dos micromundos (Excel y Geogebra) empleando las herramientas y el lenguaje de cada uno como medio de exploración para los alumnos. A partir de los argumentos de los alumnos en la resolución de las tareas matemáticas, se puede identificar el nivel en que se encuentran y la implicación que tiene su construcción en colectivo. A partir de los posibles resultados de este estudio se pretende proporcionar a docentes de telesecundaria, algunas características del razonamiento proporcional para que puedan identificar y promover el desarrollo de las habilidades de sus estudiantes.

Palabras clave: Razonamiento proporcional, telesecundaria unitaria, micromundos.

Abstract

Proportional reasoning is a fundamental idea in mathematics, it initially arises in a qualitative way until it transforms into quantitative reasoning, but during its development there are different approaches that break with its understanding such as the unjustified use of the rule of three. The objective of the work is to explore the proportional reasoning of unitary telesecundaria students through microworlds, identifying levels of reasoning that can characterize it in this educational modality. Based on the levels of proportional reasoning proposed by Karplus (1983), mathematics has been designed in two microworlds (Excel and Geogebra) using the tools and language of each one as a medium of exploration for students. From the arguments of the students in the resolution of the mathematical tasks, it is possible to identify the level in which they are and the implication that their collective construction has. According to the possible results of this study, it is intended to provide telesecundaria teachers with some characteristics of proportional reasoning so that they can identify and promote the development of their students' skills.

Keywords: Proportional reasoning, telesecundaria unitaria, microworlds

Introducción

El razonamiento proporcional (en adelante RP) es una de las nociones matemáticas que se trabajan en diferentes niveles educativos y a través de una variedad de acercamientos, es definido como un tipo de pensamiento complejo que implica el reconocimiento de comparaciones como la covariación entre magnitudes y comparaciones múltiples, además está relacionado con los métodos del pensamiento cualitativo y cuantitativo (Heller et al, 1989, en Silvestre y Ponte, 2011).

La noción de proporción empieza a construirse de manera cualitativa y lógica, antes de que se estructure cuantitativamente (Butto et al, 2019), permitiendo que se comprendan situaciones proporcionales bajo términos del tipo "en ambos casos crecen" o "las dos disminuyen".

El RP es trabajado en las aulas desde diferentes aproximaciones, siendo la más común la regla de tres, la cual implica una relación entre dos razones o cuatro valores, en donde se desconoce uno; este procedimiento resulta efectivo para diferentes situaciones en donde está implicada la proporcionalidad (porcentajes, problemas de valor faltante, conversiones de magnitudes, etc.).

Existen diferentes investigaciones (Mochón, 2012; Buforn y Fernández, 2014; Silvestre y Ponte, 2011; Obando, 2018) que reconocen que la regla de tres funciona de manera mecánica en la resolución de situaciones que involucran cuatro valores o dos magnitudes sin importar que sean proporcionales o no, generando así una sobreasimilización sobre dicho proceso, que si bien identifica una relación multiplicativa no siempre tiene una justificación o una razón para aplicarla.

Dentro de las diferentes opciones para atender situaciones proporcionales se ha reportado que los estudiantes acuden con mayor agrado al análisis de tipo cualitativo que de tipo cuantitativo (Sánchez, 2013), y algunos otros casos se establece una relación aditiva que no modela ni resuelve la situación.

Respecto a los diferentes procedimientos y estrategias de resolución para situaciones que implican el RP, existen cuantiosos estudios, de los cuales se han identificado los estudios de Karplus (1983) y Lesh (1988) como pioneros. Para este estudio se retoma una categorización propuesta por Karplus (1983) obtenida a partir de las respuestas de alumnos de diferentes grados al problema "Mr. Tall/Mr. Short", en donde encontró similitudes entre los diferentes argumentos, estableciendo así cinco niveles (Tabla 1):

Niveles de razonamiento proporcional	
Nivel	Descripción
Incompleto	Se identifica la relación entre dos magnitudes, pero se emplea alguna operación que no lleva a una solución adecuada, ya sea porque la operación no es la correcta o el algoritmo fue mal desarrollado.
Cualitativo	Se comparan las cuatro cantidades dadas, usando los términos más, menos o términos equivalentes. Se puede identificar una situación de proporcionalidad cuando ésta aumenta o disminuye, pero aun no logra emplear un proceso cuantitativo.
Aditivo	Estrategia incorrecta que hace uso de diferencias en parte o todo el razonamiento en vez de una relación multiplicativa.
Pre-proporcional	Uso de factores multiplicativos para relacionar cantidades. Esta categoría está muy cercana al razonamiento proporcional, pero aún no se logra establecer la igualdad de razones. El razonamiento parte del reconocimiento del valor unitario.
Proporcional	Uso directo de razones y su equivalencia o no equivalencia. Logra identificar las situaciones proporcionales de las que no la son, se identifican términos como razón y constante de proporcionalidad

Figura 1. Niveles de razonamiento proporcional, propuesta de Karplus (1983)

A partir de esta categorización se busca comprender el nivel de RP que tienen los alumnos de telesecundaria unitaria con el uso de dos recursos tecnológicos bajo la conceptualización y las características de un micromundo.

Un micromundo se define como un ambiente computacional de incorporación de un conjunto coherente de conocimientos científicos y de relaciones diseñadas de forma que, con un conjunto adecuado de tareas y con principios pedagógicos, estudiantes pueden participar en la exploración y construcción de actividades ricas en generación de significados (Healy y Kynigos, 2009, cit. Rodigues y Stivam, 2012).

Históricamente los micromundos se distinguían por el uso de lenguajes de programación y diseño de ambientes de exploración desde su creación hasta su interacción. Con el paso del tiempo, se utiliza el término micromundo para denominar módulos interactivos ya sean independientes (stand-alone software) o creados dentro de otro paquete que funciona como plataforma (Cabri, Logo Micromundos, Excel, etc.) donde se explora una idea manipulando con los elementos provistos por el diseñador para un fin en específico, de forma que, que la tendencia actual es que el usuario únicamente explore utilizando las herramientas dadas por el micromundo y no en la modificación de estos (Sacristán, 2003).

De manera más específica un micromundo matemático es un lugar para familiarizarse con un conjunto de ideas, de situaciones problemáticas o de actividades, en donde el estudiante y el maestro pueden probar ideas dentro de un tema de interés; además, la meta es la construcción de significado y de relaciones que sirvan como modelo para un sistema formal, dando oportunidades para crear modelos mentales que reflejan la estructura y composición de los sistemas formales (Weir, 1987, citado en Sacristán, 2003), es decir, a través de la manipulación que permiten los micromundos los alumnos son capaces de probar hipótesis o procedimientos que los lleven a una formalización del aprendizaje.

Para que un ambiente computacional se considere micromundo debe de contener cuatro componentes (Hoyles y Noss, 1987)

- *El componente del estudiante*. Entendimientos y concepciones parciales existentes que el alumno trae consigo a la situación didáctica
- *El componente técnico*. Software o lenguaje de programación, y un conjunto de herramientas que proveen un sistema de representaciones para la comprensión de una estructura matemática o campo conceptual
- *El componente pedagógico.* Estructura de la investigación y exploración de los conceptos plasmados en el componente técnico (los aspectos físicos puede ser el docente, libro, cartel, etc.)
- *El componente contextual.* Entorno social de las actividades

Otra parte central del trabajo es el nivel educativo que se ha elegido para analizar el RP a partir de la interacción con un micromundo: la secundaria. En este nivel se formalizan las nociones que se han trabajado en etapas anteriores (educación primaria) tales como porcentajes y conversión de magnitudes. En secundaria surgen términos como proporcionalidad directa e inversa, constante, razón, etc.

Dentro de las modalidades presentes en la secundaria, se ha considerado la telesecundaria, la cual atiende, con apoyo de un maestro generalista por grupo (SEP, 2017).

El sistema de la telesecundaria se ve traspasado por la modalidad de escuelas unitarias o conocidas como multigrado, esta modalidad se presenta en el sistema de educación básica en México, desde preescolar hasta el bachillerato. La escuela multigrado es aquella donde los docentes atienden a alumnos de diversos grados en una misma aula. Estas escuelas surgen con la necesidad de atender alumnos que viven en zonas donde no ha sido posible establecer una secundaria

general o técnica por diferentes condiciones (distancia, contexto rural, número de población, etc.).

En secundaria sólo las escuelas para migrantes y las telesecundarias pueden ser multigrado (Real, 2019), debido a que, la telesecundaria no cuenta con maestros para las diferentes asignaturas, sino que un maestro es el responsable de todas las materias; por lo tanto, una telesecundaria multigrado o unitaria (el término que mejor la define) es donde el docente además de ser responsable de todas las asignaturas, también es responsable de los tres grados.

Desde su origen, las escuelas multigrado han sido observadas como incompletas, transitorias, provisionales o compensatorias; incluso como un auxiliar en la cobertura educativa en las zonas rurales, si bien es reconocida su existencia, desde las políticas educativas, pareciese que se ha apostado más por su subsistencia que por su consolidación (Schmelkes & Águila, 2019).

A nivel nacional, en el ciclo escolar 2016-2017, existía registro de 2852 escuelas telesecundarias públicas que eran unitarias o bidocentes, lo que equivale a 20.6% del total de las telesecundarias existentes (Schmelkes & Águila, 2019), si bien, no es un porcentaje mayor a la mitad de las telesecundarias, el realizar estudios en esta modalidad ayuda a visualizar la educación desde un panorama alejado a lo que propone el currículo segmentado por grados escolares, otorgando la posibilidad de visualizar qué sucede en una aula donde predomina la diversidad, identificando la combinación de experiencias, conocimientos, actitudes y formas de pensar, pueden suscitar un aprendizaje colectivo y desarrollar su capacidad de argumentación y discusión entre pares (Bustos, 2013).

Otra de las razones para considerar este sistema, es que existe una invisibilidad de la escuela multigrado en el ámbito de la investigación educativa (Arteaga, 2011), además, los estudios son relativamente recientes, escasos y de corte más casual (Galván, 2017), por estas razones, seguir indagando en educación multigrado, puede resultar de gran apoyo para los docentes que trabajan en los centros educativos, otorgando un panorama sobre el tratamiento del RP.

A partir de describir el RP, la noción de micromundos y la telesecundaria unitaria este estudio tiene como objetivo explorar niveles de razonamiento proporcional en alumnos de telesecundaria unitaria a través del uso de micromundos.

Metodología

El presente estudio es de tipo cualitativo con alcance exploratorio. El enfoque cualitativo permite identificar y describir los niveles de RP en los alumnos. El alcance es exploratorio debido a que no hay reportes previos respecto al uso de micromundos como medio para explorar el RP en alumnos de telesecundaria unitaria. La metodología se divide en dos fases, en este reporte se muestran resultados de la primera fase.

La población de estudio está integrada por 18 alumnos de una telesecundaria unitaria ubicada en un contexto rural en el municipio de Apaseo el Alto, Guanajuato. De los 18 alumnos cinco pertenecen a primer grado, ocho a segundo y cinco a tercer año. Se cuenta con el consentimiento informado de los participantes otorgado por su padres o tutores y su asentimiento antes de iniciar el estudio.

Se realizó una implementación de tareas matemáticas que consistieron en problemas diseñados en dos micromundos diferentes (GeoGebra y Excel) basadas en la categorización de RP de Karplus.

Excel es una hoja de cálculo desarrollada por Microsoft, bajo un lenguaje de programación macro llamado Visual Basic. Algunas de sus funciones son crear y manipular cálculos, gráficas, tablas calculares, bases de datos, etc. Debido a dichas funciones seleccionó como un recurso que permite la manipulación a través de la creación de tablas, de la ejecución de fórmulas básicas (adición, sustracción, producto y cociente) y algunos otros elementos propios del lenguaje como el desplazar celdas o definir valores.

En el caso de Geogebra, es un software dinámico para la enseñanza y aprendizaje de las matemáticas en diferentes niveles educativos, suele ser uno de los ejemplos más claros de un micromundo matemático debido a que su manipulación permite crear situaciones en donde los sujetos pueden probar hipótesis o procedimientos, e inclusive las herramientas con las que cuenta permite visualizar modelos en movimiento y analizar diferentes versiones de una sola representación. También, Geogebra permite analizar el RP en otro tipo de situaciones, específicamente en el ámbito geométrico.

El diseño en ambos softwares consistió en dos actividades matemáticas, en la primera se plantea una exploración controlada por el investigador en donde los participantes conocen y se involucran con las herramientas y características de cada software. En la segunda se plantea una serie de actividades para el explorar el RP, considerando el dominio que han adquirido respecto al recurso y basándose en las características de manipulación que otorga el software.

La aplicación se llevó a cabo con todo el grupo distribuido en equipos de trabajo, cada uno tenía a su disposición un equipo de cómputo en donde resolvieron las actividades. Se realizaron registros de audio y video para la toma de datos.

Con la metodología empleada se pudieron identificar aspectos relacionados con el RP que se muestran en la sección de resultado. Esto dio paso al diseño de la segunda fase, momento actual de la investigación.

Resultados

Se presentan resultados de la primera fase del estudio, los cuales en conjunto aportan para un rediseño de los instrumentos que se implementarán en la segunda fase..

Como se mencionó las actividades matemáticas propiciaban la exploración por parte de los participantes sobre el RP, a continuación se presentan los resultados del RP de los alumnos, de acuerdo con los niveles teóricos propuestos.

Nivel incompleto. A partir de un problema presentando en Geogebra que solicitaba identificar la relación a escala entre dos triángulos, un grupo de participantes evidenció un nivel incompleto al identificar los factores multiplicativos, pero establecen una escala de forma errónea.

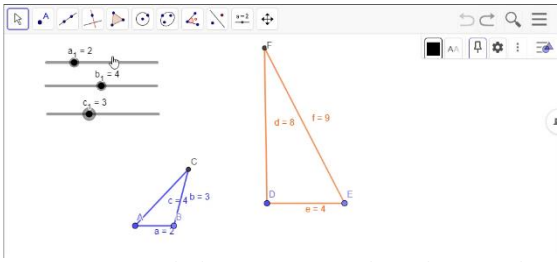


Figura 2. Actividad que muestra el nivel incompleto

A partir de un fragmento de transcripción, se pudieron identificar las decisiones tomadas por parte de los alumnos al responder esta actividad (Ao: alumno 1, Ao2: Alumno 2, In: investigador)

Ao: "está dividido entre 2"
In: "Ok o multiplicado por dos, ¿para 8 y 4?"
Ao: "2"
In: "y, ¿qué pasa para 3 y 9?"
Ao: "Seria de 3 por 3"
In: "Entonces chequen que pasa ahí con la escala"
(…)
Ao: "Es que mira a es igual a 2 y aquí es igual a 4, c es igual a 4, d es igual a 8, o sea hasta esos dos está dividido"
Ao2: "por 2"
Ao: "el problema es el tres, que no está divido por 2 es por tres"
Ao2: "entonces, ¿es 2:3?"
Ao: "se podría decir… ¿si no?"
Ao2: "Si porque esta y esta es por dos y esta es por tres"
Ao: "yo digo entonces 2:3"

Al reconocer que había una relación de 2:1 entre la longitud de dos lados correspondientes y en otro caso de 3:1, establecieron una combinación entre ambas de 2:3 ubicándolos en el nivel inferior de la clasificación del RP.

Nivel cualitativo. De acuerdo a otro problema diseñado en GeoGebra en donde se establecían dos triángulos relacionados por medio de una razón de ½, se pudo concluir argumentos cualitativos por parte de un equipo, en donde solo describen la relación

multiplicativa bajo argumentos cualitativos "mientras más deslicemos más aumenta", como se evidencia a continuación:

Ao: "¿Qué sucede?"
Ao2: "Las medidas aumentan"
In: "¿En cuál van?"
Ao: "En la 3"
In: "¿Qué sucede con las medidas del triángulo?"
Ao2: "Que en 2 disminuye, y en las demás aumenta"

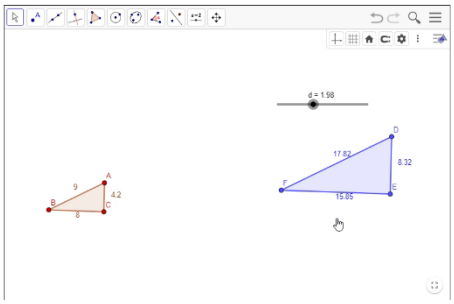


Figura 3. Actividad que muestra el nivel cualitativo

Una diferencia entre el nivel incompleto y el cualitativo, es que el segundo no se considera incorrecto, debido a que bajo un razonamiento de tipo cualitativo el tipo de respuestas similares a la que se muestra cumple con lo que se puede apreciar en la actividad, mientras que en el primer caso el razonamiento no llega a ser correcto.

Nivel Aditivo. Una de las aproximaciones más comunes en el tratamiento de situaciones proporcionales es la relación aditiva y se observó que a partir de una de las actividades propuestas en Excel, la cual consistía en un problema de valor faltante con el manejo de distancias al cual los participantes de un equipo, respondieron como se muestra en la figura 5.

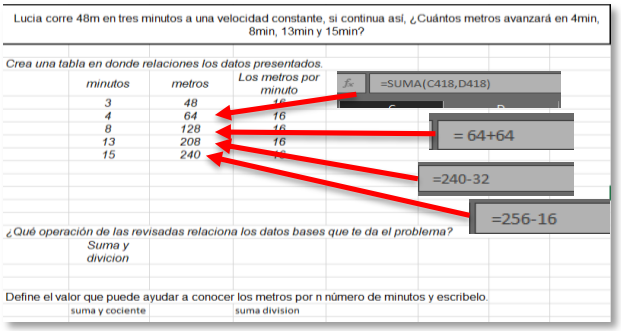


Figura 4. Actividad que muestra el nivel aditivo

A pesar de que se reconoce el valor unitario, no se identifica como el valor que determina los valores de la magnitud dependiente y se recurre a la relación aditiva, por ejemplo, determinaron que la constante que les permitía conocer los demás valores era 16, pero al no establecer una relación multiplicativa establecieron diferentes procedimientos referentes a la adición y sustracción que les permitía conocer los demás valores, tal como 64 metros en 4 minutos resultante de 16+16 para el cálculo de dos minutos y después nuevamente se reitera.

Al igual que el nivel incompleto, la relación aditiva se considera una aproximación incorrecta para la solución de situaciones que involucran el RP, ya que las relaciones establecidas no respetan las condiciones de la situación propuesta, sobre todo en situaciones geométricas.

Nivel pre-proporcional. Es importante mencionar que a partir de este nivel comienzan a mostrarse RP más sofisticados o mejores justificados, por ejemplo, en la misma actividad en donde otro de los equipos mostró un nivel aditivo, otros participantes mostraron mayor claridad en sus procedimientos, tal como se muestra en el fragmento de transcripción:

Ao: "Pero, ¿Por qué 48 entre 3?"
Ao 2: "Porque mira 48 entre 3, 3 minutos son en 48 metros, o sea 48 entre 3, 16 minutos, digo 16 metros por minuto"
(…)
Ao: "A ver, entonces 48 entre 3, y ya luego 4 por 16"

Puede ser que su argumento no sea tan preciso, pero logran identificar el valor unitario, que funciona para encontrar los valores requeridos, utilizando las operaciones de multiplicar y dividir. A partir de hallazgos como este se podría considerar un nivel proporcional en el momento en el que los participantes puedan identificar la constante o establecer la igualdad de razones, pero en este primer acercamiento aún no se ha hecho presente este nivel.

Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos en esta primera fase de la investigación, el análisis de las respuestas de los alumnos y los argumentos que justifican sus

procedimientos, podemos establecer algunas conclusiones.

- *Relación entre niveles*. Los niveles de RP no son mutuamente excluyentes, por lo que es importante reconocer que las fronteras entre los niveles pueden ser difusas, y que dentro de cada una es posible hacer distinciones que podrían llevar a establecer pseudo-categorías, por tanto, ubicar a un grupo de participantes en un nivel, no implica que en algún otro momento no puedan razonar de una forma distinta al nivel que ha sido registrado.
- *Localidad*. Un alumno puede razonar de manera diferente de acuerdo al tipo de problema, recurso o área implicada. Durante la revisión de los instrumentos hemos observada que de acuerdo con el recurso, el tipo de problema y las preguntas planteadas, el razonamiento puede variar, mientras que en alguna actividad se puede mostrar una aproximación incorrecta en otra puede haber un razonamiento sofisticado.
- *Mayor movilidad de conocimientos en Geogebra que en Excel*. A partir de las actividades diseñadas y la potencialidad de cada software, se ha podido identificar que hay mayor interés por parte de los participantes en GeoGebra, mostrando mayor diversidad de procedimientos, postulando más hipótesis y generando mayor dialogo al interior de cada equipo.

A partir del punto anterior se realizó una revisión detallada respecto a los softwares seleccionados desde la teoría de los micromundos, concluyendo que de acuerdo a los componentes y propiedades que deben de cumplir Excel está un poco alejado de estos propósitos, por ello se ha tomado la decisión de continuar en la segunda fase de la investigación solamente con GeoGebra.

Al igual que con los softwares, se analizaron las actividades aplicadas, identificando que es posible obtener datos más cercanos a el RP con un diseño que este más enfocado en la exploración y la prueba de diferentes ideas y no solo centrarse en el diseño pregunta-respuesta.

A partir de los resultados de la primera fase, actualmente nos encontramos en el rediseño de actividades para una segunda aplicación de la metodología. Una vez obtenidos los resultados de la segunda fase se pretende con ellos proporcionar a docentes de telesecundaria características del razonamiento proporcional para que sean capaces de identificar y promover el desarrollo de las habilidades de sus estudiantes. Además de que puedan seleccionar y elaborar tareas matemáticas adecuadas que permitan la introducción al razonamiento desde diferentes aproximaciones y poder romper con la práctica generalizada en donde se asume que la regla de tres en una de las únicas maneras de aproximarse a las situaciones proporcionales.

Referencias

Arteaga, P. (2011). Los saberes docentes de maestros de primaria con grupos multigrado. Consejo Mexicano de Investigación Educativa.

Buforn, Á., & Fernández, C. (2013). Razonamiento proporcional: conocimiento especializado de contenido matemático en estudiantes para maestro de primaria. Investigación en Educación Matemática XVII, 185-192.

Bustos, A. (2013). El espacio y el tiempo en la escuela rural: algunas consideraciones sobre la didáctica multigrado. Delegación Territorial de Educación de Granada, 31-41.

Butto, C., Calderón, J. D., & Bazán, A. (2019). El razonamiento proporcional en educación básica. Horizontes pedagógicos, 1-14.

Flores, R., & Rebollar, A. (2008). La telesecundaria, ante la sociedad del conocimiento. Revista Iberoamericana de Educación.

Galván, L. (2017). Diversidad y prioridades educativas en escuelas multigrado. Estudio de caso en México. Sinética.

Hoyles, C. y Noss R. (1987). "Synthesizing mathematical conceptions and their formalization through the construction of a Logo-based school mathematics curriculum, International Journal of Mathematical Education in Science and Technology, 581-595

Karplus, R., Pulos, S. y Stage, E. (1983). “Proportional reasoning of early adolescents”. In: R. Lesh and M. Landau (Eds.), Acquisition of mathematics concepts and processes (pp. 45-90). New York: Academic Press.

Obando, G. (2018). Regla de tres simple directa: avatares de un algoritmo. Cuadernos de Investigación y Formación en Educación Matemática, 113-124.

Real, A. S. (2019). Escuelas multigrado en México: en busca de una nueva identidad. Revista Latinoamericana de Estudios Educativos, 49-66.

Rodrigues, A. P., & Stivam, E. P. (2012). Microworld design with GeoGebra software. Conferencia Latinoamericana de GeoGebra (págs. 184-194). Sao Paulo: Celina A.

Sacristán, A. I. (2003). La importancia de los micromundos computacionales como entornos didácticos estructurados para fomentar e investigar el aprendizaje matemático. Conferencia plenaria en el 3er Congreso Internacional de Enseñanza de la Matemática Asistida por Computadora (CIEMAC). Catargo: Instituto Tecnológico de Costa Rica.

Sánchez, E. (2013). Razones, proporciones y proporcionalidad en una situación de reparto: una mirada desde la teoría antropológica de lo didáctico. Latinoamericana de Investigación en Matemática Educativa, 65-97.

Schmelkes, S., & Águila, G. (2019). La educación multigrado en México. México: INEE.

SEP. (2017). Aprendizajes Clave, para la educación integral. México: SEP.

Silvestre, A. I., & Ponte, J. P. (2011). Una experiencia de enseñanza dirigida al desarrollo del razonamiento proporcional. *Educación y Pedagogía*, 137-158.

¿Se vale ironizar si eres niña? Un estudio electrofisiológico.

Brenda Luna Granados[1]*, Karina Hess Zimmermann[1], Lucero Díaz Calzada[1] y Gloria Nélida Avecilla Ramírez[1]
*lunaghp@gmail.com
[1]Facultad de Psicología y Educación UAQ

Resumen
La ironía es un fenómeno lingüístico que se caracteriza por ser una discrepancia entre el significado de las palabras que se dicen y el significado intencional del hablante (Kalbermatten, 2006; 2010). En los últimos años se ha estudiado a nivel cerebral por medio de la técnica de los Potenciales Relacionados a Eventos (PRE), asociando el procesamiento de este fenómeno lingüístico al componente P600, dado que implica un esfuerzo de interpretación. Esta interpretación requiere de la integración de diferentes fuentes de información (Filippova, 2014). Se puede considerar que una de ellas es el emisor del mensaje irónico o *ironista.* Investigaciones recientes sugieren que el género del ironista tiene relación con la interpretación irónica que otorgan niños y adolescentes a las declaraciones irónicas (Salinas, 2021). Por esta razón, el presente estudio tuvo como objetivo determinar si el género de los personajes de diferentes historias irónicas influye en el procesamiento de la ironía en niños de 9 a 12 años de edad tomando como referencia el comportamiento del componente P600. En el estudio participaron 15 niños y niñas mexicanos entre 9 y 12 años de edad. A cada uno de ellos se le hizo un registro de la actividad eléctrica cerebral mientras leía historias irónicas y literales con personajes masculinos o femeninos que marcaban cada condición de análisis. Los resultados preliminares muestran un efecto P600 en respuesta a la ironía durante la palabra final de la historia y se aprecian diferencias entre los PRE evocados por historias con personajes femeninos y masculinos.

Palabras clave: Ironía, género, neurolingüística, psicolingüística, desarrollo del lenguaje tardío.

Abstract
Irony is a linguistic phenomenon characterized as a discrepancy between the meaning of the words spoken and the intentional meaning of the speaker (Kalbermatten, 2006; 2010). In recent years it has been studied at the brain level by means of the Event-Related Potentials (ERP) technique, associating the processing of this linguistic phenomenon to the P600 component, given that it involves an interpretation effort. This interpretation requires the integration of different sources of information (Filippova, 2014). One of them can be considered to be the sender of the ironic or ironistic message. Recent research suggests that the gender of the ironist is related to the ironic interpretation given by children and adolescents to ironic statements (Salinas, 2021). For this reason, the present study aimed to determine whether the gender of the characters in different ironic stories influences the processing of irony in children between 9 and 12 years of age, taking as a reference the behavior of the P600 component. 15 Mexican boys and girls between 9 and 12 years of age participated in the study. Each of them underwent a recording of brain electrical activity while reading ironic and literal stories with male or female characters that marked each analysis condition. Preliminary results show a P600 effect in response to irony during the final word of the story and differences between ERPs evoked by stories with female and male characters.

Keywords: Irony, gender, neurolinguistics, psycholinguistics, late language development.

Introducción
La ironía forma parte de las figuras del lenguaje no literal las cuales tienen suma importancia social y académica (Calderón et al. 2012). Autores como Gibbs (2000) mencionan que la ironía es un arma ponderosa del haba cotidiana porque nos permite expresar el sentir respecto a las situaciones que se nos presentan tomando a consideración la situación en la que nos encontramos. Aunado a esto se puede

considerar al lenguaje no literal como un elemento que tiene lugar en el éxito académico por las reflexiones en torno al lenguaje y el uso de este tipo de lenguaje para lo comprensión de los conceptos académicos (Milosky, 1994).

Lucariello (1994) plantea la necesidad de distinguir entre dos tipos de ironía, la situacional y la verbal. La ironía situacional se refiere a cuando una situación o evento se contrapone a lo que se esperaba que sucediera. Por ejemplo, una estación de policía que es exitosamente asaltada sería una situación irónica. Por otro lado, la ironía verbal se conforma a partir de elementos lingüísticos. Volviendo a la situación en que la estación de policía es asaltada una mujer que sabe lo ocurrido comenta *que buenos policías tenemos*. En el presente estudio se hará referencia únicamente a la ironía verbal.

La ironía verbal es un fenómeno del desarrollo lingüístico tardío (Nippold, 2006) que se caracteriza por ser una discrepancia entre el significado de las palabras que se dicen y el significado intencional del hablante (Kalbermatten, 2006, 2010). Para su comprensión requiere de la integración de aspectos lingüísticos, sociales, cognitivos y contextuales (Filippova, 2014). Estos últimos incluyen elementos lingüísticos y/o no lingüísticos que envuelven a la expresión irónica (Asher & Simpson, 1994), como lo es el hablante o ironista.

Una característica importante del ironista es el género que se le atribuye. Cabe señalar que el género es una construcción mediada por diversos factores como son la sociedad, la cultura y la educación (Jiménez, 2010). Recientemente una investigación realizada por Salinas (2021) encontró diferencias significativas en la interpretación de enunciados irónicos relacionados al género del ironista. Si la declaración irónica era dicha de un hombre hacia un hombre, se interpretaba como irónica en mayor medida que si era dicha de una mujer a otra mujer. Sin embargo, no se encontró ninguna diferencia relacionada con el género de los participantes.

Es importante señalar que el lenguaje es un reflejo del orden social (Rivas, 1997). El ser humano se comporta y habla como se espera que lo haga. Las expectativas sobre el comportamiento de una mujer se reflejan en su uso del lenguaje (Lakoff, 1975). Así como se espera que un hombre o una mujer se vistan de cierta manera, también se espera que sigan modelos de habla preestablecidos (García, 2003). Estas expectativas pueden influir en el uso que una mujer o un hombre hagan sobre figuras lingüísticas como la ironía. Es por lo anterior que que el género del hablante se muestra como un factor interesante para estudiar dentro del procesamiento de este fenómeno lingüístico.

Con respecto al procesamiento, en los últimos años se han realizado estudios por medio de los Potenciales Relacionados a Eventos (PRE) que son cambios de voltaje relacionados directamente con la respuesta cerebral del estímulo (Coles & Rugg, 1995). Utilizando los PRE se han podido caracterizar ciertos picos en la actividad eléctrica cerebral que aparecen en ciertas ventanas de tiempo especificas a los cuales se les llama *componentes* (Durand-Rivera et al., 2004).

Bajo esta técnica se han efectuado estudios sobre el procesamiento de la ironía en adultos, como lo es el de Spotorno et al. (2013) cuyos resultados permiten asociar el componente P600 a un reanálisis o esfuerzo de interpretación de la ironía. Este componente es un pico en la actividad eléctrica con polaridad positiva que aparece entre los 450 y 750 milisegundos después de la presentación del estímulo.

De manera más reciente, se ha utilizado esta misma técnica para explorar el procesamiento de la ironía en niños, niñas y adolescentes. Díaz (2018) realizó un estudio con participantes de 12 y 15 años de edad en el que encontró que la amplitud del componente P600 era significativamente mayor en la comprensión de enunciados irónicos que en la comprensión de enunciados literales. Además, que la amplitud para los adolescentes de 15 años fue significativamente mayor que para los de 12. Esto sugiere, según la autora, la posibilidad que los niños de 15 estuvieran tomando más elementos a consideración durante su análisis y por lo tanto requería de mayor esfuerzo de interpretación.

Por su parte, Corona (2019), realizó un estudio con dos grupos de niños de 9 años, uno de ellos comprendía la ironía y el otro no. En este caso el efecto P600 obtuvo resultados significativos dentro del grupo que no comprendía la ironía. El autor lo asocia con la posibilidad de que al grupo que no comprendía a ironía le costaba más trabajo la interpretación.

Ruíz (2019) llevó a cabo un estudio similar con niños de 9 años, pero en esta ocasión todos comprendían la ironía. El gran aporte de esta autora es que realizó un análisis en búsqueda del P600 en la *palabra crítica* que es la palabra de la declaración irónica que contrasta directamente con el contexto y en la *palabra final*, que es la última palabra de a declaración irónica. Ella encontró que los niños de 9 años presentaban el efecto P600 en relación a la palabra final. Es decir, la interpretación de estos niños se estaba efectuando en un espacio de tiempo posterior a los presentados en los adultos con Spotorno et al. (2013) o en los adolescentes con Díaz (2018).

Entonces, tomando en cuenta todo el recorrido por los estudios sobre el lenguaje, la influencia del género y los resultados obtenidos con la técnica del PRE que esta investigación tiene como objetivo:

- Determinar si el género de los personajes de las historias influye en el procesamiento de la ironía por medio del comportamiento del componente P600

Las hipótesis van de la mano con los objetivos haciendo alusión a que el género de los personajes sí tiene una influencia en el procesamiento de la ironía.

Metodología

Participantes

En el estudio se tomaron registros electroencefalográficos de 25 niños y niñas hablantes nativos de español. De esa muestra inicial se descartaron 10 por incumplimiento de los criterios de inclusión y por dificultades encontradas en la edición de los registros. La muestra final consistió en 15 niños y niñas entre 9 y 12 años de edad.

Instrumento

Se hizo una adaptación de las historias irónicas presentadas en el estudio de Díaz (2018). Las historias están conformadas por dos partes principales, la primera es una *trama* que desemboca en un contexto positivo o negativo dependiendo de la condición de la historia. En la trama se describe la secuencia de acciones que llevan a cabo los personajes. En las historias con condición irónica las acciones se contraponen a las expectativas de alguno de los personajes. En las historias con condición no irónica las acciones concuerdan con las expectativas de los personajes. En esta parte es dónde se presentan los nombres de los personajes de la historia que darán la condición de *género,* por ejemplo:

René y Gustavo = condición de género masculino
Abigaíl y Emma = condición de género femenino

Después de que se presenta la trama de la historia, uno de los personajes expresa la *oración crítica* que es la segunda parte principal de las historias. En dónde uno de los personajes hace un comentario que manifiesta un juicio opuesto al contexto (si se trata de la condición irónica), o un juicio que concuerda con el contexto (si se trata de la condición no irónica). En esta parte de la historia se encuentra, la *palabra crítica* y la *palabra final*. La *palabra crítica* es el adjetivo o adverbio que contrasta o concuerda directamente con el contexto dependiendo de la condición de la historia, mientras que *palabra final* es la última palabra de la declaración. Por ejemplo:

"Qué *divertida* película *escogiste*"

En este ejemplo, la palabra *divertida* es el adjetivo que contrasta directamente con el contexto de la historia en las historias irónicas y que concuerda con el contexto de la historia en las que son literales. Por otro lado, *escogiste* corresponde a la última palabra de la declaración que también será un foco de análisis.

El instrumento consiste en dos listas con 80 historias distintas cada una. Cada lista contiene 20 historias irónicas presentadas con personajes femeninos, 20 historias irónicas presentadas con personajes masculinos, 20 historias no irónicas presentadas con

personajes femeninos y 20 historias no irónicas con personajes masculinos. Las historias se dividieron en las dos listas de tal manera que las historias presentadas como irónicas en una de ellas aparecieran como literales en la otra lista. De esta forma se evitó que los niños leyeran la misma trama dos veces.

Paradigma experimental

A cada participante se le colocó una gorra *ElectroCap* que estaba conectada al sistema de registro de electroencefalogramas. Mientras los participantes estaban sentados en una silla frente al monitor de la computadora se les mostraba en la pantalla cada una de las historias del instrumento.

Primero aparecía una cruz durante 500 milisegundos, seguida de un intervalo de 200 milisegundos. Después se mostraba cada uno de los enunciados de la trama durante 2500 milisegundos con un intervalo de 200 milisegundos entre cada uno. Más adelante se presentaban las palabras de la *oración crítica* con una duración de 500 milisegundos en el monitor y 200 milisegundos de intervalo entre cada palabra. Por último, aparecían durante 200 milisegundos dos signos de interrogación (¿?) que indicaba a los participantes el momento de presionar la barra espaciadora del teclado que permitía el inicio de la siguiente historia.

Técnica de Registro

El registro de la actividad eléctrica cerebral se realizó por medio de sistema *Neuronic Psicofisiología* colocando una gorra *ElectroCap* que estaba equipada con electrodos del sistema internacional de registro 10-20: FP1, FP2, F3, F4, C3, C4, P3, P4, O1, O2, F7, F8, T3, T4, T5, T6, FZ, CZ, PZ. FP es el área prefrontal, F frontales, C centrales, P parietales, T temporales y O occipitales. Las referencias fueron los lóbulos auriculares con electrodos cortocircuitados. Los datos se filtraron con un filtro pasa-altas de 0.1Hz y un filtro pasa-bajas de 50Hz.

Resultados

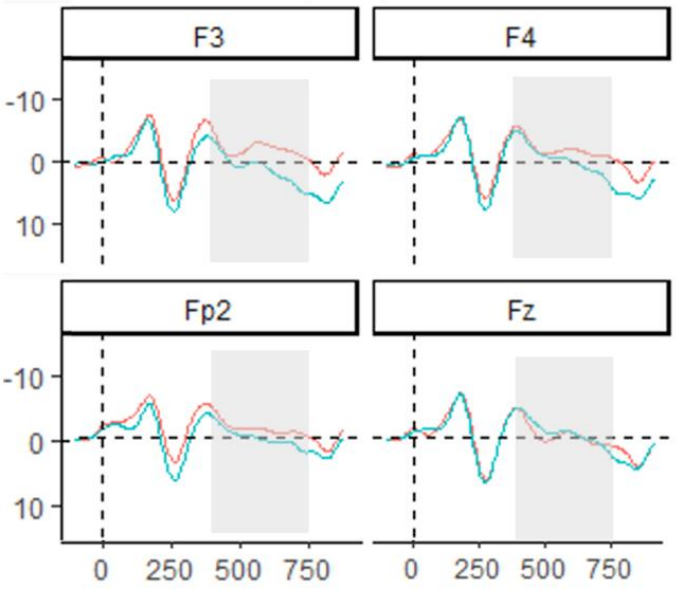
A partir de los EEG de cada uno de los participantes del estudio se obtuvieron los respectivos PRE. Después, se promediaron todos los PRE individuales para obtener los primeros resultados que se muestran más adelante.

En todas las figuras, los gráficos se muestran con la positividad hacia abajo. El recuadro gris señala la ventana de tiempo de los 450 a los 700 milisegundos que es dónde se puede apreciar el componente P600. Las líneas azules corresponden al procesamiento de las historias no irónicas y las líneas rojas a las historias irónicas. Para poder decir que hay un efecto P600, la línea roja (ironía) debería mostrar un voltaje más positivo (hacia abajo en la gráfica) que la línea azul (no ironía) de manera sostenida por unos 100 a 200 milisegundos.

En la Figura 1 pueden apreciarse los resultados para la palabra crítica en historias con personajes femeninos. Se puede observar que no hay un efecto P600 para esta condición.

Figura 1

Palabra crítica en historias con personajes femeninos



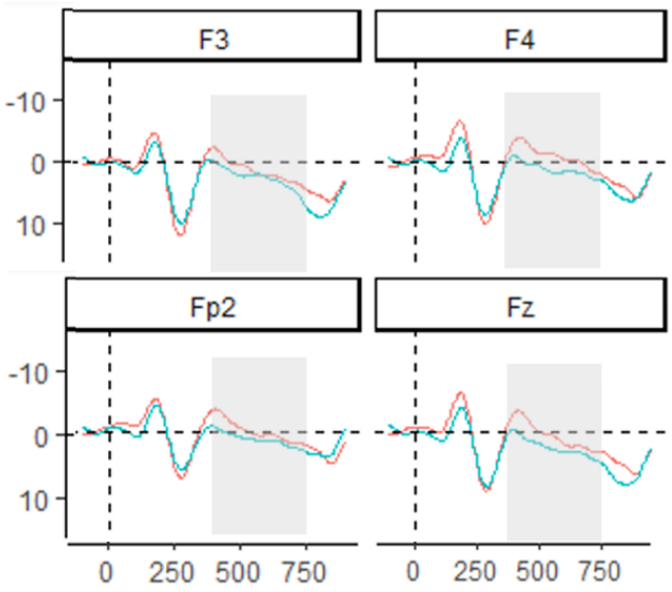
Nota: PRE evocados por la palabra crítica en declaraciones irónicas (rojo) y no irónicas (azul). Solamente se muestran algunos electrodos frontales (F3, F4, Fp2 y Fz). No se observa efecto P600. Fuente: elaboración propia.

En la Figura 2 se pueden observar los resultados obtenidos para la palabra crítica, pero en esta ocasión

en historias con personajes masculinos. Tampoco se puede apreciar un efecto P600.

Figura 2

Palabra crítica en historias con personajes masculinos

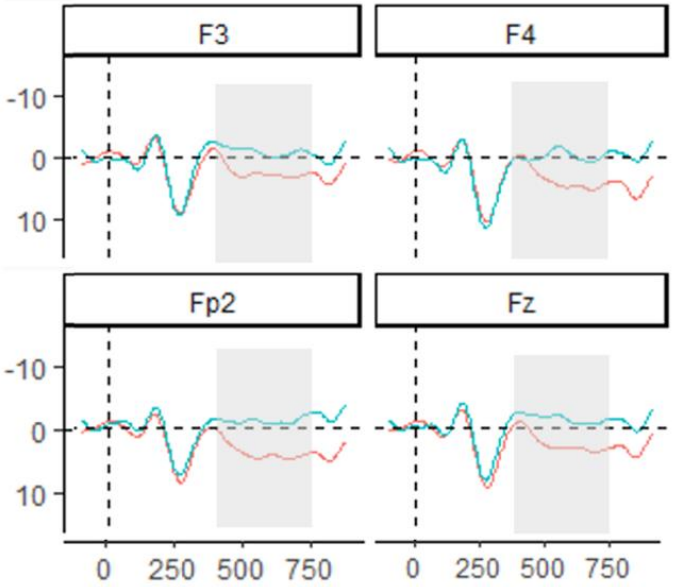


Nota: PRE evocados por la palabra crítica en declaraciones irónicas (rojo) y no irónicas (azul). Solamente se muestran algunos electrodos frontales (F3, F4, Fp2 y Fz). No se observa efecto P600. Fuente: elaboración propia.

En la Figura 3 se muestran los resultados del análisis realizado en la palabra final de la oración crítica para las historias con personajes femeninos. En esta ocasión se puede apreciar claramente el pico en la actividad eléctrica del procesamiento de las declaraciones irónicas a diferencia de las literales. Es decir, en esta condición sí existe un efecto P600.

Figura 3

Palabra final en historias con personajes femeninos

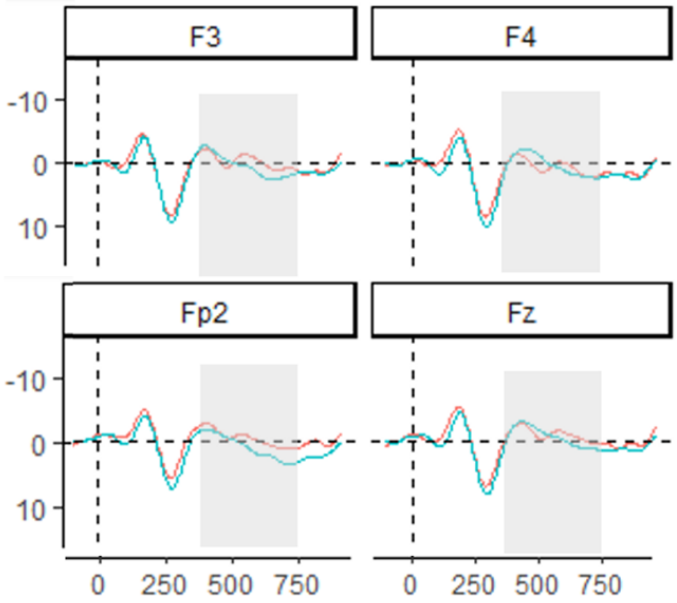


Nota: PRE evocados por la palabra final en declaraciones irónicas (rojo) y no irónicas (azul). Solamente se muestran algunos electrodos frontales (F3, F4, Fp2 y Fz). Se observa el efecto P600. Fuente: elaboración propia.

Para el último gráfico presente en la Figura 4. Se muestran los resultados para la palabra final en las historias con personajes masculinos. En este análisis no se presentó el efecto P600.

Figura 4

Palabra final en historias con personajes masculinos



Nota: PRE evocados por la palabra final en declaraciones irónicas (rojo) y no irónicas (azul). Solamente se muestran algunos electrodos frontales (F3, F4, Fp2 y Fz). No se observa efecto P600. Fuente: elaboración propia.

A partir de los resultados por cada condición se realizó un análisis estadístico por medio de un ANOVA de medidas repetidas con cinco factores: posición (crítica y final), ironía (irónica y no irónica), Género (femenino y masculino), región (frontal, central, parietal, frontal lateral, temporal anterior y temporal posterior) y hemisferio (derecho e izquierdo).

El análisis no arrojó un efecto principal de ninguna de las variables, pero sí se encontraron interacciones estadísticamente significativas. Los resultados de las interacciones se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1

Interacciones significativas entre variables

Factores	GL	F	P
Posición, Ironía y Género	1,14	4.33	.05
Posición, Ironía y Región	1,14	3.83	.004
Posición, Género y Región	1,14	2.43	.043

Como se puede observar, existió una interacción significativa entre los factores de posición, ironía y género, de igual manera entre posición, ironía y región, así como entre posición, género y región.

Discusión y conclusiones

El presente trabajo parte de supuesto de que el género de los personajes de las historias influye en el procesamiento de la ironía. A partir de los resultados presentados en dónde el género tiene interacciones estadísticamente significativas con la condición de ironía se puede sostener que esta variable tiene influencia en el procesamiento de la ironía, por lo cual se encontraron resultados esperados.

De forma más específica, si se observan los gráficos presentados en las Figuras 3 y 4 se puede observar que las historias masculinas no presentan un efecto P600 mientras que las femeninas sí. Esta diferencia puede deberse a las expectativas que los niños tienen sobre el habla femenina y masculina que mencionan Lakoff (1975) y García (2003).

Por otro lado, el hecho de que en la palabra crítica no sea visible un efecto P600 mientras que en la final si, se puede deber a lo que mencionaba Ruiz (2019) en sus resultados con niños de 9 a 10 años, en los que se encuentra que los niños parecen requerir terminar de leer la oración completa para hacer el procesamiento de la ironía, mientras que adolescentes de 15 años logran hacer el procesamiento en la palabra crítica.

Sin embargo, se observó que sólo las ironías en las que las ironistas eran personajes femeninos se encontró este efecto P600 en la palabra final, lo que nos muestra que el cerebro de los participantes de este estudio dedicó más recursos al análisis de las historias irónicas femeninas, mientras que las historias con ironistas masculinos no requirieron este reanálisis de las oraciones.

A partir de los resultados mostrados se puede determinar que el género de los personajes influye en el procesamiento de la ironía por medio del comportamiento del componente P600. Este resultado apoya lo encontrado por Salinas (2021), quien demostró que el género de los ironistas era tomado en cuenta por los niños al momento de reflexionar sobre las posibles intenciones de los personajes de las historias irónicas, atribuyéndoles a los personajes femeninos una intención de "mentira piadosa" a la ironía, mientras que a las ironías de los varones les atribuían la intención de ser "sarcásticos". Nuestros resultados muestran que los pre adolescentes no solo interpretan de manera diferente la ironía femenina que la masculina, sino que sus cerebros dedican más recursos a procesarla, lo que nos indica que los roles sociales atribuidos a cada género influyen incluso en cómo el cerebro analiza y procesa el lenguaje usado por hombres y mujeres en nuestro entorno.

Los resultados de este estudio sugieren que habría que considerar intervenciones educativas que permitan mitigar las inequidades de género a las que se enfrentan los estudiantes de nivel básico y que influirán incluso en cómo interpretan y procesan el lenguaje de otros miembros de su comunidad dependiendo de su género.

Referencias bibliográficas

Asher, R. E., & Simpson, J. M. Y. (Eds.). (1994). *The Encyclopedia of Language and Linguistics* (Vol. 2). Oxford, England: Pergamon Press Ltd.

Gibbs, R. W. (2000). Irony in Talk Among Friends. *Metaphor and Symbol*. 15(1/2), 5-27. https://doi.org/10.1080/10926488.2000.9678862

Calderón, G., Vernon, S. y Carrillo, M.A. (2012). Interpretación y reinterpretación de adivinanzas metafóricas: la importancia del nivel de desarrollo y del tipo de tarea en niños de 7 a 13 años. *Estudios de Lingüística Aplicada*,56, 61-82.

Coles, M.G.H. & Rugg, M.D. (1995). Event-related potentials: An introduction. En M. Rugg y M. Coles (eds.), *Electrophysiology of mind: event-related brain potentials and cognition* (pp. 1-26) Oxford University Press.

Corona, H. (2019). *Exploraciones sobre la actividad eléctrica cerebral de niños de 9 años asociada al procesamiento de la ironía verbal*. [Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Querétaro].

Díaz, L. (2018). *Actividad Eléctrica Cerebral en el Procesamiento de Enunciados Irónicos en Adolescentes.* [Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Querétaro].

Durand-Rivera, A., Manzano-Martínez, E., & Uribe-Escamilla, R. (2004). Potenciales Relacionados con Eventos y la Lectura. *Revista de Ciencias Clínicas*, 5(1), 31-38.

Filippova, E. (2014). Irony production and comprehension. En D. Matthews (Ed.), *Pragmatic Development in First Language Acquisition*. Philadelphia, PA: John Benjamins Publishing Company

García, P. (2003). *Así Hablan las Mujeres. Curiosidades y Tópicos del Uso femenino del Lenguaje*. La Esfera de los Libros.

Jiménez, E. (2010). El factor género en el proceso de adquisición de lenguas: revisión crítica de los estudios interdisciplinares. *Lingüística en la red*, (8)

Kalbermatten, M. I. (2006). *Verbal Irony as a Prototype Category in Spanish: A Discursive Analysis.* [Tesis de doctorado, University of Minnesota].

Kalbermatten, M. I. (2010). Humor in verbal irony. En L. Ruiz, & M. Alvarado (Eds.), *Irony and Humor. From Pragmatics to Discourse* (pp. 69-87). Amsterdam-Philadelphia: John Benjamins.

Lacoff, R. (1973). Language and Woman´s Place. En S. Ehrlich *Language in Society*, 45-80.

Lucariello, J. (1994). Situational Irony: A Concept of Events Gone Awry. *Journal of Experimental Psychology: General*, 123(2), 129–145

Milosky, M. (1994). Nonliteral language abilities: seeing the forest for the trees. En G. P. Walach (Ed.), *Language Learning Disabilities in School-Age Children and Adolescents: Some Principles and Applications* (pp. 275-303). Nueva York: Macmillan.

Nippold, M. A. (2006). Language Development in School-Age Children, Adolescents, and Adults. *Encyclopedia of Language & Linguistics.* 368-373

Rivas, M. M. (1997) *Voz de mujer: lo femenino en el lenguaje y la literatura*. Publicaciones de la Universidad de Córdoba.

Ruiz, S. (2019). *Análisis de las etapas del procesamiento de la ironía en enunciado*. [Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Querétaro].

Salinas, A. K. (2021). *Nivel de Interpretación de la Ironía y Desarrollo Moral en Individuos de d9 y 15 años.* [Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Querétaro].

Spotorno N., Cheylus A., Van Der Henst J-B. & Noveck IA. (2013). What's behind a P600? Integration Operations during Irony Processing, *PLOS ONE*, 8, 1- 10

La experiencia inflacionaria en hogares de ingresos altos y bajos

Paula Mariana Padilla Sanchez
(ppadilla06@alumnos.uaq.mx)
Enrique Leonardo Kato Vidal
(enriquekato@uaq.mx)

Resumen

La inflación reportada por el Instituto de Estadística refleja un promedio de la realidad de la población, dejándonos con una pregunta ¿qué sucede con grupos particulares de la población? La presente investigación pretende medir la inflación en hogares de ingresos alto, medio y bajo durante dos episodios de alta inflación (2017 y 2021); esto para lograr evaluar qué hogares presentan una mayor pérdida de su poder adquisitivo. Esto se logra a través de la recolección de datos, como lo son el Índice Nacional de Precios al Consumidor y el gasto corriente por parte de los hogares. Estos datos fueron procesados con el fin de obtener la inflación para grupos de hogares en cada nivel de ingreso (bajo, medio y alto). Gracias a lo anterior, se logró observar que las tres clases de hogar presentan valores diferentes, siendo la inflación más alta para el nivel de ingreso bajo. Por su parte también se analizan los periodos 2017 y 2021, en los cuales la inflación presenta un aumento considerable, demostrando que es más notorio en esos periodos la diferencia de inflación entre niveles de ingreso. Es así que se concluye que la inflación para el nivel ingreso bajo es mayor que las demás en la mayoria de los casos, esto debido a los patrones de consumo que presenta.

Abstract

The inflation presented year after year by the authorities only reflects the reality of a sector of the population, leaving us with a question: what happens to the rest of the population?
This research aims to measure inflation in high, medium and low, income households during two periods of time, in which prices presented considerable increases (2017 and 2022). In order to evaluate which households, present a greater decrease in their purchasing power. This is achieved through gathering data, such as the National Consumer Price Index and current spending by households. This data is processed and applied in 3 formulas, in order to obtain the inflation of each income level (low, medium and high). Thanks to the above, it was possible to observe that each income level presents different values, with the highest inflation rate for the low income level. As part of the investigation, the periods 2017 and 2022 are also analyzed, due to a considerable increase in the inflation, demonstrating that the difference in the inflation rate between income levels is more noticeable in those periods. Thus, it is concluded that inflation rate for the low income level is higher than the others in most cases, due to the consumption patterns they presents.

Introducción

La inflación, como indicador económico, enseña el aumento generalizado y continuo que presentan los precios de bienes y servicios de una economía durante un periodo de tiempo. La inflación se calcula “dividiendo el precio de la cesta de bienes y servicios (representativa del lugar) en un determinado año entre el precio de la misma cesta en el año base”. Dicha cesta se utiliza para obtener el Índice de Precios al Consumidor (IPC); con esto en mente podemos decir que la inflación es la variación porcentual del IPC.

La importancia del cambio de precios de bienes y servicios radica en el gasto del ingreso que hacen las familias. Pese a que se usa una canasta general para medir esta variación en todo el país, en la realidad los hogares mexicanos cuentan con diferentes tasas de inflación, esto debido a las diferencias en sus costos de vida. Es así que la inflación que se reporta año con año sobrestima o subestima la inflación que viven los hogares. Como varios autores lo mencionan, estas diferencias de inflación solo agravan aún más la desigualdad entre niveles de ingreso, agrandando la brecha entre las personas con bajos ingresos y personas con altos ingresos.

La inflación busca reflejar la realidad de la economía. En diversos documentos y estudios, se ha buscado mostrar las diferencias inflacionarias en la población, según la clase social. Por ejemplo, el Instituto Mexicano para la Competitividad (2022) realizó un estudio sobre las presiones inflacionarias en los diferentes hogares mexicanos, demostrando que los hogares de más bajos ingresos destinan la mayoría de sus ingresos a la compra de prodcutos cuyos precios han aumentado más durante el año. Bonilla (1975) en su artículo *Inflación y Clase Sociales*, nos ejemplifica en situaciones hipoteticas, como es que los salarios y los precios cambian en diferente medida, siendo la mayoria de los casos, que los salarios de los trabajadores no cubren por completo el cambio inflacionario de los productos, mientras que las ganancias de los empresarios no se ven afectadas de igual manera por estos cambios.

Por su parte, Noyola (2009) nos presenta el caso mexicano para ilustrar que la inflación expresa la lucha de clases, además de presentar como actua la política para contrarrestar las presiones inflacionarias; “lo grave de la inflación no es el aumento de precios en sí mismo, sino sus consecuencias en la distribución del ingreso y las distorsiones que trae aparejada entre la estructura productiva y la estructura de la demanda”. Pang-Tien, Chinkun y Jry-rong, al igual que IMCO, en su documento, demuestran empriricamente si es conveniente usar el IPC de Taiwan para mostrar los ajustes de la inflación en los diferentes hogares. Es así que logran llegar a la misma conclusión, que en los hogares con menores recursos, presentan mayores variaciones en la inflación.

El objetivo de este reporte fue demostrar cómo se comporta la inflación en México para tres clases sociales -alta, media y baja-, durante dos episodios con precios crecientes (2017 y 2021), con el fin de ilustrar que hogares tienen una mayor pérdida de poder adquisitivo.

El análisis de la inflación ayuda a comprender y formular las políticas necesarias a aplicar para contrarrestar las alzas imprevistas de precios. El estudio que se lleva a cabo no solo expondrá la realidad de las familias mexicanas, sino que brindará una visión amplia de cómo se comporta la inflación en el país, educando a más personas sobre este fenómeno.

Metodología

La presente investigación pretende ser de carácter cuantitativo y descriptivo, en particular se medirán tasas de inflación no disponibles en fuentes oficiales y se mostrará su evolución en el tiempo. Los datos provienen de INEGI.

Obtención de la inflación para las 3 clases socioeconómicas

a **División de clases socioeconómicas**

Para efectos de esta investigación, el nivel de ingreso de las familias será divido en 3, según lo plantea [1], nivel bajo, medio y alto. En su documento *World Inequality Report 2022*, se plantea que el 50% de las personas reciben los ingresos más bajos, 40% los ingresos medios y solo el 10% los ingresos más altos. Es así que se tomaran esas medidas de referencia para clasificar a los hogares. El INEGI, plantea 10 deciles de hogares (sectores socioeconómicos según ingreso per cápita familiar). Con el fin de realizar esta investigación la división será: deciles I a V (ingreso bajo), deciles VI a IX (ingreso medio) y decil X (ingreso alto).

***b* Alfa como ponderador**

De primera instancia, se recurre a la Encuesta Nacional de Ingreso y Gasto de los Hogares (ENIGH) de dos periodos 2016 y 2020, para analizar dos procesos de alta inflación (2017 y 2021), donde se tabula el gasto total y gasto corriente por ponderadores (8), de los deciles de hogares. α

Con esta información obtendremos *alpha (∝),* la participación del ponderador en el gasto del hogar.

$$\alpha_{i,k} = \frac{\sum \text{gasto corriente del ponderador}}{\sum \text{gasto total de la clase socioeconómica}} \qquad \text{[Ec. 1]}$$

Esta operación se realiza tres veces, para cada nivel de ingreso *k*, en cada uno de los ocho ponderadores *i* (ver anexo).

***c* Índice Nacional de Precios al Consumidor (INPC)**

Posteriormente utilizaremos el INPC de 2015 a 2022, donde se mide la variación porcentual mensual de los bienes y servicios de la canasta representativa a nivel nacional. Con los datos proporcionados y las dos tablas (2016 y 2020) del indicador ∝ para cada ponderador, se multiplicará la variación porcentual mensual de cada ponderador por los valores de ∝ para los tres niveles de ingreso de cada año. Así tendremos *P*

$$\text{Variación } P = \sum \alpha_{i,k} * VARIACIÓN\ DE\ LOS\ PRECIOS \qquad \text{[Ec. 2]}$$

Una vez obtenido el producto de la multiplicación, se suman los productos de los ocho ponderadores, según su nivel de ingreso y el año de ∝. En este caso de enero 2015 a diciembre 2018 se ursará ∝ 2016 y de enero 2019 a marzo 2022, ∝ 2020. Es decir, para agosto 2017 en el nivel de ingreso bajo, sumaremos el producto (P de ∝ 2016 del nivel de ingreso bajo, deciles I-V) de alimentos bebidas y tabaco; prendas de vestir calzado y zapato; vivienda, agua, electricidad, gas y otros combustibles; entre otros… Es así que se obtiene una tabla con valores para cada mes desde enero 2015 a marzo 2022, con cada nivel de ingreso.

***d* Tasa de inflación**

Obtenidos los datos, los usaremos para obtener la inflación π

$$\pi_t = \left(\frac{IPC_t}{IPC_{t-1}}\right) - 1 \qquad \text{[Ec. 3]}$$

La operación se realizará para cada clase socioeconómica en el periodo determinado. Así teniendo como resultado 3 valores de inflación, uno por cada clase.

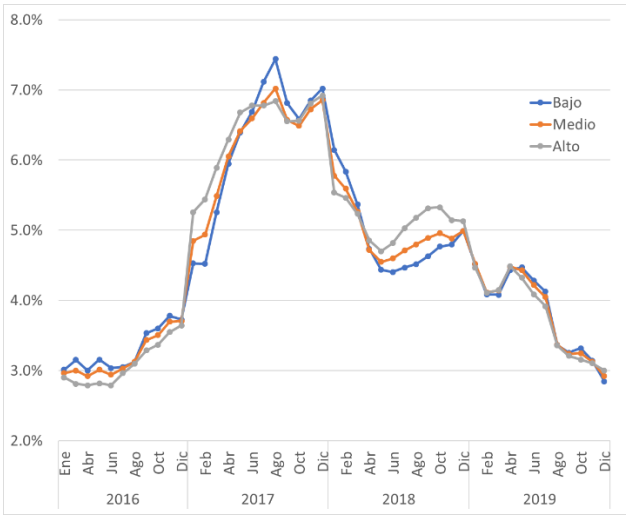
Resultados

Como bien se mencionó, la inflación es el aumento general del nivel de los precios, ésta responde a los desequilibrios en el sistema económico. No basta con saber cuánto aumenta, también debe conocerse cuál es el impacto que tiene en la población. Debido a que la inflación es un fenómeno que afecta a la población, diversos estudios se han realizado para observar de qué manera afecta a todas las partes de la población, debido al desajuste en el aumento de precios comparado con los salarios.

“Al ordenar a los hogares de México por decil de ingreso y analizar las diferentes proporciones de gasto que destinan a los diferentes rubros de consumo, es posible construir un índice de precios para la canasta representativa de cada decil, y por ende, distinguir el cambio en el costo de la canasta de consumo que cada familia enfrenta.” (IMCO, 2022). A continuación, se presentarán los Gráfico 1 y 2, donde se muestran las diferencias en la inflación de cada nivel desde enero de 2016 hasta la primera quincena de 2022.

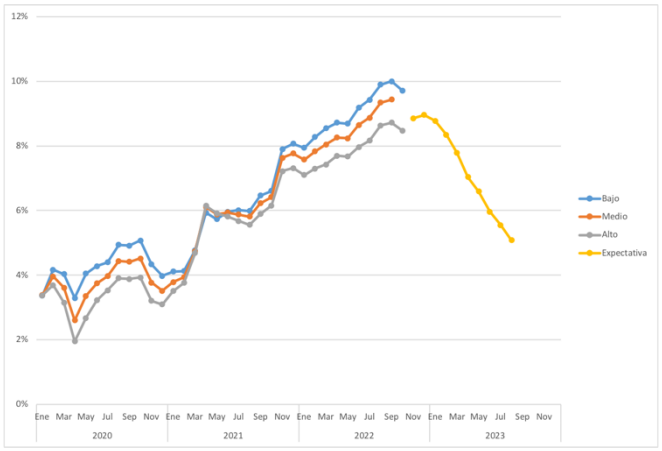
En los dos periodos relevantes de estudio 2017 y 2022, se presenta una fuerte subida de precios, donde se observa que la línea de color azul (nivel bajo, deciles I-IV), son los que mayormente se ven afectados debido a que presentan una inflación mayor que los demás; se puede observar que, en febrero 2022, la diferencia entre el nivel alto y bajo es de un punto porcentual.

Gráfico 1. Inflación 2016-2019



Fuente: Elaboración propia con datos de INEGI.

Gráfica 2. Inflación 2020-2023

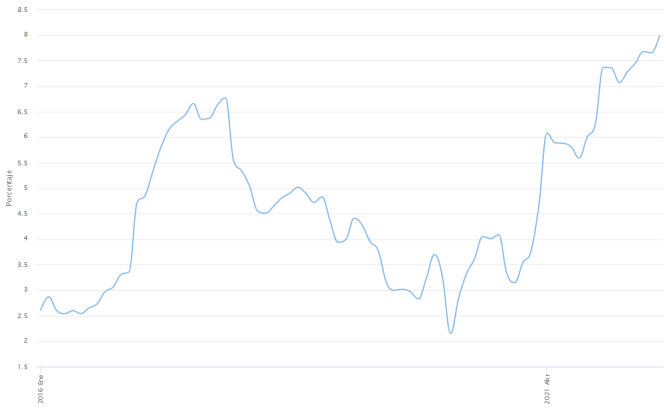


Fuente: Elaboración propia con datos de INEGI.

Para el año 2017, la economía mexicana vio reflejado un creciente aumento de los precios. (Gráfico 1) La inflación se ubicó alrededor de 6.5% a 7.5%, siendo el nivel de ingreso bajo con la inflación más alta en agosto (7.5%) ubicándose por arriba de los demás niveles de ingreso. Para el año 2018, la tasa de inflación se desaceleró, y se logra ver que, a finales de ese año, el nivel de ingreso alto logra tener una inflación mayor que el ingreso medio y bajo.

Al igual que el año 2017, la inflación a partir de octubre 2021 hasta mitad de 2022 ha presentado una subida abrupta y continua de los precios, pasando de 6% a arriba del 8%, así es necesario plantear y preguntar, si para la segunda mitad del 2022 y 2023 la tasa de inflación disminuirá al igual que lo hizo en 2018.

Gráfica 3. Inflación General 2016-2022



Fuente: Tomado de Banco de México.

Para enero 2022 la inflación se reportó en 7.070%. Para el nivel bajo la inflación fue de 7.9%, mientras que para el nivel alto se reportó ser de 7.1%. El mismo caso ocurre en agosto 2017, con una inflación reportada de 6.6%. En el nivel bajo la inflación alcanzó 7.4% y en el alto 6.8%. La Gráfica 2 nos muestra que para el año 2023 la tasa de inflación tendrá un descenso.

Por su parte, Banco de México en su reporte *Encuesta sobre las Expectativas de los Especialistas en Economía del Sector Privado: Octubre de 2022*, *gráfico 3* [8], muestra este descenso en la tasa de inflación. Esto nos muestra que según los cálculos y las expectativas, la tasa de inflación mexicana se reducirá a lo largo del año 2023. Podemos observar como la expectativa de inflación sigue la línea de tendencia de la inflación para la clase media, partiendo el pronóstico con una inflación del 9% en noviembre del 2022.

Cuadro 1. Expectativas de inflación BM.

Por ciento

	Inflación General				Inflación Subyacente			
	Media		Mediana		Media		Mediana	
	Encuesta		Encuesta		Encuesta		Encuesta	
	septiembre	octubre	septiembre	octubre	septiembre	octubre	septiembre	octubre
2022								
sep	0.65		**0.65**		0.69		**0.70**	
oct	0.70	0.65	**0.71**	**0.64**	0.51	0.59	**0.51**	**0.62**
nov	0.82	0.91	**0.80**	**0.91**	0.40	0.45	**0.39**	**0.46**
dic	0.60	0.63	**0.55**	**0.62**	0.59	0.62	**0.57**	**0.60**
2023								
ene	0.55	0.57	**0.54**	**0.56**	0.47	0.49	**0.46**	**0.50**
feb	0.45	0.46	**0.45**	**0.46**	0.52	0.54	**0.52**	**0.53**
mar	0.49	0.51	**0.46**	**0.49**	0.45	0.47	**0.45**	**0.47**
abr	0.01	0.02	**-0.02**	**-0.02**	0.40	0.42	**0.40**	**0.42**
may	-0.08	-0.05	**-0.11**	**-0.05**	0.35	0.36	**0.34**	**0.35**
jun	0.35	0.38	**0.33**	**0.36**	0.38	0.39	**0.38**	**0.40**
jul	0.43	0.45	**0.41**	**0.45**	0.36	0.37	**0.35**	**0.36**
ago	0.36	0.37	**0.35**	**0.36**	0.34	0.35	**0.33**	**0.34**
sep	0.44	0.45	**0.44**	**0.43**	0.39	0.40	**0.39**	**0.40**
oct		0.56		**0.59**		0.33		**0.32**

Fuente: Tomado de Banco de México (2022), p. 2.

Aunque se sabe que la inflación reportada es un promedio, esta refleja más la situación del nivel medio y alto. Una vez mostrado que la inflación es distinta para los hogares, surge una duda ¿qué genera esta diferencia?

Diversos estudios han comprobado que esta diferencia se debe a la proporción del gasto que hace cada hogar en diversos rubros. El nivel bajo destina mayor gasto de sus ingresos a alimentos y bebidas, productos que tienden a reflejar un mayor aumento en sus precios. Mientras que, por otro lado, el nivel alto destina mayor parte de sus ingresos a bienes y servicios de esparcimiento, educación, comunicación, entre otros…, los cuales no tienden a aumentar en la misma proporción que los alimentos y bebidas. "La canasta de consumo de hogares con bajo nivel de ingresos (decil 1) se concentra más en bienes de consumo básico como alimentos y bebidas, que enfrentan incrementos pronunciados en precios. Los hogares con mayores ingresos (decil 10) dedican más recursos al pago de servicios de educación, cuidado de vehículos y comunicaciones, donde los precios han aumentado en menor medida (o incluso caído), por lo que el impacto de la inflación sobre su gasto ha sido menor" (IMCO, 2022).

De igual manera, Pang-Tien, Chinkun y Jry-rong (2004) dicen "Specifically, the poorest household group spent relatively more on Food and Beverages than other household groups over the period 1991-1996, and the prices of the commodities in this category happened to experience relatively faster than average price increases in the same period." Como se mencionó, el ponderador de alimentos y bebidas, es uno de los que presenta mayor subida de precios y que tiene gran impacto a la población de bajo ingreso. En el presente año (2022) el gobierno mexicano [2] en su Paquete Contra la Inflación y la Carestía (PACIC), presenta su respuesta a la creciente inflación, con estrategias para contrarrestar los efectos de la inflación; entre las más importantes se encuentra apoyo para el sector alimentario y subsidio a la gasolina, que como ya se dijo son rubros que tienen un peso importante en la economía de las familias mexicanas.

Discusión y conclusiones

Con todo lo planteado queda evidenciado que el dicho "en tiempos de crisis, los pobres se vuelven más pobres" es una realidad. Los hogares de más bajos recursos son los que se ven más afectados por las presiones inflacionarias, lo cual se traslada a una disminución de su economía, agravando más la brecha de desigualdad entre clases. Y pese a que este documento solo se enfoca en temas de inflación, es importante tener en mente que esta diferencia entre clases, no solo evidencia el problema en los ingresos y precios, sino que también demuestra la realidad que viven día a día las familias mexicanas. Dejándonos con más preguntas como ¿de qué manera se ven afectados otros sectores dentro de la familia, como lo es la educación? ¿cómo se logra disminuir esta desigualdad?

Aquí las políticas públicas juegan un peso importante, para esto, IMCO propone tres acciones a tomar para disminuir la desigualdad y salvaguardar el poder adquisitivo de la población: a) Fortalecer la competencia económica, b) Aprovechar los beneficios del comercio exterior, c) Facilitar la producción nacional de bienes con alta inflación. Aunque se proponen acciones claras

que tienen más peso político, es importante reflexionar que cada uno individualmente puede aportar, solo es necesario preguntarse ¿cómo se puede contrarrestar esto de manera individual o familiar? ¿qué acciones se pueden tomar como individuos?

Agradecimientos

A mi tutor el Dr. Enrique Leonardo Kato Vidal. Por la oportunidad de formar parte de esta investigación que me abrió los ojos a la realidad económica que se vive en el país. Gracias por compartir el conocimiento, los consejos y las técnicas para lograr realizar un trabajo de esta talla. Muchas gracias por formar parte de mi educación y lo que fue una experiencia que sin duda será de valor en mi carrera profesional; gracias por plantar la semilla de la investigación en mí.

Bibliografía

[1] F. Bajard, L. Chancel y R. Moshrif, «World Inequality Report 2022 Technical Notes for Figures and Tables,» 2021. [En línea]. Available: https://wir2022.wid.world/www-site/uploads/2021/12/WIR2022-Technical-Note-Figures-Tables-1.pdf. [Último acceso: 2022].

[2] SHCP, «PAQUETE CONTRA LA INFLACIÓN Y LA CARESTÍA (PACIC),» 2022. [En línea]. Available: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/723331/CPM_SHCP_Pacic__04may22.pdf.

[3] IMCO, «LA INFLACIÓN AFECTA MÁS A LAS FAMILIAS QUE MENOS TIENEN,» 2022. [En línea]. Available: https://imco.org.mx/la-inflacion-afecta-mas-a-las-familias-que-menos-tienen/. [Último acceso: 2022].

[4] A. Bonilla, «INFLACION Y CLASES SOCIALES,» 1975. [En línea]. Available: file:///Users/applemac/Downloads/41727-Texto%20del%20art%C3%ADculo-106229-1-10-20130906.pdf. [Último acceso: 2022].

[5] J. Noyola Vázquez, «El desarrollo económico y la inflación en México y otros países latinoamericanos,» s.f.. [En línea]. Available: http://olafinanciera.unam.mx/new_web/03/pdfs/Clasicos-Noyola-Ola-3.pdf. [Último acceso: 2022].

[6] L. Pang-Tien, C. Chinkun y C. Jry-rong, «Inflation Rate Variations across Household: Empirical Evidence from Taiwan,» 2004. [En línea]. Available: https://ijb.cyut.edu.tw/var/file/10/1010/img/850/V91-6.pdf. [Último acceso: 2022].

[7] INEGI, «Índice Nacional de Precios al Consumidor (INPC),» 2022. [En línea]. Available: https://www.inegi.org.mx/temas/inpc/. [Último acceso: 2022].

[8] Banco de México. (2022/octubre). Encuesta sobre las Expectativas de los Especialistas en Economía del Sector Privado: Octubre de 2022

Anexo. Rubros de gasto

1 Alimentos, bebidas y tabaco
2 Prendas de vestir y calzados
3 Vivienda, agua, electricidad, gas y otros combustibles
4 Muebles, artículos para el hogar y para su conservación
5 Salud y cuidado personal
6 Transporte
7 Educación y esparcimiento
8 Bienes y servicios diversos

Red partes del cuerpo en el léxico mental adolescente.

Vargas García, Elsa M.;
evargas817@alumnos.uaq.mx;
Carrasco Ortiz, E. Haydée;
haydee.carrasco@uaq.edu.mx
Rodríguez Sánchez, Ignacio;
i.rodriguez@uaq.edu.mx
Facultad de Lenguas y Letras
Universidad Autónoma de Querétaro
Anillo Vial Fray Junípero Serra s/n
Santiago de Querétaro, Qro. México
C.P. 76140
Teléfono (442) 192 12 00 Exts. 61140 y 61270

Resumen

El léxico mental sigue creciendo durante la vida y de los 10 a los 18 años se encuentra en la etapa de formación pre adulta (Dubossarsky et al., 2017). Estudiar al léxico mental en esta etapa permite entender cómo se va construyendo la red de conceptos –organización– (Dubossarsky et al., 2017; Kenett et al., 2013) y las estrategias utilizadas para la evocación del léxico (Sauzéon et al., 2004; Troyer, 2015). El presente trabajo tuvo dos objetivos: estudiar la organización y recuperación de conceptos de la categoría *partes del cuerpo* y visualizar dicha organización gráficamente tomando en cuenta el orden de recuperación de los elementos. Con este propósito, se utilizó la tarea de fluidez verbal semántica (Ardila, 2019; Marshall et al., 2018;) con la categoría *partes del cuerpo* en 22 participantes de 9 a 15 años. Se contabilizaron el número de respuestas por participante, el número de agrupaciones (Marshall et al., 2018) y se registraron los nombres de las subcategorías. Esta distribución se graficó tomando en cuenta el orden de recuperación de los elementos de la categoría y las subcategorías halladas. Los resultados y las gráficas muestran que, en esta etapa del desarrollo del léxico mental, la organización de los conceptos de *partes del cuerpo* no es aleatoria, va de la cabeza a las extremidades y se observan estrategias de agrupación y recuperación al disponer de los conceptos.

Abstract

The mental lexicon grows continuously during a person's lifetime, and it seems to consolidate onto an adult mental lexicon from age 10 to 18 (Dubossarsky et al., 2017). Studying the mental lexicon during this period allows us to understand how the semantic mental network is constructed –organization– (Dubossarsky et al., 2017; Kenett et al., 2013) and the strategies needed to access and elicit an element. The present study had two objectives: to study the organization and word/concept retrieval from the category *body parts* and to graphically visualize such organization considering the participant's retrieval order of the examples. To this effect, a semantic verbal fluency task (Ardila, 2019; Marshall et al., 2018) with the category *body parts* was performed by 22 participants, ages 9 to 17. The number of items elicited, the number of clusters, and the different subcategories were counted (Marshall et al., 2018). This distribution is presented graphically considering the order of elicitation as well as the subcategories found. The results and graphics show that in this stage of the development of the mental lexicon, the organization of the concepts of the category body parts is not random, it goes from the head to the limbs and retrieval as well as clustering strategies are observed.

Palabras clave: red léxica, léxico mental, partes del cuerpo, organización léxica, fluidez verbal.
Key words: lexical network, mental lexicon, body parts, lexical organization, verbal fluency

Introducción

Al acervo de palabras y conceptos que conoce una persona y que va aumentando a lo largo de la vida se le ha llamado *léxico mental.* El léxico mental se accede y almacena por medio de la memoria semántica. La memoria semántica es un sistema de procesamiento para el uso del lenguaje a través del

cual las personas almacenan las palabras y sus significados; dicho sistema permite recordar los conceptos básicos que se van aprendiendo a través de la experiencia con el mundo (Tulving, 1972). La percepción sensorial asiste en la generación del significado (Fillmore, 1977); así, un concepto se va ligando a otros conceptos afines –que aparecen juntos en el contexto perceptual–, los cuales le dan existencia real y consolidan su significado (Pozzo & Soloviev, 2011). A esta asociación de unas palabras con otras dentro del léxico mental se le llama relaciones léxicas y a la representación gráfica de estas relaciones se le conoce como redes léxicas. Así, dentro de una red léxica se pueden considerar distintos tipos de relaciones léxicas y conforme va madurando y aumentando el léxico mental, dichas relaciones van cambiando, modificando así las redes del léxico mental (Dubossarsky et al., 2017).

Para poder entender el proceso que se lleva a cabo para la organización del léxico mental adulto, es importante tomar en cuenta el proceso inicial de formación del léxico mental. De acuerdo con Tomasello (2003), los sustantivos predominan en las primeras etapas de la adquisición, por lo menos en español, inglés e italiano. Estas primeras palabras adquiridas sirven de anclaje para las nuevas palabras y entre más palabras sepa un individuo, más fácil le será adquirir nuevas palabras (Beckage et al., 2011; Sizemore et al., 2017; Steyvers & Tenenbaum, 2005). Es inevitable que al adquirir nuevas palabras se vayan clasificando. Esta organización por categorías no solamente ayuda a clasificar y comprender mejor el mundo, también favorece las relaciones entre palabras; así, dos concepto que pueden parecer lejanos, como delfín y gato, se acercan dentro de la red al pertenecer a una misma categoría: animales (Grasso et al., 2011).

De acuerdo con Spätgens y Schoonen (2020), existen tres aspectos principales de la organización léxica: el tamaño del vocabulario, la estructura de la red y el acceso al léxico. El tamaño del vocabulario se refiere a la cantidad de palabras y conceptos que hay en el léxico mental (Beckage et al., 2011; Dubossarsky et al., 2017); la estructura de la red se refiere a la forma en la que se organizan y se relacionan entre sí los elementos del léxico mental (Clark, 1970; Nelson et al., 2000); y el acceso al léxico apunta a la disponibilidad de los elementos del léxico mental (Esbensen & Thomsen, 2021; Marshall et al., 2018).

Estudiar estos aspectos de la organización léxica ayuda a comprender mejor los mecanismos subyacentes al procesamiento del lenguaje (Troyer, 2015) y los cambios en la memoria semántica a lo largo de la vida (Dubossarsky et al., 2017). Una de las tareas que se ha utilizado con este propósito es la tarea de fluidez verbal semántica (Marshall et al., 2018; Nash & Snowling, 2008). A través de esta tarea se ha encontrado que los niños de 7 a 12 años utilizan una estrategia de recuperación en la que agrupan los conceptos en subconjuntos pequeños y saltan más de un subconjunto a otro (Sauzéon et al., 2004). Asimismo, se ha reportado que en adultos la estrategia que se observa es más organizativa, es decir, que agrupan los elementos en subconjuntos y agotan un subconjunto antes de pasar al siguiente (Troyer, 2015). Sin embargo, no se ha reportado qué estrategia utilizan los participantes que se encuentran en un punto de desarrollo antes de la adultez. Por ello, el objetivo del presente trabajo es estudiar la organización y recuperación de conceptos de la categoría *partes del cuerpo* en población preadolescente, además de visualizar dicha organización gráficamente, tomando en cuenta el orden de recuperación de los elementos.

Metodología

El presente estudio estuvo conformado por 22 participantes (14 mujeres) de 9 a 18 años, con una media de edad de 11 años 9 meses. Todos hablantes nativos del español de México y con un nivel de inteligencia no verbal equivalente a su edad cronológica. Los padres de los participantes firmaron una carta de consentimiento informado en la que se les explicó el procedimiento, aceptaban participar y se hizo de su conocimiento la posibilidad de retirarse del estudio en cualquier momento si así lo deseaban.

Se aplicaron dos instrumentos: una prueba de inteligencia no verbal (TONI-2) y la tarea de fluidez verbal semántica (TFVS) con la categoría de *partes del cuerpo*. Ambos instrumentos se aplicaron en línea a través de la plataforma Zoom para videollamadas. La prueba de inteligencia no verbal se aplicó

compartiendo las láminas a través de la pantalla y los participantes emitieron las respuestas utilizando las herramientas de anotación de la plataforma. La TFVS se aplicó durante la videollamada y se grabó esa parte de la sesión para poder transcribir y codificar las respuestas fuera de línea. La TFVS consistió en pedirles a los participantes que nombren todos los elementos que vengan a su mente de la categoría *partes del cuerpo*. Se les advirtió que tendrían un tiempo limitado y se les pidió que dijeran todos los ejemplos que pudieran.

Después de hacer la transcripción de las respuestas, se contó el número de elementos que dieron, se observaron las agrupaciones de las respuestas y se contaron las subcategorías que formaron los participantes, el número de saltos y el número de *clusters*, que son los elementos consecutivos de una misma subcategoría. Se obtuvo también el tamaño promedio de cluster. Además, se dividió el minuto en 4 partes de 15 segundos cada una, así, el tiempo1 corresponde a los primeros 15 segundos, el tiempo 2 del 16 al 30, el tiempo 3 del 17 al 45 y el tiempo 4 del segundo 46 al 60 y se contaron los elementos de las subcategorías en cada parte del minuto.

Resultados

Al realizar los conteos correspondientes, encontramos variabilidad en el número total de palabras (M=19.18; R=10-34), lo cual indica que el tamaño del vocabulario de los participantes era variable. Encontramos menos variabilidad en el número de clusters (M=3.68; R=2-6) y más variabilidad en el número de saltos (M=5.68; R=2-10) lo cual indica menor variabilidad en las estrategias de agrupación y mayor variabilidad en las estrategias de recuperación. El tamaño de cluster también presentó variabilidad dentro de la población de estudio (M=2.09; R=0.66-5) indicando variabilidad en la organización semántica. Se observó que los elementos más comunes y la mayor cantidad de expresados por los participantes se presentaron en la primera parte del minuto (i.e. los primeros 15 segundos) y corresponden a las subcategorías *superior* (con elementos como cabeza, ojos, boca) y *extremidades* (con elementos como manos, piernas, brazos) principalmente. La tercera subcategoría más productiva resultó ser la subcategoría *interno* (con elementos como estómago, pulmones, venas), pero su mayor productividad se observó en la segunda parte del minuto (del segundo 16 al 30). En la Figura 1 se pueden observar las subcategorías encontradas por tiempo y proporción de respuestas.

Figura1. Subcategorías por tiempo y proporción

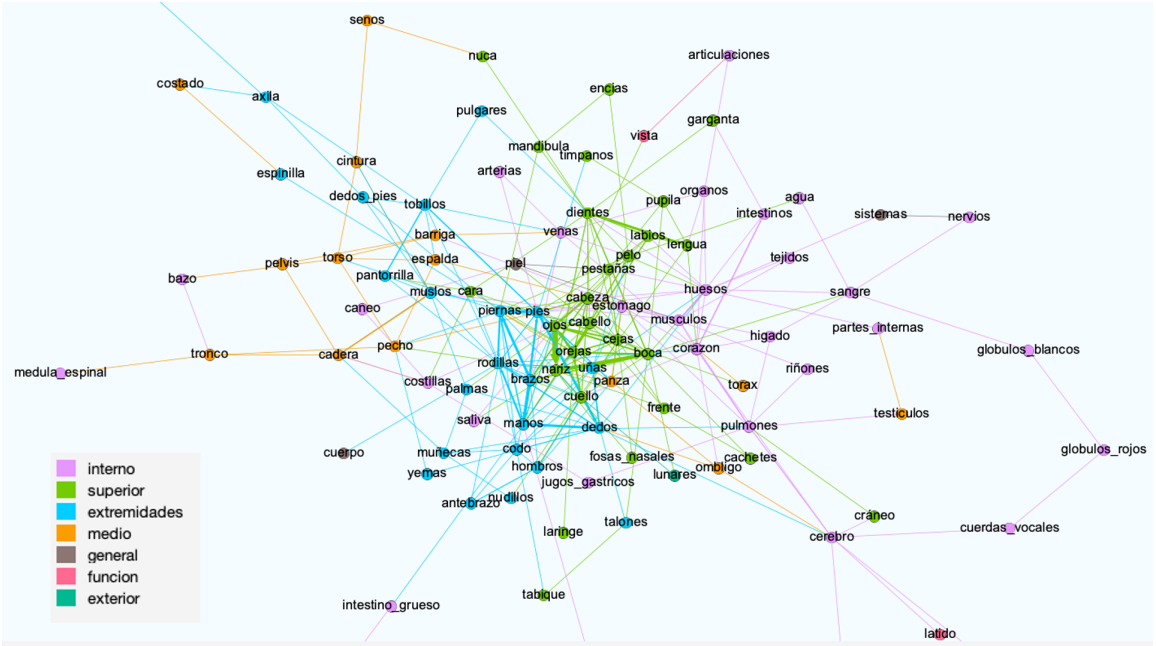


Nota: Los colores indican la parte del minuto en que se produjeron los elementos de las subcategorías: azul, tiempo 1; naranja, tiempo 2, gris, tiempo 3 y amarillo, tiempo 4.

Con base en las respuestas de los participantes, el orden en que emitieron los elementos y la frecuencia de aparición de los elementos entre los participantes se realizó una gráfica de la red asociativa semántica de *partes del cuerpo* en el léxico mental adolescente (ver Figura 2). En el centro de la gráfica, se pueden observar los elementos más frecuentes; los colores indican las subcategorías y el grosor de las líneas indica la frecuencia con la que esos dos nodos o palabras aparecían juntos en las emisiones de los participantes. De esta manera, podemos observar cuáles son los elementos que tienen mayor relación dentro de la red asociativa de esta categoría.

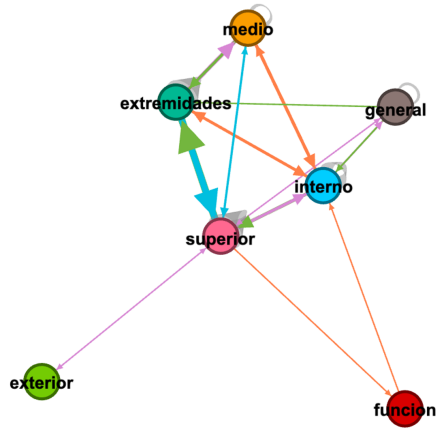
Finalmente, se realizó una gráfica de la red léxica de las subcategorías halladas en la muestra. En la Figura 3 se pueden apreciar las siete subcategorías encontradas y la relación entre ellas. Se puede observar que las relaciones más fuertes se encuentran entre los elementos de las subcategorías *extremidades* y *superior*. Se observa una mayor relación de la subcategoría *medio* con *extremidades* que con superior y la subcategoría *interno* presentó relaciones con *superior*, *extremidades* y *medio*.

Figura 2. Red asociativa semántica de partes del cuerpo en el léxico mental adolescente.



Nota: Los colores indican las subcategorías y el grosor de las líneas indica la frecuencia asociativa entre elementos de las subcategorías.

Figura 3. Red léxica de subcategorías.



Nota: Los nodos representan las subcategorías, las líneas representan las asociaciones léxicas y su grosor la frecuencia de asociación.

Discusión y conclusiones

Los resultados muestran variabilidad en el número de elementos expresados, por lo que se puede decir que, en esta muestra, el tamaño del vocabulario en esta etapa del desarrollo del léxico continúa en crecimiento. En cuanto a la estructura de la red, se puede decir que la organización del léxico mental para esta muestra en esta categoría –partes del cuerpo– y en esta etapa –adolescencia– es por subcategorías; se observó una estrategia de agrupación poco variable (de 2 a 6 clusters) y una estrategia de recuperación variable ya que los participantes saltaron entre un cluster y otro entre 2 y 10 veces. La organización semántica que se observó a través del tamaño promedio de cluster no fue muy variable (R=0.66-5), lo que indica estabilidad en este rubro. Con respecto al acceso al léxico, se puede decir que se observó activación de ciertas subcategorías y fluctuación entre ellas, y es importante destacar que la mayoría de los elementos expresados se nombraron en los primeros quince segundos, es decir, en el tiempo 1. Esto puede indicar que conforme más se alejan los elementos en la red asociativa semántica, es menos probable que se activen y por lo tanto que se nombren.

Como se mencionó en la introducción, estudios anteriores indican que los niños de 7 a 12 años de edad presentan estrategias de recuperación formando clusters más pequeños y conforme aumenta el vocabulario, aumenta el tamaño de los clusters (Sauzéon et al., 2004). En los adultos, en cambio, se ha observado una estrategia de organización, en la que el tamaño de los clusters crece ya que en lugar de saltar entre subcategorías, los adultos expresan todos los elementos de una subcategoría antes de pasar a la siguiente, por lo que el tamaño de los clusters es mayor (Troyer, 2015). La aportación del presente trabajo en esta línea es que se observa que los adolescentes activan ciertas subcategorías y fluctúan

entre ellas. Es decir, se observa una combinación de estrategias que puede depender del tamaño del vocabulario, que aún continúa en crecimiento.

Para concluir, se puede decir que la tarea de fluidez verbal semántica es un instrumento efectivo para observar la organización del léxico mental, además de que proporciona elementos útiles para graficar la red. Además, se observó que la organización de la categoría de partes del cuerpo en esta muestra no fue aleatoria, en cambio, se observó, en general, una activación de los elementos léxicos de la parte superior del cuerpo hacia las extremidades, de ahí hacia la parte media y de ahí hacia los elementos internos. Asimismo, se observaron estrategias de agrupación y recuperación al activar las subcategorías y disponer de los elementos del léxico mental. Finalmente, se puede observar dentro de la muestra que, en esta etapa, el léxico mental continúa en proceso de consolidación.

Existen algunas limitaciones al presente trabajo, que pueden ser útiles de mencionar para futuras líneas de investigación. En este trabajo solamente se presentó una categoría para la tarea de fluidez verbal semántica; esto es una limitante, pues con más categorías se podría ver de forma más global la organización del léxico mental. También es importante mencionar que el tamaño de la muestra es pequeño, por lo que no se pueden generalizar los resultados al resto de la población. Una muestra más grande, puede brindar mayor claridad y resultados más robustos en esta línea. Finalmente, resultaría muy interesante comparar estos resultados con muestras de poblaciones atípicas para conocer las diferencias en la organización léxica en distintas etapas del desarrollo y en distintas poblaciones.

Referencias

Ardila, A. (2019). A cross-linguistic comparison of category verbal fluency test (ANIMALS): A systematic review. Archives of Clinical Neuropsychology, 35(2), 218–225. https://doi.org/10.1093/arclin/acz060

Beckage, N., Smith, L., & Hills, T. (2011). Small worlds and semantic network growth in typical and late talkers. PLoS ONE, 6(5). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019348

Clark, H. H. (1970). Word Associations and linguistic theory. New Horizons in Linguistics, 271–286.

Dubossarsky, H., De Deyne, S., & Hills, T. T. (2017). Quantifying the structure of free association networks across the life span. Developmental Psychology, 53(8), 1560–1570. https://doi.org/10.1037/dev0000347

Esbensen, A., & Thomsen, P. (2021). Word Retrieval and Lexical Organization in Children With Hearing Loss and Developmental Language Disorder. Communication Disorders Quarterly, 42(4), 238–248. https://doi.org/10.1177/1525740120932531

Fillmore, C. J. (1977). The Case for Case Reopened. In Grammatical Relations (pp. 59–81). Brill.

Grasso, L., Díaz-Mardomingo, M. C., & Peraita-Adrados, H. (2011). Deterioro de la memoria semántico-conceptual en pacientes con enfermedad de Alzheimer. Análisis cualitativo y cuantitativo de los rasgos semánticos. Psicogeriatría, 3(4), 159–165. http://www.viguera.com/sepg/pdf/revista/0304/304_0159_0165.pdf

Kenett, Y. N., Wechsler-Kashi, D., Kenett, D. Y., Schwartz, R. G., Ben-Jacob, E., & Faust, M. (2013). Semantic organization in children with cochlear implants: Computational analysis of verbal fluency. Frontiers in Psychology, 4(SEP), 1–11. https://doi.org/10.3389/fpsyg.2013.00543

Marshall, C. R., Jones, A., Fastelli, A., Atkinson, J., Botting, N., & Morgan, G. (2018). Semantic fluency in deaf children who use spoken and signed language in comparison with hearing peers. International Journal of Language and Communication Disorders, 53(1), 157–170. https://doi.org/10.1111/1460-6984.12333

Nash, H. M., & Snowling, M. J. (2008). Semantic and phonological fluency in children with Down syndrome: Atypical organization of language or less efficient retrieval strategies? Cognitive Neuropsychology, 25(5), 690–703. https://doi.org/10.1080/02643290802274064

Nelson, D. L., McEvoy, C. L., & Dennis, S. (2000). What is free association and what does it measure? Memory and Cognition, 28(6), 887–899. https://doi.org/10.3758/BF03209337

Pozzo, M. I., & Soloviev, K. (2011). Culturas y Lenguas: La importancia cultural en la interpretación lingüística. Tiempo de Educar, 12(24), 171–205. http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=31121089002%0ACómo

Sauzéon, H., Lestage, P., Raboutet, C., N'Kaoua, B., & Claverie, B. (2004). Verbal fluency output in children aged 7-16 as a function of the production criterion: Qualitative analysis of clustering, switching processes, and semantic network exploitation. Brain and Language, 89(1), 192–202. https://doi.org/10.1016/S0093-934X(03)00367-5

Sizemore, A. E., Karuza, E. A., Giusti, C., & Bassett, D. S. (2017). Knowledge gaps in the early growth of semantic networks. 1–26. http://arxiv.org/abs/1709.00133

Spätgens, T., & Schoonen, R. (2020). The structure of developing semantic networks: Evidence from single and multiple nominal word associations in young monolingual and bilingual readers. Applied Psycholinguistics, 41(5), 1141–1169. https://doi.org/10.1017/S0142716420000430

Steyvers, M., & Tenenbaum, J. B. (2005). The large-scale structure of semantic networks: Statistical analyses and a model of semantic growth. Cognitive Science, 29(1), 41–78. https://doi.org/10.1207/s15516709cog2901_3

Tomasello, M. (2003). Constructing a Language. A Usage Based

Theory of Language Acquisition. Harvard University Press. ISBN: 0674-01764-1
Troyer, A. K. (2015). Normative Data for Clustering and Switching on Verbal Fluency Tasks. 3395(December), 37–41.
Tulving, E. (1972). Episodic and Semantic Memory. In W. Tulving, Endel: Donaldson (Ed.), Organization of Memory (pp. 381–403). New York Academic Press.

Construcción Social de la Ocupación de Jóvenes estudiantes de Bachillerato Técnico

Autor: Irving Said Vázquez Huerta[1]

Correo: ivazquez17@alumnos.uaq.mx

Asesor: Dr. Rolando Javier Salinas García[2]

Correo: javier.salinas.uaq@gmail.com

Resumen

En la presente investigación se trabajó con jóvenes estudiantes de una escuela técnica del municipio de Querétaro, que estuvieran cursando sus últimos semestres de formación; con el objetivo de comprender la relación de los elementos estructurales, sociodemográficos y subjetivos que están presentes en la construcción social de la ocupación de las y los jóvenes participantes. La metodología utilizada fue de carácter configuracionista, la cual es una guía ontológica de la construcción del conocimiento de la realidad, relacionada al carácter de las relaciones entre estructura, subjetividad y acción, es decir, en la relación sujeto y objeto.

Dentro de los resultados se identificó que existe una serie de significaciones que las juventudes realizan desde las enseñanzas familiares y por las interacciones que tienen con su medio y dentro de su entorno educativo; las cuales no son estáticas, sino que pueden construirse y reconstruirse dentro de un amplio entramado de significados. Elementos sociales (como la Pandemia por COVID-19), económicos, políticos e institucionales también construyen y reconstruyen esta serie de aspiraciones, así como las significaciones que las juventudes tienen hacía el trabajo.

Concluyendo que el proceso de la construcción social de la ocupación inicia en la niñez, pero no termina en la propia adolescencia y/o adultez temprana. Las juventudes desarrollan una propia visión sobre el trabajo, la cual está atravesada por experiencias de su niñez y adolescencia, la cotidianidad y por elementos estructurales de diversa índole.

Palabras clave: jóvenes, construcción social de la ocupación**, f**amilia**, f**ormación educativa, políticas públicas para la juventud**,** COVID-19

Abstract

In this research we worked with young students from a technical school in the municipality of Querétaro, who were in their last semesters of training; with the objective of understanding the relationship of structural, sociodemographic and subjective elements that are present in the social construction of the occupation of the young participants. The methodology used was of a configurationist nature, which is an ontological guide to the construction of knowledge of reality, related to the nature of the relationships between structure, subjectivity and action, that is, in the relationship between subject and object.

Among the results, it was identified that there is a series of meanings that young people make from family teachings and through the interactions they have with their environment and within their educational environment; these meanings are not static, but can be constructed and reconstructed within a broad framework of meanings. Social (such as the COVID-19 pandemic), economic, political and institutional elements also construct and reconstruct this series of aspirations, as well as the meanings that young people have towards work.

[1] Universidad Autónoma de Querétaro

[2] Universidad Autónoma de Querétaro

In conclusion, the process of the social construction of occupation begins in childhood, but does not end in adolescence and/or early adulthood. Young people develop their own vision of work, which is influenced by their childhood and adolescence experiences, everyday life and by structural elements of various kinds.

Key words: youth, social construction of occupation, family, educational training, public policies for youth, COVID-19.

Introducción

La presente investigación comienza su desarrollo, en un periodo de contingencia sanitaria durante la Pandemia por COVID-19, donde las condiciones sanitarias exigían, institucionalmente, las clases virtuales en un marco social caracterizado por la incertidumbre hacía el futuro. Lo anterior implicó tomar una postura metodológica que permitiera el análisis de un fenómeno en marcha, de lo dado-dándose, de una realidad en constante cambio.

Para este fin, se optó por un enfoque desde la construcción social de la ocupación juvenil la cual, de manera general, es entendida como la representación de diversos significados surgidos mediante la interacción de los actores, situados en estructuras que pueden condicionarlos pero que no necesariamente los determinan (De la Garza, 2020). Por tal motivo, las ocupaciones no están sujetas, ni entendidas, en contratos formales de trabajo, sino por las relaciones entre la estructura, la subjetividad y la interacción social. Así, considerar las instituciones, redes sociales, organizaciones y subjetividades contribuye a la ampliación del enfoque de mercado de trabajo para llevarlo al concepto de construcción social de la ocupación; caracterizado por la construcción de sentidos del trabajo, del trabajador y del futuro; alimentado por valores, creencias cognitivas, emociones, formas de razonamiento cotidiano y científico, entre otras (Feregrino, 2018).

El objetivo central de la presente fue Comprender la relación de los elementos estructurales, sociodemográficos y subjetivos que están presentes en la construcción social de la ocupación de los jóvenes que estudian sus últimos semestres de preparación técnica a nivel medio superior en el Municipio de Querétaro; bajo la pregunta de ¿Cómo se relacionan los elementos estructurales, sociodemográficos y subjetivos en la construcción social de la ocupación, para los jóvenes que estudian los últimos semestres de su preparación técnica a nivel medio superior, en el municipio de Querétaro?

Lo anterior desde la metodología configuracionista, con el supuesto de que la construcción social de la ocupación es el resultado de las interacciones entre diferentes instancias, ya sean de carácter estructural o sociodemográfico, que rodean y condicionan a las y los jóvenes en su transición de la esfera educativa al campo laboral, sin que éstas los determinen.

Bajo esta línea, es preciso puntualizar que, el tipo de escuela con que se trabajó fue una que se rige bajo el Modelo Mexicano de Formación Dual (MMDFD) el cual se compone por actores de ámbitos públicos y privados que coordinan su accionar para lograr una vinculación formal entre el sector empresarial y educativo. Es decir, el alumno inscrito en un programa dual se desenvuelve en dos esferas; el ámbito escolar, brindado por la Secretaría de Educación Pública, bajo un sistema educativo, acompañado por un Coordinador y la institución académica en sí, como gestora de vinculación y tutora académica y; el ámbito empresarial, el cual es un organismo privado que funge como un formador e instructor mediante la aplicación práctica de los conocimientos adquiridos en el aula (Colegio Nacional de Educación Profesional Técnica, 2018).

Dentro de las instituciones que ofertan esta formación dual en el municipio de Querétaro se encuentran: el Colegio Nacional de Educación Profesional Técnica (CONALEP); el Colegio de Estudios Científicos y Tecnológicos del Estado de Querétaro (CECYTEQ); y la Dirección General de Educación Tecnológica

Industrial (DGETI). Estas instituciones académicas tienen una premisa común "formar la competencia"[3]. Donde, partiendo desde el aprendizaje, el estudiante aprende a construir su pensamiento y conocimientos en función de tareas prácticas y hechos concretos que va construyendo en el mercado laboral al tiempo que se prepara académicamente.

Por último, el contexto social bajo la Pandemia por Covid-19 cobra importancia en cuanto a sus repercusiones sociales. Por ejemplo, Maurizio (2021) encuentra que las condiciones de trabajo decente han caído a niveles más altos de desigualdad, sobre todo en América Latina y del Caribe. En este sentido, La empleabilidad se ha visto reflejada en mayor informalidad, siendo las mujeres, las y los jóvenes y personas con bajas calificaciones laborales las que más incursionan en estos trabajos. Las juventudes fueron quienes regresaron con mayor rapidez al empleo en comparación con el resto de la población, sin embargo, su participación sigue siendo menor a la registrada antes de la pandemia. A su vez, es importante no dejar de lado el hecho de que son más propensos al ingreso laboral bajo circunstancias y escenarios más precarios actualmente.

De acuerdo con la Organización Internacional del Trabajo (2020), otras de las repercusiones observadas ha sido la interrupción de sus programas educativos, pérdida de emprendimientos, caída de sus ingresos y la perspectiva de tener mayores dificultades en el futuro para encontrar una ocupación. Siendo la transición de la escuela (o la familia) al trabajo una de las etapas más importantes en el desarrollo juvenil, se ha vuelto indispensable el apoyo a los sectores jóvenes, ya sea en la creación de nuevas oportunidades de empleabilidad laboral, de emprendimiento y, sobre todo, de mayor acceso a las nuevas tecnologías de la información.

Metodología

La estrategia metodológica de la investigación se basa en el configuracionismo. El cual da cuenta de los aspectos relacionados a las estructuras funcionalistas, dígase las instituciones educativas y centros de prácticas profesionales, por un lado y, por otro, de los factores subjetivos de los actores. Es decir, busca dar cuenta de la interacción entre éstos, de lo dado-dándose.

De acuerdo con Ortiz (2013; retomado por Luna, 2021, P. 131) "el configuracionismo es un modelo holístico, sistémico, dialéctico y complejo, por cuanto las ideas, teorías y conocimientos científicos obtenidos, se interconectan lógicamente entre sí, para formar una totalidad configurada de manera armónica y coherente". Con base en lo anterior, se proponen los siguientes conceptos ordenadores, los cuales servirán de guía para la construcción del conocimiento y realidad de las y los jóvenes. Éstos están ligados a un eje articulador, desarrollados mediante dimensiones y con situaciones específicas observables, con lo que se busca realizar la relación entre estas configuraciones.

Eje articulador 1: Elementos estructurales:

> **Conceptos ordenadores:** Políticas públicas enfocadas en jóvenes; Convenios con el sector laboral en el Mcipio de Qro.; Instituciones educativas.
>
> **Dimensiones:** Becas a nivel medio superior; capacitación para el trabajo; centros de prácticas profesionales; formación para el trabajo; perfil técnico; proceso formativo.
>
> **Observables:** Programas de becas; programas gubernamentales de capacitación para el trabajo; oportunidades de prácticas profesionales; formación extracurricular; bolsas de trabajo; trayectorias educativas durante la Pandemia por COVID-19.

Eje articulador 2: Elementos sociodemográficos

[3] Comillas propias

Conceptos ordenadores: Inclusión laboral, cercanía de los centros educativos y centros de prácticas profesionales con el lugar de residencia, fuentes ocupacionales (FO).

Dimensiones: Oportunidades de empleabilidad (OE); medios de movilidad y tiempos de movilidad; medios de comunicación y personas representativas.

Observables: OE según el género, la clase social y las credenciales educativas; cantidad de camiones, taxis u otro medio de transporte; tiempos de recorrido; FO como internet, televisión, radio, vecinos, otros.

Eje articulador 3: Significaciones subjetivas

Conceptos ordenadores: Ocupaciones familiares; motivaciones (M).

Dimensiones: Dinámica familiar; M intrínsecas y extrínsecas.

Observables: Ocupación de los miembros de la familia; trayectorias ocupacionales de personas representativas de la familia; valoración de la ocupación; retribución económica; afinidad con la ocupación; influencia del medio familiar, social, económico e institucional; M de autorrealización; M de seguridad; problemáticas familiares y/o personales vividas durante la Pandemia por COVID-19.

En cuanto al diseño de la investigación, el universo de trabajo se realizó con estudiantes de últimos semestres de una preparatoria técnica de nivel medio superior en el municipio de Querétaro. Dado el carácter configuracionista de esta investigación, el muestreo no buscó una representatividad estadística, sino que se basó en una representatividad de vivencias y sentidos por parte de los participantes, recolectados mediante encuestas, entrevistas semiestructuradas e investigación documental.

Resultados

El Estado de Querétaro cuenta con la Ley para el Desarrollo de Los Jóvenes en el Estado de Querétaro¸ la cual es de orden público, interés social y observancia general en la entidad.

Dicha Ley, define a las autoridades en materia de juventud, las cuales son: el Gobernador del Estado, la Secretaría de la Juventud y los Municipios; detallando las responsabilidades de cada uno, los derechos y obligaciones de las y los jóvenes, los deberes y obligaciones de las y los jóvenes, los lineamientos del Programa Estatal para el Desarrollo Integral de la Juventud Queretana, lineamientos del Fondo Estatal de Atención a la Juventud, lineamientos del Parlamento de la Juventud Queretana, lineamientos del Concurso Estatal de Oratoria y Debate Político “Hugo Gutiérrez Vega”, y sobre las responsabilidades y sanciones.

Por otro lado, La secretaría de la Juventud del Poder Ejecutivo del Estado de Querétaro (2020) realizó un análisis sobre los factores transversales que impactan el desarrollo integral de las juventudes, identificando factores como: pobreza y desigualdad social; acceso a la seguridad social; reinserción social; acceso a la salud; salud mental; contexto económico; educación; ocupación y empleo; y acceso a las redes informáticas.

De acuerdo con el Centro de Estudios de las Finanzas Públicas (2022; CEFP en adelante), a pesar de la aplicación de diversas acciones, en materia de política pública, empleadas por el IMJUVE en cuestión del desarrollo juvenil, la realidad no muestra mejoras importantes en el desarrollo integral, puesto que las carencias sociales y económicas de este sector siguen siendo marcadas. Por ejemplo, la CONEVAL (2020; Retomada por el CEFP, 2022) menciona que en 2020 el 32.1% de las juventudes del país presentó carencias en el acceso a servicios de salud, agudizándose con la pandemia por COVID-19, evidenciando la vulnerabilidad de las juventudes ante la falta de acceso a la seguridad social.

La CEFP (2022) enfatiza que hasta ahora la prioridad de las políticas públicas enfocadas en jóvenes han sido que las y los adolescentes estén escolarizados y completen su educación básica. Sin embargo, estos esfuerzos han terminado por descuidar otras áreas como la educación media superior y/o la educación superior, además de otros sectores como la cultura, la recreación y el derecho a una vida libre de violencia.

En este sentido, la institución educativa donde se realizó la investigación cuenta con convenios empresariales e institucionales que les permiten a sus estudiantes adquirir competencias y conocimientos teórico/prácticos mediante la vinculación, con oportunidad de acceder a becas, capacitaciones para el trabajo y educación basada en normas de competencia; ya sea mediante prácticas profesionales o a través de estancias técnicas, las cuales les permiten acceder a bolsas de trabajo o bien la oportunidad de colocación al egresar. Brinda una serie de cursos de capacitación para el trabajo para desarrollar habilidades de liderazgo e inteligencia emocional que tienen por objetivo fortalecer las habilidades socioafectivas, competencias y conocimientos técnicos de las y los jóvenes.

En cuanto al apoyo y/o soporte institucional, existe un trabajo en conjunto con profesores y jefes de grupo para la atención de las problemáticas de las y los estudiantes del plantel. En este sentido, se ha buscado trabajar en conjunto con los profesores, tutores, padres de familia y jefes de grupo con la intención de generar mayor participación juvenil dentro de un clima de confianza. Sin embargo, la pandemia y el cambio hacía la nueva normalidad han traído consigo problemáticas como roces entre los grupos, así como afectaciones psicológicas a las y los jóvenes.

En cuanto a la trayectoria educativa, el 80% de las y los participantes mencionaron que el plantel donde estudian fue su primera opción al elegir una escuela preparatoria, principalmente porque la oferta educativa tiene relación con sus planes a futuro, guarda cercanía con sus lugares de residencia, porque se ajusta a la economía familiar y porque sus amistades de secundaria y/o de la colonia también ingresaron a dicha institución. Por otro lado, el 100% tuvo acceso a becas durante su formación, el 100% a la beca "Benito Juárez", siendo el 20% de esta población jóvenes que, a parte de este apoyo también tuvieron acceso al programa "Becas Media Superior". Cabe destacar que el 70% de la población encuestada no tuvo acceso a prácticas profesionales, principalmente por las condiciones en el marco de la Pandemia por Covid-19.

Se encontró que la oferta educativa iba encaminada a sus planes a futuro, es decir, a sus planes de vida y carrera. En cuanto a los motivos por los que eligieron sus respectivas especialidades el 50% de las y los participantes destacó que en su área de elección hay mayores oportunidades laborales, siendo el 30% de la población total femenina quien respondió afirmativamente a este razonamiento. Sin embargo, se encontró que las credenciales educativas también son aliciente fuerte que las y los jóvenes toman en consideración al momento de elegir su carrera técnica, ya sea a partir de su contexto familiar, o bien mediante un autoanálisis de sus conocimientos y/o habilidades a fines a cada carrera. Por ejemplo:

> **-Informante estudiantil A del grupo B**: *Las opciones, supongo. Porque no sería buena en "las demás carreras"*[4]*, entonces, quedó "esta carrera"*[5](…). *Es una carrera interesante. Te ayuda como a ver más a futuro, por así decirlo. Porque ya ves que la tecnología cada vez se va innovando y todo, entonces a ti te enseña parte de eso.*

Así mismo, hay quienes conocieron la carrera gracias a que sus hermanos y/o hermanas estudiaron esa carrera, en el mismo plantel, por ejemplo:

[4] Comillas propias

[5] Comillas propias

> **-Informante estudiantil A del grupo B:** *Aquí estudiaba mi hermano y un día vine a ver el plantel y me gustó.*

En cuanto a las oportunidades de prácticas profesionales, mencionan que, debido al confinamiento por la pandemia de Covid-19, no tuvieron acceso a centros de prácticas profesionales, por lo que este rubro fue cubierto mediante cursos de actualización. Así mismo se identifican diversas problemáticas en cuanto a la adquisición de conocimientos y competencias técnicas. Por ejemplo:

> **- Informante estudiantil B del grupo C:** *De hecho, ahorita nos pueden platicar algo de un aspecto técnico y no sabemos, porque lo tomamos en línea. El semestre pasado fue nomas que una semana veníamos, una semana no veníamos y como que no llevamos un conocimiento mucho en los talleres…*

En lo que respecta a las fuentes ocupacionales, destacan la familia nuclear (padre, madre, hermanos y/o hermanas), familiares cercanos y la figura particular de la madre, como las principales fuentes ocupacionales de las y los jóvenes. La mayoría de las y los jóvenes encuestados viven con su núcleo familiar, conformado por padre, madre y hermanos(as).

Dentro de las principales problemáticas familiares durante la pandemia por Covid-19 se encontraron: problemas financieros, problemas de ansiedad, roces o peleas entre los miembros de la familia, incremento del gasto familiar, reducción de los ingresos laborales al 50% y separación de los padres.

En cuanto a sus aspiraciones ocupacionales, los principales motivos por los que las y los jóvenes mencionaron no querer continuar con sus estudios universitarios son debido a que no cuentan con los recursos económicos suficientes para acceder a una universidad, quieren ingresar a trabajar en el negocio familiar, quieren tener un negocio propio y porque las universidades están lejos de sus lugares de residencia. Por ejemplo:

> **-Informante estudiantil A del grupo D:** *Quiero entrar a trabajar… lo que más me motiva es de que, obviamente voy a estar generando dinero, espero ahorrar dinero y empezar a comprar obviamente la materia prima para poner en unos años mi negocio. Eso es lo que me motiva, porque es, por así decirle, mi sueño. Pero, por otro lado, pues obviamente quisiera hacer una pedagogía para tener una maestría o algo así.*

Un factor a destacar es que las y los jóvenes mencionan que, a pesar de querer ingresar a trabajar al finalizar sus estudios, quieren estudiar una carrera universitaria más adelante. Es decir, tienen la expectativa de empezar a trabajar para ahorrar y poderse costear sus estudios, o bien para decidir qué carrera quieren estudiar. En este sentido, puede decirse que el 100% de las personas entrevistadas quieren continuar sus estudios; el 36% quiere continuar una vez finalizados sus estudios técnicos y el 64% después de un periodo en el mercado laboral.

En las motivaciones que las y los participantes tienen para iniciar a trabajar, se encontró que en el trabajo encuentran un medio para cumplir sus sueños, seguir estudiando en un futuro, tener casa y auto propios, para pagarse sus propias cosas, tener estabilidad económica y ayudar a sus padres económicamente, porque las universidades están lejos de sus lugares de residencia, quieren emprender un negocio propio o porque no cuentan con los recursos necesarios para costear una carrera universitaria.

Por otro lado, el acto de trabajar representa una serie de valores, creencias y emociones, tales como: el trabajo es individual y en equipo, es un esfuerzo y compromiso, dedicación, una necesidad, un sustento de vida, un medio para obtener nuevos conocimientos y nuevas experiencias.

En relación, buscan un tipo de trabajo en el que puedan ganar el dinero suficiente para mantenerse a sí mismos, que les genere satisfacción, que les guste la actividad a la que se dediquen, tener su negocio

propio para ser su propio jefe, que tenga un horario cómodo, que les permita aprender nuevas cosas y tener nuevas experiencias. Estos aspectos guardan relación con aquello que les ha inculcado la familia respecto al trabajo, así como a sus propias aspiraciones ocupacionales. Por ejemplo:

> **-Informante estudiantil A del grupo B:** (Sus padres le decían) …*Principalmente que donde trabajes, tu entorno, que sea de bien, que tenga respeto entre trabajadores y sobre todo que tengan como buenas formas de pagos, que te valoren por lo que sabes hacer y lo que puedes hacer.*

Sobre sus creencias hacía el trabajo:

> **-Informante estudiantil A del grupo D:** *Se me hace algo que ya es. Sí o sí todos tenemos que trabajar y, en lo personal, a mí si me gusta trabajar, se me hace muy lindo trabajar, pero a otras personas no les gusta… porque se les hace muy pesado o no les gusta estar bajo órdenes de otras personas, o no les agrada en lo que están trabajando o algo así.*

Por otro lado, existe un sentimiento general de miedo e intriga en su sentido hacía el trabajo, ya sea por el temor a las repercusiones de cometer errores, sentimientos de incertidumbre hacía lo que pueda pasar o el trato que puedan recibir en su entorno de trabajo:

> **-Informante estudiantil A del grupo B:** *A mí me intriga mucho la verdad porque es como otro mundo, ósea ya no es como que te estás enfrentando de que, te equivocas en la escuela, lo puedes intentar al día siguiente. Pero a lo mejor, cuando ya estás trabajando, no puede haber como ese tipo de errores porque puede costar el trabajo de alguien más, o sea, miedo.*

Por último, las y los jóvenes mencionaron que, a causa del confinamiento, tuvieron problemas de ansiedad, estrés, depresión, bajo rendimiento escolar y perdida del entusiasmo por continuar estudiando; aunque existen casos en donde el confinamiento resultó positivo, ya sea porque ayudó en la disminución de gastos relacionados a la colegiatura, les permitió a las y los jóvenes ser más autodidactas en sus actividades o bien tuvieron mayor tiempo para realizar sus actividades académicas.

Discusión y conclusiones

A lo largo de la investigación, se identificaron las leyes, normatividades y dependencias gubernamentales como estructuras que están relacionadas indirectamente a las juventudes.

Estos factores políticos fungen como determinantes que pueden condicionar el desarrollo integral de las juventudes; sin embargo, no lo determinan. Por el contrario, existen contradicciones entre los objetivos plasmados en los planes de acción gubernamentales y los resultados en las experiencias vividas de las y los jóvenes. Por ejemplo, las problemáticas de acceso a la seguridad social, siendo la población juvenil una de las más afectadas. En este sentido, destaca el contexto social, político y económico durante la Pandemia por COVID-19, el cual agravó las dificultades de acceso a la seguridad social.

La Pandemia dificultó la adquisición de competencias técnico/prácticas de las y los estudiantes, generando una serie de fenómenos como el desconocimiento de algunos temas educativos, una falta de dominio de competencias laborales, dificultades para encontrar trabajo y un sentimiento de incertidumbre hacía el trabajo.

Por otro lado, el énfasis de las políticas públicas en la educación; si bien la SEJUVE (2020) menciona el reto educativo de generar mayor equidad en cuanto al estatus socioeconómico de las juventudes, una realidad es que quienes pertenecen a estratos más altos tienen mayores ventajas en comparación con aquellos de estratos más bajos. Esto se puede entrever cuando las juventudes mencionan que uno de los motivos por los que planean ingresar al mercado

laboral al finalizar sus estudios es porque no tienen los recursos suficientes para costear una carrera universitaria.

Bajo este contexto, se recupera la figura de las juventudes como agentes en cuanto sus posibilidades de acción y creación de significaciones. La importancia de considerar estos factores estructurales radica en el problema empírico del cómo la realidad puede pensarse en sus diferentes niveles de abstracción; puesto que las estructuras tienen diversos niveles de abstracción que interactúan con la praxis de los actores, sin que las estructuras se reduzcan solamente a la propia praxis.

Se identificó un modelo de triple hélice que busca generar vínculos entre la industria, la institución educativa y el gobierno para la adquisición de conocimientos, competencias y habilidades de las juventudes hacía el trabajo. Sin embargo, el aspecto social vivido durante la Pandemia por COVID-19 imposibilitó el acceso a prácticas presenciales, lo que provocó otras estrategias de evaluación y adquisición de estos conocimientos mediante cursos de capacitación virtuales, prácticas desde casa y prácticas híbridas. La significación que las juventudes dieron a estas experiencias se traduce en incertidumbre y desconocimiento principalmente.

Para esta investigación, la familia se constituye como la principal estructura por la cual, las y los jóvenes, construyen una serie de significados, valores y/o creencias hacía el trabajo. Los testimonios recabados destacan que el núcleo familiar (conformado por padre, madre y hermanos/as) es la principal fuente ocupacional. Es decir, a través de la familia es como las juventudes tienen sus primeros acercamientos hacía diversas ocupaciones; generalmente aquellas en donde se desempeñan los padres o hermanos/as mayores.

En este sentido, existe una internalización de valores, creencias y significaciones, desde la familia, que las juventudes configuran y reconfiguran con su paso institucional, dentro del proceso de incorporación al mercado de trabajo.

Bajo esta línea, se entiende que existe una serie de significaciones que las juventudes realizan, en primera instancia, desde las enseñanzas familiares y, en segunda, por las interacciones que tienen con su medio y dentro de su entorno institucional; las cuales no son estáticas, sino que pueden construirse y reconstruirse dentro de un amplio entramado de significados.

Estos elementos son importantes puesto que, como ya se ha mencionado, la familia se constituye como el principal medio por el cual las y los jóvenes construyen sus aspiraciones ocupacionales, sin embargo, elementos sociales (como la Pandemia por COVID-19), económicos, políticos e institucionales también construyen y reconstruyen esta serie de aspiraciones, así como las significaciones que las juventudes tienen hacía el trabajo.

En este sentido, el proceso de la construcción social de la ocupación no es estático, sino dinámico. Su desarrollo inicia en la niñez, pero no termina en la propia adolescencia y/o adultez temprana; puesto que las y los participantes demuestran rasgos de no estar totalmente seguros de que sus decisiones resultarán en aquello que tienen como expectativa ocupacional, identifican sentimientos de intriga y de miedo hacía el futuro y hacía la incertidumbre de las responsabilidades y entornos que les depara el mercado de trabajo.

Derivado de estos razonamientos cotidianos, las y los jóvenes han desarrollado su propia visión sobre el trabajo, la cual está atravesada por experiencias de su niñez y adolescencia, de elementos estructurales políticos, institucionales, económicos y sociales.

Los contextos: social, político, económico, institucional y familiar; bajo los que se desenvuelven las y los jóvenes es la clara muestra de que la construcción social de la ocupación obedece a un dinamismo que entra en un entramado de relaciones en constante cambio. De aquí lo importante de ver la

realidad, no como una observación del cambio, sino una en constante transformación que es impulsada por la interacción entre la acción, la subjetividad y los factores estructurales. Como ya se mencionó anteriormente, las políticas públicas enfocadas en jóvenes tienen por objetivo un desarrollo integral de la población denominada joven; sin embargo, su práctica empírica se traduce en un desarrollo desigual. En este sentido, análisis de estos procesos puede brindar aportaciones para comprender el cambio social de las juventudes.

Se trata de partir de lo dado-dándose, como esta articulación de las condiciones dadas-dándose. Las y los jóvenes construyen sus propias expectativas laborales, en función de su entorno inmediato, caracterizado por la familia, pero reforzado por los conocimientos técnicos institucionales y otros elementos presentes en la sociedad y en la cultura, entendiendo esta última como la acumulación social de significados.

Esta relación entre las estructuras y las juventudes no se encuentra determinada, existen ciertos márgenes de libertad que permiten esta construcción social de la ocupación, a partir de las posibilidades de acción, de la creación de significados y valores hacía el trabajo.

En conclusión, esta investigación permitió identificar una serie de estructuras que van más allá de los elementos estructurales planteados inicialmente en el primer eje articulador, las cuales se traducen en el contexto familiar, la institución educativa, la política pública y el aspecto social vivido durante la Pandemia por COVID-19. Son las relaciones entre estos elementos los que permiten dar respuesta a la pregunta central de la investigación, pues la relación entre estos elementos estructurales, sociodemográficos y significaciones subjetivas se da mediante el entramado de relaciones y praxis que las juventudes experimentan en su cotidianidad.

En primera instancia, por la familia, que es la estructura principal por la cual, las juventudes, construyen una serie de significados, valores y creencias hacia el trabajo. Segundo, la instrucción educativa juega un papel fundamental, puesto que es el lugar donde las aprehensiones generadas, en la etapa previa, hacía el trabajo se consolidan y/o se reconfiguran.

Es a partir de las instituciones educativas y de las relaciones sociales, que las juventudes mantienen una serie de conexiones donde generan significaciones correlativas, una identificación con ciertos actores y adquieren un lenguaje, conocimientos, competencias y habilidades técnicas que las preparan para el desempeño de una ocupación; con la expectativa de tener mayores oportunidades de empleabilidad.

Sin embargo, esta realidad no es lineal, sino que tiene claro-oscuros y contradicciones dentro del proceso del paso del seno familiar y/o formación educativa hacía el trabajo de las y los jóvenes; por ejemplo, los esfuerzos en materia de política pública para generar una mayor preparación educativa se ven reflejados en que las juventudes mencionen que quieren seguir estudiando un grado superior, algo que, en los objetivos institucionales, contrasta con la finalidad del Modelo Mexicano de Formación Dual de las escuelas técnicas en el municipio de Querétaro, en el sentido de capacitar a las y los estudiantes para el desempeño de una ocupación al finalizar sus estudios técnicos.

Una problemática de estas políticas enfocadas en la instrucción educativa es que las y los jóvenes que quieren entrar a trabajar al finalizar sus estudios de preparatoria, enfrentan una escasez condiciones favorables en cuanto al acceso a la seguridad social, salarios dignos, prestaciones y contrataciones en el mercado de trabajo que les permitan acceder a una estabilidad y seguridad laboral. Es decir, el escenario actual presenta oportunidades de empleabilidad con trabajos de baja calificación técnica, bajos salarios y falta de acceso a la seguridad social; aspectos que se agravaron con la Pandemia por COVID-19.

Por otro lado, el modelo de triple hélice atraviesa el desafío generar vinculaciones entre estos tres actores

institucionales bajo una nueva dinámica híbrida, la cual deberá considerar todas las implicaciones legales pertinentes. Esto recae nuevamente en el reto de encontrar un balance entre las prácticas profesionales híbridas, los cursos de capacitación, el acompañamiento institucional y el acompañamiento familiar para el desarrollo integral de las juventudes, al menos en estas esferas.

Con base en lo anterior, la importancia de esta investigación radica en la identificación de que los contextos sociales (caracterizados aquí por la Pandemia por COVID-19), económicos, institucionales y familiares intervienen en la construcción social de la ocupación, en cuanto su dinamismo y su entramado de relaciones en constante cambio.

Este análisis desde lo dado-dándose, permitió identificar que las juventudes son actores sociales transformadores, conscientes de sus capacidades y limitaciones en esta articulación entre su subjetividad, la acción en la coyuntura y las estructuras. Sin embargo, estos procesos no son lineales, se trata de desarrollos dinámicos, con claro-oscuros y llenos de contradicciones; dentro de los cuales el paso de la escuela al mercado de trabajo tampoco es una sucesión lineal del paso de la preparatoria a la universidad y, por último, al empleo, su proceso depende de diferentes aspectos transversales, tales como el género, la edad, el acceso a la salud, la salud mental, sus proyectos de vida, la desigualdad social, el acceso a la seguridad social, entre otros.

Referencias bibliográficas

De la Garza, Toledo, E. (2020). Revista Latinoamericana de Estudios del Trabajo, 25(40), 19-52.

Feregrino Basurto, M. (2018). Construcción social de la ocupación en el trabajo de arte urbano. Tendencias, XIX(2), 182-200.

Colegio Nacional de Educación Profesional Técnica. (2018). La Experiencia del CONALEP en la Formación Dual. Obtenido de https://www.gob.mx: https://www.gob.mx/conalep/es/documentos/la-experiencia-del-conalep-en-la-formacion-dual

Luna, Ruíz, E. (2021). La configuración productiva de las tiendas de conveniencia en la Zona Metropolitana de la Ciudad de Querétaro: el trabajo, entre el sector comercio y el sector financiero [Tesis de Doctorado]. Repositorio Institucional de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Maurizio, R. (2021). Empleo e Informalidad en América Latina y el Caribe: Una Recuperación Insuficiente y Desigual. Organización Internacional del Trabajo.

Organización Internacional del Trabajo (OIT). (2020). Empleo Juvenil en Tiempos de la Covid-19: El Riesgo de una "Generación del Confinamiento". Organización Internacional del Trabajo.

Secretaría de la Juventud del Poder Ejectuvo del Estado de Querétaro. (2020). PRODEJUQ 20-23. Secretaría de la Juventud del Poder Ejectuvo del Estado de Querétaro.

Centro de Estudios de las Finanzas Públicas. (2022). Políticas públicas para la juventud Anexo 17 "Erogaciones para el Desarrollo de los Jóvenes", 2022 vs 2021. Obtenido de Centro de Estudios de las Finanzas Públicas.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

SOMOS UAQ®
SERVIR CONSTRUIR TRANSFORMAR

MEMORIAS DEL 10° ENCUENTRO DE JÓVENES INVESTIGADORAS E INVESTIGADORES DEL ESTADO DE QUERÉTARO.

BLOQUE

INGENIERÍA Y TECNOLOGÍA

10° ENCUENTRO DE JÓVENES INVESTIGADORAS E INVESTIGADORES DEL ESTADO DE QUERÉTARO

"Ideas jóvenes para impulsar el crecimiento del país"

"Ideas jóvenes para impulsar el crecimiento del país"

INDICE

Daniel Cantón-Enríquez, Jorge-Luis Pérez-Ramos, Luis-Antonio Díaz-Jiménez, Selene Ramírez Rosales, Ana-Marcela Herrera-Navarro, Hugo Jiménez-Hernández	Modelo Bayesiano para el diagnóstico oportuno de enfermedades cardiacas
Gonzalo Castro Frías y Mario Trejo Perea	Diseño y fabricación de un ladrillo de Pet.
Héctor Giovani Estrada Romero, Juan Bosco Hernández Zaragoza, Teresa López Lara y Jaime Horta Rangel	”Análisis físico-mecánico de material compuesto cemento - celulosa”
Rosa Iris Godínez Santillán y Haydé Azeneth Vergara Castañeda	Quimioprevención del garambullo en el estadio temprano de cáncer de colon *in vivo*
Ana Mireya Guerrero Aguas, Sandra Karen Jiménez Pérez, Laura Daniela Torres Rodríguez, Mario Trejo Perea	Mejoramiento en el sistema de captación de agua potable en el río de la barranca Pinal de Amoles Querétaro.
Kevin Eduardo Guillén-Sosa, Alejandro Castañeda-Miranda	Desarrollo de un sistema inteligente de dispersión de luz dinámico para determinación del tamaño de partículas
Michelle Denisse Herrera Kuantay, Adriana Cházaro Zaharias	Elección del sistema de propulsión eléctrico de una Aeronave Remotamente Pilotada (RPA)
Eli Josué Ledezma Arellano y Mario Trejo Perea	Intervención antisísmica en edificios afectados por terremotos mediante simulación
Alejandra Ramón Mendoza, Miriam Berenice López Plaza y Moisés Torres Rivera	Instrumentación y análisis energético durante vuelo semiautónomo de hexacóptero
Alan Fernando Nolasco Ocampo, Juan Bosco Hernández Zaragoza, Teresa López Lara y Jaime Moisés Horta Rangel	Diseño de un concreto hidráulico mezclado con material bentonitico.
Oliva Cansino César Osvaldo Sánchez Ochoa Karla Patricia Yáñez Petronilo Sixto y José Gabriel Ríos Moreno	Implementación de materiales reciclados en la construcción de aceras
Oscar Eduardo Ortiz Contreras, María de los Ángeles Cuán Hernández, Rufino Nava Mendoza, Carlos Martín Cortés Romero	Estudio teórico de la actividad reductora de la quercetina

J.C. Rosas-Valencia y Reyes Araiza, José Luis	Efectos de las cargas a flexión pura en WPC
César Augusto Martínez Macías Erick Josué Pacheco Montaño Alfredo García Rojas Jesús Eduardo Toral Orta y José Gabriel Ríos Moreno	Diseño en simulación en baldosas piezoeléctricas
Vera Olvera José Angel, Perez Mitzi Gerardo, Mario Trejo Perea	Encofrados de alternativas plásticas
D. A. Zamora-Camacho, P. D. Gómez-Barrales, B. Molina-Espinoza, T. L. Rangel-Ramírez, G. E. Mejía-Hernández, C. G. Flores-Hernández, M. B. Ortuño-López	Robot hexápodo para misiones de búsqueda y rescate en estructuras colapsadas.

Modelo Bayesiano para el diagnóstico oportuno de enfermedades cardiacas.

Daniel Cantón-Enríquez*, Jorge-Luis Pérez-Ramos, Luis-Antonio Díaz-Jiménez, Selene Ramírez-Rosales, Ana-Marcela Herrera-Navarro, Hugo Jiménez-Hernández*

Laboratorio de Percepción Artificial, Facultad de Informática, Universidad Autónoma de Querétaro, México.

*Correspondencia: daniel_ce92@outlook.com; hugojh@gmail.com

Resumen. El diagnóstico oportuno de enfermedades cardiacas ayuda a los médicos especialistas a la toma de decisiones en la salud de pacientes que sufren algún malestar cardiaco. Para ello, el uso de técnicas de aprendizaje automático es una alternativa eficiente para identificar estructuras y comprender los síntomas relacionados con las enfermedades cardiacas. En este trabajo, se desarrolló un modelo probabilístico con enfoque Bayesiano para el diagnóstico oportuno de enfermedades cardiacas. Este modelo utiliza la regla de Bayes e hipótesis simplificadoras basadas en la independencia probabilística entre las variables clínicas. Primero, en el aprendizaje del modelo Bayesiano se considera el tipo de distribución en cada variable clínica. Luego, se evalúa el rendimiento del modelo usando las métricas de la matriz de confusión. Por último, los resultados obtenidos indican que la propuesta de considerar el tipo de distribución de cada variable clínica en el aprendizaje del modelo Bayesiano mejora el rendimiento con respecto a la forma tradicional de considerar un comportamiento Gaussiano en cada variable.

Palabras clave: Aprendizaje automático, diagnóstico médico, enfermedades del corazón, regla de Bayes.

Abstract. The timely diagnosis of heart disease helps medical specialists to make decisions about the health of patients suffering from heart disease. For this, the use of machine learning techniques is an efficient alternative to identify structures and understand the symptoms related to heart disease. In this work, a probabilistic model with a Bayesian approach was developed for the timely diagnosis of cardiac diseases. This model uses the Bayes rule and simplifying assumptions based on the probabilistic independence between the clinical variables. First, in learning the Bayesian model, the type of distribution in each clinical variable is considered. Then, the performance of the model is evaluated using the metrics from the confusion matrix. Finally, the results obtained indicate that the proposal to consider the type of distribution of each clinical variable in learning the Bayesian model improves performance with respect to the traditional way of considering a Gaussian behavior in each variable.

Keywords: Machine Learning, Medical Diagnosis, Heart Disease, Bayes Rule.

Introducción

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2020), menciona que las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte a nivel mundial con 17.9 millones de muertes cada año. En México, los infartos al miocardio y accidentes cerebrovasculares causan la muerte de aproximadamente 150,000 personas al año, especialmente de infarto agudo al miocardio (UNAM, 2020).

En este contexto, existen diferentes factores que complican el diagnóstico oportuno de una enfermedad cardiaca: (1) la escasez de cardiólogos, médicos especialistas, que tratan estas enfermedades; (2) deficiente distribución de los cardiólogos en el país, concentrándose en las principales áreas metropolitanas; y (3) factores alimenticios, tal como, alto consumo de sal, falta de ejercicio físico y consumo de tabaco.

No obstante, el avance de la tecnología ha permitido crear bases de datos a partir de la información obtenida de análisis clínicos, lo que nos da la oportunidad de desarrollar herramientas que ayuden en el diagnóstico clínico oportuno de pacientes que tienen estos padecimientos. En años recientes el uso de técnicas de Aprendizaje Automático (AA) para la toma de decisiones en condiciones de incertidumbre se ha incrementado notablemente.

Existen tres conceptos que están en el centro del AA: (i) datos, (ii) un modelo y (iii) aprendizaje. Dado que el AA está impulsado por datos, (i) los datos son el núcleo del AA. El objetivo del AA es diseñar metodologías de propósito general para detectar patrones útiles de los datos, de forma ideal sin mucha experiencia en un dominio específico (Murphy, 2021). Para lograr este objetivo, se diseñan (ii) modelos que normalmente están relacionados con el proceso que genera datos, de forma similar al modelo del conjunto de datos que se proporciona. De acuerdo con Mitchell (1997), el objetivo es encontrar buenos modelos que generalicen bien datos aún no vistos, que puedan ser útiles en el futuro. Por último, (iii) el aprendizaje se puede entender como una forma de aprendizaje para encontrar de forma automática patrones y/o estructuras en los datos mediante la optimización de los parámetros del modelo.

Por otro lado, existen un amplio número de métodos y técnicas utilizadas en AA. Tradicionalmente, el AA se puede dividir en tres categorías, que corresponden con el paradigma de aprendizaje. El primer tipo es el aprendizaje supervisado o predictivo, donde el objetivo es aprender una correspondencia de las entradas x a las salidas y, dado un conjunto etiquetado de tuplas entradas-salidas $D = \{x_i, y_i\}_{i=1}^{N}$; donde D es el conjunto de entrenamiento y N es el número de ejemplos de entrenamiento. El segundo tipo de aprendizaje es el no supervisado o descriptivo. Donde solo se tiene las entradas $D = \{x_i\}_{i=1}^{N}$ y el objetivo es encontrar las estructuras o patrones interesantes en los datos, dicho enfoque también es conocido como descubrimiento de conocimiento. Este último es un problema complejo de resolver por carecer de una estructura definida, ya que no se conoce que patrón de búsqueda y no existe métrica de comparación a diferencia del aprendizaje supervisado. Por último, hay un tercer tipo de aprendizaje, conocido como aprendizaje por refuerzo, en el que un agente interactúa secuencialmente en un entorno inicialmente desconocido, pero en el que aprende cómo actuar o comportarse cuando se le dan señales ocasionales de recompensa o castigo.

Por otro lado, los algoritmos de AA se pueden dividir de acuerdo con el problema que se busca resolver. En la Figura 1, se muestran las principales tareas dentro del AA, las cuales pueden variar de acuerdo con los distintos autores. Por ejemplo, Deisenroth y otros (2020), solo reconocen cuatro de las seis tareas excepto agrupamiento y causalidad. En contraste Murphy (2021), reconoce todas las tareas descritas, excepto la causalidad. Si bien, el problema de asumir o determinar una relación causa-efecto, no es un problema reciente (Pearl, 1985). El desarrollo de modelos causales ha cobrado una importancia fundamental en los últimos años. De acuerdo con Yoshua Bengio, co-ganador del premio Turing en 2018, la causalidad es muy importante para los siguientes pasos en el progreso del AA (Dhar, 2020).



Figura 1. Tareas dentro del aprendizaje automático. Elaboración propia.

En los estudios relacionado con la salud, el aprendizaje automático ha demostrado ser una poderosa herramienta en el diagnóstico de pacientes, tal como, diagnóstico de la enfermedad del Alzheimer (Zhang y otros, 2019); reconocimiento de COVID-19 por rayos X del tórax (Cortés y Sánchez, 2021); y diagnóstico del cáncer de mama (Yu y otros, 2021).

Por otro lado, se han utilizado técnicas de aprendizaje automático para el diagnóstico en diferentes problemas cardíacos, tal como, una red neuronal multicapa usando retro propagación (Durairaj y Revathi, 2015); el método de bosque aleatorio (Mohan y otros, 2019); y la máquina de soporte vectorial (Boukhatem y otros, 2022).

En el presente trabajo, se desarrolla un modelo probabilístico con enfoque Bayesiano para el diagnóstico oportuno de enfermedades cardiacas. Para ello, se asume como hipótesis la independencia probabilística entre las características (variables clínicas). También, se considera la naturaleza de la distribución de cada característica la cual puede ser discreta o continua. Finalmente, el modelo Bayesiano se puede representar como un tipo de modelo gráfico probabilístico en forma de estrella.

El resto del artículo está organizado de la siguiente manera. En §2 se presentan los materiales y métodos utilizados para el desarrollo del modelo probabilístico con enfoque Bayesiano. En §3 se muestran los resultados obtenidos del aprendizaje y la evaluación del modelo. Así como la discusión de los resultados. Por último, las conclusiones y trabajos a futuro son presentados en §4.

Materiales y métodos

Descripción de los datos

El conjunto de datos utilizados fue "*Heart Disease Dataset*" del repositorio de datos para aprendizaje automático de la Universidad de California Irving (UCI, 1988). Los datos fueron medidos y recolectados por la Fundación Clínica de Cleveland (FCC), con 283 datos de pacientes como muestra. En la Tabla 1, se muestran las trece características del conjunto datos. Además, la distribución de los datos es de 157 casos con insuficiencia cardiaca (55%) y 126 casos con ausencia de insuficiencias cardiacas (45%). Por otro lado, la distribución de cada una de las variables se muestra en la Figura 2.

Tabla 1. Variables del conjunto de datos utilizado. Elaboración propia.

Nombre	Tipo	Descripción
Age	Continua	Edad en años
Sex	Discreta	1 = hombre 0 = mujer
Cp	Discreta	Tipo de dolor en el pecho: 1 = angina típica 2 = angina atípica 3 = pa sin angina 4 = asintomático
Trestbps	Continua	Presión arterial en reposo (en mm Hg al ingreso al hospital)
Chol	Continua	Colesterol sérico en mg / dl
Fbs	Discreta	Azúcar en sangre en ayunas >120 mg/dl (1 – verdadero; 0 = falso)
Restecg	Discreta	Resultados electrocardiográficos en reposo (0 = normal; 1 = teniendo ST-T; 2 = hipertrofia)
Thalach	Continua	Frecuencia cardiaca máxima alcanzada
Exang	Discreta	Angina inducida por ejercicio (1 = sí; 2 = no)
Oldpeak	Continua	Depresión del ST inducida por el ejercicio en relación con el reposo
Slope	Discreta	pendiente del segmento ST de ejercicio pico (1 = pendiente ascendente; 2 = plano; 3 = pendiente descendente)
ca	Discreta	número de vasos principales (0-3) coloreados por la floración
Thal	Discreta	1 = normal; 2 = defecto fijo; 3 = defecto reversible

Fundamentación teórica

El modelo probabilístico con enfoque Bayesiano es un modelo condicional que resuelve un problema de clasificación, representado por un vector $x = (x_1, \dots, x_n)$ que representa n características asignadas como probabilidades, se define en la Ecuación 1.

$$P(C_k|F_1, F_2, \dots, F_n) \quad (1)$$

donde cada k son los posibles resultados de una clase C_k. Esta variable está condicionada a que se cumplan

ciertas variables independientes $x_1, \ x_2, \dots, x_n$, usando el teorema de Bayes, véase Ecuación 2.

$$P(C_k|x_1, x_2, \dots, x_n) = \frac{P(C_k) \cdot P(\boldsymbol{x}|C_k)}{P(\boldsymbol{x})} \quad (2)$$

En la práctica, se presta especial atención en el numerador, porque el denominador no depende de C_k. Por lo tanto, se conocen los valores x_i de modo que el denominador es constante. En el numerador, se aplica la regla del producto para eventos dependientes, véase Ecuación 3.

$$P(x_1, x_2, \dots, x_n, C_k) \quad (3)$$

Noté que $P(x_1, x_2, \dots, x_n, C_k)$ es una probabilidad conjunta, es decir, $x_1, x_2, \dots, x_n, C_k \equiv x_1 \cap x_2 \cap \dots \cap x_n \cap C_k$, la cual se reescribe utilizando la regla de la cadena para aplicaciones repetidas de la definición de probabilidad condicional, véase Ecuación 4.

$$\begin{aligned} P(x_1, x_2, \dots, x_n, C_k) & \\ &= P(x_1|x_2, \dots, x_n, C_k) \\ &\cdot P(x_2|x_3, \dots, x_n, C_k) \\ &\cdot P(x_{n-1}|x_n, C_k) \cdot P(x_n|C_k) \\ &\cdot P(C_k) \end{aligned} \quad (4)$$

Luego, se toma en cuenta el concepto de independencia probabilística, donde, se asume que cada x_i variable es independiente de cualquier otra x_j para $i \neq j$ cuando se encuentran condicionadas a C, véase Ecuación 5.

$$P(x_i|x_{i+1}, \dots, x_n, C_k) = P(x_i|C_k) \quad (5)$$

En consecuencia , el modelo de probabilidad conjunta se expresa en la Ecuación 6.

$$\begin{aligned} P(C_k|x_1, x_2, \dots, x_n) &\propto P(x_1, x_2, \dots, x_n, C_k) \\ &\propto P(C) \cdot P(x_1|C) \cdot P(x_2|C_k) \\ &\cdot \dots \cdot P(x_n|C_k) \\ &\propto P(C_k) \cdot \prod_{i=1}^{n} P(x_i|C_k) \end{aligned} \quad (6)$$

De modo que, bajo los supuestos de independencia anteriores, el modelo probabilístico con enfoque Bayesiano se define en la Ecuación 7.

$$P(C_k|x_1, x_2, \dots, x_n) = \frac{1}{Z} P(C_k) \cdot \prod_{i=1}^{n} P(x_i|C_k) \quad (7)$$

Donde Z es un factor que depende exclusivamente de la evidencia de las características. Por último, se combina el modelo Bayesiano con una regla de decisión, en este caso se escoge la hipótesis que sea más probable para minimizar la probabilidad de clasificación errónea. El clasificador resultante se define en la Ecuación 8.

$$\hat{y} = \underbrace{argmax}_{k \in \{1, \dots, k\}} [P(C_k) \prod_{i=1}^{n} P(x_i|C_k)] \quad (8)$$

Proceso de aprendizaje

Cada característica tiene una distribución específica, la cual depende de la naturaleza de los datos. Las características utilizadas usan las distribuciones discretas de tipo Bernoulli y Binomial; y la distribución continua de tipo Gaussiana, véase las Ecuaciones (9-11).

$$f(k, p) = \begin{cases} p, & k = 1 \\ q = 1 - p, & k = 0 \end{cases} \quad (9)$$

$$f(k, n, p) = \binom{n}{k} p^k (1-p)^{n-k} \quad (10)$$

$$f(x; \mu, \sigma) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{x-\mu}{\sigma}\right)^2} \quad (11)$$

Para la experimentación, el conjunto de datos *Heart Disease* fue dividido en dos subconjuntos: (1) conjunto de datos de entrenamiento con 75% de los datos; y (2) conjunto de datos de prueba con 25% de la información.

Proceso de evaluación

En la medición del rendimiento para la clasificación realizada por el modelo Bayesiano se tiene la matriz de confusión. Los elementos de la matriz de confusión son: (1) Verdaderos Positivos (VP), pacientes que tenían enfermedades cardiacas y estaban correctamente diagnosticados; (2) Verdaderos Negativos (VN), pacientes que no tenían enfermedades cardiacas y estaban correctamente diagnosticados; (3) Falsos Negativos (FN), pacientes

que tenían enfermedades cardiacas y fueron mal diagnosticados; y (4) Falsos Positivos (FP), pacientes que no tenían enfermedades cardiacas y fueron mal diagnósticos. En la industria médica, los FN son las predicciones más peligrosas. Las diferentes métricas de rendimiento se calcularon utilizando una matriz de confusión. La fórmula de exactitud está dada por la Ecuación 12.

$$Exactitud = \frac{VP+VN}{VP+VN+FN+FP} \quad (12)$$

La precisión es el valor positivo predicho definido por la Ecuación 13.

$$Precision = \frac{VP}{VP+FP} \quad (13)$$

La exhaustividad es la proporción de pacientes con enfermedades cardiacas, véase Ecuación 14.

$$Exhaustividad = \frac{PV}{PV+FN} \quad (14)$$

El valor F1, también conocido como *Score-F1*, es considerado un promedio armónico entre la precisión y la exhaustividad, véase Ecuación 15.

$$F1_{Score} = 2\left(\frac{Precisión \cdot Exhautividad}{Precisión+Exhautividad}\right) \quad (15)$$

Resultados y su discusión

Después de obtener la predicción, se discute el rendimiento del modelo Bayesiano. Para esto, se contrasta nuestra propuesta de aprender cada variable clínica con respecto a su tipo de distribución contra la forma tradicional de asumir que todas las variables tienen un comportamiento Gaussiano. En la Tabla 2, se puede observar los rendimientos del modelo Bayesiano con respecto al tipo de distribución que se considera en cada variable.

Tabla 2. Comparación del rendimiento en el modelo Bayesiano. Elaboración propia.

Distribución	Exactitud	Precisión	Exhaustividad	F1
Gaussianos	68.57%	62.75%	91.43%	74.42%
Gaussiano, Exponencial, Binomial y Bernoulli	80%	75.61%	93.62%	81.58%

Basado en los resultados, se demuestra que un modelo Bayesiano que considera el tipo de distribución en cada variable clínica conlleva a una mejora sustancial en todas métricas. Esto es importante cuando un conjunto de datos tiene una mezcla de distribuciones discretas y continuas. Por lo tanto, se recomienda tomar en cuenta la distribución de los datos, como paso previo al entrenamiento de un modelo de aprendizaje automático.

Conclusiones y trabajos a futuro

En este trabajo se desarrolla un modelo probabilístico con enfoque Bayesiano para diagnóstico oportuno de enfermedades cardiacas. Este modelo se fundamenta en la regla de Bayes y la hipótesis que asume que las variables son independientes. Si bien, el modelo bayesiano funciona en muchos dominios, en ocasiones su rendimiento decrece debido a que los atributos no son condicionalmente independientes como se asume. Además, algunas variables son de tipo discreto por lo que asumir una distribución continua no es lo más adecuado.

Los resultados obtenidos en este trabajo confirman esta hipótesis, al presentar un mejor rendimiento en la evaluación del modelo Bayesiano que considera cada tipo de variable clínica con respecto a su tipo de distribución. Así mismo, este modelo se puede representar gráficamente como un tipo particular de red Bayesiana en forma de estrella por la hipótesis de independencia entre las variables. Cabe destacar, que el modelo Bayesiano desarrollado se encuentra en proceso de protección intelectual ante el INDAUTOR.

Como trabajo a futuro, se propone considerar dependencias entre las variables, es decir, construir un tipo de red bayesiana que considere la relación causal entre las variables. Por otro lado, se propone realizar un análisis multivariable del conjunto de datos que se utilice para identificar las variables que más aportan en el caso de estudio. Por último, este modelo Bayesiano puede aplicarse en una gran variedad de

estudios donde se considere resolver problemas predictivos de variable discreta.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Centro de Investigación e Innovación en Ciencias de la Computación y Tecnología Educativa (CIICCTE) de la Facultad de Informática de la UAQ por el espacio brindado para la realización de este trabajo.

Referencias

Boukhatem, C., Youssef, H. Y., & Nassif, A. B. (2022, February). Heart Disease Prediction Using Machine Learning. In 2022 Advances in Science and Engineering Technology International Conferences (ASET) (pp. 1-6). IEEE.

Cortés, E., & Sánchez, S. (2021). Deep Learning Transfer with AlexNet for chest X-ray COVID-19 recognition. IEEE Latin America Transactions, 19(6), 944-951.

Deisenroth, M. P., Faisal, A. A., & Ong, C. S. (2020). Mathematics for Machine Learning. Cambridge University Press.

Dhar, P. (2020, Octubre 29). IEEE Spectrum. Retrieved from https://spectrum.ieee.org/understanding-causality-is-the-next-challenge-for-machine-learning

Durairaj, M., & Revathi, V. (2015). Prediction of heart disease using back propagation MLP algorithm. International Journal of Scientific & Technology Research, 4(8), 235-239.

OMS (2020). Enfermedades cardiovasculares. Organización Mundial de la Salud. Revisado 16 octubre de 2021, de https://www.who.int/es/health-topics/cardiovascular-diseases

Mitchell, T. M. (1997). Machine Learning. McGraw-Hill.

Mohan, S., Thirumalai, C., & Srivastava, G. (2019). Effective heart disease prediction using hybrid machine learning techniques. IEEE access, 7, 81542-81554.

Murphy, K. P. (2021). Machine Learning: A Probabilistic Perspective. London, England: MIT Press.

Pearl, J. (1985). Bayesian netwcrks: A model of self-activated memory for evidential reasoning. Irvine, California: UCLA Computer Science Department Technical Report 850021.

UCI (1988). Heart Disease Dataset. Universidad de California Irvine. Revisado 8 de octubre de 2021, de https://archive.ics.uci.edu/ml/datasets/heart+disease

UNAM (2020). Enfermedades del corazón, pandemia permanente. Boletín UNAM de la Dirección de Comunicación Social. Revisado 16 de octubre de 2021, de https://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2020_811.html

Yu, K., Tan, L., Lin, L., Cheng, X., Yi, Z., & Sato, T. (2021). Deep-learning-empowered breast cancer auxiliary diagnosis for 5GB remote E-health. IEEE Wireless Communications, 28(3), 54-61.

Zhang, F., Li, Z., Zhang, B., Du, H., Wang, B., & Zhang, X. (2019). Multi-modal deep learning model for auxiliary diagnosis of Alzheimer's disease. Neurocomputing, 361, 185-195.

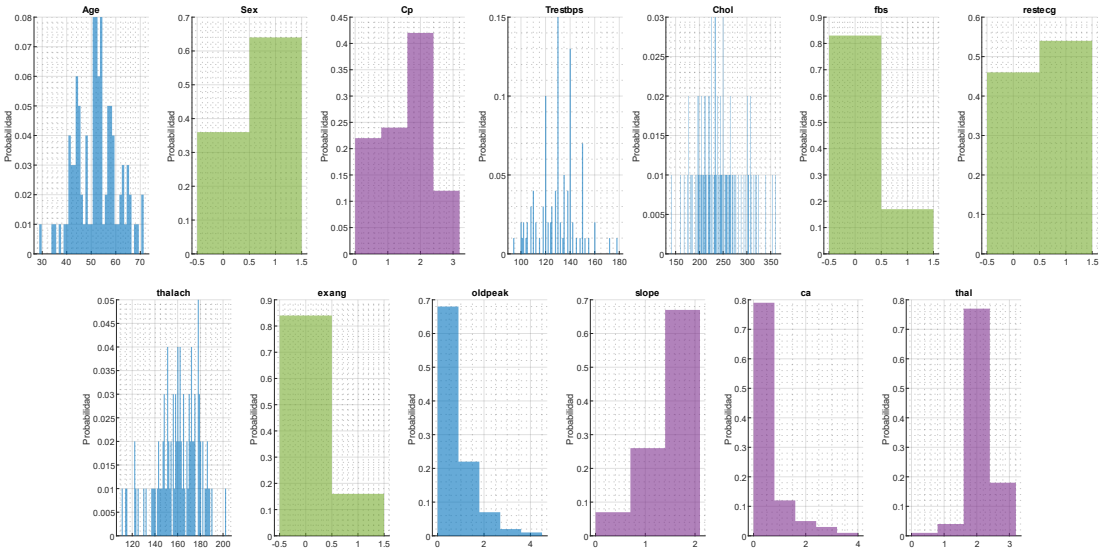


Fig. 2. Distribuciones de las variables del conjunto de datos de enfermedades cardiacas.

Diseño y fabricación de un ladrillo de pet.

Gonzalo Castro Frías
Facultad de Ingeniería
Departamento de Ingeniería Civil
Universidad Autónoma de Querétaro
Querétaro, México
gonxo012@outlook.com

Mario Trejo Perea
Facultad de Ingeniería
Universidad Autonoma de Querétaro
Querétaro, México

Resumen: El requerimiento mínimo de 2 toneladas de materia prima necesarias para la construcción de cada m^2 de una casa, es un reflejo de la enorme cantidad de energía contaminante que se genera a partir de la creación de una casa, además, en el 2018 hubo 396 millones de toneladas de plástico, cifra que se espera se duplique en 20 años. En base a este problema, se realizó el diseño de un ladrillo de pet, a través de SolidWorks. Para luego realizar el molde de este y hacer la fabricación de estos, con el fin de conocer las características de estos, así como su ensamblaje y el impacto ambiental tendrían.

Abstract: The minimum requirement of 2 tons of raw material necessary for the construction of each m^2 of a house, is a reflection of the enormous amount of polluting energy that is generated from the creation of a house, in addition, in 2018 there were 396 million tons of plastic, a figure that is expected to double in 20 years. Based on this problem, the design of a pet brick was made through SolidWorks. To then make the mold of this and make the manufacture of these, in order to know their characteristics, as well as their assembly and the environmental impact they would have.

Palabras Clave: Arquitectura sostenible, Reciclaje, Ladrillo ecológico, Construcción, Impacto positivo, Medio ambiente.

Keywords: Sustainable architecture, Recycle, Economy, Construction, Positive impact, Environment.

Introducción: Actualmente el planeta está pasando por el cambio climático, el cual se da en gran parte por el ser humano, ya que el incremento de población, genera un aumento en la demanda de recursos, recursos que suelen ser altamente contaminantes. Por lo tanto, diversos países tienen la problemática de la generación de residuos inorgánicos que producen diariamente, ya que, gran parte de estos residuos, no se pueden reutilizar, o no se encuentran nuevos caminos para reutilizarlos, entre los residuos inorgánicos que más destacan, esta el plástico [1,2].

Tomando en cuenta la producción masiva de plásticos que año tras año, va en aumento. Pues en el año 2018 se produjeron alrededor de 396 millones de toneladas de plástico, siendo 48 millones de toneladas más que en 2017. Siendo lo más grave, que esta cifra se espera que se duplique en tan solo 20 años [3,4].

Agregando que durante el apogeo del COVID-19, que inevitablemente derivó en pandemia, el problema de la producción de plástico fue en aumento, debido a la producción

de desechos biomédicos, lo que generó un aumento exponencial en la producción de este material altamente contaminante [5].

Tanta producción de estos materiales es claramente un problema alarmante, ya que ha generado importantes problemas para la salud humana y el medio ambiente, principalmente al provocar la contaminación de las aguas subterráneas, así como el aumento de las emisiones de gases de efecto invernadero, el riesgo de incendios y explosiones, entre otros problemas que cada vez son más comunes. Sabiendo también que el plástico es un material que puede tardar miles de millones de años en degradarse, es importante encontrar un segundo uso para este material [4].

El pet siendo un polímero plástico, el cual se obtiene por medio de un proceso, donde se emplean ácidos como el tereftálico y el monoetilenglicol. Es un material apto para ser transformado mediante diversos procesos, el pet puede ser totalmente reciclado, además, tienen una buena resistencia ante el desgaste, y un gran comportamiento ante los esfuerzos, entre otras, característica que lo vuelven un buen material para ser reutilizado de diversas maneras. Este material es sumamente visto en productos envasados, sin embargo gran parte de este material no se reutiliza, lo que genera que gran parte de los basureros contengan productos de pet, siendo un tipo de plástico, este material dura varios años en degradarse [6-8].

Sin embargo este no es el único problema a tratar en este artículo, ya que, si consideramos que en México, así como en otros países, los ladrillos de barro recocido en horno, son muy utilizados para la construcción de viviendas, debido a sus propiedades térmicas y a su costo, el cual ronda los 3 a 5 pesos mexicanos por unidad y 170 pesos mexicanos por metro cuadrado [9].

Debemos de ser conscientes que su proceso de fabricación es sumamente contaminante, lo que nos genera el problema de la emisión de los gases nocivos, que su proceso de fabricación genera. Ya que estos utilizan combustibles como: leña, llantas, madera, plásticos, textiles, aceite usado de motor, gas LP, diesel, aserrín, fuel oil, entre otros. Combustibles, que al ser incinerados, emiten una gran cantidad de gases a la atmósfera, como dióxido de carbono, dióxido de azufre y partículas sólidas. Igualmente hay que tener en cuenta que por cada m^2 de vivienda, se requieren 2 toneladas de materia prima, ya que así, podemos asumir el gran impacto ecológico que estos crean en nuestro planeta. Debido a estas razones los ladrillos, tejas y otros productos de barro cocidos en hornos se han convertido en un problema ecológico en muchas ciudades de la República Mexicana y países del tercer mundo [10,11].

De igual manera no es solo el plástico o sus derivados el único problema que afrontamos, por lo que debemos estar abiertos a usar diferentes materiales contaminantes, con el fin de reutilizarlos, para que estos sean sostenibles. De esta forma tenemos la responsabilidad de generar soluciones, ante estos problemas.

Por estas razones el presente artículo expondrá una alternativa en base a las problemáticas de la fabricación desmedida de pet y lo contaminante que es la generación de

los ladrillos de barro recocido.

Para realizar dicha alternativa se realizará el diseño en SolidWorks de un ladrillo con facilidad en su ensamble, para posteriormente hacer el molde de este y por medio de la fundición de pet, crear 3 muestras distintas de estos ladrillos, para finalmente sacar conclusiones acerca de qué uso podrían tener estos, conocer las áreas de oportunidad de estos y el impacto que pueden tener.

Metodología: Primeramente se realizo el diseño del ladrillo en SolidWorks, este diseño cuenta con las medidas similares a un típico ladrillo rojo con medidas de 5 cm de alto, 12 cm de ancho y 23 cm de largo. Mientras que las aperturas rectangulares tienen una profundidad de 1.5 cm y el cateto del triángulo tiene una altura de 1.5 cm.



Fig. 1. Diseño de ladrillo de pet.

Este diseño se realizó ya que se considera, que a la hora en que estos se ensamblen, se logrará esto, de una manera sencilla. Ya que realmente necesitarán una menor cantidad de mezcla para ensamblarlos, igualmente se considera, que estos obtendrán una mayor resistencia ante la compresión, una vez que estén ensamblados, a continuación se mostrará la forma en que estos se ensamblan .

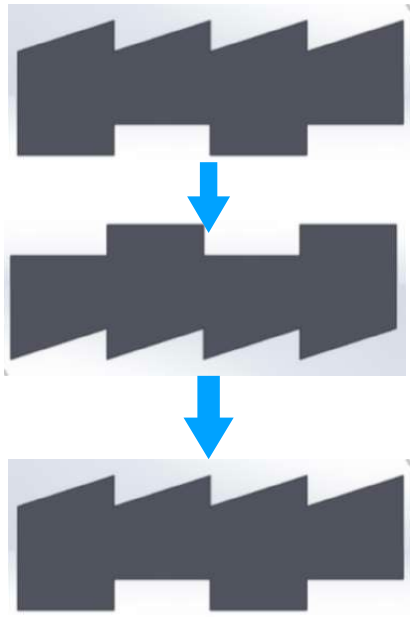


Fig. 2. Ensamblaje.

Igual hay se debe mencionar que a este diseño se le deberán eliminar los huecos rectangulares cuando se trate que de ladrillos estén a ras de una superficie o sean los últimos del muro, además que para abarcar toda la superficie del muro, se deberán colocar de manera que este medio cuero de ladrillo encima del otro.

Una vez que realizado el diseño se pasó a sacar medidas con las que contara el molde, con el fin de fabricarlo con tablones de madera.

El molde tiene las siguientes medidas, tomando en cuanta el ancho del tablón, el cual fue de 1 cm. Para las partes de abajo y arriba se usaron 2 tablones de 12x2, para los laterales se usaron 2 tablones de 14x6, 2 tablones de 6x23 y finalmente, 2 tablones de 23x3 para hacer la base. Igualmente aclara que los centímetros que se aumentaron están con el fin de poder ajustar y clavar los tablones en base a lo ancho de estos.

Para darle la forma tan peculiar se requieren 2 tablones de 6x12 cm y 4 tablones en forma triangular de cateto de 1.5 cm y 6x6 cm de base.

Una vez obteniendo estas medidas, se fue a una a carpintería a cortar a los tablones a las medidas correspondientes, además se compraron 20 clavos para así juntar los tablones.

Ya que tenemos los tablones y los clavos, se marco en los tablones donde se van a colocar los clavos, con el fin de garantizar la forma del diseño del ladrillo por dentro del molde, para posteriormente juntarlos y así crear el molde.



Fig. 3. Molde.

Una vez que hemos creado el molde, se tomó 780 gramos de nuestra materia prima, el cual es el pet. Este material fue seleccionado debido a todas las problemáticas que este material genera en el planeta. Igualmente aclarar que para usar este material, primero se debe reducir, cortándolo para que así la olla pueda abarcar toda la cantidad y además, para que al derretirlo se nos dificulte menos.

Con nuestra materia prima lista, se pasó a derretirla en la estufa con una olla y su respectiva tapadera, para que por medio del calor y la presión el pet se derritiera más rápido.



Fig. 4. Derritiendo el pet.

Mientras se derretía el pet se tiene que barnizar el molde con aproximadamente 200 ml de aceite de cocina, por medio de una brocha, con el fin, de que el pet derretido no se quede, pegado al molde.

Después de esperar por aproximadamente una hora con quince minutos a flama baja, el pet se encontrará derretido. Por lo que se pasará a echar el pet derretido al molde barnizado con aceite, haciendo que el pet derretido tope con el fondo del molde por medio de un tablón que no se uso, ya que este está sumamente caliente, después de colocar todo el pet derretido, se colocar la tapa y por medio de los clavos y destornillador, se apretar el molde para que nuestra materia prima, se encuentre completamente comprimida en el molde.



Fig. 5. Añadiendo el plástico derretido en el molde.

Luego de todo este proceso, se esperó a que el pet se enfriara por un periodo de 12 hrs. Una vez pasando este tiempo de espera, se pasó a abrir el molde, por medio del desarmador, para así poder sacar, el respectivo ladrillo. Este proceso se realizó en otras 2 ocasiones más, con el fin de obtener 3 ladrillos de pet, con el diseño propuesto.

Resultados: Se obtuvieron 3 diferentes ladrillos, con el fin de observa su ensamblaje, el primer ladrillo que se obtuvo con medidas de 5 cm de alto, 12 cm de ancho y 23 cm de largo. Tiene un peso de 750 gramos, este ladrillo estuvo una hora, calentándose en la estufa. Aún embargo a este le faltó un poco más tiempo para derretirse por completo, pues aún se puede apreciar un pedazo de botella de pet, en este.



Fig. 6. Primer ladrillo.

El segundo ladrillo obtenido con unas medidas de 4 cm de alto, 12 cm de ancho y 23 cm de largo. Tiene un peso de 700 gramos, ya que 80 gramos terminó siendo desperdicio, pues seguramente no todo el pet estuviera bien secado o además hubo cierto residuo que terminó siendo desperdicio. El pet estuvo una hora y diez minutos calentándose en la estufa.



Fig. 7. Segundo ladrillo.

El tercer ladrillo tiene unas dimensiones de 4 cm de alto, 12 cm de ancho y 23 cm de largo. Este perdió 80 gramos debido a que seguramente se pasó de tiempo, pues estuvo una hora y media en la estufa, debido a esto obtuvo el mismo peso que el segundo, el cual es de 700 gramos.



Fig. 8. Tercer ladrillo.

A partir de los 3 ladrillos que obtuvimos, el

ensamblarlo no requirió de mezcla.



Fig. 9. Ensamblaje de ladrillos reales.

Discusión y Conclusiones: Una vez realizado los ladrillos se concluyó que se requiere aproximadamente de 800 a 850 gramos de pet para realizar uno de estos, ya que se debe tomar en cuenta el desperdicio que estos pueden generar. Estos ladrillos requieren aproximadamente de una hora con quince minutos en la estufa a lumbre baja, para que estos se derritan completamente. Asimismo se observó que es sumamente sencillo el ensamblaje, ya que en cuestión del ensamblaje rectangular es sumamente fuerte, por lo requerirá muy poca mezcla o puede que no requiera nada, sin embargo en su ensamblaje triangular si requería de mezcla o en cambio uno clavos que permitan de mejor manera su adherencia.

A estos ladrillos, se le intentó realizar pruebas acerca de sus resistencias, sin embargo debido a su forma, las pruebas no se pudieron realizar. Esto sucedió debido a que la carga aplicada no sería proporcional en toda la superficie del ladrillo, por lo que para conocer sus esfuerzo se requeriría de hacer ladrillos completamente rectangulares con pet o si se quiere conocer su esfuerzo en cuanto ensamblaje, se debería realizar un pequeño muro simétrico, con superficies a ras planas.

La fabricación de estos ladrillos en mi caso, costaron 14 pesos por cada uno, sin embargo podría optimizar para que su costo fuera de 12 pesos, aunque su costo sea más del doble que un típico ladrillo de barro recocido, el impacto de estos es tal que para la construcción de una casa de 100 m^2, se requerirían un aproximado de 3600 kg de pet. El único problema ambiental de estos, es el gas que emite una vez que estos se derriten, sin embargo con un control en estos, su emisión es será menor a la que generan los ladrillos de barro recocido.

Igualmente se debe mencionar que se requiere de un proceso más automatizado, con el finde reducir costos al mismo tiempo de que los ladrillos quedan más uniformes, pues existen cierta variación en la altura que si no se corrige, provocará que el equipo tenga dificultades una vez que se construya el muro.

Debido a que estos ladrillos no se le pudieron realizar las pruebas pertinentes, estos ladrillos son ideales para separaciones de muros, que no contenga grandes cargas. Esta recomendación es hasta que se le puedan realizar las pruebas que se requieren realizar para cualquier tipo de ladrillo ladrillo.

Referencias bibliográficas:

1. J. Carabias, “El cambio climático: Causas, Efectos y Soluciones”, Fondo de Cultura Económica, primera edición, pp. pp. 49, 2021.
2. X. Quecholac, M.C Hernández, M.C. Mañón, “Degradation of Plastics in Simulated Landfill Conditions”. Polymers, vol. 13, pp. 1014, 2021.

3. M. Shams, I. Alam, M.S. Mahbub, “Plastic pollution during COVID-19: Plastic waste directives and its long-term impact on the environment”, Environmental Advances, vol. 5, pp. 100119, 2021.

4. S. Dharmaraj, V. Ashokkumar, K.W. Chew, “Novel strategy in biohydrogen energy production from COVID - 19 plastic waste: A critical review”, International Journal of Hydrogen Energy, ISSN 0360-3199, 2021.

5. R.S. Robin, R. Purvaja, D. Ganguly, “COVID-19 restrictions and their influences on ambient air, surface water and plastic waste in a coastal megacity, Chennai, India”, Marine Pollution Bulletin, vol. 171, pp. 112739, 2021.

6. L. Reynoso, “Reciclado de Plásticos: Desde la recolección, separación, reprocesado y reutilización hasta el análisis de nuevas tecnologías, bioplásticos y productos alternos”. Spanish Edition, Independently published, pp. 16-19, 2021.

7. Universidad Veracruzana, “Botellas desechables, problemas permanentes”, https://www.uv.mx/cienciauv/blog/botellas_desechables/, s.f.

8. Acoplásticos, “¿Qué es el pet?”. Sitio web: https://www.acoplasticos.org/index.php/mnu-pre/opm-bus-pref/36-opc-fag-pre4, 2022.

9. Decide tu casa, “Ladrillos - Mejores Precios de Venta 2022”, sitio web: https://www.decidetucasa.com/ladrillos-mejores-precios-de-venta/, 2022.

10. ININ. “Proyectos en el Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares”. Gobierno de México Sitio web: https://www.inin.gob.mx/_invydes/detalle_proyectos.cfm?campo=AM-108&id=322&year=2012, 2012.

11. ITeC. “Impactos Ambientales en el Sector de la Construcción”. CONSTRUMÁTICA, Sitio web: https://www.construmatica.com/construpedia/Impactos_Ambientales_en_el_Sector_de_la_Construcción, 2021.

”Análisis físico-mecánico de material compuesto cemento - celulosa”

“Physico-mechanical analysis of cement - cellulose composite material”

Héctor Giovani Estrada Romero, Juan Bosco Hernández Zaragoza, Teresa López Lara and Jaime Horta Rangel

hectorgiovani.estrada@gmail.com, bosco@uaq.mx, lolte@uaq.mx , horta@uaq.mx

Resumen

En la actualidad se busca un uso óptimo de los desperdicio de las actividades industriales como es en este caso la industria maderera que genera un gran desperdicio al año. Por lo cual se busca un mejor aprovechamiento, es aquí donde los materiales compuestos juegan un papel fundamental, ya que buscan mejorar o mantener las propiedades de un elemento al incluir este desperdicio, a la par de disminuir de manera significativa el impacto ambiental que estos generan al no conocer una manera de utilizarlos eficazmente.

Para esta investigación se realizó un material compuesto de cemento y viruta de madera en una relación 60/40,70/30, y 80/20 con el fin de analizar su desempeño en cuanto a las propiedades mecánicas de estas mezclas para determinar su uso dentro de la construcción ya sea como un elemento estructural o no estructural de tal manera que este sea utilizado óptimamente.

Palabras clave: Construcción, Viruta, Cemento, Material Compuesto, Celulosa, Madera

Abstract-

Nowadays, an optimal use of waste from industrial activities is being sought, as is the case of the wood industry, which generates a large amount of waste per year. This is where composite materials play a fundamental role, since they seek to improve or maintain the properties of an element by including this waste, while significantly reducing the environmental impact that they generate by not knowing how to use them effectively.

For this research, a composite material of cement and wood chips in a 60/40, 70/30, and 80/20 ratio was made in order to analyze its performance in terms of the mechanical properties of these mixtures to determine its use in construction, either as a structural or non-structural element, so that it can be used optimally.

Keywords: Construction, Chip, Cement, Composite Material, Cellulose, Wood

1. Introducción

La celulosa es el componente fundamental de la pared de las células vegetales en plantas, madera y fibras naturales, y se encuentra combinada, generalmente, con sustancias como la lignina, hemicelulosas (carbohidratos más cortos principalmente pentosanos), pectinas y ácidos grasos. En el algodón y en el lino las fibras de celulosa son de gran pureza (90-95%) y tienen aplicación textil. La celulosa es el

compuesto orgánico natural más abundante. La madera contiene del 40 al 60% de celulosa y la paja un 30%. Más del 90% de la producción de celulosa se obtiene de la madera y el 10% restante de otras plantas. (Sanz Tejedor, 2003)

La viruta es un segmento de material restante con forma de lámina curvada o espiral que se extrae mediante un cepillo u otras herramientas, tales como brocas, al realizar trabajos de cepillado, desbastado o perforación, sobre madera. De un ancho aproximado de la partícula de 75mm. (Coronel, J., & Rodriquez, P. ,2016)

Un material compuesto resulta de combinar dos materiales o más con el objetivo de obtener una combinación única de sus propiedades, siendo estas diferentes a las de sus materiales iniciales. (J. Pérez,2008).

En México, la producción anual de madera es de aproximadamente 8 millones de m3. De este volumen, 70 % se destina a la industria del aserrío, generando alrededor de 2.8 millones de m3 de desechos, principalmente aserrín, virutas y cortezas. El manejo de estos residuos representa un problema en la actualidad, pues se emplean principalmente como fuente de energía, afectando negativamente el ambiente, generando polvo en el aire y contribuyendo a la emisión de dióxido de carbono a la atmósfera. Además, los desechos perjudican la salud de trabajadores y habitantes de las zonas cercanas a los aserraderos, al generar problemas ambientales como incendios y auto combustión. (N. Fregoso, 2017).

He aquí la necesidad de encontrar un mejor aprovechamiento para este tipo de residuo, varios investigadores y universidades han tratado el tema principalmente en dos tipos de desperdicio la viruta y/o aserrín, con el fin de encontrar su papel dentro del rubro de la construcción.

Eleazar L. Encontró que la alta porosidad del material combinado entre solo cemento y aserrín produjo una baja resistencia a la compresión al compararlo con un tabique de barro recocido, mientras que el tabique de barro recocido soporta una carga mucho más alta. Los defectos que pudieron haber existido en la compactación previa al prensado, produjeron micro-fallas al momento de la prueba por lo que es una variante a cuidar al momento de realizar el material. (L. Eleazar,1980).

O. Sánchez en sus resultados al incluir aserrín en el mortero muestran cómo a mayor porcentaje de aserrín, la resistencia, el módulo de elasticidad y la densidad disminuyen. Se sugiere utilizar hasta un 1% de fibra de aserrín en morteros para evitar una reducción importante en las propiedades mecánicas de los morteros. (A. D. Ortega Sánchez & H. Gil, 2022).

Delgado. Y. concluyó que la mejor opción es el concreto con añadido de 5% de aserrín, ya que sus propiedades a la compresión y abrasión no difiere respecto al concreto, pero mejora sus propiedades a la flexión respecto a la misma.

El diseño más óptimo del concreto para bloques portantes se dio al 30% de sustitución de arena por aserrín presentándose un valor de resistencia de 72 kg/cm2, asentamiento de 1", absorción de 9.5% y densidad de 1916 kg/m3. Mientras que para el concreto aplicado en bloques no portantes se dio al 40% con una resistencia de 49 kg/cm2, asentamiento de ¾", absorción de 10.7% y densidad de 1883 kg/m3. (Y. M. Delgado Espinoza, 2020).

J. Corona, en su trabajo "Caracterización físico-mecánica de un material compuesto a base de aserrín y cemento", comparó dos tipos de ladrillo uno de arcilla recocida y otro de material compuesto cemento-aserrín. Los tabiques de barro recocido presentan una mayor absorción máxima inicial que los tabiques de material compuesto, esto debido probablemente al fenómeno de capilaridad y a que es un material poroso. Sin embargo, en la absorción total en 24 horas fue mayor el porcentaje en el material compuesto. En la prueba de resistencia al fuego se estima que para el mismo tiempo de prueba el tabique

llegó a la calcinación de sus componentes, pero sin presencia de flama.

En la prueba de resistencia a la compresión, se observó que el tabique de barro recocido tiene una mayor resistencia por área (38.3 kgf/cm^2) que el tabique de aserrín-cemento (9.2 kgf/cm^2). En cuanto a pruebas de conductividad acústica, se infiere que el tabique de aserrín- cemento probablemente posea mejores características de absorción de sonido debido a que las partículas de madera son más gruesas existiendo mayores espacios entre las mismas y eso retarda la velocidad de propagación del sonido. (J. Corona,2008)

En 2012 Se realizó un estudio en el cual se formaron bloques de adobe. Donde se buscaba sustituir el abono utilizado por ixtle y con una mezcla de cal-yeso como estabilizante. En este trabajo se compactaron los bloques con una adobera a 5 Mpa. El yeso y la cal se adicionaron en un porcentaje del 6% dependiendo de la cantidad de arcilla requerida para el adobe. Los adobes arrojaron resultados satisfactorios por arriba de los parámetros que estipula la norma NMX-C-508-ONCCE-2005 para bloques de tierra comprimida estabilizados con cal. La resistencia promedio obtenida fue de 90.7 kg/cm2. (Algara, M., 2012).

Como se puede destacar en los trabajos antes presentados el uso de este tipo de residuo puede disminuir el uso de cantidades de cementante dentro de la construcción a la vez de presentar propiedades particulares con su adición lo cual nos permitiría obtener un elemento estructural de menor costo y utilizando este tipo de desperdicio, en la actualidad aún no se ha encontrado la dosificación idónea de mayor participación en cuanto la presencia de este residuo por lo cual se escogió a la viruta de madera como principal elemento dentro del material compuesto, ya que al ser una fibra natural este puede dar una mejor unión dentro del material con ,con el fin de obtener un elemento estructural competente y que aporte una reducción del cementante mucho más significativa.

2. Metodología

Para realizar las pruebas se realizaron 10 especímenes en representación cubica de 5x5x5 de forma representativa, con una mezcla 60%,70% y 80% del cementante con respecto al peso total de ambos para realizar la mezcla, por cada diferente proporción dando como total 30 especímenes de cemento hidráulico y 40%,30% y 20% de viruta de madera proveniente del desperdicio de los aserraderos locales, ya que el objeto de esta experimentación es encontrar la resistencia del material por un método sencillo, no se optó por la selección de un tamaño o especie de madera en específico de la viruta proveniente, Además de mezclar las cantidades en proporciones grandes es decir por un bulto de cemento de 50 kg se agregaron 15 Kg de viruta de madera, y adicionando 20 lt de agua, a manera de seguir un proceso sencillo, económico y eficaz en su producción.

Tabla 1. Dosificación de la mezcla

Dosificación de las mezclas con respecto al peso total dado en gramos para realizar 3 cubos de 5x5x5 cm		
Mezcla	cemento	Viruta
60/40	150	100
70/30	234	100
80/20	440	110



Figura 1. Elaboración del material (caso 60/40 respecto al peso del material)



Figura 2. Material depositado en los moldes

2.1. Prueba de resistencia a la compresión a los 28 días de edad

Para la obtención de los resultados se realizaron pruebas a compresión siguiendo el procedimiento con respecto a la norma NMX-C-036-ONNCCE-2013.Se probaron 10 especímenes por cada proporción de mezcla (cemento/viruta), esta proporción se escogió para analizar dicha combinación con el objetivo de no comprometer la propiedad de la resistencia mecánica como principal objetivo, con ayuda de la máquina Universal. Y con los valores de referencia de la norma NMX-C-404-ONNCCE-2012 para uso estructural rondan de 7-11 MPa (71.38-112.16 kg/cm^2), para determinar si pueden utilizarse con este fin. Para ello se requirió de la lectura de la Máquina y por medio de la fórmula (1).

$$\sigma = \frac{P}{A} \qquad (1)$$

Donde:
σ= Esfuerzo de compresión (kg/cm^2)
P= Presión ejercida (Kg)
A= Área actuante debajo de la presión



Figura 3. Espécimen ensayado

2.2. Prueba de absorción total

Para esta prueba se requiere de una báscula, cubeta o recipiente con agua donde pueda ser sumergido el espécimen.
Para esta prueba se pesan los especímenes antes de ser sumergidos, luego se introducen y se procede a esperar por 24 horas, después de esto se pesan los mismos. Para la prueba de absorción total se utilizó la norma mexicana NMX-C-037-ONNCCE-2013 como base para determinar la absorción de agua durante un lapso de 24 horas t esta se representará por medio de un porcentaje obtenido mediante la siguiente fórmula. (2)
Donde:

$$A = \frac{Msss - Ms}{Ms} x100 \qquad (2)$$

A= la absorción en %(en masa)
Mss = la masa seca del espécimen en gr
Msss = la masa saturada y superficialmente seca en gr

Se tomaran como guía los valores estipulados en la norma NMX-C-404-ONNCCE-2012, 23%, (valor máximo) este no serviría como elemento de mampostería ya que existirían problemas con las juntas de mortero que se coloquen ya que absorbería agua de las mismas, disminuyendo la resistencia de las mismas, por el obro caso si el valor es muy pequeño menor del 12 % existirían problemas al unirse estos dos materiales con el mortero.

2.3 Determinación de la densidad del material

Para esta prueba se pesó cada espécimen en estado seco del material compuesto, dicha lectura se registró en gramos que posteriormente se convirtieron a kilogramos y por medio de una división del volumen registrado del espécimen en metros cúbicos, se obtuvo la densidad del material mediante la ecuación (3).

$$\rho = \frac{M}{V} \qquad (3)$$

Donde:

ρ = Densidad (kg/m^3)

M= Masa (kg)

V=Volumen (m^3)

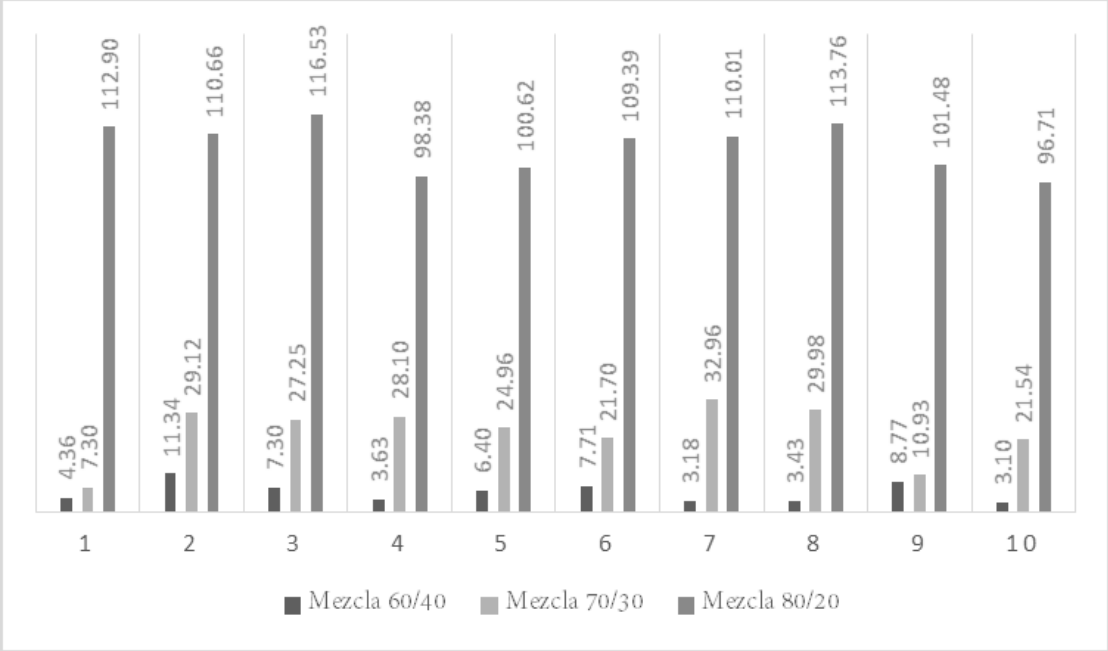
3. Resultados y discusiones

Para la Prueba de compresión a los 28 días de edad de los especímenes los resultados obtenidos son los presentados en la Tabla 1. Donde se observa que para los casos de la relación 60/40, 70/30 los valores obtenidos no cumplen para un elemento de mampostería estructural, pero si para uso de muros divisores, o cualquier otro tales como mamparas o sustituto de un panel de yeso mientras que en el caso de la relación 80/20 si cumplen de manera satisfactoria su papel virtual como material destinado para elementos de mampostería estructurales, al igual se destaca un valor entre las fronteras de la relaciones de 70/30 y 80/20 que pueden alcanzar la resistencia a compresión requerida y a su vez lograr aún más la reducción del cementante en el material compuesto.

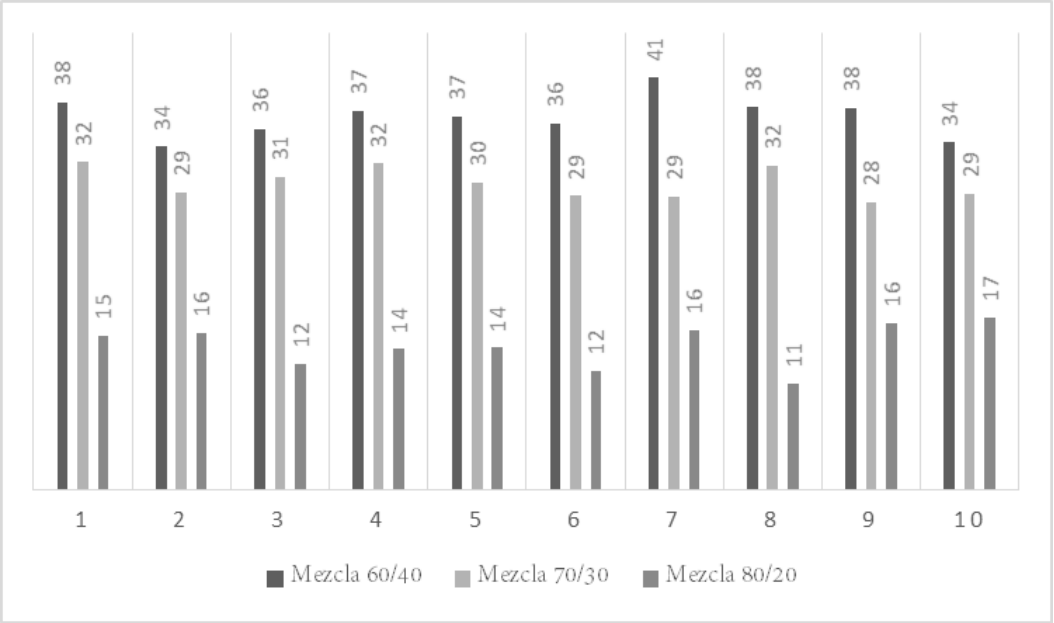
En cuanto a la prueba de absorción total con los datos obtenidos en la Tabla 2. se obtuvo que para las

relaciones de 60/40 y 70/30 no pasaban esta prueba para uso estructural ya que no entraban en el rango de los valores obtenidos de la norma del 12-23% de absorción total , sin embargo la relación 80/20, si recae en dicho intervalo, por lo que puede ser usado para este fin, pero al igual manera estas dos relaciones pueden ser usados en elementos no portantes ya que sus valores de absorción no se encuentran muy lejanos de los valores estándar.

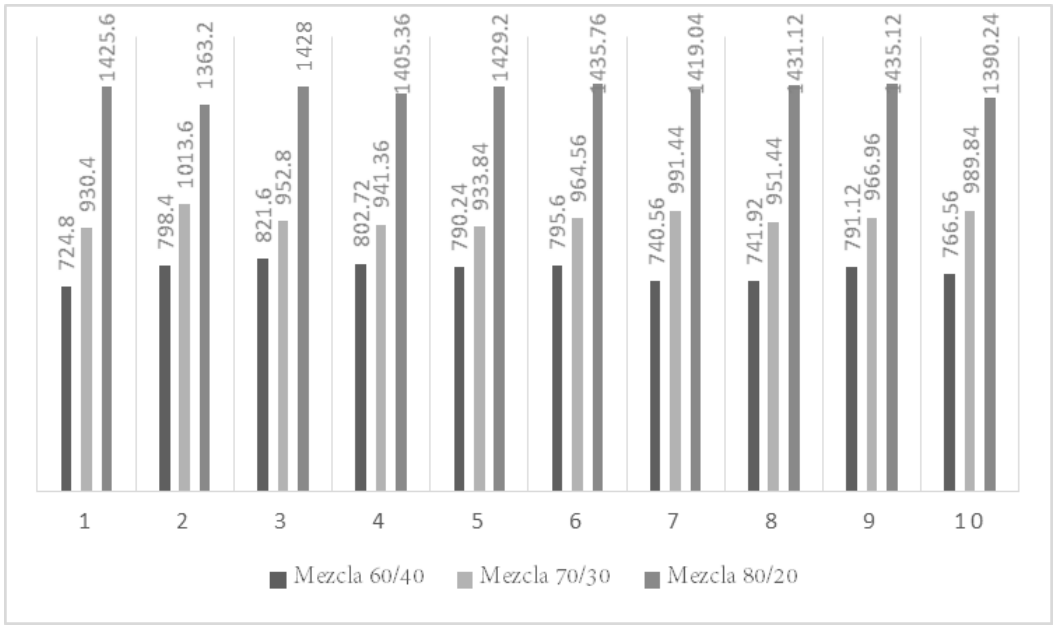
Con los datos de la prueba de Densidad recabados de la Tala 3 se observa como entre más viruta es adicionada en el material compuesto este es más liviano, caso contrario en la adición de más cementante donde se percatan valores casi del doble en la relación que contiene más cemento.



Gráfica 1. *Resultados obtenidos de los especímenes en la prueba de compresión dado en kg/cm^2 a los 28 días de edad.*



Gráfica 2. *Resultados obtenidos de los especímenes en la prueba de absorción total después de 24 horas expresado en porcentaje (%).*



Gráfica 3. *Resultados obtenidos de los especímenes al momento de calcular su densidad de cada uno expresado en kg/m^3.*

Tabla 2. Datos estadísticos de los resultados obtenidos de los especímenes en la prueba de compresión a los 28 días de

Prueba de Compresión(kg/cm^2)								
60/40	Min.	3.10	Máx.	11.34	Media	5.92	Desv.	2.83161304
70/30	Min.	7.30	Máx.	32.96	Media	23.38	Desv.	8.35150942
80/20	Min.	96.71	Máx.	116.53	Media	107.04	Desv.	7.07724236

Tabla 3. Datos estadísticos de los resultados obtenidos de los especímenes en la prueba de absorción total en 24 horas sumergidos en agua.

Prueba de absorción total (%)								
60/40	Min.	34	Máx.	41	Media	37	Desv.	1.98689286
70/30	Min.	28	Máx.	32	Media	30	Desv.	1.48443886
80/20	Min.	11	Máx.	17	Media	14	Desv.	2.13798743

Tabla 4. Datos estadísticos de los resultados obtenidos de los especímenes de la prueba de obtención de la densidad del material compuesto.

Densidad del material(kg/m^3)								
60/40	Min.	724.8	Máx.	821.6	Media	777.352	Desv.	32.0075424
70/30	Min.	930.4	Máx.	1013.6	Media	963.624	Desv.	27.330954
80/20	Min.	1363.2	Máx.	1435.76	Media	1416.264	Desv.	23.4951963

4. Conclusiones

Con los datos obtenidos mediantes la experimentación se puede concluir que el material compuesto con 80/20 de relación se
acercó al valor de compresión estipulada por la norma sin embargo las otras relaciones pueden ser utilizado para mampostería de uso no estructural, u otros elementos donde no recaigan cargas, ya sea para usos decorativos, plafones o cualquier otro uso no portante. En cuanto a la densidad se destacó la ligerez que ganaba el material al incluir más viruta de madera, pero a su vez afectaba directamente a su propiedad mecánica de la resistencia a la compresión al igual que la absorción, esto debido a que este material
tiende a absorber agua , debido a la porosidad que se genera, dejando vacíos que afectan su composición haciendo así el material más
frágil a la resistencia a la compresión y tender a adsorber más agua.

En conclusión este material proveniente del desperdicio de la industria de la madera puede ser utilizado para elaborar un material compuesto dentro de la rama de la construcción ya sea de uso estructural o no estructural. Dándole así un mejor aprovechamiento a este tipo de residuo al conocer como la relación de inclusión de este material altera el comportamiento del material, aprovechando así esto para fines distintos dentro de la construcción, y por defecto más económico y sustentable.

Referencias

A. D. Ortega Sánchez and H. Gil, “Estudio del comportamiento mecánico de morteros modificados con fibras de aserrín bajo esfuerzos de compresión,” Ing. y Desarro., vol. 37, no. 01, pp. 20–35, 2022, doi: 10.14482/inde.37.1.620

Algara, M., Cárdenas. A. I., Arista, G.J., Rodríguez, J.A.(2012). Diseño de bloques de suelo estabilizado para uso urbano en San Luis Potosí. Academia Journals, 4(3),83-87.

Coronel, J., & Rodriquez, P. (2016). ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO DE MEZCLAS CEMENTICIAS CON LA INCLUSION DE FIBRAS DE MADERA. Facultad De Arquitectura e Ingeniería Civil. Universidad de Especialidades Espíritu Santo, Guayaquil.

D. DE Productos Agrícolas México En El Mercado, L. Eleazar López López, and F. Javier Ayvar Campos, "Universidad Michoacana de San Nicolás de," 1980.

J. Corona, (2008) "Caracterización físico-mecánica de un material compuesto a base de aserrín y cemento",(Tesis de maestría).Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, México.

J. Pérez,"COMPONENTES DE UN REFUERZO Y FABRICACIÓN".CARBON CONCRETE,2008, [En linea]. Available:http://www.carbonconcrete.es/HTLM/es/Material%20Compuesto.html. [Último acceso: 07 Septiembre 2022].

N. Fregoso, J. Goche, J.Rutiaga, R. González, M. Bocanegra y J. Chávez, "Usos alternativos de los desechos de la industria del aserrío", Rev. Chapingo ser. cienc. for. ambient vol. 23n. 2. May 2017

Sanz Tejedor, A. (2003). Química Orgánica Industrial. Escuela de Ingenierías Industriales - UVa. https://www.eii.uva.es/organica/qoi/tema-03.php

Y. M. Delgado Espinoza, "Facultad de Ingeniería Facultad de Ingeniería," Ucv, pp. 0–116, 2020, [Online]. Available: https://repositorio.upn.edu.pe/bitstream/handle/11537/23982/Delgado Espinoza%2C Yaceli Maribel.pdf?sequence=1&isAllowed=

.

Quimioprevención del garambullo en el estadio temprano de cáncer de colon *in vivo*

Autor: Rosa Iris Godínez Santillán
Asesor: Dra. Haydé Azeneth Vergara Castañeda
hayde.vergara@uaq.mx Centro de Investigación Biológica Avanzada

Resumen

Introducción. El garambullo (*Myrtillocactus geometrizans)* es un fruto endémico mexicano, rico en compuestos fenólicos y fibra. Escasos estudios reportan su actividad biológica en modelos *in vivo*. El objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto quimiopreventivo de este fruto en un modelo de cáncer de colon *in vivo*, ya que hasta donde es nuestro conocimiento, ningún estudio lo ha reportado. **Métodos.** Los garambullos se obtuvieron de la comunidad Garabatillo, Guanajuato, y toda la muestra fue liofilizada. Se designaron aleatoriamente ratas Sprague Dawley macho en 6 grupos de 12 c/u (control negativo, Azoximetano + dextrán sulfato de sodio (AOM+DSS), garambullo (G), G+AOM+DSS, residuo (R), y R+AOM+DSS, el estudio tuvo una duración de 16 semanas. En la matanza, se obtuvo sangre por punción cardiaca para el análisis de la química sanguínea. Asimismo, el colon fue removido y el colon distal se utilizó para la determinación de las fosas crípticas aberrantes (FCA) con tinción de azul de metileno. **Resultados**. Los grupos G y R no tuvieron diferencias significativas vs el control, los tratamientos G+AOM+DSS y R+AOM+DSS disminuyeron significativamente el número de FCA vs AOM+DSS (5.9 ± 2.1 y 6.2 ± 1 vs 9.7 ± 1.5). **Conclusión**. Los hallazgos sugieren que el garambullo, así como su residuo, pueden prevenir la iniciación del cáncer de colon.

Palabras clave: Garambullo, análisis de sangre, cáncer de colon, azul de metileno.

Abstract

Introduction. The garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) is an endemic Mexican fruit, rich in phenolic compounds and fiber. Few studies report its biological activity in *in vivo* models. The objective of this work is to evaluate the chemopreventive effect of this fruit in a colon cancer model *in vivo*, since to the best of our knowledge, no study has reported it. **Methods**. The garambullo was acquired from the Garabatillo community, Guanajuato, and the entire sample was lyophilized. Male Sprague Dawley rats were randomly assigned into 6 groups of 12 each (negative control (C-), azoxymethane+dextran sodium sulfate (AOM+DSS), garambullo (G), G+AOM+DSS, R, R+AOM+DSS), the study lasted 16 weeks. At sacrifice, blood was obtained by cardiac puncture for blood chemistry analysis. Likewise, the colon was removed and the distal colon was used for the determination of aberrant cryptic foci (ACF) with methylene blue staining. Results. The G and R groups did not have significant differences vs the control, the treatment of G+AOM+DSS and R+AOM+DSS significantly decreased the number of FCA vs AOM+DSS (5.9 ± 2.1 and 6.2 ± 1 vs 9.7 ± 1.5). Conclusion. The findings suggest that garambullo, as well as its residue, may prevent the initiation of colon cancer.

Keywords: Garambullo, blood test, colon cancer, methylene blue.

Introducción

El cáncer de colon afecta tanto a hombres como a mujeres y es la segunda causa más importante de muerte en el mundo relacionada con enfermedades cancerígenas (Rezaul et al., 2022). En México, cada año se diagnostican cerca de 15 mil casos nuevos de este tipo de cáncer, siendo el tercer cáncer más común (INSABI, 2022).

El proceso de carcinogénesis colorectal implica una serie de alteraciones en genes supresores de tumores y en oncogenes dando lugar a una proliferación

descontrolada que resulta en un adenocarcinoma. Se caracteriza por 4 etapas; iniciación promocion progresión y metástasis (Afrin et al., 2020). Dentro de la fase de iniciación, se ha reportado a las FCA como un cambio morfológico temprano en la mucosa colorrectal, siendo ampliamente aceptado como una lesión precursora de cáncer de colon desde el punto de vista morfológico, histológico, biológico y genético (León & Sáenz 2007). Además, son consideradas como el estándar de oro de los biomarcadores de carcinogénesis del colon y han sido extensamente utilizadas para la identificacion de potenciales agentes quimioprotectores (Gupta et al., 2007)

La etiología del cáncer de colon es compleja, incluye factores genéticos y ambientales, siento la dieta, a través del consumo de frutas y verduras; los cuales contienen altos niveles de polifenoles, un factor de prevención (Vieira et al., 2017; Chen et al., 2017). Muchos autores a lo largo de la historia han asociado el consumo de polifenoles a la prevención y bajo riesgo del desarrollo de la carcinogénesis colónica, analizando su presencia en frutos, a través de extractos solubles (utilizando solventes orgánicos acuosos) conformando así los polifenoles extraíbles, sin embargo, existen compuestos fenólicos ligados a la fibra contenida en los frutos, que no se liberan significativamente de esa matriz alimentaria por procesos de digestión, por lo que llegan al colon casi intactos, en donde sufren modificaciones químicas y estructurales durante el proceso de fermentación de carbohidratos, y se producen metabolitos potencialmente absorbibles (Saura, F. & Pérez, J. 2018).

En este sentido, existe un fruto alto en fibra llamado garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) el cual es una cactácea del reino *Plantae*, la cual presenta un periodo de vida de más de 50 años, puede de ser fácilmente propagado con producción de abundante fruto en los meses de Mayo, Junio, Julio y Agosto. En México se produce y cultiva predominantemente en los estados de Querétaro, Guanajuato, San Luis Potosí e Hidalgo, sin embargo, su consumo y comercialización han sido explotados casi en su totalidad por comunidades indígenas y locales (Hernández et al., 2008; Herrera et al., 2011). Este fruto de pigmentación magenta, posee diversos fitoquímicos como lo son las betalaínas, clorofila, carotenoides, vitaminas, y diversos compuestos fenólicos (Guzmán et al., 2010; Montiel et al., 2020). Existen escasos reportes de su actividad biológica en modelos *in vivo,* y hasta donde es nuestro conocimiento, no existe ninguno que reporte su efecto en un modelo de cáncer de colon, siendo así, el objetivo del presente proyecto, el analizar el efecto quimiopreventivo del garambullo, así como de su fibra o residuo en ratas Sprague Dawley inducidas con el carcinógeno Azoximetano y el promotor DSS, esto, por medio del conteo de FCA en el colon distal de las ratas inducidas así como de los controles y tratamientos.

Metodología

La muestra se obtuvo de la comunidad Garabatillo, Guanajuato, México, cosechados en el mes de Julio del año 2020. Una vez cosechados los garambullos fueron seleccionados conforme a su madurez (color púrpura intenso, turgentes al tacto, sin maceraciones) fueron lavados al chorro de agua y liofilizados, posteriormente, se pulverizó la muestra y se almacenó en bolsas con vacío a -20 grados centígrados, hasta su utilización.

Para el experimento *in vivo*, se designaron aleatoriamente ratas macho Sprague Dawley de 4 semanas de edad, en 6 grupos de 12 c/u (control negativo (C-), AOM+DSS, G, G + AOM+DSS, R, R + AOM+DSS), el estudio tuvo una duración de 16 semanas, incluyendo una semana de adaptación. La ingesta diaria del garambullo, así como de su residuo fue a través de adicionar el GL o el R con una dosis de 5g/kg (dosis inocua reportada por Reynoso et al., (1999)) en el alimento diario formando una “galleta” con ayuda de agua pura. A los grupos AOM+DSS, G+AOM+DSS y R+AOM+DSS se les suministró 2 inyecciones subdérmicas de AOM a una dosis de 10mg/kg, en la semana 3 y 4. Al grupo C- se les inyectó solución salina para simular el estrés producido por la punción. Posteriormente, se les administró DSS al 2% en el agua de consumo, por 7 días. Desde la primera semana de tratamiento, se

registró el consumo de agua y alimento semanalmente, así como la variación en el peso de las ratas. Al final del periodo experimental se realizó la matanza con CO_2 y se obtuvo sangre por punción cardiaca para el análisis de la química sanguínea. Asímismo, el colon fue removido, el cual fue sumergido en formaldehído al 10%, posterior a esto, 1 cm^2 del colon distal de cada rata fue teñido con azul de metileno y observado al microscopio 20x para la identificación de FCA.

Los resultados se reportan como la media ± DE. Se realizó un análisis de varianza ANOVA (α= 0.05), y *post-hoc* Tukey para los resultados de química sanguínea y FCA, y una prueba Dunnet para los datos del consumo de alimento, agua, así como en la ganancia de peso.

Resultados

Efecto del garambullo y su residuo administrados oralmente a través de una galleta, sobre el consumo de alimento, agua, así como en la ganancia de peso.

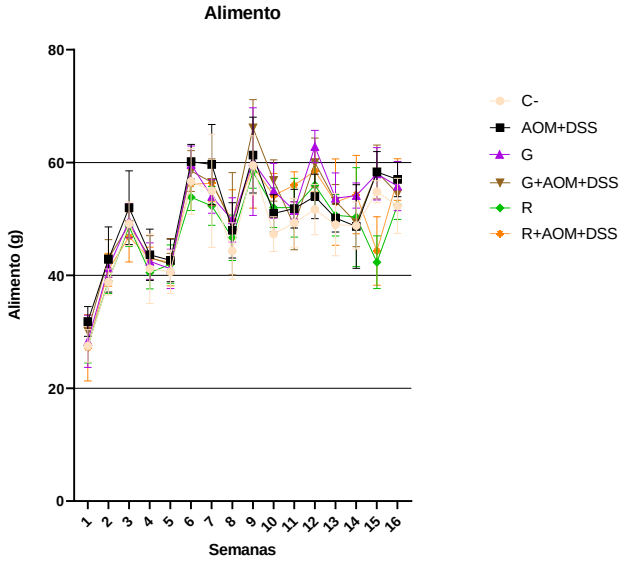


Figura 1. Consumo de alimento en grupos alimentados con garambullo, residuo de garambullo y administrados con azoximetano.
C-: Control negativo, AOM: azoximetano, DSS: dextrán sulfato de sodio, G: garambullo, R: residuo
Los resultados se muestran como el promedio (n=12) ± DE
*Diferencia significativa, prueba Dunnet (α= 0.05)

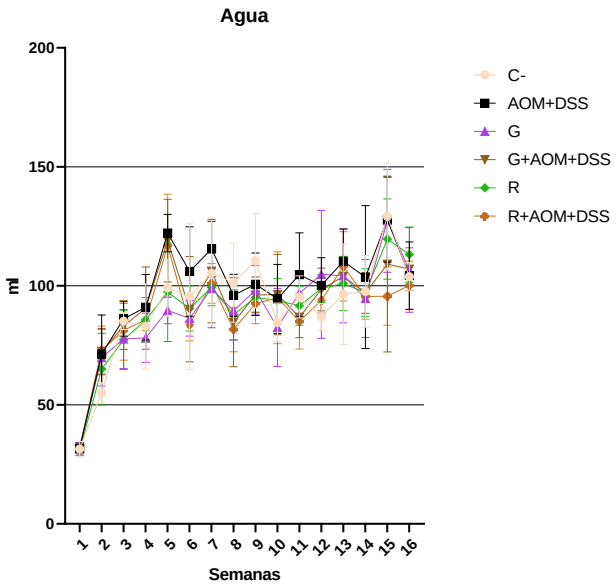


Figura 2. Consumo de agua en grupos alimentados con garambullo, residuo de garambullo y administrados con azoximetano.
C-: Control negativo, AOM: azoximetano, DSS: dextrán sulfato de sodio, G: garambullo, R: residuo
Los resultados se muestran como el promedio (n=12) ± DE
*Diferencia significativa, prueba Dunnet (α= 0.05)

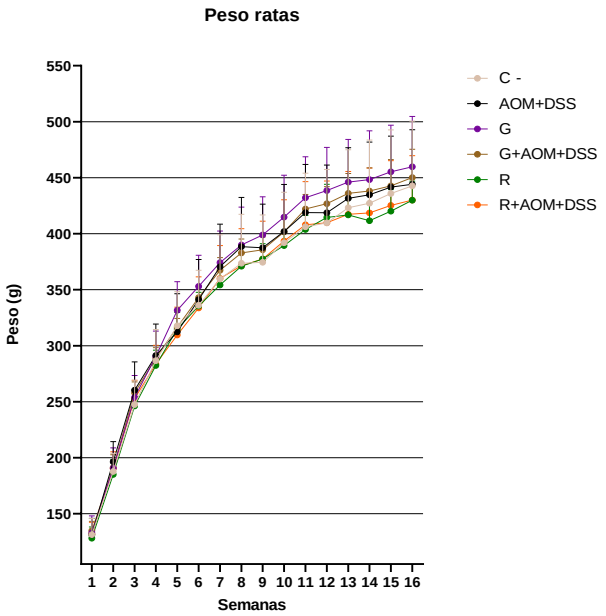


Figura 3. Ganancia de peso en grupos experimentales
C-: Control negativo, AOM: azoximetano, DSS: dextrán sulfato, G: garambullo, R: residuo
Los resultados se muestran como el promedio (n=12) ± DE
*Diferencia significativa, prueba Dunnet (α= 0.05)

Efecto del garambullo y su residuo en la química sanguínea

Cuadro 1. Efecto del garambullo y su residuo en la química sanguínea de ratas Sprague Dawley inducidas con AOM+DSS

	C-	AOM+ DSS	G	G + AOM+DSS	R	R+ AOM+DSS
ACURIC (mg/dl)	5.9 ± 1.3	8.8 ± 0.84	5.7 ± 0.9	7.2 ± 0.9*	6.4 ± 1	7.5 ± 0.9*
ALB (g/dl)	3.6 ± 0.2	3.5 ± 0.2	3.5 ± 0.2	3.4 ± 0.2	3.6 ± 0.2	3.4 ± 0.2
COL (mg/dl)	72.6 ± 7.9	98.5 ± 9.7	81.6 ± 8.2	94.7 ± 7.9	76.5 ± 8	92 ± 5.5
HDLc (mg/dl)	46.6 ± 4	36.5 ± 3.4	57.7 ± 7.1	52.5 ± 5.2	44.1 ± 4.6	52.4 ± 5.5
CREAT (mg/dl)	0.7 ± .07	0.6 ± 0.09	0.6 ± 0.05	0.6 ± 0.07	0.6 ± 0.0	0.6 ± 0.09
GLU (mg/dl)	353.6 ± 4.5	330.9 ± 30	340.2 ± 17	350 ± 15	349 ± 3.6	342 ± 26
TGO (mg/dl)	214 ± 20.4	186.3 ± 8.7	164.9 ± 21+	169.5 ± 17	186 ± 13	181 ± 18
TGP (mg/dl)	213 ± 19.4	188.3 ± 17	167.1 ± 14+	144.9 ± 15*	168 ± 22	178.3 ± 20
PT (g/dl)	7.0 ± 0.24	6.8 ± 0.4	6.9 ± 0.3	6.8 ± 0.4	7.0 ± 0.2	6.6 ± 0.5
TRIG (mg/dl)	120.8 ± 12	116 ± 16	162.7 ± 28+	162 ± 25*	153 ± 14+	184.5 ± 19*
UREA (mg/dl)	42.9 ± 4.1	44.3 ± 4.5	45.8 ± 3.1	41.3 ± 2.3	43.1 ± 3.5	43.3 ± 5.1
BUN	19.5 ± 1.7	20.4 ± 1.7	21.6 ± 1.4	19.6 ± 1.8	20.1 ± 1.4	19.7 ± 1.6
GLOB (mg/dl)	3.4 ± 0.51	3.3 ± 0.5	3.4 ± 0.5	3.3 ± 0.4	3.3 ± 0.5	3.3 ± 0.5
AG	1.0 ± 0	1.2 ± 0.6	1.0 ± 0	1.0 ± 0	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0
LDL (mg/dl)	15.6 ± 2.8	13.5 ± 1.4	13.8 ± 2	13.8 ± 2.4	13 ± 3.3	16.6 ± 3.4
VLDL (mg/dl)	23.1 ± 5.2	27.9 ± 3.9	33.3 ± 3.7	29.3 ± 4.4	28.3 ± 3.2	32.6 ± 4.2
FACL (U/L)	294.2 ± 19	312 ± 34	239.4 ± 24+	226.1 ± 22*	219 ± 31+	222 ± 25*
BILIST (mg/dl)	0.3 ± 0.08	0.2 ± 0.03	0.3 ± 0.2	0.2 ± 0.06	0.2 ± 0.06	0.2 ± 0.03
BILISD (mg/dl)	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.05	0.03 ± 0.01	0.02 ± 0.0	0.0 ± 0.02	0.0 ± 0.01

Resultados muestran el promedio de 12 repeticiones n=12. * muestra una diferencia significativa en comparación con grupo AOM+DSS (ANOVA, prueba de Tukey pos hoc, p <0.05) + muestra una diferencia significativa en comparación con grupo C- (ANOVA, prueba de Tukey pos hoc, p <0.05)

Identificación de FCA con tinción azul de metileno

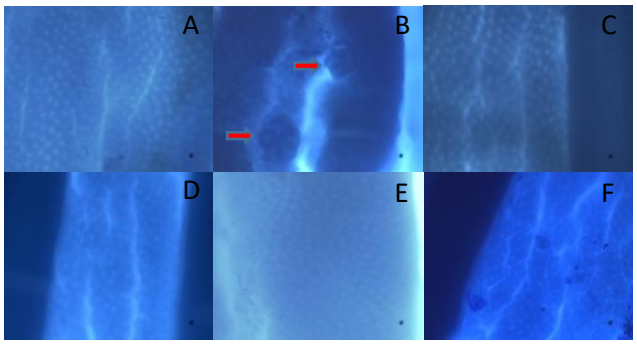


Figura 4. Fosas crípticas normales y aberrantes (flechas rojas) del colon distal con tinción azul de metileno. A: control, B: AOM+DSS, C: G, D: G+AOM+DSS, E: R, F: R+AOM+DSS.

Cuadro 2. Efecto del garambullo y su residuo en la formación de FCA en 72 ratas macho Sprague Dawley inducidas con AOM

GRUPO	FCA	Multiplicidad			
		1	2	3	4+
C	2.1 ± 1.2[a]	1.83 ± 0.8[a]	0.58 ± 0.52[a]	0 ± 0[a]	0 ± 0[a]
AOM+DSS	9.7 ± 1.5[b]	1.27 ± 1[a]	1.54 ± 1[a]	1.92 ± 1.2[b]	2.81 ± 1[b]
G	1.08 ± 0.7[a]	0.83 ± 0.6[a]	0.25 ± 0.46[a]	0 ± 0[a]	0 ± 0[a]
G+AOM+DSS	5.9 ± 1.2[c]	1.63 ± 0.67[a]	2.72 ± 0.69[b]	0.92 ± 0.94[b]	0.37 ± 0.42[c]
R	2.08 ± 0.8[a]	1.66 ± 0.50[a]	0.33 ± 0.46[a]	0.08 ± 0.30[c]	0 ± 0[a]
R+AOM+DSS	5.2 ± 1.6[c]	2.25 ± 1.45[a]	2.25 ± 0.40[ab]	1.25 ± 0.46[d]	0.08 ± 0.30[c]

Los resultados se expresan como el promedio de n=12 ratas ± DE
Letras diferentes por columna expresan diferencia significativa p=0.05, prueba Tukey

Discusión y conclusiones

Semanalmente se registró el consumo de agua y alimento presentados en las Figuras 1 y 2. La ingesta tanto de agua como el consumo de alimento fueron similares en los 6 grupos, sin presentar diferencia estadísticamente significativa al comparar los datos entre grupos semanalmente, sin embargo, podemos observar que de la semana 4 a la 5 y de la 6 a la 7 hay una tendencia a incrementar el consumo de agua y a disminuir el consumo de alimento en los grupos AOM, G+AOM y R+AOM, esto debido muy probablemente al estrés producido por la inyección de AOM y el consumo de la sal DSS al 2% por 7 días, regularizándose en las semanas posteriores. Todos estos datos sugieren que los tratamientos en general, fueron bien tolerados por las ratas.

El incremento de peso a lo largo del experimento se muestra en la Figura 3. El aumento de peso fue conforme a lo esperado y reportado para roedores de la misma cepa y sexo (Cossio et al., 2013). Sin embargo, se puede observar que existe una tendencia a menor ganancia de peso en el grupo del residuo y residuo+AOM, esto muy probablemente por la menor ingesta de alimento, propiciada por la ingesta de fibra a través de la galleta de residuo de garambullo. En las últimas dos semanas se puede apreciar una meseta en cuanto a la ganancia de peso. También se observó que posterior a la primera y segunda dosis de AOM en la semana 3 y 4 las ratas disminuyeron su ingesta de alimento, sin embargo, se normalizó a la semana siguiente.

Las ratas mostraron un comportamiento esperado, teniendo mayor interés por consumir la galleta de garambullo que su alimento de costumbre. No se han observado signos que sugieran necrosis, diarrea, vómito, o pérdida significativa de peso.

Los resultados del análisis bioquímico en sangre, se pueden observar en el Cuadro 1. En la mayoría de los análisis de la química sanguínea no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Sin embargo, si se observa que el ácido úrico que fue mayor en el grupo AOM+DSS al comparar con el grupo G+AOM+DSS y el R+AOM+DSS. Así mismo, las enzimas TGO y TGP en el grupo G fueron menores al comparar con el grupo C-. La fosfatasa alcalina fue mayor en el grupo control al comparar con G y R. Lo anterior pudiera sugerir que el garambullo tiene efecto antiinflamatorio. En cuanto a los triglicéridos, los grupos G y R resultaron con mayor concentración de los mismos al comparar con el grupo C- (diferencia estadísticamente significativa). Asimismo, los grupos G+AOM+DSS y R+AOM+DSS al comparar con el grupo AOM+DSS. El resto de parámetros no presentan diferencias. Estos resultados sugieren que no hay daño hepático, por lo que se puede decir que el garambullo y su residuo no modifican la química sanguínea de manera negativa y, por lo tanto, fue inocua su ingesta por parte de las ratas.

En cuanto al análisis histológico, en la Figura 4 se puede observar fotografías de cada grupo, donde las FCA son evidentes en el grupo AOM+DSS, las cuales presentan las características descritas en la literatura como lo es el aumento del tamaño pericriptal, criptas ovaladas, epitelio engrosado, teñido más obscuro que las criptas normales, presentan más de un foco por cripta y sobresalen del plano focal (Wargovich et al., 2010; Almet et al., 2019).

Las FCA detectadas en los grupos con tratamiento de garambullo (G) y su residuo (R) no difieren estadísticamente a las encontradas en el control negativo (C-), estos resultados sugieren que el garambullo no propicia la formación de FCA ni aumento en la multiplicidad de las mismas (Cuadro 2). Los grupos con tratamiento de G+AOM+DSS y R+AOM+DSS muestran una diferencia estadísticamente significativa al grupo AOM+DSS, lo cual sugiere que el garambullo y si residuo son capaces de inhibir la formación de FCA (Cuadro 2). En cuanto a la multiplicidad, se sabe que es el número de criptas por foco y que entre mayor multiplicidad (≥ de 4 criptas por foco) hay mayor asociación a formación de adenomas y adenocarcinomas (Cardeni et al., 2003). Los tratamientos G+AOM+DSS y R+AOM+DSS disminuyeron la multiplicidad (≥ de 4 criptas por foco) en manera estadísticamente significativa, en cuanto a la multiplicidad de 3 focos por cripta, a pesar de que no hay una diferencia significativa se puede observar una tendencia a la baja por parte de los grupos con tratamiento; G+AOM+DSS y R+AOM+DSS (Cuadro 2).

Estos resultados son similares a los reportados por Boateng et al., (2007) quienes evaluaron el efecto de jugo de blueberry y granada en la formación de FCA en ratas macho Fisher inducidas con AOM (duración de estudio 16 semanas), donde ambos jugos disminuyeron las FCA en comparación con el control (11.33 ± 2.85 y 15.67 ± 1.86 vs 171.67 ± 5.6, respectivamente) (total de FCA por colon). Así mismo, Klewicka et al., (2010) reportan una reducción significativa del número de FCA y la multiplicidad (≥4 criptas por foco), en ratas inducidas con N-Nitroso-N-metilurea (carcinógeno utilizado) al ser tratadas con jugo de betabel durante 8 semanas (FCA 55 ± 18 a 21 ± 6 y multiplicidad 45 ± 21 a 7 ± 4) (total de FCA por colon). También Banerjee et al., (2016) prueban la eficacia de una bebida de ciruela en la formación de FCA en ratas Sprague Dawley tratadas con AOM reportando una disminución de FCA en un 48% vs el control (duración del experimento 9 semanas el conteo de FCA fue por 1 cm^2). Fragoso et al., (2018) reporta una reducción de FCA totales en ratas Wistar inducidas con DMH al ser tratadas con Açai liofilizado, así como una disminución en la multiplicidad en las fosas con ≥4 criptas, pero no así en las fosas con 1-3 criptas (similar a los resultados del presente estudio) disminuyendo 222.4 ± 48.5 (grupo control) a 138 ± 49.7(duración del estudio 25 semanas, conteo total de FCA por colon). Así mismo, Arango et al., (2022) reporta la

disminución de FCA en un 30% en ratones inducidos con AOM vs el control al ser tratados con berry Andean (duración del estudio 8 semanas, conteo de FCA por 4 cm^2 de colon distal), fruto subutilizado endémico de Colombia, que contiene ácido dihidroxibenzóico y ácido gálico como compuestos mayoritarios, compuestos también identificados en el garambullo (Montiel et al., 2020).

Por todo lo anterior, se puede concluir que el garambullo y su residuo no promueven la formación de lesiones preneoplásicas como lo son las FCA en ratas, en una dosis de 5 g/kg, ni provoca alteraciones bioquímicas en sangre que pudieran indicar daño. El garambullo y su residuo disminuyen la formación de lesiones preneoplásicas como lo son las FCA de manera estadísticamente significativa, por lo que pudiera utilizarse como un alimento nutracéutico capaz de causar un efecto quimiopreventivo en el desarrollo de cáncer de colon.

Referencias bibliográficas

Almet, A., Maini, P., Moulton, D. & Byrne, H. 2019. Modelling perspectives on the intestinal crypt, a canonical system for growth, mechanics, and remodeling. Current Opinion in Biomedical Engineering. 15: 32-39.

Arango, S., Luzardo, I. & Maldonado, M. 2022. Andean berry (*Vaccinium meridionale* Swartz) juice, in combination with Aspirin, displayed antiproliferative and pro-apoptotic mechanisms *in vitro* while exhibiting protective effects against AOM-induced colorectal cancer *in vivo.* Food Research International. 157: 111244.

Banerjee, N., Kim, H., Talcott, S., Turner, N., Byrne, D. & Mertens, S. 2016. Plum polyphenols inhibit colorectal aberrant crypt foci formation in rats: Potential role of the miR-143/AKT/mTOR axis. Nutrition Research. 36(10):1105-1113.

Boateng, J., Verghese, M., Shackelford, L., Walker, L., Khatiwada, J., Ogutu, S., Williams, D., Jones, J., Guyton, M., Asiamah, D., Henderson, F., Grant, L., DeBruce, M., Johnson, A., Washington, S. & Chawan, C. 2007. Selected fruits reduce azoxymethane (AOM) induced aberrant crypt foci (ACF) in Fisher 344 rats. Food and Chemical Toxicology. 45: 725-732.

Cardeni, G., Pietro, A., Giannini, A., Favuzza, A., Luceri, C., Salvadori, G & Dolara, P. 2003. Identification of mucin-depleted foci in the unsectioned colon of azoxymethane-treated rats: correlation with carcinogenesis. Cancer Research. 63: 2388-2392.

Chen Y., Wu Y., Du M., Chu H., Zhu L., Tong N., Zhang Z., Wang M., Gu D., Chen J. An inverse association between tea consumption and colorectal cancer risk. Oncotarget. 2017; 8: 37367-37376.

Cossio, M., Gómez, R., Vargas, R., Tadeu, R. y Arruda, M. 2013. Curvas de referencia para valorar el crecimiento físico de ratas machos Wistar. Nutrición hospitalaria 28:6

Día mundial contra el cáncer de colon. INSABI. 2022. ttps://www.gob.mx/insabi/articulos/dia-mundial-contra-el-cancer-de-colon-31-de-marzo?idiom=es

Fragoso, M., Romualdo, G., Vanderveer, L., Barraza, J., Cukierman, E., Clapper, M., Carcalho, R. & Barbisan, L. 2018. Lyophilized açai pulp (*Euterpe oleracea Mart)* attenuates colitis-associated colon carcinogenesis while its main anthocyanin has the potential to affect the motility of colon cancer cells. Food and Chemical Toxicology. 121: 237-245.

Hernández, D., Vaillant, F., Reynoso, R., Horacio, S. 2008. *Myrtillocactus (cactaceae*): botanical, agronomic, physicochemical and chemical characteristics of fruits. Fruits. 63:269-276.

Gupta, A., Pretlow, P. & Schoen, E. 2007. Aberrant crypt foci: what we know and what we need to know. Clinical gastroenterology and hepatology. 5:526-533.

Guzmán, H., Herrera, G., Hernández, D., Reynoso, R., Guzmán, A., Vaillant, F. & Brat, P. 2010. Food Chemistry. 121:381-386.

Herrera, G., Guevara, L., Reynoso, R. & Guzmán, H. 2011. Effects of maturity stage and storage on cactus berry (Myrtillocactus geometrizans) phenolics vitamin C, betalains and their antioxidant properties. Food Chemistry. 129: 1744-1750.

Klewicka, E., Nowak, A., Zduncyk, Z., Cukrowska, B. & Blasiak, J. 2012. Protective effect of lactofermented beetroot juice against aberrant crypt foci formation and genotoxicity of fecal water in rats. Experimental and Toxicologic Pathology. 64:599-604.

León, V. & Sáenz, R. 2007. Focos de criptas aberrantes el comienzo de la historia.

Montiel, S,. García, T., Gómez, M., García, H. & Cano, P. 2020. In vitro gastrointestinal stability, bioaccessibility and potential biological activities of betalains and phenolic compounds in cactus berry fruits (Myrtillocactus geometrizans. Food Chemestry. 16 (342):128087

Reynoso, R., Giner, T. & González, E. 1999. Safety of a filtrate of fermented garambullo fruit: biotransformation and toxicity studies. Food and chemical toxicology. 37: 825-830.

Rezaul, I., Shopnil, A., Mominur, R., Feana, T., Tamanna, A., Sheikh, S., Abdur, R., Abdullah, S., & Simal, G. Colon cancer and colorectal cancer: Prevention and treatment by potential natural products.2022. Chemico-Biological Interactions. 368: 110170

Saura, F. & Pérez, J. 2018. Non-extractable polyphenols and carotenoids: importance in human nutrition and health. The royal society of Chemestry. Food chemistry, function and analysis.

Vieira, AR., Abar, L., Chan DSM., Vingeliene, S., Polemiti, E., Stevens, C., Greenwood, D., Norat, T. 2017. Foods and beverages and colorectal cancer risk: a systematic review and meta-analysis of cohort studies, an update of the evidence of the WCRF-AICR Continuous Update Project. Annals of oncology. 28: 1788-1802

Wargovich, M., Vondina, R., & Morris, J. 2010. Aberrant crypt foci: the case for inclusion as a biomarker for colon cancer. Cancers. 2:1705-1716.

Mejoramiento en el sistema de captación de agua potable en el río de la barranca Pinal de Amoles Querétaro.

Autores: Ana Mireya Guerrero Aguas, Sandra Karen Jiménez Pérez, Laura Daniela Torres Rodríguez, Mario Trejo Perea

Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería Civil, 76010, México.

Asesor: Dr. Mario Trejo Perea

Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ingeniería, Santiago de Querétaro 76010, México.

RESUMEN

El abastecimiento de Agua potable se considera uno de los servicios más importantes para la población mundial, el servicio para este es la captación de agua bruta, la potabilización, almacenamiento y distribución. En el municipio de Pinal de Amoles se ha visto una escasa cobertura de distribución de agua potable en su mayoría de comunidades que no cuenta con este servicio básico para un 71.7%, principalmente se eligió como objeto de estudio una mejora para el sistema de captación de agua potable en la que se determinaron los estudios del agua, como es su hidrografía y los cálculos del caudal para elegir el sistema de bombeo y el tipo de tuberías , así como también el prediseño del sistema con una red de distribución.

ABSTRACT

Drinking water supply is considered one of the most important services for the world's population, the service for this is the collection of raw water, purification, storage and distribution. In the municipality of Pinal de Amoles there has been a scarce coverage of drinking water distribution in most communities that do not have this basic service for 71.7%, mainly it was chosen as the object of study an improvement for the drinking water collection system in which the water studies were determined, such as its hydrography and flow calculations to choose the pumping system and the type of pipes, as well as the pre-design of the system with a distribution network.

PALABRAS CLAVE: Sistema de captación , redes de distribución, tanque de almacenaje, comunidad rural.

KEYWORDS: water catchment system distribution networks, storage tank, rural community.

I. INTRODUCCIÓN

El agua es indispensable para la humanidad, sin ella no existiríamos; la importancia que tiene el agua para nuestra supervivencia es demasiada, ya que está ligada íntimamente con nuestro desarrollo y sustento. La cantidad de agua que hay en la tierra es aproximadamente de 1.41 millones de kilómetros cúbicos, el 98% es agua salada que está en los océanos, mares y depósitos subterráneos, mientras que el otro 2% es agua dulce y se encuentra en capas de hielo, glaciares, acuíferos subterráneos, en el subsuelo, en la atmósfera y en los seres vivos. Únicamente 2000 kilómetros de agua dulce está disponible para consumo humano sin contar los lagos [1].

Para algunos, la crisis del agua supone caminar a diario largas distancias para obtener agua potable suficiente, limpia o no. Para otros, implica sufrir una

desnutrición evitable o padecer enfermedades causadas por las sequías, las inundaciones o por un sistema de saneamiento inadecuado. También hay quienes la viven como una falta de fondos, instituciones o conocimientos para resolver los problemas locales del uso y distribución del agua [2].

Uno de los grandes desafíos hídricos que enfrentamos a nivel global es dotar de los servicios de agua potable, alcantarillado y saneamiento a la población, debido, por un lado, al crecimiento demográfico acelerado y por otro, a las dificultades técnicas, cada vez mayores, que conlleva hacerlo.

Los sistemas para abastecimiento de agua potable constan de diversos componentes: captación, conducción, potabilización, desinfección, regulación y distribución; en cada uno se construyen las obras necesarias para que sus objetivos particulares sean alcanzados de forma satisfactoria. La captación se refiere a la explotación del agua en las posibles fuentes; la conducción, al transporte del recurso hasta el punto de entrega para su disposición posterior.

Las presas derivadoras son aprovechamientos hidráulicos superficiales que cumplen el propósito de facilitar la captación de agua en corrientes de bajo tirante para diversos usos. Cuando el agua de un río se requiere aprovechar, pero este, por sus bajos niveles, no permite su captación de manera apropiada, es posible la construcción de una pequeña presa que permite paso de la corriente en la sección elegida con objeto de que los niveles mencionados aumenten, permitiendo de esta manera su captación [3] .

La problemática de abastecimiento de agua potable en la Sierra Gorda Queretana ha sido un tema de interés que resalta especialmente en esta zona, ya que la gente que habita en ella depende del acarreo o compra de agua con el fin de satisfacer las necesidades básicas que requiere el ser humano.

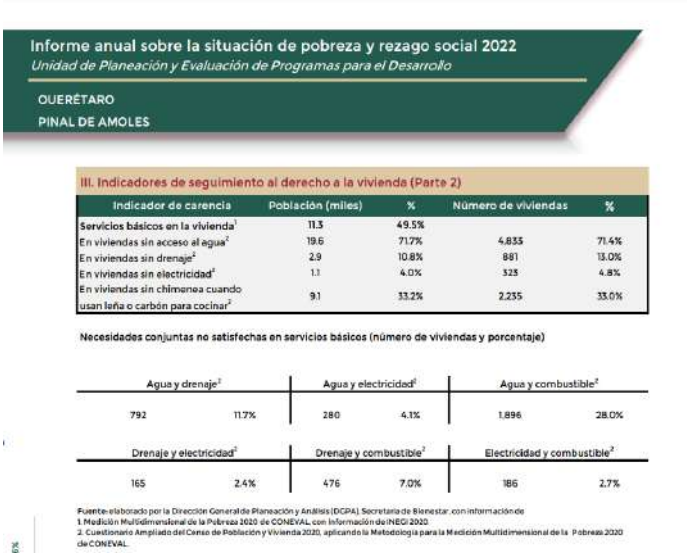
El abastecimiento no solo ha afectado a México si no a más países en el mundo, se han creado muchas respuestas a esta problemática, una de las utilizadas es la recogida inteligente de agua de lluvia RWH por sus siglas en inglés. En un barrio residencial de la ciudad de Jenin, Palestina se creó un sistema que no solo propone un sistema de recogida de agua de lluvia si no que la mejora agregando una unidad de cloración automatizada, pantallas, filtros y un desviador de la primera descarga que agotada turbidez del RWH, sensores o medidores de nivel del agua y por último sensores que ayudan a detectar una fuga de agua. Como resultados les dio que se podría alcanzar una escasez de agua potable nula para este sistema versus el suministro que ofrece el municipio [4].

Los vertederos son elementos complejos y importantes que se utilizan en sistemas de distribución de agua, en saneamientos, en sistemas de evacuación de aguas residuales y en sistemas de control de aguas pluviales y permiten controlar el nivel en embalses, canales y depósitos, también permiten derivar caudales y elevar el nivel de agua.

Los vertederos triangulares se usan para medir caudales pequeños. La fórmula general de descarga de los vertederos triangulares de un ángulo dado

Las ventajas de los vertederos triangulares pueden ser las siguientes: - Permite obtener alta precisión en la medida de caudales pequeños. - Influencia reducida de la altura del umbral y de la velocidad de llegada [5].

Pinal de Amoles no cuenta con este servicio Básico de agua potable para un 71.7% de la población que vive en las comunidades marginadas una de ellas es la comunidad de la Barranca que tiene un total de habitantes de 600 personas y en su mayoría se contratan Pipas de Agua para poderse abastecer.[6]



Informe anual sobre la situación de pobreza y rezago social 2022
Unidad de Planeación y Evaluación de Programas para el Desarrollo

QUERÉTARO
PINAL DE AMOLES

III. Indicadores de seguimiento al derecho a la vivienda (Parte 2)

Indicador de carencia	Población (miles)	%	Número de viviendas	%
Servicios básicos en la vivienda[1]	11.3	49.5%		
En viviendas sin acceso al agua[2]	19.6	71.7%	4,835	71.4%
En viviendas sin drenaje[2]	2.9	10.8%	881	13.0%
En viviendas sin electricidad[2]	1.1	4.0%	325	4.8%
En viviendas sin chimenea cuando usan leña o carbón para cocinar[2]	9.1	33.2%	2,235	33.0%

Necesidades conjuntas no satisfechas en servicios básicos (número de viviendas y porcentaje)

Agua y drenaje[2]		Agua y electricidad[2]		Agua y combustible[2]	
792	11.7%	280	4.1%	1,896	28.0%
Drenaje y electricidad[2]		**Drenaje y combustible[2]**		**Electricidad y combustible[2]**	
165	2.4%	476	7.0%	186	2.7%

Fuente: elaborado por la Dirección General de Planeación y Análisis (DGPA), Secretaría de Bienestar, con información de:
1. Medición Multidimensional de la Pobreza 2020 de CONEVAL, con información de INEGI 2020.
2. Cuestionario Ampliado del Censo de Población y Vivienda 2020, aplicando la Metodología para la Medición Multidimensional de la Pobreza 2020 de CONEVAL.

Figura 1. Servicios Generales en Pinal de Amoles.

Es por ello que se plantea realizar un mejoramiento de sistema de captación que se compondrá de una red de distribución de tuberías, almacenamiento de agua en donde el agua se tomará del Arroyo de la Barranca para poder bombearla al tanque de almacenamiento y de ahí poder distribuirla hacia la comunidad de la barranca.

II. CONSIDERACIONES TEÓRICAS

Se han revisado artículos científicos en donde se analizó y observó la falta de servicios de redes de agua en la mayoría de la población de las comunidades más marginadas de la sierra Gorda.

Estos artículos mencionan como posibles causas a la falta de inversión económica por parte del gobierno en la red de distribución de agua potable.

Una de las interrogantes sin contestar es porque al tener arroyos, ríos de agua disponible no se ha podido distribuir a estas comunidades.

En Pinal de Amoles, la temporada de lluvia es mayormente nublada, la temporada seca es parcialmente nublada durante todo el año.

La temporada más mojada dura 4.3 meses, del 2 de junio al 11 de octubre, con una probabilidad de 31 % a más de 55% de que cierto día será un día mojado. El mes con más días mojados en Pinal de Amoles es septiembre, con un promedio de 14.6 días con por lo menos 1 milímetro de precipitación mientras que la más seca dura 2.3 meses, del 11 de octubre al 23 de diciembre. El mes con menos días mojados en Pinal de Amoles es diciembre, con un promedio de 2.1 días con por lo menos 1 milímetro de precipitación. [7]



Figura 2. Clima en Pinal de Amoles.

La Sierra Gorda Queretana está localizada en la parte norte del estado y ocupa el 32.2% del territorio queretano. Por unas partes tiene elevaciones muy profundas, en otras partes del estado se encuentran montañas entreveradas con barrancos, también y diferentes mantos acuíferos que conforman su topografía. Adentrándose más a la zona se encuentra el municipio de Pinal de Amoles, donde la ubicación geográfica forma una de las zonas más destacables en hidrología de la Sierra Gorda.[8]



Figura 3. Hidrografía en Pinal de Amoles.

Para el diseño de canal del desarenador dadas las velocidades del agua y la elevación de la cresta de la cortina vertedora. De la ecuación de continuidad se tiene que:

$A=\frac{Q}{V}$

A = el área hidráulica del canal desarenador en m^2

Q = el gasto mínimo normal que circula en m3 /s

V = la velocidad de la corriente en m/s

Para sacar el gasto del caudal sacamos la ecuación de continuidad

Q=A * V

Se utilizará aducción por bombeo. Cuando el sistema exige ser diseñado por bombeo, se requiere considerar un caudal de bombeo suficiente para abastecer el consumo máximo diario en un determinado período de bombeo. Para el proyecto de estudio, el caudal (cantidad de fluido que circula a través de una sección por unidad de tiempo) fue diseñado de la siguiente manera

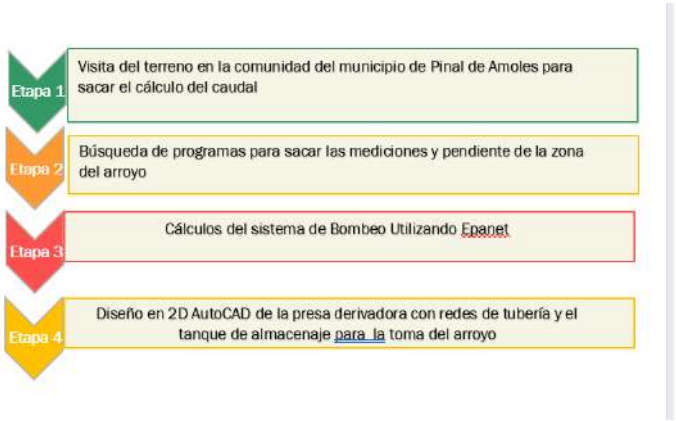
$Qb = Qc * 24\ hrs\ /Hb$

Donde: Qb=Caudal de Bombeo l/seg GMP(Galones por minuto)

Qc=Caudal de conducción o de día máximo en l/seg
H=Número de Horas de bombeo al día

II. METODOLOGÍA

Para la realización de este proyecto se eligió como objeto de estudio una presa derivadora de agua potable, con un sistema de almacenaje y red de distribución en la comunidad de la barranca del Municipio de Pinal de Amoles, Querétaro, misma que nos permitirá facilitar un acceso de agua potable a la población que permita disponer a las viviendas un recurso hídrico para abastecer sus necesidades de consumo.



Para el cálculo del caudal, se utilizó el método del flotador en el cual se tomaron las medidas de ancho y profundidad como se muestra en la figura 4. en tres diferentes puntos del terreno para poder sacar el área total de la zona.



Figura 4. Medición de distancias para el cálculo del caudal

Posterior a esto se miden 3 puntos de 2,30 m .En la figura 5. se lanza la bola flotadora y se cuenta el tiempo que esta recorre en cada uno de los tres puntos.

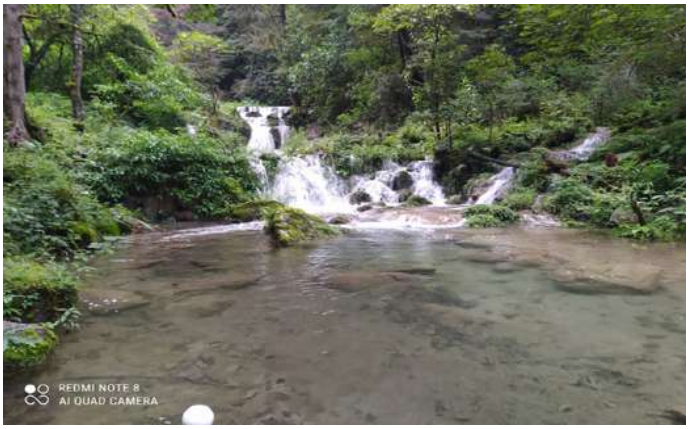


Figura 5. Lanzamiento de la bola flotadora

En Google Earth se sacaron medidas del terreno y su pendiente de inclinación, así como también su elevación.como podemos ver en la figura 6. se tomaron medidas aproximadas de las distancias del arroyo

Distancia del Poligono		
B1-B2	54.73 m	
B1-B4	53.71 m	Área Total: 0.34 Hectáreas
B4-B3	53.82 m	Perimetro:228 m
B3-B2	55.93 m	

Figura 6. Medidas de terreno.

La inclinación nos sirve principalmente para la potencia que va tener la bomba, y la distancia que se recorre hacia la comunidad de la barranca,para ello utilizamos Google Earth que nos da su elevación y Pendiente como se muestra en la figura 7.-

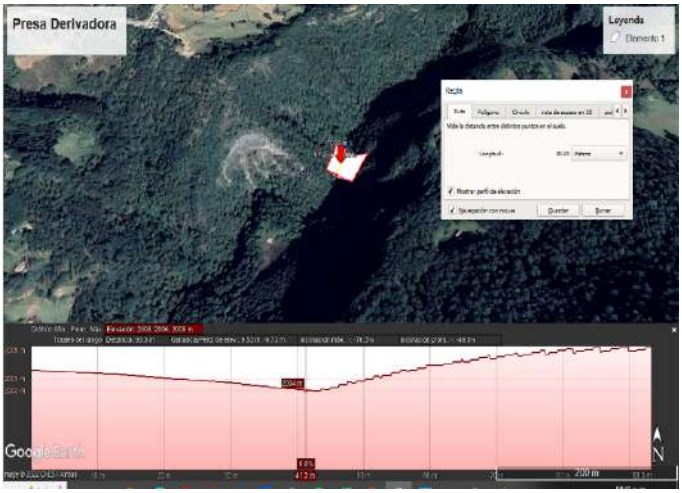


Figura 7. Curvas de nivel.

Para los cálculos del sistema de bombeo se utilizó el programa Epanet para dar las respectivas medidas de altura de presión y caudal, a si se sacó la gráfica de la potencia que requiere para obtener el tipo de bomba, para las tuberías, en la toma de captación se ocupa 2 tubos de acero galvanizado de 8 pulgadas para 12 metros de distancia.para sacar el consumo máximo diario de bombeo, el Qc=caudal de conducción o total se calculó que son 732.5 l/s

$$Qb = Qc * 24\ hrs\ /Hb$$

Qb=(732.5 l/s)(86400s)/18000s
Qb=3516 l/s consumo máximo diario

Como se muestra en la figura 8. se determinó la gráfica para obtener el tipo de Bomba que se requiere.

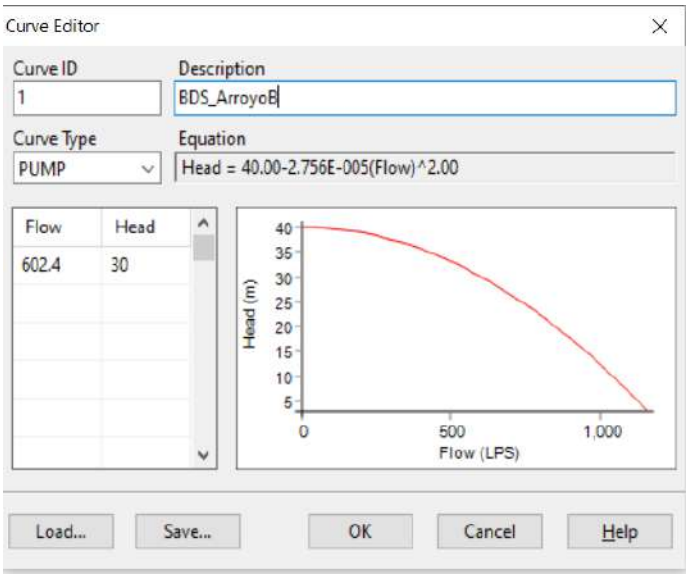


Figura 8. Cálculos en Epanet.

En la Figura 11. mostramos la representación de donde se encuentra el reservorio hacia donde subirá el fluido ,ya que nos muestra la presión y por ello podemos deducir el flujo a subir.

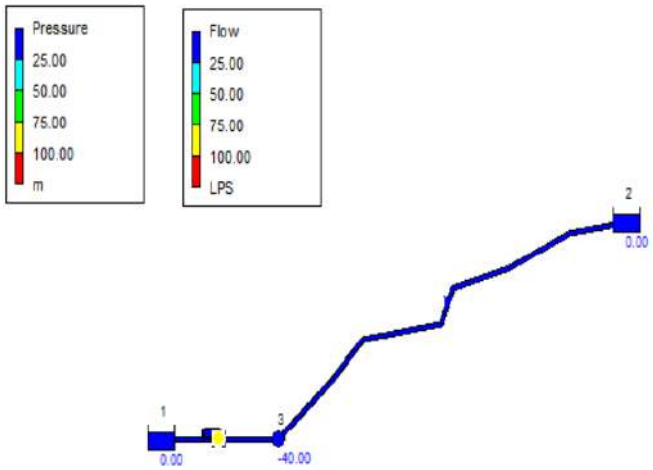


Figura 9. Representación hecha con Epanet.

III. RESULTADOS

Los resultados del Caudal se repitieron 3 veces ya que el flujo varía en cuanto a su profundidad ,en su mayoría se hizo a una temperatura no menor a 20 c° ni mayor a a 27° ya que las variaciones de temperatura como días lluviosos es posible que se aumente el flujo

Temperatura	20 °C				
Area					
	Punto 1	Punto 2	punto3	Promedio	unidad
Ancho	1.7 m	1.65 m	1.71 m	5.06	m
Profundidad	0.42 m	0.33 m	0.32 m	1.07	m
			Area	5.4142	m^2
Velocidad					
	Punto 1	Punto 2	punto3	Total	unidad
Distancia	2.30 m	2.30 m	2.3m	6.9	m
Tiempo de Lanzamiento	Punto 1	Punto 2	punto3	Total(h:min:seg)	
L1	00:00:00	00:00:25	00:00:32	00:00:57	
L2	00:00:00	00:00:23	00:00:26	00:00:49	
L3	00:00:00	00:00:25	00:00:24	00:00:49	
L4	00:00:00	00:00:28	00:00:25	00:00:53	
L5	00:00:00	00:00:26	00:00:23	00:00:49	
			Promedio	0:00:51	s
			Velocidad	0.13529412	m/s
	Q=A*v	Q	0.73250941	m^3/s	

Figura 10. Cálculo de caudal.

En la figura 11 nos muestra un sistema de captación para el área de la Zona de Pinal de Amoles, lo que se quiere mejorar es el diseño para un mejor control del flujo y así poder abastecer también a la comunidad de la Barranca ,el diseño que se tiene en la figura muestra un muro de mampostería con una tubería que lo atraviesa,para llegar al tanque de almacenaje y cuando este se llega al límite se propone un vertedor para que el agua siga continuando libremente.El vertedor que se utiliza es un vertedor triangular de pared gruesa,para el control del nivel del arroyo .



Figura 11. Captación de Agua Arroyo de la Barranca

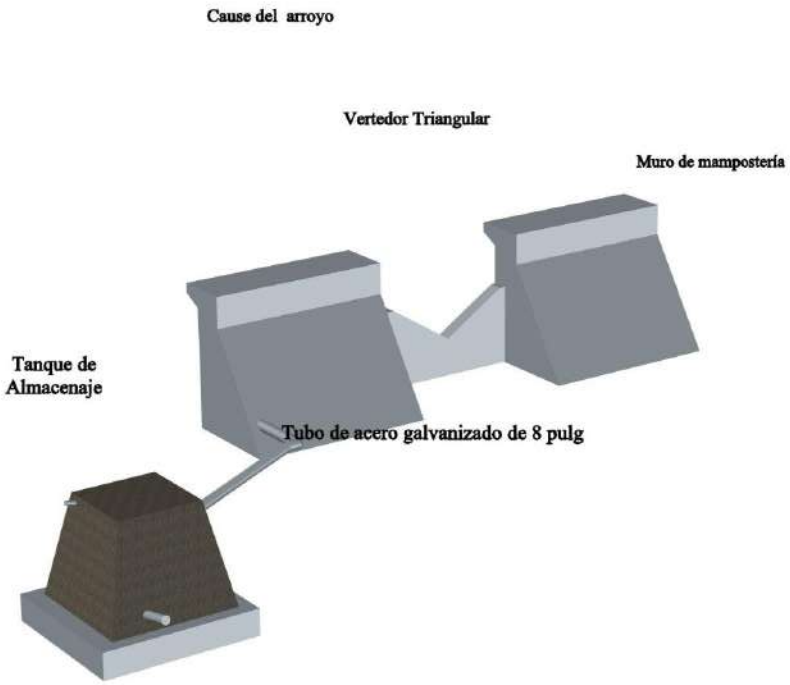


Figura 12. Diseño Propuesto para el arroyo de la Barranca Pinal de Amoles.

En la figura 13 se muestran las vistas frontal y lateral del muro de mampostería y el vertedor triangular con sus respectivas dimensiones

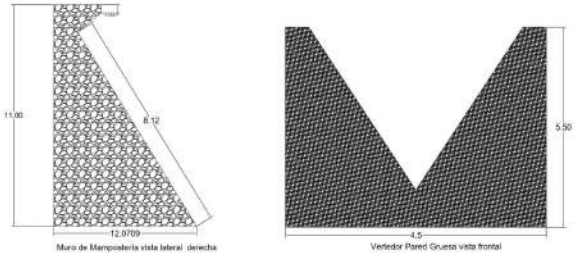


Figura 13. Vistas planas laterales y frontal principales del diseño

En el siguiente diseño figura 14 muestra las partes del tanque que debe de tener ,así como la bomba puesta y los tipos de Tuberías

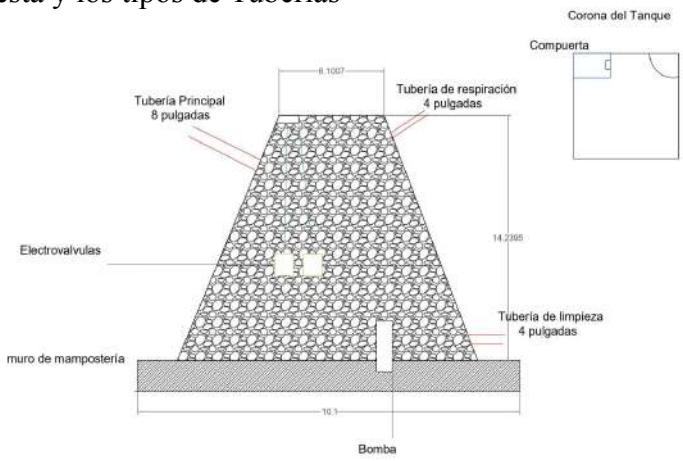


Figura 14. Diseño de tanque en planos 2D

Por último se hizo un pequeño bosquejo de la red de conexión puesto que se tomaron medidas y hacia donde se estará llevando esta red de agua potable.

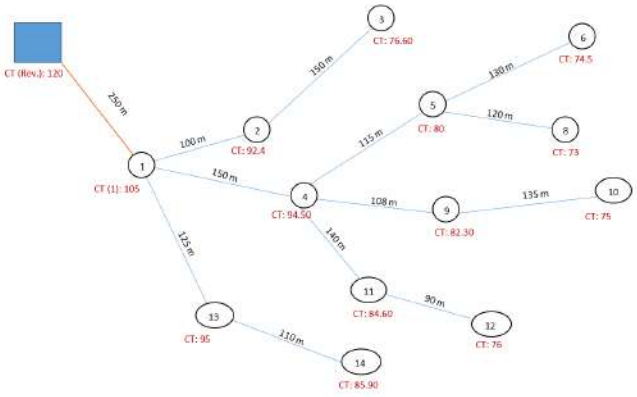


Figura 15. Bosquejo de red de distribución

IV. DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

El caudal que se obtuvo en diferentes pruebas , se deduce que es suficiente para el abastecimiento de 600 personas ya que es un flujo que varía constantemente pero su profundidad no se disminuye de 20 cm así pues el vertedero nos funciona para que siga fluyendo el agua además que es económico para su compra,los diseños mostrados se da una idea de lo que se plantea hacer, con un sistema ecológico que no afecte a la naturaleza, y sea indispensable para toda la población siguiendo la norma NOM-001-CONAGUA-2011 que nos dice " Los sistemas de agua potable, toma domiciliaria y alcantarillado sanitario Hermeticidad - Especificaciones y métodos de prueba" contempla la especificación de hermeticidad y el método de prueba necesario para asegurar la hermeticidad a largo plazo de los sistemas de agua potable.

Las gráficas para el bombeo ,se habría que tomar la elevación para su debido cálculo, pero con el tipo de caudal y la revisión satelital nos dio una visión del cual tipo de sistema de bombeo ocuparemos para su debido funcionamiento

Nos damos cuenta que mediante los estudios recabados desde su hidrografía del municipio de Pinal de Amoles que cuenta con una gran cantidad de abastecimiento de agua, hasta el análisis de las necesidades de los habitantes de la zona, se puede concluir que el proyecto que se propone es el adecuado para dar una solución sostenible al problema principal que es el poder abastecer de agua a las comunidades como es en el caso de la barranca ,y que se pudiera llegar hasta las viviendas para brindar a los pobladores una buena calidad de agua y por lo tanto una mejor calidad de vida; este tipo de diseño podría ocasionar impactos ecológicos mínimos a la comunidad además es económica comparada con otro tipo de sistemas de captación o presas ;así también podría implementarse en diferentes comunidades de la Sierra Gorda Queretana.

Nuestra principal visión en este proyecto no solo fue el emplear los conocimientos obtenidos durante nuestro recorrido por la carrera de ingeniería civil si no dar visibilidad a las comunidades que no cuentan con cosas que son cotidianas para la mayoría de nosotros. proponer soluciones que sean sustentables para el futuro y que no dañen a las futuras generaciones;

V. REFERENCIAS

[1] Altobelli, M., Cipolla, S. S. & Maglionico, M. (2020). Combined Application of Real-Time Control and Green Technologies to Urban Drainage Systems. Water, 12(12), 3432. https://doi.org/10.3390/w12123432

[2] Serrano J. Proyecto de un sistema de abastecimiento de agua potable en togo [proyecto fin de carrera] universidad Carlos lll de Madrid

[3] Comisión Nacional del Agua. (s. f.). Manual de Agua Potable, Alcantarillado y Saneamiento. Ciudad de México: Autor.

[4] Tariq Judeh, I. S. A. F. C. (2022). *Smart Rainwater Harvesting for Sustainable Potable Water Supply in Arid and Semi-Arid Areas*. doi:10.3390/su14159271

[5] DR. Iglesias Rey, Pedro L. DR. Martinez Solano , F. Javier,*Caracterización de vertederos hidráulicos Mediante técnicas CFD,(Julio,2015)*

[6] *Informe anual sobre la situación de pobreza y rezago social 2022 Unidad de Planeación y Evaluación de Programas para el Desarrollo,* Secretaria de Bienestar Pinal de Amoles Qro.2022 https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/698325/22_002_QRO_Pinal_de_Amoles.pdf

[7]INEGI ,*Climatología Satelital del Municipio de Pinal de Amoles Querétaro, (2022),https://www.inegi.org.mx/temas/climatologia/*

[8] INEGI ,*Hidrografía Satelital del Municipio de Pinal de Amoles Querétaro, (2022),* https://www.inegi.org.mx/temas/hidrografia/

DESARROLLO DE UN SISTEMA INTELIGENTE DE DISPERSIÓN DE LUZ DINÁMICO PARA DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO DE PARTÍCULAS

Kevin Eduardo Guillén-Sosa[1], Alejandro Castañeda-Miranda[1,2]
[1]Creativity and Innovation Center 4.0, Universidad Tecnológica de Querétaro, Av. Pie de la Cuesta 2501, Colonia Unidad Nacional, Santiago de Querétaro, Querétaro, 76148, México
[2]Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Universidad Nacional Autónoma de México, Boulevard Juriquilla 3001, Querétaro 76230, México
[1]alejandro.castaneda@uteq.edu.mx

Resumen

Actualmente, la caracterización del tamaño de partícula es importante en muchas aplicaciones, tales como son los estudios de materiales cerámicos y farmacéuticos, elaboración de medicamentos, procesamiento de minerales y tratamiento del agua. La caracterización de dispersión de luz, enfatiza la medición de su tamaño y distribución de partículas, esto es un requisito previo antes de que puedan usarse en estudios científicos. El límite de medición del instrumento son los nanómetros y para partículas más grandes que una micra, se utiliza generalmente un microscopio. En particular, el dispersor de luz dinámica (DLD) se usa ampliamente para suspensiones de partículas diluidas o suspendidas en un líquido ópticamente transparente. Con este método, es posible determinar el coeficiente de difusión de partículas dispersas en un líquido, midiendo las fluctuaciones en la intensidad de la luz dispersa usando una función de correlación. Sin embargo, estos dispositivos tienen las desventajas de inflexibilidad, alto costo y complejidad de implementación, vale la pena considerar enfoques complementarios y alternos para diversas medidas. El cálculo en tiempo real de las funciones de correlación de rango dinámico de adquisición debajo de los micro-segundos y usando de técnicas de Inteligencia Artificial, es posible equilibrar y compensar el rango dinámico de medición.

Palabras Clave: Partículas dispersas, inteligencia artificial, dispersor de luz dinámico, difusión de partículas, coeficiente de difusión, nanopartículas.

Abstract

Currently, particle size characterization is important in many applications, such as studies of ceramic and pharmaceutical materials, drug manufacturing, mineral processing, and water treatment. The light scattering characterization, emphasizing the measurement of their particle size and distribution, then, it's a prerequisite before they can be used in scientific studies. The measurement limit of the instrument is nanometers and for particles larger than a micron, a microscope is generally used. In particular, the dynamic light scatter (DLS) is widely used for suspensions of dilute or suspended particles in an optically clear liquid. With this method, it is possible to determine the diffusion coefficient of dispersed particles in a liquid, by measuring the fluctuations in the intensity of the scattered light using a connection function. However, these devices have the disadvantages of inflexibility, high cost and implementation complexity. This work considering the complementary and alternative approaches for various measures. Real-time calculation of the acquisition dynamic range connection functions below micro-seconds and using Artificial Intelligence techniques, it is possible to balance and compensate the measurement dynamic range.

Keywords: Scattered particles, artificial intelligence, dynamic light scatter, particle diffusion, diffusion coefficient, nanoparticles.

Introducción

La técnica de dispersión de luz dinámica (DLD) se utiliza para medir el tamaño de las partículas. Con este método es posible determinar el coeficiente de difusión de partículas dispersas en un líquido midiendo las fluctuaciones en la intensidad de la luz dispersada usando una función de correlación en el tiempo de la luz dispersada [1]. Esta herramienta DLD es útil en el estudio del movimiento traslacional de partículas esféricas, considerando que estas están en suspensión en el régimen diluido [2]. En primera instancia, dado que las partículas coloidales ejecutan un movimiento browniano, el coeficiente de difusión D puede ser determinado por esta técnica. Si las partículas son puestas dentro de un campo de fuerzas, al movimiento brownianiano que ejecutan las partículas se le superpone un movimiento adicional cuyos parámetros también pueden ser determinados por DLD [3]. Por lo tanto, si las partículas son puestas dentro de un campo de fuerzas, al movimiento brownianiano que ejecutan las partículas se le superpone un movimiento adicional, estos parámetros también pueden ser determinados por el instrumento [4]. Por otra parte, en los experimentos DLD, el cálculo en tiempo real de las funciones de correlación, permite que sea susceptible la observación de diversas mezclas, considerando la cristalización de diversos materiales [5]. El presente trabajo muestra los resultados de DLD provenientes de una suspensión contenida en una celda con movimiento armónico simple. Operando en forma correcta este dispositivo permite la determinación simultánea del coeficiente de difusión y el de sedimentación S de la partícula.

Materiales y Métodos

La dispersión de luz dinámica funciona de la siguiente manera, se apunta un rayo láser sobre la muestra, donde se supone que las dimensiones del tamaño de las partículas son más pequeñas que la longitud de onda del láser, posteriormente, las partículas dispersan la luz láser en todas las direcciones y de forma isotrópica sobre un anillo de dispersión. En seguida, la luz dispersada se colecta con un fotodiodo [6], que colecta la radiación en un ángulo de 90°. Los fotones provenientes de diferentes partículas interfieren en la señal colectada por el detector, para producir una intensidad óptica específica de acuerdo con la interacción de la luz con la materia. Por otra parte, dado que las partículas en soluciones experimentan un movimiento de tipo browniano, esta intensidad óptica varía con el tiempo, generando una serie de tiempo con la intensidad. Posteriormente, se obtiene el tamaño de partícula al asociarse el tiempo y la intensidad de la señal, a través de un correlador de señales [7]. El DLD contiene un fotodiodo, el cual transforma la intensidad óptica en voltaje, para ser posteriormente digitalizada mediante un convertidor análogo digital de un microcontrolador, su alimentación es de 5 voltios (V), por lo que es compatible con el sistema digital. El fotodiodo varía su respuesta a la salida ante la presencia de diferentes longitudes de onda (λ) (ver figura 1).

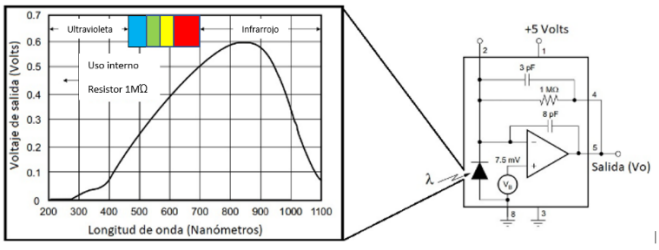


Figura 1. Respuesta del fotodiodo ante diferentes longitudes de onda.

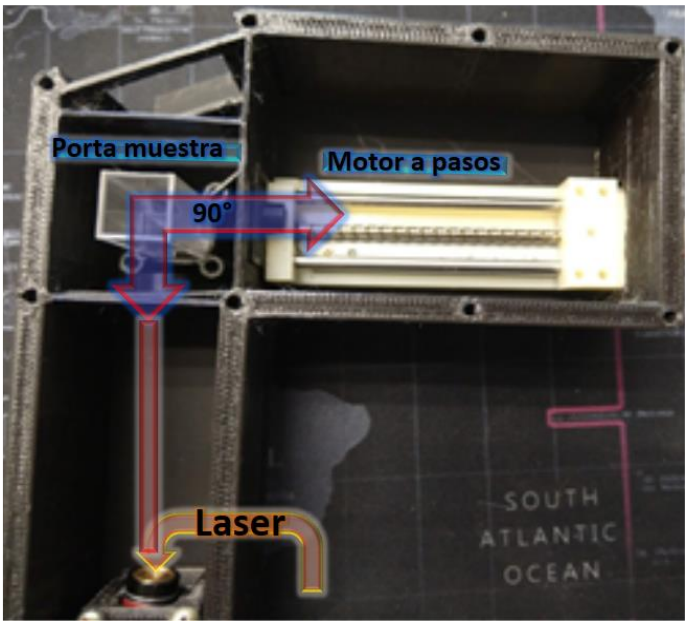


Figura 2. El motor a pasos se encargado de ajustar el fotodetector.

Por otra parte, para focalizar la captura de radiación por el fotodetector, se utiliza un motor a pasos, este se

encuentra conectado al microcontrolador para hacer la programación del movimiento y ajustar la medición obtenida, el arreglo experimental se muestran en la figura 2. La medición por el movimiento de un haz láser reflejado, se realiza si consideramos que un haz láser se propaga rectilíneamente, dado el arreglo como el que se muestra en la figura 2, la amplitud que describe el plano oscilatorio está relacionado con el desplazamiento que describe el haz (D) por:

$$D = \alpha / Cos(\alpha) \quad (1)$$

Donde α es el ángulo que existe entre la normal del plano oscilatorio y la dirección del haz incidente. Debido a que un haz láser tiene una distribución gaussiana en cualquier eje perpendicular a su dirección de propagación, tenemos dos formas de detectar el haz.

$$I(x) = I_o\, e^{\left(-\left(1/2\sigma^2\right)(x-x_o)^2\right)} \quad (2)$$

$$I(\tau) = f_A I_o [e^{(-(1/2)(1+dsen(\tau))^2} - e^{(-1/2)}] \quad (3)$$

Donde se ha introducido el factor de amplificación, f_A, el cual siempre estará presente en las mediciones de la parte oscilatoria. La curva de calibración, es donde x se orienta como la coordenada que corre perpendicular al haz, x_o y σ son la media y la varianza de la distribución, respectivamente y I_o es la intensidad máxima registrada. Nuestro análisis se facilitará si definimos las siguientes cantidades adimensionales.

$$x = x_{eq}/\sigma \quad (3)$$

$$d = D/\sigma \quad (4)$$

$$\tau = \omega_o t \quad (5)$$

Con lo que la ecuación (3) puede ser escrita como:

$$I(x,\tau) = I_o e^{\left(-(d^2/2)(x-sen(\tau))^2\right)} \quad (6)$$

La intensidad luminosa es medida mediante un circuito electrónico, el cual se describe anteriormente, que a su salida proporcionada un voltaje. Cuando el movimiento oscilatorio ocurre alrededor de x = 1, que es donde se tiene la mayor resolución, la componente dc en la detección es $I_o e^{-1/2}$, mientras que la parte oscilatoria toma la forma:

$$I(\tau) = f_A I_o [e^{(-(1/2)(1+dsen(\tau))^2} - e^{-1/2}] \quad (7)$$

Donde se ha introducido el factor de amplificación, f_A, el cual siempre estará presente en las mediciones de la parte oscilatoria.

El voltaje armónico mide el promedio RMS. Este promedio está definido por:

$$I_m = < I^2(\tau) >^{1/2} = [(1/T)\int_0^T I^2(\tau) d\tau]^{1/2} \quad (8)$$

Donde T es el periodo de la oscilación. El promedio RMS de la ecuación (7) es:

$$f_M = [(1/2\pi)\int_0^{2\pi} f^2(\tau; d) d\tau]^{\frac{1}{2}} \quad (9)$$

De la ecuación (9) se considera que:

$$f_m = I_m / I_o f_A \quad (10)$$

Y finalmente, se obtiene que:

$$f(\tau;\, d) = e^{-(1/2)\left(1+dsen(\tau))^2\right)} - e^{-1/2} \quad (11)$$

De esta ecuación, se puede realizar una integración numérica para un conjunto de valores de d y generar una tabla que relacione directamente f_M, que es medido experimentalmente, con el valor d correspondiente. Por otra parte, la inteligencia artificial es una ciencia computacional, que se encarga del diseño y construcción de sistemas capaces de realizar tareas asociadas con la inteligencia humana. En términos coloquiales la inteligencia artificial (IA) se usa cuando una maquina es capaz de imitar las funciones cognitivas de la mente humana, como: creatividad, sensibilidad, aprendizaje, entendimiento, percepción del ambiente uso del lenguaje. Las redes neuronales artificiales están inspiradas en las redes neuronales biológicas del cerebro humano, están constituidos por elementos que se comportan similarmente en sus funciones más comunes. Dichos elementos se organizan de una manera idéntica a cómo funciona el cerebro humano. Una red neuronal artificial aprende de la experiencia, generalizan de ejemplos previos a ejemplos nuevos y abstraen las características principales de una serie de datos. Una red neuronal consiste en un conjunto de unidades elementales PE (Elemento procesador) conectadas de una forma concreta. Lo interesante de una red neuronal artificial no reside solamente en el modelo de los elemente PE (Elementos de entrada) sino en la forma en que se conectan estos elementos procesadores. Que por lo general se organizan en grupos denominados niveles o capas. Una red neuronal artificial típica está compuesta por una secuencia de capas con conexión de capas adyacentes consecutivas. Existen 2 tipos de capas de conexiones con el mundo exterior. Las capaz de entras o buffer de entradas donde se presentan los datos de la red y una

capa de salida que mantiene la respuesta de la red a una entrada. El resto de las capas recibe el nombre de capas ocultas. En el presente trabajo se utiliza el optimizador de Adam, este método es un algoritmo para la optimización basada en gradiantes de primer orden de funciones objetivo-estocásticas, basado en estimaciones adaptativas de momentos de orden inferior. Este método requiere poca memoria y es invariable al cambio de escala diagonal de los gradiantes y es adecuado para problemas que son grandes en términos de parámetros y datos. Por otra parte, el optimizador de Adam hace uso de un conjunto de estratégicas heurísticas, donde primero para resolver un problema se plantean cuatro pasos empezando por entender el problema, concebir un plan de solución, ejecutarlo y analizar los resultados. Como cualquier otro problema de la ciencia el problema puede no existir o ser un problema múltiple. Los parámetros del optimizador de Adam son:

1) Alpha: También conocido como taza de aprendizaje o factor de paso. Los valores más grandes, como lo es 0.3, tendrán un aprendizaje inicial más rápido antes de que se actualice la tasa de aprendizaje, mientras que los valores más pequeños, como 10 micras, harán que el entrenamiento converja para un mejor rendimiento.

2) Beta 1: es la tasa de disminución exponencial de la estimación de momento de primer orden, como lo es 0.9.

3) Beta 2: corresponde a la tasa de disminución exponencial de la estimación de momento de segundo orden, como lo es 0.999, este parámetro debe ser establecido en un número cercano a 1 en gradientes dispersos.

4) Épsilon: Este parámetro es un número muy pequeño para evitar la división entre 0 en el implemento como 10 nanos.

Para el entrenamiento de sistema inteligente se hace uso de la herramienta de Google Colab, dicha herramienta nos ayudó con la creación y ejecución del código en lenguaje Python. Después haber compilado los vectores de datos, se dispuso a ejecutar el modelo neuronal haciendo uso de la API keras, la cual es una librería desarrollada en lenguaje de programación Python y se ejecuta sobre la plataforma de TensorFlow.

Resultados

Se implementa un Modelo Neuronal con tres capas (L0, L1, L2). Los resultados obtenidos mediante este modelo neuronal, haciendo pruebas con distintos valores de intensidad, factor de entrenamiento y numero de épocas, se muestran en las siguientes figuras 3, 4, 5 y 6.

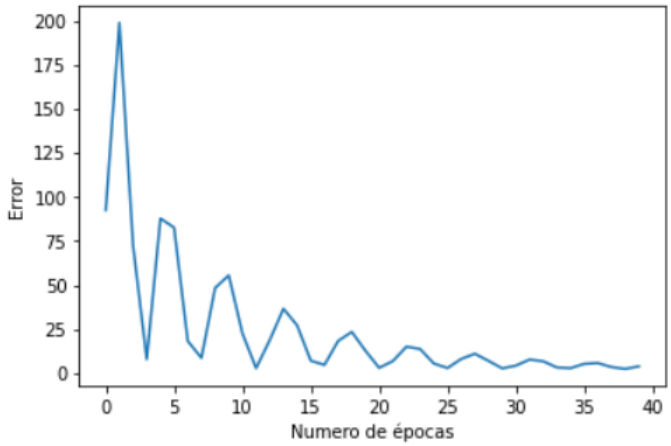


Figura 3. Grafica considerando un factor de aprendizaje de 0.2.

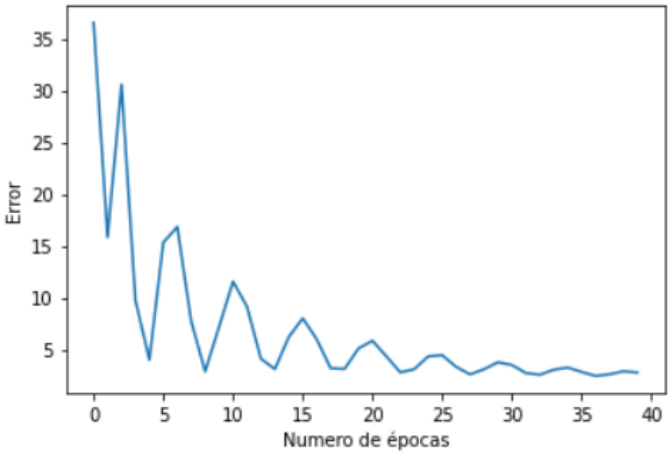


Figura 4. Grafica considerando un factor de aprendizaje de 0.3.

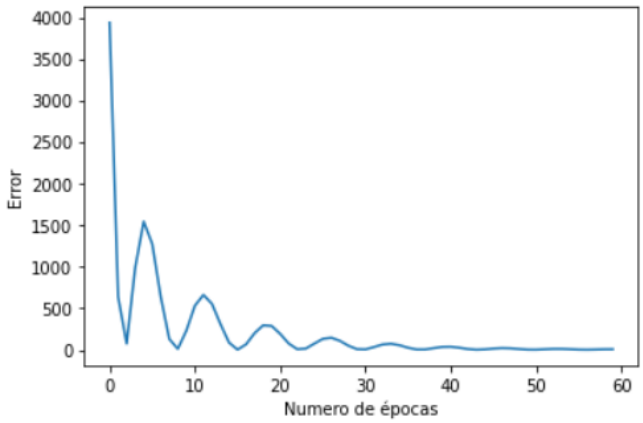


Figura 5. Grafica considerando un factor de aprendizaje de 0.4.

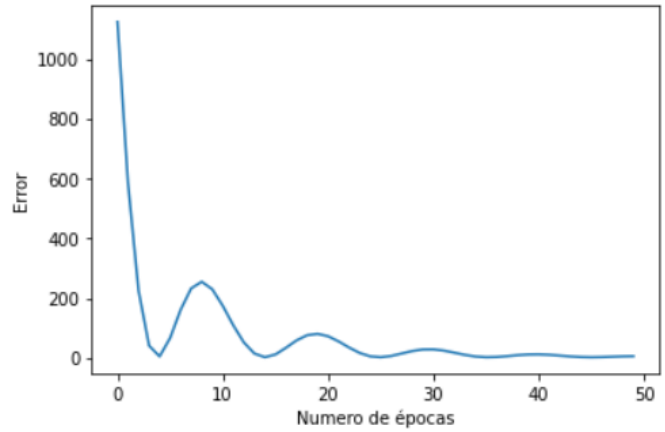


Figura 6. Grafica considerando un factor de aprendizaje de 0.5.

Discusión y conclusiones.

Este artículo, se concluye que el Dispersor de Luz Dinámico cumple correctamente con las funciones previstas dentro de los objetivos, de manera que:

a) Se obtiene un sistema amplificador debido al fotodiodo que es capaz de medir las interacciones de la luz láser de 400 a 500 nm.

b) La interfaz de adquisición de datos (Arduino) muestra su correcta funcionalidad, siendo 100% dedicada a leer los valores para su posterior utilización.

c) El fotodetector acoplado mide las interacciones en la muestra con una sensibilidad a la dispersión de luz.

d)El software Python es capaz de corregir la sensibilidad del fotodetector (situación que se describe en el inciso c de este apartado) a partir de ecuaciones matemáticas, lo que hace posible el procesamiento de datos para conocer el tamaño de partícula. El modelo neuronal no depende de algún factor de entrenamiento como el primer modelo. Este modelo depende directamente del número de capas y el número de pocas, entre más capas se utilicen es posible que el número de épocas sea mejor.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer a Rene Preza-Cortés del Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada de la Universidad Nacional Autónoma de México (CFATA-UNAM) por su asistencia técnica. Este trabajo fue financiado por los Fondos Mixtos CONACYT-México, mediante el programa de Jóvenes Talentos Científicos y Tecnológicos del 2022

Referencias bibliográficas

[1] Langevin D. (2015). Historical Perspective, Light scattering by liquid surfaces, new developments, Advances in Colloid and Interface Science, 289, 102368.

[2] Moitzi C., Vavrin R., Bhat SK., Stradner, A., Schurtenberger P. (2009). A new instrument for time-resolved static and dynamic light-scattering experiments in turbid media. Journal of Colloid and Interface Science, 336, 565–574.

[3] Wang W., Liu W., Qi T., Qiu W., Jia H., Wang Y., Shena J., Liu Z., Thomas JC. (2020). Dust discrimination in dynamic light scattering based on a quantile outliers detection method, Powder Technology, 366, 546–551.

[4] Langevin D., Raspaud E., Mariot S., Knyazev A., Stocco A., Salonen A., Luch A., Haase A., Trouiller B., Relier C., Lozano O., Thomas S., Salvatie A., Dawson K. (2019). Towards reproducible measurement of nanoparticle size using dynamic light scattering: Important controls and considerations, NanoImpact, 10, 161–167.

[5] Gazi I., Kim H., Paterson AHJ., Huppertz T. (2020). Measuring viscosity of supersaturated lactose solutions using dynamic light scattering, International Dairy Journal, 102, 104596.

[6] Castañeda, A., Castaño, V.M. (2020) An Innovative Algebraic-Analytic Model in Frequency Domain for Photodiodes Characterization, Materials Testing, 62(2), 210–216.

[7] Islambek A., Yang K., Li W., Li K. (2019). FPGA-based real-time autocorrelator and its application in dynamic light scattering, Optik, 194, 163047.

Elección del sistema de propulsión eléctrico de una Aeronave Remotamente Pilotada (RPA)

Michelle Denisse Herrera Kuantay | Asesora: M. en C. Adriana Cházaro Zaharias | Universidad Aeronáutica en Querétaro | 5358@soyunaq.mx | adriana.chazaro@unaq.mx

0. Resumen

El siguiente documento tiene como objetivo desarrollar una metodología para elegir el motor eléctrico sin escobillas de corriente directa (BLDC) y la hélice en un sistema de propulsión eléctrico de una RPA de ala fija. Para llevarlo a cabo, se han tomado los datos de dos modelos utilizados para competencias de aeronaves de carga con sus respectivas restricciones, y se evalúa la elección de su sistema final, sus estimaciones de modelos de empuje bajo diferentes métodos y los resultados que implican en el rendimiento final, sobre todo la distancia de despegue de acuerdo con la masa del modelo. Al final, se busca sintetizar la información en una metodología que permita la elección de los componentes para futuras aeronaves de una forma más sencilla y accesible. | The following document aims to develop a methodology for selecting the brushless, direct current (BLDC) motor and propeller in an electric propulsion system for a fixed-wing RPA. To achieve this, the data from two different models that were used for cargo aircraft competitions with their regulations were used, and their final systems election was evaluated along with the thrust model estimations under different methods and the results on the final performance, especially the take-off distance according to the model's mass. In the end, the information will be summarized in a methodology that makes the components election for future aircraft easier and affordable.

Palabras clave: RPA, motor brushless, hélice, metodología, rendimiento, empuje, despegue.

Keywords: RPA, brushless motor, propeller, methodology, performance, thrust, take-off.

1. Introducción

El desarrollo de UAV (vehículos aéreos no tripulados en español) ha adquirido una mayor importancia con el paso del tiempo gracias a su aplicación en distintos sectores. Dentro de esa agrupación, existe una categoría correspondiente a los modelos manipulados por radio control, conocidos como RPA o aeronaves remotamente pilotadas. Un factor importante para estos sistemas es el tipo de propulsión que utilizan, siendo la eléctrica una de las más importantes para aeronaves cuyo peso máximo al despegue es inferior a los 22kg, principalmente debido a su fácil acceso y comercialización.

Sin embargo, el campo de estudio de estos sistemas está todavía poco explorado, ya que la compatibilidad entre las hélices y los motores eléctricos tiene menos historia que con motores de combustión. Además, para hélices que no superan el metro de diámetro, los análisis convencionales pueden generar algunos problemas matemáticos y aerodinámicos que no se tenían contemplados. Algunos de estos problemas han sido captados por el equipo de desarrollo de RPA de la Universidad Aeronáutica en Querétaro, U-Fly Aerodesign, el cual compite en distintos eventos enfocados en la creación de aeronaves de carga con propulsión eléctrica, donde se busca llevar el modelo al límite en todos sus aspectos para cargar el mayor peso posible bajo las condiciones reglamentarias que se establecen en las competencias. En las figuras 1 y 2, se muestran dos de los aeromodelos diseñados y manufacturados por el equipo. Desde su creación en el año 2013, U-Fly Aerodesign ha competido en eventos nacionales e internacionales en los que han

dado a conocer modelos innovadores para solucionar los problemas planteados, y parte de ese desarrollado a lo largo de los años incluye el análisis de rendimiento y selección del sistema propulsivo.

Los procesos de elección de la hélice y el motor eléctrico han sufrido varios cambios a lo largo de los años con el propósito de encontrar una metodología que sea lo más certera posible a la realidad y que pueda responder a las necesidades del equipo, como lo es su facilidad de ejecución y rapidez, sin adquisición exagerada de materiales, o que permita los análisis de rendimiento posteriores. Entre los métodos más utilizados por el equipo hasta el momento se encuentran los modelos teóricos, el modelo del manufacturero de hélices, simulación en software especializado y pruebas estáticas en un banco de motores. No obstante, este año todavía fueron presentes cambios en la elección tras la etapa conceptual del diseño, lo cual perjudica a las demás áreas involucradas, como la estructural.



Figura 2. Primera versión de X'kau.

La influencia del sistema de propulsión repercute principalmente en el despegue de la aeronave además de en el vuelo crucero y aterrizaje. Al diseñar una aeronave, se lleva a cabo un análisis de rendimiento y uno de los parámetros de diseño más importantes es la distancia de despegue, especialmente en una de carga, ya que ésta es la que se encarga de limitar la cantidad de peso adicional con la que se puede viajar. Mientras mayor empuje pueda tener el sistema de propulsión, mayor peso puede llevarse, aunque esto no debe ser lo único a considerarse, tomando en cuenta que algunos sistemas podrían requerir de mayores o menores velocidades en el vuelo, mayor consumo de potencia o componentes más costosos que dificultan la viabilidad de la decisión.

Debido a estos problemas que han complicado el



Figura 1. Versión final de Zotz.

diseño de la aeronave desde la perspectiva del área de propulsión y rendimiento, se ha propuesto este trabajo de investigación, cuyo objetivo es el desarrollo de una metodología de elección de motor eléctrico y hélice en conjunto de acuerdo con los requerimientos de una RPA de ala fija, mediante el análisis del comportamiento de ambos componentes y sus repercusiones en el rendimiento en vuelo. Para esto, se han estudiado las variables que se consideran en el momento de la elección del motor, como lo son el KV, el voltaje y corriente permitidos; y para la hélice, el material, diámetro, paso y modelo de empuje. Este documento cubre los resultados obtenidos de simulación y los que se utilizaron previamente para poder estimar la elección de los sistemas de propulsión en sus respectivas etapas de diseño.

comportamientos de los sistemas propulsivos ante estos dos casos.

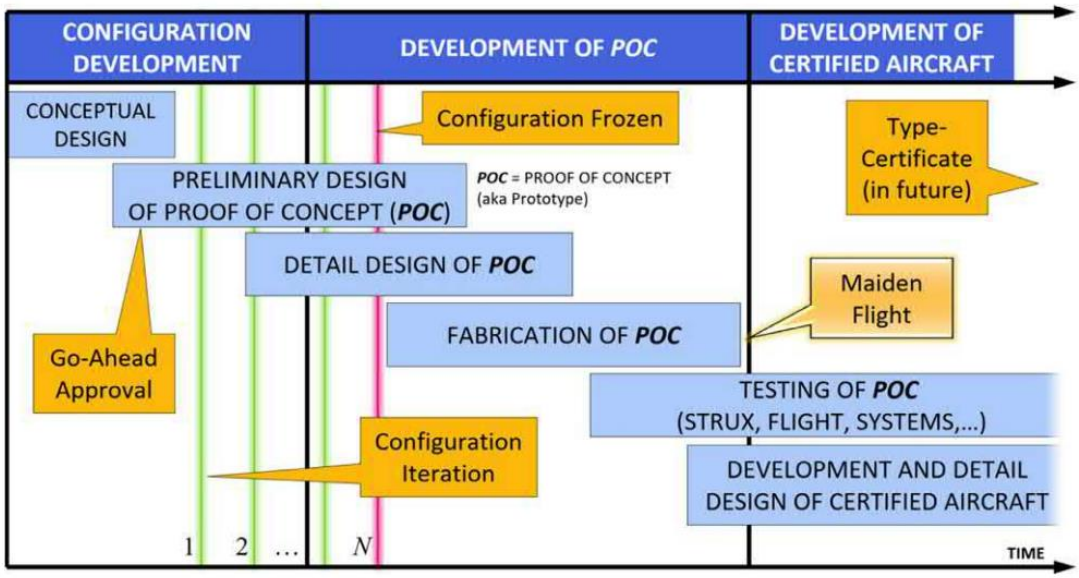


Figura 3. Metodología de diseño general del autor Snorri Gudmundsson.

2. Metodología

Para llevar a cabo el siguiente proyecto, se tomó en cuenta el trabajo previamente desarrollado en el equipo U-Fly Aerodesign y los procesos anteriores para crear la base de este trabajo. Después de esto, se realizaron estudios sobre la hélice y el motor seleccionados y la distancia de despegue, así como de otros casos que pudieran ser útiles para comprender el producto generado, y a partir de eso se hace una estimación de los procesos que se pueden seguir para la creación de una metodología de diseño. De manera inicial, el equipo toma como referencia el procedimiento del autor Snorri Gudmundsson para aeronaves de aviación general, descrito en la figura 3, pero de forma detallada algunos pasos se han adaptado a las necesidades de la magnitud de sus proyectos.

Los primeros resultados se obtuvieron de los análisis realizados para el desarrollo de dos RPA de ala fija de competencia en el año presente: la primera, X'kau, para SAE Aerodesign México 2022, y la segunda, Zotz, para Air Cargo Challenge Múnich 2022. Ambos modelos son bastante diferentes y permitieron evaluar los

Los modelos anteriores tuvieron los resultados aproximados que se muestran en la tabla 1, los cuales cambiaron en distintos aspectos gracias a las condiciones ambientales del vuelo, la carga utilizada, y los componentes eléctricos que acompañaron al sistema de propulsión, como el controlador electrónico de velocidad (ESC por sus siglas en inglés) o la batería de polímero de litio o LiPo. Además, es importante destacar que ambas competencias establecieron límites diferentes en la elección de la propulsión, siendo que el evento en México no especificó una marca o modelo específicos, sino que se cumplieran con las reglas establecidas. Por otro lado, la competencia europea fijó el motor AXI 2826/10 V2 Goldline para todos los participantes, y se dio a elegir la hélice entre el modelo de 10x6in eléctrico de la marca APC o la marca Aeronaut CamCarbon; por la complejidad de la obtención de la segunda, se utilizó la primera opción.

En resumen, los procesos tuvieron que ser diferentes para ambos casos, siendo el primero abierto para satisfacer los requerimientos de la aeronave conceptual, y el segundo para crear el diseño en torno a esta restricción. Para poder comprender más las decisiones tomadas en su

momento y los análisis presentes, se hablará primero sobre las características a considerar en la elección.

Aeronave	X'kau	Zotz
Envergadura	4m	2.14m
Motor	Hacker A50-16L	AXI 2826/10 V2 Goldline
Hélice	APC 20x10E	APC 10x6E
Potencia aprox.	1000W	250W
Empuje máx aprox.	4800g	1200-1400g
Peso máximo	22kg	5kg
Distancia de despegue máx	61m	40m
Altitud de diseño	1900m (Marqués, Qro)	520m (Múnich, Alemania)

Tabla 1. Datos de los modelos X'kau y Zotz.

2.1.Motor BLDC

Los motores BLDC son motores eléctricos cuya principal ventaja es que no emplean escobillas para realizar la conmutación para la transferencia de energía, evitando el rozamiento, pérdidas de eficiencia y bajo rendimiento, pero requieren de un controlador adicional llamado ESC para poder funcionar. El motor más utilizado es el llamado out-runner, el cual tiene el estator en la parte interna y el rotor por fuera. Entre los elementos más importantes que se consideran de este tipo de motor para una RPA es su KV o la relación RPM (revoluciones por minuto) por Volt, siendo que mientras más bajo sea mayor torque tendrá el motor, y viceversa. El motor Hacker A50-16L usado en X'kau tiene un KV de 265, mientras que el motor de Zotz tiene un valor de 920KV. Otros factores incluyen el número de polos y los valores que limitan la capacidad del motor como voltaje y corriente.

2.2. Hélices de paso fijo

Dentro de los parámetros de las hélices, aquéllas que definen su tamaño vienen siendo el diámetro y el paso, siendo éste último la distancia que podría avanzar la hélice si se viera como la cuerda de una tuerca sobre un tornillo. Mientras mayor sea el diámetro y/o el paso, mayor empuje podrán generar, pero esto también requiere de mayor exigencia al sistema que lo propulsa. Adicionalmente, el material también juega un papel muy importante, sobre todo en la eficiencia de esta, ya que las hélices de plástico son más propensas a sufrir de desperfectos, desgastes y son más elásticas a altas velocidades, mientras que las hélices más eficientes son las de fibra de carbono, ganando sobre las de madera por su ligero peso y su estructura, pero son las más caras de todas.

Las propelas son las encargadas de producir el empuje o tracción a partir de la acción del motor sobre éstas. El comportamiento de esta variable se determina principalmente mediante un modelo de ecuación cuadrática descendiente, donde el empuje es dependiente de la velocidad y su valor más alto es cuando la velocidad es cero, a lo que se le llama empuje estático. No obstante, es posible crear otros modelos en relación potencia-empuje, por ejemplo, a criterio del diseñador.

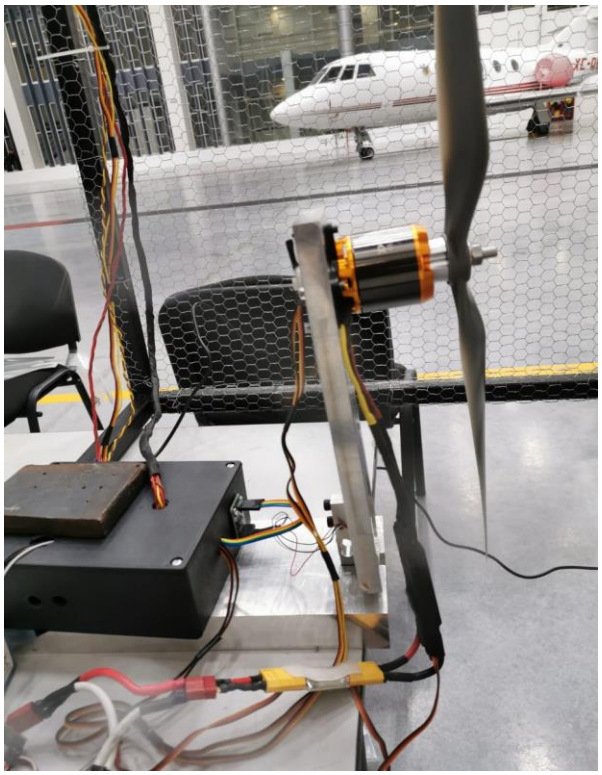


Figura 4. Banco de pruebas de motores eléctricos.

2.3. Análisis utilizados

Los estudios que se han realizado para poder seleccionar o estudiar un sistema de propulsión se dividen en teóricos, simulados y prácticos. El primero se compone de modelos de empuje obtenidos de forma teórica o con el modelo estimado por el fabricante de la hélice, siendo la marca APC la única de las probadas el que brinda esta información. Los modelos simulados corren bajo el uso del software eCalc, el cual utiliza una base de datos interna para hacer estimaciones del comportamiento del modelo en relación potencia-empuje. Por último, las pruebas prácticas se dividen en estáticas y dinámicas o de vuelo, donde las primeras se realizan dentro de un banco de pruebas de motores eléctricos (como el que se muestra en la figura 4) que mide su empuje estático o máximo, y las de vuelo se llevan a cabo cuando la aeronave ya está manufacturada y lista para volar.

Los análisis del fabricante han probado ser más exactos que otros análisis teóricos, y pueden proveer más datos para crear un modelo de empuje a partir de la velocidad, eficiencia o la potencia en un valor fijo de revoluciones por minuto, además de que son más fáciles de ejecutar, pero no siempre están disponibles para todos los modelos. Por otro lado, eCalc presenta la desventaja de que no permite crear un modelo velocidad-empuje al presentar únicamente la velocidad máxima, pero sí es posible estimar los demás datos. Y por último, el banco de pruebas sólo está diseñado para medir potencia, empuje y revoluciones, pero al ser una estimación práctica es el método más preciso para estimar los valores máximos.

2.4.Requerimientos de diseño

Para diseñar las aeronaves se siguieron los requerimientos de las competencias, de los cuales se destacan los siguientes para la elección de la propulsión en el caso de X'kau:

- Motor BLDC y batería LiPo de 6 a 12 celdas en serie.
- Despegue en máximo 61m.
- Hélice no metálica.
- Límite de potencia de 1000W.

Mientras que para Zotz se consideró lo siguiente:

- Puntuación por carga, altura alcanzada y distancia recorrida.
- Bonificación por despegue en menos de 40m. Puntuación normal en máximo 60m.
- Motor fijo, hélice a elegir entre dos marcas.
- Batería LiPo de 3 celdas en serie.

Como se puede notar, ambos casos tuvieron restricciones diferentes y esto afectó en las elecciones rendimiento fina.

3. Resultados

3.1.Elección final de los RPA

Los resultados obtenidos cuando se crearon ambas aeronaves se muestran en las imágenes siguientes. Empezando por X'kau, una parte importante de su análisis consistió en el uso del programa eCalc para poder hacer comparaciones entre distintas hélices.

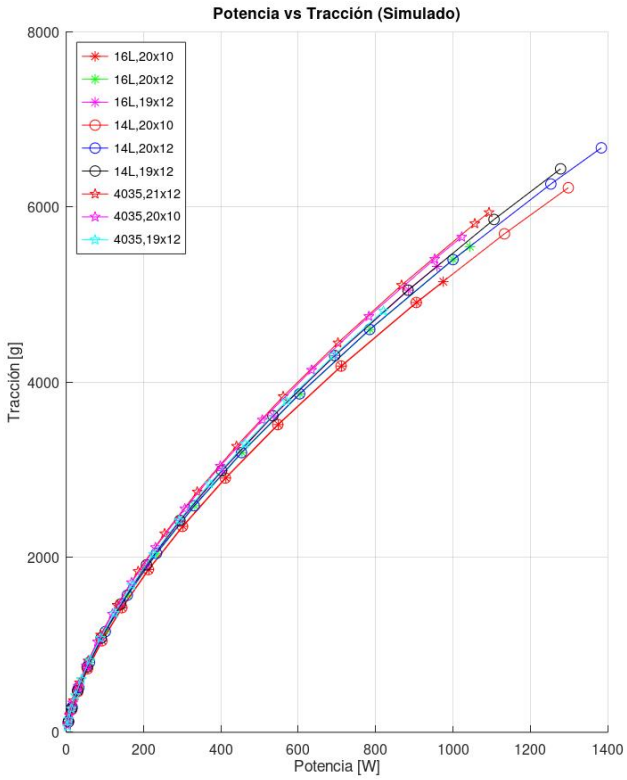


Figura 5. Potencia vs Tracción en eCalc para X'kau.

La estimación del tamaño de ambos se basó en la aeronave de la edición anterior de la competencia, la cual tuvo una misión bastante similar a la de este año. Ese sistema utilizó el motor Hacker A50-16L y la hélice APC 20x10E, por lo que se usaron motores con un KV y voltaje similar para el motor, mientras que para la propela se consideraron modelos de una pulgada más baja y alta. La figura 5 muestra el resumen de los datos más destacados que se probaron en eCalc.

Lo anterior ayudó a estimar que el motor deseado sería el Scorpion 4035-250KV, pero la adquisición de este motor y de otras hélices no pudo concretarse para ese entonces, por lo que se hicieron pruebas estáticas con los materiales ya existentes: el motor ya mencionado y el modelo A50-14L de su misma marca, así como las hélices indicadas en la figura 5.

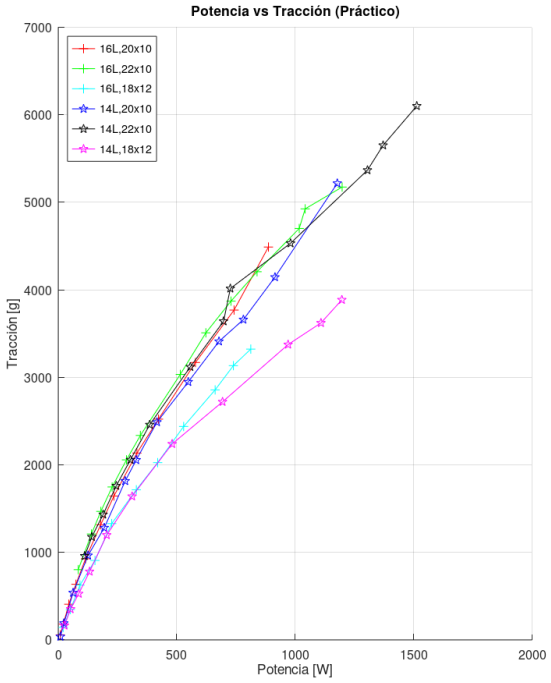


Figura 6. Potencia vs Tracción en el banco de motores para X'kau.

Los resultados fueron bastante complejos de estimar, ya que los motores tuvieron distintos comportamientos con cada hélice, siendo un caso notorio el modelo 14L con la propela más grande, la cual a pesar de su alto empuje se descartó por su límite de potencia, que indicó que sería fácil para esta combinación pasar los 1000W establecidos como límite. Al final, por esta última razón, se optó por el modelo 16L con APC 20x10E, manteniendo la potencia detrás del límite y con el valor más alto de empuje. El caso de Zotz fue más fácil de obtener, ya que su elección estaba hecha, por lo que sólo se obtuvo el modelo a partir de la hélice. Los resultados de ambas gráficas se visualizan en las figuras 7 y 8. Se debe destacar que para ambos casos se hizo el ajuste de la densidad de acuerdo con la altitud de diseño.

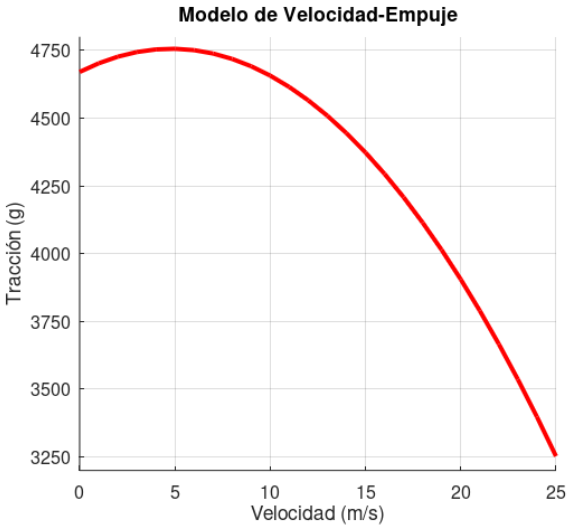


Figura 7. Modelo de empuje del sistema de X'kau.

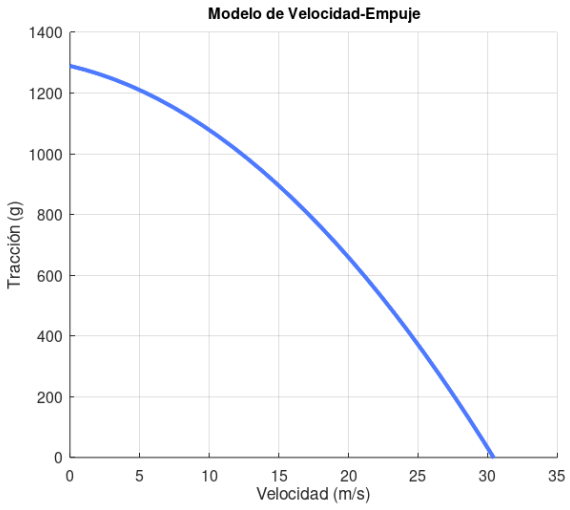


Figura 8. Modelo de empuje del sistema de Zotz.

Además de los resultados anteriores, el diseño resultante se reflejó en la carga que ambas aeronaves pudieron llevar consigo dentro de los límites de la distancia de despegue a partir de las

ecuaciones planteadas por el autor Mohammad Sadraey (figuras 9 y 10). Para Zotz se especificó la diferencia de carga cuando se despliegan sus flaps contra el caso en que no lo hagan.

Los resultados iniciales fueron definitivos para sus modelos, pero eso no significa que éstos hayan sido las mejores opciones. Un mejor procedimiento y análisis más profundos buscan poder corroborar o refutar las elecciones de diseño presentadas. Los siguientes apartados son los estudios realizados.

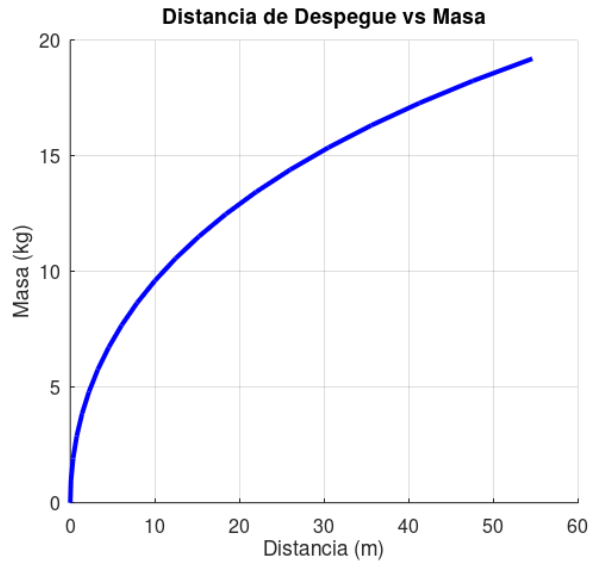


Figura 9. Distancia de despegue para X'kau.

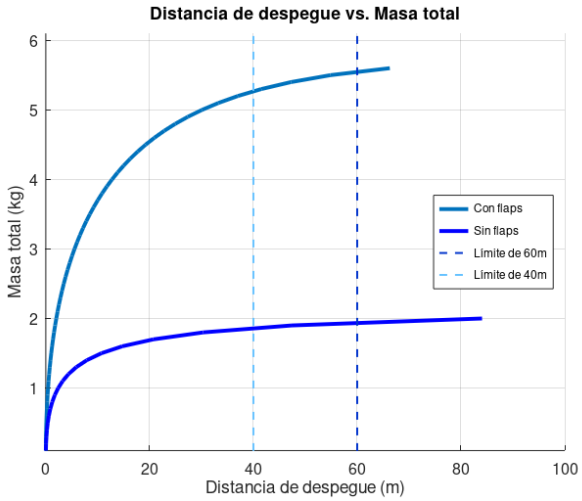


Figura 10. Distancia de despegue para Zotz.

3.2. Análisis posteriores

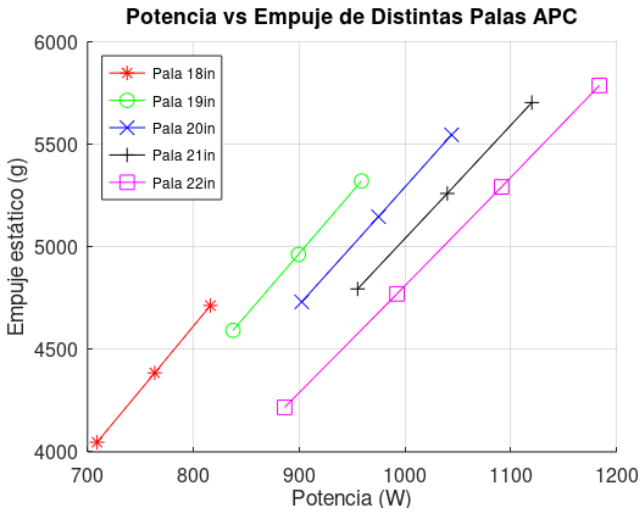


Figura 11. Potencia vs Empuje de palas APC en el motor Hacker A50-16L.

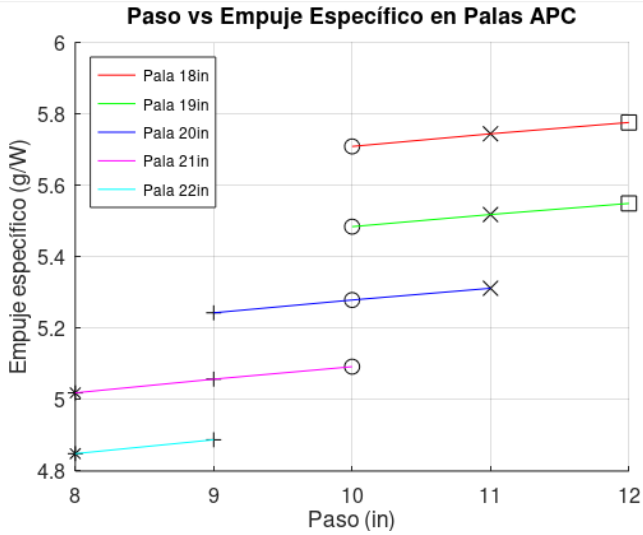


Figura 12. Paso vs Empuje Específico de palas APC en el motor Hacker A50-16L.

Las primeras observaciones se dirigieron hacia la relación entre diámetro y el paso de la hélice, por lo que utilizando eCalc en la figura 11 se graficó la potencia contra el empuje de distintos tamaños de hélices de la marca APC, y se compararon sus resultados tomando en cuenta también el paso de éstas. Después, se graficó en la figura 12 la relación del paso de dichas hélices contra el empuje específico, el cual es la relación de empuje estático entre potencia, o mejor dicho, cuántos gramos de empuje pueden proporcionar 1W de potencia. A

pesar de la similitud del propósito de ambas gráficas, las perspectivas que ambas dan generan un resultado muy importante.

Paso 8	Paso 9	Paso 10	Paso 11
21 - 22: 0.1701	20 - 21: 0.1855	18 - 19: 0.2244	17 - 18: 0.2470
	21 - 22: 0.1696	19 - 20: 0.2051	18 - 19: 0.2257
		20 - 21: 0.1865	19 - 20: 0.2063

Tabla 2. Diferencias de empuje específico de hélices con el mismo paso.

La tabla 2 establece que hay una diferencia constante sobre las líneas de la figura 12. Por ejemplo, las hélices de 18 y 19in de diámetro tienen una diferencia de empuje específico de 0.2244 y 0.2257, valores muy cercanos entre sí y que denotan la similitud entre ellos. Además de esto, en la tabla 3, las diferencias entre las hélices del mismo diámetro no sólo son constantes para ese mismo tamaño, sino que en todos los casos, las diferencias se mantienen en un rango entre 0.031 y 0.036.

	Paso 9	Paso 10	Paso 11	Paso 12
Hélice 18in	-	5.7080	5.7433	5.7750
Hélice 19in	-	5.4836	5.5176	5.5486
Hélice 20in	5.2427	5.2785	5.3113	-
Hélice 21in	5.0572	5.0920	-	-

Tabla 3. Empuje específico de algunas de las hélices probadas.

Esto también puede corroborarse con el cálculo de las pendientes. En la figura 11, las pendientes de cada diámetro de hélice se definen por la tabla 4, las cuales también muestran la constancia y linealidad visibles en la gráfica. Todos estos resultados muestran que las relaciones diámetro-paso en las propelas siguen un comportamiento predecible entre ellas, que les permite incluso establecer relaciones con otras hélices sabiendo el comportamiento que tienen bajo la misma longitud o el mismo paso.

Diámetro	Pendiente 1	Pendiente 2
Hélice 18in	6.2018	6.2357
Hélice 19in	5.9774	6.0168
Hélice 20in	5.7241	5.7742
Hélice 21in	5.4900	5.5444
Hélice 22in	5.2072	5.2733

Tabla 4. Pendientes entre dos pasos de una hélice con mismo diámetro.

Tras evaluar este caso, se buscó corroborar si el motor tenía alguna influencia entre el resultado, por lo que se cambió el motor al modelo 14L y se corrieron las mismas pruebas. Los resultados variaron en cuanto a los valores obtenidos, pero los comportamientos siguieron las mismas tendencias. En el caso de las diferencias de empuje específico de hélices con el mismo paso, las relaciones se mantuvieron iguales pero con una disminución en los resultados de aprox. 0.025, mientras que las pendientes de cada caso disminuyeron entre 0.4 y 0.6, dando un rango con valor mínimo de 4.8 para la hélice de 22x6 y con valor máximo de 5.7143 para la 18x12.

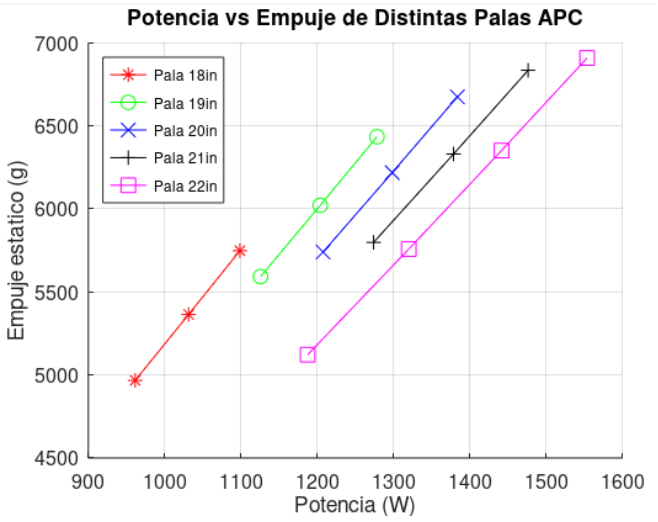


Figura 13. Potencia vs Empuje de palas APC en el motor Hacker A50-14L.

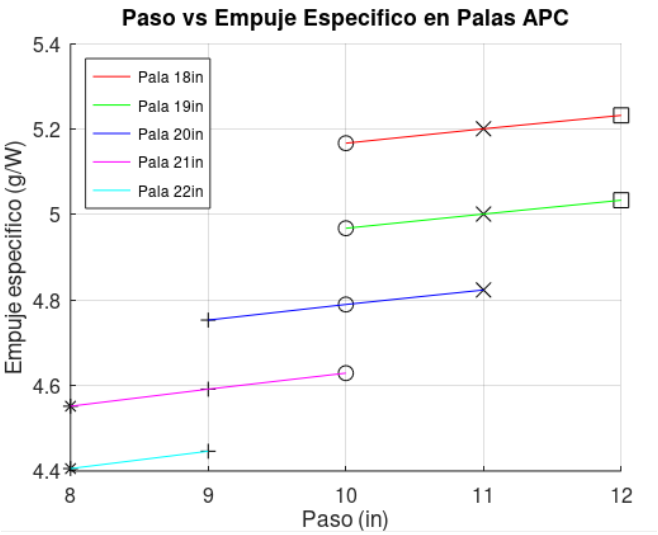


Figura 14. Paso vs Empuje Específico de palas APC en el motor Hacker A50-14L.

Un comportamiento relevante que también se puede destacar de esto es la diferencia de potencia y empuje que requieren ambos motores con las mismas hélices. El motor 16L se mantiene alrededor de los 1000W establecidos para éste, mientras que el 14L se va mucho más allá de este límite, lo que también le otorga un aumento de empuje bastante alto. No obstante, la relación de empuje específico para las hélices disminuye para el motor 14L, lo que significa que ese consumo de potencia no está brindando más empuje por cada unidad como el otro motor, y fácilmente una hélice de un gran tamaño podría llevar al motor a sus límites operativos. Por otro lado, obtener un mayor empuje de parte del modelo 16L directamente requiere de una hélice de mayor tamaño o del aumento del voltaje de alimentación. Las figuras 5 y 6 son la mejor comparativa de ambos casos, pero los análisis anteriores demuestran una nueva cara del rendimiento de cada combinación.

Finalmente, se hizo una prueba con diferentes marcas para una hélice de las mismas dimensiones con el propósito de evaluar la influencia del material sobre la misma. En este caso, se consideró APC para un compuesto de nylon y fibra de vidrio, la marca XOAR para hélices de madera, y Aeronaut CamCarbon para fibra de carbono, dando como resultado la figura 15, donde es posible notar que la hélice de madera requiere de mayor potencia para otorgar el mismo empuje que las otras dos, las cuales tienen un comportamiento muy similar.

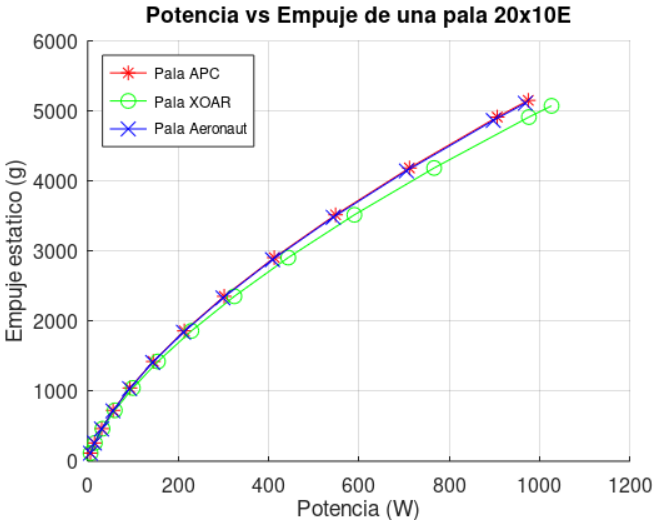


Figura 15. Potencia vs Empuje en hélices 20x10E de distintas marcas.

4. Discusión y conclusiones

La primera parte de los resultados muestra que hay un problema para la elección final del sistema de propulsión en una de las aeronaves ya que los resultados requieren de mayores especulaciones y comprensión de sus resultados al no tener una tendencia tan clara que indiquen que una combinación presenta mayor ventaja que los otros casos. Esto no significa que no sean buenos los resultados, pero el hecho de que no puedan evaluarse bajo los mismos parámetros lo complica aún más.

Los resultados de la segunda parte han mostrado comportamientos diferentes de las hélices y los motores que se habían estudiado inicialmente para la aeronave X'kau, lo cual genera nuevas interrogantes para poder afirmar que la primera elección de su sistema de propulsión fue la más acertada.

El trabajo continúa desarrollándose con el propósito de evaluar de manera más profunda los resultados obtenidos y poder compararlos con los prácticos de uno a uno, evaluando la diferencia entre la teoría,

simulación, prueba estática y finalmente en vuelo de una misma combinación. Se espera que dichas actividades puedan converger hacia una misma tendencia que ayude a comprender la ruta que podría seguirse para la creación de una metodología de elección de motor y hélice mucho más exacta.

4. Referencias

1. Air Combat Command (A. C. C.) (2013). Rpas then and now part iii: History in the making.
2. AkaModell München (2022). Air Cargo Challenge 2022 participation handbook version 01.15. Technische Universität München.
3. APC Propellers. Performance data.
4. Coates, E. M., Wenz, A., Gryte, K., and Johansen, T. A. (2019). Propulsion system modeling for small fixed-wing uavs. 2019 International Conference on Unmanned Aircraft Systems (ICUAS), páginas 748–757.
5. Gudmundsson, S. (2022). General Aviation Aircraft Design. Applied Methods and Procedures. Butterworth-Heinemann, 2° ed.
6. Hacker Brushless Motors. Hacker a50 brushless - motor.
7. Model Motors. Axi 2826/10 Gold Line V2.
8. Prisacariu, V. (2017). The history and the evolution of uavs from the beginning till the 70s. Dresmara, 8(15):181–189.
9. Rodrigues, L. E. M. J. (2014). Fundamentos da Engenharia Aeronáutica com Aplicações ao Projeto SAE-AeroDesign: Aerodinâmica e Desempenho. Salto/SP Ediçao do Autor.
10. Sadraey, M. H. (2017). Aircraft Performance: An Engineering Approach. CRC Press.
11. SAE Aero Design México (2022). XII Competición Oficial, Clase Regular, Reglamento de Competición. SAE Mexico.
12. Skybrary (2021). Introduction to remotely piloted aircraft systems (rpas).
13. Younis, M. C. and Abuhammad, H. (2021). A hybrid fusion framework to multi-modal bio metric identification. Multimedia Tools and Applications, 80(17):25799–25822.
14. Zhang, B., Song, Z., Zhao, F., and Liu, C. (2022). Overview of propulsion systems for unmanned aerial vehicles. Energies.

Intervención antisísmica en edificios afectados por terremotos mediante simulación

Eli Josue Ledezma Arellano
Facultad de Ingeniería
Departamento de Ingeniería Civil
Universidad Autónoma de Querétaro
Querétaro, Mexico
eledezma15@alumnos.uaq.mx

Mario Trejo Perea
Facultad de Ingeniería
Universidad Autónoma de Querétaro
Querétaro, Mexico

Resumen*—Los terremotos causaron pérdidas económicas de US$ 58 mil millones solo en los últimos cinco grandes terremotos en todo el mundo. Durante 2017 se registraron en la Ciudad de México alrededor de 44 edificaciones colapsadas y 68 con alto riesgo de derrumbe. En el sismo que se generó en México en el 2017 hay daños en infraestructura, los cuales se estiman en 29,000 millones de pesos, cerca de 4,500 personas fallecieron en los últimos 20 años por sismos de los cuales 194 son del 2020. El objetivo es la intervención de edificaciones por fallas estructurales provocadas por un sismo, utilizando el método estático con una simulación en el software ETABS mediante la técnica de corte de placas de acero para edificaciones con riesgo medio de colapso, a su vez se realizará una comparación con el método de aisladores sísmicos para demostrar la eficacia del método. En la Ciudad de México existen edificaciones que son candidatas para el análisis y evaluación sísmica. Aunque, es importante decir que el trabajo podría ser aplicado en cualquier parte del mundo que lo requiera. Sin las placas de acero, los desplazamientos de los techos son muy grandes, llegando casi a los 10 cm. Después de colocar las placas en la simulación se obtuvieron resultados de desplazamientos de casi 2 cm máximo, por lo que se redujo el desplazamiento en un 80%.

***Abstract*—Earthquakes caused economic losses of US$58 billion in the last five major earthquakes worldwide alone. During 2017, around 44 collapsed buildings and 68 at high risk of collapse were recorded in Mexico City. In the earthquake that was generated in Mexico in 2017 there are damages in infrastructure, which are estimated at 29,000 million pesos, about 4,500 people died in the last 20 years due to earthquakes of which 194 are from 2020. The objective is the intervention of buildings due to structural failures caused by an earthquake, using the static method with a simulation in the ETABS software through the technique of cutting steel plates for buildings with medium risk of collapse, at the same time a comparison will be made with the method of seismic isolators to show the effectiveness of the method. In Mexico City there are buildings that are candidates for seismic analysis and evaluation. Although, it is important to say that the work could be applied in any part of the world that requires it. Without the steel plates, the displacements of the ceilings are very large, almost reaching 10 cm. After placing the plates in the simulation, results of displacements of almost 2 cm maximum were obtained, therefore the displacement was reduced by 80%.**

***Palabras clave*—sismicidad; grados de libertad; Evaluación de riesgos; diseño estructural; simulación de software; aisladores sísmicos.**

***Keywords*—seismicity; degrees of freedom; risk assessment; structural design; software simulation.**

I. INTRODUCCIÓN

Las pérdidas económicas provocadas por un sismo ascienden a miles de millones de dólares a nivel mundial, solo entre 2013 y 2018 se registraron pérdidas por 58 mil millones en sismos ocurridos en Japón (2016 y 2018), China (2013), Italia (2016) y México (2017) [1]. La amenaza sísmica no constituye un riesgo si no va acompañada de edificaciones vulnerables. A nivel mundial existen varias superficies dentro de la tierra, principalmente las placas, que provocan el movimiento sísmico del suelo, afectando directamente todo lo que está arriba, cerca de 4.500 personas fallecieron en los últimos 20 años a causa de los sismos, de los cuales 194 son del 2020 [2]. A nivel mundial existen varias superficies dentro de la tierra, principalmente las placas, que provocan el movimiento sísmico del suelo, afectando directamente todo lo que está arriba, cerca de 4.500 personas fallecieron en los últimos 20 años a causa de los sismos, de los cuales 194 son del 2020 [3]. La República Mexicana está ubicada en una de las regiones sísmicas más activas del mundo. Cuando las estructuras colapsan, se crean inmensos escombros. Los derrumbes o daños severos a edificios existentes durante fuertes terremotos han resultado en pérdidas económicas significativas, lesiones graves y pérdida de vidas [4]. Durante 2017, en la Ciudad de México hubo alrededor de 44 edificios colapsados y 68 con alto riesgo de colapso, de los cuales algunos siguen en pie, por lo que representan un alto riesgo de seguridad [5]. En el sismo que se generó en México en 2017 hay daños en la infraestructura, los cuales se estiman en 29,000 millones de pesos, en comparación con el sismo de hace 37 años que azotó a nuestro país los costos de reparación de daños son menores aún siendo muy significativos [6].

A. Técnicas antisísmicas implementadas en edificios de riesgo medio

Se utilizó Mathcad para definir los efectos de las condiciones dinámicas de la excitación y se realizó un análisis modal utilizando valores de aceleración espectral típicos en la Ciudad de México. Como resultado se obtuvo que los momentos de volteo en la cimentación se subestiman hasta en un 25% utilizando el modelo comúnmente utilizado en la práctica profesional [7]. Estrategias de refuerzo en edificios existentes de mampostería no reforzada (URM). Las observaciones posteriores al terremoto realizadas durante los últimos 25 años

aclararon este tema. Ser capaz de contrarrestar el efecto de la vibración del edificio bajo perturbaciones sísmicas es una tarea muy importante [8]. La capacidad de reaccionar ante tales efectos naturales no deseados se puede mejorar proporcionando formas para que la estructura contrarreste dinámicamente el efecto sísmico. Los resultados de simulación obtenidos han demostrado que este enfoque conduce a una reducción del 58 % en el desplazamiento máximo y una reducción del 68 % en el valor RMS de la señal de desplazamiento [9].

Este estudio de caso es representativo de edificios residenciales comunes construidos sin prescripciones antisísmicas en áreas de riesgo sísmico moderado a alto. El edificio analizado muestra varias vulnerabilidades y tuvo una respuesta híbrida al terremoto de 2016 en el centro de Italia, que consiste en mecanismos limitados de Programación Orientada a Objetos (OOP) y daño de cizallamiento IP generalizado en las columnas. toda la terraza para las condiciones de construcción resaltó el efecto de la irregularidad general del edificio reducida en aproximadamente un 25% para toda la terraza [10].

Los muros de corte de placa de acero son elementos resistentes a la carga lateral efectivos en edificios de gran altura, los resultados indicaron que el sistema de muros de corte de placa de acero y hormigón armado de alta resistencia (RCSPSW) demostró tener una capacidad de carga lateral superior a los muros de corte de hormigón armado (RCSW) , se observó una degradación más severa de la resistencia y la rigidez para las muestras de flexión RCSPSW con una relación de compresión axial superior a 0,50. Cuando la relación de compresión axial aumenta a 0,58, el factor de ductilidad disminuye sustancialmente a 2,61 y la deriva última es inferior al 1,0 % [11]. El desempeño sísmico de muros de hormigón compuesto de placa de acero tipo rejilla (GSPCW) desde el nivel de componente hasta el nivel estructural utilizando el software FEM DIANA [12]. Después de reemplazar los muros de corte de hormigón armado ordinario con muros GSPCW con un espesor de pared del 30 %, el edificio pudo controlar la deformación general de las estructuras en buena medida, la cantidad de hormigón consumido para toda la estructura se redujo en un 1,64 %. También mostró que el costo de los materiales para los modelos GSPCW solo aumentó alrededor de un 2,2 % por unidad de área, el área disponible de los edificios GSPCW aumentó casi un 3 % en comparación con el área original [13].

Se desarrollan modelos de elementos finitos (FE) para predecir el comportamiento de placas de acero rigidizadas y concreto relleno (SSPFC) utilizando el software ABAQUS, se estudia el mecanismo del muro. Se investigan los efectos de los parámetros de diseño clave sobre la capacidad de carga y la rigidez, la placa de alma y el hormigón son los componentes principales que resisten la fuerza lateral. Se encontró que la placa del alma contribuye con el 55-85% de la resistencia total al corte del muro [14].

Sabemos que el aislamiento de base consiste en separar la estructura del suelo para evitar daños sísmicos, este es un principio simple, sin embargo, una edificación necesariamente debe estar apoyada en el suelo para soportar la gravedad, el problema es cómo aislar la edificación y que al al mismo tiempo puede resistir la gravedad. Sin embargo, esta tecnología no ha logrado destacarse en América Latina, lo que se puede atribuir a la falta de conocimiento sobre el tema, así como en las investigaciones para reducir costos y la relación costo-beneficio que tienen, entre otros factores [15].

Debido a la simplificación de las fuerzas inducidas por el sismo que afectan al edificio, se decidió utilizar el método estático, ya que simplifica las fuerzas inducidas por el sismo a un par de fuerzas estáticas horizontales y verticales equivalentes aplicadas al centro de masa aproximado (CM) del equipo. Las reacciones de apoyo debidas a las fuerzas en el CM se calculan con base en la distribución de masa del equipo. La distribución de fuerzas estáticas equivalentes basada en la distribución de masa del equipo, conocida como método de masa global, es uno de los muchos métodos disponibles para calcular las reacciones en los apoyos [16]. Las variables y características de una estructura que tendremos en cuenta para realizar un diagnóstico son variadas. La principal característica es la altura y número de plantas, los espacios abiertos, es decir, aquellos en los que no existen muros de mampostería o muros de ningún tipo, la amplificación dinámica a través de la estructura dada la morfología y la vibración torsional cuando los muros estructurales no están adecuadamente distribuido [17].

Dado que el diseño sismorresistente contempla la posibilidad de daño en algunos elementos estructurales durante la ocurrencia de un fuerte sismo, la estructura debe ser capaz de soportar todo este daño sin colapsar [18].

El objetivo es la intervención de edificaciones por fallas estructurales provocadas por un sismo, utilizando el método estático con una simulación en el software ETABS mediante la técnica de corte de placas de acero para edificaciones con riesgo medio de colapso, a la vez se realizará una comparación hecho con el método de aisladores sísmicos para mostrar la efectividad del método.

II. METODOLOGÍA

Con base en la investigación, la Ciudad de México es reconocida como un área factible de investigación. En esta ciudad existen edificaciones que son candidatas para el análisis y evaluación sísmica. Aunque, es importante decir que nuestro trabajo podría ser aplicado en cualquier parte del mundo que lo requiera. Para las fuerzas sísmicas se supondrá un conjunto de fuerzas horizontales que actúan sobre cada uno de los puntos donde se supone que se concentran las masas.

Se diseñó un edificio de 7 pisos con una altura de 17.68m x 7.8m con una altura de 16.8m. Donde la base del terreno tiene un área de 137.904m^2. El edificio se puede ver en la Fig. 1.

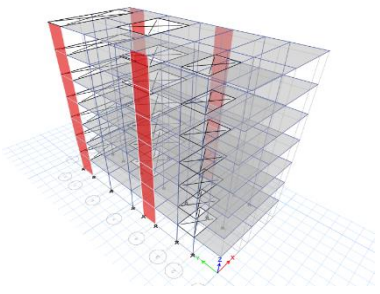


Fig. 1. Diseño estructural del edificio a analizar

Toda la construcción fue realizada en ETABS ULTIMATE con la versión 18.0.2, la cual fue licenciada de uso libre por 12 meses, algunas especificaciones del edificio se pueden ver en la Tabla 1. Como se puede ver en la tabla entre cada piso hay una diferencia de 2.4 m y cada uno de estos tiene un color diferente en la simulación, esto para tener un mejor contraste de cada nivel.

TABLE I. BUILDING SPECIFICATIONS

Tower	Name	Height m	Master Story	Similar To	Color
T1	+16.8	2.4	No	+2.4	Web
T1	+14.4	2.4	No	+2.4	Magenta
T1	+12	2.4	No	+2.4	Yellow
T1	+9.6	2.4	No	+2.4	Gray8Dark
T1	+7.2	2.4	No	+2.4	Blue
T1	+4.8	2.4	No	+2.4	Green
T1	+2.4	2.4	Yes	Nome	Cyan



Fig. 2. Diagrama de flujo para la correcta implementación del método estático.

El diagrama de flujo explica la metodología que utilizamos para llevar a cabo este proyecto (Fig. 2).

El primer paso sería identificar el edificio a evaluar. Analizaremos varios edificios candidatos que podrían ayudarnos a explicar nuestro trabajo y elegiremos el que mejor se adapte a nuestro trabajo. El segundo paso sería revisar las características fundamentales de la estructura de este edificio a través de sus planos estructurales. El tercer paso sería simular el comportamiento del edificio en un software para pasar al cuarto paso que es identificar las tensiones máximas y dónde podría fallar el edificio. Luego aplicaríamos la técnica del muro de corte de placa de acero y simularemos nuevamente la edificación con esto finalmente, con los datos obtenidos presentaremos y discutiremos los resultados.

Las medidas están consideradas en el sistema internacional, para que sean homogéneos con los resultados que deseamos obtener. El código para hormigón es ACI 318-08, para perfiles metálicos se considerará AISC 14 y el código de diseño de acero es AISC 360-10 (Fig. 3).

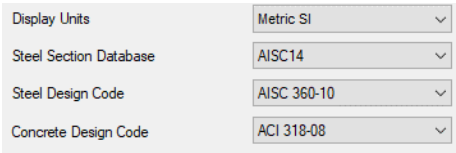


Fig. 3. Normas utilizadas para la construcción del edificio de hormigón.

El material del edificio es concreto, con una f´c de 4000 psi (que es aproximadamente 27.57903 MPa). Todos estos datos se pueden ver en la Fig. 4.

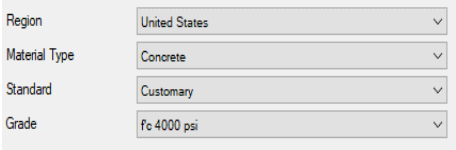


Fig. 4. Especificaciones de construcción del edificio

Los datos utilizados para la simulación sísmica se basan en datos de México CFE-2008 (Fig. 5). La zona sísmica Z representa diferentes características en cuanto a sismos, la zona C son zonas intermedias, donde los sismos no se registran con tanta frecuencia o son zonas afectadas por aceleraciones altas pero que no superan el 70% de la aceleración de la gravedad. El tipo de suelo simulado es el tipo II el cual está conformado por arena, grava, arcilla o una combinación de los anteriores formando un material semiblando, se puede extraer con herramientas manuales y maquinaria pesada.

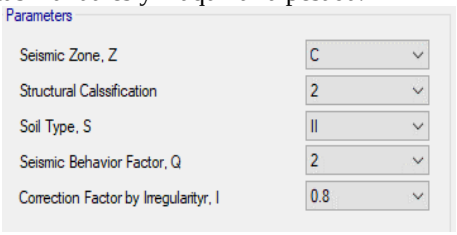


Fig. 5. Datos utilizados para la simulación sísmica en edificaciones

Con estos datos pudimos obtener la gráfica periodo-aceleración del sismo para cada uno de los casos. Estos gráficos se pueden ver en la Fig. 6, En el eje x se puede ver el periodo del sismo al que se va a someter el edificio por simulación y en el eje y se puede ver la aceleración del sismo con los parámetros México CFE-2008.

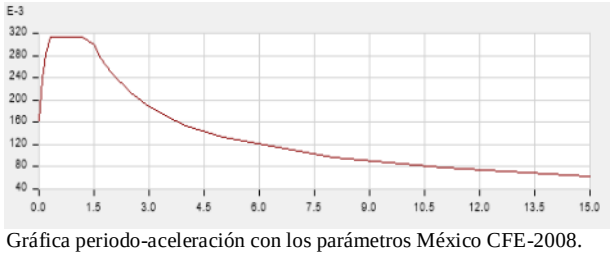


Fig. 6. Gráfica periodo-aceleración con los parámetros México CFE-2008.

Las propiedades de los materiales utilizados en la edificación se pueden ver en la Tabla 2, en ella podemos ver que tipo de resistencia se utilizó en el hormigón, en este caso se utilizaron dos tipos de f´c, también se puede observar que I utilizar un metal grado 50, el cual se observó para la colocación interna de los muros donde se utilizó para las placas de acero. Se utilizó un material de grado 60 para la barra de refuerzo y un material de grado 270 para el tendón.

TABLE II. MATERIAL PROPERTIES-GENERAL

Material	Type	Sym Type	Grade	Color
4000Psi	Concrete	Isotropic	F'c 27.57 MPa	Gray8Dark
A416Gr270	Tendon	Uniaxia	Grade 270	Green
A615Gr60	Rebar	Uniaxial	Grade 60	Blue
A992Fy50	Steel	Isotropic	Grade 50	Yellow
Fc21	Concrete	Isotropic	F'c 27.57 MPa	Web
Fc28	Concrete	Isotropic	F'c 27.57 MPa	Magenta

Para la simulación de los aisladores sísmicos se van a utilizar unos parámetros que fueron calculados y algunos fueron obtenidos en base a la plataforma de ETABS. Estos parámetros y sus respectivos valores se pueden mostrar en la Tabla 3.

TABLE III. PARÁMETROS DE LOS AISLADORES SÍSMICOS FPS

Propiedades	Unidades	FPS
Rigidez vertical	Ton/m	180346.46
Rigidez efectiva lineal	Ton/m	266.31
Rigidez inicial	Ton/m	7514.44
Fuerza de fluencia	Ton/m	19.09
Relación rigidez Post-fluencia/rigidez inicial	Ton*s/m	0.023
Amortiguamiento efectivo	Ton*m	38.31
Energía disipada	Ton*m	15.65
Coeficiente de fricción		0.07
Radio de curvatura	m	1.60

Para el modelamiento con aisladores sísmicos tipo LBR y HDR, tienen la misma metodología. El modelamiento del aislador HDR se realizara de forma idéntica al LBR (Ver Fig. 7,8 y 9).

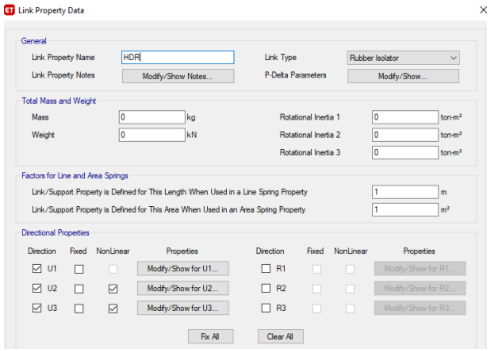


Fig. 7. Datos de las propiedades de enlace para el aislador tipo HDR

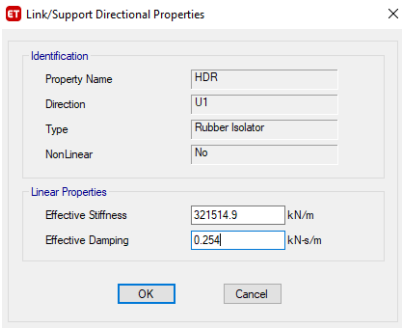


Fig. 8. Propiedades para la direccíon U1 del ailador HDR


Fig. 9 Propiedades del enlace para la dirección U2 y U3 para el aislador HDR

El modelamiento del aislador LBR se realiza en forma parecida al aislador HDR ya que tienen las mismas propiedades (Ver Fig. 10, 11 y 12).

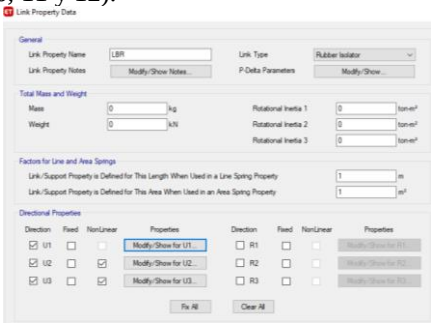


Fig. 10. Propiedades del enlace para el aislador LBR

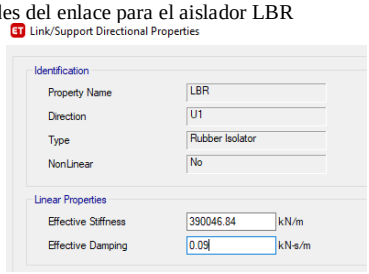


Fig. 11. Propiedades para la direccíon U1 del ailador LBR

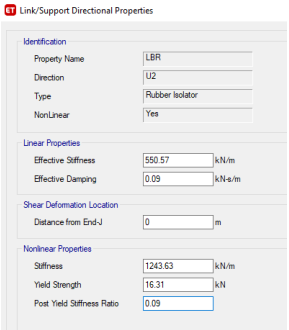


Fig. 12. Propiedades para la direccíon U2 y U3 del ailador LBR

IV. RESULTADOS

A. Técnica antisísmica Muros de corte de placas de acero.

La carga sísmica automática presenta las cargas sísmicas laterales generadas automáticamente para el patrón de carga FHEx usando coeficientes de entrada, calculados por ETABS (Fig. 7). Donde en el eje y se puede ver la altura del piso con respecto a la base y en el eje x se pueden ver las fuerzas en la dirección x generadas por el sismo en cada uno de ellos.

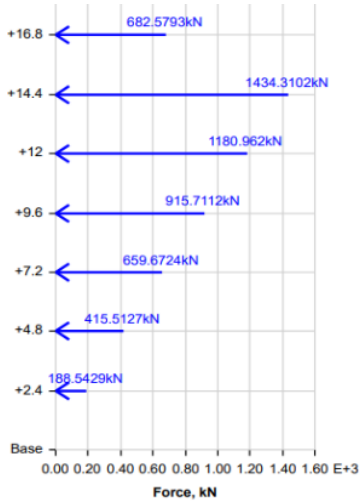


Fig. 7. Carga lateral a los pisos en la dirección X.

La carga sísmica automática presenta las cargas sísmicas laterales generadas automáticamente para el patrón de carga FHEy utilizando coeficientes de entrada calculados por ETABS (Fig. 8). Donde en el eje y se puede ver la altura del piso con respecto a la base y en el eje x se pueden ver las fuerzas en la dirección y generadas por el sismo en cada uno de ellos.

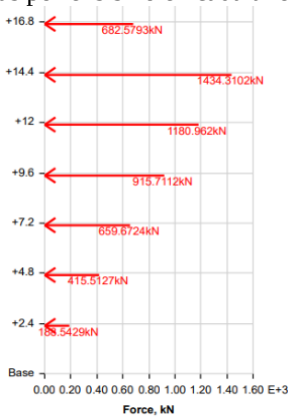


Fig. 8. Carga lateral a pisos en dirección Y

Después de haber realizado la simulación sin ninguna técnica implementada en el edificio, se obtuvieron este tipo de deformaciones. Los desplazamientos y/o deformaciones se miden en mm por lo que en muchas ocasiones no son muy notorios, pero son estos los que hacen que la estructura no resista una réplica sísmica u otro sismo, aunque sea de menor magnitud. Las masas resumidas por historia se pueden ver en la Tabla 4.

TABLE IV. MASS SUMMARY BY STORY

Story	UX Kg	UY Kg
+16.80	35913.18	35913.18
+14.40	89962.84	89962.84
+12	91184.84	91184.84
+9.60	91184.84	91184.84
+7.20	91184.84	91184.84
+4.80	91184.84	91184.84
+2.40	91184.84	91184.84
Base	1222	1222

La edificación estuvo sometida a diferentes cargas y momentos, los principales son los generados por la propia edificación y los generados por el sismo, estas cargas y momentos se pueden apreciar en la Tabla 5. Como se puede apreciar las cargas muertas y vivas no generan fuerzas en las direcciones "x" e "y", mientras que tampoco generan momentos en su dirección "z", considerando que el eje z representa la altura del edificio, el eje "y" "el ancho y el" El eje x" representa la longitud. El dato negativo que se da representa hacia dónde se dirigen esos momentos. En cualquier caso, el dato negativo representaría que los esfuerzos o momentos van hacia el interior del edificio y los positivos hacia el exterior. del edificio.

TABLE V. STRUCTURE RESULTS-BASE REACTIONS

Output Case	Fx kN	Fy kN	Fz kN	Mx kN-m	My kN-m	Mz kN-m
Dead	0	0	3496	34192	-13958.30	0
Live	0	0	556.90	662.7	-2172	0
FHEx	-5473	0	0	0	-6115.36	4624.70
FHEy	0	-5477	0	6166	0.15	-2179
DNX	67.70	1.60	0	8.60	662.57	563.90
DNY	47.30	4651.40	0	5019	246	1665.70
D	0	0	7513	7117	-2997.97	0.16
L	0	0	2258	1251	-8912.19	0.04

En las siguientes gráficas se puede observar las deformaciones promedio en cada piso producidas por cada una de las cargas generadas por el sismo.

- Deformaciones promedio por piso provocadas por carga muerta en el eje X.

  Como se puede observar en la Figura 9, las deformaciones promedio mayores se encuentran en el último piso. A la vez se observa que mientras más alto sea la altura del piso, sus deformaciones serán mayores.



Fig. 9. Gráfica de barras de las deformaciones promedio debido a las cargas muertas en el eje X.

- Deformaciones promedio por piso provocadas por carga muerta en el eje Y.

  En la Figura 10, podemos observar las deformaciones promedio debido a las cargas vivas, podemos observar que en este diagrama no se cuenta con valores en la primera planta, ya que está planta no cuenta con deformaciones y esto se debe a que pasa todas las fuerzas por cargas muertas directamente a la cimentación del edificio, así evitando que está presente deformaciones.



Fig. 10. Gráfica de barras de las deformaciones promedio debido a las cargas muertas en el eje Y.

- Deformaciones promedio por piso provocadas por carga Viva en el eje X.

  En la Figura 11, se observan las deformaciones promedio debido a las cargas vivas en el eje X, se puede ver que solo cuenta con 3 valores con su respectivo piso, Se observa que solo se cuentan con valores en los primeros 3 pisos.

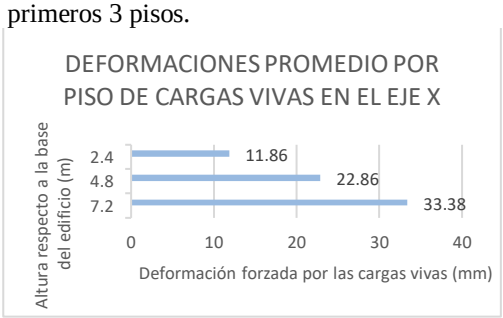


Fig. 11. Gráfica de barras de las deformaciones promedio debido a las cargas vivas en el eje X.

- Deformaciones promedio por piso provocadas por carga Viva en el eje Y.

  En la Figura 12, se observan las deformaciones promedio debido a las cargas vivas con respecto al eje Y. Se observa que mientras más alto sea la altura del piso, sus deformaciones serán mayores, esto se debe a sus grados de libertad.

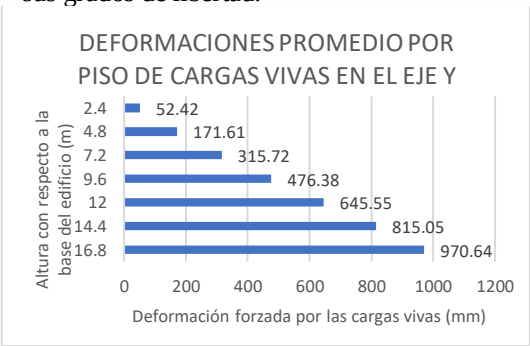


Fig. 12. Gráfica de barras de las deformaciones promedio debido a las cargas vivas en el eje Y.

- Deformaciones promedio por piso provocadas por carga DNX.

  En la Figura 13, se pueden observar deformaciones promedio debido a las cargas generadas por el sismo en el eje X. Se observa que los desplazamientos son mayores en comparación a las cargas vivas y muertas, esto debido a que el sismo genera liberación de energía.

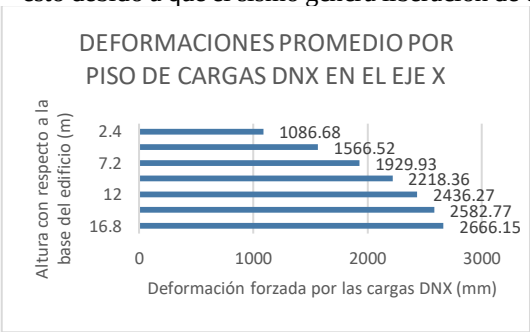


Fig. 13. Gráfica de barras de las deformaciones promedio debido a las cargas DNX.

- Deformaciones promedio por piso provocadas por carga DNY.

  En la Figura 14, se pueden observar deformaciones promedio debido a las cargas generadas por el sismo en el eje Y. En comparación a las presentadas en el eje X se puede observar que algunos valores son mejores y otros son mayores.

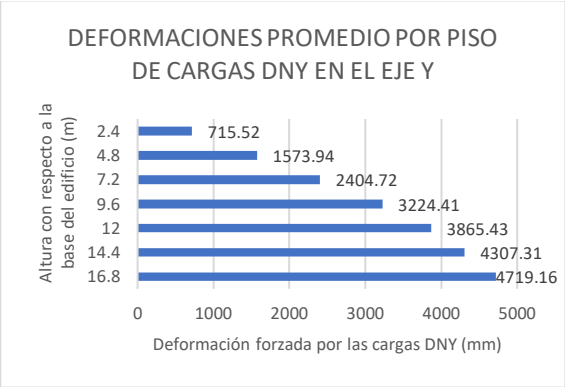


Fig. 14. Gráfica de barras de las deformaciones promedio debido a las cargas DNY.

En ocasiones se puede observar que los valores más altos se encuentran en la mitad del edificio, esto es lo que provoca que los techos cuelgan después del sismo. Sin las placas de acero, los desplazamientos de los techos son muy grandes, llegando casi a los 10 cm. Después de colocar las placas en la simulación se obtuvieron resultados de desplazamientos de casi 2 cm máximo, por lo que se redujo el desplazamiento en un 80%.

B. Técnica antisísmica aisladores sísmicos

Para esta técnica se realizaron unos pequeños cambios en la edificación para poder simular son que Etabs nos marcará errores y nos permitiera realizar el análisis de la técnica antisísmica, los cambios que se le realizaron es la implementación de un piso adicional y la reducción de sus dimensiones, se le implemento el otro piso para que contáramos con el mismo volumen de construcción y así poder realizar una comparación en los costos de la implementación de las técnicas. Podemos observar los cambios en la Figura 15.

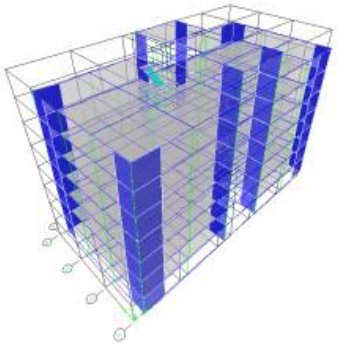


Fig. 15. Edificio para los aisladores antisísmicos

La carga sísmica automática presenta las cargas sísmicas laterales generadas automáticamente para el patrón de carga FHEx usando coeficientes de entrada, calculados por ETABS (Fig. 16). Donde en el eje y se puede ver la altura del piso con respecto a la base y en el eje x se pueden ver las fuerzas en la dirección x generadas por el sismo en cada uno de ellos.

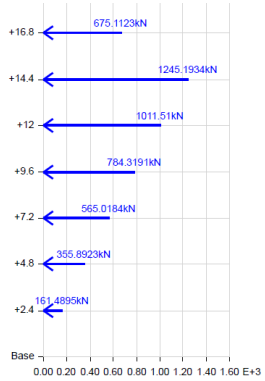


Fig. 16 Carga lateral a los pisos en la dirección X.

La carga sísmica automática presenta las cargas sísmicas laterales generadas automáticamente para el patrón de carga FHEy utilizando coeficientes de entrada calculados por ETABS (Fig. 17). Donde en el eje y se puede ver la altura del piso con respecto a la base y en el eje x se pueden ver las fuerzas en la dirección y generadas por el sismo en cada uno de ellos.

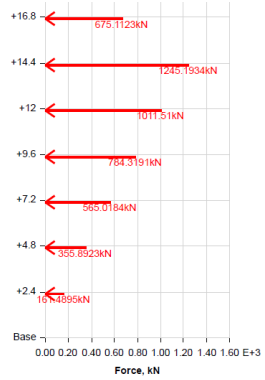


Fig. 17 Carga lateral a pisos en dirección Y

Como se puee observer en la Figura 18 los aisladores LBR se colocaron bajo las columnas de los extremos, mientras que las columnas restantes son del tipo HDR.

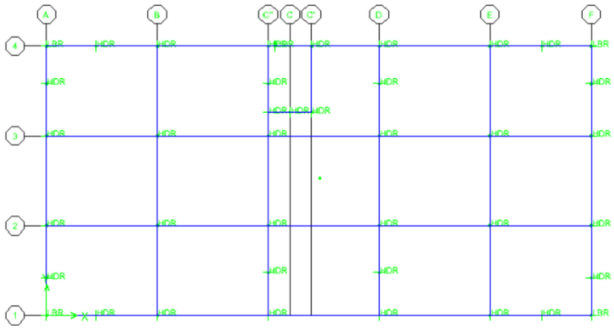


Fig. 18. Vista en planta de la combinación de los aisladores HDR y LBR

Para tener un mejor control de los periodos de participación modal, se pueden observar en la Figura 19. Ante una acción exterior, la respuesta de la estructura dependerá de sus modos de vibrar y sus respectivas frecuencias o períodos; los períodos de vibración dependen de las características geométricas, de la rigidez y de la masa que la estructura opone al movimiento. Se ha obtenido los períodos y modos de vibración, cabe señalar que

el uso de aisladores concentra la vibración de la edificación prácticamente en un solo modo por dirección.

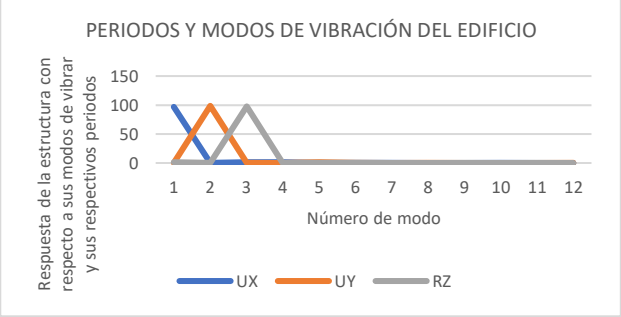


Fig. 19. Gráfica de los periodos y modos de vibraciones del edificio

Podemos ver que el período fundamental tiene un valor de 1.87 segundos, lo que es semejante al período objetivo, este primer modo tiene una participación modal de 94.24% que ocurre en dirección X, lo que se traduce en que para el primer modo, la estructura estaría sometida a traslación en X. Para el segundo modo el período es 1.80 segundos, con una participación modal del 98.06% en Y, de tal forma que el segundo modo la estructura sufriría traslación en la dirección Y. Finalmente el tercer modo, con un período de 1.70 segundos con una participación modal de 94.87% torsional en Z para la estructura.

Es importante mencionar como característica propia de un sistema aislado, que los períodos traslacionales son semejantes de modo que la relación entre ellos es práctivamente 1, mientras que en el tercer modo de vibración la relación es de 1,09 que es muy cercano a 1, por lo que se podrá decir que hay una óptima distribución de los aisladores, además que los modos de vibración se concentra en un solo modo por dirección, lo que además reduciría la incertidumbre sobre el comportamiento de los diafragmas.

La edificación estuvo sometida a diferentes cargas y momentos, los principales son los generados por la propia edificación y los generados por el sismo, estas cargas y momentos se pueden apreciar en la Tabla 6. Como se puede apreciar las cargas muertas y vivas no generan fuerzas en las direcciones "x" e "y", mientras que tampoco generan momentos en su dirección "z", considerando que el eje z representa la altura del edificio, el eje "y" "el ancho y el" El eje x" representa la longitud. El dato negativo que se da representa hacia dónde se dirigen esos momentos. En cualquier caso, el dato negativo representaría que los esfuerzos o momentos van hacia el interior del edificio y los positivos hacia el exterior. del edificio.

TABLE VI. Structure Results-Base Reactions

Output Case	Fx kN	Fy kN	Fz kN	Mx kN-m	My kN-m	Mz kN-m
Dead	0	0	2955	27419	-11845	0
Live	0	0	556	662	-2172	0
FHEx	-4798	0	0	0	-55104	38030
FHEy	0	-4798	0	55104	0	-19147
DNX	162	6.20	0	14.04	573	1321
DNY	88	3956	0	4316	965	14837
D	0	0	6429	57629	-25745	0
L	0	0	2080	10299	-8222	0

En las siguientes gráficas se puede observar las deformaciones promedio en cada piso producidas por cada una de las cargas generadas por el sismo.

- Deformaciones promedio por piso provocadas por carga muerta en el eje X.
  Como se puede observar en la Figura 20, las deformaciones promedio mayores se encuentran en el último piso. A la vez se observa que mientras más alto sea la altura del piso con respect a la base del edificio, sus deformaciones serán mayores.

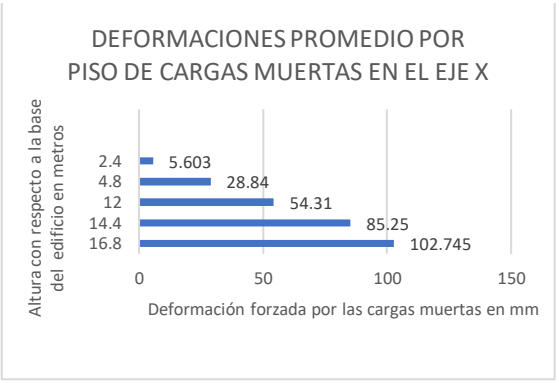


Fig. 20. Gráfica de barras de las deformaciones promedio debido a las cargas muertas en el eje X.

- Deformaciones promedio por piso provocadas por carga muerta en el eje Y.
  En la Figura 21, podemos observar las deformaciones promedio debido a las cargas muertas, se puede observer que las deformaciones en los primeros plantas son muy bajas y con forme subes de nivel, las deformaciones suben.

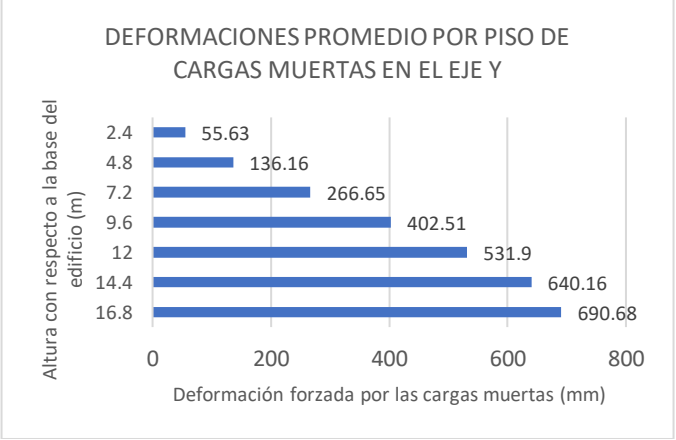


Fig. 21. Gráfica de barras de las deformaciones promedio debido a las cargas muertas en el eje Y.

- Deformaciones promedio por piso provocadas por carga Viva en el eje Y.
  En la Figura 22, se observan las deformaciones promedio debido a las cargas vivas con respecto al eje Y. Se observa que mientras más alto sea la altura del piso, sus deformaciones serán mayores, esto se debe a sus grados de libertad.

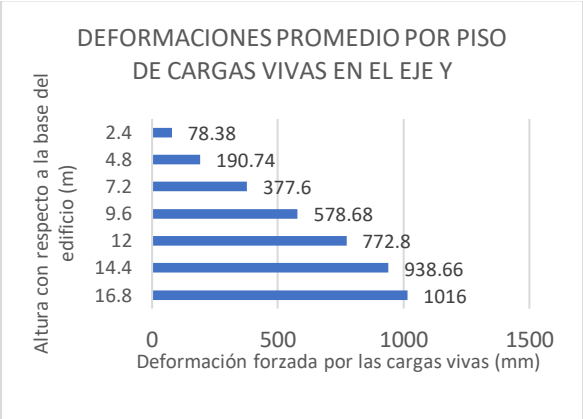


Fig. 22. Gráfica de barras de las deformaciones promedio debido a las cargas vivas en el eje Y.

- Deformaciones promedio por piso provocadas por carga DNX.
  En la Figura 23, se pueden observar deformaciones promedio debido a las cargas generadas por el sismo en el eje X. Se observa que los desplazamientos son mayores en comparación a las cargas vivas y muertas, esto debido a que el sismo genera liberación de energía.

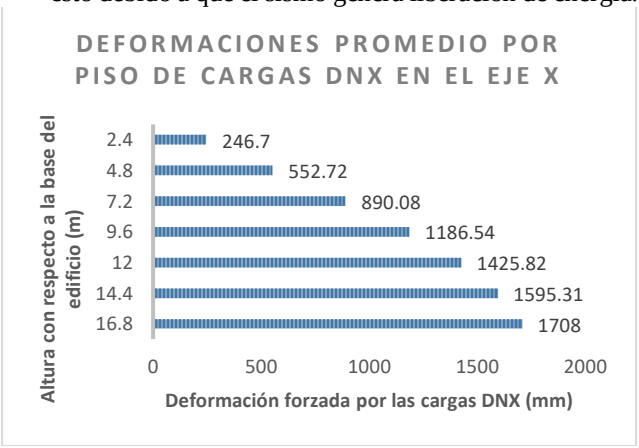


Fig. 23. Gráfica de barras de las deformaciones promedio debido a las cargas DNX.

- Deformaciones promedio por piso provocadas por carga DNY.
  En la Figura 24, se pueden observar deformaciones promedio debido a las cargas generadas por el sismo en el eje Y. En comparación a las presentadas en el eje X, estas son muy altas, lo que genera un gran peligro en la estructura, debido a los daños estructurales que pueden presentar.



Fig. 24. Gráfica de barras de las deformaciones promedio debido a las cargas DNY.

Como podemos comprobar algunos desplazamientos son demasiado grandes, en especial los que se generan debido al terremoto. Como podemos ver los desplazamientos máximos se pueden encontar en manera vertical y estos son los que se generan debido a que el aislador sismica se desplaza verticalmente (ver Fig. 25) y esto hace que estos desplazamientos sean muy altos pero esto no implica que el edificio llegue a sufrir demasiado daño.



Fig. 25. Aislador sismico implementado en un edificio

V. Conclusiones

Luego del análisis realizado al edificio de concreto de 7 niveles, podemos deducir que los muros de corte de placa de acero reducen hasta en un 80% el impacto de un sismo, sin mencionar que la colocación de estas placas de acero reduce el uso de material (concreto, refuerzo, etc.) lo que supone un menor impacto económico y ecológico frente a otros métodos. Al reducir el uso de materiales se logró lograr hasta un 5% más del área interior del edificio, esto se traduce en más espacio disponible para su uso.

Con los aisladores sismicos no se puede lograr un aumento en el área interior del edificio ya que el metodo antisismico no se implementa en todas las paredes en comparación al muro de corte de placas de acero. El unico cambio de las caracteristicas en la edificación es la altura del edificio ya que esta aumenta debido al aislador sismico, pero estos cambios no son muy notables. Según los resultados obtenidos se puede considerar y proponer unas dimensiones para los aisladores, de acuerdo con los datos obtenidos por el programa los aisladores tendrán un diámetro de 110cm y una altura total de 41.1cm, dependiendo del tipo de aislador se decida colocar (LBR o FPS) cambiara las dimensiones del nucleo y el material del mismo.

En cuestiones de reducción de daño se logro un mejor resultado en comparación del otro método, esto se puede ver en la Tabla VII.

TABLE VII. Costos por daños en contenidos del edificio

Modelo	Tradicional	Aislado	Corte de placas de acero
Área	137.904	137.904	137.904
Valor	51,688.14	51,688.14	51,688.14
Inversión	7,128,000.00	7,128,000.00	7,128,000.00
Daño (%)	17	4	6
Costo por daño	1,211,760.00	285,120.00	427,680.00
Costo total	8,339,760.00	7,413,120.00	7,555,680.00

Los anteriores costos solo son de la edificación, no se tienen en cuenta los costos de los daños materiales y/o equipos que se encuentren dentro de la edificación, las vidas humanas que se puedan perder durante el sismo.

Dado que el objetivo de un método antisísmico es mitigar los efectos de los terremotos controlando los daños que se pueden producir en la estructura. Para el caso actual, no representa un costo adicional en la inversión debido a que en el caso de los aisladores dado que la reducción de las fuerzas en la superestructura, recompensa el incremento de los costos de la cimentación y el sistema de aislación en sí. Sin embargo, el incremento de los costos no es sustancial y podría ser despreciable para obras de gran envergadura al cosiderar la importancia de los costos a largo plazo, en el caso del muro de corte de placas de acero el costo de las placas de acero es más elevado en comparación de los aisladores, pero la inversión no crece debido a que los costos de las placas de acero se reducen debido a que se usa menos material en las paredes y posiblemente menos refuerzos estructurales, y el resto se puede despreciar en esté tipo de obras ya que se reduce el costo de mantenimiento y se gana más área interna.

Estos métodos se pueden usar en proyectos de inversión para la sociedad, como edificios de vital importancia durante emergencias (horpitales, estaciones de bomberos, comisarías, posibles refugios, etc.) y de contenido valioso o peligroso (museos, almacenes industriales, etc.).

Es importante mencionar que este análisis se realizó con las condiciones que serían ideales para la edificación y el entorno, en el ámbito de la construcción no existe edificación que cumpla al 100% con estas condiciones ya que pueden verse afectadas por falta de mantenimiento. En la estructura, su mal uso y algunos agentes externos como los desastres naturales de gran tamaño.

Finalmente, no debemos olvidar que la validez de este procedimiento realizado y del método simulado se basan en un análisis estático equivalente de sistemas simplificados con un grado de libertad, estos pierden precisión a medida que la demanda sísmica en la estructura cambia de su ajuste de modo. Esta característica hace evidente que a medida que aumenta la demanda sísmica, menos eficiente será este método.

REFERENCIAS

[1] Statista.Com, 2021, Statista https://es.statista.com/estadisticas/644984/terremotos-de-mayor-impacto-economico-registrados-a-nivel-mundial/

[2] J. A Oviedo, M. P. Duque, "Seismic response control systems in buildings", EIA, vol 6, pp. 1-16, 2006.

[3] Statista.Com, 2021, Statista https://es.statista.com/estadisticas/635156/numero-de-muertes-provocadas-por-terremotos-a-nivel-mundial/

[4] H. Barrios "Seismic response of inverted pendulum type elevated tanks," *Earthquake Engineering*, vol *99* pp. 1-22, 2019.

[5] National Geographic, 2010, NatGeoES, https://www.nationalgeographic.es/medio-ambiente/placas-tectonicas

[6] B. Sanchez, L. M., & R. Angulo, "Analysis of damage to housing and commercial buildings during the occurrence of the earthquake of September 19, 2017," *Earthquake Engineering*, vol 101 pp. 19-35, 2019

[7] F. Celis, 2017, *¿Forbes* Mexico. https://www.forbes.com.mx/por-que-el-costo-de-los-sismos-de-2017-no-se-compara-al-de-1985/

[8] J. M. Salcedo, S. R. Rodriguez, "Seismic design of an elevated tank in Costa Rica", ACHE Concrete and Steel, vol 68 pp 31-43, 2016.

[9] C. M. Braz, J. P. Coelho & J. Gonçalves, "Semi-active vibration control of a non-collocated civil structure using evolutionary-based BELBIC," *MDPI* Journal actuators vol 8(2) pp. 43, 2019.

[10] M. R. Valluzzi, L. Sbrogiò & Y. Saretta, "Intervention strategies for the seismic improvement of masonry buildings based on FME validation: The case of a terraced building struck by the 2016 Central Italy earthquake",*Buildings structures* vol. 11(9) pp. 4-14, 2021.

[11] A. Tena, J. Cortés, & E. Godínez, "Impact of structural redundancy on the seismic behavior of reinforced concrete structures," *ASCE Alternativas* vol 17(3) pp. 8-27, 2017.

[12] D. Jiang, C. Xiao, T. Chen, & Y. Zhang, "Experimental study of high-strength concrete-steel plate composite shear walls". *Applied Sciences MDPI*, vol. *9*(14), pp. 2-30, 2019.

[13] Y. Liu, H. Wu, Q. Yu, Y. Li, J. Li, & L. Li, "Seismic performance of grille-type steel plate concrete composite walls with application in a super-high-rise building". *Applied Sciences MDPI*, vol. *11*(16), pp. 5-20, 2021.

[14] K. Wang, W. Zhang, Y. Chen, & Y. Ding, "Seismic analysis and design of composite shear wall with stiffened steel plate and infilled concrete". *Materials MDPI*, vol. *15*(1), pp.1-33, 2021.

[15] Pamela, L. T. E. (2013). ANÁLISIS Y DISEÑO DE UN EDIFICIO CON AISLADORES SÍSMICOS MODELAMIENTO EN EL ETABS. UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR.

[16] R. Meli & S. M. Alcocer, "Implementation of Structural Earthquake-Disaster Mitigation Programs in Developing Countries", ASCE vol 5 pp 29-39, 2004.

[17] R. Castellanos, A. B. Mora, E. R. Salazar, A. López & R. Gómez, "Determination of response spectra considering cumulative damage and soil-structure interaction," *Earthquake Engineering*, vol 96 pp. 18-38, 2017.

[18] Arnold y reitherma. (2012). Características relevantes del edificio para el comportamiento sísmico. En Configuración y Diseño sísmico de edificios (158-178). California: LImusa.

Instrumentación y análisis energético durante vuelo semiautónomo de hexacóptero

Alejandra Ramón Mendoza 7356@soyunaq.mx

Miriam Berenice López Plaza 7420@soyunaq.mx

Asesor: Moisés Torres Rivera moises.torres@unaq.mx

Universidad Aeronáutica en Querétaro

Resumen

Los UAV's o drones son aeronaves capaces de pilotarse de manera remota o de forma autónoma utilizando vuelos programados con ayuda de un sistema de control de vuelo, sin embargo, tienen un inconveniente en cuanto a las limitaciones de consumo de energía, ya que son alimentados con baterías que se encuentran a bordo del dron.

Aplicando los conocimientos teóricos a través del método experimental se busca instrumentar con diferentes tipos de sensores a un hexacóptero, para adquirir las señales originadas durante un vuelo semiautónomo, mediante sensado de voltajes y corrientes, para el posterior análisis de consumo energético y proponer mecanismos de manejo adecuado del consumo durante distintos modos de vuelo.

Al concluir este proyecto se logró tener un prototipo funcional de un hexacóptero, consiguiendo realizar pruebas de vuelo semiautónomo integrando un controlador de vuelo con software de piloto automático y sensores, y se pudo visualizar el consumo energético para su análisis y posteriores modificaciones de diseño para mejorar autonomía y distribución de energía.

Palabras clave Energía, consumo, sensores, semiautónomo, telemetría, eficiencia.

Abstract

UAV's or drones are aircraft capable of being piloted remotely or autonomously through programmed flights with the help of a flight control system, however, they have a drawback in terms of power consumption limitations, since they are powered by batteries that are on board the drone.

Applying the theoretical knowledge through the experimental method, it is intended to equip a hexacopter with diverse types of sensors, to acquire the signals originated during a semi-autonomous flight, through a census of voltages and currents, for the subsequent analysis of energy consumption and to propose methods of Adequate consumption management during the different flight modes.

At the end of this project, it was possible to have a functional prototype of a hexacopter, managing to conduct semi-autonomous flight tests integrating a flight controller with autopilot software and sensors, and it was possible to visualize the energy consumption for its analysis and subsequent design modifications to improve autonomy and energy distribution.

Keywords Energy, consumption, sensor, semi-autonomous, telemetry, efficiency.

Introducción

Los vehículos aéreos no tripulados o UAVs por sus siglas en ingles Unmanned Aerial Vehicles o, como comúnmente se les conoce, drones, son aeronaves con la capacidad de volar sin la necesidad de un piloto abordo que lo controle. Estos pueden ser piloteados remotamente o incluso volar de manera autónoma basada en planes de vuelo pre-programados por medio de un sistema de control más complejo, en este caso estaremos trabajando con un control semiautónomo, lo quiere decir que si habrá una persona detrás quien auxiliará al dron para tareas más complicadas como por ejemplo en la parte del despegue o aterrizaje en lugares complejos. El dron que se desarrollará será semiautónomo.

"La autonomía se relaciona con los algoritmos de control que poseen estos vehículos para responder de manera satisfactoria al encontrarse en eventos inesperados o aleatorios" (Ruiz, 2017).

Los drones tienen una amplia gama de aplicaciones que van desde lo civil, hasta usarse en el área militar en donde se les da un mayor uso. En el área militar se suelen usar para misiones aéreas hostiles, así como en misiones que demanden una importante carga o de vigilancia repetitiva. Para las aplicaciones de forma civil se pueden encontrar una gran cantidad de opciones, desde misiones con características peligrosas hasta rutinarias como por ejemplo para vigilancia civil incluso para el apoyo en desastres.

Hay distintas formas de clasificar un dron: por su tipo de ala, según su número de palas, por su tamaño, por su uso o rango, en este caso se analizará e instrumentará un dron con tipo de ala rotativa y con seis palas (hexacóptero).

Los drones al ser tan versátiles y flexibles podemos instrumentarlos con los componentes eléctricos que se necesiten para cumplir con algún objetivo en específico.

Por otra parte, una de las mayores desventajas que tienen estos vehículos aéreos, es que son alimentados por baterías que van a bordo de la aeronave, esta restricción limita considerablemente las grandes capacidades que pueden llegar a tener. Se pueden encontrar muchos estudios que contribuyen al ahorro de energía y aumentar el potencial de estos, estudios que van desde el diseño de un sistema automatizado para cargar y sustituir baterías hasta lo más simple que es hacer un buen diseño de la placa PCB, diseños que llegan a ser impactantes en la eficiencia energética del vehículo.

Entonces, a partir de la integración de sensores y señales originadas durante el vuelo asistido de un dron, es posible analizar el consumo energético y proponer mecanismos de manejo adecuado del consumo durante los distintos modos de vuelo.

El hexacóptero que se desarrollará en este artículo se clasificará como uno de uso civil de ala rotativa de tamaño medio que se instrumentará con algunos sensores y demás dispositivos electrónicos para poder realizar un buen análisis del consumo energético.

Metodología

El desarrollo de este proyecto utiliza una metodología que se sustenta a través de la aplicación de conocimientos teóricos, adoptando el método experimental a un proyecto de desarrollo tecnológico.

Las diferentes características y configuraciones de los drones pueden variar dependiendo la aplicación o el propósito de la misión, en este caso se busca desarrollar un dron que realice misiones en vuelo semiautónomo.

El diseño de un sistema de este tipo comienza con los componentes mecánicos, seguido de la electrónica y por último el sistema de control y procesamiento de datos.

Para la estructura principal se utilizó un frame comercial ZD850 diseñado para seis motores brushless equipados con palas 1555 y un tren de aterrizaje de fibra de carbono, material liviano que reduce el peso. Con estos componentes

estructurales se estima una carga útil de 9840 gramos.

Distancia entre ejes	850 mm
Diámetro de brazo	20 mm
Peso neto	1210 gr

Tabla 1 Especificaciones Hexacóptero



Figura 1 Dron ZD850

Una vez realizado un análisis estructural al prototipo se procede a instrumentar y sensorizar el dron.

El dron cuenta con un batería LiPo 6s 30C de 5300 mAh, adicionalmente se instalaron controladores de motores (ESC) con capacidad de 40 A.

La eficiencia energética en los drones es fundamental para lograr mayor autonomía y garantizar el cumplimiento de la misión, por lo tanto, el sistema de distribución de energía en este dron se logró diseñando una placa PCB capaz de transmitir potencia eléctrica a los 6 motores. Para su diseño se consideraron aspectos como: el espesor del cobre, calor producido, longitud y ancho de pistas y aislamiento de los componentes.

El prototipo final se planeó como una placa rectangular de montaje superficial y con separación de 3.937 mm entre cada pista.

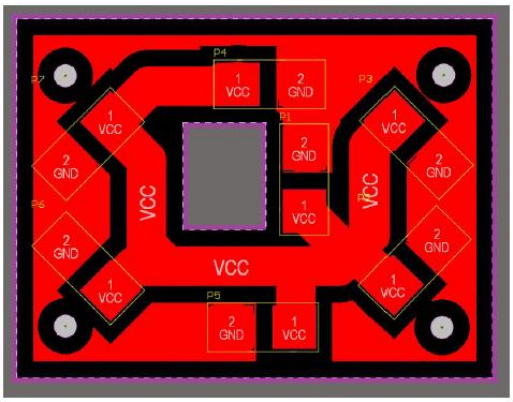


Figura 2 Placa PCB

Como cualquier UAV, el dron cuenta con sistemas embebidos que trabajan en conjunto con sensores y GPS. Asimismo, requiere un controlador, que el usuario utiliza de forma remota para lanzarlo, navegarlo y aterrizarlo. Estos controladores se comunican mediante ondas de radio.

El control de vuelo o autopiloto es programado por el piloto para facilitar el vuelo, tiene algoritmos para altitud y posición, y genera algoritmos de guía, navegación y control para distintos tipos de drones. Además, tiene la capacidad de realizar vuelos autónomos o vuelos utilizando radio control. Recibe señales de entrada de control, procesa e indica a los componentes la respuesta ante el estímulo.

Se seleccionó un controlador de vuelo PixHawk que cuenta con una serie de sensores capaces de estabilizar el dron, posicionar por GPS y transferir telemetría, además de conectar y controlar distintos sensores y otros periféricos.

El controlador de vuelo conectado con GPS, telemetría y radio control consigue tener suficiente información para tomar decisiones correctas para los actuadores que hacen posible el vuelo y lograr una misión exitosa.

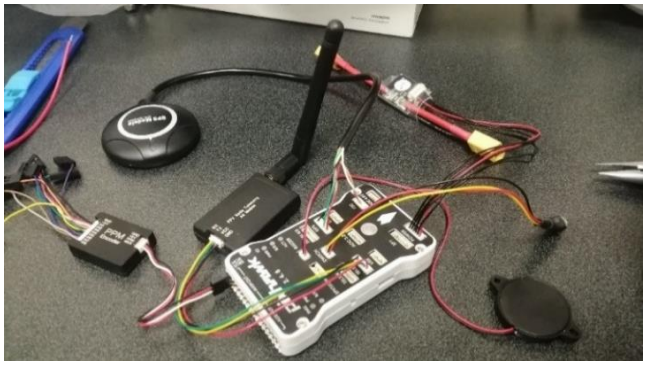


Figura 3 PixHawk conectado con telemetría y GPS

Ardupilot es un software libre de autopiloto que está formado por un software de navegación alojado en el UAV, normalmente en la placa controladora de vuelo, así como un software para la estación terrena o Ground Control Station (GCS) que incluye Mission Planner, software específico que permite integrar y analizar de forma eficiente información geográfica referenciada a un territorio, conectando mapas con bases de datos.

En la interfaz gráfica de usuario de Mission Planner se puede realizar la configuración de los modos de vuelo, los parámetros de control, las rutas de vuelo autónomo, así como la visualización de la telemetría en tiempo real de todos los sensores y datos de vuelo.

El primer prototipo cuenta con diferentes módulos de telemetría, como son, un acelerómetro que genera tres señales analógicas (o digitales) que describen aceleraciones a lo largo de cada eje, un giroscopio el cual describe la velocidad angular del vehículo sobre cada eje del sensor y un magnetómetro que se encarga de medir la intensidad de campo magnético orientándose a un norte magnético.

Se logró incorporar el sistema de video en primera persona mediante una cámara FPV (First Personal View) permitiendo una visualización del área que se está sobrevolando, esencial para realizar vuelos pilotados.

El módulo de cámara FPV cuenta con un emisor y receptor, mejorando considerablemente el rango y calidad de video con el acondicionamiento de antenas. En estos módulos se incorporó un disipador de calor para lograr un funcionamiento más duradero y eficiente.

Asimismo, se integraron dispositivos de comunicación portátiles y una bocina de alta capacidad sonora con el fin de mantener comunicación desde la estación terrena y algún usuario que opere el dron o en caso de utilizarlo en áreas de difícil acceso.

Por último, se tiene el control remoto, el mando a distancia que cuenta con una interfaz que posibilita al piloto en tierra controlar el dron con una distancia permitida por el protocolo de comunicación.

Una vez establecido el funcionamiento de los sensores es necesario utilizar un sistema de navegación que le permita al dron ser ubicado en el espacio y pueda volar por sí solo con un destino de vuelo o puntos planificados. Cuando el usuario selecciona un punto de referencia o Waypoint, el sistema de navegación genera un símbolo de localización de ese punto y una posición en el mapa que representa la posición actual.

Al seleccionar los Waypoints dentro de una misión se genera la ruta que seguirá de forma autónoma el dron, ubicando cada Waypoint mediante GPS.



Figura 4 Datos generados durante una misión prueba

La integración dentro del dron de los sistemas mencionados anteriormente requiere procesamiento y generación de datos pasando por

un sistema limitado tanto en hardware como en software, pero con la capacidad de procesamiento adecuada.

Para realizar todo el procesamiento de datos obtenidos de los sensores, se utiliza una tarjeta Raspberry Pi, utilizando el sistema operativo ROS para administrar los módulos de comunicación y recursos conectados con la tarjeta, incluyendo la comunicación con el piloto automático PixHawk.

Para el monitoreo de consumo eléctrico el controlador de vuelo, además de generar las trayectorias y modos de vuelo, integrará los sensores y la unidad de procesamiento Raspberry Pi.

Adicionalmente, en la estación terrena, la encargada de mostrar al piloto la información del vuelo, se integró el video de la cámara FPV, la telemetría que envía el dron con datos de GPS, altitud, carga de batería, entre otros.

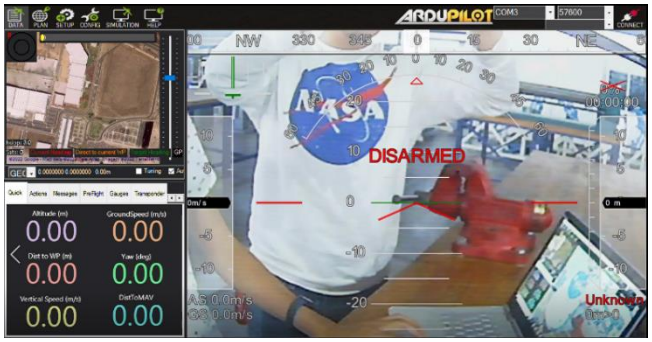


Figura 5 Interfaz de visualización de video y telemetría

Resultados

La placa PCB de distribución de energía, cumplió su propósito para el que se diseñó, alimentando a cada uno de los motores y disipando el calor que se genera.

Se logró integrar e instrumentar de manera exitosa el hexacóptero lo que nos permitió proceder con la prueba de vuelo.

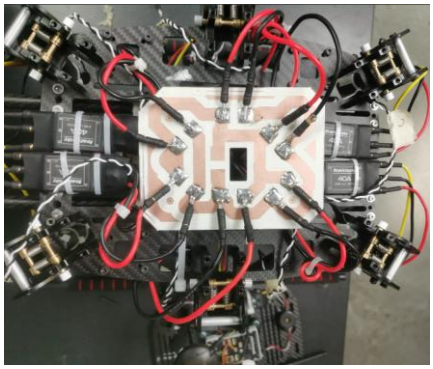


Figura 6 Conexiones de placa PCB.

La prueba de vuelo se realizó con un control manual, en un ambiente semicontrolado y lejos de la zona urbana, todo con el fin de mantener el hexacóptero seguro y sin ningún riesgo.



Figura 7 Hexacóptero instrumentado listo para prueba de vuelo.

Toda la información que se obtuvo durante el vuelo se guardó en una memoria microSD que se encuentra integrada en el piloto automático para después analizarse una vez finalizado el vuelo.

En la siguiente imagen podemos observar los datos obtenidos de posición del GPS que se analizaron con el software Mission Planner donde se aprecia la trayectoria recorrida durante esta prueba de vuelo:

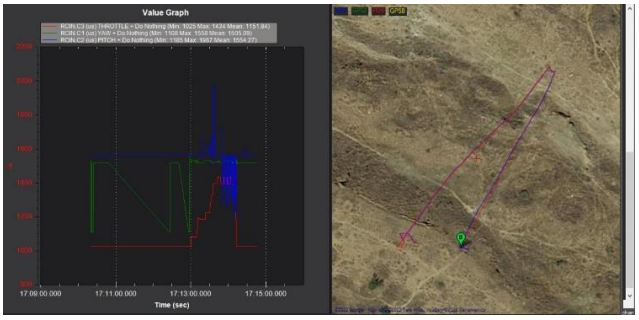


Figura 8 Datos del GPS durante la prueba de vuelo.

Durante este recorrido, se pudieron obtener las siguientes graficas donde podemos visualizar el voltaje y corriente consumidos durante la prueba de vuelo:

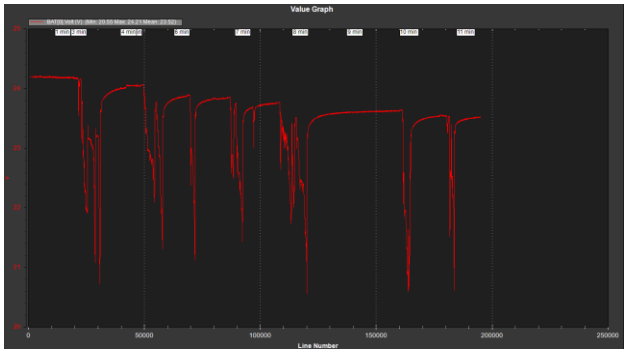


Figura 9 Voltaje consumido durante prueba de vuelo.

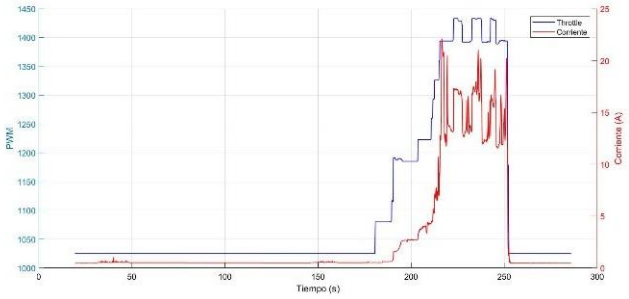


Figura 10 Corriente consumida durante la prueba de vuelo.

Conseguimos como resultados una carga útil máxima de 6 kilogramos, una velocidad máxima de 10 m/s, autonomía de aproximadamente 12 minutos con un alcance de radiocontrol de 1.1 km.

Discusión y Conclusiones

La finalidad de construir un prototipo de dron y realizar pruebas de vuelo es para verificar que el diseño, la instrumentación y el control de vuelo son los adecuados y funcionan en conjunto para lograr el análisis de consumo energético en un vuelo semiautónomo.

Durante el desarrollo de este proyecto se comprobó el funcionamiento de la distribución de energía por medio de la placa PCB y se identificaron áreas de oportunidad en el diseño de esta, por ejemplo, evitar un efecto antena debido a los ángulos de las pistas y aumentar su área para disipación de calor en pistas de alta corriente.

Se concluye que se elaboró un prototipo funcional, el cual logró cumplir con el objetivo principal de obtener datos de consumo energético. Este análisis servirá para realizar diseños y prototipos más eficientes y mejorar la autonomía del dron.

Referencias

Antonio, P. V. (2012). *Diseño e implementación de un sistema de control*. México.

Juan, Z., James F., C., Donald C., S. I., & Andrea C., H. (2021). Energy consumption models for delivery drones: A comparison and assessment. *Transportation Research Part D: Transport and Environment, 90*.

Kreps, S. E. (2016). Drones: what everyone needs to know. *Oxford University Press*.

Pedram, B., Mohammad, S. R., & Sina, A. (2022). An Overview of Drone Energy Consumption Factors. *arXiv preprint arXiv:2206.10775*.

Rafael, E. N. (2010). *Diseño, Construcción, Instrumentación y Controlde un Vehículo Aéreo No Tripulado (UAV)*. México.

Yukai, C., Donkyu, B., Alberto, B., Alberto, M., Enrico, M., & Massimo, P. (2018). A Case

for a Battery-Aware Model of Drone Energy Consumption. *2018 IEEE International Telecommunications Energy Conference (INTELEC)*, 1-8.

Diseño de un concreto hidraulico mezclado con material bentonitico.

Alan Fernando Nolasco Ocampo
Division de Investigación y Posgrado.
Facultad de Ingeniría de la Universidad Autónoma de Queretaro.
Querétaro, Mexico
alancher1@hotmail.com

Dr. Juan Bosco Hernandez Zaragoza
Dr. Teresa Lopez Lara
Division de Investigación y Posgrado.
Facultad de Ingeniría de la Universidad Autónoma de Queretaro.
Querétaro, Mexico
bosco@uaq.mx

Dr. Teresa Lopez Lara
Division de Investigación y Posgrado.
Universidad Autónoma de Queretaro
Querétaro, Mexico
lolte@uaq.mx

Dr. Jaime Moisés Horta Rangel
Division de Investigación y Posgrado
Universidad Autónoma de Queretaro
Querétaro, Mexico
horta@uaq.mx

Resumen — Debido a la gran problemática que la industria de cemento Portland genera día con día y el aumento de su utilización alrededor de el mundo. El sector cementero es responsable de alrededor de el 5% de las emisiones de dióxido de carbono, Inclusive otros autores consideran hasta 7 u 8% de esta emisión. La producción de cemento en México genera más de el 4% de las emisiones totales de equivalentes de dióxido de carbono, similar al promedio mundial. Problema que no es actual debido a que en 2004, el sector del cemento, consumió 422 trillones de Btus de energía, casi el 2% del total de energía consumida por la industria americana. Es por esto que se busca Lograr innovar un concreto que permita reducir el consumo de cemento Portland en la dosificación. Por medio de la agregación de bentonita extraída en yacimientos de suelos de tipo expansivo mediante la caracterizacion de material y posteriormente la comprobación de la resistencia al ser mezclado con diferentes cantidades de este material, en comparación de un concreto convencional de cemento portland utilizado en ambos, asi como tambien si existe una diferencia entre la calcinación del material o la utilización en su estado natural. Para la creación de los modelos de cilindros de concreto el método propuesto es el diseño de dosificación para la mezcla de concreto brindado por American Concrete Institute en la versión 211.1. Donde se busca que el mejor desempeño y resultado de porcentaje de cemento sustituido por arcilla bentonitica conservando las características de resistencia mecánica del concreto.

Palabras Clave — Bentonita, materiales autonivelantes, cemento expansivo, suelo expansivo, cemento-arcilla, cementos mixtos, suelos de desecho.

Abstract — This review analyzes the great problems that the Portland cement industry generates every day and the increase of its use around the world. The cement sector is responsible for about 5% of carbon dioxide emissions, and other authors even consider up to 7 or 8% of this emission. Cement production in Mexico generates more than 4% of total carbon dioxide equivalent emissions, similar to the world average. This is not a current problem because in 2004, the cement sector consumed 422 trillion Btus of energy, almost 2% of the total energy consumed by the American industry. This is why we are looking to innovate a concrete that will reduce the consumption of Portland cement in the dosage. By means of the aggregation of bentonite extracted in expansive type soil deposits by testing the resistance when mixed with different amounts of bentonite in comparison with a conventional concrete, the only difference being the amount of Portland cement used in both and the absence of bentonite in the conventional one. For the creation of the concrete cylinder models, the

proposed method is the dosage design for the concrete mix provided by the American Concrete Institute in version 211.1, where the best performance and result of the percentage of cement substituted by bentonite clay is sought, preserving the mechanical resistance characteristics of the concrete.

Keywords *—Bentonite; self-leveling materials; expansive soil; cement clay; mixed cements; waste soils.*

I. INTRODUCION

En la actualidad, por razones económicas y medioambientales, la industria cementera busca optimizar el uso de materiales de sustitución del clínker de cemento por otros materiales cementicos suplementarios. Tal es el caso de las puzolanas, las cuales constituyen una vía de lograr reducciones en el consumo de cemento, ya sea como adiciones en el proceso de producción de cemento como en la sustitución de este en la fabricación de hormigones. En ambos casos, es bien conocido que las puzolanas modifican las propiedades físicas y mecánicas del hormigón, al cual aportan beneficios en las diferentes prestaciones que ingenieros, constructores o investigadores diseñen para su uso (Castillo, Fernández , Antoni, Scrivener, & Alujas , 2010).

La fabricación del cemento requiere de una extraordinaria cantidad de energía. Las materias primas se "piroprocesan" en grandes hornos a temperaturas de unos 1.500ºC para obtener el clínker. En 2004, el sector del cemento, consumió 422 trillones de Btus de energía, casi el 2% del total de energía consumida por la industria americana. La principal fuente de energía es el consumo de carbón, seguido del coque y de energía eléctrica comprada, la cual es producida en un alto porcentaje, a partir del carbón (Cagiao Villar, Gómez Meijide, Doménech Quesada, Gutiérrez Lanza , & Martínez Abella , 2010).

El sector cementero es responsable de alrededor del 5% de las emisiones de dióxido de carbono (CO2), principal gas productor del efecto invernadero y cambio climático [2]. Durante la fabricación, se produce CO2 en torno a dos vías: la conversión química de la piedra caliza producida durante su calcinación y el propio consumo de combustibles como el carbón (Cagiao Villar, Gómez Meijide, Doménech Quesada, Gutiérrez Lanza , & Martínez Abella , 2010).

La industria del cemento se encuentra en camino de nuevas vías enfocadas hacia la sostenibilidad ambiental buscando reducir la cantidad de clínker en el cemento. Debido ello a la contaminación generada en la producción del mismo, de lo cual da fe el hecho de que del total de emisiones de CO2, el 40 % aproximadamente proviene del consumo de energía eléctrica y de la quema de combustibles fósiles, mientras que el 60 % restantes es causado por la descarbonatación de las materias primas durante el proceso de fabricación del clínker (García , Fernández, & Palomo, 2015).

Los suelos expansivos cubren cerca de 335 millones de hectáreas a nivel mundial, la mayoría en los trópicos semiáridos (200 millones de hectáreas) con precipitación media anual de 500-100mm, típicamente cubriendo bajas posiciones de paisaje tales como fondos de lagos secos, cuencas de ríos, y otras tierras bajas de valles (USS working group wrb, 2006).

En México, la producción anual de cemento se estima en 41 millones de toneladas, con un consumo de cemento de aproximadamente 325 kg por habitante por año según la Cámara Nacional de Gobierno y un valor de cemento de aproximadamente 1,5 MXN por kg. El cemento Portland cubre el 80% de la producción de cemento, que es un cemento que consiste casi totalmente en clínker y no reemplazos de cemento. Las obras de infraestructura gubernamental generan el consumo del 30-40% del cemento (Vásquez & Corrales, 2017).

Según datos del Instituto Nacional de Ecología y cambio climático (INECC) y la Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), la producción de cemento en este país genera más del 4% de las emisiones totales de equivalentes de CO2 [5] , similar al promedio mundial. En 2013, la producción de cemento en México liberó aproximadamente 20 millones de toneladas de CO2 a la atmósfera, mientras que el uso de energía agregó 9 millones de toneladas de CO2 (INECC y Semarnat, 2015).

En base a esta problemática principal que es la emisión de CO2 debido a la industria del cemento, en este artículo se habla de como ya se ha considerado

utilizar como agregado este material para la reducción de su impacto ambiental debido a que considerar su eliminación del mercado, no es una opción actualmente debido a su funcionabilidad en la construcción. Pero si esta problemática la fusionamos la problemática de los suelos de desecho, que son los suelos arcillosos, los cuales en muchas ocasiones tienen que ser retirados de la obra para lograr el mejoramiento de la superficie a construir. Se puede buscar la reducción de producción de cemento al considerar como agregado un suelo de desecho.

Objetivo general

Diseñar un concreto innovador que permita reducir el uso de cemento portland en la dosificación. Por medio de la agregación de bentonita haciendo que tenga la característica de ser autonivelante para tener una mejor manejabilidad ante un fraguado más rápido.

Objetivos Específicos

1. Mantener la capacidad de resistencia en el concreto ante el agregado bentonitico.
2. Facilitar la manejabilidad y eficiencia al extender el concreto en la obra por medio de autonivelacion.
3. Mejorar los tiempos de colocación del concreto gracias a la autonivelacion.
4. Reducir el uso del clínker en la elaboración del concreto.

II. METODOLOGÍA

Para la extracción de la bentonita se considera que será extraía directamente del suelo debido a que si utilizamos un material bentónico ya procesado, perderíamos contribución al hecho de la disminución de materiales industrializados, mismo hecho que es cuidado por otros autores. La bentonita de calcio es un material predominante que será un reemplazo adecuado para las cenizas volantes que se enfrentan a una eliminación inminente debido a las preocupaciones sobre el calentamiento global (Stephen Adji, salaheldin, Pranjal , & Ahmed, 2021).

El consumo energético asociado al proceso de calcinación de estas arcillas, con vista a la obtención de una puzolana muy reactiva, puede desarrollarse de forma eficiente al utilizar como combustible alternativo una biomasa procedente de procesos agroindustriales. Es por ello que el bloque sólido combustible permite acometer un proceso de calcinación más económicamente viable y menos dependiente de una fuente de energía externa. Un factor fundamental es el empleo de tecnologías apropiadas que permitan un eficiente proceso de quema de este combustible alternativo, por ejemplo el horno vertical continuo para la producción de ladrillos cerámicos, ya que de esta forma se garantiza reducir considerablemente el contenido de carbón en la ceniza resultante, lo cual favorece las propiedades puzolánicas del material calcinado (Castillo, Fernández , Antoni, Scrivener, & Alujas , 2010).

A. Preparación y caracterización de material.

El material es sometido en su estado de entrega a un proceso de sedimentación empleando Hexametafosfato de Sodio como agente defloculante. La suspensión obtenida es secada durante 72 horas a 80 ºC con extracción de aire y el residuo ya seco es molido durante 30 segundos en un molino de anillos para recuperar su constitución original en forma de polvo. Una vez recuperada la fracción arcillosa, esta es sometida a una completa caracterización químico-estructural y morfológica mediante Difracción de Rayos X (DRX) (Difractómetro Philips D5000, radiación CuKα), Fluorescencia de Rayos X (FRX) (espectrómetro Philips PW1400, tubo de Rh, 30 kV, 60 mA), Análisis Térmico y Termogravimétrico (ATG) (Equipo Mettler-Toledo, velocidad de calentamiento 10 ºC / min), Distribución del tamaño de partícula (PSD) (Granulómetro Láser Malvern 2000, suspensión acuosa luego de 10 min de agitación ultrasónica) y Superficie 3 Específica (Equipo Micrometrics, adsorción de nitrógeno luego de secada la muestra a 150 ºC, cálculo de la superficie especifica según la teoría Brunauer-Emmett-Teller) (Alujas, Fernández, Martirena, & Quintana, 2010).

B. Evaluación de la actividad puzolánica en pastas OPC-Puzolana

Para la evaluación de la actividad puzolánica fueron preparados cuatro sistemas de pastas cemento Pórtland–puzolanas con una relación agua / aglomerante = 0.4, empleando un Cemento Pórtland Tipo I de 42,5 Mpa. En tres de las series, un 30 % en masa del CPO fue substituido por las arcillas calcinadas a 600, 800 y 925 °C, denominándose series OPC-66, OPC-86 y OPC-96, respectivamente. Una

cuarta serie control es preparada empleando 100% de cemento Pórtland como aglomerante (denominada serie OPC). Dos temperaturas de curado (20 y 30 °C) fueron ensayadas para cada serie. La reacción puzolánica fue monitoreada por determinación del contenido de Ca(OH)2 libre mediante ATG, luego de detenida la hidratación a diferentes edades por inmersión en isopropanol. La cuantificación del contenido de Ca(OH)2 en las pastas se realizó a partir del análisis de las curvas de ATG y el empleo de la expresión (I), que permite incluir la corrección de las pérdidas de masa debido a las materias primas y a la carbonatación (Alujas, Fernández, Martirena, & Quintana, 2010).

C. Metodo de dosificación.

Para la obtención del diseño de dosificación para el diseño de mezclas de concreto el método más utilizado el cual proporcionado por el manual American Concrete Institute (ACI) edición 211.1.

1- Obtener el revenimiento: Este valor se toma de la tabla 1, seleccionando el máximo para el caso requerido de diseño de concreto.

Tabla 1.- Revenimiento recomendable para diversos tipos de construcción. (ACI 211.1).

Clase de construcción	Revenimiento en centímetros	
	Máximo	Mínimo
Cimientos de muros y zapatas reforzadas.	8	2
Zapata sin refuerzo, cajones y muro de subestructura.	8	2
Losas reforzadas, vigas y muros.	10	2
Columnas de edificios.	10	2
Cubiertas de puertas.	8	5
Pavimentos	5	2
Aceras entradas para vehículos y losas en el suelo.	10	5
Construcciones de gran masa.	5	2

2- Cantidad de agua: Para obtener la cantidad de agua se utiliza la Tabla 2- Requerimiento aproximado de agua de mezclado (ACI211.1), relacionando el revenimiento con el tamaño de agregado máximo. La cual se encuentra bajo la relación del revenimiento y los tamaños máximos de los agregados.

3- Determinación relación agua cemento: Esta relación nos brindara un valor que será utilizado para el cálculo de la cantidad de cemento, para la selección de este valor se utiliza la tabla 3, en la cual se selecciona el valor por medio de la resistencia de diseño y la intercesión con la line de concreto sin aire incluido.

Tabla 3.- Relación agua/cemento (ACI 211.1)

Resistencia a la compresión a los 28 días. Kg/cm^2	Relación agua/cemento, por peso.	
	Concreto sin aire incluido	Concreto con aire incluido
400	0.43	-
350	0.48	0.40
300	0.55	0.46
250	0.62	0.53
200	0.70	0.61
150	0.80	0.71

4- Cantidad de cemento: La cantidad de cemento es igual al contenido de agua de mezclado ca dividido entre la relación agua/cemento r a/c. Para encontrar esta variable CC se calcula por medio de la Ecuación 1:

$$CC = \frac{ca}{r(a/c)} \quad (1)$$

5- Cantidad de grava: Para realizar esta determinación de grava se utiliza la siguiente tabla determinada por Sociedad Americana para Pruebas y Materiales (ASTO).

Tabla 4. Volumen de agregado grueso por volumen unitario de concreto (ASTM C-29).

Tamaño máximo del agregado (mm)	Volumen de agregado grueso, por volumen unitario de concreto para disminuir.			
	2.40	2.60	2.80	3.00
10	0.50	0.48	0.46	0.44
12.5	0.59	0.57	0.55	0.53
20	0.66	0.64	0.62	0.60
25	0.71	0.69	0.67	0.65
40	0.76	0.74	0.72	0.70
50	0.78	0.76	0.74	0.72
70	0.81	0.79	0.77	0.75
150	0.87	0.85	0.83	0.81

6- Contenido de arena

La cantidad de arena se determina por diferencia del volumen absoluto de los componentes del concreto los cuales se van determinando según las siguientes ecuaciones: Primero para en contar el volumen del componente Vc es necesario tener la variable de peso p y la densidad d del material para estos resultados aplicarlos a la Ecuación 2:

$$VC = \frac{p}{d} \quad (2)$$

Como segunda parte de esto se tiene que encontrar la masa específica Me mediante las variables de peso p y volumen v, por medio de la Ecuación 3:

$$Me = \frac{p}{v} \quad (3)$$

Obtenido el resultado de la ecuación anterior podemos encontrar la masa M como se muestra en la Ecuación 4:

$$M = Me * v \quad (4)$$

Para determinar el volumen de arena Va es necesario aplicar la Ecuación 5:

$$Va = 1000 - vc \quad (5)$$

Por último se determina la cantidad de arena mediante la Ecuación 6:

$$CA = m * v \quad (6)$$

D. Normativas

Las Normas Mexicanas (NMX) nos ofrecen una recomendación de procedimientos y parámetros los cuales nos recomienda seguir, pero si estos son mencionados por las normas oficiales mexicanas entonces si son de carácter obligatorio. De las cuales las utilizadas dentro de esta investigación nos periten sustentar mejor la realización de dicho diseño. Como lo es la prueba NMX-C-156-ONNCCE-2010 la cual establece los lineamientos para la determinación del revenimiento en el concreto fresco un vez que se allá realizado la mezcla de concreto y con este parámetro aprobado se deberán realizar las muestras de cilindros de concreto que se utilizan para comprobar la resistencia a 7, 14 y 28 días. Donde durante las primeras dos fechas se aplica la norma NMX-C-219-ONNCCE-2005 que especifica resistencia a la compresión a edades tempranas y predicción de las mismas a edades posteriores para la observación de su comportamiento al incremento de resistencia y por ultimo todo esto se verifica con la NMX-C-083-ONNCCE-2002 Determinación de la resistencia a la compresión de los cilindros de concreto métodos de prueba, que nos va permitir saber cuál fue la resistencia máxima que alcanzo la prueba a los 28 días.

III. RESULTADOS

A. Estudios previos

El primer tipo de lixiviado consistió en un fluido con un potencial de hidrogeno (pH) relativamente bajo. (<11) Proporcionado por un mortero de cemento de pH bajo. Este tipo de material cementante se preparó mezclando CEM-I cemento portland ordinario (CPO) y humo de sílice. Los otros dos Las soluciones alcalinas (pH> 12) fueron proporcionadas por morteros de cemento de alto pH. Hecho con CEM-I y CEM-II A-L CPO (este tipo de morteros de cemento se denominará CEM-I y CEM-II) donde el último destaca por la presencia de un 10% de adición de piedra caliza extra con un tamaño de grano de alrededor de 1μm. Los tres tipos de experimentos dibujados (en lo sucesivo denominados experimentos LpH, experimentos CEM-I y experimentos CEM-II) se llevaron a cabo en condiciones isotérmicas (23 ± 2 ◦C) por duplicado, durante 6 y 18 meses. Por tanto, se estudiaron un total de 12 superficies de bentonita. Adicionalmente, Se analizaron muestras de bentonita inalterada para tener una referencia (González, Justel, Fernández, Ruiz, & Stavropoulou, 2021).

Actualmente, uno de los materiales cementantes suplementarios más estudiados y usados los constituyen las arcillas calcinadas en forma de metacaolín. Estos materiales, obtenidos a partir del tratamiento térmico de depósitos naturales de mineral caolín, muestran excelentes propiedades puzolánicas debido fundamentalmente a su composición química, estructura amorfa, y alta superficie específica. Durante este tratamiento térmico, factores como la temperatura y tiempo de calcinación, así como la forma y tamaño de las partículas, influyen en la reactividad del metacaolín (Castillo, Fernández , Antoni, Scrivener, & Alujas , 2010).

Estos cementos híbridos también desarrollan buenas propiedades cementantes. Para los sistemas constituidos por cantidades variables de ceniza con escoria y un 20 % de clínker y activados

alcalinamente, se observa como la resistencia mecánica supera los 20 MPa tras dos días de hidratación, resistencia que sigue aumentando hasta los 28 días superando los 32.5 MPa (valor requerido para un cemento portland comercial 32.5). De nuevo se observan los máximos valores de resistencia cuando se emplea el activador "B". El sistema constituido por mezclas de metacaolín con escoria y clínker, si bien posee propiedades cementantes, desarrolla menor resistencia que los anteriores (García , Fernández, & Palomo, 2015).

La Disolución saturada de cal es un estudio de la actividad puzolánica mediante disolución saturada de cal. La evaluación de la actividad puzolánica de los materiales se realiza mediante un método acelerado, en el que se estudia la reacción del material con una solución saturada de cal en el tiempo. La cal fijada por la muestra de molaridad (mM/L) se obtiene por diferencia de la concentración de la solución saturada de cal inicial y el óxido de calcio (CaO) presente en la solución en contacto con la muestra, al final de cada período prefijado (Jaime Alberto & Delgado Rivera, 2007).

Los materiales procedentes de arcilla cocida, finamente molidos (3.500-4.000 unidades Blaine), presentan una actividad puzolánica destacable, si los comparamos con otros subproductos industriales habituales en el sector de la construcción. Así se puede observar cómo la teja de arcilla tiene una actividad superior a la ceniza volante, residuo procedente de las centrales termoeléctricas que utilizan carbón como combustible (Jaime Alberto & Delgado Rivera, 2007).

Por lo tanto, el material de arcilla cocida presenta actividad puzolánica, pero el calor desarrollado en esta reacción no es capaz de incrementar el calor desprendido por la hidratación del cemento, disminuyendo este calor en un porcentaje similar al de sustitución de cemento por material de arcilla en la mezcla preparada. Así, en el punto máximo de calor desarrollado, aproximadamente a las 24 horas, la reducción de calor del cemento 80/20 es del 19% con respecto al cemento base (Jaime Alberto & Delgado Rivera, 2007).

El efecto de las arcillas calcinadas a diferentes temperaturas en el desarrollo de la resistencia a la compresión en morteros. Para 24 horas, la serie control CPO muestra un valor considerablemente superior de resistencia mecánica en comparación con las series con sustituciones puzolánicas y el filler, evidenciando que a estas edades la reacción puzolánica aún no alcanza a compensar en términos de resistencia mecánica la menor cantidad de CPO. Este bajo desarrollo de la resistencia mecánica a edades tempranas ha sido ampliamente reportado en la literatura y representa la mayor limitación en el empleo de las puzolánicas, siendo los beneficios evidentes a edades superiores, donde, a partir de los 7 días para las series CPO-66 y CPO-86 los valores de resistencia a la compresión son comparables a los de la serie control, con resultados ligeramente superiores para la serie CPO86. Los valores de resistencia a la flexión presentaron igual comportamiento (Alujas, Fernández, Martirena, & Quintana, 2010).

El desarrollo de la resistencia mecánica en morteros se corresponde con el desarrollo de la reactividad puzolánica observada en las pastas. La evolución es similar para todos los sistemas con sustituciones puzolánicas, lo que sugiere que las diferencias en los valores de resistencia mecánica son más una consecuencia de la diferencia en la cantidad de material reactivo debido a las diferentes temperaturas de calcinación que a una diferencia en el mecanismo de reacción. Por su comportamiento tanto en pastas como en morteros la arcilla calcinada a 800 °C presenta el mejor compromiso entre superficie específica y material amorfo capaz de reaccionar, y es la que más aporta en términos de resistencia mecánica. Por lo que según los resultados descarta un aumento de la resistencia mecánica solo por el efecto físico del filler y demuestra actividad puzolánica para la fracción arcillosa calcinada a 925 °C, aunque en menor medida que para las fracciones arcillosas calcinadas a 600 y 800 °C (Alujas, Fernández, Martirena, & Quintana, 2010).

Sin embargo, los productos de arcilla cocida a primeras edades no alcanzan al humo de sílice, subproducto de la fabricación del ferrosilício, que sigue siendo el producto estrella en cuanto a la alta actividad a edades tempranas y cuyos resultados, junto con los de la ceniza volante, han servido de referencia [10].

Se examinó la sustitución del cemento por calcio y rubidio (Ca-Rb) en el mortero. Los resultados muestran disminuciones en resistencia a la compresión proporcionada con el contenido de Ca-Rb en todas las

edades, se muestran los efectos de los reemplazos de cemento Portland ordinario (CPO) por rubidio (Rb) sobre la resistencia a la compresión del mortero. Este efecto fue confirmado por Ahmad et al. Y Targan, por otro el lado el sodio y rubidio (Na-Rb) causa una reducción de la fuerza en (2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 17.5 y 20) % reemplazo mientras que causa incremento de la fuerza al 15% de reemplazo, y Targan et al. Informó un leve aumento de la resistencia a la compresión para un 5% de sustitución en las edades (2, 7, 60 y 90) días y un 10% sustitución a los (2 y 7) días. En general, la reposición de más del 15% provoca reducciones en resistencia a la compresión en todas las edades (Amer A, Qais J, & Waleed A , 2020).

Si la absorción es dominante, los ligeros aumentos en la demanda de agua para obtener la consistencia estándar se reportaron en (5, 10 y 15) % de reemplazo , mientras que las disminuciones en la demanda de agua al (5 y 10) % y ningún cambio en la demanda de agua al 15% debido al efecto de dispersión de las partículas ultra finas. En los niveles de sustitución, más del 15% de la absorción de bentonita es dominante y provoca un aumento significativo de la demanda de agua (Amer A, Qais J, & Waleed A , 2020).

Para la extracción de la bentonita se considera que será extraía directamente del suelo debido a que si utilizamos un material bentónico ya procesado, perderíamos contribución al hecho de la disminución de materiales industrializados, mismo hecho que es cuidado por otros autores. La bentonita de calcio es un material predominante que será un reemplazo adecuado para las cenizas volantes que se enfrentan a una eliminación inminente debido a las preocupaciones sobre el calentamiento global (Stephen Adji, salaheldin, Pranjal , & Ahmed, 2021).

La combinación de este material también puede contribuir a la elaboración de materiales autonivelantes debido a la cantidad del agregado de arcilla que al ser combinado con agua tiende a ser muy flácido y esto contribuye a que al esparcir este material tiende a nivelarse de una manera más fácil y rápida, que una combinación de mortero u cemento convencional. El conocimiento del comportamiento de la arcilla sometida a estas soluciones alcalinas puede ayudar en la evaluación de los materiales cementosos más adecuados para su uso junto a la arcilla (González, Justel, Fernández, Ruiz, & Stavropoulou, 2021). La adición de humo de sílice del 5% al 10% se puede utilizar para mejorar aún más la resistencia a la compresión en edades tempranas de los sistemas de cemento de baja densidad diseñados con bentonita de calcio calcinada (Stephen Adji, salaheldin, Pranjal , & Ahmed, 2021).

El resultado es el bajo costo y aglutinante cementoso ecológico. El uso de este aglutinante conduce a modificar tanto fresco como endurecido propiedades de la pasta de cemento, mortero y hormigón. Las modificaciones deseadas incluyen; reduce el calor de hidratación, reducen la absorción, promueven la resistencia tanto a los sulfatos como a los ácidos; lo indeseado Los efectos incluyen: aumento de la demanda de agua, reducción del tiempo de fraguado y declinación de las propiedades mecánicas (Amer A, Qais J, & Waleed A , 2020).

El desarrollo de la resistencia mecánica en morteros se corresponde con el desarrollo de la reactividad puzolánica observada en las pastas. La evolución es similar para todos los sistemas con sustituciones puzolánicas, lo que sugiere que las diferencias en los valores de resistencia mecánica son más una consecuencia de la diferencia en la cantidad de material reactivo debido a las diferentes temperaturas de calcinación que a una diferencia en el mecanismo de reacción (Alujas, Fernández, Martirena, & Quintana, 2010).

REFERENCIAS

IV. REFERENCIAS

Alujas, A., Fernández, R., Martirena, F., & Quintana, R. (2010). Use of thermal activated low grade kaolinitic clays as an alternative for partial replacement of OPC. *Revista CENIC. Ciencias Químicas*, 1-10.

Amer A, A.-H., Qais J, F., & Waleed A , A. (2020). Raw bentonite as supplementary cementitious material – a. *IOP Publishing Ltd*, 1-6.

Cagiao Villar, J., Gómez Meijide, B., Doménech Quesada, J., Gutiérrez Lanza , H., & Martínez Abella , F. (2010). *Huella Ecologica del Cemento.* Coruña: Laboatorio de ingenieria sostenible. Obtenido de

http://www.lis.edu.es/uploads/640bc719_c071_46e4_86fc_8632bc5b6c0c.pdf

Castillo, R., Fernández , R., Antoni, M., Scrivener, K., & Alujas , A. (2010). Activación de arcillas de bajo grado a altas temperaturas. *Scielo*.

García , L., Fernández, J., & Palomo, A. (Enero-Abril de 2015). Cementos híbridos de bajo impacto ambiental: Reducción del factor clinker. *ALCONPAT, 5*(1), 1-17. Obtenido de http://www.scielo.org.mx/pdf/ralconpat/v5n1/2007-6835-ralconpat-5-01-00001.pdf

González, D., Justel, A., Fernández, R., Ruiz, A., & Stavropoulou, A. (2021). SEM-EDX estudio de bentonita modificación debajo La influencia de cemento alcalino solucione. *ELSEVIER*, 1-16.

INECC y Semarnat. (2015). *Primer Informe de Actualización Ante La Convención Marco De Las Naciones Unidas Sobre El Cambo Climatico.* México: INECC/ Semarnat. Obtenido de https://unfccc.int/resource/docs/natc/mexbur1.pdf

Jaime Alberto, V., & Delgado Rivera, J. (2007). Entrenamiento de una red neuronal multicapa para la tasa de cambio . *Revista Ingeiria e Investigacion* , 106-117.

Stephen Adji, salaheldin, E., Pranjal , S., & Ahmed, A. (Octubre de 2021). Evaluation of calcined Saudi calcium bentonite as cement replacement in low-density oil-well cement system. *ELSERVIER, 205*.

USS working group wrb. (2006). *Word References Base of Soil Resources No.103.* Rome: FAO.

Vásquez , B., & Corrales, S. (enero-marzo de 2017). Industria del cemento en México: análisis de sus determinantes. *Revista problemas del desarollo, 48*(118), 113-138. Obtenido de https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301703617300068

Implementación de materiales reciclados en la construcción de aceras

AUTORES:
Oliva Cansino César Osvaldo
Sánchez Ochoa Karla Patricia
Yáñez Petronilo Sixto
Facultad de Ingeniería
Universidad Autónoma de Querétaro
Cerro de las Campanas, S/N, Centro Universitario, 76010
Santiago de Querétaro, Querétaro, México
coliva31@alumnos.uaq.mx

ASESOR:
Dr. José Gabriel Ríos Moreno
Facultad de Ingeniería
Universidad Autónoma de Querétaro
Cerro de las Campanas, S/N, Centro Universitario, 76010
Santiago de Querétaro, Querétaro, México
rios@uaq.com

Resumen

Los pavimentos/aceras son una parte cara de las infraestructuras de transporte, ya que su construcción y mantenimiento requieren grandes cantidades de recursos y materiales cada año y en todo el mundo. Una solución sostenible para considerar las preocupaciones ambientales sobre aceras, en general; es utilizar materiales reciclados para su construcción. Se ha demostrado que esto reduce la huella de carbono del sector de la construcción y da como resultado la conservación de los recursos naturales, la reducción de emisiones nocivas y la minimización de los costos generales de construcción y mantenimiento. Los agregados para el concreto reciclado ahorran aproximadamente el 1% de emisiones de CO_2 en comparación con el cemento normal, mientras que las cenizas de madera ahorran casi el 24.5%

El objetivo de este estudio es buscar una alternativa por utilizar hormigón para pequeñas áreas de pavimentación, tales como lo son las aceras, patios o incluso arreglar lo existente, así como diseñar y/o estructurar un concreto/hormigón agregando materiales residuales considerados desechos para darles un segundo uso en la construcción. El material utilizado en este estudio es la madera (que es un material localmente disponible) que podemos reutilizar de la cimbra de muchas construcciones. Los resultados muestran que la ceniza de madera puede utilizar hasta un 25% en el hormigón sin perder una resistencia considerable lo que nos ahorraría un 13% del costo del cemento.

Abstract

Pavements/sidewalks are an expensive part of transportation infrastructure, as their construction and maintenance require large amounts of resources and materials every year around the world. A sustainable solution to address environmental concerns about sidewalks, in general; is to use recycled materials for its construction. This has been shown to reduce the carbon footprint of the construction sector and result in conserving natural resources, reducing harmful emissions and minimizing overall construction and maintenance costs. Aggregates for recycled concrete saved about 1% of CO_2 emissions compared to normal cement, while wood ash saved almost 24.5%.

This study shows an alternative to use concrete for small paving areas, such as sidewalks, patios or even fixing the existing one. The main objective of this study is to design and/or structure a concrete/concrete by adding residual materials considered waste to give them a second use in construction. The material used in this study was wood (which is a locally available material) that we can reuse from the formwork of many constructions. Wood ash can use up to 25% in concrete without losing considerable strength, which would save us 13% of the cost of cement.

Palabras Clave

Construcción de aceras, sustentabilidad, reciclaje, impacto ambiental, construcción sostenible, hormigón con áridos reciclados.

Keywords

Construction, sustainability, recycling, environmental impact, sustainable construction, sidewalks, recycled aggregate concrete.

Introducción

Se deben incorporar los principios de sustentabilidad, abarcando todos los sectores productivos. La eliminación de las cenizas de madera pueden ser un problema al final de su uso, sin embargo, estás pueden ser una gran alternativa para reemplazar un porcentaje del cemento.

Los niveles alto de dosificación de estas cenizas (entre el 40% y 60%) se pueden usar estructuralmente, generando de est amanera un concreto con buenas propiedades mecánicas y durabilidad [1].

Actualmente se han llevado a cabo ensayos sobre la resistencia a la compresión reemplazando una parte del cemento por ceniza de madera en la producción de hormigón. El resultado de dichos ensayos mostró un concreto de buena calidad estructural.

El agregado de concreto reciclado (RCA) no solo ayuda a la sustentabilidad, sino que también mejora en lo económico. Estudios resientes arrojaron que los materiales como la ceniza de madera pueden ser un reemplazo (en cierto porcentaje) del cemento y así mismo son buenos con el medio ambiente y económicos [2].

Un estudio en [3] menciona que, dependiendo de las propiedades y el tipo de residuos plásticos, estos pueden tener diferentes usos. El polietileno de densidad ligera (LDPE) es un material flexible y potencialmente se puede utilizar en la producción de ladrillos y bloques. El polipropileno (PP) es duro y flexible, y debido a estas propiedades, sus aplicaciones potenciales son agregados en mezclas asfálticas. El cloruro de polivinilo (PVC) es duro y rígido, lo que indica su uso potencial como agregado en materiales a base de cemento.

A pesar de que hay muchas aplicaciones en la Ingeniería Civil para los residuos plásticos estos siguen siendo limitados en la construcción por diferentes razones. Las investigaciones han demostrado que el uso de plástico como agregado en la construcción de contra piso y sub-pavimento mejora la resistencia al corte, rigidez y capacidad de carga del pavimento. Sin embargo, se concluyó que el 5% es la cantidad óptima de residuos plásticos que se pueden agregar al asfalto se mezcla sin ningún impacto negativo en su viscosidad.

El uso de agregados reciclados de residuos de construcción y demolición (CDW-RA) como reemplazo de agregados naturales (NA) en la industria de la construcción de pavimentos es, con mucho, la aplicación más común, si se compara con su uso en la construcción de edificios y aplicaciones geotécnicas [4].

Muchos estudios se enfocan en las resistencias alternativas al hormigón como se muestra en la Tabla 1. Una mayor relación agua-cemento puede reducir la resistencia a la compresión del hormigón, esto se demostró en el estudio de [5] con la valorización de madera/cenizas volantes sobre hormigón. En dicho estudio se muestra que la resistencia mecánica del hormigón depende del porcentaje con el que se reemplaza el cemento y el tiempo de curado.

Tabla 1 - Resistencia del hormigón con madera

Tipo de ceniza	W/C	% de reemplazo de cemento	Fuerza de compresión		Ref.
			MPa	psi	
Madera	0.45	0	33	4786	[6]
		5	31.1	4511	
		10	30.7	4453	
		15	32.3	4685	
		18	30.1	4366	
		20	27.7	4018	
Madera	0.49	0	57	8267	[7]
		20	47	6817	
		30	42	6092	
		40	39	5656	

Concreto alternativo

Ceniza de madera

Esta ceniza se puede usar como una forma alternativa para reemplazar el cemento. La producción del cemento provoca el calentamiento global, es de vital importancia dotar de materiales adecuados y

respetuosos con el medio ambiente para la construcción e infraestructura. Para trabajar con el desarrollo sostenible es necesario considerar el uso de otros materiales de desecho diferentes como son las cenizas de madera para disminuir el uso del cemento. El hormigón como sabemos también es un material de construcción bastante popular, por lo que su uso implica cemento, cuya producción provoca un 7.4% de emisiones de dióxido de carbono en todo el mundo [8].

Impacto ambiental de los materiales para pavimento

Las carreteras tienen un gran impacto ambiental. Entre las etapas de un proyecto vial, la etapa de pavimentación representa una proporción del 36% del impacto ambiental total (a excepción de los puentes y túneles, ya que se consideran construcciones de carreteras principales). Aproximadamente el 256% del impacto ambiental es debido a las operaciones de movimiento de tierras y el 110% a los procesos de drenaje [9]. Al analizar el impacto ambiental del asfalto de mezcla en caliente (HMA) y el concreto de cemento Portland (PCC) Liu et al. [10] confirmó que el rendimiento económico (EPC) y el rendimiento de las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) de los dos materiales difieren en un 7,4% y un 26%. Esto indica que el determinante crítico a considerar para la sección de materiales para pavimentos viales es el desempeño ambiental (PVE) en lugar del ECP, como el pavimento es el elemento más caro en la construcción de carreteras, es importante seleccionar un método que se más sostenible en términos de impacto ambiental [11].

Para la revisión de impacto ambiental, se emplean directrices para el método de evaluación del ciclo de vida (LCA) formuladas por la Organización Internacional de Normalización (ISO). LCCA es utilizado por ingenieros para la toma de decisiones, la academia y las agencias reguladoras se han enfocado en evaluar los impactos ambientales de varias alternativas [12]. En este sentido, el análisis de la eficiencia económica sin considerar el impacto y el costo ambientales no es suficiente para la toma de decisiones. Algunos ingenieros priorizan el impacto ambiental sobre el económico, pero también hay varios ingenieros que tienen una postura diferente [13].

En el proceso de construcción, la vegetación está siendo reemplazada por materiales absorbentes de calor, conductores térmicos y de alto almacenamiento de calor como el betún y el hormigón. Los pavimentos absorben y almacenan la radiación solar, lo que provoca un nuevo aumento de la temperatura de la superficie [14]. Este fenómeno se conoce como efecto isla de calor urbano (UHI). Estos materiales absorben grandes cantidades de radiación solar durante el día y las liberan en la noche.

Los materiales del pavimento absorben y almacenan irradiación solar, dada su cubierta superficial oscura y su gran inercia superficial [15]. Durante el verano, el calor absorbido por los pavimentos de asfalto negro se libera en el entorno circundante, lo que provoca la formación de surcos en el pavimento y el efecto UHI. La naturaleza impermeable de estos materiales reduce la tasa de infiltración del agua, lo que provoca que las condiciones del suelo secos disminuyan las tasas de evaporación y finalmente afecten la silvicultura urbana. Las condiciones atmosféricas secas provocarán aún más desequilibrios en los ecosistemas terrestres locales, lo que conducirá a un impacto ambiental adverso significativo.

Durante la temporada de lluvias, los pavimentos permeables permiten el drenaje de las aguas pluviales, mejorando el potencial de recarga de las aguas subterráneas, estos se pueden desarrollar en áreas de bajo tráfico peatonal y de automóviles y en tejados de edificios [16].

Porcentaje de residuos utilizados

En la industria de la construcción, los residuos plásticos son otra alternativa para ser utilizados beneficiosamente para varios propósitos, entre ellos esta como agregado en cemento asfaltico, en mezclas o como material aislante.

Sin embargo, el uso de estos en la construcción aún es muy limitado. Hablando un poco sobre sus propiedades mecánicas, el uso de residuos plásticos como fibra en compuestos de cemento no afecta la resistencia a la compresión, así mismo se ha comprobado que el plástico reciclado en forma de fibras agregado en compuestos de cemento controla significativamente la contracción plástica.

En estudios donde se han utilizado residuos de PET (Tabla 2), es posible relacionar la variación porcentual del PET y otros residuos en las mezclas para la fabricación de materiales de construcción como son los pavimentos, morteros, bloques y hormigón.

Tabla 2 - Porcentaje de PET utilizado como agregado

% utilizado	Resultados encontrados por los autores	Ref.
3 y 5 (PET con hormigón y desperdicios de ladrillos)	Las mezclas de PET con agregado de concreto y ladrillo triturado se desempeñaron satisfactoriamente y las mezclas se consideraron satisfactorias para todos los requisitos analizados para aplicación en sub-bases de pavimento.	[17]
PET al 20, 15 y 10	Los bloques de suelo-cemento con 10% de PET añadido reutilizaron alrededor de 300 g de PET en cada bloque, los resultados mostraron valores bajos de resistencia la compresión, pero presentaron una solución alternativa para trabajos de albañilería sin grandes cargas, con una absorción de agua satisfactoria.	[18]
15, 30 y 45 PET	Los bloques de hormigón prensado que mostraron mejor comportamiento fueron los de 15% de PET, ya que su resistencia a la compresión mostró un valor superior a los demás, destacando aún menos absorción debido al mayor grado de empaquetamiento y mejor homogeneidad de la mezcla.	[19]
0.5, 1.0, 1.5, 2.0 fibras de PET	El valor de la prueba de asentamiento y la resistencia a la compresión disminuyeron al aumentar el contenido de fibra. Aumento de la resistencia a la tracción.	[20]

Banquetas

También llamadas aceras o andenes, vías públicas ubicadas normalmente a los costados (lados) de las calles y/o vialidades. Estás tienen un nivel más alto que el de la calle (carretera).

Su principal función es un camino para peatones, limita al peatón y sus normas determinan todas sus características como son las medidas, texturas, ubicación, limitaciones, diseño, etc.

El material utilizado comúnmente para la construcción de banquetas es el concreto armado, el espesor mínimo de una placa de banqueta de uso peatonal es de 5 centímetros incluyendo el acero y a menos que se tengan otras especificaciones, el concreto para las guarniciones debe ser con un $f'c = 200\,\frac{kg}{cm^2}$ y para las banquetas un $f'c = 150\,\frac{kg}{cm^2}$

Consideraciones Teóricas

Para recuperar materiales reciclados para su uso potencial, se debe estar al tanto de las propiedades de los materiales, la forma en la que se pueden utilizar y las limitaciones que podrían tenerse asociadas directamente a su uso. Las consideraciones por tomar en cuenta serán directamente por las condiciones a las que estará sometido el residuo y estos, serán determinantes en su empleo. Desde el origen o procedencia se pueden tener controles sobre la heterogeneidad del material, si es que requiere algún tratamiento previo a su uso, los tiempos para estabilizarlo (en caso de ser necesario), entre otros.

Un pavimento está formado por un conjunto de capas superpuestas de manera horizontal, estás se diseñan y se construyen con materiales como la piedra, arena, cemento portland, cenizas, materiales permeables y emisión asfáltica.

- ✓ *Subrasante:* Suelo de cimentación, puede ser natural, que esté debidamente perfilado y compactado; material de préstamo, es cuando el suelo natural es deficiente o por requerimiento de diseño geométrico de la vía proyectada. En esta primera capa, los materiales que se utilizan deben de ser de tipo granular.
- ✓ Subbase: Esta base está apoyada en la anterior (subrasante), está compuesta con materiales granulares con buena compactación. Esta capa mejora la capacidad de soporte del suelo, lo cual

se traduce en una reducción del espesor de carpeta de rodadura.

- ✓ Base: Esta capa tiene como función distribuir y transmitir las cargas ocasionadas por lo peatones a la subbase y a través de la subrasante. Sobre esta capa se coloca la capa de rodadura.

Metodología

En la Figura 1 se muestra el Diagrama sobre la metodología que se está utilizando en este estudio.

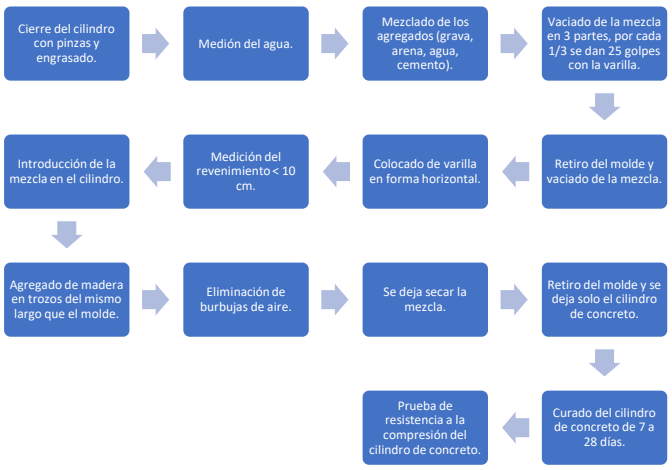


Figura 1 - Diagrama de Flujo

La elaboración del concreto reforzado con $f'c = 150\ kg/cm^2$ debe tener un agregado máximo de 19 mm (3/4”), 25.4 mm (1”) o 38 mm (1 ½”) según se indique, adjuntando cemento normal para banquetas de concreto.

En este caso lo que se busca es un concreto con la misma resistencia, pero adjuntando algún material que pueda ser reciclado, en este caso madera (utilizado comúnmente para la cimbra en construcciones). Con fin de evitar un concreto con resistencia o trabajabilidad insuficiente se descartara todo aquel concreto hecho en obra que esté fuera de los límites de 10 cm $\pm$ 2 cm de revenimiento.

Comenzando con el proceso de prototipo de este tipo de concreto con agregado de madera, se procede de la siguiente manera:

1. Se cierra el cilindro para concreto con pinzas y se engrasa para no tener problema al retirarlo una vez seco nuestro cilindro de concreto.
2. El agua para la mezcla deberá ser previamente medida para evitar que la mezcla contenga más agua de la necesaria. Si se observa que la mezcla queda “aguada” se puede agregar más cemento.
3. Se mezclan los agregados previamente medidos (agua, cemento, grava, arena).
4. Una vez terminada la mezcla, se vacía dentro del molde de revenimiento para la medición de este. Se introduce en 3 partes, por cada 1/3 parte que se agrega es necesario introducir la varilla punta de bala a la mezcla dando 25 golpes aproximadamente hasta tener el molde lleno.
5. Una vez que se termina de introducir la mezcla en el molde, se debe retirar el mismo. Para esto se debe tomar el molde de los mangos que tiene en la parte superior y poco a poco ir subiéndolo de forma en que la mezcla caiga para que se asiente.

Revenimiento: Se le llama revenimiento a la diferencia de altura que hay entre la parte superior de molde y la parte superior de la mezcla fresca cuando ésta se ha asentado después de retirar el molde. La distancia se expresa en cm y varía según la fluidez del concreto.

6. Una vez que sacamos toda la mezcla se coloca el molde de revenimiento a un lado y encima de este se coloca la varilla de forma horizontal para hacer la medición de este.
7. Una vez terminada la medición, la mezcla debe meterse al cilindro de concreto. Para introducirla es el mismo procedimiento que cuando se introdujo en el molde de revenimiento, se debe hacer en 3 partes y por cada 1⁄3 parte agregada se le deben dar 25 golpes con la varilla.
8. La madera será agregada en trozos con una longitud vertical similar a la del molde, esto para evitar que la madera flote debido a sus características.

Resultados

1. En la Figura 2 se muestra un prototipo de como se visualiza la madera momento antes de ser introducida en el molde junto con la mezcla de hormigón.



Figura 2 - Prototipo de la madera

2. La madera será cubierta en su totalidad por la mezcla evitando en todo momento que flote, la Figura 3 muestra una simulación lo más cercana posible a la realidad de como se ve.

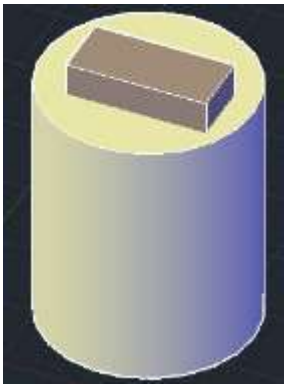


Figura 3 - Cilindro con la madera introducida en este

3. Una vez colocada la mezcla, con el martillo cabeza de goma se le deben dar golpes al cilindro de forma vertical (de abajo hacia arriba) para sacarle todas las burbujas de aire a nuestra mezcla
4. Pasados unos días se saca el cilindro de concreto del molde y se deja curar de 7 a 28 días para después realizar la prueba de resistencia a la compresión. La Figura 4 muestra un reel de cómo se estaría viendo el cilindro de concreto.



Figura 4 - Prototipo del cilindro de concreto

Discusión y Conclusiones

Este estudio intenta buscar agregados reciclados como alternativa para los concretos para aceras o construcciones pequeñas, se buscaron proporciones de diseño de mezclas adecuadas para poder sustituir el cemento con cenizas de madera o madera (en trozos) recolectada de las cimbras de las construcciones.

Para este estudio todavía no se tienen resultados concretos, ya que se espera el curado de 7 a 28 días aproximadamente de los cilindros de concreto para someterlos a la prueba de resistencia a la compresión, y de esta forma poder compararlos y obtener así si la madera fue correctamente colocada o si es necesario un ajuste en alguna parte del prototipo.

Referencias

1. Thomas, M. Optimización del uso de cenizas volantes en el hormigón. Disponible en linea: https://www.cement.org/docs/defaultsource/fc_concrete_technology/is548-optimizing-the-use-of-fly-ash-concrete.pdf
2. Neville, A.Propiedades del Hormigón: Estándar Actualizado a 2002; Persona/Prentice Hall: Harlow, Reino Unido, 2009.
3. Awoyera, P.O.; Adesina, A. Plastic wastes to construction products: Status, limitations and future perspective. Case Stud. Constr. Mater. 2020, 12, e00330.
4. Dhir, RK; de Brito, J.; Silva, RV; Lye, CQ Impacto ambiental, estudios de casos y estándares y especificaciones. En Materiales de construcción sostenibles; Woodhead Publishing: Duxford, Reino Unido, 2019; págs. 495–583. ISBN 9780081009857.
5. Hossain, U.; Ng, S.T.; Antwi-Afari, P.; Amor, B. Circular economy and the construction industry: Existing trends, challenges and prospective framework for sustainable construction. Renew. Sustain. Energy Rev. 2020, 130, 109948.
6. Chowdhury, S.; Maniar, A.; Suganya, O. Desarrollo de resistencia en concreto con cemento mezclado con ceniza de madera y uso de modelos informáticos para predecir parámetros de resistencia.j adv. Res.2014,6, 907–913.
7. . Kara, P.; Korjakins, A.; Stokmanis-Blaus, V. Evaluación de las propiedades del hormigón que incorpora cenizas como aditivos minerales. Constr. ciencia2012,13, 17–25.
8. Sanjuán, MA; Andrade, C.; Mora, P.; Zaragoza, A. Captación de dióxido de carbono por materiales cementosos: un estudio de caso español.aplicación ciencia2020,10, 339.
9. Little, DH; Holmgreen, RJ, Jr.; Epps, JA Efecto de los agentes de reciclaje sobre el comportamiento estructural de materiales de hormigón asfáltico reciclado. J. Assoc. Asph. Paving Technol.1981, 50, 32–63.
10. McDaniel, RS; Soleymani, H.; Anderson, RM; Turner, P.; Peterson, R. Uso recomendado de pavimento de asfalto recuperado en el método de diseño de mezcla súper pavimentado; Documento 30 del NCHRP en la Web (Proyecto D9-12); Junta de

Investigación del Transporte (TRB); Consejo Nacional de Investigación: Washington, DC, EE. UU., 2000.
11. Kriz, P; Grant, DL; Veloza, BA; Gale, MJ; Blahey, AG; Brownie, JH; Camisas, RD; Maccarrone, S. Mezcla y difusión de pavimento asfáltico recuperado y aglutinantes de asfalto virgen. Road Mater Pavement Des. 2014, en prensa.
12. Umer, A.; Hewage, K.; Haider, H.; Sadiq, R. Sustainability Evaluation Framework for Pavement Technologies: An Integrated Life Cycle Economic and Environmental Trade-off Analysis. Transport. Res. Part. D Transport. Environ. 2017, 53, 88–101.
13. Sackey, S.; Kim, B.-S. Environmental and economic performance of asphalt shingle and clay tile roofing sheets using life cycle assessment approach and TOPSIS. J. Constr. Eng. Manag. 2018, 144, 04018104.
14. Cao, X.J.; Tang, B.M.; Zou, X.L.; He, L.H. Analysis on the cooling effect of a heat reflective coating for asphalt pavement. Road Mater. Pavement 2015, 16, 716–726.
15. Qin, Y.; Hiller, J.E. Understanding pavement-surface energy balance and its implications on cool pavement development. Energy Build. 2014, 85, 389–399.
16. Osmond, P.; Sharifi, E. Guide to Urban Cooling Strategies. Low Carbon Living Strategies CRC. Government of Australia. 2017.
17. Perera, S.; Arulrajah, A.; Wong, Y.; Horpibulsuk, S.; Maghool, F. Utilizing recycled PET blends with demolition wastes as construction materials. Constr. Build. Mater. 2019, 221, 200–209.
18. Filho, J.A.P.; Storopoli, J.H.; Dias, A.G. Evaluation of compressive strength and water absorption of soil-cement bricks manufactured with addition of pet (polyethylene terephthalate) wastes. Acta Sci. Technol. 2016, 38, 163.
19. Barreto, J.M.L.; Costa, H.N.d.; Cândido, L.F.; Correio, A.E.B.C. Analysis of physical and mechanical properties of pressed concrete blocks without structural purposes with additions of recycled PET. Matéria (Rio de Janeiro) 2019, 24.
20. Shahidan, S. Concrete incorporated with optimum percentages of recycled polyethylene terephthalate (PET) bottle fiber. Int. J. Integr. Eng. 2018, 10.

Estudio teórico de la actividad reductora de la quercetina

Oscar Eduardo Ortiz Contreras[1], Dra. María de los Ángeles Cuán Hernández[1*], Dr. Rufino Nava Mendoza[1], Dr. Carlos Martín Cortés Romero[2]

[1] Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México. [2] Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México. oortiz13@alumnos.uaq.mx, angelescuan@gmail.com

Resumen

La quercetina es uno de los compuestos flavonoides más conocidos debido a su capacidad antioxidante, antiviral y anti radical. A pesar de su importancia en diferentes sistemas fisicoquímicos, la capacidad reductora de esta molécula disuelta en sistemas binarios, no ha sido estudiada. Los cálculos realizados para esta configuración se realizaron a través de la teoría funcional de la densidad (DFT) empleando el funcional B3LYP con un conjunto base 6-311g+(d, p), con el objetivo de explorar la estructura, potencial electrostático, modos vibracionales, y transiciones electrónicas bajo la influencia de un solvente binario etanol-agua (25-75 %v/v) por medio de un modelo de solvatación continuo universal (SMD). Los resultados muestran que los grupos radicales (·OH) interaccionan con los grupos -OH en posiciones 7, 3'y 4', los sitios más probables de anclaje, donde se llevará a cabo la primera transferencia electrónica. Además de que estos sitios (7, 3', 4') corresponden a los hidrógenos más ácidos. Para los espectros IR y UV-Vis, se contrastó con su parte experimental, donde se pudo obtener información acerca de los modos vibracionales específicos, así como los orbitales involucrados para cada caso.

Palabras clave: *Flavonoides, quercetina, actividad reductora, DFT, química cuántica*.

Summary

Quercetin is one of the best-know flavonoids due to its antioxidant, antiviral and antiradical properties. Despite its importance in different physicochemical systems, the reducing capacity of this molecule in the presence of a binary solvent has not been studied. Density Functional Theory (DFT) calculations using B3LYP level of theory and 6-311g+(d, p) basis set have been used to explore the structure, electrostatic potential, vibrational modes, and electronic transitions under the influence of an ethanol-water mixture (25-75 %v/v) by means of a universal continuum solvation model (SMD). The results show that the hydroxyl radicals (·OH) interact at 7, 3', 4' positions, the most likely interaction sites and the sites where the first electron transfer will take place. In addition to being the sites (7, 3 ', 4') where the most acidic hydrogens are located. For the IR and UV-Vis spectra, they were contrasted with its experimental part, where it can be pointed the specific vibrational modes, as well as the orbitals involve in the electronic transitions.

Keywords: *Flavonoids, quercetin, reducing activity, DFT, quantum chemistry*.

Introducción

Los flavonoides son algunos de los principales metabolitos secundarios de las plantas, una clase de compuestos polifenólicos con más de 9000 estructuras que se encuentran en la naturaleza (Rakha et al., 2022; Yi et al., 2021). Estas estructuras (Figura 1) se caracterizan por la presencia de 15 átomos de carbono como constituyentes básicos, con dos anillos benceno (A y B) unidos entre sí por un anillo de pirano hererocíclico (C). En los últimos años, además de

su papel fundamental en la fisiología de las plantas, se ha documentado una amplia gama de acciones farmacológicas de estos compuestos sobre los diversos sistemas del cuerpo humano (Moldovan et al., 2021).

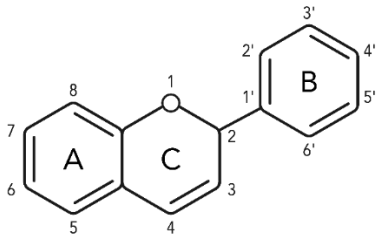


Figura 1. Estructura básica de un flavonoide (Rakha et al., 2022).

Estas acciones o actividades biológicas, atribuidas a los flavonoides, incluyen efectos anticancerígenos, antiinflamatorios, antivirales, antibacterianos, y antioxidantes, así como una serie de funciones cardio-, neuro- y hepato-protectoras (Pagliuso et al., 2020; Rakha et al., 2022). Todas estas propiedades generalmente se atribuyen a su actividad de eliminación de radicales libres, capacidad de quelación de metales y a su capacidad de unión a proteínas con un alto grado de especificidad (Rakha et al., 2022).

La quercetina, es un flavonol, una de las seis subclases de compuestos flavonoides, con un grupo -OH en las posiciones 3, 5, 7, 3' y 4' (Figura 2). Es un compuesto lipofílico moderadamente soluble en etanol (4.0 mg/ml, 37ºC) y con baja solubilidad en agua (0.01 mg/ml, 25ºC), lo que limita la incorporación de altas concentraciones de quercetina en soluciones acuosas (Wang et al., 2016).

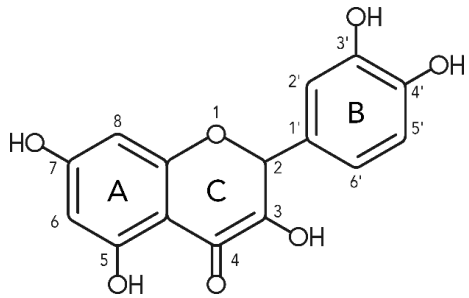


Figura 2. Estructura química de la molécula de quercetina (Ulusoy & Sanlier, 2020).

La forma más común de la quercetina, que generalmente se encuentra glicosilada, es la rutina, Mientras que, la estructura sin azúcar se conoce como aglicona (Batiha et al., 2020; Ulusoy & Sanlier, 2020).

Una de las características más relevantes de esta molécula es la presencia de varios grupos hidroxilo (-OH) y la fracción carbonilo en la estructura flavonoide que conduce a la quelación de iones metálicos y le da la capacidad de fungir como una molécula donadora de electrones. Sin embargo, la capacidad de la quercetina está restringida debido a su baja biodisponibilidad, poca solubilidad, e inestabilidad causada por la naturaleza de la molécula (Chahardoli et al., 2021), misma que puede ser explorada a través de cálculos mecánico cuánticos. Usualmente se suele estudiar esta molécula en sistemas glicosilados o en fase gaseosa, dejando fuera el efecto de disolvente, que repercuten en la estabilidad final de la molécula. Por lo que el estudio de estos sistemas, en ambientes químicos con solventes binarios, es necesario para poder entender las diferentes interacciones con agentes oxidantes o carentes de electrones, así como los posibles sitios activos, y con esto proponer vías de reducción y transferencia electrónica, que puedan servir, por ejemplo, para el diseño métodos para la quelación de iones metálicos.

El objetivo de este trabajo es evaluar la capacidad reductora de la molécula de quercetina mediante estudio de la interacción con radicales hidroxilos (·OH). El carácter ácido de las diferentes posiciones de los grupos -OH, en su forma de aglicona; así como, por medio de los diferentes descriptores moleculares el estudio de sus propiedades físico-químicas por efecto de un disolvente binario, y proponer los sitios más propicios donde se llevará a cabo una transferencia de carga para conocer su posible capacidad como agente quelante de iones metálicos.

Metodología

Todos los cálculos se realizaron mediante el software Gaussian 09W (M. J. Frisch et al., 2016) Se empleó el método de la Teoría Funcional de la Densidad (DFT) bajo un funcional híbrido (B3LYP) y utilizando un conjunto base 6-311g+(d, p). Los cálculos de optimización estructural, energía, frecuencia (IR) y transiciones electrónicas (UV-VIS) se realizaron a 25 ºC en una mezcla 25-75 %v/v de etanol-agua aplicando una corrección a la energía libre de Gibbs utilizando un modelo de solvatación basado en un vector de polarización mediante el uso de la constante dieléctrica (SMD). La proporción de la mezcla 25-75 %v/v etanol-agua se obtuvo como resultado de un trabajo previo, y la constante dieléctrica, necesaria para el modelo de solvatación, se obtuvo del trabajo de Wyman (Wyman, 1931).

Resultados

A. Densidad electrónica total

A continuación, se muestra en la Figura 3 la superficie de energía potencial proyectada en la densidad electrónica total de la molécula de quercetina. Los colores rojo y amarillo de la densidad electrónica representan densidad cargada negativamente, mientras el color azul corresponde a densidad de carga positiva.

Como se puede observar en la figura, los tres anillos de la estructura permanecen prácticamente neutros, mientras que, en donde se localizan los átomos de oxígeno presentan un color amarillento, indicativo de una densidad electrónica negativa, debido al par de electrones libres característico de este tipo de átomos.

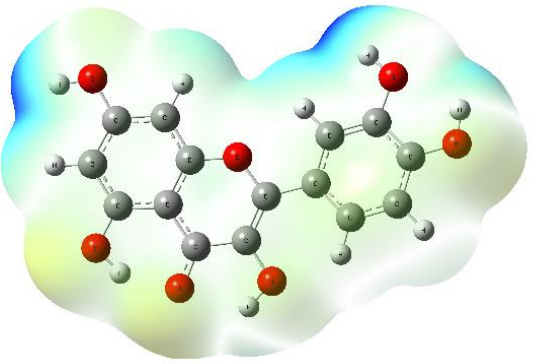


Figura 3. Distribución de isosuperficie de energía potencial para la molécula de quercetina.

También se puede detectar una densidad de carga positiva en tres de los cinco grupos -OH de la molécula de quercetina. Esta densidad de carga se atribuye a los átomos de oxígeno a los que están unidos, ya que contribuyen a esta diferencia de carga, además de que no existen átomos vecinos con los que estos hidrógenos puedan interactuar y así contrarrestar su carga positiva, haciendo que estos hidrógenos muestren un carácter ácido.

B. Descriptores moleculares

Los distintos parámetros descriptivos moleculares (Tabla 1), incluyendo la electronegatividad (χ), potencial de ionización (IP), afinidad electrónica (EA), dureza química (η), blandura (S), e índice electrofílico (ω) son vitales para caracterizar la actividad reductora y antioxidante de los flavonoides.

Tabla 1. Descriptores moleculares calculados a partir del método de energía total.

Descriptor molecular	χ	η	S	ω
3-OH	462.2757	75.6577	0.0066	1412.2739
5-OH	507.7730	76.7604	0.0065	1679.4684
7-OH	520.1732	68.7343	0.0073	1968.3062
3'-OH	490.7611	87.2952	0.0057	1379.4934
4'-OH	478.0235	73.9039	0.0068	1545.9704

Las propiedades electrónicas se calcularon a través de la energía total de las especies. El IP se calcula como la diferencia de energía entre el compuesto

derivado de la transferencia de electrones y su respectivo compuesto neutro:

$$IP = E_{catión} - E_{neutro} \quad (1)$$

La EA se calcula como la diferencia de energía entre la molécula neutra y su compuesto aniónico:

$$EA = E_{neutro} - E_{anión} \quad (2)$$

Los parámetros χ, η, S y ω se calculan usando las ecuaciones (3-6) (Zheng et al., 2017).

$$\chi = -\mu \approx (IP + EA)/2 \quad (3)$$

$$\eta \approx (IP - EA)/2 \quad (4)$$

$$S \approx 1/(2\eta) \quad (5)$$

$$\omega \approx \mu^2/2\eta \quad (6)$$

Estos descriptores moleculares nos indican la resistencia o facilidad de transferencia de carga, así como la tendencia a atraer electrones en un enlace químico y el flujo máximo de electrones entre un donante y un aceptor y con ello el tipo de reacciones químicas que pueden llevarse a cabo (iónicas, vía radicales libres). Las propiedades moleculares confirman que la quercetina oxidada en la posición 7 es la primera posición o la posición más probable en la que se llevara a cabo la primera transferencia de carga, actuando como donador de electrones, lo cual confirma el carácter reductor de la molécula.

C. Frecuencia (IR)

En la Figura 4 podemos observar el espectro IR de la molécula de quercetina, tanto teórico como experimental. Se puede distinguir la aparición de bandas en 3294.20 y 1671.24 cm^{-1} correspondientes a las vibraciones de estiramiento de los grupos hidroxilo y carbonilo, así como señales en 1614.62, 1513.53 y 1457.72 cm^{-1}, todas ellas pertenecientes a los modos de vibración de estiramiento de los anillos benceno (Ma et al., 2018).

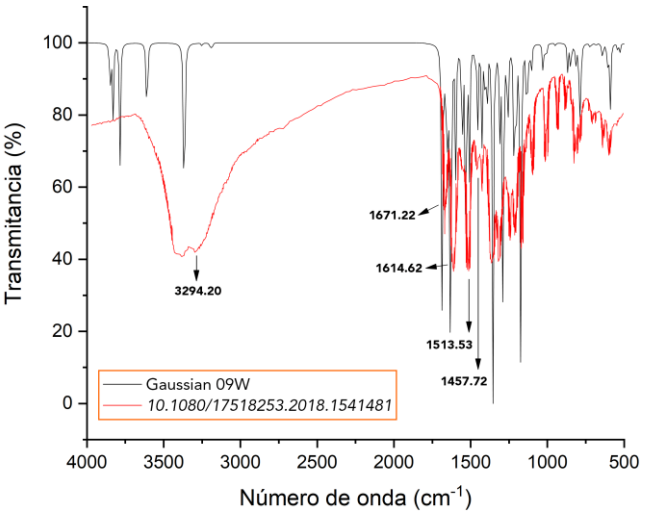


Figura 4. Espectro IR calculado (negro) y experimental (rojo) (Ma et al., 2018) para la molécula de quercetina.

Como se puede observar, el espectro calculado no solo coincide con su contraparte experimental, si no también, nos permite analizar de forma más precisa algunos de los diferentes modos vibracionales para la molécula de quercetina, ya que disponemos de bandas más definidas. Algunos de estos modos son los que se encuentran en 3751.63, 3737.76, 3602.84 y 3331.19 cm^{-1}, correspondientes a las vibraciones de estiramiento de los grupos -OH en posiciones 3, 7 y 4', 3', y 5, respectivamente, lo cual funciona como otro indicativo de los grupos que muestran una mayor reactividad química y que están relacionados con los hidrógenos que presentan un carácter ácido.

D. Orbitales moleculares de frontera

En la Figura 5 se muestra la isosuperficie correspondiente al orbital molecular más alto ocupado (HOMO)

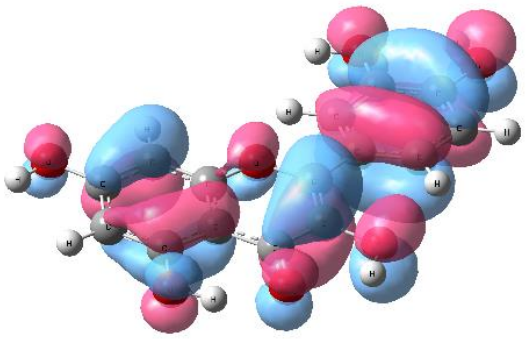


Figura 5. Distribución de isosuperficie HOMO para la molécula de quercetina. Valor de isosuperficie 0.02.

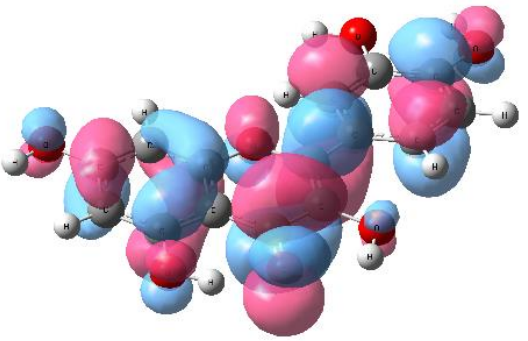


Figura 6. Distribución de isosuperficie LUMO para la molécula de quercetina. Valor de isosuperficie 0.02.

Como se puede observar, en la distribución HOMO, los electrones se distribuyen a lo largo de la molécula con una cierta resonancia entre los enlaces -C=C- además de un desplazamiento hacia los átomos laterales.

Siendo los anillos B y C en que se se distribuyen principalmente los electrones, mientras que para los grupos -OH, los electrones parecen estar confinados dentro de su grupo funcional.

Para el caso de la isosuperficie LUMO (Figura 6), se puede percibir que los electrones ya no se encuentran distribuidos sólo en los anillos B y C, sino a lo largo de toda la molécula. Esto sugiere que los grupos -OH en los anillos B y C de la quercetina son los más susceptibles a un ataque por especies oxidantes.

Por último, en la Tabla 2 se muestra como la capacidad de donación de electrones de los flavonoides está relacionada con las energías orbitales, principalmente el HOMO.

Tabla 2. Energías orbitales HOMO, LUMO y brecha energética de la molécula de quercetina oxidada en diferentes posiciones.

	E_{HOMO} (eV)	E_{LUMO}(eV)	E(eV)
Quer	-5.8442	-2.2101	3.6341
3-OH	-5.5979	-2.3799	3.2180
5-OH	-5.8989	-2.0909	3.8080
7-OH	-6.0668	-2.4109	3.6559
3'-OH	-5.9841	-2.4041	3.5799
4'-OH	-5.7593	-2.2664	3.4929

Las moléculas con mayor capacidad reductora, presentan una mayor energía HOMO. Por lo que podemos observar como la quercetina oxidada en las posiciones 3-OH y 4'-OH son los sitios de mayor capacidad reductora.

Por otro lado, a pesar de que estos dos sitios son los que presentan la menor brecha energética, no existe un efecto significativo, por lo que el efecto reductor de la molécula es prácticamente el mismo para cualquiera de las posiciones de los (·OH).

E. Transiciones electrónicas

En la Figura 7 se muestra el espectro UV-Vis para la molécula de quercetina en una solución de

etanol. Este compuesto presenta una absorción máxima, en el rango UV-A, a 375 nm, que se atribuye al anillo B de la quercetina. Asimismo, una segunda banda, en el rango UV-C, aproximadamente a 258 nm, que corresponde con el sistema benzoílo A-C. Por último, se tiene una banda débil alrededor de los 300 nm, que se atribuye únicamente al anillo C de la estructura flavonol.

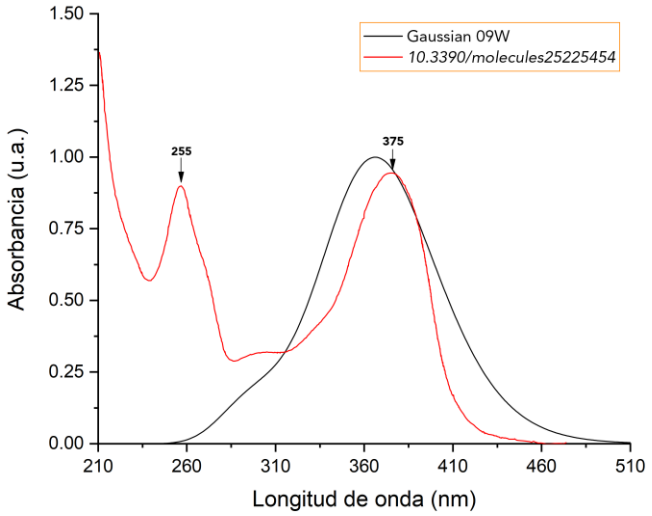


Figura 7. Espectro UV-Vis calculado (negro) y experimental (rojo) (Golonka et al., 2020) para la molécula de quercetina.

Asimismo, cabe aclarar que las señales de absorbancia individuales en un espectro UV-Vis para este tipo de flavonoides cambian dependiendo de la composición de la preparación y el tiempo de exposición (Golonka et al., 2020).

Como se puede observar, existen una diferencia en el número de bandas observable entre el espectro teórico y experimental, lo cual se atribuye al ambiente químico, así como al número de moléculas presentes en un compuesto real. A pesar de esto, el cálculo TD-DFT nos permite saber que las absorciones a 300 y 375 nm corresponden con transiciones electrónicas entre los orbitales HOMO-1 y HOMO al LUMO. Mientras que, a 258 nm las transiciones suceden entre los orbitales HOMO-3 y HOMO-2 al LUMO, y entre HOMO al LUMO+3.

Para los espectros teóricos de la Figura 8 podemos observar absorbancias a diferentes longitudes de onda, 702, 776, 1052, 1140 y 1174 nm, que corresponden con la oxidación de la molécula de quercetina en las posiciones 3, 4', 3', 7 y 5, respectivamente.

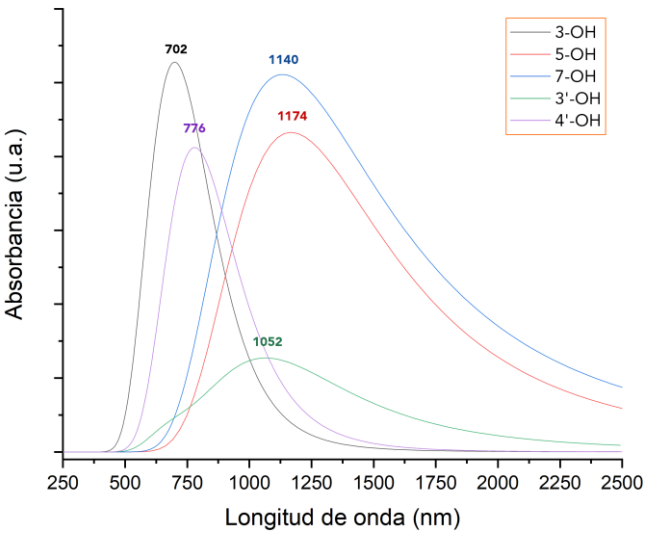


Figura 8. Espectro UV-Vis calculado para la molécula de quercetina reducida en diferentes posiciones.

Podemos observar que dependiendo la posición del grupo hidroxilo existe un desplazamiento hacia el rojo. Por lo que, si se tuviera una configuración en donde la molécula de quercetina solo proporcionara un electrón, se podría saber la posición en la que se realiza esta transferencia de electrones, por medio de una espectroscopia UV-Vis. Por último, este corrimiento de los compuestos hacia el rojo, una vez se da la transferencia electrónica, se atribuye principalmente a un efecto conjunto entre la formación de un doble enlace por parte del átomo de oxígeno, donde se realiza la oxidación de la molécula, y la deslocalización de los electrones a lo largo de los 3 anillos de la estructura flavonol.

Discusión y Conclusiones

Este es uno de los primeros estudios empleando DFT con un nivel de teoría B3LYP y un conjunto base 6-311g+(d, p) que toma en cuenta el efecto de

un disolvente binario en la estabilidad y actividad reductora de la molécula de quercetina en su forma aglicona, con el fin de estudiar los sitios más probables de transferencia de carga. De acuerdo con la isosuperficie de energía potencial, se pudo observar como las posiciones 7, 3', 4' son las que presentan una densidad de carga positiva, debido a la presencia de hidrógenos ácidos, lo cual sirve como primer indicador de la capacidad para ceder electrones. Posteriormente, de acuerdo a los distintos descriptores moleculares, se encontró que la posición 7 es donde se da una mayor facilidad para la transferencia de carga seguida por la posición 4', mientras que las posiciones 7 y 5 es donde se presenta un mayor flujo de electrones, de acuerdo con su índice electrofílico. Posteriormente del análisis de frecuencias, se corroboró el buen nivel de calculo al contrastar los espectros teórico y experimental, posteriormente se visualizaron los modos vibracionales de los sitios más propensos a formar uniones, esto corresponde con los sitios 3, 7, 4', 3', y 5, en ese orden. De las isosuperficies para los orbitales de frontera se corroboró la capacidad para donar electrones de la molécula y fungir como un agente reductor, y se confirmó que todas las posiciones presentan una capacidad de transferencia de carga. Finalmente, para los cálculos de las transiciones electrónicas, se obtuvieron los espectros para las diferentes estructuras oxidadas, donde se mostró un desplazamiento hacia el rojo resultado de la formación de un doble enlace del átomo de oxígeno y la deslocalización de los electrones por parte de los anillos en la estructura flavonoide. Lo cual sugiere que de ser capaces de realizar un sistema donde solo exista la transferencia electrónica de un solo portador, esta podría ser monitoreada a través de una espectroscopia UV-Vis.

Agradecimientos

Este trabajo fue apoyado por la Universidad Autónoma Metropolitana campus Iztapalapa (UAM-I), a través de la supercomputadora YOLTLA, localizada en la Ciudad de México, México.

Referencias bibliográficas

Batiha, G. E.-S., Beshbishy, A. M., Ikram, M., Mulla, Z. S., El-Hack, M. E. A., Taha, A. E., Algammal, A. M., & Elewa, Y. H. A. (2020). The Pharmacological Activity, Biochemical Properties, and Pharmacokinetics of the Major Natural Polyphenolic Flavonoid: Quercetin. *Foods*, *9*(3), Art. 3. https://doi.org/10.3390/foods9030374

Chahardoli, A., Hajmomeni, P., Ghowsi, M., Qalekhani, F., Shokoohinia, Y., & Fattahi, A. (2021). Optimization of Quercetin-Assisted Silver Nanoparticles Synthesis and Evaluation of Their Hemocompatibility, Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Antibacterial effects. *Global Challenges*, *5*(12), 2100075. https://doi.org/10.1002/gch2.202100075

Golonka, I., Wilk, S., & Musiał, W. (2020). The Influence of UV Radiation on the Degradation of Pharmaceutical Formulations Containing Quercetin. *Molecules*, *25*(22), Art. 22. https://doi.org/10.3390/molecules25225454

M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A. Marenich, J. Bloino, B. G. Janesko, R. Comperts, B. Mennucci, H. P. Hratchian, J. V. Ortiz, … D. J. Fox. (2016). *Gaussian 09*. Gaussian, Inc.

Ma, X., Lin, H., Zhang, J., Zhou, X., Han, J., She, Y., Qiu, C., He, Q., Wang, J., & Rabah, T. (2018). Preparation and characterization of dummy molecularly imprinted polymers for separation and determination of farrerol from Rhododendron aganniphum using HPLC. *Green Chemistry Letters and Reviews*, *11*(4), 513-522. https://doi.org/10.1080/17518253.2018.1541481

Moldovan, C., Babotă, M., Mocan, A., Menghini, L., Cesa, S., Gavan, A., Sisea, C., Vodnar, D. C., Dias, M. I., Pereira, C., Ferreira, I. C. F. R., Crişan, G., & Barros, L. (2021). Optimization of the drying process of autumn fruits rich in antioxidants: A study focusing on rosehip (*Rosa canina* L.) and sea buckthorn (*Elaeagnus rhamnoides* (L.) A. Nelson) and their bioactive properties. *Food & Function*, *12*(9), 3939-3953. https://doi.org/10.1039/D0FO02783A

Pagliuso, D., Palacios Jara, C. E., Grandis, A., Lam, E., Pena Ferreira, M. J., & Buckeridge, M. S. (2020). Flavonoids from duckweeds: Potential applications in the human diet. *RSC Advances*, *10*(73), 44981-44988. https://doi.org/10.1039/D0RA06741E

Rakha, A., Umar, N., Rabail, R., Butt, M. S., Kieliszek, M., Hassoun, A., & Aadil, R. M. (2022). Anti-inflammatory and anti-allergic potential of dietary flavonoids: A review. *Biomedicine &*

Pharmacotherapy, *156*, 113945. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113945

Ulusoy, H. G., & Sanlier, N. (2020). A minireview of quercetin: From its metabolism to possible mechanisms of its biological activities. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *60*(19), 3290-3303. https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1683810

Wang, W., Sun, C., Mao, L., Ma, P., Liu, F., Yang, J., & Gao, Y. (2016). The biological activities, chemical stability, metabolism and delivery systems of quercetin: A review. *Trends in Food Science & Technology*, *56*, 21-38. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.07.004

Wyman, Jeffries. (1931). THE DIELECTRIC CONSTANT OF MIXTURES OF ETHYL ALCOHOL AND WATER FROM -5 TO 40°. *Journal of the American Chemical Society*, *53*(9), 3292-3301. https://doi.org/10.1021/ja01360a012

Yi, D., Bayer, T., Badenhorst, C. P. S., Wu, S., Doerr, M., Höhne, M., & Bornscheuer, U. T. (2021). Recent trends in biocatalysis. *Chemical Society Reviews*, *50*(14), 8003-8049. https://doi.org/10.1039/D0CS01575J

Zheng, Y.-Z., Deng, G., Liang, Q., Chen, D.-F., Guo, R., & Lai, R.-C. (2017). Antioxidant Activity of Quercetin and Its Glucosides from Propolis: A Theoretical Study. *Scientific Reports*, *7*(1), 7543. https://doi.org/10.1038/s41598-017-08024-8

Efectos de las cargas a flexion pura en WPC

Autor: J.C. Rosas-Valencia[1]
[1]Posgrado en Construcción, Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México. Jrosas07@alumnos.uaq.mx
Asesor: Reyes Araiza, Jose Luis[2]**.**
[2]Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México. Ireyes@uaq.mx

Resumen

Este trabajo reporta el análisis del comportamiento mecánico bajo cargas de flexión pura, especímenes de materiales compuestos en base de materiales reciclados termoplásticos y residuos de madera (WPC) para así poder determinar el posible uso como material de construcción en la industria de la construcción. Además, aportamos en la disminución del impacto de la huella de carbono emitida por los desechos plásticos al aprovechar residuos.

Palabras Clave: Wood Plastic Composites, Compositos, Flexión, Caracterización Mecánica.

Abstract

This work reports the analysis of the mechanical behavior under pure bending loads, specimens of composite materials based on thermoplastic recycled materials and wood residues (WPC) in order to determine the possible use as a construction material in the construction industry. In addition, we contribute to reducing the impact of the carbon footprint emitted by plastic waste by taking advantage of waste.

Key words: Wood Plastic Composites, Composites, Flexure, Mechanical Characterization.

I. Introducción

Durante las décadas recientes, los compositos de madera plastificada o Wood Plastic Composites (WPC) han tomado relevancia en la industria de productos de ingeniería. La industria manufacturera de los WPC se ha convertido en una de las industrias con mayor crecimiento en el área de polímeros, especialmente en China, Norte América y Europa (Arnandha et al., 2017).

Los WPC aportan un valor agregado muy interesante a elementos estructurales dado por su parte plástica la cual puede tener una procedencia de recicle lo cual aporta el elemento de sustentabilidad que hoy es uno de los focos más importantes para los gobiernos mundiales ya que ayuda a disminuir de cierta manera la huella de carbón generada en las industrias de la construcción y del plástico (Demets et al., 2021; Khalid et al., 2022).

Los compositos de madera plastificada son mayormente utilizados mayormente para aplicaciones de interiores, tales como pasamanos, escritorios, fachadas, terrazas, y en cierta medida también son utilizados en exteriores como adornos de exteriores, esto debido a que este tipo de materiales poseen una alta rigidez y dureza, además de atender de manera positiva las normativas ambientales(Dantas et al., 2020; Friedrich, 2022; Zhao et al., 2011). A pesar de la disponibilidad actual de este tipo de materiales, las aplicaciones hoy en día están muy limitadas dado a resistencias de impacto bajas, bajos módulos de elasticidad y altas densidades comparadas a las proporcionadas por sus contrapartes de madera tradicional y de igual manera a su flamabilidad comparada a su contraparte de plástico (Faruk & Matuana, 2008; Friedrich, 2021).

Los compositos en cuestión pueden ser producidos mediante métodos de extrusión,

inyección a moldes y moldeo por compresión (Liikanen et al., 2019). La mayoría de los productos de WPC se producen empleando una combinación del método de extrusión, para crear la mezcla y termo fusionar los materiales, y el método de moldeo por compresión, para darle así la forma final (Hutyrová et al., 2015; Sammouda & Mbarek, 2015).

] La ventaja del uso de esta combinación es su bajo coste en maquinaria, dado a que no se requiere de maquinaria especializada ni técnicos especializados para su operación, además que el requerimiento de equipo es mucho menor comparado a los otros procesos de fabricación de WPC (Demets et al., 2021; Zhou et al., 2022).

Este tipo de compositos utilizan una matriz polimérica con relleno de fibras de madera como refuerzo, además de una variación de aditivos. Las matrices poliméricas comúnmente usadas para la fabricación de compositos de madera plastificada suelen ser el polipropileno (PP), polietileno (PE), policloruro de vinilo (PVC), poliestireno (PS) y el tereftalato de polietileno (PET).

En un estudio realizado en Indonesia, se ensayaron muestras de compositos de madera plastificada (WPC) con aserrín de caoba, mostrando como resultado una resistencia al esfuerzo de flexión y al esfuerzo de corte de 40.49 MPa y 27.35 MPa respectivamente por lo que se concluyó que es posible la utilización de este tipo de materiales para elementos con un momento de inercia elevados, dado a su gran resistencia a este tipo de esfuerzo (Arnandha et al., 2017; Barbos et al., 2020; Chaudemanche et al., 2018).

De igual (Ratanawilai & Srivabut, 2022) menciona que las propiedades mecánicas de los compositos de madera plastificada al encontrarse en condiciones de inmersión en agua pierden alrededor de 30% menos de su resistencia comparadas con sus contrapartes de madera tradicional. Además se destaca el cómo las matrices de celulosa como la polimérica actúan en conjunto para brindarle características propias a este tipo de compositos, ya que toma más del doble de tiempo para lograr que el composite llegue a su punto de saturación esto gracias a las propiedades hidrofóbicas propias de los polímeros

Esta investigación tuvo como objetivo el analizar el comportamiento mecánico bajo cargas de flexión pura, especímenes de materiales compuestos en base de materiales reciclados termoplásticos y residuos de madera (WPC) para así poder determinar el posible uso como material de construcción en la industria de la construcción. Además, aportamos en la disminución del impacto de la huella de carbono emitida por los desechos plásticos al aprovechar residuos.

II. Metodología

Las propiedades a flexión se evaluaron de acuerdo a la norma ASTM D 6272. La longitud entre apoyos de las muestras ensayadas fue de 16 veces el espesor, y se utilizó un sistema de aplicación de carga a cuatro puntos, con el cual, se aplicó carga en la parte central de los especímenes de WPC simplemente apoyadas. Los especímenes se flexionaron hasta la ruptura, en la superficie externa a tensión. Se registró la carga y las deflexiones en el centro de la longitud entre apoyos, y se calculó el esfuerzo y deformación por flexión a la ruptura. Además, fueron obtenidas las curvas esfuerzo-deformación para observar y obtener el comportamiento mecánico y así obtener las propiedades mecánicas (módulo elástico, resistencia, esfuerzo último, etc.) para tener parámetros de diseño en el rango elástico y plástico hasta la ruptura.

De igual manera se realizó un diagrama de flujo para estandarizar el proceso de actuación durante la investigación, el cual se muestra a continuación en la Fig. 1:

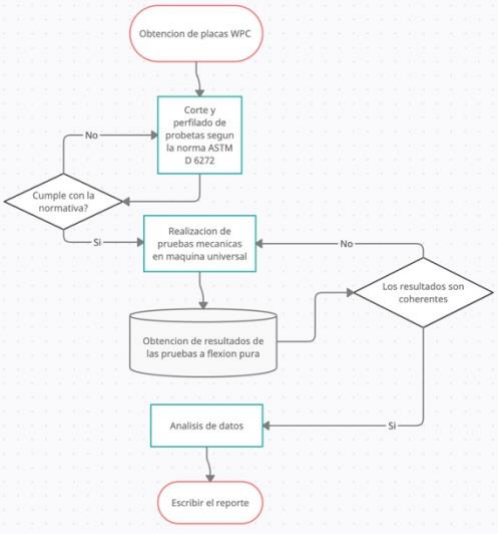


Figura 1. Diagrama de flujo de trabajo.

El perfilado de muestras se realizó con ayuda de una cinta cortadora ubicada apta para polímeros y una caladora automática. Las muestras se perfilaron de acuerdo a la normativa ASTM D 6272, en la cual especifica las dimensiones mínimas y máximas para cada muestra así como las tolerancias permitidas (Standard Test Method for Flexural Properties of Unreinforced and Reinforced Plastics and Electrical Insulating Materials by Four-Point Bending 1, s/f). En la Fig. 2, se muestran el ensayo de los especímenes.



Figura 2. Ensayos a flexión pura con ayuda de un soporte con 4 puntos de aplicación de carga.

En la Tabla 1 a 3 se muestran las características geométricas de los especímenes.

Tabla 1. Especificaciones de las muestras codificadas, con una proporción de plástico-madera de 100-0.

E_I-1 B		
Espesor		
e-1	16	mm
e-2	15	mm
e-3	15	mm
e-4	16	mm
Longitud		
L-1	147	mm
L-2	147	mm
L-3	148	mm
L-4	148	mm
Arista		
A-1	27	mm
A-2	26	mm
A-3	24	mm
A-4	26.5	mm

E_I -1 C		
Espesor		
e-1	15	mm
e-2	15.5	mm
e-3	16	mm
e-4	19	mm
Longitud		
L-1	151	mm
L-2	151	mm
L-3	151	mm
L-4	149	mm
Arista		
A-1	27	mm
A-2	26	mm
A-3	24	mm
A-4	26.5	mm

Tabla 2. Especificaciones de las muestras codificadas, con una proporción de plástico-madera de 90-10.

E_II-2 A		
Espesor		
e-1	8.00	mm
e-2	9.50	mm
e-3	8.00	mm
e-4	9.00	mm
Longitud		
L-1	151.00	mm
L-2	152.00	mm
L-3	150.00	mm
L-4	150.00	mm
Arista		
A-1	25.00	mm
A-2	24.00	mm
A-3	24.00	mm
A-4	25.00	mm

E_II-2 B		
Espesor		
e-1	9.00	mm
e-2	9.00	mm
e-3	9.00	mm
e-4	9.00	mm
Longitud		
L-1	150.00	mm
L-2	149.00	mm
L-3	149.00	mm
L-4	150.00	mm
Arista		
A-1	24.00	mm
A-2	25.00	mm
A-3	25.00	mm
A-4	24.00	mm

Tabla 3. Especificaciones de las muestras codificadas, con una proporción de plástico-madera de 80-20.

E_III-3 A		
Espesor		
e-1	10.00	mm
e-2	9.00	mm
e-3	8.00	mm
e-4	10.00	mm
Longitud		
L-1	149.00	mm
L-2	149.00	mm
L-3	149.00	mm
L-4	150.00	mm
Arista		
A-1	25.00	mm
A-2	26.00	mm
A-3	25.00	mm
A-4	25.00	mm

E_III-3 C		
Espesor		
e-1	9.00	mm
e-2	7.00	mm
e-3	16.00	mm
e-4	19.00	mm
Longitud		
L-1	147.00	mm
L-2	147.00	mm
L-3	147.00	mm
L-4	147.00	mm
Arista		
A-1	23.50	mm
A-2	24.00	mm
A-3	24.00	mm
A-4	24.00	mm

En base de los datos obtenidos se realizaron varias corridas del análisis de carga desplazamiento para descartar errores en la toma de cargas y medidas del micrómetro, se

procedió a realizar la determinación de los esfuerzos y deformaciones de acuerdo siguientes fórmulas.

Esfuerzo máximo:

$S = PL/bd2$ (1)

Donde:

S= Esfuerzo máximo en las fibras exteriores atreves del claro de carga, Mpa.

P= Carga dada en un punto en la curva de carga-desplazamiento, N.

L= Claro del soporte, mm

b= Ancho de la viga, mm

d= Espesor de la viga, mm

Deformación máxima:

$r = 4.70Dd/L^2$ (2)

Donde:

r= Deformación máxima en las fibras exteriores, mm/mm

D= Deflexión máxima en el centro de la viga, mm

d= Espesor de la viga, mm

L= Claro del soporte, mm

IV. Resultados y discusión

Los resultados obtenidos se analizaron y compararon con muestras de control a base una matriz polimérica termofusionada sin residuos de madera incorporada.

Los resultados se presentan por relación de sustitución de madera con respecto al contenido de polímero.

A. Placas con relación plástico-madera 100-0.

La Tabla 4 muestra las medidas de los especímenes ensayados y parámetros para la determinación de los resultados.

Tabla 4. Datos de interés para la aplicación de la Norma ASTM D6272.

E_I-1 B		E_I -1 C	
APOYO		APOYO	
A	12.70 mm	A	12.70 mm
B	12.70 mm	B	12.70 mm
L	122.10 mm	L	125.10 mm
L/3	40.70 mm	L/3	41.70 mm
Espesor	15.50 mm	Espesor	16.38 mm
Ancho	25.88 mm	Ancho	25.88 mm

El espécimen E_I 1B presento una curva esfuerzo-deformación como se muestra en la Fig.3.

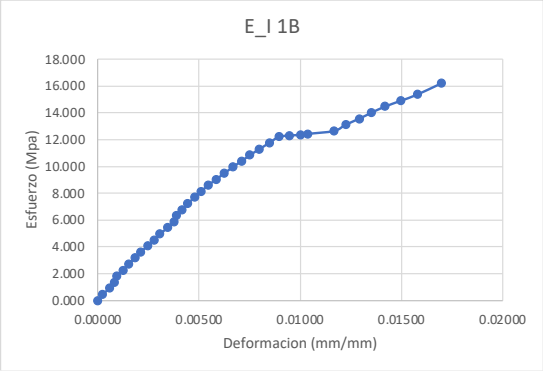


Figura 3. Curva Esfuerzo-Deformación representativa para el espécimen E_I 1B.

En la curva se puede apreciar como la placa presenta una respuesta lineal hasta los 12 Mpa, que es cuando comenzó a fracturarse, después presento una zona de deformación sin necesidad de aumento de carga. Al final presento una zona semi lineal de nuevo hasta lograr el momento de quiebre a los 16 Mpa.

En la Fig. 4 se muestra la imagen del experimento.



Figura 4. Prueba a flexión pura del espécimen E_I 1B.

En la Fig. 4, se logra apreciar como el espécimen presento la falla en el punto de aplicación de carga y no en el centro del espécimen, lo cual puede indicar una deficiencia del proceso de fabricación o en la fase de cristalización.

Por su parte el espécimen E_I 1C presento la siguiente curva de esfuerzo-deformación la cual se muestra en la Fig. 5.

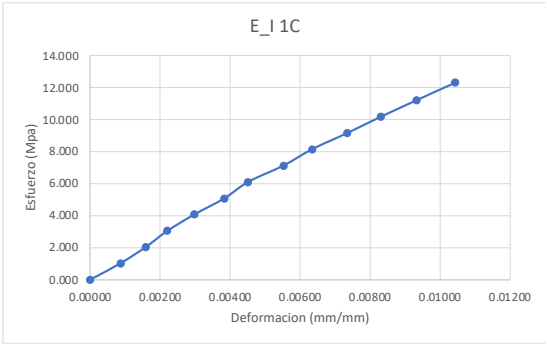


Figura 5. Curva Esfuerzo-Deformación representativa para el espécimen E_I 1C.

Se logra apreciar como la muestra E_1 1C presenta una respuesta lineal elastoplástica a la aplicación de carga teniendo su punto de fallo a los 12 Mpa presentando un comportamiento elastofragil.

La Fig. 6 se muestra el resultado del ensayo a flexión pura.



Figura 6. Prueba a flexión pura del espécimen E_I 1C.

El punto de falla observado en este espécimen fue justo en el centro de la aplicación de carga, por lo cual presenta una linealidad más definida en su gráfica de esfuerzo-deformación, al contrario de su homónimo E_I 1B el cual presenta una deflexión en su curva característica ocasionada por el tipo de falla que presento.

Ambos especímenes presentaron deformaciones y esfuerzos similares por lo que se puede concluir que el procedimiento en ambos casos fue realizado de manera satisfactoria.

B. Placas con relación plástico-madera 90-10.

La Tabla 5 muestra las medidas de los especímenes ensayados y parámetros para la determinación de los resultados.

Tabla 5. Datos de interés para la aplicación de la Norma ASTM D6272.

E_II-2 A			E_II-2 B		
APOYO			APOYO		
A	12.70	mm	A	12.70	mm
B	12.70	mm	B	12.70	mm
L	125.35	mm	L	124.10	mm
L/3	41.78	mm	L/3	41.37	mm
Espesor	8.63	mm	Espesor	9.00	mm
Ancho	24.50	mm	Ancho	24.50	mm

El espécimen E_II 2A presento una curva esfuerzo-deformación como se muestra en la Fig. 7.

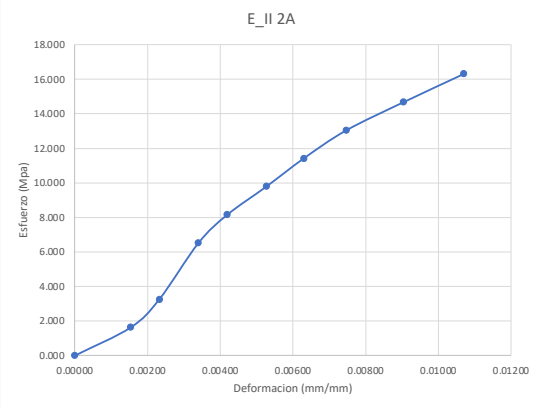


Figura 7. Curva Esfuerzo-Deformación representativa para el espécimen E_II 2A.

Inicialmente, el espécimen presento un comportamiento extraño, causado a un pequeño espacio vacío identificado después de la prueba, una vez superado ese espacio vacío el espécimen mostró un comportamiento elastoplástico a la aplicación de carga, logrando su punto de fallo en 16 Mpa presentando de igual manera un comportamiento elastofragil.

En la Fig. 8, se muestra el resultado del experimento.

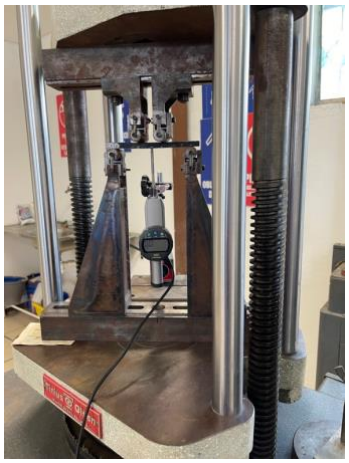


Figura 8. Prueba a flexión pura del espécimen E_II 2A.

El punto de falla del espécimen E_II 2A se presentó justo en el centro del claro de falla, se aprecia solo una pequeña grieta pero fue suficiente para detener la prueba por cuestiones de seguridad.

Por su parte el espécimen E_II 2B presento la siguiente curva de esfuerzo-deformación la cual se muestra en la Fig. 9.

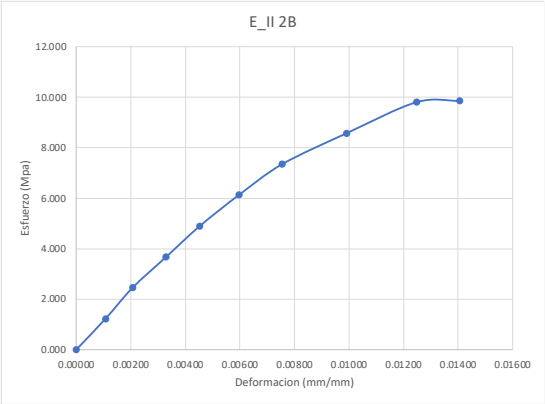


Figura 9. Curva Esfuerzo-Deformación representativa para el espécimen E_II 2B.

Se aprecia un comportamiento completamente típico a los anteriores mostrando una respuesta elastoplástica lineal. Una peculiaridad de este espécimen fue su resistencia ultima dado a que se presenta antes de su punto de quiebre rondando los 10 Mpa, presentando en cierta manera un poco de ductilidad.

La Fig. 10 se muestra el resultado del ensayo a flexión pura.



Figura 10. Prueba a flexión pura del espécimen E_II 2B.

La falla del espécimen E_II 2B se presentó en el centro de la carga y un poco cargado hacia el punto de aplicación de carga superior izquierda, lo cual podría haber ocasionado ese punto de falla un poco inusual al fallar antes de romperse y no al mismo tiempo.

Ambos especímenes mostraron un comportamiento similar con cargas máximas de falla entre los 10 y 16 Mpa y unas deflexiones que rondan entre los 0.0010 y los 0.0014 mm/mm.

C. Placas con relación plástico-madera 80-20.

La Tabla 6 muestra las medidas de los especímenes ensayados y parámetros para la determinación de los resultados.

Tabla 6. Datos de interés para la aplicación de la Norma ASTM D6272.

E_III-3 A			E_III-3 C		
APOYO			APOYO		
A	12.70	mm	A	12.70	mm
B	12.70	mm	B	12.70	mm
L	123.85	mm	L	121.60	mm
L/3	41.28	mm	L/3	40.53	mm
Espesor	9.25	mm	Espesor	12.75	mm
Ancho	25.25	mm	Ancho	23.88	mm

El espécimen E_III 3A presento una curva esfuerzo-deformación como se muestra en la Fig. 11.

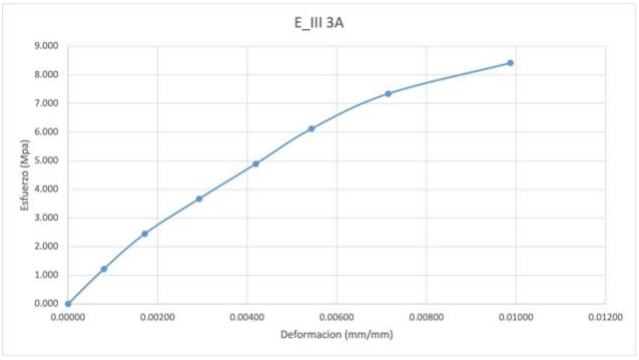


Figura 11. Curva Esfuerzo-Deformación representativa para el espécimen E_III 3A.

Se puede apreciar un comportamiento elastico lineal hasta el momento de la falla. Estos especimenes fueron los que soportaron menos carga, rondando por los 9.2 Mpa dejando un poco de lado los 10 -12 Mpa de los anteriores. Aunque se nota una disminucion en la deformacion unitaria al contrario de los demas.

En la Fig. 12, se muestra el resultado del experimento.



Figura 12. Prueba a flexión pura del espécimen E_II 2A.

El punto de falla del espécimen E_III 3A se presentó justo en el centro del claro de falla, se aprecia solo una pequeña grieta pero fue suficiente para detener la prueba por cuestiones de seguridad.

Por su parte el espécimen E_III 3C presento la siguiente curva de esfuerzo-deformación la cual se muestra en la Fig. 13.

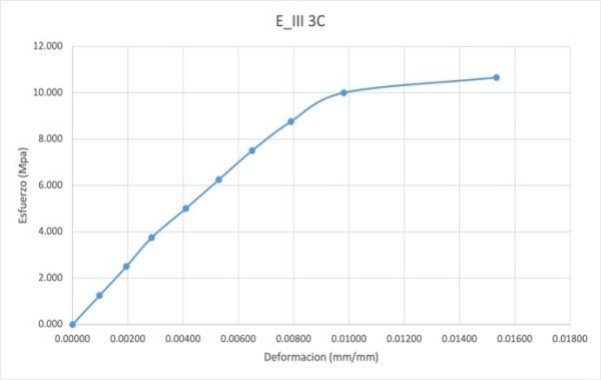


Figura 13. Curva Esfuerzo-Deformación representativa para el espécimen E_III 3C.

Se aprecia un comportamiento completamente típico a los anteriores mostrando una respuesta elastoplástica lineal. Una peculiaridad de este espécimen fue su ductilidad presentada en la parte final de su experimentacion.

La Fig. 14 se muestra el resultado del ensayo a flexión pura.


Figura 14. Prueba a flexión pura del espécimen E_III 3C.

La falla del espécimen E_III 3C se presentó en el centro de la carga.

V. Conclusiones

Esta etapa preliminar consistió en concretar el procedimiento y la mezcla para obtener especímenes adecuadamente consolidados, además, fueron evaluadas las propiedades mecánicas a flexión para obtener un primer indicador de la calidad de los laminados de material compuesto obtenidos.

En lo que se refiere a las gráficas esfuerzo-deformación se observa que los laminados mostraron un comportamiento elástico-lineal hasta la falla (elasto-fragil), tal comportamiento, es típico para materiales compuestos fibro-reforzados, plásticos, cerámicos, etc… Se espera que con algunas modificaciones en el proceso y tipos de refuerzos se pueda obtener un comportamiento elasto-plástico, similar a un material dúctil, lo cual es benéfico para los materiales utilizados en la construcción.

Tales resultados son alentadores, sin embargo, es importante ratificar los resultados con más experimentación para obtener un grado de confiabilidad. Además, debe de efectuarse experimentación con otras condiciones de carga y combinaciones de carga (flexión y torsión, etc.) para caracterizar el comportamiento estático y dinámico de tal material. Otra situación que debe corroborarse es checar el proceso térmico de termofusión con calorimetría diferencial y termo-gravimetría con el objetivo de mejorar la interacción o compatibilidad de los constituyentes para asegurar más adherencia.

V. Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por los recursos otorgados para la realización de este trabajo, así mismo se agradece a la Universidad Autónoma de Querétaro por todas las facilidades otorgadas y por el préstamo del uso de los laboratorios.

Referencias

Arnandha, Y., Satyarno, I., Awaludin, A., Irawati, I. S., Prasetya, Y., Prayitno, D. A., Winata, D. C., Satrio, M. H., & Amalia, A. (2017). Physical and Mechanical Properties of WPC Board from Sengon Sawdust and Recycled HDPE Plastic. Procedia Engineering, 171(April), 695–704. https://doi.org/10.1016/j.proeng.2017.01.412

Barbos, J. D. V., Azevedo, J. B., Cardoso, P. da S. M., da Costa Garcia Filho, F., & del Río, T. G. (2020). Development and characterization of WPCs produced with high amount of wood residue. Journal of Materials Research and Technology, 9(5), 9684–9690. https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2020.06.073

Chaudemanche, S., Perrot, A., Pimbert, S., Lecompte, T., & Faure, F. (2018). Properties of an industrial extruded HDPE-WPC: The effect of the size distribution of wood flour particles. Construction and Building Materials, 162, 543–552. https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2017.12.061

Dantas, J., Barbos, V., Batista, J., Cardoso, S. M., Garcia, C., & Gómez, T. (2020). Development and characterization of WPCs produced with high amount of wood residue. Integrative Medicine Research, 9(5), 9684–9690. https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2020.06.073

Demets, R., van Kets, K., Huysveld, S., Dewulf, J., de Meester, S., & Ragaert, K. (2021). Addressing the complex challenge of understanding and quantifying substitutability for recycled plastics. Resources, Conservation and Recycling, 174, 105826. https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2021.105826

Faruk, O., & Matuana, L. M. (2008). Nanoclay reinforced HDPE as a matrix for wood-plastic composites. Composites Science and Technology, 68(9), 2073–2077. https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2008.03.004

Friedrich, D. (2021). Thermoplastic moulding of Wood-Polymer Composites (WPC): A review on physical and mechanical behaviour under hot-pressing technique. En Composite Structures (Vol. 262, p. 113649). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.compstruct.2021.113649

Friedrich, D. (2022). Success factors of Wood-Plastic Composites (WPC) as sustainable packaging material: A cross-sector expert study. Sustainable Production and Consumption, 30, 506–517. https://doi.org/10.1016/j.spc.2021.12.030

Hutyrová, Z., Zajac, J., Mital, D., Harničárová, M., & Valíček, J. (2015). Evaluation of share material after turning of wood plastic composite. Proceedings - International Conference on Solar Energy and Building, ICSoEB 2015, 3–6. https://doi.org/10.1109/ICSoEB.2015.7244946

Khalid, M. Y., Arif, Z. U., Ahmed, W., & Arshad, H. (2022). Recent trends in recycling and reusing techniques of different plastic polymers and their composite materials. Sustainable Materials and Technologies, 31(December 2021), e00382. https://doi.org/10.1016/j.susmat.2021.e00382

Liikanen, M., Grönman, K., Deviatkin, I., Havukainen, J., Hyvärinen, M., Kärki, T., Varis, J., Soukka, R., & Horttanainen, M. (2019). Construction and demolition waste as a raw material for wood polymer composites – Assessment of environmental impacts. Journal of Cleaner Production, 225, 716–727. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.03.348

Ratanawilai, T., & Srivabut, C. (2022). Case Studies in Construction Materials Physico-mechanical properties and long-term creep behavior of wood-plastic composites for construction materials : Effect of water immersion times. Case Studies in Construction Materials, 16(November 2021), e00791. https://doi.org/10.1016/j.cscm.2021.e00791

Sammouda, H., & Mbarek, T. ben. (2015). Prediction by numerical simulation of the mechanical behavior of structures abutting composite wood/plastic (Wood plastic composite-WPC). Proceedings - International Conference on Solar Energy and Building, ICSoEB 2015. https://doi.org/10.1109/ICSoEB.2015.7244942

Standard Test Method for Flexural Properties of Unreinforced and Reinforced Plastics and Electrical Insulating Materials by Four-Point Bending 1. (s/f).

Zhao, H., Zhu, H. Y., Zhou, Y. L., & Wang, Q. W. (2011). Reasearch of Wood Plastic Composites application based on Fused Deposition Modeling technology. Proceedings of 2011 International Conference on Electronic and Mechanical Engineering and Information Technology, EMEIT 2011, 3, 1560–1562. https://doi.org/10.1109/EMEIT.2011.6023394

Zhou, H., Li, W., Hao, X., Zong, G., Yi, X., Xu, J., Ou, R., & Wang, Q. (2022). Recycling end-of-life WPC products into ultra-high-filled, high-performance wood fiber/polyethylene composites: A sustainable strategy for clean and cyclic processing in the WPC industry. Journal of Materials Research and Technology, 18, 1–14. https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2022.02.091

Diseño en simulación en baldosas piezoeléctricas

AUTORES:
César Augusto Martínez Macías
Erick Josué Pacheco Montaño
Alfredo García Rojas
Jesús Eduardo Toral Orta
Facultad de Ingeniería
Universidad Autónoma de Querétaro
Cerro de las Campanas, S/N, Centro
Universitario, 76010
Santiago de Querétaro, Querétaro, México
cmartinez131@alumnos.uaq.mx

ASESOR:
Dr. José Gabriel Ríos Moreno
Facultad de Ingeniería
Universidad Autónoma de Querétaro
Cerro de las Campanas, S/N, Centro
Universitario, 76010
Santiago de Querétaro, Querétaro, México
riosg@uaq.mx

Abstract—Energy is a central element in the development of human life. However, the production and consumption of energy sources is not possible for the entire population of the world. During 2018, the United Nations (UN) accounted for 13% that did not have access to electricity in the world. In Mexico, the National Institute of Statistics and Geography (INEGI), 99% of inhabited homes in the country have electricity. That is why different options have been sought for the production of energy sources, in order to have the most accessible from the mountain to solve this problem. Mechanical energy, such as piezoelectric energy, can be captured and converted into useful, easily assembled, and inexpensive electrical energy. The objective of this work is to 3D design and characterize an energy harvesting tile to generate electricity from human footsteps that can be used to power low energy consumption electronic devices. Prototype parts were created in SolidWorks and then assembled, also using Multisim software, an electromechanical model of the system was developed to predict the energy performance of the prototype and help adjust design parameters. The results obtained by simulation show that pressing the energy harvesting tile produces a voltage of 15 V, an amperage of 1.4 A, and a power of 23.7 mW. This output data can be used to charge a battery and therefore power electronic devices.

Keywords—piezoelectric; energy harvesting; piezoelectric transducers; energy harvesting tile; Kinetic energy.

I. INTRODUCCIÓN

La energía es un elemento central del desarrollo. Sin ella, las comunidades viven en la oscuridad, los servicios esenciales, como las instalaciones médicas y educativas, se ven gravemente afectados y las empresas operan con graves limitaciones. La energía permite las inversiones, la innovación y las nuevas industrias que son los motores de la creación de empleo y el crecimiento de economías enteras. El Objetivo de Desarrollo Sostenible 7 (ODS), que dice que el "Acceso universal a energía asequible, confiable y sostenible", es esencial para lograr otros ODS y es el núcleo de los esfuerzos para abordar el cambio climático [1].

En 2019, se emitieron aproximadamente 36.460 millones de toneladas métricas de dióxido de carbono (CO2) a partir de la actividad industrial y los combustibles fósiles en el mundo [2].

El creciente consumo de fuentes de energía no renovables ha sido la causa de la crisis energética mundial y la contaminación ambiental, lo que ha llevado a los investigadores a explorar tecnologías de energía alternativa que puedan aprovechar la energía disponible en el entorno circundante. La energía

mecánica es la energía ambiental más frecuente que se puede capturar y convertir en energía eléctrica útil [3].

Hoy en día, casi mil millones de personas aún viven sin electricidad y cientos de millones más viven con un suministro insuficiente o poco confiable. Al mismo tiempo, aproximadamente 3 mil millones de personas utilizan combustibles contaminantes como la leña u otra biomasa para cocinar o calentar sus hogares, generando una contaminación del aire interior y exterior que tiene un impacto generalizado en la salud [1].

Según el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), el 99% de las viviendas habitadas del país cuentan con energía eléctrica; de ellos, el 0,25% utilizan la energía solar como fuente alternativa, ya sea de forma exclusiva o en un sistema bidireccional o híbrido (solar y red pública) [4]. Datos de la Comisión Federal de Electricidad (CFE), señalan que, durante enero de 2020, los usuarios estarían pagando 0.831 pesos por cada uno de los primeros 75 kilovatios-hora en el rango de consumo básico [5].

Los seres humanos caminamos todos los días, con esto es posible ayudar al problema que enfrentamos en el planeta, ahorrando y suministrando energía, reemplazando los sistemas tradicionales por sistemas sustentables y así cuidar el medio ambiente [6].

La energía alternativa generada por los pasos de las personas en zonas concurridas es suficiente para alimentar dispositivos electrónicos inteligentes de bajo consumo [7].

La conversión de vibraciones en electricidad de baja potencia ha recibido una atención creciente en las últimas dos décadas. Como concepto prometedor de conversión de energía piezoeléctrica, se proponen baldosas de adoquín inteligentes para aprovechar los pasos humanos para obtener energía [8].

En México, la población en 2017 fue de 123.5 millones de personas, de las cuales más de la mitad eran menores de 29 años y en un día caminaron alrededor de 4,692 pasos; lo que se podría lograr para obtener la energía necesaria para encender el alumbrado público de la Ciudad de México [6].

Observando los diferentes métodos elaborados anteriormente para la obtención de energía, se destaca lo siguiente:

En la investigación de [1] crearon 2 prototipos de un dispositivo llamado Genpath que consta de dos partes principales: el generador electromagnético (EM) y el circuito de almacenamiento y administración de energía (PMS). Prototype-I usó un mecanismo de piñón y cremallera; mientras que el prototipo II, que usaba un mecanismo de husillo, produjo una energía promedio de hasta 702 mJ (o una potencia promedio de 520 mW) para cada paso. La energía proporcionada por el Prototipo-II aumenta aproximadamente un 184 % en comparación con la del Prototipo-I. Donde el experimento demostró que el circuito de manejo y almacenamiento de energía tuvo una eficiencia global de 74.72%.

En el trabajo de [9] proporcionaron un circuito equivalente con una fuente de voltaje para analizar los comportamientos de colección, donde los parámetros en el modelo teórico pueden ser determinados por las dimensiones de una placa unimorfa piezoeléctrica y su deformación inicial. El método de generación de vibraciones libres propuesto se desarrolló en un diseño de suelo colector piezoeléctrico, que puede convertir el movimiento de la marcha humana en energía eléctrica y almacenarla en un condensador de almacenamiento externo. Usando la regla de Euler-Bernoulli y otras ecuaciones, se encontró que un movimiento escalonado puede causar que la energía de carga en un capacitor de almacenamiento de 33 µF alcance 0.278 mJ.

En la investigación presentada por [10] utilizaron materiales piezoeléctricos y triboeléctricos (PEH y TEH, respectivamente), donde se obtuvo que PEH generaba 27,64 mW, 1,90 mA y 14,39 V a través de una carga resistiva óptima de 7,50 Ω; mientras que TEH generó 1,52 mW, 8,54 µA y 177,91 V a través de una carga resistiva óptima de 21 MΩ; aunque TEH

proporcionó mayores potencias y densidades de energía por costo unitario.

En la investigación de [11] utilizaron diferentes transductores piezoeléctricos, donde obtuvieron que al aplicar la carga de los pasos de una persona de 70 kg, el piezoeléctrico tipo "MFC M-0714-P2" compuesto por 32 transductores, generaba una buena tensión de 1,8 V, una corriente de salida de 10,24 mA y una potencia de salida de 18,432 mW. Sin embargo, el titanato de zirconato de plomo (PZT) generó un 93 % más de potencia en las mismas condiciones.

En el trabajo de [12] utilizaron un mecanismo de amplificación de fuerza y una estructura de compresión de doble capa en la que se desplegaron haces piezoeléctricos. La estructura del piso de recolección de energía se construyó utilizando un mecanismo de amplificación de fuerza basado en la teoría del mecanismo de enlace. En esta investigación se utilizó un método computacional basado en la transformada de Fourier para encontrar la carga resistiva óptima y luego se verificó experimentalmente. Además, se encontró que el voltaje pico a pico máximo era de 51,2 V con una carrera de 5 mm y una frecuencia de paso de 1,81 Hz. Además, se demostró que la potencia de salida correspondiente para un solo haz piezoeléctrico es de 134,2 μW, lo que demuestra el potencial para recolectar energía de los peatones para alimentar dispositivos electrónicos de baja potencia. Por lo tanto, se demostró que el uso del método computacional con datos en el dominio de la frecuencia puede predecir la carga resistiva óptima y la potencia máxima de salida. A través de experimentos con diferentes frecuencias de paso, se encontró que, al aumentar la frecuencia de paso, aumentaba la potencia de salida en lugar de la amplitud del voltaje de salida.

También se puede observar que en la investigación realizada por [13] se utilizaron transductores piezoeléctricos donde al colocar una serie de 8 transductores se obtuvo 15-16 V suficientes para alimentar prácticamente dispositivos electrónicos e inalámbricos de bajo consumo energético.

También se toma como referencia al inventor Laurence Kemball-Cook y creador de su empresa llamada Pavegen, quien fue el primero en proponer este sistema basado en piezoeléctricos en pisos para la generación de electricidad y almacenamiento de este invento, el cual se encuentra en desarrollo en el año 2009 cuando era estudiante en la Universidad de Loughborough (Reino Unido), hasta la actualidad que ha fundado su empresa [14].

En la investigación realizada se puede apreciar que existen diferentes mecanismos propuestos por diferentes personas, muchos prototipos propuestos que se pueden probar en un centro ya sea educativo, comercial, de paseo o donde haya gran afluencia de transeúntes- por. Este trabajo presenta el diseño 3D y caracterización de una teja de recolección de energía para generar electricidad a partir de pasos humanos que puede ser utilizada para alimentar dispositivos electrónicos de bajo consumo energético. Con la investigación realizada se puede observar que algunos de los prototipos realizados utilizan transductores piezoeléctricos (Fig. 1), vistos en los métodos de [11] y [13], los cuales pueden ser una opción viable de implementar debido a su baja costo y fácil instalación.

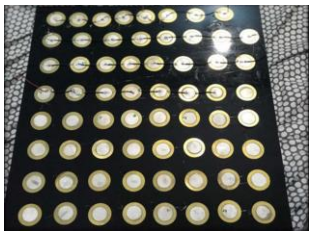


Fig. 1. Transductores piezoeléctricos.

II. CONSIDERACIONES TEÓRICAS

Para el diseño 3D y simulación eléctrica de la teja se utilizó Titanato de Zirconato de Plomo (PZT). Las dimensiones del disco piezoeléctrico PZT son de 27 mm de diámetro, pero solo 20 mm de su sección contienen el sustrato piezoeléctrico (Fig. 2) [15].



Fig. 2. PZ Disco Piezoeléctrico.

The PZT allows to obtain a voltage through the deformations it suffers, that is why its main characteristics are detailed below [15]:

- Ref. DH35.453/35
- Diámetro (d) Ø 27 mm
- Espesor (t) 1 mm
- Frecuencia de resonancia 2'3 kHz
- Impedancia 300 Ω
- Capacidad (at 1 kHz) 25.000 pF
- Piezoeléctrico carga constante $d_{33} = 460x10^{-12}\ \frac{m^2}{N}$
- Piezoelectrico voltaje constante $g_{33} = 2x10^{-3}\ \frac{Vm}{N}$
- Relativo constante dieléctrico $\varepsilon^T = 1850$

Para modelar eléctricamente un dispositivo o material piezoeléctrico, es necesario obtener un circuito equivalente. Puede verse en la Fig. 3 el equivalente más simple que se puede encontrar en diferentes bibliografías [15,16,17].

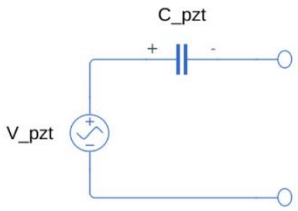


Fig. 3. Circuito piezoeléctrico

Una vez obtenido el circuito equivalente, es necesario calcular, mediante fórmulas matemáticas, el valor de la fuente de tensión (V_{pzt})que se encuentra en serie con el capacito (C_{pzt})..

Las ecuaciones a considerar son las siguientes:

Se puede determinar con (1) el voltaje entregado por la fuente del modelo eléctrico de un disco piezoeléctrico, que es directamente proporcional a la fuerza aplicada sobre el piezoeléctrico en el caso de un disco piezoeléctrico con un diámetro al menos 5 veces mayor que su espesor compuesto de PZT a baja frecuencia [15].

$$V_{pzt} = \frac{4}{\pi} * \frac{t}{d^2} * g_{33} * F \quad (1)$$

Donde v es la diferencia de potencial; t es el espesor; d es su diámetro; g_{33} es la constante piezoeléctrica y F es la fuerza aplicada sobre el transductor.

Para encontrar la fuerza, se utiliza la segunda ley de Newton a través de (2) [15]:

$$F = m * a \quad (2)$$

donde m es la masa y $a = 9.81\frac{m}{s^2}$ es la gravedad.

Para la caracterización de un material piezoeléctrico es necesario obtener su capacitancia para poder modelar el dispositivo utilizando este valor de referencia. Este valor se puede calcular usando (3) [15]:

$$C_{pzt} = \frac{4}{\pi} * \varepsilon^T * \epsilon_0 * \frac{d^2}{t} \quad (3)$$

donde ε^T es de relative dieléctrica constant $\epsilon_0 = 8.854x10^{-12}\frac{F\ (Farad)}{m}$ es la permitividad del vacío.

III. METODOLOGÍA

Uno de los lugares donde se puede considerar la implementación de las losetas de recolección de energía puede ser una pasarela peatonal (Fig. 4), ya que es un lugar perfecto donde caminan muchas personas en las que la energía producida por el talón golpea al caminar en una dirección. La energía generada de cada persona está entre 1 y 5 J o 2 a 20 W por paso [1,17].



Fig. 4. Banqueta.

La Figura 5 muestra la metodología que se utilizó en el desarrollo de la teja. El proceso se desarrolló en 5 etapas, que comprenden: toma de datos, modelado del sistema de recolección de energía, simulación, descripción y análisis de resultados.

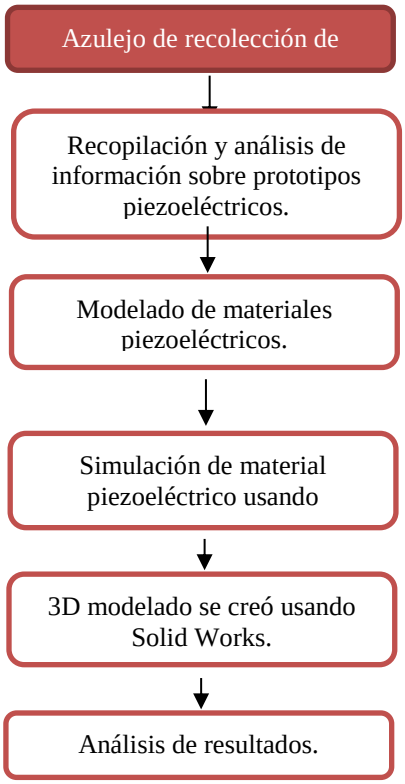


Fig. 5. Diagrama de flujo de la metodología utilizada [13].

La Figura 6 muestra el funcionamiento del sistema. Cuando una persona camina sobre el suelo, la tensión ejercida se convierte en energía eléctrica a través de transductores piezoeléctricos. Entonces, el voltaje eléctrico generado debido a una diferencia de potencial de las cargas, es un voltaje AC (debido a las variaciones en las vibraciones resultantes de la diferente cantidad de presión aplicada), por lo tanto, se utiliza un circuito puente rectificador que convierte el voltaje AC en voltaje DC., para que pudiera ser utilizado en dispositivos electrónicos [13].



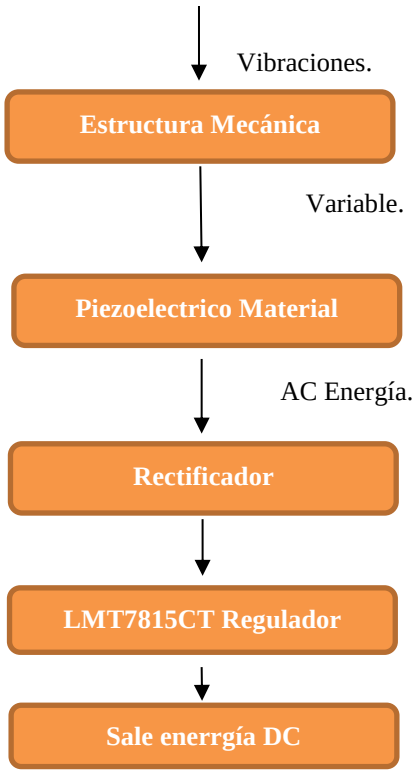


Fig. 6. Sistema estructural [13].

Tomando como referencia [18], el circuito utilizado para obtener las simulaciones utilizando la herramienta Multisim es el que se muestra en la Fig. 7. En amarillo tenemos el circuito piezoeléctrico utilizado; en naranja el rectificador; en verde el regulador LMT7815CT; en violeta la salida de corriente continúa.

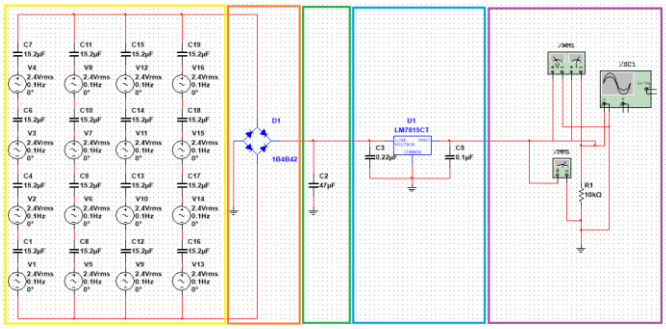


Fig. 7. Conversión de Energía y almacenamiento.

Tomando como referencia [18], el circuito utilizado para obtener las simulaciones utilizando la herramienta Multisim es el que se muestra en la Fig. 7. En amarillo tenemos el circuito piezoeléctrico utilizado; en naranja el rectificador;

en verde el regulador LMT7815CT; en violeta la salida de corriente continua.

TABLE I. TABLA I. VALORES DE VOLTAJE Y CAPACIDAD DE PERSONAS CON DIFERENTE PESO

N°	Propiedades		
	Masa	***Voltaje***	***Capacitancia***
1	50 kg	1.71 V	15.2 μF
2	70 kg	2.40 V	15.2 μF
3	85 kg	2.91 V	15.2 μF

Con estos autores (1), (2) and (3) los valores fuerón encont.

IV. RESULTADOS

Se construyeron y simularon circuitos equivalentes utilizando Multisim. En la Tabla 2 se muestran los valores obtenidos:

TABLE II. VOLTAGE, CURRENT AND POWER VALUES OBTENIDOS DE PERSONAS CON DIEFERENTES PESOS.

N°	Propiedades			
	Masa	***Voltaje***	***Corriente***	***Potencia***
1	50 kg	15.404 V	1.408 A	23.730 mW
2	70 kg	15.405 V	1.409 A	23.735 mW
3	85 kg	15.406 V	1.409 A	23.730 mW

Con el uso de Multisim se pudieron encontrar estos valores.

En SolidWorks, en 3D se diseñaron 27 mm piezoelectrico transductoress fueron hechos (Fig. 8).

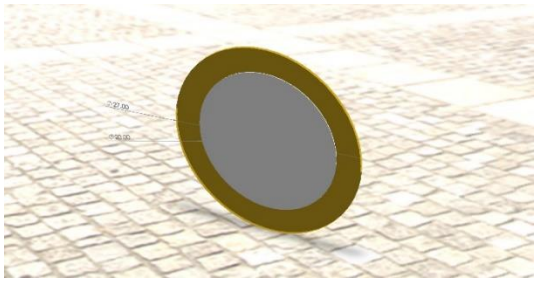


Fig. 8. Piezoelectric transductores con radio de 27 mm.

Para el diseño propuesto (Fig. 9), se tomó como referencia [11]. El mosaico de recolección de energía en SolidWorks se muestra a continuación.

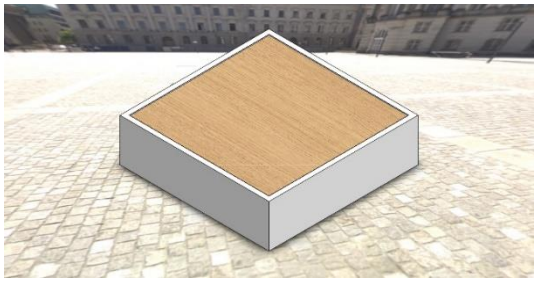


Fig. 9. 3D prototipo de enrgía piezoelcéctrica hecha en solids works.

La primera capa es un cristal de metacrilato de 30 cm*30 cm. Esta capa exterior debe ser duradera y estética porque soporta los pasos de los usuarios. La segunda capa está hecha de madera, con los discos de PET unidos para distribuir la fuerza de un paso a todos los transductores piezoeléctricos. La tercera capa es para la absorción de impactos con una lámina protectora de poliestireno o caucho. Está posicionado para proteger los transductores de cualquier peso sobrecargado que podría desviar severamente la plataforma y dañar los transductores piezoeléctricos. En la cuarta capa, los piezoeléctricos están dispuestos en una distribución específica de tres líneas de cuatro discos piezoeléctricos en el eje vertical. Finalmente, los circuitos electrónicos están ocultos debajo de la plataforma en una caja protectora. Este diseño permite conectar más plataformas entre sí en paralelo, y se puede cargar una batería individual en cada plataforma, o se puede cargar una sola batería con un circuito básico con protección contra corriente inversa (Fig. 10).

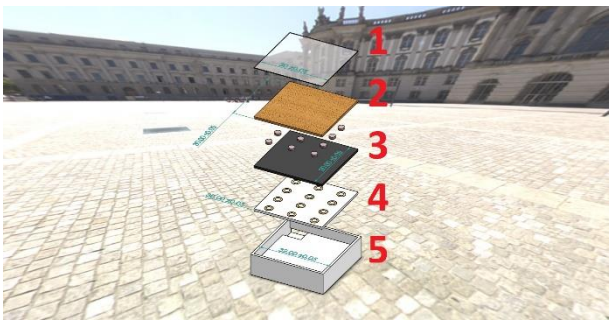


Fig. 10. Prototipo capas.

Se puede ver en la Fig. 11 las medidas de cada una de las capas, las dimensiones están en centímetros.

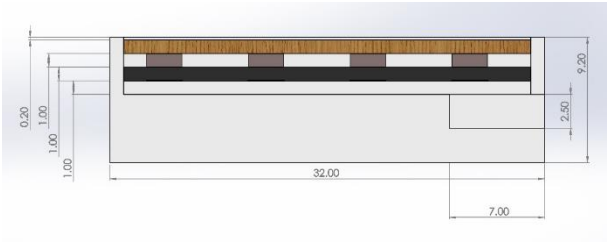


Fig. 11. Dimensiones de las capas.

Los resultados obtenidos muestran que al presionar la teja piezoeléctrica se obtienen aproximadamente 15 V, también se obtiene un amperaje de 1,4 A y con una potencia de 23,7 mW. Estos datos de salida se pueden utilizar para cargar una batería y, por lo tanto, alimentar dispositivos electrónicos.

Como se puede observar la simulación realizada al ser un software de computadora toma valores totales, es decir se supone que cada huella de una persona de 70 kg es simétrica para cada uno de los 16 piezoeléctricos, sin embargo en el prototipo real cada huella es Es diferente y no es simétrica pues cada fuerza piezoeléctrica se concentra en puntos diferentes provocando que la tensión generada por cada disco piezoeléctrico no sea igual en todos los casos.

v. CONCLUSIONS

En conclusión, este prototipo aprovecha el movimiento rutinario de las personas que caminan para transformarlos en energía eléctrica, lo cual es positivo para el ser humano, mientras camina energía eléctrica limpia que podría ser utilizada en cualquier aparato eléctrico de bajo consumo.

El modelo 3D creado en SolidWorks se puede mejorar para obtener los valores de salida más altos posibles, según los materiales que se puedan utilizar.

REFERENCES

[1] Banco Mundial. (2018). Energía. Retrieved from https://www.bancomundial.org/es/topic/energy/overview#1

[2] Statista. (2021). Emisiones históricas de CO2 globales 1757-2020. Retrieved from https://es.statista.com/estadisticas/635382/emisiones-historicas-de-co2-globales/

[3] N. Sezer and M. Koç, "A comprehensive review on the state-of-the-art of piezoelectric energy harvesting", Nano Energy, vol. 80, 105567, 2021. https://doi.org/10.1016/j.nanoen.2020.105567

[4] Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2018). Primera encuesta nacional sobre consumo de energéticos en viviendas particulares (ENCEVI). Retrieved from https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2018/EstSociodemo/ENCEVI2018.pdf

[5] Infobae. (2020). En 2020 las tarifas eléctricas aumentarán más que en 2019. Retrieved from https://www.infobae.com/america/mexico/2020/01/03/en-2019-aumento-48-la-tarifa-electrica-en-2020-subira-a-5/#:~:text=Datos%20de%20la%20Comisi%C3%B3n%20Federal,el%20rango%20de%20consumo%20b%C3%A1sico

[6] M. Perales. (2018). Generan energía con cada paso. Retrieved from https://tec.mx/es/noticias/estado-de-mexico/educacion/generan-energia-con-cada-paso

[7] T. Jintanawan, G. Phanomchoeng, S. Suwankawin, P. Kreepoke, P. Chetchatree and C. U-viengchai. "Design of Kinetic-Energy Harvesting Floors". Energies. 13(20):5419. 2020. https://doi.org/10.3390/en13205419

[8] B. Kathpalia, D. Tan, I. Stern, F. Valdes, S. Kim and A. Erturk, "Modeling and Characterization of a Curved Piezoelectric Energy Harvester for Smart Paver Tiles", Procedia Computer Science, vol. 109, pp. 1060-1066, 2017. https://doi.org/10.1016/j.procs.2017.05.384

[9] W. Sheng-He, T. Mi-Ching and W. Tsung-His. "The Analysis and Design of a High Efficiency Piezoelectric Harvesting Floor with Impacting Force Mechanism". Crystals, 11(4), 380. 2021. MDPI AG. http://dx.doi.org/10.3390/cryst11040380

[10] P. Thainiramit, P. Yingyong and D. Isarakorn. Impact-Driven Energy Harvesting: Piezoelectric Versus Triboelectric Energy Harvesters. Sensors. 2020; 20(20):5828. https://doi.org/10.3390/s20205828

[11] C. Quiterio, G. Zamacola and F. García. "Analysis and Comparison of Macro Fiber Composites and Lead Zirconate Titanate (PZT) Discs for an Energy Harvesting Floor". Applied Sciences. 2020; 10(17):5951. https://doi.org/10.3390/app10175951

[12] M. He, S. Wang, X. Zhong and M. Guan. "Study of a Piezoelectric Energy Harvesting Floor Structure with Force Amplification Mechanism". Energies. 2019; 12(18):3516. https://doi.org/10.3390/en12183516

[13] S. Ahmed et al., "Energy Harvesting through Floor Tiles," 2019 International Conference on Innovative Computing (ICIC), 2019, pp. 1-6. doi:10.1109/ICIC48496.2019.8966706.

[14] E. Herrera. (2020). Pavegen Systems: el fin de los pasos perdidos. Retrieved from https://medium.com/juventud-t%C3%A9cnica/pavengen-baldosas-que-generan-electricidad-de-tus-pasos-4e89b943e13e

[15] C. Molina. (2021). Modelamiento de un sistema de nanogeneradores eléctricos basado en los efectos tribo y piezoeléctrico (Bachelor's thesis).

[16] A. Jaramillo, M. López and K. Munóz. (2018). Diseño De Un Prototipo De Baldosas Inteligentes De Alto Tráfico Para Implementación En El Sistema De Transporte Público Transmilenio De La Ciudad De Bogotá. Título de Grado. Universidad Piloto de Colombia, Bogotá, Colombia.

[17] S. Beeby, R. Torah, M. Tudor, P. Glynne-Jones, T. O'Donnell, C. Saha and S. Roy. "A Micro Electromagnetic Generator for Vibration Energy Harvesting". J. Micromech. Microeng. 2007, 17, 1257–1265.

[18] M. Malmcrona. (2018). Aplicaciones del efecto piezoeléctrico para la generación de energía (Bachelor's thesis).

ENCOFRADOS DE ALTERNATIVAS PLÁSTICAS

Autores: Vera Olvera José Angel, Perez Mitzi Gerardo, Mario Trejo Perea
Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ingeniería, Ingeniería Civil
jvera30@alumnos.uaq.mx

Resumen- A nivel mundial se tiene que la reutilización de residuos plásticos Acrilonitrilo butadieno estireno (ABS) se presenta con mayor intensidad en China, Estados Unidos y Japón, representando cada uno el 15,3, 13,1 y 6,6% del total de publicaciones respectivamente. México representa el 1% de la producción total, por lo que lidera la exportación de madera, el crecimiento en 2018 fue del 5%, provocando que el recurso madera se eleva al 72%. El objetivo es reducir el impacto ambiental y reducir el costo de producción de los encofrados a base de plástico obteniendo una alternativa más duradera y de mejor calidad. Para la construcción del encofrado se utilizará ABS por polimerización en masa con el fin de alcanzar una mayor flexibilidad en el encofrado. , con las especificaciones logradas con este método de polimerización se diseñarán piezas para encofrado que tendrán una utilización aproximada de 10 años y una reducción de costos muy significativa. Se concluyó que el uso de este método para la producción del molde que dará paso a la producción en masa de dicho encofrado requiere de una gran inversión inicial, pero estructuralmente hablando es posible si utilizamos placas de 100 cm x 50 cm de dicho material. para su elaboración.
Palabras clave: Encofrado ensamblable, Acrilonitrilo Butadieno Butadieno Estireno, Alternativa plástica, Polimerización en masa, Madera.

Worldwide, the reuse of plastic waste Acrylonitrile butadiene styrene (ABS) occurs with greater intensity in China, the United States and Japan, each representing 15.3, 13.1 and 6.6% of all publications respectively. Mexico represents 1% of total production, which is why it leads the export of wood, growth in 2018 was 5%, causing the wood resource to rise to 72%. The objective is to reduce the environmental impact and reduce the production cost of plastic-based formwork, obtaining a more durable and better quality alternative. For the construction of the formwork, ABS will be used by mass polymerization in order to achieve greater flexibility in the formwork. , with the specifications achieved with this polymerization method, pieces for formwork will be designed that will have an approximate use of 10 years and a very significant cost reduction. It was concluded that the use of this method for the production of the mold that will lead to the mass production of said formwork requires a large initial investment, but structurally speaking it is possible if we use 100 cm x 50 cm plates of said material. for its elaboration. Keywords: Assembly formwork, Acrylonitrile Butadiene Butadiene Styrene, Plastic alternative, Mass polymerization, Wood.

I. INTRODUCCIÓN

En la construcción civil, desde hace mucho tiempo se utilizan cimbras de diferentes materiales como madera, metal y fibra de vidrio, entre otros, debiendo lidiar con las adversidades que estos materiales presentan para el constructor, como su limitado uso, las altas precio de los materiales con que están hechos y el cuidado que debe tenerse del hormigón que contienen. Estas adversidades suelen reducirse con un coste para el trabajo que se está realizando.

En la actualidad se han desarrollado plásticos que pueden competir con los materiales que componen la cimbra, en cuanto a uso, resistencia y coste.

El diseño de este sistema de encofrado está orientado a ser una alternativa competitiva frente al sistema tradicional sistema de encofrado a base de paneles de madera convencionales, debido a la elaboración a partir de pellets plásticos mediante un proceso denominado polimerización en masa con la finalidad de moldear un sistema de encofrado elaborado con una menor contribución en la producción de gases de efecto invernadero en su proceso de fabricación, con el propósito de mostrar una alternativa ecológica para la elaboración de este tipo de sistemas, siendo así una alternativa con una relación calidad-precio capaz de competir en el mercado de la construcción civil [1- 2]. En términos generales, la producción científica en torno al tema del reciclaje, reutilización y/o reutilización de residuos plásticos ABS se presenta con mayor intensidad en China, Estados Unidos y Japón, representando cada uno el 15,3, 13,1 y 6,6% del total de publicaciones respectivamente. China es el mayor impulsor del mercado de ABS a nivel mundial, representando un tercio de la capacidad de producción mundial y también es el mayor consumidor de esta resina, demandando más de la mitad del producto en 2016. Países como Estados Unidos y Japón también son entre los principales consumidores del mercado actual de ABS, aunque cabe destacar que Estados Unidos en los últimos 5 años ha experimentado una consolidación y racionalización de la capacidad de producción de este polímero, debido a la disminución de su demanda [3].
En México se estima que para el 2018 la industria de la construcción crecerá 5% a nivel nacional con respecto al 2014, provocando así que aproximadamente el 72% de la producción total de madera en México se destine al aserrío, es decir, al corte de piezas, incluyendo todos los piezas necesarias para el encofrado, esto se traduce en la explotación de 4,88 millones de m^3 además de esta explotación se producen residuos tanto de construcción como de demolición, de estos residuos cerca del 10% es madera y otros implementos utilizados en la construcción, esto quiere decir que Se desechan aproximadamente 990 000 toneladas de madera al año [4].
Todo esto lleva a que México no sea autosuficiente en la importación de madera, ya que de acuerdo a la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) México apenas representa el 1% de la producción total, lo que lleva a exportar madera y por ende redunda en precios más altos. y mayor contaminación, por lo que con esta alternativa plástica se reducirá significativamente el costo de los recursos derivados de la madera a nivel nacional [5-6].

El Ingeniero Civil Alejando Hernandez, elaboró un encofrado por el modelo de inyección a presión con moldes metálicos, para lograr la creación de todas las partes del encofrado para ser utilizado en las diferentes obras civiles, sin embargo este tipo de modelo de producción incrementa excesivamente los costos, por lo que para el campo de estudio de esta investigación no es adecuada, ya que el objetivo principal es reducir los costos así como el uso de la madera, por lo que se opta por una polimerización por emulsión, la cual nos brinda la resistencia adecuada y por un precio menor, cuanto mayor sea el costo, mayor será el costo del encofrado.

II. OBJETIVO

Una cimbra para la construcción a base de plástico, mediante experimentación con plásticos duros y plásticos ligeros, para ofertar una alternativa más a económica, de hasta un 23% con respecto a la madera de pino tradicional empleada en las cimbras de madera que cumplen con la

norma ASC; Por otro lado reduciremos la huella de carbono que se emite durante la producción de dichos elementos estructurales, Reducir el impacto ambiental y disminuir el costo de producción de encofrados a base de plástico sustituyendo abs por plástico para ofrecer una mejor calidad y más duradera.

III. METODOLOGÍA

Para la elaboración de los prototipos que se utilizarán para la realización de esta investigación se tuvieron que tomar diversas consideraciones, esto con la finalidad de que el proceso de elaboración de estos nos ayude a comparar los datos arrojados contra el sistema tradicional de encofrado,se puede observar en la tabla 1 los valores que deberá superar nuestro sistema, esto se describe a detalle en la figura 1..

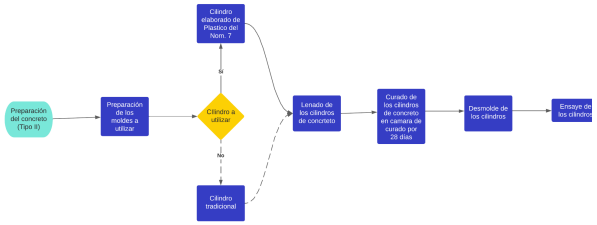


Figura 1. Diagrama de flujo para el proceso de elaboración de los cilindros.

Siguiendo esté orden para la realización de las pruebas correspondientes, se basaron en las siguientes normas complementarias:

- NMX-C-414-ONNCCE-2014
- NMX-C-061-ONNCCE-2015
- NMX-C-160-ONNCCE-2004
- NMX-C-083-ONNCCE-2014

Con las normas anteriormente mencionadas nos encargamos de asegurar la calidad del cemento, y los valores que deberá de cumplir para la correcta elaboración de las pruebas, en cuanto a los elementos temporales para concreto seguiremos las especificaciones del Requisitos de Reglamento para Concreto Estructural (ACI 318S-05) y Comentario (ACI 318SR-05) en la cual se sigue el "Standard Test Method for Compressive Strength of Concrete Cylinders Cast-in-Place in Cylindrical Molds" (ASTM C 8736.4) para poder llevar una correcta correlación de las pruebas del sistema plástico.[17].

TABLA I.RESISTENCIA DE LA MADERA.

Esfuerzo	**Resistencia de los materiales**
Compresión	60.00 kg/cm².
Flexión por impacto	80.00 kg
Tensión	65.00 kg
Módulo de elasticidad	85 000.00 kg/cm².

Resistencia a diferentes tensiones de la madera

Posteriormente al llenado de los cilindros tanto de acero como de plástico, nos encontramos con uno de los primero inconvenientes al tener moldes con facilidad de maleabilidad, estós al dejarse expuestos a temperatura ambiente y algunos llegaron a presentar una ligera deformación que presenta una conducta poco productiva para el proceso de desmolde para el proceso de curado de los mismos, de acuerdo a lo mostrado en la tabla 2 podemos observar que la sección del material es la óptima para hacer este tipo de sistemas de encofrados temporales[18].

TABLA II. MATERIALES TERMOPLÁSTICOS Y TERMOESTABLES CON

	Densidad	Resistencia a la tracción	Módulo de flexión	Alargamiento la rotura
Material	(kg/m^3)	(MN/m^2)	(GN/m^2)	%
ABS (alto impacto)	1040.00	38.00	2200.00	8.00
PET	1190.00	25.00	1300.00	60.00

IV. RESULTADOS

La determinación de resultados se obtuvieron de acuerdo a los cilindros ensayados en el laboratorio de suelos, estos cilindros fueron creados con dos tipos de plástico con los que existen, el cual son de dos tipos, que son de número 7 y número 3. Los cilindros fueron ensayados en la máquina universal para determinar si los cilindros de plástico, pueden afectar a la resistencia del concreto con respecto a un cilindros de acero, con lo cual se obtuvieron los siguientes resultados.

Para el primer cilindro, fue hecho con el plástico número 7, al realizar la mezcla de concreto y vaciar el mismo dentro de este cilindro de plástico, observamos que el cilindro no tuvo deformaciones por el volumen del peso como se observa en la figura 2.



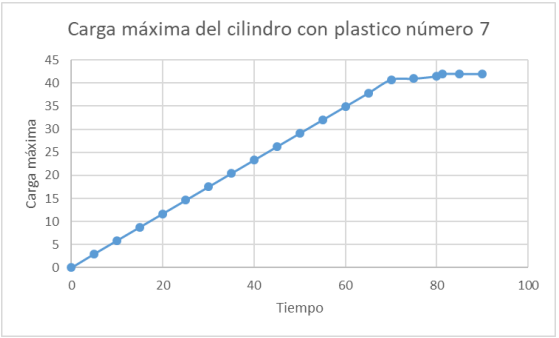
Figura 2. Colado de concreto en cimbra de plástico número 7.

Para obtener su resistencia al máximo, se esperan 27 días después de su colado, curado y revisando la cimbra al ver si no hay un desperfecto, para después descimbrar el plástico y realizar el ensayo del cilindro de concreto para determinar su resistencia como se observa en la figura 3.



Figura 3. Prueba de resistencia del cilindro con cimbra del número 7.

La carga máxima que se obtuvo en la maquina universal fue de: 41.96 KN, por lo que se tardó 81.3 segundos para llegar a su máxima carga y terminar rompiéndose como se observa en la gráfica 1.



Gráfica 1. Relación entre tiempo y su carga máxima cilindro en plastico numero 7.

El segundo cilindro se realizó con cimbra de plástico del número 1, utilizando una botella de refresco retornable, al igual que el cilindro anterior, se observador si éste posee deformaciones por el volumen vertido del concreto en la cimbra, por lo en este caso fue positivo ya que se puede apreciar en la figura 4 como en la parte inferior de la cimbra se puede apreciar que se expandieron los lados de la misma cimbra pero el concreto no se salió de la cimbra.



Figura 4. Colado del concreto en cimbra de plástico del número 1

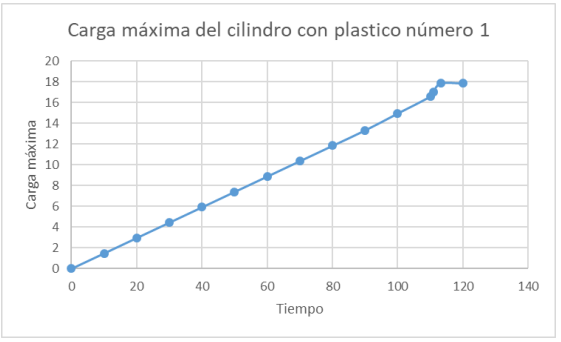
Después de 27 días de curado esto para tener su máxima resistencia, se decimbro y se ensayo en la máquina universal como se muestra en la figura para determinar la resistencia que se obtuvo con el concreto siendo el mismo concreto en ambos cilindro y notar las diferencias que existen en ello.

Para seguir después se ensaya el cilindro de concreto como se observa en la figura 5 donde muestran un poco la deformaciones que se hicieron en el concreto.



Figura 5. Prueba de resistencia del segundo cilindro con cimbra de plástico número 1.

La carga máxima de este cilindro en la máquina universal es de 17.86 KN, esto en un lapso de 113,2 segundos, llegando hasta los 120 segundos manteniéndose y romperse este comportamiento se puede observar en la gráfica 2.



Gráfica 2. Relación entre tiempo y su carga máxima en cilindro de plástico número 1.

Para esta prueba de las cargas máximas en los cilindros se pueden tomar distintos valores del por que se obtuvieron diferencias en las cargas máximas, una de ellas es el claro y las esbeltez del cilindro, como se observó, la diferencia de estos cilindros fue 23.05 KN.

V. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El mundo de la construcción es un campo de trabajo que evoluciona con el paso del tiempo, y con él los encofrados avanzan al mismo ritmo. El plástico es uno de los materiales en los que se debe profundizar, pues es bien sabido que se utilizan miles de toneladas en el mundo cada año, disponiendo de una amplia gama de polímeros junto con sus aleaciones y combinaciones para desarrollar formas que mejoren y economicen el proceso de encofrado en las construcciones.

Para el diseño de nuestra pieza hemos utilizado el ABS por sus propiedades de dureza, su facilidad de moldeo, el diseño de este encofrado fue elaborado para mejorar y controlar la tala excesiva de árboles, teniendo como objetivo principal reducir al 50% el uso de madera para crear cimbras, logrando controlar las características del concreto que contendrá.

En cuanto a la construcción, optamos por elaborarla mediante la morfología que ya

se conoce en la construcción y con la que se pueden generar más encofrados.
Como punto a destacar debemos hacer hincapié en que cumple con los estándares solicitados para cilindros de concreto a pesar de que el medio se nos presentan situaciones con el desmoldante y en algunos casos adherencia por parte de algunos de los aditivos utilizados en el proceso de curado del concreto.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] A. Sehén. "Cimbras de plástico ensamblables, diseño de piezas de plástico para cimbras. " UNAM (2014) Recuperado de:http://132.248.9.195/ptd2014/enero/0708114/0708114.pdf

[2] Facultad de Ingeniería Civil de ITÜ, Departamento de Ingeniería Civil Maslak, 34469, Estambul Junio, (2018)

[3] Resinex "Acrilonitrilo butadieno estireno (ABS)" (2018) Obtenido de: https://drive.google.com/drive/folders/1jqKojKXqMgy6GKHAR6GlUzsI7oOeXl-5?hl=es

[4] A Honciuc,. "Role of Surface Energy of Nanoparticle Stabilizers in the Synthesis of Microspheres via Pickering Emulsion Polymerization". MDPI. (2022) Recuperado el 20 de marzo de 2022, de https://www.mdpi.com/2079-4991/12/6/995/htm#app1-nanomaterials-12-00995

[5] Sistema Nacional de Información Ambiental y de Recursos Naturales (SEMARNAT). "Semarnat Aprovechamiento de la vida terrestre" (2017)Recuperado de https://paot.org.mx/centro/ine-semarnat/informe02/estadisticas_2000/informe_2000/07_Aprovechamiento/7.1_Recursos/index.htm

[6] Sistema Nacional de Información Ambiental y de Recursos Naturales (SEMARNAT), "Informe del Medio Ambiente" (2018) Obtenido de https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe18/tema/cap2.html

[7] A. Hernández , "Montajes de encofrados plásticos, diseño de piezas plásticas para encofrados",(2014) Universidad Autónoma de México (UNAM).

[8] Consejo Civil Mexicano para la Silvicultura Sostenible (CCMSS, C.) . "La producción forestal en México a través del tiempo: avances y retrocesos. Consejo Civil Mexicano para la Sivilcultura Sotenible"(2021)Obtenidode dehttps://www.ccmss.org.mx/la-produccion-forestal-en-mexico-a-lo-largo-del-tiempo-avances-y- retrocesos.

[9] México, Cámara Mexicana de la Industria de la Construcción "Diagnóstico del manejo actual de los residuos de la construcción y demoliciónenMéxico"(2017)Recuperado: https://www.cmic.org.mx/comisiones/Sectoriales/medioambiente/Flayer/PM%20RCD%20Completo. pdf.

[10] D.Infante "Cimbra plástica ensamblable, diseño de piezas plásticas para cimbra" (2014)(Memoriaa Maestría, Universidad NacionalAutónomadeMéxico)Obtenido dehttp://www.ptolomeo.unam.mx:8080/jspui/bitstream/132.248.52.10 0/6996/1/Tesis.pdf.

[11] M. Torres "Estudio de tendencias y perspectivas del sector forestal en América Latina al año 2020" (2020) Obtenido de: https://www.fao.org/3/j2215s/j2215s08.htm#TopOfPage

[12] Constructor Civil, "Uso de la madera en la construcción". (2011) Recueprado de : https://www.elconstructorcivil.com/2011/02/uso-de-la-madera-en-la-con

struccion.html
[13] IHS Markit. "Resinas de acrilonitrilo-butadieno-estireno" (ABS). Consultado en fromChemicalEconomicsHandbook:" (2017). https://www.ihs.com/products/acrylonitrile-butadiene-styrene- chemical-economics-handbook.html.
[14] C. S. Chern, "Mecanismos y cinética de la polimerización en emulsión" (2006).ScienceDirect.Recuperado de.https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.02.001
[15] Cámara Mexicana de la Industria de la Construcción. "Plan de manejo de residuos de la construcción y la demolición". (2014). https://www.cmic.org.mx/comisiones/Sectoriales/medioambiente/Flayer/PM%20RCD%20Completo.pdf.
[16] S. Sourcing. " Estimador de precios de moldes de inyección - Coste de China. de Shanghai Sourcing"(2010)Obtenido deweb:http://www.sourcing-cn.com/moldcalc_input.asp#show
[17] Norma UNE-EN 12812:2008 define los requisitos de comportamiento y diseño general de las cimbras.
[18] REQUISITOS DE REGLAMENTO PARA CONCRETO ESTRUCTURAL (ACI 318S-05) Y COMENTARIO (ACI 318SR-05) https://www.oaxaca.gob.mx/sinfra/wp-content/uploads/sites/14/2016/02/ACI_318_2005.pdf
[19] Hurd, M. K., and ACI Committee 347, Formwork for Concrete, SP-4, 5th Edition, American Concrete Institute, Farmington Hills, MI, 1989, 475 pp.
[20] ACI Committee 347, “Guide to Formwork for Concrete (ACI 347R-94),” American Concrete Institute, Farmington Hills, MI, 1994, 33 pp. Also ACI Manual of Concrete Practice

Robot hexápodo para misiones de búsqueda y rescate en estructuras colapsadas.

D. A. Zamora-Camacho, P. D. Gómez-Barrales, B. Molina-Espinoza, T. L. Rangel-Ramírez, G. E. Mejía-Hernández, C. G. Flores-Hernández, M. B. Ortuño-López*.
Tecnológico Nacional de México Campus Querétaro.

Autor de correspondencia: **monica.ol@queretaro.tecnm.mx

Resumen

El presente proyecto se enfoca en el diseño y construcción de un robot hexápodo como herramienta de apoyo en misiones de búsqueda y rescate de víctimas atrapadas entre escombros causados por estructuras colapsadas, derivadas de siniestros. Los protocolos convencionales de las misiones de búsqueda y rescate en zonas urbanas, tienen un riesgo inherente para las vidas humanas y/o caninas, ya que la tecnología de apoyo con que se cuenta todavía es limitada. Al implementar robots en los procedimientos de búsqueda, los rescatistas urbanos se verán en la posibilidad de incrementar las cifras de rescates exitosos, minimizar riesgos humanos por lesiones y/o muertes, además de administrar de una manera más eficaz el tiempo para realizar otras tareas importantes. Para la construcción del prototipo de robot hexápodo rescatista, se diseñó un modelo, se fabricaron piezas de ensamble por manufactura aditiva, se programó el hardware con una *Raspberry Pi* en el lenguaje de programación *Python*. Se creó una *GUI* para tener el control y la salida de datos para el usuario.

Palabras Clave: Robot hexápodo, estructuras colapsadas, Raspberry Pi, Python, PWM, GPIO

Abstract

This article describes the construction of a hexapod robot whose purpose is to be used as a support system for urban search and rescue missions and facilitate victim location and identification under structural debris caused by natural disasters or catastrophes. Often, human and canine abilities are depended on to complete most urban search and rescue missions; therefore, a great amount of time is spent to successfully extract victims. Currently, there is little to no technology used in these types of situations; consequently, it can put trapped victims, rescuers, and rescue animals at risk, including injuries or even fatalities. By implementing USAR robots in these types of missions, rescuers can extract more people, decrease deaths and injuries, and efficiently manage time for other crucial tasks at hand. During this first phase, a Raspberry Pi 4B was used to program all of the hardware components using Python. Also, a GUI was created to have data outputs, inputs, and control from the user. Finally, the assembly parts were manufactured and put together by additive manufacturing.

Keywords: Hexapod robot, collapsed structures, Raspberry Pi, Python, PWM, GPIO

Introducción

Como bien es sabido, el planeta tierra se encuentra expuesto a diferentes fenómenos naturales que forman parte de los procesos naturales del planeta pero que, pueden poner en riesgo la seguridad humana. Los desastres naturales son fenómenos naturales que representan un daño a la infraestructura y asentamientos humanos, estos pueden ser previsibles o imprevisibles (Romero, G., & Maskrey, A.,1993), se puede pensar en huracanes, inundaciones, tornados, erupciones volcánicas, terremotos entre otros. Con el cambio climático siendo un factor presente desde hace ya varias décadas, existe evidencia de que esta afectación al equilibrio climático ha incrementado tanto la intensidad como la frecuencia de desastres naturales alrededor del mundo (Guevara S. A. E., Pulido L. J. A. ,2010). La Ciudad de México resulta un ejemplo

de gran relevancia para evidenciar la grave situación de vulnerabilidad a la que la mayoría de la población se encuentra expuesta, la fecha del 19 de septiembre recuerda a un hecho que ganó fama al ser el mayor desastre en la historia de la Ciudad de México (Nájar, A.,2017), cuando un sismo con una magnitud de 8.1 devastó la zona centro de la ciudad y fue causante de miles de muertes. Según el servicio de Sismología Nacional de México, tan sólo en los días comprendidos entre el 14 y el 16 de septiembre del presente año, se reportaron 86 sismos a lo largo de la república Mexicana, en estados como Veracruz, Oaxaca, Guerrero, Jalisco, entre otros. A pesar de lo antes mencionado, estos sismos no presentaron daños a la población, pero sí que es verdad la existencia de un peligro latente.

Datos geográficos ubican a la República Mexicana en una de las regiones sísmicamente más activas del mundo, en el área conocida como el Cinturón Circumpacífico (Cedillo, J. Á., Sánchez, T. Á., Sandoval, R. J., Gutiérrez, J. S., & Vega, A. N. ,2019). Es por ello que, resulta oportuno considerar las estadísticas actuales para comenzar a desarrollar herramientas que permitan al ser humano aumentar las posibilidades de supervivencia así como crear instrumentos que puedan facilitar operaciones de rescate y apoyo para casos de desastres naturales.

Ante una situación de desastre natural, lo primordial siempre será preservar la vida humana, sin embargo, resulta complicado realizar operaciones de rescate en desastres naturales al presentar un reto para los sentidos humanos como lo es la vista, además de suponer un riesgo para la integridad física de los rescatistas al verse inmersos en escenarios colapsados, por ejemplo. Los espacios disponibles para el acceso a estructuras colapsadas, en la mayoría de los caso son muy restringidos, debido a esto, desde hace varios años el desarrollo de dispositivos como los robots de rescate ha tomado gran relevancia, presentando mejoras cada vez más significativas como la incorporación de cámaras de video, sensores de calor y otros signos.

En el presente trabajo se diseñó y construyó un prototipo de robot hexápodo con una estructura física desarrollada en PLA por impresión 3D, y programado en Python con la computadora de placa única Raspberry Pi junto con la creación de una interfaz gráfica para su control, una tecnología orientada al apoyo en misiones de búsqueda y rescate de personas atrapadas en estructuras colapsadas.

Metodología

Para la construcción del robot hexápodo se requieren de componentes básicos que le permitirán desarrollar sus funciones de manera óptima garantizando su aplicación. En las siguientes secciones se describen estos componentes a detalle.

Hardware

Raspberry Pi B4

El principal componente electrónico del hardware del robot es una computadora de placa única, la Raspberry Pi B4 con 8 gb de ROM. Una raspberry pi es simplemente una computadora de 55.88 (mm) x 86.36 (mm) x 15.24 (mm) que se ejecuta en un sistema operativo basado en Linux como Raspbian o Ubuntu, lo que significa que es un sistema operativo programable. En este caso, se optó por usar su sistema operativo predeterminado, Raspbian, ya que se ejecuta de manera más rápida y con mayor confiabilidad. Estas computadoras de una sola placa se pueden alimentar con una fuente de alimentación de 5 V a través de USB C y están equipadas con una conexión wifi de 2.4 GHz y 5.0 GHz, por lo que se puede controlar y trabajar con el Pi de forma remota. También incluye cuarenta pines GPIO que permiten conectar otro hardware como sensores, motores u otras placas de conexión.

Motores y Drivers

En total, se implementaron seis micromotorreductores de metal (uno para cada pata) en el hardware del robot. Estos motores DC de 100 RPM y 36 mm pueden tomar hasta 12 V y para

poder controlarlos con la Raspberry Pi necesitan estar conectados a controladores de motor DC.

Los controladores seleccionados para este proyecto fueron los controladores de motor de CC MX1616 que tienen un tamaño de 25 x 21 mm y pueden alimentarse desde 2 V hasta 10 V con una corriente máxima de 2.5 A. Dado que la Raspberry Pi no puede suministrar ese tipo de voltaje, los controladores junto con los motores se alimentan por separado con una batería LiPo de 7.4 V y 1500 mAh a través de una conexión XT60 y un interruptor para apagar y encender los controladores. En total se utilizaron tres drivers, uno por cada dos motores. Los controladores también incluyen cuatro pines (IN1, IN2, IN3, IN4) que se conectan directamente a los pines GPIO de la Raspberry Pi y al circuito integrado en el medio. La forma en que funcionan estos controladores es que su circuito en forma de H está compuesto por cuatro interruptores que permiten que la fuente de alimentación del motor cambie sus polos, por lo tanto, cambia la dirección de giro del motor. Por otro lado, la velocidad del motor se controla a través de señales de modulación de ancho de pulso (PWM) que se envían desde la Raspberry Pi y pasan por los pines IN, cuanto más ancho sea el pulso, más rápido girará el motor y viceversa. Los motores, el interruptor, la conexión XT60 y los controladores se soldaron a sus terminales correspondientes. Los pines GPIO utilizados para los pines IN fueron: 4, 17, 10, 9, 11, 0, 19, 26, 22, 27, 5 y 6.

Cámara

La OV5647 es una cámara de placa única de 1080p y 5 MP que se utilizó para ayudar visualmente al operador del robot mientras se mueva y para ayudar a observar qué hay debajo de los escombros. Esto se conectó directamente al puerto de la cámara de la Raspberry Pi mediante un cable plano que venía incluido con la cámara.

GPS

Para conocer la ubicación del robot, se instaló la placa Ultimate GPS Breakout de Adafruit en el circuito del robot. Esta placa GPS es capaz de leer datos como latitud, longitud, satélites conectados, altitud, velocidad, ángulo de seguimiento, dilución horizontal y geoide de altura. En total el módulo tiene nueve terminales pero para la Raspberry Pi solo se usaron cuatro (VIN, GND, RX, TX). El pin VIN se conectó al pin de salida de 3,3 V de la Raspberry Pi y el pin GND a uno de los pines de tierra de la Pi. Luego, el pin RX de la placa al pin TX del Pi y el pin TX de la placa al pin RX del Pi. Estos pines se utilizan como comunicación en serie entre la Pi y la placa GPS. El pin RX se usa para recibir datos y el pin TX se usa para transmitirlos.

Sensor Giroscopio

La última pieza de hardware y sensor instalada en el robot fue un módulo de giroscopio y acelerómetro conocido como MPU6050. Este módulo es capaz de medir la orientación y la aceleración en grados alrededor de sus tres ejes (x,y,z). El sensor tiene un total de ocho pines, pero al igual que el GPS, solo se usaron cuatro para este proyecto. Primero, el VCC que va a 5V en el Pi y GND que va a uno de los pines de tierra en el Pi. El pin SCL se conectó al pin SCL del Pi (GPIO 3) y el pin SDA se conectó al pin SDA del Pi (GPIO 2). Estos dos pines se conocen como pines I2C y su objetivo principal es utilizar también la comunicación en serie para recibir y transferir datos a otros módulos o sensores.

Programación

Toda la programación se realizó en Thonny IDE, un IDE preinstalado en Raspberry Pi que permite a desarrolladores codificar en el lenguaje de programación Python.

En la primera fase de programación, los motores fueron prioridad. Se creó una librería local en el Pi donde su único propósito era mover los motores enviando señales desde la Raspberry Pi a los drivers. Para cambiar la dirección de giro del motor, se envían señales HIGH y LOW a los pines IN, así como señales PWM de 0 a 100 bajo la variable 'speed'. Se crearon dos funciones, una para avance y otra para retroceso. La primera función mueve los motores A, C y E al mismo tiempo, mientras que la

segunda función mueve simultáneamente los motores B, D y F. Ambas funciones usan dos parámetros de entrada (velocidad y tiempo). Un usuario puede ingresar un valor de velocidad de 0 a 1 o de 0 a 100 y puede ser negativo o positivo. Cuanto mayor sea el valor, más rápido girará el motor y si el valor es positivo, se crea un movimiento hacia adelante y viceversa. El parámetro tiempo es la duración, en segundos, que el motor girará, por ejemplo, si el tiempo es igual a cero, el motor no girará en absoluto, pero si el tiempo es igual a 0.5 segundos, el motor girará durante ese tiempo.

Durante esta misma fase, se instalaron las bibliotecas OpenCV y Pygame en el Pi. OpenCV permite el uso de cámaras Pi como la OV5647 para este proyecto. En un archivo separado, se creó una biblioteca local usando bibliotecas de Pygame. Pygame permite a los desarrolladores crear videojuegos en Python, pero en este caso se usó para controlar los motores usando las teclas de flecha de un teclado. En la misma biblioteca local se hizo una función de control de teclado

Finalmente, se escribió el programa principal mediante la programación de la función de control del teclado y con declaraciones if-else, las teclas de flecha controlan el movimiento hacia adelante y hacia atrás del motor. Luego, un código OpenCV más pequeño permitió que la Pi abriera una ventana donde se transmitía video en vivo de la cámara. Para que ambos procesos funcionaran simultáneamente, se crearon dos hilos. Una vez que se ejecutaba el programa, aparecían dos ventanas, una para pygame y otra para la transmisión de la cámara. Para controlar los motores era necesario hacer clic en la ventana de pygame y presionar las teclas de flecha. En general, esto no resultó muy eficiente, por lo que se programó una GUI.

Debido al hecho de que era ineficiente tener dos ventanas separadas cuando se ejecutaba el código, se programó una GUI para tener todos los datos de los sensores, control y video en vivo en un solo lugar o ventana. Esto se logró mediante el uso de las librerías de Tkinter que permiten programar widgets como botones, controles deslizantes, ventanas, etiquetas, etc. Los primeros botones que se programaron fueron los botones de dirección (Adelante, Atrás, Izquierda y Derecha). Mediante el uso de sentencias if-else y la vinculación de los botones a las funciones del motor, permite al usuario controlar la dirección en la que se mueve el robot; aún así, el control del teclado también es una opción. A continuación, se creó un control deslizante para controlar la velocidad del motor. El valor varía de 0.01 a 1. En el código, estos valores se guardan en una variable en el control deslizante, esta variable luego se usa como parámetro de velocidad en las funciones del motor, por lo que la velocidad del motor depende de la entrada del usuario. Después, se programaron una etiqueta/ventana y dos botones en la GUI para el metraje de la cámara. Un botón se usa para iniciar el video y el otro se usa para finalizar la transmisión. Cuando el usuario presiona el botón 'iniciar video', aparecerá una ventana con el metraje en vivo de la cámara en el medio de la GUI; por otro lado, el botón 'finalizar video' le permite al usuario congelar la transmisión. Finalmente, las salidas de datos de los sensores se crearon utilizando etiquetas y variables. Para cada dato, se creó una función donde el valor de salida se almacenaría en una variable y se usaría en un widget de etiqueta para la GUI. En el lado superior derecho de la GUI, el usuario podrá observar los siguientes datos: temperatura, orientación, aceleración, conexión satelital, latitud y longitud, velocidad, altitud y ángulo de seguimiento.

Desarrollo del chasis-cubierta del robot hexápodo

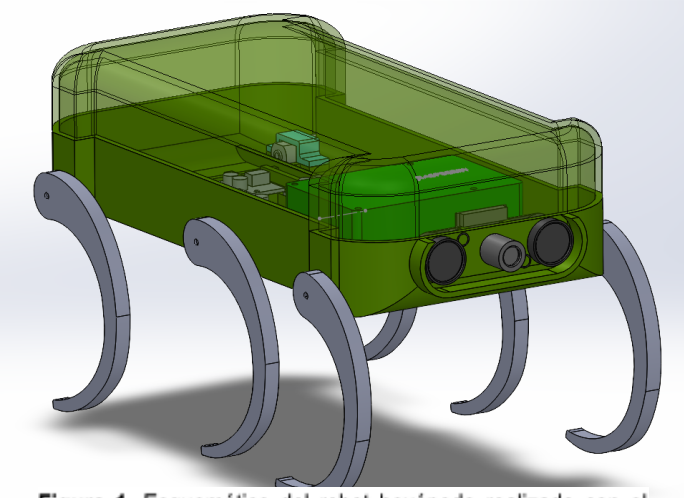


Figura 1. Esquemático del robot hexápodo realizado con el software SolidWorks. Fuente: elaboración propia.

Modelo 3D robot Hexapodo

La figura 1 nos muestra el resultado del proceso diseño de ingeniería mecánica partiendo del desarrollo electrónico, es decir, una vez planteado y definido el sistema de control electrónico, se procedió a diseñar el robot entorno a todos los elementos electrónicos empleados, considerando que el robot deberá mantenerse en dimensiones compactas (para el acceso a escenarios de desastres).

Una vez definida la parte de control (Raspberry Pi) y los micromotorreductores, se modelaron en el software de Solidworks, con la finalidad de poder generar un ensamble virtual de la Raspberry Pi y los micromotorreductores y así poder plantear diversas opciones de la plataforma-chasis, buscando obtener la mínima área de instalación (Layout), con esa configuración óptima, se procedió al desarrollo de los diámetros de las patas tipo "C" con la consideración de no generar colisiones de las patas durante el movimiento de ellas, una vez desarrolladas las patas tipo "C", se diseñó la última configuración del chasis, con sus respectivos soportes y bases de fijado para motores, controladores y drivers.

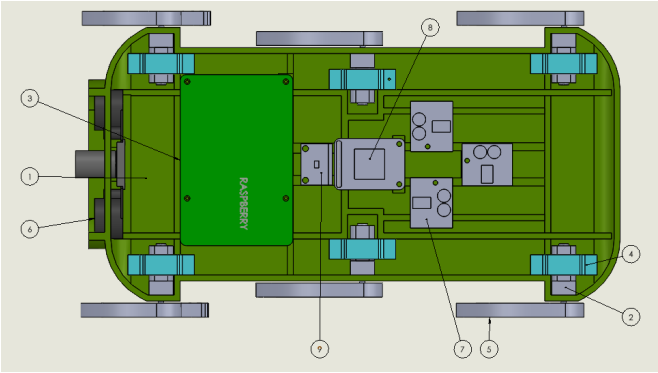


Figura 2. Esquema del chasis con componentes instalados. Fuente: elaboración propia.

Con el controlador principal Modelado y ensamblaje en el chasis en conjunto con drivers de control y micromotorreductores, se procedió a modelar en 3D la cámara de visión y sus leds de respaldo, se instalaron el la parte frontal del chasis con la intención de mantener el balanceo del chasis con todos los componentes durante el movimiento.

Para la definición final del chasis se considera un espesor de 3mm en cama baja (plataforma de layout), así como en paredes laterales. Se diseñan rieles longitudinales de 5 mm de espesor a lo largo del chasis para aumentar la resistencia de la plataforma y evitar la torsión y deformación durante su operación y movimiento del robot. Los micromotorreductores se encuentran fijos a la plataforma mediante guía de chasis y bases soporte que limita su movimiento estructural al 100%, por cuestiones de seguridad los demás componentes se encuentran fijos al chasis respetando las opciones de fijación propuestas por el fabricante. Así en caso de una volcadura o giro del robot, los elementos no generan un desbalance del vehículo y posterior atasque en la zona de operación.

Para la elaboración física del robot, se emplearon técnicas de manufactura aditiva mediante la impresión de 3D con filamento. Se imprimió el chasis con filamento PLA en cobertura- relleno de 100% con la finalidad de mantener la rigidez del robot, las patas tipo "C" de igual manera se imprimieron al 100% de relleno, con temperatura de impresión controlada tanto en boquilla como en camara de impresión. Finalmente la cubierta del chasis se imprimió en un 80% de relleno.

N.° DE ELEMENTO	N.° DE PIEZA	DESCRIPCIÓN	CANTIDAD
1	chasis 04		1
2	Micromotorreductor		6
3	RASPBERRY		1
4	Chumacera motor		6
5	Pata		6
6	Camara y Leds		1
7	Driver mini		3
8	gps		1
9	giroscopip		1

Tabla 1. Listado de elementos. Fuente: elaboración propia.

Resultados

Circuito Electrónico

Se creó un circuito electrónico virtual en Fritzing para ayudar en la construcción física en sí.

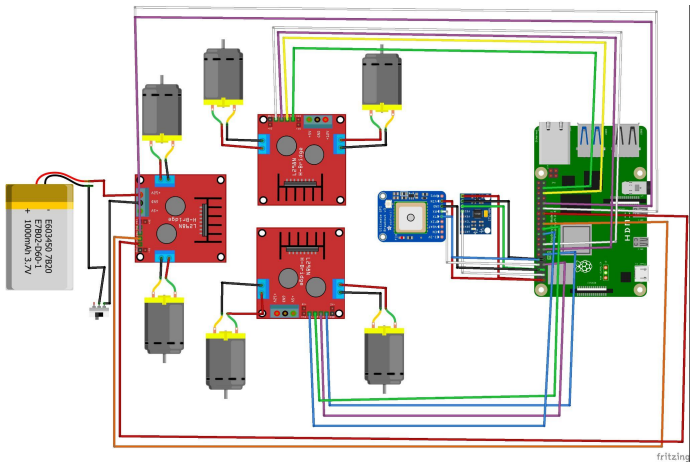


Figura 3. Circuito de protoboard dibujado en Fritzing para mostrar las conexiones de los componentes.: elaboración propia.

El boceto del circuito creado en Fritzing hizo que la construcción real del circuito fuera mucho más fácil debido al hecho de que era más fácil visualizar dónde estaba conectado cada cable.

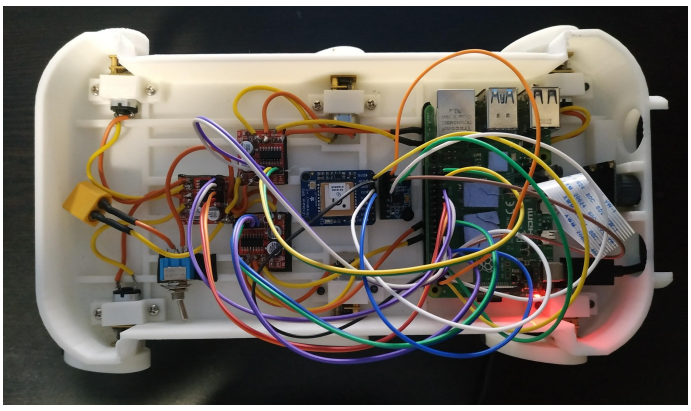


Figura 4. Circuito físico dentro del chasis PLA impreso en 3D.: elaboración propia.

Ejecución del Programa Principal

Al ejecutar el código principal en Thonny IDE en Raspberry Pi, aparece automáticamente una ventana con la GUI en la pantalla. Como se describe en la sección anterior del artículo, hay cuatro botones en la esquina inferior derecha para control direccional, un control deslizante para la velocidad del motor, dos botones para transmisión de video y salidas de datos de los sensores.

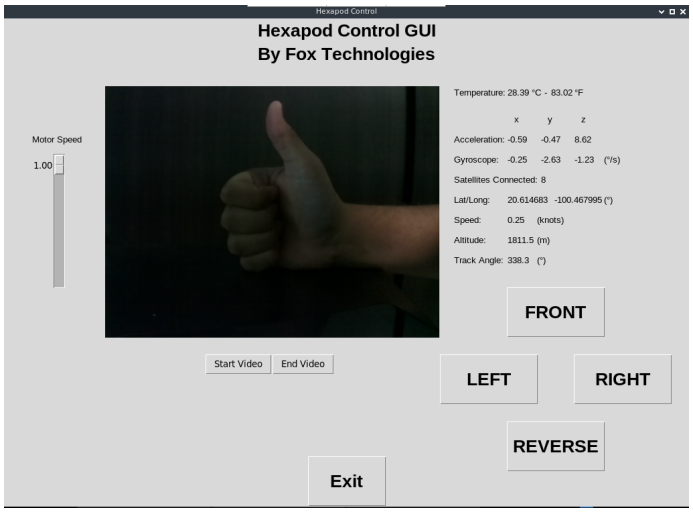


Figura 5. Ejecución del código principal en Thonny IDE en Raspberry Pi.: elaboración propia.

Los motores presentan una respuesta adecuada después de probar los botones de control en la GUI, así como los ajustes de velocidad correctos desde el control deslizante.

El video de salida también es claro con los botones de video de inicio y fin de video en funcionamiento. Al ejecutar el código siempre es necesario presionar el botón de inicio de vídeo para inicializar la transmisión ya que no fue programado para hacerlo solo. Por otro lado, el botón de finalizar video congela la transmisión, el usuario puede descongelarla haciendo clic nuevamente en Iniciar video.

Los datos del sensor se emitían correctamente y se actualizaban casi cada segundo, aunque algunos de los datos, como la orientación y la aceleración,

pueden ser incorrectos, ya que el sensor del giroscopio debe calibrarse correctamente.

Los procedimientos de prueba de la GUI se han realizado varias veces y, en algunos días, la placa GPS no pudo captar una señal ni conectarse a ningún satélite. Era necesario moverlo casi al exterior o cerca de una ventana para poder captar una señal. La última ejecución que se hizo, el GPS funciona sin errores y pudo conectarse hasta nueve satélites.

Movimiento

A partir de ahora el robot no es capaz de realizar un ciclo de marcha correcto ya que los motores que se utilizaron para el proyecto son motores de corriente continua, es decir, no tienen punto de referencia o no es posible controlar su posición sin un codificador. Aunque es capaz de simular el movimiento de trípode alternativo que se supone que debe realizar donde tres patas se mueven simultáneamente. En la próxima fase del proyecto se está considerando reemplazar estos motores por otros en los que sea posible el control de posición, como motores a pasos.

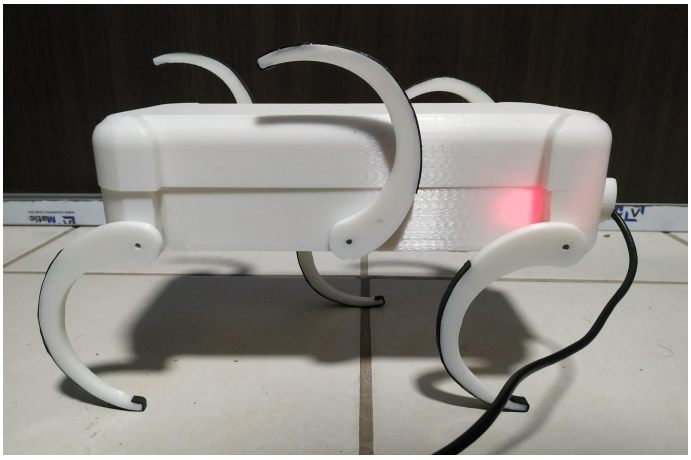


Figura 6. Prototipo de robot imitando el movimiento trípode alterno.: elaboración propia.

Chasis Impreso en 3D

La construcción mecánica o exterior del robot constaba de cuatro partes diferentes: el chasis, la base del motor, las patas y la cubierta superior. Todas estas piezas se imprimieron en 3D con PLA. Todo el interior del chasis encajaba perfectamente y estaba sujeto con tornillos. Pero hubo un error de diseño en la parte exterior del chasis, hubo colisión entre las patas de en medio y las paredes perpendiculares donde hay una hendidura. Para eliminar este error fue necesario lijar un poco estas paredes. Después de algunos intentos y pruebas, las paredes se adelgazaron lo suficiente como para dejar pasar las patas y girar 360 grados completos. Por esta razón será importante rediseñar y reimprimir el chasis y tal vez reimprimir nuevas patas.



Figura 7. Prototipo del robot parado sobre sus seis puntos de apoyo demostrando el cuerpo exterior.: elaboración propia.

Conclusiones

En general, en esta primera fase se diseñó, programó y construyó un primer prototipo del robot hexápodo para misiones de búsqueda y rescate urbano. A lo largo del artículo se puede notar que la adquisición de este prototipo consta de múltiples fases. Primero, era importante definir las características y funciones del robot y de acuerdo a esto era posible determinar qué hardware como sensores, procesadores o módulos utilizar. Después de seleccionar todos los componentes de hardware, llegó el momento de cablearlo todo y luego programar la Raspberry Pi

para hacer que todos los componentes eléctricos funcionen, como los motores, la cámara, el GPS y el giroscopio. Después de ejecutar pruebas de escritorio y asegurarse de que todos los datos de entrada y salida funcionaran, llegó el momento de diseñar la estructura real del robot. La estructura del robot se inspiró en el robot hexápodo RHEX creado por Boston Dynamics. Todos los componentes mecánicos, como el chasis, la cubierta superior, las chumaceras de los motores y las patas, se diseñaron con Solidworks. También se dibujaron los componentes eléctricos para organizarlos mejor y hacer los ajustes necesarios en el chasis. Después de esta fase, estaba listo para imprimir en 3D usando PLA. Finalmente, se ensambló el robot combinando los componentes impresos en 3D con el hardware.

El código principal se ejecutó sin problemas durante los procedimientos de prueba del prototipo. Una ventana con la GUI apareció automáticamente. Los componentes electrónicos físicos no tuvieron problemas para ejecutarse desde los comandos de la GUI. Los datos de los sensores también se estaban actualizando correctamente pero es necesario crear un programa para calibrar el sensor del giroscopio ya que los valores pueden ser incorrectos. La transmisión de video también ha estado funcionando bien y la cámara puede capturar video claro.

Una falla importante en este primer prototipo es el tipo de motores que se seleccionaron. Como se mencionó anteriormente, se utilizaron micromotores de CC. Como no se trata de un vehículo con ruedas sino con patas, es importante controlar la posición o al menos tener un punto de referencia para cada motor. Esto es algo que se analizó, pero podría solucionarse utilizando otros tipos de motores, como motores a pasos o incluso motores de CC, pero con codificadores magnéticos. En general, el robot no puede caminar por completo, pero esta es solo la primera fase y hay errores que corregir y ajustes que hacer. El objetivo a largo plazo es mejorar continuamente el prototipo y utilizar tecnología más inteligente, como una computadora de placa única de Nvidia con un sistema operativo de robot (ROS). Mediante el uso de este tipo de tecnología es posible crear un mapeo 3D utilizando ORB-SLAM y una cámara monocular como la utilizada en esta primera fase. Otro objetivo particular es hacer que el robot sea completamente inalámbrico, más portátil, más pequeño y más compacto para que pueda caber en espacios más reducidos con facilidad. Finalmente, poder utilizar mejores materiales para componentes mecánicos como metales o polímeros fuertes para resistir ambientes difíciles o factores como humedad, altas y bajas temperaturas y terrenos muy irregulares.

Agradecimientos

Al Tecnológico Nacional de México Campus Querétaro, por todas las atenciones y facilidades otorgadas para el desarrollo de este proyecto de investigación. Al Departamento de Metalmecánica a través de jefes y auxiliares del Laboratorio de Materiales.

Al Programa de Nuevos Talentos Científico Tecnológico del Estado de Querétaro, a través de la la responsable de la División de Estudios de Posgrado e Investigación del TecNM Campus Querétaro.

Referencias

1. C. Xin, D. Qiao, S. Hongjie, L. Chunhe and Z. Haikuan, "Design and Implementation of Debris Search and Rescue Robot System Based on Internet of Things," 2018 International Conference on Smart Grid and Electrical Automation (ICSGEA), 2018, pp. 303-307, doi: 10.1109/ICSGEA.2018.00082.
2. Cedillo, J. Á., Sánchez, T. Á., Sandoval, R. J., Gutiérrez, J. S., & Vega, A. N. (2019). Diseño de un robot rescatista para terremotos en México. Research in Computing Science, 148, 31-41
3. de Leon Rivas, J. (2015, September). DEFINICION Y ANALISIS DE LOS MODOS DE MARCHA DE UN ROBOT HEXÁPODO PARA TAREAS DE BÚSQUEDA Y RESCATE.
4. Delda, R. N. M., Basuel, R. B., Hacla, R. P., Martinez, D. W. C., Cabibihan, J. J., & Dizon, J. R. C. (2021). 3D Printing Polymeric Materials for Robots with Embedded Systems. Technologies, 9(4), 82. https://doi.org/10.3390/technologies9040082
5. Gallagher, J. C., Beer, R. D., Espenschied, K. S., & Quinn, R. D. (1996). Application of evolved locomotion controllers to

a hexapod robot. Robotics and Autonomous Systems, 19(1), 95–103. https://doi.org/10.1016/s0921-8890(96)00036-x

6. Gonzalez Pilonieta, J. D., Diaz Bayona, J. L., & Molina Lache, R. M. (2021, November). Desarrollo de un vehículo inteligente autónomo a escala utilizando técnicas de aprendizaje profundo para el servicio de transporte de objetos en entornos hospitalarios y reducción de la interacción humana entre el personal médico y los pacientes. Universidad Autónoma de Bucaramanga. https://repository.unab.edu.co/handle/20.500.12749/15764
7. Guevara Sanginés, A. E., & Lara Pulido, J. A. (2010). Desastres naturales, cambio climático y efectos macroeconómicos: una revisión de la evidencia.
8. Lee, J. Y., An, J., & Chua, C. K. (2017). Fundamentals and applications of 3D printing for novel materials. Applied Materials Today, 7, 120–133. https://doi.org/10.1016/j.apmt.2017.02.004
9. Nájar, A. (2015, septiembre 18). Terremoto de 1985: el devastador sismo que cambió para siempre el rostro de Ciudad de México. BBC. BBC News Mundo.https://www.bbc.com/mundo/noticias/2015/09/150917_mexico_sismo_antes_despues_fotos_an
10. R. Murphy, J. Casper, J. Hyams, M. Micire and B. Minten, "Mobility and sensing demands in USAR," 2000 26th Annual Conference of the IEEE Industrial Electronics Society. IECON 2000. 2000 IEEE International Conference on Industrial Electronics, Control and Instrumentation. 21st Century Technologies, 2000, pp. 138-142 vol.1, doi: 10.1109/IECON.2000.973139.
11. Romero Macas, H. G., & Cueva Castillo, J. P. (2015, March). DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE UN ROBOT HEXÁPODO TIPO RHEX PARA LA EXPLORACIÓN DE AMBIENTES INFLAMABLES CONTROLADO VÍA INALÁMBRICA.
12. Romero, G., & Maskrey, A. (1993). Cómo entender los desastres naturales. Los desastres no son naturales, 6-10.
13. Romero, S. (2021, enero 21). ¿Cómo funciona la escala de Richter? MuyInteresante.es. https://www.muyinteresante.es/ciencia/preguntas-respuestas/como-funciona-la-escala-de-richter-501481801518
14. Sachyani Keneth, E., Kamyshny, A., Totaro, M., Beccai, L., & Magdassi, S. (2020). 3D Printing Materials for Soft Robotics. Advanced Materials, 33(19), 2003387. https://doi.org/10.1002/adma.202003387
15. Tordesillas Torres, J. (2016). Diseño y simulación del sistema de locomoción de un robot hexápodo para tareas de búsqueda y rescate.
16. U. Saranli, M. Buehler and D. E. Koditschek, "Design, modeling and preliminary control of a compliant hexapod robot," Proceedings 2000 ICRA. Millennium Conference. IEEE International Conference on Robotics and Automation. Symposia Proceedings (Cat. No.00CH37065), 2000, pp. 2589-2596 vol.3, doi: 10.1109/ROBOT.2000.846418.
17. X. Duan, W. Chen, S. Yu and J. Liu, "Tripod gaits planning and kinematics analysis of a hexapod robot," 2009 IEEE International Conference on Control and Automation, 2009, pp. 1850-1855, doi: 10.1109/ICCA.2009.5410582.