



# Tomo 03

## *Ciencias Naturales*

Paper	Título	Autores	Primer Autor	Página
CYA152	Caracterización del Extracto Metanólico de <i>Syzygium aromaticum</i> por HPLC-MS	E.L.E. María Guadalupe Aguilar Velázquez Dra. Olga Edith González Lugo Dr. Azahel de Jesús Rangel López Dr. Angel Antonio Vértiz Hernández	Aguilar Velázquez	3.1
CYA142	Remoción de los Compuestos Fenólicos Contenidos en las Vinazas Mezcaleras Empleando Procesos de Coagulación/Floculación y Oxidación Avanzada	I.Q. Judith Alejandra Alferez Ibarra Dr. Luis Armando de la Peña Arellano Dr. Luis Alberto Ordaz Díaz Dr. Sergio Valle Cervantes M.I. Maria Dolores Josefina Rodríguez Rosales	Alferez Ibarra	3.7
CYA051	Componentes Químicos de la Madera de <i>Dendropanax arboreus</i>	M.P.B. Flora Apolinar Hidalgo Dra. Marta Elena Fuentes López	Apolinar Hidalgo	3.13
CYA024	Estudio de la Presencia de Antibióticos Aminoglucósidos por Método Inmunoquímico en Aguas Residuales de Origen Municipal	Dra. Norma Angélica Chávez Vela Dr. Juan Jáuregui Rincón M.C. Gpe. Javier Araiza Arvilla Dra. Iliana Ernestina Medina Ramírez Lic. Biotec. Angelina Lizbeth Montañez Flores	Chávez Vela	3.18
CYA059	Estandarización de los Modelos de Diabetes Mellitus Tipo 1 y Tipo 2 Inducidos con Alozano en Ratones Albinos CD1	p. Q.F.B. Elián García Macedas Dr. en C. Honorio Torres Aguilar Dr. en C. Fernando Mejía Zarate Dr. en C. Francisco Emanuel Velásquez Hernández M. en C. Antonio Canseco Urbieto Dr. en C. Arturo Zapién Martínez Dra. en C. Ivonne Arisbeth Díaz Santiago	García Macedas	3.24
CYA087	Síntesis de $\alpha$ -sililamidas y Evaluación in Vitro de su Actividad Antimicrobiana	Q.F.B. Jonathan Mendoza Guzmán M. en C. Yared Gutiérrez Pinzón Dr. Gilberto Velázquez Juárez Dr. Alfredo Rosas Sánchez Dra. Sara Angélica Cortés Llamas Dra. Elvia Becerra Martínez Dr. José Miguel Velázquez López Dra. Morelia Eunice López Reyes	Mendoza Guzman	3.30

Paper	Título	Autores	Primer Autor	Página
CYA240	Síntesis y Caracterización por RMN de 1H y 13 C de Dos Líquidos Iónicos de Tipo Vinilimidazolio Teniendo como Anión Cl <sup>-</sup> [VImCxC] (x = 4 y 8)	Dra. Consuelo Mendoza Herrera Est. Noé Escamilla González Dra. Laura Orea Flores Dr. J. Antonio Rivera Márquez	Mendoza Herrera	3.36
CYA001	Implementación de una Práctica a Microescala en el Laboratorio de Química Farmacéutica	Dr. Rafael Manuel de Jesús Mex Álvarez Dra. María Magali Guillen Morales Dra. Patricia Margarita Garma Quen Dra. Giselle Guillermo Chuc Br. Roger Enrique Chan Martínez Br. Edwin Román Chulín Canul	Mex Alvarez	3.42
CYA186	Determinación de Vitaminas A, E y D en Carne de Víbora de Cascabel (Crotalus sp) por HPLC.	Dr. J. Ascensión Montalvo González MC. Jorge Rafael Figueroa Morales MC. Isaac Espinosa Santana MC. Tomás Mario Ávalos Ruvalcaba MC. Angélica Barrón Jaime Dr. Luis Gibrán Rodríguez Vega	Montalvo González	3.45
CYA114	Validación de Método por HPLC para la Determinación de la Liberación de Diclofenaco en Microcápsulas de Aloe Vera	Yolanda Guadalupe Moreno Mendoza Dr. Angel Antonio Vértiz Hernández Dra. Olga Edith González Lugo Dr. Azahel de Jesús Rangel López	Moreno Mendoza	3.49
CYA151	Evaluación de Sustratos + Purín de Urtica dioica L. sobre el Crecimiento de Citrus limon, Citrus sinensis y Rosa grandiflora	MITA Alberta San Juan Martínez Dra. Lorena Casanova Pérez TSU Yasmin Silva Reyes M.C Florencia García Alonso	San Juan Martínez	3.55

## Caracterización del Extracto Metanólico de *Syzygium aromaticum* por HPLC-MS

E.L.E. María Guadalupe Aguilar Velázquez<sup>1</sup>, Dra. Olga Edith González Lugo<sup>2</sup>, Dr. Azahel de Jesús Rangel López<sup>3</sup>,  
Dr. Ángel Antonio Vértiz Hernández<sup>4</sup>

**Resumen**— Introducción: *Syzygium aromaticum* comúnmente conocido como clavo de olor, es una especia con propiedades culinarias y medicinales. Tiene una potente actividad antinociceptiva, antiinflamatoria e incluso anestésica; además de ser un buen antibacteriano, debido a sus componentes biológicos. Objetivo: Caracterizar los componentes del extracto metanólico de *Syzygium aromaticum*, mediante HPLC-MS. Metodología: Se prepararon un extracto metanólico por maceración durante 15 días y se analizó por HPLC-MS. Resultados: Se hizo un análisis de las condiciones bajo las cuales se puede hacer el análisis de masas de los elementos contenidos en el extracto. Esto permitió localizar las relaciones masas/cargas que indican la presencia de diferentes compuestos, mismos que presentan diferentes estructuras y acciones terapéuticas. Conclusión: Los compuestos encontrados presentan actividad analgésica, antiinflamatoria, antioxidante, entre otras. La presencia de eugenol fundamenta la eficacia analgésica y antiinflamatoria del extracto metanólico en modelos experimentales de dolor. El eugenol es un candidato con potencial terapéutico.

**Palabras clave**—*Syzygium aromaticum*, HPLC-MS, extractos metanólicos, caracterización, efectos biológicos.

### Introducción

La práctica de la medicina tradicional se basa en el uso terapéutico de las plantas medicinales como sustitutas de los medicamentos alopáticos o en combinación (OMS, 2009). El uso de plantas medicinales como tratamiento alternativo es una práctica que ha aumentado significativamente en los últimos años. En México, se suele recurrir a la fitoterapia para tratar síntomas leves o pasajeros, o como tratamiento preventivo. También puede detectarse el uso de plantas medicinales en dolencias crónicas y de mayor importancia, como la diabetes, la hipertensión, el hipercolesterolemia e incluso el cáncer. El 90% de la población mexicana ha optado por alguna de las 4,500 plantas medicinales de México por lo menos una vez en su vida, entre ellas se encuentra el clavo de olor (*Syzygium aromaticum*).

*Syzygium aromaticum* pertenece a la familia Myrtaceae, es un árbol perenne que llega a crecer entre 10 a 12 m, se cultiva frecuentemente en áreas costeras a altitudes máximas de 200 msnm y florece dos veces al año; los botones florales a medida que van madurando cambian de un color pálido a verde y posteriormente a un color rojo o marrón oscuro, la floración comienza después de 4 años de plantación, la recolección se puede realizar de forma manual o química mediante una fitohormona natural que libera etileno en tejido vegetal procediendo a una maduración precoz (Aguilar, 2013). Por otra parte, las hojas son opuestas, glabras y salpicadas de glándulas sebáceas; los clavos se obtienen de los capullos que se recogen antes de la apertura. Los brotes son marrones de aproximadamente 1-1,5 cm de largo con una forma muy característica, la parte inferior consiste en el tubo cáliz que encierra en su mitad superior a la flor inmadura. (Heinrich, 2017)

Se ha reportado que *S. aromaticum* tiene una potente actividad antinociceptiva, antiinflamatoria e incluso anestésica, además de ser un buen antibacteriano, debido a sus componentes biológicos. El análisis proximal del clavo de olor muestra datos de humedad del 5.4 %, proteínas de 6.3 %, aceite volátil 13.2%, grasas 15.5%, carbohidratos 57.7 % y vitaminas A, B1 y B2 (Pandey, 2016). Además, representa una de las principales fuentes vegetales de compuestos fenólicos como flavonoides, ácidos hidroxibenzoicos, ácidos hidroxicinámicos e hidroxifenilpropanos (Corella Madueño, 2016).

Referente a las características físicas el aceite esencial de *S. aromaticum* tiene un aroma cálido, potente y picante, es amarillo claro con una consistencia fina a media y está compuesto fitoquímicamente por eugenol (70-90 %), acetato de eugenol (hasta un 15%) y  $\beta$ -cariofileno (5-12 %). El principal componente del aceite es el eugenol (4-alil-2-metoxifenol), un derivado fenólico de fórmula química  $C_{10}H_{12}O_2$ , poco soluble en agua y soluble en alcohol con un peso molecular de 164.20 g/mol, estructuralmente es un guayacol con una cadena alil sustituida, es el principal

<sup>1</sup> La E.L.E. María Guadalupe Aguilar Velázquez es estudiante de la Licenciatura en Enfermería de la Unidad Académica Multidisciplinaria Región Altiplano, perteneciente a la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. A308447@alumnos.uaslp.mx

<sup>2</sup> La Dra. Olga Edith González Lugo es Dra. En Ingeniería y Ciencias de Materiales, actualmente es docente en la Unidad Académica Multidisciplinaria Región Altiplano, perteneciente a la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

<sup>3</sup> Dr. Azahel de Jesús Rangel López, es Dr. En ciencias Biomédicas actualmente docente de la Unidad Académica Multidisciplinaria Región Altiplano, perteneciente a la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

<sup>4</sup> Dr. Ángel Antonio Vértiz Hernández es Dr. En ciencias Biomédicas actualmente docente de la Unidad Académica Multidisciplinaria Región Altiplano, perteneciente a la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

responsable de las características antifúngicas y antibacterianas puesto que al contener grupos fenólicos produce una degradación de las proteínas produciendo un daño de las membranas celulares. (González, 2002).

Por otro lado, la cromatografía de líquidos de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (HPLC-MS) es una técnica analítica que implica la separación física de analitos seguida de su detección basada en masas. Aunque relativamente nuevo, su sensibilidad, selectividad y precisión la han convertido en una técnica de elección para detectar cantidades de microgramos o incluso nanogramos de una variedad de analitos que van desde metabolitos de fármacos, pesticidas y adulterantes de alimentos, hasta extractos de productos naturales. (Kailasam, 2021). Por cual, el presente trabajo tiene como objetivo caracterizar los componentes de los extractos metanólico de *Syzygium aromaticum* mediante HPLC-MS.

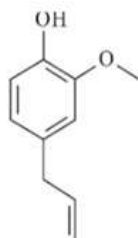


Figura 1. Estructura química del Eugenol (4-alil-2-metoxifenol).  
(González, 2002).

El conocer los componentes nos permite poder aludir a moléculas líder que pudieran aislarse y caracterizar su efecto de manera independiente y constituir una probable molécula farmacológica que pudiera insertarse en la terapéutica. Es necesario de acuerdo con la estrategia de la OMS en el 2014 caracterizar nuevas moléculas de la medicina tradicional con propiedades farmacológicas en virtud de la falla del efecto terapéutico que se asocia a ya muchos medicamentos de la terapia convencional farmacológica.

### Metodología

**Preparación del extracto:** Se pesaron 12.5357 g de hojas y tallos de *S. aromaticum* y se dispusieron en 50 ml de metanol grado HPLC, se mantuvieron en maceración al abrigo de la luz por un lapso de 15 días a temperatura ambiente. Al término de ese periodo el extracto se hizo pasar por un filtro de 25µm de tamaño de poro para su inyección en el sistema de HPLC-MS.

**Análisis mediante HPLC-MS:** Se realizó en el Laboratorio de Género, Salud y Ambiente de la Facultad de Medicina de la U.A.S.L.P. La separación se realizó empleando una columna C-18 (2.1 x 50 mm; tamaño de partícula 1.8 µm; temperatura de 25°C, la fase móvil se compuso de ácido fórmico (0.1%) en agua desionizada mili-Q (fase A) y acetonitrilo (fase B) en gradientes de 0-4 min, 90% A, 4-6 min, 70% A, 6-8 min, 62% A, 8-8.5min, 40% A, 8.5-9.5 min, 90% A. El flujo del equipo fue de 0.4 mL/min, se empleó un volumen de inyección de 2 µL. Las muestras se trataron con longitudes de onda de 255, 275 y 320 nm, el voltaje del capilar fue de 4,500 V, la presión del gas nebulizador (N2) fue de 30 psi. La temperatura del gas de secado fue de 340 °C con un flujo de 13 L/min. El detector empleado fue de tipo QTOF: Fragmentador 175V, Skimmer 65V, Octapolo 750 V. Los datos fueron adquiridos en el modo de ionización positiva. Se obtuvieron los cromatogramas con un rango de masas comprendido de 100 a 1000 m/z.

### Resultados

Durante el análisis de masas del extracto de *Syzygium aromaticum* se obtuvieron 5 picos con tiempos de retención promedio de 0.299, 0.385, 0.775, 0.932, 1.25 minutos. El pico 1 (0.299 minutos) se constituyó de varios componentes en una relación masa carga (m/z), se identificaron como derivado del ácido gálico a 475 m/z y isobiflorina y biflorina a 355 m/z reportado por Fathoni A. et al., 2017, ácido clorogénico e Isómero de ácido clorogénico a 355 m/z y ácido gálico a 171 m/z reportado por Gaspar A. et al 2017, Ácido gálico a 167 m/z reportado por Fathoni A. et al., 2017, Eugenol a 507 m/z y 294 m/z reportadas por Tikunov Y. et al., 2010, isorhamnetina a 280 m/z, ácido elágico a 203 m/z, Kaempferol a 142 m/z y 83 m/z reportadas por Fathoni A. et al., 2017 (Figura 2).

El pico 2 cuyo tiempo de retención fue de 0.385 min, se constituyó de varios componentes en una relación masa carga (m/z), Para el pico con un tiempo de retención de 0.385 min mismo que se constituyó de varios componentes en una relación masa carga (m/z), se identificaron como Derivado del ácido gálico a 479 m/z, isobiflorina y biflorina a 355 m/z, Glucogalina a 331 m/z y Ácido gálico a 167 m/z reportado por Fathoni A. et al., 2017, ácido 3,4,5-tri-O-galloilquínico a 644 m/z reportado por Rummun N. et al., 2021, Eugenol di hexosa-pentosa a 614 m/z reportado por Tikunov Y. et al., 2010, serina peptidasa HtrA a 556 m/z reportado por Kovács J. et al., 2016, MeSA

hexosa-pentosa a 493 m/z reportada por Tikunov Y. et al., 2010, 5,7- dimetil luteolina a 100 m/z reportado por Fathoni A. et al., 2017, Kaempferol a 83 m/z reportada por Fathoni A. et al., 2017 (Figura 3).

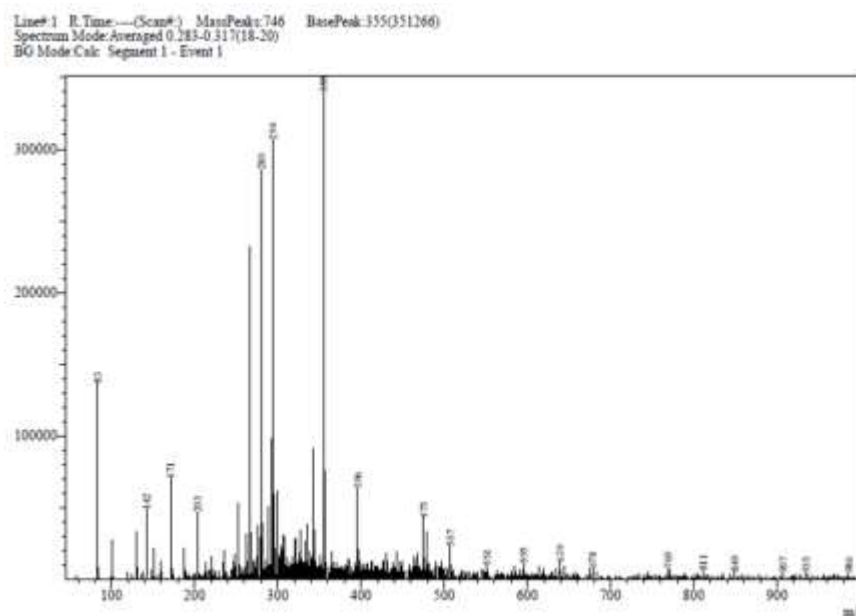


Figura 2. Espectrograma correspondiente al pico 1 del extracto metanólico del clavo (*Syzygium aromaticum*).

Para el pico 3 con un tiempo de retención de 0.775 min mismo que se constituyó de varios componentes en una relación masa carga (m/z), se identificaron como ácido betulínico a 453 m/z reportado por Abdalrahim A. et al 2011, I isobiflorina y biflorina a 355 m/z reportado por Fathoni A. et al., 2017, Etoxigaloil-O-hexahidroxidifenil hexosa a 679 m/z reportada por Rummun N. Et al, 2021, MeSA hexosa-pentosa a 493 m/z reportada por Tikunov Y. et al., 2010, dimetoxiluteolina a 146 m/z reportada por Fathoni A. et al., 2017 (Figura 4).

El pico 4 con un tiempo de retención de 0.932 min mismo que se constituyó de varios componentes en una relación masa carga (m/z) a citar: se identificaron como Ácido gálico derivative a 475 m/z y Ácido elágico a 301 m/z reportado por Gaspar A. et al 2017, Quercetina a 301 m/z reportado por Fathoni A. et al., 2017, criptostrobin a 432 m/z reportado por Sobeh M. et al., 2018, ácido trimetilelágico a 343 m/z reportada por Trifan A. et al., 2021, biflorina a 265 m/z reportada por Fathoni A. et al., 2017, ácido homocítrico a 207 m/z reportado por Rummun N. et al., 2021, dimetoxiluteolina a 146 m/z reportada por Fathoni A. et al., 2017. Para el pico 5 (1.25 min) mismo que se constituyó de varios componentes en una relación masa carga (m/z), se identificaron como Ácido gálico derivative a 475 m/z reportado por Torres-Aguirre et al 2017, 1,6-bis-O-galoil-beta-D-glucosa a 570 m/z reportado por Rummun N. et al., 2021, Kaempferol a 529 m/z reportado por Rummun N. et al., 2021, ácido trimetilelágico a 343 m/z reportado por Trifan A. et al., 2021, Dihexosa a 325 m/z reportada por Tikunov Y. et al., 2010, 5,7- dimetoxiluteolina a 100 m/z reportado por Fathoni A. et al., 2017, Kaempferol a 83 m/z reportada por Fathoni A. et al., 2017.

En la tabla 4 se pueden encontrar las posibles estructuras químicas asociadas a los iones provenientes del extracto metanólico de *Syzygium aromaticum* entre los que se encuentra el eugenol. Los compuestos encontrados están asociados a distintos efectos biológicos como antioxidante, antinociceptivo, antiinflamatorio y anticancerígeno.

El análisis de masas del extracto permitió localizar las relaciones masas/cargas que nos indican la presencia de diferentes compuestos, mismos que presentan diferentes estructuras y acciones biológicas. Así, en el extracto metanólico de *Syzygium aromaticum* se encontraron los siguientes flavonoides: isobiflorina y biflorina a las cuales se atribuye acción antinociceptiva y antiinflamatoria (Fathoni A. et al., 2017); ácido clorogénico, 5,7- dimetil luteolina, isorhamnetina, ácido 3,4,5-tri-O-galloilquínico, serina peptidasa HtrA a los que se les ha documentado una acción antioxidante (Torres-Aguirre G. et al 2017, Fathoni A. et al., 2017, Rummun N. et al., 2021, Kovács J. et al., 2016); ácido betulínico y quercetina compuestos con acción antioxidante y antiinflamatoria (Tikunov Y. et al., 2010; Fathoni A. et al., 2017), ácido homocítrico al que se atribuye acción anticoagulante (Rummun N. et al., 2021); kaempferol, con actividad antioxidante, antiinflamatoria y anticancerígena (Fathoni A. et al., 2017).

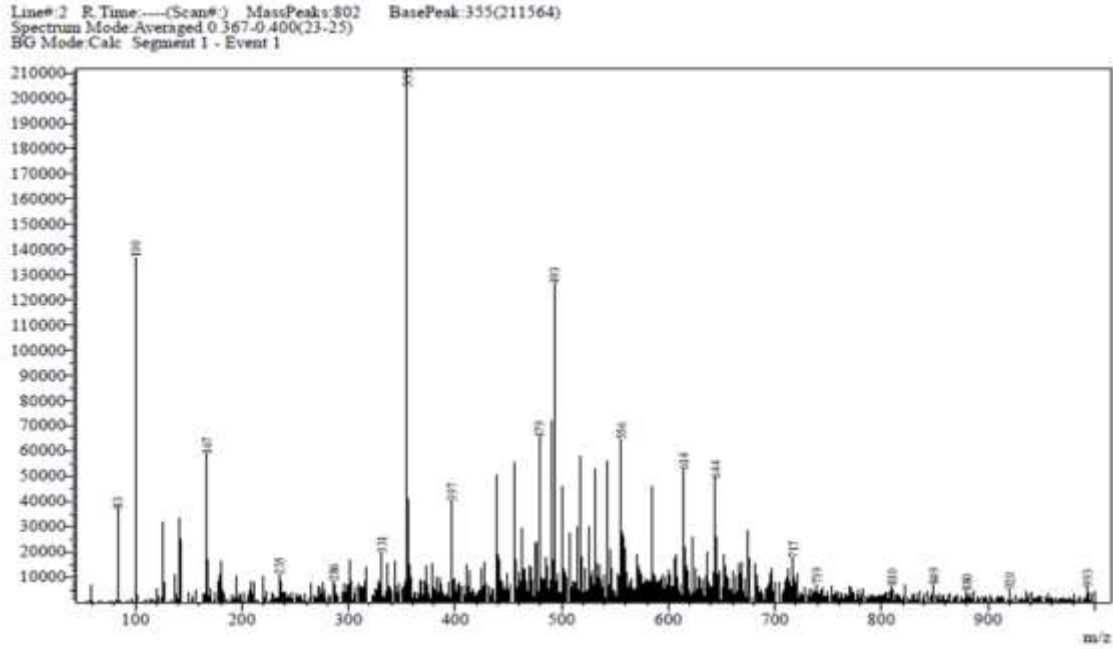


Figura 3. Espectrograma correspondiente al pico 2 del extracto metanólico del clavo (*Syzygium aromaticum*).

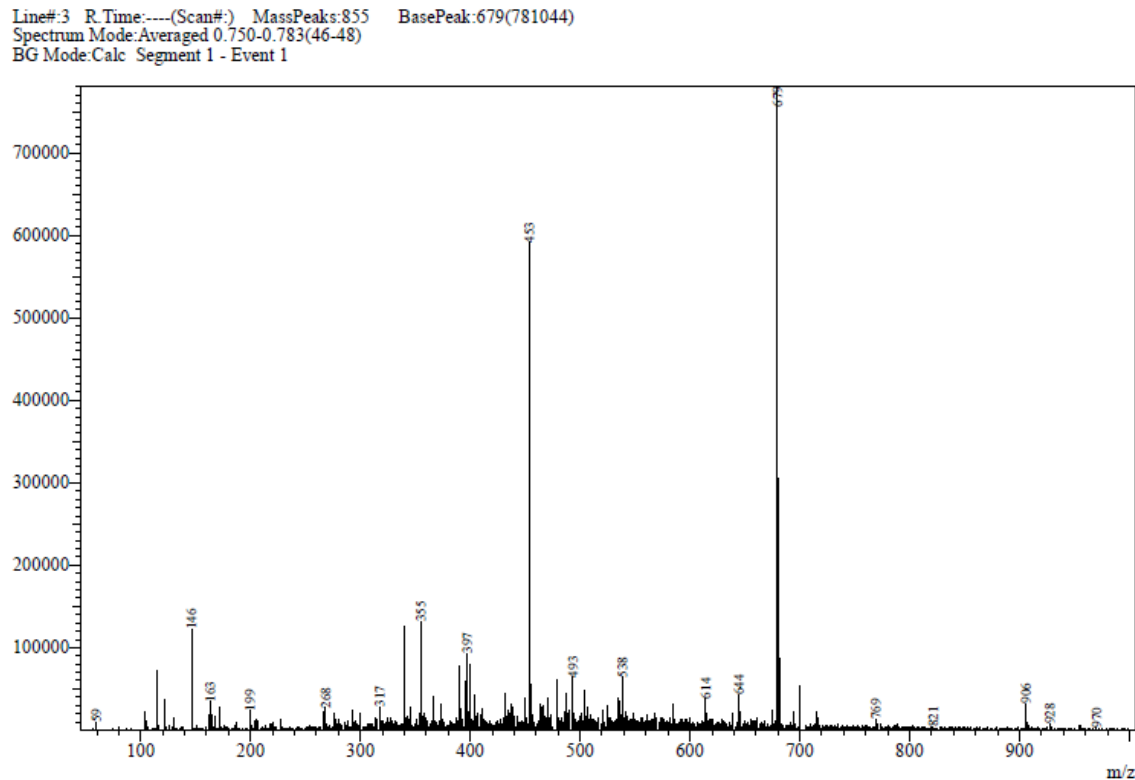
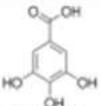
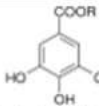
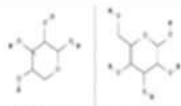
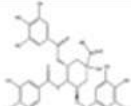
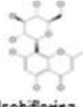
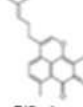
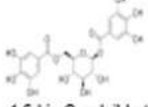
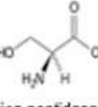
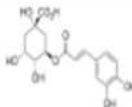
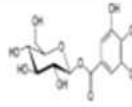
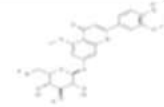
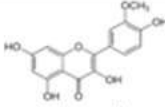
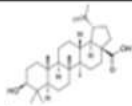
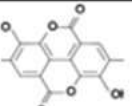
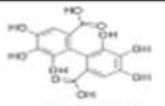
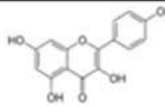
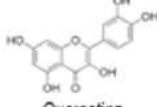
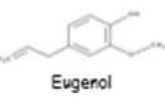
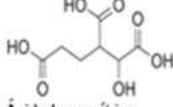
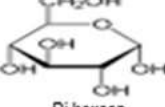


Figura 4: Cromatograma correspondiente al pico 3 del extracto metanólico de *Syzygium aromaticum*.



Tabla 4. Posibles estructuras químicas de compuestos identificados tentativamente en el extracto de *Syzygium aromaticum*.

Syzygium aromaticum				
Relación m/z				
	Ácido Gálico	Derivado del ácido gálico	MeSA hexosa-pentosa	Ácido 3,4,5-tri-O-galloylquinico
	167 y 171	475	491.13	646.10
				
	Isobiflorina	Biflorina	1,6-bis-O-galloyl-beta-D-glucosa	Serina peptidasa HtrA
	355	355 y 265	572.125	555
				
	Ácido clorogénico	Glucogalina	5,7- dimetil luteolina	Isorhamnetina
355	331	101 y 145		
				
Ácido betulínico	Ácido elágico	Eloxigalol-O-hexahidroxidifenilhexosa	Kaempferol	
453	301 y 343.045	679.11	83, 142 y 527.014	
				
Quercetina	Eugenol	Ácido homocitríco	Di hexosa	
301	507, 294 y 614	207.049	323.097	

Entre los taninos se encuentran: el ácido gálico y sus derivados, hexosa-pentosa, dihexosa, glucogalina los cuales presentan acción antioxidante (Torres-Aguirre et al 2017; Fathoni A. et al., 2017, Tikunov Y. et al., 2010); 1,6-bis-O-galloyl-beta-D-glucosa cuya acción predominante es de tipo antibacteriana (Rummun N. et al., 2021), eugenol y sus derivados, a los cuales se les ha documentado una acción antiinflamatoria (Tikunov Y. et al., 2010), ácido elágico con acción antioxidante y anticancerígena (Fathoni A. et al., 2017). Debido a estos resultados se comprueba la presencia de eugenol en el extracto metanólico, motivo por el cual se sustenta la eficacia analgésica y antiinflamatoria observada previamente en modelos experimentales de dolor (Beltrán-Villalobos et al., 2017; Lugo-Lugo et al., 2019). A su vez, el extracto puede ser empleado como una fuente para la extracción de otros compuestos químicos con potencial uso en la terapéutica.

### Conclusiones

Los datos sugieren que la caracterización por masas y la relación masa/carga nos permite conocer los principales componentes del extracto metanólico de *Syzygium aromaticum*, los compuestos encontrados perteneces a



las familias de los flavonoides y taninos, entre los cuales se destaca la presencia de moléculas con actividad analgésica, antiinflamatoria, antioxidante. La presencia de eugenol fundamenta la eficacia analgésica y antiinflamatoria del extracto metanólico en modelos experimentales de dolor. En este sentido, el eugenol es un candidato con potencial terapéutico ya sea empleado de forma individual o en combinación con otros fármacos y/o productos de origen natural.

### Referencias

- Organización Mundial De La Salud. (22 De mayo De 2009). 62.ª Asamblea Mundial De La Salud. [https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf\\_files/WHA62-REC1/A62\\_REC1-sp.pdf](https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA62-REC1/A62_REC1-sp.pdf).
- Aguilar, Ana & López-Malo, Aurelio. (2013). Extractos y aceite esencial del clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) y su potencial aplicación como agentes antimicrobianos en alimentos.
- Heinrich, M., Barnes, J., Prieto-García, J., Gibbons, S., & Williamson, e. m. (2017). *Fundamentals of pharmacognosy and phytotherapy* E-Book. Estados Unidos: Elsevier Health Sciences.
- Corella Madueño, M. A., Galvez-Iriqui, A. C., Carvajal Herrera, S., Castillon Campaña, L. G., Orduño Fragoza, O., Martínez Robinson, K. G., & Vallejo Cohen, S. (2016). Evaluación antifúngica in vitro de *Gutierrezia sarothrae* (hierba del pasmo) contra *Aspergillus flavus* y determinación del contenido de fenoles totales. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y tecnología de alimentos*, 1, 21. Recuperado 24 de noviembre del 2021 de: <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume1/1/2/37.pdf>.
- González Escobar, Raimara. (2002). Eugenol: propiedades farmacológicas y toxicológicas. Ventajas y desventajas de su uso. *Revista Cubana de Estomatología*, 39(2), 139-156. Recuperado en 24 de noviembre de 2021, de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S003475072002000200005&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003475072002000200005&lng=es&tlng=es).
- Kailasam, S. (17 de mayo de 2021). LC-MS: qué es LC-MS, análisis LC-MS y LC-MS / MS. agosto 26, 2022, de news-courier Sitio web: <https://www.news-courier.com/tn/articles/lc-ms-what-is-lc-ms-lc-ms-analysis-and-lc-msms-348238>
- Organización Mundial De La Salud. (2013). Estrategia De La OMS Sobre Medicina Tradicional 2014-2023. [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/95008/9789243506098\\_spa.pdf](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/95008/9789243506098_spa.pdf).
- Yury M. Tikunov, Ric C.H. de Vos, Ana M. Gonzalez Paramas Robert D. Hall, Arnaud G. Bovy, A Role for Differential Glycoconjugation in the Emission of Phenylpropanoid Volatiles from Tomato Fruit Discovered Using a Metabolic Data Fusion Approach, *Plant Physiology*, Volume 152, Issue 1, January 2010, Pages 55–70, <https://doi.org/10.1104/pp.109.146670>.
- Fathoni A. (2017). Identificación de compuestos no volátiles en clavo (*Syzygium aromaticum*) de Manado. 2022, julio 7, de PUBMED. Sitio web: <https://doi.org/10.1063/1.4991183>.
- Yury M. Tikunov, Ric C.H. de Vos, Ana M. Gonzalez Paramas Robert D. Hall, Arnaud G. Bovy, A Role for Differential Glycoconjugation in the Emission of Phenylpropanoid Volatiles from Tomato Fruit Discovered Using a Metabolic Data Fusion Approach, *Plant Physiology*, Volume 152, Issue 1, January 2010, Pages 55–70, <https://doi.org/10.1104/pp.109.146670>.
- Torres-Aguirre, Gaspar A., Muñoz-Bernal, Óscar A., Álvarez-Parrilla, Emilio, Núñez-Gastélum, José A., Wall-Medrano, Abraham, Sáyago-Ayerdi, Sonia G., & Rosa, Laura A. de la. (2018). Optimización de la extracción e identificación de compuestos polifenólicos en anís (*Pimpinella anisum*), clavo (*Syzygium aromaticum*) y cilantro (*Coriandrum sativum*) mediante HPLC acoplado a espectrometría de masas. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 21(2), e201824. E pub 03 de septiembre de 2020 <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2018.2.4>.
- Rummun N, Serag A, Rondeau P, Ramsaha S, Bourdon E, et al. (2021) Antiproliferative activity of *Syzygium coriaceum*, an endemic plant of Mauritius, with its UPLC-MS metabolite fingerprint: A mechanistic study. *PLOS ONE* 16(6): e0252276. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0252276>.
- Kovács, J. K., Felső, P., Makszin, L., Pápai, Z., Horváth, G., Ábrahám, H., Palkovics, T., Böszörményi, A., Emödy, L., & Schneider, G. (2016). Antimicrobial and Virulence-Modulating Effects of Clove Essential Oil on the Foodborne Pathogen *Campylobacter jejuni*. *Applied and environmental microbiology*, 82(20), 6158–6166. <https://doi.org/10.1128/AEM.01221-16>.
- Trifan A. (2021). Conjunto de datos LCMS sobre compuestos en *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp. Variante de hojas de la costa este de Malasia peninsular. 2022, julio 10, de PUBMED. Sitio web: <https://doi.org/10.1016/j.dib.2021.107485>.
- Beltrán-Villalobos KL, Déciga-Campos M, Aguilar-Mariscal H, González-Trujano ME, Martínez-Salazar MF, Ramírez-Cisneros M de los Á, et al. Synergistic antinociceptive interaction of *Syzygium aromaticum* or *Rosmarinus officinalis* coadministered with ketorolac in rats. *Biomed Pharmacother* [Internet]. 2017;94:858–64. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2017.07.166>
- Lugo-Lugo D, Pozos-Guillén A de J, Zapata-Morales JR, Rodríguez-Chong A, Rangel-López A de J, Saavedra-Leos MZ, et al. Antinociceptive local activity of 4-allyl-1-hydroxy-2-methoxybenzene (Eugenol) by the formalin test: An anti-inflammatory effect. *Brazilian J Pharm Sci*. 2019;55:1–7.

# Remoción de los Compuestos Fenólicos Contenidos en las Vinazas Mezcaleras Empleando Procesos de Coagulación/Floculación y Oxidación Avanzada

I.Q. Judith Alejandra Alferez Ibarra<sup>1</sup>, Dr. Luis Armando de la Peña Arellano<sup>2</sup>,  
Dr. Luis Alberto Ordaz Díaz<sup>3</sup>, M.I. María Dolores Josefina Rodríguez Rosales<sup>4</sup>, Dr. Sergio Valle Cervantes<sup>5</sup>

**Resumen**— En este artículo mezcál en la vinata “Cuero Viejo”, ubicada en el municipio de Nombre de Dios, Durango. Estos efluentes se caracterizan por su color marrón, pH ácido y un alto contenido de compuestos recalcitrantes. Se implementó un tren de tratamiento, que consistió primero, en caracterizar el efluente, seguido de un pretratamiento (coagulación/floculación) y posteriormente un proceso de oxidación avanzada (fotólisis UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Con los resultados obtenidos de la caracterización de la vinaza se observaron altos valores de carga orgánica y un pH muy ácido, DQO de 45,730 mg O<sub>2</sub>/L y pH de 3.4, así como una concentración muy considerable de compuestos recalcitrantes, medidos como fenoles totales de 3,000 mgAG/L. En el pretratamiento se utilizó como agente coagulante el policloruro de aluminio (PAC) y la poliacrilamida (PAM) como floculante, obteniendo remociones de color (67%), turbidez (95%), fenoles totales (40%) y DQO (56%), con las condiciones de pH de 5, dosificación de PAC de 10 mg/L y PAM de 3 mg/L. Para el proceso de fotólisis UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de la vinaza cruda, se obtuvieron remociones del 60% de fenol total con un tiempo de retención de 40 minutos y una relación de dosificación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Muestra de Vinaza de 1:100. El volumen utilizado de la muestra de vinaza en el proceso de fotólisis fue de un litro. Se presentan los resultados obtenidos del tratamiento de la vinaza mezcalera, generada por la fabricación artesanal del mezcál.

**Palabras clave**—vinaza mezcalera, coagulación-floculación, PAC, PAM, fotólisis UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

## Introducción

El agua es un recurso finito e indispensable para la vida, cada vez crece más la preocupación sobre su consumo y aprovechamiento, en los últimos años este ha sido un gran problema ambiental debido al manejo que se le ha dado y a los niveles de contaminación que el hombre ha provocado.

Se establece que el sector industrial es la principal fuente de contaminación del agua al utilizar grandes cantidades en sus procesos, contribuyendo al agotamiento y desabasto de la misma. Un ejemplo de estas industrias son las dedicadas a la elaboración del mezcál, su proceso de producción consta de cuatro etapas: cocimiento de las piñas, maceración, fermentación y destilación, siendo en este último donde se genera un líquido remanente de color marrón llamado vinaza, donde su producción va en aumento, debido a que por cada litro de mezcál producido se obtienen aproximadamente de 10 a 12 litros de vinaza. Cerca del 80% de estas vinazas generadas no reciben un tratamiento adecuado para su disposición y son descargadas a los cuerpos de agua y suelo, provocando efectos nocivos en la flora y fauna acuática.

Diversos procesos de tratamientos de las vinazas han sido objeto de estudio en los últimos años, debido a que sus contaminantes recalcitrantes no pueden ser degradados mediante la utilización de métodos convencionales. La aplicación de los procesos de oxidación avanzada (POA) ha resultado muy efectiva para el tratamiento de estos efluentes. Este tipo de tratamientos se caracterizan por llevar a cabo la oxidación de los contaminantes a través de radicales hidroxilos (OH<sup>\*</sup>) hasta convertirlos en CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O o en otros compuestos menos peligrosos. El proceso de fotólisis UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> es uno de los más utilizados para la remoción de contaminantes recalcitrantes, ya que el peróxido de hidrógeno es un agente altamente oxidante, tiene la capacidad de producir radicales hidroxilos, ya sea en presencia o en ausencia de radiación, considerando los OH<sup>\*</sup> como agentes oxidantes sustentables con el ambiente, ya que sus subproductos de oxidación son el oxígeno y agua. Este proceso de fotólisis por sí solo no puede remover la totalidad

<sup>1</sup> I.Q. Judith Alejandra Alferez Ibarra es estudiante de la Maestría en Sistemas Ambientales del TecNM/Instituto Tecnológico de Durango, México. [alferezibarraj@gmail.com](mailto:alferezibarraj@gmail.com) (autor correspondiente)

<sup>2</sup> El Dr. Luis Armando de la Peña Arellano es Profesor Investigador de la Maestría en Sistemas Ambientales del TecNM/Instituto Tecnológico de Durango, México. [herdelapena@gmail.com](mailto:herdelapena@gmail.com)

<sup>3</sup> El Dr. Luis Alberto Ordaz Díaz es Profesor Investigador de la Universidad Politécnica de Durango, México. [vinhos7@hotmail.com](mailto:vinhos7@hotmail.com)

<sup>4</sup> La M.I. María Dolores Josefina Rodríguez Rosales es Profesora Investigadora de la Maestría en Sistemas Ambientales del TecNM/Instituto Tecnológico de Durango, México. [mdjoserr@itdurango.edu.mx](mailto:mdjoserr@itdurango.edu.mx)

<sup>5</sup> El Dr. Sergio Valle Cervantes es Profesor Investigador de la Maestría en Sistemas Ambientales del TecNM/Instituto Tecnológico de Durango, México. [svalle@itdurango.edu.mx](mailto:svalle@itdurango.edu.mx)

de los compuestos recalcitrantes contenidos en la vinaza, por esta razón es necesaria la aplicación de algún pretratamiento, como los procesos fisicoquímicos de coagulación/floculación, los cuales ayudaran a obtener mayores valores de remoción al utilizarse polielectrolitos en conjunto con la oxidación avanzada.

Con base a lo antes mencionado, el objetivo planteado en esta investigación fue la aplicación de estos procesos para la remoción de fenoles presentes en las vinazas mezcaleras, incluyendo la caracterización de los compuestos recalcitrantes contenidos en la muestra de vinaza y evaluar el uso de los polielectrolitos (PAM y PAC) como agentes coagulante-floculante, así como evaluar la eficiencia del proceso de oxidación avanzada UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

### Metodología

#### Procedimiento

La metodología establecida para el desarrollo de esta investigación constó de tres etapas; *I. Caracterización, II. Coagulación/floculación y III. Fotólisis UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.*

La caracterización fisicoquímica consistió en la determinación de pH, color, turbidez, DQO, sólidos totales, alcalinidad y potencial zeta, de acuerdo con las normas y técnicas especificadas en el cuadro 1.

Parámetro	Unidades	Equipo	Norma/Técnica de referencia
pH	-	Potenciómetro ST10	Potenciometría
Color	Pt-Co	Espectrofotómetro UV-VIS	Espectrometría
Turbidez	NTU	Espectrofotómetro UV-VIS	Espectrometría
DQO	mgO <sub>2</sub> /L	Reactor DQO HANNA mod. HI839800 Espectrofotómetro UV-VIS	NMX-AA-030-SCFI-2002
Sólidos totales	mg/L	Estufa-mufla	NMX-AA-034-SCFI-2015
Alcalinidad	mgCaCO <sub>3</sub> /L	Potenciómetro ST10	NMX-AA-036-SCFI-2021
Fenoles totales	mgAG/L	Espectrofotómetro UV-VIS	Folin-Ciocalteau
Potencial zeta	mV	Zeta meter 3.0	Electro fotometría

Cuadro 1. Normas y técnicas aplicadas en la caracterización fisicoquímica de la vinaza mezcalera.

El proceso de pretratamiento se realizó con la prueba de jarras, empleando al policloruro de aluminio (PAC) como coagulante y la poliacrilamida (PAM) como floculante, las condiciones experimentales se establecieron de acuerdo con la bibliografía consultada. Se variaron las dosificaciones de PAC y PAM para encontrar los porcentajes de remoción más altos de color, turbidez, DQO y Fenoles totales, mediante la aplicación de la siguiente formula:

$$\% \text{ Remoción} = \frac{C_i - C_f}{C_f} * 100$$

Siendo:

C<sub>i</sub>= Concentración inicial  
C<sub>f</sub>= Concentración final

*Pruebas de coagulación.* Las pruebas de coagulación se realizaron variando el pH en un rango de 3 a 6, debido a que el coagulante utilizado (PAC) trabaja de manera óptima en este rango. La dosificación de PAC (No. CAS 12042-91-9) se varió en un rango de 2 a 12 mg/L.

*Pruebas de floculación.* Las pruebas de floculación se desarrollaron con la adición de la poliacrilamida (No. CAS 9003-05-8), esto con el objetivo de mejorar la formulación de los flóculos y lograr velocidades de sedimentación más rápidas, las dosificaciones se variaron de 1.5 a 6 mg/L.

*Fotólisis UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.* Las pruebas de fotólisis UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se realizaron con la utilización de lámparas UV, las cuales se describen sus características en el cuadro 2, el reactivo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30% grado industrial y a un tiempo de retención de 60 minutos en un proceso tipo batch y con un volumen de vinaza a tratar de 1 litro, esto de acuerdo con los resultados obtenidos en el estudio realizado por Rodríguez Arreola (2019).

Capacidad	1.3L
-----------	------

Longitud de onda	254 nm
Voltaje	110V
Potencia	25W
Longitud	52.5 cm

Cuadro 2. Características de lámpara UV

### Resultados

*I. Caracterización fisicoquímica de la vinaza mezcalera.* Los resultados obtenidos en la caracterización fisicoquímica de la vinaza mezcalera se presentan en el cuadro 3, se observa el alto poder contaminante que tiene este efluente al ser vertido a los cuerpos de agua sin tratamiento previo, debido a la concentración de DQO de 45,730 mg O<sub>2</sub>/L, pH de 3.4, sólidos totales de 20,700 mg/L, los cuales sobrepasan los límites establecidos en la NOM-001-SEMARNAT-2021, donde se establecen valores límite de 150 mg/L para DQO, pH entre 6 a 9 y 60 mg/L para sólidos disueltos totales.

Parámetro	Valor	Unidad
pH	3.4 ± 0.1	
Color	7080 ± 35	Pt-Co
Turbidez	1120 ± 15	NTU
Fenoles totales	3000 ± 275	mgAG/L
DQO	45730 ± 1000	mgO <sub>2</sub> /L
Alcalinidad	1633.4 ± 20	mgCaCO <sub>3</sub> /L
Sólidos totales	20700 ± 84	mg/L
Potencial zeta	-26.77 ± 5	mV

Cuadro 3. Caracterización fisicoquímica de la vinaza mezcalera

*II. Pruebas de coagulación.* Primeramente, se realizaron las pruebas para determinar el pH óptimo para llevar a cabo la coagulación con el policloruro de aluminio, los resultados obtenidos se presentan en el cuadro 4, aquí se puede observar que a un valor de pH de 5, los porcentajes de remoción obtenidos fueron de 41% de color, 66% de turbidez, 21% de fenoles totales y 30% de DQO, las pruebas de jarras se realizaron a 100 rpm@5 minutos, 30 rpm@10 minutos y 0 rpm@60 minutos.

Dosis de PAC (mg/L)	pH	% Remoción			
		Color	Turbidez	Fenoles totales	DQO
10	3	32	40	-	11.2
	3.3	38	45	-	15
	4	38	58.5	3.5	22.3
	4.5	41.7	62	10	22.6
	5	41	66	21	30.4
	5.5	42.7	32.7	12	32.3
	6	19.6	13.2	3.3	5

Cuadro 4. Porcentajes de remoción con variación de pH

Una vez obtenido el pH óptimo de trabajo, se comenzó con la variación de la dosificación del PAC, encontrando que las mejores condiciones eran a una dosis de 10 mg/L, de acuerdo con lo establecido en el cuadro 5.

pH	Dosificación de PAC (mg/L)	% Remoción			
		Color	Turbidez	Fenoles totales	DQO
5	2	21.5	21.8	3.7	20

	4	28.9	39.7	4.8	26.2
	6	32.15	45	15	21
	8	35	52	17	25
	10	42	61.2	20	32
	12	35	45.6	13	25

Cuadro 5. Porcentajes de remoción con variación de dosificación de PAC

*II.1 Pruebas de floculación.* Las pruebas de floculación se desarrollaron utilizando la poliacrilamida (PAM) como floculante, el cual fue agregado después del coagulante y variando las dosificaciones de 1.5 a 6 mg/L. Los resultados presentados en el cuadro 5 se observa que la adición de este reactivo aumenta en un 20 a 30% los porcentajes de remoción obtenidos en la coagulación, con tan solo una dosificación de 3 mg/L. De igual manera en la figura 1 se observan los cambios obtenidos en el efluente después de este tratamiento.

pH	PAC (mg/L)	PAM (mg/L)	% Remoción			
			Color	Turbidez	Fenoles totales	DQO
5	10	1.5	51	73	21	48
		3	65.3	95	32	62
		4.5	59	86	25	63
		6	55	79	28	59

Cuadro 5. Porcentajes de remoción obtenidos en la floculación



Figura 1. Coagulación-floculación de la vinaza

*III. Pruebas de fotólisis UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.* Para llevar a cabo las pruebas de fotólisis se preparó una solución estándar de ácido gálico de 1000 ppm, esto para determinar la efectividad del sistema, se inició el tratamiento y se tomaron alícuotas cada 10 minutos, aplicando las condiciones establecidas en la metodología se obtuvieron porcentajes de remoción de los compuestos fenólicos del 60% a un tiempo de retención de 20 minutos. Posteriormente se sometió la vinaza cruda (sin tratamiento previo) bajo las mismas condiciones, obteniendo una remoción del 65% de fenoles totales, 30% de color y 35% de turbidez, esto a los 40 minutos de tratamiento, estos cambios se pueden observar en la figura 2.



Figura II. Proceso de fotólisis UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en vinaza cruda

### Conclusiones

Con los resultados obtenidos primeramente se observó el alto poder contaminante de la vinaza a partir de la caracterización, obteniéndose valores superiores de DQO a los establecidos en la normatividad vigente y altas concentraciones de fenoles totales, lo cual nos indica que es necesario implementar técnicas eficientes de tratamiento para que puedan ser desechadas o reutilizadas sin dañar al medio ambiente o disminuir sus impactos ambientales. Con el pretratamiento de coagulación-floculación se lograron remociones de turbidez, color, fenoles totales y DQO de 95, 65, 32 y 62% respectivamente, verificando que con el uso de la poliacrilamida como floculante se aumenta entre un 20 a 30% estos valores. Posteriormente en la fotólisis UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se comprobó la eficiencia de este proceso para llevar a cabo la mineralización de los compuestos fenólicos, a un tiempo de 40 minutos se lograron eficiencias de remoción del 60%, se espera que la aplicación en conjunto con la coagulación-floculación se logren resultados aun mejores.

### Limitaciones

Dentro de las limitaciones encontradas en esta investigación fueron los costos del floculante (PAM), al presentar costos elevados para su aplicación sería viable optar por otros floculantes naturales/biodegradables como lo es el quitosano, el mucilago de nopal, etc., esto para la disminución de los costos en la aplicación de estos procesos.

### Referencias

- Ávila Reyes, J.A. (2010). Evaluación de los parámetros fisicoquímicos del mezcal de Durango para el desarrollo de un índice de calidad. Unidad Profesional interdisciplinaria de Biotecnología. Instituto Politécnico Nacional.
- Becerra Ospina, N.L. (2014). Clarificación de vinazas de caña de azúcar por tratamiento fisicoquímico y filtración con membranas. Tesis de maestría. Universidad de Colombia.
- Ferral Pérez, H. (2015). Tratamiento de vinazas tequileras por coagulación-floculación empleando un biopolímero acoplado a ozonización catalítica. Instituto Politécnico Nacional. México.
- García Becerra, M. (2019). Efecto de la disminución de compuestos fenólicos de vinazas tequileras sobre la producción de hidrogeno. Tesis de maestría. Centro de investigación y asistencia en tecnología y diseño del estado de jalisco. Guadalajara.
- Iñiguez, G. & Hernández, R. (2010). Estudio para la rehabilitación de una planta de tratamiento de vinazas tequileras mediante un floculante polimérico de poliacrilamida (PAM). Rev. Int. Contam. Ambient. 26. 299-311.
- Jiménez López, J.E. (2016). "Remoción de contaminantes refractarios de las vinazas tequileras por electrocoagulación". Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, Puebla.
- Medina Martínez, T. (2021). Evaluación de los coagulantes sulfato de aluminio Tipo A y PAC para reducir la turbiedad del agua de procesos para una planta piloto de flotación. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.
- Mejía Rivas, A. (2018). Aplicación de mucilago de nopal (*Opuntia ficus-indica*) como coadyuvante para la remoción de melanoidinas en efluentes mezcateros. (tesis de maestría). Instituto Tecnológico de Durango.

Rennola, L. Salazar Rodríguez, F. & Bullon, J. Tratamiento de las aguas residuales de una destilería mediante el uso de coagulantes y membranas. Rev. Tec. Ing. Universidad de los Andes. Vol. 30, 11-19.

Robles-González, V.S., Galíndez-Mayer, J., Rinderknecht-Seijas, N., Poggi-Valardo, H., N., (2012); Treatment of mezcals vinasses: A review. Journal of Biotechnology. Vol 157. No 4. 524–546.

Rodríguez Arreola, A. (2019). Tratamiento de vinaza de tequila por medio de coagulación-floculación y fotocatalisis heterogénea empleando nanopartículas de TiO<sub>2</sub>. Universidad de Guadalajara.

## Apéndice

### Cuestionario utilizado en la investigación

- 1.- ¿Qué afectaciones ambientales provoca la descarga de las vinazas mezcaleras sin tratamiento al suelo y a los cuerpos de agua?
- 2.- ¿Cuáles son los tratamientos aplicados en la vinaza mezcalera según lo reportado en la bibliografía?
- 3.- ¿Cómo puede ayudar el uso de coagulantes/floculantes en la disminución de color y turbidez presente en la vinaza?
- 4.- ¿Es posible remover los compuestos fenólicos mediante un proceso de oxidación avanzada?



# Componentes Químicos de la Madera de *Dendropanax arboreus*

Flora Apolinar Hidalgo MPB<sup>1</sup>, Dra. Martha Elena Fuentes López<sup>2</sup>

**Resumen**— La madera de los árboles representa un recurso renovable y es la principal fuente de materiales lignocelulósicos con una amplia gama de aplicaciones, los productos que pueden obtenerse y derivarse de la madera dependen de su composición química, por lo que el objetivo de este trabajo fue determinar el contenido de  $\alpha$ -celulosa, holocelulosa, hemicelulosa y extractivos en etanol-benceno, etanol y agua de *Dendropanax arboreus*. Se utilizaron las normas; TAPPI 204, ASTM D1104, ASTM D1103. Se realizó un ANOVA y una comparación múltiple de medias con Tukey ( $\alpha = 0.05$ ). Los resultados mostraron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) de las 6 muestras de *D. arboreus*, en promedio presenta 74.08 % de holocelulosa, 39.99 % de  $\alpha$ -celulosa, 34.08 % de hemicelulosa, 2.93 % de extractos en etanol-benceno, 2.15 % en etanol, 2.98 % agua y 6.74 % en extractos totales. Los hallazgos muestran que existe variabilidad en la composición química de la madera estudiada.

**Palabras clave**— madera, holocelulosa, celulosa, extractivos.

## Introducción

La madera es el recurso forestal renovable más importante producido a partir de plantas. Es un material natural que se utiliza desde hace muchos años en la industria de la celulosa y el papel.

La madera se compone de celulosa, lignina, hemicelulosas y una pequeña cantidad de compuestos orgánicos llamados extractivos que pueden eliminarse mediante extracción con disolvente sin afectar la estructura de celulosa o lignina de la madera (Nabirye y Nwosu, 2022). La celulosa constituye aproximadamente el 40-50% del peso seco de la madera y de las plantas no leñosas, la hemicelulosa de 25 a 35%, la lignina representa un 18 a 35% y los extractos de 4 a 10%, son una variedad de compuestos orgánicos que incluyen grasas, ceras, pectinas, gomas, resinas, almidones, saponinas, aceites esenciales entre otros (Pettersen, 1984).

La madera también es muy compleja y variable en su composición química, esta variabilidad, no sólo se produce entre especies, sino también dentro de una misma especie e incluso dentro de un mismo árbol, lo que permite utilizar la madera para muchos tipos de productos (papeles, materiales de construcción, productos químicos, energía, etc.). La comprensión de esta variabilidad y nuestra capacidad para utilizarla son de importancia clave para mejorar los productos de uso final (Pot *et al.*, 2002). En los últimos años se ha incrementado la posibilidad de obtener productos químicos de alto valor agregado a partir de los compuestos principales de la madera, como celulosa para usos textiles, alimenticios o farmacéuticos, pulpa y aplicaciones nanotecnológicas; derivados de la lignina se puede obtener adhesivos y de la hemicelulosa podremos obtener xilitol, ácido ferúlico y láctico (Saha, 2003; Moon *et al.*, 2011), los productos que pueden obtenerse y derivarse de la madera dependen de su composición química.

*Dendropanax arboreus* es una especie de madera cuyo potencial aún no se ha explorado en su totalidad, es una especie perteneciente a la familia de las Araliaceae, se encuentra ampliamente distribuida en la zona tropical de México desde el sur de Tamaulipas y este de San Luis Potosí hasta Chiapas y la Península de Yucatán. El árbol crece hasta una altura de 14 a 25 m, con una copa abierta, irregular a redondeada y densa. El tronco del árbol es pardo amarillento a pardo grisácea y recto, se utiliza en artesanías, juguetes, artículos torneados, esculpidos y tallados, es una especie maderable con posibilidades comerciales. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue determinar el contenido de holocelulosa,  $\alpha$ -celulosa, hemicelulosa y extractivos en etanol-benceno, etanol y agua de *Dendropanax arboreus* para determinar sus áreas potenciales de utilización.

## Metodología

### Procesamiento de muestras

Se colectaron 6 muestras de la madera de *Dendropanax arboreus* provenientes de Selva alta perennifolia del municipio de Hueytamalco en el Estado de Puebla. Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Materiales

<sup>1</sup> Flora Apolinar Hidalgo MPB es investigadora del Campo Experimental San Martinito, Puebla, del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). [apolinar.flora@inifap.gob.mx](mailto:apolinar.flora@inifap.gob.mx) (autor correspondiente)

<sup>2</sup> Dra. Martha Elena Fuentes López es investigadora del Campo Experimental San Martinito, Puebla, del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)

Lignocelulósicos del Campo Experimental San Martinito que pertenece al INIFAP, primeramente, las muestras se cepillaron en un canteador eléctrico mizutti para obtener la viruta, la cual se secó a temperatura ambiente, posteriormente fue molido en un molino tipo Thomas Wiley. El material molido se tamizó en mallas del No. 40 (0.42 mm) y del No. 60 (0.25 mm), el material retenido en la malla 60 se utilizó para realizar las determinaciones de holocelulosa,  $\alpha$ -celulosa, hemicelulosa y extractivos, se realizaron cuatro repeticiones por muestra.

#### *Determinación de extractivos*

Para determinar los extractos se utilizó la norma TAPPI 204(TAPPI, 2007), que consistió en pesar 4 g de madera molida anhidrida en un dedal de extracción, que se colocaron en un sistema de extracción Soxhlet a reflujo por un tiempo de 8 horas con 250 ml de solvente de etanol-benceno (1-2 v/v), después se procedió a lavarlo a vacío con etanol para quitarle los residuos de benceno, posteriormente se extrajo con 250 ml de etanol al 96% por 6 horas, seguidamente se lavó con agua para retirarle los residuos de etanol y finalmente se realizó una extracción con 250 ml de agua destilada por 6 horas, las muestras fueron secadas en una estufa a 105 °C para su pesado. El contenido de extractos se calculó con la siguiente expresión: 
$$\text{Extractos (\%)} = \frac{W_e - W_b}{W_p} * 100$$

Donde;

$W_e$  = Peso anhidrido del extracto, g.

$W_p$  = Peso anhidrido de la muestra, g.

$W_b$  = Peso anhidrido del residuo en blanco, g

#### *Determinación de holocelulosa*

El método para la determinación de holocelulosa se basó en la acción de clorito de sodio y ácido acético en base a la norma ASTM (D1104), se pesaron 2.5 g de madera libre de extractos en matraces Erlenmeyer de 250 ml, enseguida se le adiciono 80 ml de agua destilada caliente, 0.5 ml de ácido acético y 1 g de clorito de sodio, los matraces con la muestra se colocaron en un baño de agua a  $75 \pm 5$  °C durante 1 hora, después de la hora se le añadió otravez 0.5 ml de ácido acético y 1 g de clorito de sodio, este procedimiento se repitió por 2 veces más hasta completar un total de 4 horas, al final de la cuarta hora se enfrió las muestras en un recipiente con agua fría debajo de 10 °C. Posteriormente el contenido del matraz de reacción se pasó sobre un crisol de filtrado previamente pesado. Las muestras se lavaron con agua destilada hasta que el color amarillo y el olor a dióxido de cloro desapareció, enseguida se lavó con 150 ml de etanol y acetona. Finalmente se secó en una estufa a 40 °C, el contenido de la holocelulosa se calculó con la siguiente expresión:

$$\text{Holocelulosa (\%)} = \frac{\text{Peso anhidrido del residuo}}{\text{Peso anhidrido de la muestra}} * 100$$

#### *Determinación $\alpha$ -celulosa*

Para la determinación de  $\alpha$ -celulosa se utilizó la norma ASTM (D1103), se pesaron 2 g de holocelulosa anhidrida y se colocaron en un vaso de precipitado de 250 ml, a la muestra se le agregó 10 ml de solución de NaOH al 17.5% , se maceró la holocelulosa con una barra de cristal hasta que las partículas se separaron una de las otra, después de que la muestra se le adicionara la primera porción de la solución de NaOH al 17.5%, en intervalos de 5 minutos se agregó 5 ml hasta completar la adición de 25 ml de la solución de NaOH al 17.5%, posteriormente se dejó reposar en un baño de agua a 20 °C por 30 minutos, después se le agregó 33 ml de agua destilada y se permitió reposar por una hora antes de su filtrado. Para el lavado, el residuo de la holocelulosa se transfirió a un crisol de filtrado de peso conocido y se lavó con 100 ml de NaOH al 8.3%. Subsiguientemente se enjuagó con agua destilada y después se le agregó 15 ml de ácido acético al 10% y se dejó reposar por 3 minutos, enseguida se volvió a lavar con 250 ml de agua destilada para retirarle el residuo del ácido acético y finalmente se secó el crisol con la muestra en una estufa a 105 °C. El contenido de lignina se calculó con la siguiente expresión:

$$\alpha\text{- Celulosa(\%)} = \frac{\text{Peso anhidrido de residuo de celulosa}}{\text{Peso anhidrido de la muestra holocelulosa}} * 100$$

#### *Determinación de hemicelulosa*

La determinación de la hemicelulosa se calculó como la diferencia del contenido de holocelulosa y  $\alpha$ -celulosa. Los datos obtenidos se les realizó un análisis de varianza (ANOVA) seguido de una comparación múltiple de medias con el procedimiento de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ) con el estadístico SAS (2000).

### Resultados

Los resultados obtenidos mostraron que existe diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre las determinaciones de holocelulosa,  $\alpha$ -celulosa, hemicelulosa y extractos entre las 6 muestras de *Dendropanax arboreus*. En los resultados de holocelulosa se encontró que la muestras A13 y A14 son las de mayor contenido con valores de 76.48 % y 76.25 % respectivamente y la de menor valor la muestra A16 con un contenido de 71.96 %, con respecto a las  $\alpha$ -celulosa la muestra A13 es la de mayor contenido con 42.47 % y la de menor la muestra A16 con un valor de 37.54 % y para la hemicelulosa se encontró que la muestra A14 es la de mayor contenido con un valor de 34.77 % y la menor contenido es la muestra A11 con 32.45 % (Tabla 1). Los valores reportados fueron calculados en base al peso anhidrido.

Muestras	* Holocelulosa %	* $\alpha$ - Celulosa%	*Hemicelulosa%
A11	73.56 b	41.10 b	32.45 e
A13	76.48 a	42.44 a	34.03 d
A14	76.25 a	41.47 b	34.77 a
A15	72.68 c	38.55 c	34.13 cd
A16	71.96 d	37.54 d	34.41 bc
A17	73.57 b	38.84 c	34.72 ab

Tabla 1. Componentes químicos principales de *Dendropanax arboreus*

\* Con base al peso anhidro

† Valores con la misma letra indican que no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ )

Los valores de holocelulosa en este estudio fueron 71.96 % a 76.48 % estos valores están en el rango que reporto Wei *et al.* (2022) para *Dalbergia Oliveri* con valores de 71.81% a 80.35 % y Ruiz *et al.* (2019) de 5 especies latifoliadas con valores de 74.05 % a 79.54 % y son menores a los reportados por Honorato *et al.* (2015) para *Ceiba pentandra*, *Hevea brasiliensis* y *Ochroma pyramidale* con valores de 79.08 % a 81.99%. Con respecto  $\alpha$ -celulosa los valores encontrados fueron de 37.54 % a 42.44 % estos valores son menores a los reportados por Ruiz *et al.* (2019) (59.11% a 66.31%), Leal *et al.* (2011) (51.72 %) para *Eucalyptus grandis* y Cárdenas *et al.* (2018) (51.85 % y 56.56 %) para *Alnus spp* y *Quercus spp* respectivamente y respecto a los resultados de hemicelulosa los valores fueron de 32.45 % a 34.77 % estos valores son mayores a los reportados por Ruiz *et al.* (2019) (12.31 % a 20.96 %) y Leal *et al.* (2011) (20.29 %).

Los resultados en etanol-benceno se encontró que la muestra A17 es mayor con un valor de 3.36 % y las de menor contenido las muestras A13 y A14 con valores de 2.56 % y 2.58 % respectivamente, en etanol la muestra A16 es la que sobresale de los demás con un contenido de 1.06 % y el resto son similares entre ellos, en lo que respecta a los extractos en Agua la muestra A16 es la de mayor contenido con un valor de 4.43% y con relación a los extractos totales la muestra A16 es la de mayor contenido con un valor de 8.42 % y la de menor las muestras A13 y A14 con valores de 5.53 % y 5.64 % respectivamente. Tabla 2

Muestras	Etanol-benceno %	Etanol %	Agua %	Extractos totales %
A11	3.08 b	0.83 b	3.22 b	7.14 b

A13	2.56 d	0.83 b	2.13 d	5.53 c
A14	2.58 cd	0.72 b	2.33 cd	5.64 c
A15	3.12 ab	0.78 b	2.78 bc	6.69 b
A16	2.92 bc	1.06 a	4.43 a	8.42 a
A17	3.36 a	0.71 b	2.99 b	7.06 b

Tabla 2. Extractivos de *Dendropanax arboreus*

\* Con base al peso anhidro

† Valores con la misma letra indican que no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ )

Los valores encontrados de etanol-benceno fueron de 2.35 % a 3.36 % estos valores están en el rango que reporto Honorato *et al.* (2015) para tres especies tropicales (2.29 % a 3.23 %) y mayores a los reportados por Leal *et al.* (2011) (1.1 %) para *Eucalyptus grandis*. En lo que respecta a etanol los valores encontrados fueron 0.71 % a 1.06 % estos valores son menores a los reportados por Miranda *et al.* (2017) para *Quercus faginea* (2.6 % a 13.2 %) y por Chemetowa *et al.* (2020) que reporto para *Acacia melanoxylon* (3.7% a 6 %). Para los valores de agua los resultados fueron de 2.13 % a 4.43 % estos valores están en el rango reportado por Chemetowa *et al.* (2020) (2.2% a 2.3 %) y mayores a los reportados por Miranda *et al.* (2017) (4.3% a 6.4 %) y para los extractos totales los valores fueron 5.53 % a 8.42 % estos valores están en el rango reportado por Honorato *et al.* (2015) (4.64 % a 8.31 %) y Costa *et al.* (2019) que reporto para *Quercus spp* (5.6 %).

### Conclusiones

*Dendropanax arboreus* ha proporcionado información sobre su composición química con valores 71.96 % a 76.48 % para holocelulosa, 37.54 % a 42.44 % para  $\alpha$ - celulosa, 32.45 % a 34.77 % para hemicelulosa, 5.53 % a 8.42 % para extractos totales, en base a estos hallazgos se pueden decir, que existe variabilidad en la composición química de la madera estudiada y que se pueden obtener productos químicos en base a su composición química.

### Recomendaciones

Se recomienda caracterizar los tipos de extractos que contiene y los porcentajes que representan en la madera *Dendropanax arboreus*, y seguir caracterizando a la especie para determinar su calidad como madera.

### Referencias

- American Society for Testing and Materials (ASTM). Method of Test for Alpha- Cellulose in Wood ASTM D1103 – 60. Annual book of ASTM standards.Part 22: Wood; Adhesives. Pennsylvania: ASTM. 343-345, 1977.
- American Society for Testing and Materials (ASTM). Method of Test for Holocellulose in Wood ASTM D1104 – 56. Annual book of ASTM standards. Part 22: Wood; Adhesives. Pennsylvania: ASTM. 346-348, 1977
- Moon, R. J., Martini, A., Nairn, J., Simonsen, J. and J. Youngblood. Cellulose nanomaterials review structure, properties and nanocomposites. Chemical Society Reviews Vol. 40, No. 7, 3941-3994, 2011.
- Petterson, R.C. The chemical composition of wood. p 57-126.In: Rowell, R. M. (ed). The Chemistry of Solid Wood Advances in Chemistry Series 20, American Chemical Society. Washington, D.C. U. S. A. 1984.
- Saha, B. C. Hemicellulose bioconversion. J. Ind. Microbiol. Biotechnology. Vol. 30: 279–291. 2003.
- TAPPI (Technical Association of the Pulp and Paper Industry) Solvent extractives of wood and pulp. T 204 cm-97. TAPPI Test Methods. Fibrous Materials and Pulp Testing. Versión CD, Atlanta, GA., EUA. 4p. 2007.
- TAPPI (Technical Association of the Pulp and Paper Industry). Preparation of wood for chemical analysis. T 264 cm-97. TAPPI Test Methods. Fibrous Materials and Pulp Testing. Versión CD, Atlanta, GA., EUA. 3 p. 2007
- Cárdenas, G.M.A., Pedraza, B.F.E., Albarrán, L.P., Rutiaga, Q.J.G. Chemical components of the branches of six hardwood species. Wood research, Vol. 63, No. 5, 795-808, 2018.
- Leal, L. E., Juárez, V., Terán, M. Composición química de la madera de *Eucalyptus grandis Hill ex Maiden* procedente de Finca Las Maravillas. Revista de Ciencias Forestales, Vol. 19, No. 1-2, 75-83, 2011.

SAS Institute Inc. (SAS). The SAS System for Windows (Version 8.0 for Windows). Cary, NC. USA. 2000.

Miranda I, Sousa V, Ferreira J, Pereira H. Chemical characterization and extractives composition of heartwood and sapwood from *Quercus faginea*. PLoS ONE, Vol. 12, No. 6, 1-14, 2017.

Wei, L., Ma, R., Fu, Y. Differences in Chemical Constituents between *Dalbergia oliveri* Heartwood and Sapwood and Their Effect on Wood color. Molecules, Vol. 27, 7978, 2022.

Honorato, S. J.A., Colotl, H.G., I, Apolinar, H.F., Aburto, A.J. 2015. Principales componentes químicos de la madera de *Ceiba pentandra*, *Hevea brasiliensis* y *Ochroma pyramidale*. Madera y Bosques, Vol. 21, No. 2, 131-146, 2015.

Chemetova, C., Ribeiro, H., Fabiao, A., Gominho, J. Towards sustainable valorisation of *Acacia melanoxylon* biomass: Characterization of mature and juvenile plant tissues. Environmental Research, Vol. 191, 2020

Costa, R., Lourenco, A., Oliveira, V., Pereira, H. Chemical characterization of cork, phloem and wood from different *Quercus*. Helion, Vol. 5, 1-9, 2019

Pot, D., Chantre, G., Rozenberg, C., Rodrigues, J.C., Lloyd, G.J., Pereira, H., Cahalan, C., Plomion, C. Genetic control of pulp and timber properties in maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) Sci. Vol. 59, 563–575, 2022

Nabirye, J.F., y Nwosu, S. Characterisation of the Chemical Composition of *Aningeria robusta*: A. Chev WOOD. *European Journal of Agriculture and Food Sciences*, Vol. 4, No. 5, 38–42, 2022.

# Estudio de la Presencia de Antibióticos Aminoglucósidos por Método Inmunoquímico en Aguas Residuales de Origen Municipal

Dra. Norma Angélica Chávez Vela<sup>1</sup>, Dr. Juan Jáuregui Rincón<sup>2</sup>, M.C. Gpe. Javier Araiza Arvilla<sup>3</sup>, Dra. Iliana Ernestina Medina Ramírez<sup>4</sup> y Lic. Biotec. Angelina Lizbeth Montañez Flores<sup>5</sup>

**Resumen**— Los contaminantes emergentes son contaminantes no reconocidos como tales y por tanto no hay sobre ellos un sistema de control. Su principal fuente de entrada al medio es a través de aguas residuales y efluentes provenientes de plantas depuradoras que no están diseñadas para tratar este tipo de sustancias. Los antibióticos aminoglucósidos, son CE utilizados ampliamente y son altamente ototóxicos, nefrotóxicos y pueden generar resistencia a bacterias. Métodos para detectar antibióticos en aguas residuales utilizan equipos costosos, requieren cuidados especiales y requieren varias horas de análisis por muestra. En base a lo anterior, en este proyecto se desarrolló y aplicó un sistema a base de anticuerpos para detectar rápidamente y con alta sensibilidad la presencia aminoglucósidos en agua residual de origen municipal, pudiéndose detectar estos en aguas residuales de plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) de origen municipal de diversas comunidades, colonias y fraccionamientos del Estado de Aguascalientes.

**Palabras clave**— aminoglucósidos, agua residual, anticuerpos policlonales, Dot blot, sistema ELISA.

## Introducción

En la actualidad la contaminación es un problema que concierne a todos, esta se puede ocasionar por el cúmulo de agentes químicos o físicos que generan una alteración en la flora y fauna de una zona determinada (OMS, 2017). Existen contaminantes que por su uso cotidiano fueron ignorados y que con el pasar de años se fueron acumulando y se les conoce como contaminantes emergentes (CEs), pues son un nuevo grupo de agentes que generan cambios por su alta concentración en el medio ambiente en este nuevo grupo entran (los jabones, desodorante, fármacos, drogas).

De todos los contaminantes emergentes, los que probablemente suscitan mayor preocupación y estudio en los últimos años son los fármacos y, en particular, los antibióticos, los cuales se utilizan para el tratamiento de enfermedades bacterianas tanto de animales como del hombre. Al ser metabolizados incompletamente llegan a las aguas residuales a través de heces fecales, orina. Así pues, la principal fuente de entrada de estos CEs son las aguas residuales que en ocasiones son vertidas directamente en cuerpos de agua provocando contaminación ambiental. ya que de estos existe una escasa o nula eliminación en plantas de tratamiento de agua residual, ante lo cual existe el riesgo de generar cepas bacterianas resistentes ante estos fármacos (Barceló et al., 2008; Ventola, 2015 ).

Entre los antibióticos más prescritos en medicina humana destacan los aminoglucósidos, los macrólidos, y los  $\beta$ -lactámicos. Los antibióticos aminoglucósidos son de los que más se utilizan para infecciones de bacilos aerobios gram negativos, a pesar de sus efectos tóxicos sobre oído y riñón. Su exitoso y continuo uso se atribuye a factores tales como: rápido efecto bactericida, sinergismo con beta-lactámicos, baja resistencia y bajo costo, además, se utilizan ampliamente en la agricultura para tratar semillas contra virus y bacterias (Melendez et al. 2020).

Existen diversos métodos de detección para los CEs, entre ellos están los inmunoensayos que son técnicas sensibles y específicas que detectan a moléculas mediante anticuerpos, las ventajas de estas técnicas es que son fácil de realizar y a bajo costo comparada con otros métodos como HPLC, GC-MS o LC-MS. Debido a lo anterior, este trabajo se enfocó en el desarrollo de un inmunoensayo capaz de reconocer y cuantificar antibióticos aminoglucósidos en muestras de agua residual, previo y posterior a su tratamiento (Peña-Álvarez & Castillo-Alanis, 2015; Wong et al, 2020).

<sup>1</sup> Norma A. Chávez Vela es Profesor del Depto. de Ing. Bioquímica en la Universidad Autónoma de Aguascalientes, México [angelica.chavez@edu.uaa.mx](mailto:angelica.chavez@edu.uaa.mx) (autor corresponsal)

<sup>2</sup> Juan Jáuregui Rincón es Profesor del Dpto. Ing. Bioquímica en la Universidad Autónoma de Aguascalientes, México [juan.jauregui@edu.uaa.mx](mailto:juan.jauregui@edu.uaa.mx)

<sup>3</sup> El M.C. Gpe. Javier Araiza Arvilla, es Profesor del Dpto. de Ing. Bioquímica en la Universidad Autónoma de Aguascalientes, México [javier.araza@edu.uaa.mx](mailto:javier.araza@edu.uaa.mx)

<sup>4</sup> Iliana E. Medina Ramírez es Profesora del Dpto. de Química en la Universidad Autónoma de Aguascalientes, México [ernestina.medina@edu.uaa.mx](mailto:ernestina.medina@edu.uaa.mx)

<sup>5</sup> Angelina Lizbeth Montañez Flores Profesor del Dpto. de Microbiología en la Universidad Autónoma de Aguascalientes, México [angelina.montanez@edu.uaa.mx](mailto:angelina.montanez@edu.uaa.mx)



## Metodología

### *Muestras:*

Se trabajó con anticuerpo policlonales anti-estreptomicina (anti-STRP) (obtenidos previamente de la inmunización con STRP acoplada a la proteína hemocianina de lapa californiana -KLH-).

Los anticuerpos se usaron para detectar antibióticos aminoglucósidos mediante Dot blot y por sistema ELISA en influentes y efluentes de aguas residuales de origen municipal del Estado de Aguascalientes.

### *Reactividad de anticuerpos policlonales anti-estreptomicina:*

Para demostrar la reactividad de los anticuerpos frente a antibióticos aminoglucósidos, se realizaron Dot blot frente a diversos antibióticos de este grupo. Para desarrollar la técnica se emplearon membranas de nitrocelulosa (Whatman™, PROTRAN BA 85 Nitrocellulose) (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemania). 2 µl (1x2) (600 µg/µl) de cada antibiótico de este grupo (c/u por separado (estreptomicina, neomicina, kanamicina, paramomicina). Después de un bloqueo de la membrana con leche 5%, se incubó la membrana por 1 h con anticuerpos policlonales a probar anti-STRP (dilución 1:2500). Posterior a esto, la membrana se incubó con anti-IgG de conejo (dilución 1:5000) el cual tenía unida fosfatasa alcalina (Zymed, San Francisco, EUA). Como sustrato de la enzima, se utilizó BCIP/NBT con el cual se obtiene un color violeta como producto de la reacción. Se usó agua destilada como control negativo.

### *Especificidad:*

Para verificar la especificidad, se realizó la prueba Dot blot con los anticuerpos anti-STRP, siguiendo el protocolo descrito anteriormente. Se ensayaron antibióticos pertenecientes a diversas familias de antibióticos que no fueran aminoglucósidos (cefalexina, claritromicina, ciprofloxacina, amoxicilina), así como otros fármacos (metisopronol). Como control negativo se utilizó agua residual sin antibióticos aminoglucósidos; para obtener esta, a una muestra de agua residual se le ajustó pH = 2 con HCl 4 N y se calentó 15 min a ebullición y posterior neutralización a pH=7.0 con NaOH (Rodríguez-Álvarez, 2002).

### *Detección de antibióticos aminoglucósidos en aguas residuales:*

Mediante Dot blot se analizaron muestras de aguas residuales (influyente y efluente) tomadas de plantas tratadoras de Aguascalientes con los dos tipos de anticuerpos policlonales que se tenían: anti-STRP (dilución 1:2500).

### *Desarrollo de ELISA para detectar antibióticos aminoglucósidos:*

Los anticuerpos anti-STRP puros se conjugaron con un éster de la biotina utilizando el compuesto denominado sulfo-N-hidroxi-succinimida biotinamido caproato (BAC-Sulfo-NHS). Para esto se utilizó el estuche comercial Immunoprobe™ Biotinylation (Sigma-Aldrich). Posteriormente se separaron los anticuerpos biotinilados de los que no reaccionaron por un proceso de filtración rápida en el que se utilizó una columna de filtración en gel empaquetada con Sephadex. Con los anticuerpos anti-STRP biotinilados se desarrolló un sistema ELISA tipo sándwich utilizando el sistema de amplificación biotina-ExtrAvidina, donde la ExtrAvidina se encontraba marcada con peroxidasa de rábano. En esta técnica desarrollada, anticuerpos anti-STRP sin marcar, actuaron como anticuerpos de captura del antígeno problema (STR). Los antígenos fueron reconocidos por los mismos anticuerpos conjugados con la biotina y el complejo formado se detectó con el conjugado de ExtrAvidina/peroxidasa®.

La validación del sistema ELISA se realizó según parámetros propuestos por ICH Harmonised Tripartite Guideline Q2 (R1) (2015): precisión, exactitud, reproducibilidad, límite de detección y especificidad.

**Curva de Calibración:** Se preparó una curva estándar mediante análisis de muestras de agua residual sin antibióticos aminoglucósidos, a las que se añadieron concentraciones conocidas de Strp (0.0%, 0.10%, 0.5%, 1.0%, 2.5%, 5.0 %, 10.0%, 15 y 20% p/v). Cada concentración se analizó por triplicado, durante 3 días consecutivos.

**Precisión:** se analizaron muestras de agua adulterada artificialmente con STRP. Se compararon los valores obtenidos y los esperados, se obtuvo la desviación estándar (DS) y el coeficiente de variación (CV) que se esperaba fuera menor o igual a 15.

**Exactitud:** Se realizó la prueba de t de Student a los valores obtenidos en la prueba de precisión.

**Reproducibilidad:** son los resultados de análisis de muestras de agua adulteradas con STRP artificialmente con un 10% STRP. Las mediciones las hicieron dos analistas diferentes en 9 días diferentes y analizadas por ANOVA

**Límite de detección (LD) y cuantificación (LC):** se aplicó la fórmula:  $LD = 3.3 SD / S$  y  $LC = 10 SD / S$  donde SD = desviación estándar de la respuesta obtenida (concentración) de un blanco (muestras sin SQ) y S es igual a la pendiente de la curva de calibración.

**Especificidad:** se analizaron 10 muestras de agua residual por triplicado sin antibióticos aminoglucósidos. El resultado esperado es que no hubiese reacción por parte de los anticuerpos.



### *Detección de antibióticos aminoglucósidos en agua residual por el sistema ELISA.*

Se llevó a cabo la determinación cuantitativa de aminoglucósidos (estreptomina) en muestras de agua residual de fuentes diversas mediante el sistema ELISA descrito con anterioridad. Las muestras analizadas fueron tomadas de plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) de origen municipal de diversas comunidades, colonias y fraccionamientos; así mismos una de un parque industrial (PIVA) y de dos presas que reciben aguas residuales tratadas de origen municipal. Todo esto en siete municipios del Estado de Aguascalientes, los cuales se muestran en la tabla 2. Las muestras se pusieron en bolsas estériles para toma de muestras biológicas. Las muestras tomadas para su traslado a laboratorio se conservaron a temperatura menor o igual a 4°C y se procesaron inmediatamente después de la toma de muestra.

## **Resultados y discusión**

El objetivo de este trabajo fue desarrollar y aplicar un método a base de anticuerpos para detectar rápidamente y con alta sensibilidad la presencia aminoglucósidos en agua residual de origen municipal, para ello, se emplearon anticuerpos policlonales anti-STRP dado que la opción de epítomos a los cuales puede unirse el anticuerpo es diversa, ya que éstos forman una mezcla heterogénea de anticuerpos que reconocen numerosos epítomos sobre un solo antígeno (Rosenberg, 2006), a pesar de las condiciones a las que sea sometido el medio en el cual se encuentra presente el antígeno, en este caso a cambios de pH, temperatura, contaminantes, entre otras, ocasionando cambios químicos y en la estructura de los epítomos,

### *Reactividad y especificidad de los antiuerpos anti-STRP*

Se comprobó la especificidad de los anticuerpos anti-STRP frente a antibióticos aminoglucósidos, lo cual se observa en la figura 1, ya que los anticuerpos dieron reacción positiva con los antibióticos de este grupo y no se presentó reacción con antibióticos de otras familias o con otros fármacos.

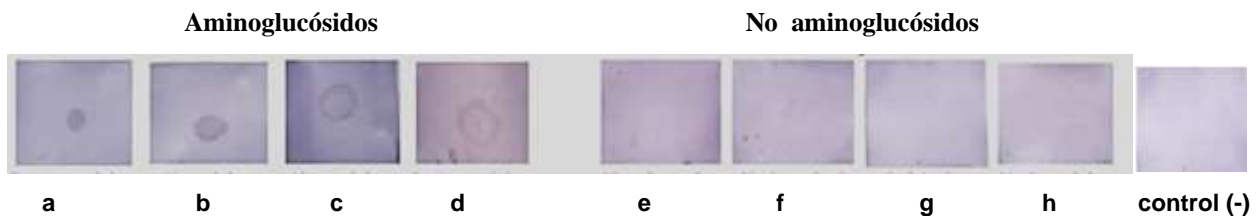


Figura 1: Dot blot para ver reactividad y especificidad de anticuerpos policlonales anti-Strp de se usaron diferentes antibióticos aminoglucósidos (a) estreptomina, (b) Neomicina, (c) kanamicina, (d) paromomicina. Se usaron fármacos de otras familias (e) claritromicina, (f) metisoprinol, (g) clindamicina y (h) ciprofloxacina dilución del primer anticuerpo (IgG anti-STRP) 1:1,000, Dilución del segundo anticuerpo (anti-IgG de conejo) 1:5,000.

El que los anticuerpos anti-STRP reaccionaran con otros antibióticos aminoglucósidos se ve justificado por el hecho de que, al pertenecer a la misma familia, éstos poseen estructuras muy similares y por lo tanto comparten epítomos que fueron capaces de ser detectados por los anticuerpos policlonales que se tenían.

Mediante Dot blot realizado a muestras de agua PTAR del Estado de Aguascalientes, se observó que los anticuerpos anti-STRP, detectaron presencia de antibióticos aminoglucósidos en influentes y efluentes en las muestras de aguas de diferentes PTAR. (Tabla 1).













PTAR	Influente	Efluente
Jesús María		
Calvillo		
Cd. Aguascalientes		
Pabellón de Arteaga		
San Fco. de los Romo		
Rincón de Romos		

Tabla 1. Dot blot de aguas de PTAR del Estado de Aguascalientes con anticuerpos policlonales anti-STRP (dilución 1:2500)

Lo anterior confirma la presencia de contaminación por antibióticos aminoglucósidos en las aguas de PTAR y se comprueba que las condiciones de estas muestras de agua (contaminantes, temperatura, pH), no afecta la reactividad de los anticuerpos. Las influentes se marcaron con mayor intensidad (la intensidad correlaciona con la concentración). Las aguas influentes son el flujo de entrada y los efluentes de salida. Es importante mencionar que no se puede afirmar que esto sea porque hubo una degradación o remoción del fármaco por el tratamiento de aguas, puesto que la toma de muestras de influente y efluente de cada PTAR se tomaron el mismo día, y en las PTARs para poder remover los contaminantes del agua debe de haber un tiempo de residencia de varios días, que depende de cada PTAR, de manera que el efluente analizado no corresponde al mismo influente monitoreado

*Detección mediante sistema ELISA de antibióticos aminoglucósidos, en aguas residuales:*

El método detectó antibióticos aminoglucósidos y tuvo una sensibilidad de 1 µg/µl de STR, el tiempo de análisis fue de 3.5 h. El sistema ELISA desarrollado resultó ser preciso (se tuvo un CV = 0.057 ≤,15) El sistema también fue específico sólo para antibióticos aminoglucósidos. Este inmunoensayo también fue exacto y reproducible.

En la detección de antibióticos aminoglucósidos, se encontraron concentraciones desde 0.5 µg/ml hasta 13 µg/ml en los influentes de plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR), lo cual se aprecia en la figura 2. La mayoría de los influentes de las PTAR tuvieron una concentración de 4-6 µg/ml de este tipo de antibióticos. Se observó que la cantidad de los antibióticos aminoglucósidos disminuye en todos los casos en los efluentes, pero sigue presente en estos; las concentraciones que se detectaron en la mayoría de estos fueron de 1-3 µg/ml, con excepción de la PTAR del Cedazo en la que el efluente tuvo una concentración de 6 µg/ml. En el caso de las presas analizadas la concentración de aminoglucósidos fue menor (0.25 y 0.3 µg/ml) en comparación con la PTAR. Los datos que se presentan son el promedio de muestras analizadas por triplicado.

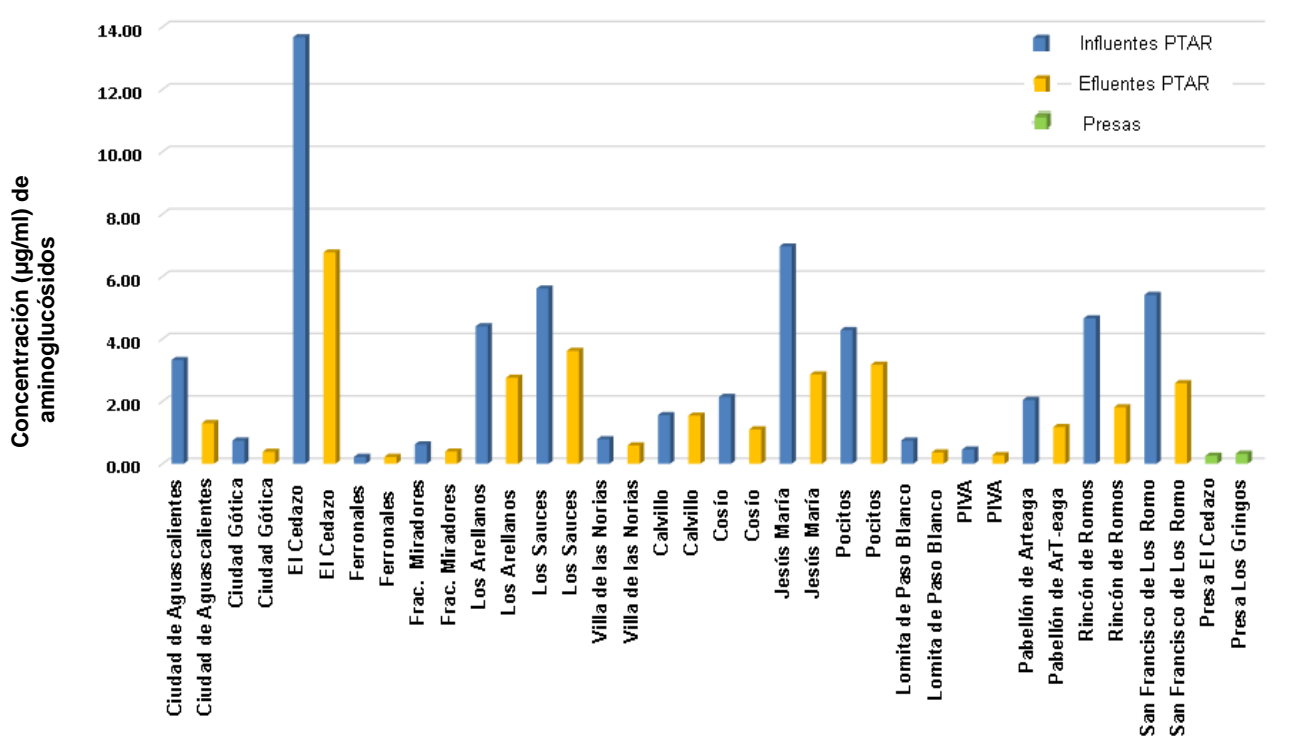


Figura 2. Detección mediante sistema ELISA de aminoglucósidos en aguas de plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) de origen municipal del Estado de Aguascalientes y de presas.

### Conclusiones

Es crucial la detección constante de antibióticos en las aguas residuales, para así buscar el desarrollo de nuevas estrategias de consumo, descarga, disposición y eliminación para los antibióticos, todo lo anterior con la finalidad de disminuir los efectos futuros en el medio ambiente.

En el presente trabajo se logró usar anticuerpos anti-STRP para la detección de antibióticos aminoglucósidos comprobando su reactividad con el uso del método de dot blot. Mediante un sistema ELISA tipo sandwich se pudieron cuantificar antibióticos aminoglucósidos en muestras de agua residual de diferentes PTAR. Este sistema desarrollado podría ser empleado como método de detección y cuantificación de antibióticos aminoglucósidos presentes en muestras de agua residual, previo y posterior a su tratamiento, con el fin de alcanzar su futura regulación.

### Referencias

Barceló, D. y Petrovic, M. "Emerging contaminants for industrial and municipal waste: occurrence, analysis and effects. Berlín: Springer. 3-4, 13, 16-17, 20-21, 23-24 pp. 2008.

ICH Harmonised Tripartite Guideline. "Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology Q2 (R1)," 2015. Consultada por internet el 4 junio del 2021. Dirección de internet: <http://www.tga.gov.au/docs/pdf/tgmp0201g.pdf>. 2015.

Meléndez J, García Y, Galván V, Díaz de León L, Vargas K, Mejía J, Flores R. "Contaminantes emergentes. Problemática ambiental asociada al uso de antibióticos, remediación y perspectivas de legislación en América Latina". *Revista de Salud Ambiental*. Vol 20. No.1. 2020.

OMS-UNICEF. "Progresos en Materia de agua potable, saneamiento e higiene. Organización Mundial de la Salud y el Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF)", 2017. Consultada por internet el 10 octubre del 2023. Dirección de internet: [https://www.unicef.org/sites/default/files/2019-01/Progress\\_on\\_Drinking\\_Water\\_Sanitation\\_and\\_Hygiene\\_2017\\_SP.pdf](https://www.unicef.org/sites/default/files/2019-01/Progress_on_Drinking_Water_Sanitation_and_Hygiene_2017_SP.pdf). 2017.

Peña-Álvarez A. y A. Castillo-Alanis "Identificación y cuantificación de contaminantes emergentes en aguas residuales por microextracción en fase sólida-cromatografía de gases-espectrometría de masas (MEFS-CGEM)," TIP. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, Vol. 18, No.1, 2015.

Rodríguez A. M. "Aminoglucosidos," *Enfermedades Infecciosas y Microbianas*. Vol. 22, No. 1, 2002.

Ventola, C. L. "The Antibiotic Resistance Crisis Part 1 : Causes and Threats,," *Pharmacy and Therapeutics*. Vol. 40, No.4, 2015.

Wong, A., Santos, A. M., Cincotto, F. H., Moraes, F. C., Fatibello-Filho, O., y M. D. P. T. Sotomayor, "A new electrochemical platform based on low cost nanomaterials for sensitive detection of the amoxicillin antibiotic in different matrices," *Talanta*, Vol. 206, 2020

# Estandarización de los Modelos de Diabetes Mellitus Tipo 1 y Tipo 2 Inducidos con Aloxano en Ratones Albinos CD1

pQFB Elián García Macedas<sup>1</sup>, Dr. en C. Honorio Torres Aguilar<sup>2</sup>, Dr. en C. Fernando Mejía Zarate<sup>3</sup>, Dr. en C. Francisco Emanuel Velásquez Hernández<sup>4</sup>, M. en C Antonio Canseco Urbieto<sup>5</sup>, Dr. en C. Arturo Zapién Martínez<sup>6</sup>, ©Dra. en C. Ivonne Arisbeth Diaz Santiago<sup>7</sup>

**Resumen**— El objetivo de la presente investigación fue estandarizar un modelo de Diabetes Mellitus (DM) en ratones CD1 implementando aloxano, fármaco selectivo que destruye las células productoras de insulina generando hiperglucemia. Se utilizaron 15 ratones de 8 a 10 semanas de edad; a 5 ratones se les administró una solución buffer (Control), 5 ratones fueron tratados con una dosis de aloxano de 200 mg/kg (Grupo DM1) y 5 ratones con dosis de 160 mg/kg con modificación de la dieta (Grupo DM2). Los animales inducidos a DM generaron hiperglucemia a partir de las 48 h,  $343 \pm 82.77$  mg/dL para DM1 ( $p < 0.005$ ) y  $543.2 \pm 15.2$  mg/dL para DM2 ( $p < 0.005$ ). La concentración de hemoglobina glicosilada fue de 3.2 % en el control, 5.1 % para el grupo DM1 y 6.1 % para el grupo DM2 ( $p < 0.005$ ). Los grupos diabéticos mantuvieron el estado hiperglucémico durante 2 meses, manifestaron polidipsia, caquexia, glucosuria y poliuria.

**Palabras clave**—Diabetes, Hiperglucemia, Aloxano, Triglicéridos, Hemoglobina glicosilada.

## Introducción

La DM es una de las enfermedades más prevalentes, se caracteriza por un descontrol en los niveles glucémicos y es consecuencia de muchas patologías y agravamientos de enfermedades cardiovasculares, nefropatía diabética, neuropatía diabética, retinopatía diabética, cetoacidosis diabética y pie diabético (American Diabetes Association, 2014). La falta de actividad física, una implementación de una dieta desfavorable para la salud es de las primeras causas de este problema. La DM se clasifica en Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1), por destrucción autoinmune de las células  $\beta$  de los islotes pancreáticos y Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) por resistencia a la insulina. En ambas categorías se manifiesta una alteración en la secreción de insulina (American Diabetes Association, 2016).

### Antecedentes

La falta de cultura de una dieta saludable y actividad física promueven el sobrepeso y obesidad, factores predisponentes que contribuyen al incremento de personas enfermas de DM. En México la DM es una de las principales causas de muerte, con una prevalencia del 9.4 % (Mora, 2014). La Federación Internacional de Diabetes (FID) determinó que en el 2019 al menos 463 millones de personas padecían de DM (Federación Internacional de Diabetes, 2019).

<sup>1</sup> Elián García Macedas es pasante de la licenciatura en Químico Farmacéutico Biólogo, egresado de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma “Benito Juárez” de Oaxaca. México. [garciamacedas2000@gmail.com](mailto:garciamacedas2000@gmail.com)

<sup>2</sup> Honorio Torres Aguilar es Dr. en C. en Biomedicina Experimental, Profesor Investigador Titular de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma “Benito Juárez” de Oaxaca. México. [qbhonorio@hotmail.com](mailto:qbhonorio@hotmail.com)

<sup>3</sup> Fernando Mejía Zarate es Dr. en C. profesor de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma “Benito Juárez” de Oaxaca. México. [ferfeq@gmail.com](mailto:ferfeq@gmail.com)

<sup>4</sup> Francisco Emanuel Velásquez Hernández Dr. en C. es profesor de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma “Benito Juárez” de Oaxaca. México. [Velasquez3012@outlook.com](mailto:Velasquez3012@outlook.com)

<sup>5</sup> Antonio Canseco Urbieto es M. en C profesor de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma “Benito Juárez” de Oaxaca. México. [urbieto.qfb@gmail.com](mailto:urbieto.qfb@gmail.com)

<sup>6</sup> Arturo Zapién Martínez es Dr. en C profesor de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma “Benito Juárez” de Oaxaca. México. [zaarma@yahoo.com](mailto:zaarma@yahoo.com)

<sup>7</sup> Ivonne Arisbeth Diaz Santiago es ©Dra. en C. en Biomedicina Experimental, Profesora de asignatura de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma “Benito Juárez” de Oaxaca. México. [dsariv@gmail.com](mailto:dsariv@gmail.com) (autor correspondiente)

La implementación de modelos experimentales para el estudio de las complicaciones diabéticas ha permitido entender causas y consecuencias, ayuda en el diagnóstico y fortalece el avance de tratamientos para el control de este síndrome metabólico. Autores (Figuroa et al. 2013, Inocente et al. 2015, Justil et al. 2015 y Sosa et al. 2021) han implementado dosis de entre 100 mg/kg a 200 mg/kg para lograr un efecto citotóxico e inducir a DM.

## Metodología

### *Animales de experimentación*

Se utilizaron 15 ratones macho de 8 a 10 semanas de edad, con un peso mayor a 25 g.

### *Tratamiento*

A 5 ratones se les administró 0.30 mL de una solución buffer de citrato pH=4.5 (Grupo Control). 5 ratones se indujeron a DM1 mediante la administración i.p. de 200 mg/kg de aloxano (Grupo DM1) y 5 ratones fueron inducidos a DM2 mediante la administración i.p. de 160 mg/kg de aloxano y una implementación de dieta hipercalórica que consistía en solución de sacarosa al 10 % y una dieta modificada con pellets enriquecidos con carbohidratos y grasa (Grupo DM2).

### *Cuantificación de glucosa*

Se determinó mediante un glucómetro de la marca ACCU-CHEK Active. La primera medición de glucosa se realizó antes de la aplicación del aloxano (0 h) y posterior a la aplicación del aloxano (2, 6, 12, 24 y 48 h, hasta los 15, 30 y 60 días).

### *Cuantificación del peso corporal*

Se determinó a partir del día 0 antes de la administración del aloxano y posterior a la administración cada 15 días durante 2 meses.

### *Muestra sanguínea para realización de pruebas de laboratorio (glucosa, triglicéridos, hemoglobina glicosilada)*

La recolección de muestra sanguínea se obtuvo de la vena caudal. Se utilizó tubo amarillo con gel separador para pruebas de glucosa y triglicéridos, el tubo lila con EDTA se utilizó para determinar pruebas de hemoglobina glicosilada. La determinación de hemoglobina y triglicéridos se realizó a los 2 meses.

### *Muestras urinarias para realización de pruebas químicas en orina (Glucosa, proteínas y cetonas)*

La recolección de muestra de orina se obtuvo mediante el proceso biológico de micción y se resguardó en tubos eppendorf. Se tomó una porción de la muestra y se colocó una pequeña gota sobre las áreas reactivas para glucosa, cetonas y proteínas.

### *Curva de tolerancia oral a la glucosa*

Se realizó a los 3 meses después del efecto diabetogénico mediante la administración oral de 3g/kg de dextrosa. Se realizaron mediciones previo a la administración de la dextrosa y posteriormente cada 30 min durante 150 min.

## Resultados

### *Cuantificación de glucosa*

La Figura 1 muestra el comportamiento de los niveles glucémicos. Los grupos DM1 y DM2 manifestaron hiperglucemia a partir de las 6 horas con una media de  $77.2 \pm 4.5$  mg/dL para DM1 y  $55 \pm 2.1$  mg/dL para DM2. A partir de las 12 horas presentaron glucemias por encima de los controles  $204 \pm 89.26$  mg/dL para DM1 y  $195 \pm 68.36$  mg/dL para DM2. Pasando las 48 horas presentaron hiperglucemia con valores que sobrepasaban la media de 250 mg/dL para ser considerados diabéticos. La figura 2 muestra el comportamiento durante los próximos 2 meses, los grupos diabéticos mantuvieron un estado hiperglucémico estable durante los primeros 30 días con una media de  $346.6 \pm 102.83$  mg/dL para DM1 y  $564.8 \pm 17.01$  mg/dL para DM2. A los 60 días se manifestó una recuperación por parte de los grupos diabéticos con una disminución de los niveles glucémicos del 51.44 % para DM1 y 59.5% para DM2.

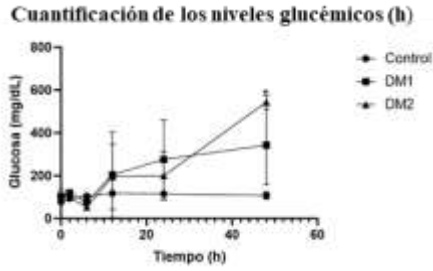


Figura 1. Comportamiento Tiempo (h)/Tratamiento de los niveles glucémicos (mg/dL) de los grupos DM1 (200mg/kg), grupo DM2 (160 mg/kg) y su control durante las 48 h del efecto diabetogénico. \* p < 0.05

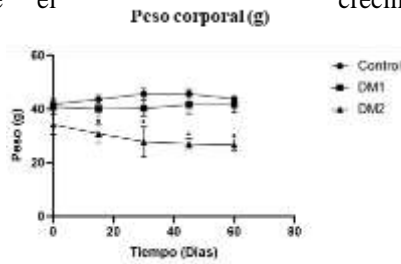


Figura 2. Comportamiento Tiempo (h)/Tratamiento de los niveles glucémicos (mg/dL) de los grupos DM1 (200mg/kg), grupo DM2 (160 mg/kg) y su control durante los próximos 2 meses del efecto diabetogénico. \* p < 0.05

Peso corporal

La Figura 3 muestra el comportamiento del peso durante los próximos 2 meses, el grupo control mantuvo un crecimiento estable, tuvo un comportamiento ascendente conforme el crecimiento de los ratones. El grupo DM1 tuvo un ligero descenso a los 15 y 30 días

de peso a 3 g de



El grupo DM2 manifestó una pérdida significativa de peso, a los 15 días manifestaron una pérdida significativa de 9.9 %, en promedio 3.4 g corporal, al primer mes tuvieron otra pérdida del 9.7 %, en promedio peso corporal, a los 2 meses perdieron en promedio 7.6 g que corresponde al 22.2%.

Figura 3. Comportamiento del peso (g) de los grupos DM1 (200mg/kg), grupo DM2 (160 mg/kg) y su control después de 2 meses del efecto diabetogénico. \* p < 0.05

Triglicéridos

La Figura 4 muestra la concentración de triglicéridos, el grupo control presentó una concentración promedio de 105.4 ± 5.14 mg/dL. El grupo DM1 presentó valores superiores al control (139.9 ± 1.71 mg/dL), sin embargo, la diferencia no es significativa comparándose con el grupo DM2 (196.9 ± 25 mg/dL).



Figura 4. Concentración de triglicéridos (mg/dL) de los grupos DM1 (200mg/kg), grupo DM2 (160 mg/kg) y su control después de 2 meses del efecto diabetogénico. \* p < 0.05

Hemoglobina glicosilada



La figura 5 muestra la concentración de hemoglobina glicosilada realizada a los 2 meses. El grupo control presentó concentraciones estables de 3.2 %. La concentración para el grupo DM1 fue del 5.1 %, mientras que para el grupo DM2 fue de 6.1 %. La diferencia de porcentajes entre el grupo DM1 y DM2 está asociada a la resistencia diabetogénica por parte del grupo DM1.

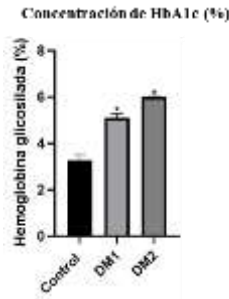


Figura 5. Concentración de hemoglobina glicosilada (mg/dL) de los grupos DM1 (200mg/kg), grupo DM2 (160 mg/kg) y su control después de 2 meses del efecto diabetogénico. \*  $p < 0.05$

### Curva de tolerancia a la glucosa

La figura 6 muestra el comportamiento de los niveles glucémicos en una curva de tolerancia a la glucosa. Los grupos diabéticos se comportaron intolerantes a la glucosa. 30 min después de la administración de la dextrosa, se alcanzaron concentraciones de 437 mg/dL para DM1 y 398 mg/dL para DM2, ambos grupos manifestaron una recuperación de los niveles de glucosa a los 150 min. El grupo control no se comportó intolerante a la glucosa.

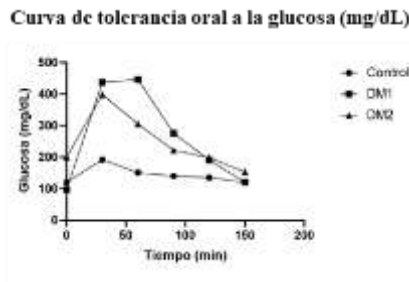


Figura 6. Curva de tolerancia oral a la glucosa (mg/dL) para 3g/kg de dextrosa de los grupos DM1 (200mg/kg), grupo DM2 (160 mg/kg) y su control después de 3 meses del efecto diabetogénico.

### Secreción de glucosa en orina

La figura 7 muestra las concentraciones de glucosa secretada en orina en una prueba realizada a los 2 meses. Los parámetros para el grupo control fueron negativos (0 mg/dL). El grupo DM1 secretó glucosa en orina con una media de 950 mg/dL, La concentración de secreción de glucosa para el grupo DM2 fue de 2000 mg/dL.

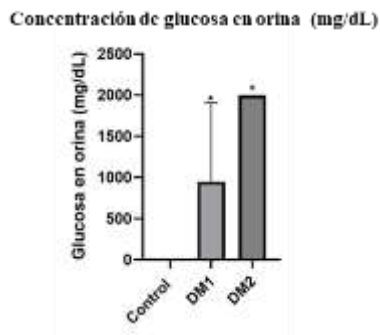


Figura 7. Concentración de glucosa en orina (mg/dL) de los grupos DM1 (200mg/kg), grupo DM2 (160 mg/kg) y su control después de 2 meses del efecto diabetogénico. \*  $p < 0.05$

### Secreción de proteínas en orina

La figura 8 muestra las concentraciones de proteínas en orina. El grupo control no secretó proteínas en orina. El grupo DM1 y el grupo DM2 secretaron 15 mg/dL.

Concentración de proteínas en  
orina (mg/dL)

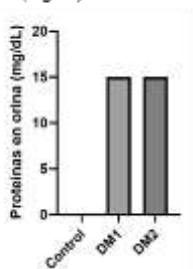


Figura 8. Concentración de proteínas en orina (mg/dL) de los grupos DM1 (200mg/kg), grupo DM2 (160 mg/kg) y su control después de 2 meses del efecto diabetogénico.

### Secreción de cetonas en orina

La figura 9 muestra las concentraciones de cetona secretadas en orina. Los grupos diabéticos DM1 y DM2 no secretaron cetonas en orina.

Concentración de cetonas en  
orina (mg/dL)

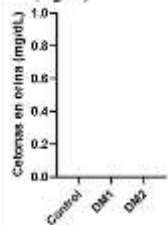


Figura 9. Concentración cetonas en orina (mg/dL) de los grupos DM1 (200mg/kg), grupo DM2 (160 mg/kg) y su control después de 2 meses del efecto diabetogénico.

### Análisis de resultados

El efecto citotóxico del aloxano provocó destrucción de las membranas de las células  $\beta$  y una liberación excesiva de insulina, lo que explica el choque hipoglucémico presentado a las 2 horas. A las 48 horas, gran parte de las células beta del páncreas habrían disminuido manifestando un estado hiperglucémico consecuente de la inhibición de síntesis de insulina. Los ratones resistentes al tratamiento presentaron un estado prediabético durante las primeras 48 horas, sin embargo, lograron estabilizar sus niveles glucémicos en los próximos 15 días. La resistencia diabetogénica solo se presentó en el grupo DM1 en un 40%. El grupo DM2, a pesar de ser tratado con una dosis más baja, fue sometido a un tratamiento con carbohidratos y grasa, de esta manera se contribuyó a la hiperglucemia y se disminuyó los índices de resistencia diabetogénica. Los grupos diabéticos manifestaron disminución de los niveles glucémicos después de 2 meses, acontecimiento que puede indicar una regeneración por parte de las células beta pancreáticas, se recomienda realizar histología del páncreas para cuantificar el número de células.

La pérdida de peso es un signo muy común en personas con DM, esta alteración se presenta cuando las células no reciben glucosa. Cuando el organismo presenta resistencia a la insulina o déficit de la misma, la glucosa no es capaz de pasar a través de la membrana plasmática de las células para la formación ATP, a cambio, descomponen grasa para obtener la energía necesaria. Algunos pacientes que desarrollan DM2 generalmente cursaron por un síndrome metabólico de obesidad, a pesar de esto, ya establecida la resistencia a la insulina pueden presentar pérdida progresiva de peso, tal fue el caso del grupo DM2.

El incremento de los niveles de triglicéridos tuvo un mayor efecto en el grupo DM2 debido a que la hiperglucemia y resistencia a la insulina activan mecanismos de secreción de ácidos grasos libres de los adipocitos. La concentración alta de triglicéridos es consecuente del efecto diabetogénico al incrementar los niveles de glucosa, así como la implementación de una dieta hipercalórica.

Los resultados de hemoglobina glicosilada determinaron que los grupos sometidos a tratamiento con aloxano desarrollaron DM, sin embargo, fue el grupo DM2 quien manifestó un mayor descontrol de los niveles glucémicos sobre el grupo DM1. Los resultados de la curva de tolerancia a la glucosa determinaron que el tratamiento con aloxano generó intolerancia a la glucosa.

### Conclusiones

Las dosis de 200 mg/dL y 160 mg/dL aplicadas a los grupos DM1 y DM2 respectivamente fueron efectivas para generar un mecanismo de formación de DM, se redujeron los índices de resistencia al efecto citotóxico del fármaco y se logró mantener una hiperglucemia mayor a los 250 mg/dL en los próximos 2 meses.

Con la inducción a DM se desarrollaron alteraciones fisiológicas como el aumento de los niveles de triglicéridos, polidipsia, poliuria, glucosuria, caquexia. No se detectó cetonemia, pero si hubo modificación del pH y secreción de proteínas, lo cual podría indicar inicios de una falla renal.

### Bibliografía

American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care*. 2016;39(Suppl 1): S13-22

American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2014;37(Suppl 1): S81-90.

Federación Internacional de Diabetes (2019). Versión Online del Atlas de la Diabetes de la FID. Novena edición 2019.

Figueroa G, M., Pérez H, I. H., & Mejía Z, R. (2013). Caracterización de un modelo de diabetes tipo 2 en ratas Wistar hembra. *REVISTA MVZ CORDOBA*, 18, 3699-370.

Inocente Camones, M. Á., Guija Poma, E., Zarzosa Norabuena, E., Loja Herrera, B., & Ponce Pardo, J. E. (2015). Efecto hipoglicemiante de los extractos acuoso y etanólico de *Psidium guajava* L. (Guayaba) en ratas diabéticas inducidas por aloxano. *Horizonte Médico*, 15.

Justil G, C., Angulo H, P., Justil G, H., & Arroyo A, J. (2015). Evaluación de la Actividad Hipoglicemiante del Extracto Acuoso de *Abuta grandifolia* (Mart.) en Ratas con Diabetes Inducida por Aloxano. *Rev Inv Vet Perú*, 26(2), 206-212.

Mora-Morales, E. (2014). Estado actual de la diabetes mellitus en el mundo. *Acta médica costarricense*, 56 (2), 44-46.

Sosa Crespo, I., Chel Guerrero, L., Acevedo Fernández, J. J., Negrete León, E., & Betancur Ancon, D. (2021). Evaluación del efecto hipoglucemiante de una fracción peptídica de las semillas de chía (*Salvia hispanica* L.) en ratas macho Wistar inducidas con aloxano. *Nutrición Hospitalaria*, 38(6).

# Síntesis de $\alpha$ -sililamidas y Evaluación *in Vitro* de su Actividad Antimicrobiana

QFB. Jonathan Mendoza Guzman<sup>1</sup>, M en C. Yared Gutiérrez Pinzón<sup>2</sup>, Dr. Gilberto Velázquez Juárez<sup>3</sup>, Dr. Alfredo Rosas Sánchez<sup>4</sup>, Dra. Sara Angélica Cortés Llamas<sup>5</sup>, Dra. Elvia Becerra Martínez<sup>6</sup>, Dr. José Miguel Velázquez<sup>7</sup>, Dra. Morelia Eunice López Reyes<sup>8</sup>.

**Resumen**—En este artículo se presentan los resultados de la síntesis y estabilización de  $\alpha$ -sililamidas, a partir de la reacción de sustitución nucleofílica entre cloruro de trimetilsilano y enolatos de amidas enolizables. Los compuestos resultantes fueron sometidos a pruebas de actividad antimicrobiana frente a cepas de interés clínico.

**Palabras clave**— organosilicio,  $\alpha$ -sililamidas, amida enolizable, antimicrobiano, pozos en agar.

## Introducción

En la química actual existe un gran interés por la síntesis e investigación de la actividad biológica de moléculas organosililadas. Principalmente en el área farmacológica por sus propiedades fisicoquímicas y estructurales. Los compuestos de organosilicio u organosililados, son compuestos orgánicos que contienen en su estructura enlaces covalentes entre átomos de carbono y silicio.<sup>1-3</sup>

La formación de enlaces C-Si es muy atractiva, ya que el silicio es el segundo elemento más abundante en la corteza terrestre, después del oxígeno. Y sin duda alguna el elemento más parecido al carbono, difiriendo en su radio atómico; 1.71 veces mayor al carbono y una electronegatividad 1.34 veces menor, que hacen que el silicio forme enlaces de mayor longitud que el carbono y enlaces más fuertes con otros heteroátomos más electronegativos que el carbono, como oxígeno y flúor. Sin embargo, al contrario que el carbono, silicio no es capaz de formar enlaces múltiples haciendo que el enlace C-Si no se forme naturalmente, por ello los mecanismos biosintéticos que conlleven a su formación en sistemas vivos aún son desconocidos.

La introducción de silicio de manera sintética a moléculas orgánicas ha mostrado efectos biológicos interesantes, y en casos particulares este cambio se ha reflejado en un incremento de la relación dosis-respuesta en fármacos, respecto a sus análogos de carbono. Surgiendo una nueva área de investigación enfocada en el estudio de la química, farmacología y toxicología de compuestos de organosilicio. Sin embargo, estas metodologías de síntesis son actualmente muy limitadas. En particular, la obtención de  $\alpha$ -sililamidas se encuentra limitada a sustituyentes sililo (Me, Et, iPr, Ph), las cuales resultan interesantes por su potencial uso como precursores de moléculas más complejas y con posible actividad biológica, las cuales hasta la fecha no han recibido ningún tipo de evaluación de actividad biológica. En este trabajo se establece la síntesis de una nueva familia de  $\alpha$ -sililamidas y la evaluación de su actividad antimicrobiana.

<sup>1</sup> QFB. Jonathan Mendoza Guzman es alumno de Maestría en ciencias en química, CUCEI, Universidad de Guadalajara, Jalisco, México. [jonathanm.guzman@alumnos.udg.mx](mailto:jonathanm.guzman@alumnos.udg.mx)

<sup>2</sup> M en C. Yared Gutiérrez Pinzón es alumno de Doctorado en ciencias en química, CUCEI, Universidad de Guadalajara, Jalisco, México. [yared.gutierrez8804@alumnos.udg.mx](mailto:yared.gutierrez8804@alumnos.udg.mx)

<sup>3</sup> Dr. Gilberto Velázquez Juárez es profesor investigador del Departamento de Química, CUCEI, Universidad de Guadalajara, Jalisco, México. [gilberto.velazquez@academicos.udg.mx](mailto:gilberto.velazquez@academicos.udg.mx)

<sup>4</sup> Dr. Alfredo Rosas Sánchez es profesor investigador del Departamento de Química, CUCEI, Universidad de Guadalajara, Jalisco, México. [alfredo.rosas@academicos.udg.mx](mailto:alfredo.rosas@academicos.udg.mx)

<sup>5</sup> Dra. Sara Angélica Cortés Llamas es profesora investigadora del Departamento de Química, CUCEI, Universidad de Guadalajara, Jalisco, México. [sara.cortes@academicos.udg.mx](mailto:sara.cortes@academicos.udg.mx)

<sup>6</sup> Dra. Elvia Becerra Martínez es especialista de Resonancia Magnética Nuclear del Centro de Nanociencias y Micro y Nanotecnologías, Instituto Politécnico Nacional, Zacatenco, Ciudad de México, México. [elmartinezb@ipn.mx](mailto:elmartinezb@ipn.mx)

<sup>7</sup> Dr. José Miguel Velázquez es profesor investigador del Departamento de Química, CUCEI, Universidad de Guadalajara, Jalisco, México. [jmiguel.velazquez@academicos.udg.mx](mailto:jmiguel.velazquez@academicos.udg.mx)

<sup>8</sup> Dra. Morelia Eunice López Reyes es profesora investigadora del Departamento de Química, CUCEI, Universidad de Guadalajara, Jalisco, México. [morelia.lopez@academicos.udg.mx](mailto:morelia.lopez@academicos.udg.mx). (Autor de correspondencia).

## Metodología

### Generalidades

La síntesis de los intermediarios y productos finales se llevó a cabo en las instalaciones del laboratorio de síntesis orgánica del departamento de química, CUCEI. El seguimiento de las reacciones fue monitoreado por RMN  $^1\text{H}$  de 60 MHz (Anasazi) y cromatografía en capa fina (CCF) utilizando láminas de aluminio revestidas de sílice SIGMA-ALDRICH 60 con indicador fluorescente 243 nm; las fases móviles utilizadas principalmente fueron las mezclas Hexano-acetato de etilo 80:20 y 90:10. La purificación de los productos finales se realizó por cromatografía en columna utilizando como fase estacionaria gel de sílice (SIGMA-ALDRICH malla 70-230) Los puntos de fusión fueron determinados en un Electrothermal MEL-TEMP. La espectroscopía infrarroja (ATR-IR) se realizó en un espectrómetro Marca Perkin Elmer Modelo Spectrum one. La espectrometría de masa de baja resolución se realizó en un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas (GC-MS, Marca Agilent5). Los espectros de resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  se determinaron en un espectrómetro TopSpin 3.6.2 Marca Bruker, (750 MHz para  $^1\text{H}$  y 189 MHz para  $^{13}\text{C}$ ). Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se dan en partes por millón (ppm) usando como referencia interna al Cloroformo-d ( $\delta = 7.2$  ppm).

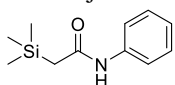
#### Etapa 1: Procedimiento general de síntesis de acetamidas

En un matraz redondo de 100 mL se disolvió la amina correspondiente (5.90 mmol) en 5 mL de diclorometano por cada mmol del reactivo limitante, enseguida se añadió anhídrido acético (7.27 mmol) a la mezcla de reacción, manteniendo en agitación a temperatura ambiente hasta terminó de la reacción. Finalizada la reacción, se trató a la mezcla con una disolución saturada de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , la fase acuosa fue desechada y la fase orgánica se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Finalmente, se eliminó el disolvente a presión reducida para obtener la acetamida deseada. En caso necesario, el producto se purificó mediante columna cromatográfica flash, utilizando como fase estacionaria gel de sílice y como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo en una proporción 95:5.

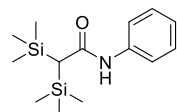
Las amidas enolizables sintetizadas fueron completamente caracterizadas y sus datos espectroscópicos coinciden con los informados en la literatura.

#### Etapa 2: Procedimiento general de síntesis de $\alpha$ -sililamidas

En un matraz redondo de 100 mL bajo atmósfera inerte, se disolvió  $\text{NH}(\text{iPr})_2$  (22.17 mmol) en THF anhidro (30 mL); a  $-78$  °C y se adicionó n-BuLi (22.17 mmol, 2.5 M en hexano). La reacción se mantuvo en agitación durante 30 min a  $-78$  °C. Posteriormente a la misma temperatura fue añadida lentamente a la amida correspondiente (7.40 mmol) previamente disuelta en 10 mL de THF anhidro en otro matraz redondo de 100 mL bajo atmósfera inerte y se dejó en agitación durante 1h. Transcurrido este tiempo, se agregó lentamente  $\text{TMSCl}$  (22.17 mmol) y después de 1h se calentó la mezcla de reacción a temperatura ambiente, quedando en agitación durante 3h. La mezcla de reacción fue extraída con 20 mL de acetato de etilo, la fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y el disolvente fue evaporado bajo presión reducida. Finalmente, el producto se purificó a través de una columna cromatográfica de gel de sílice, utilizando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo en una proporción 95:5.



TMSCl (22.17 mmol) y después de 1h se calentó la mezcla de reacción a temperatura ambiente, quedando en agitación durante 3h. La mezcla de reacción fue extraída con 20 mL de acetato de etilo, la fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y el disolvente fue evaporado bajo presión reducida. Finalmente, el producto se purificó a través de una columna cromatográfica de gel de sílice, utilizando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo en una proporción 95:5.

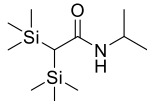


#### Datos espectroscópicos

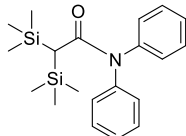
*N*-fenil-2-(trimetilsilil)acetamida (**2a**): Obtenido como un sólido blanco. **P.f** = 116-117 °C. **IR** (ATR): 3290, 3024, 2960, 1671  $\text{cm}^{-1}$ .  **$^1\text{H}$ -RMN (750 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm)** = 7.47 (dd,  $J = 8.0$  Hz, 2H, CH), 7.28 (m,  $J = 7.7$  Hz, 3H, CH), 7.07 (dd,  $J = 7.4$  Hz, 1H, CH), 1.95 (s,  $J_{\text{Si-H}} = 59.42$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 0.17 (s,  $J_{\text{Si-H}} = 59.42$  Hz, 9H, SiCH<sub>3</sub>).  **$^{13}\text{C}$ -RMN (189 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm)** = 171.16, 152.10, 147.48, 138.41, 119.27, 114.17, 30.72, -1.33. **ESI-MS  $m/z$  (%)**: 208.1 (54) [ $\text{M}^+ + 1$ ] 192.1 (100) [ $\text{M}^+ - \text{CH}_3$ ].

*N*-fenil-2,2-bis(trimetilsilil)acetamida (**3a**): Obtenido como un sólido blanco. **P.f** = 129-130 °C. **IR** (ATR): 3288, 3050, 2957, 1633  $\text{cm}^{-1}$ .  **$^1\text{H}$ -RMN (750 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm)** = 7.43 (dd,  $J = 8.3$  Hz, 2H, CH), 7.27 (dd,  $J = 7.8$  Hz, 2H, CH), 7.05 (dd,  $J = 7.4$  Hz, 1H, CH), 6.99 (s, 1H, NH), 1.49 (s,  $J_{\text{Si-H}} = 53.26$  Hz, 1H, CH), 0.19 (s,  $J_{\text{Si-H}} = 58.94$  Hz, 18H, SiCH<sub>3</sub>).  **$^{13}\text{C}$ -RMN (189 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm)** = 172.44, 138.62, 129.00, 123.81, 120.05, 35.02, 0.20. **ESI-MS  $m/z$  (%)**: 280.1 (100) [ $\text{M}^+ + 1$ ] 264.1 (73.8) [ $\text{M}^+ - \text{CH}_3$ ].

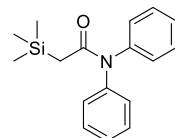
*N*-bencil-2,2-bis(trimetilsilil)acetamida (**3b**): Obtenido como un sólido blanco. **P.f** = 100-102 °C. **IR** (ATR): 3290, 3040, 2960, 1616 cm<sup>-1</sup>. **<sup>1</sup>H-RMN (750 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm)** = 7.29 – 7.18 (m, 5H, **CH**), 5.43 (s, 1H, **NH**), 4.33 (d, *J*<sub>N-H</sub> = 68.46 Hz, *J* = 4.3 Hz, 2H, **CH<sub>2</sub>**), 1.25 (s, *J*<sub>Si-H</sub> = 4.05 Hz, 1H, **CH**), 0.07 (d, *J* = 3.5 Hz, *J*<sub>Si-H</sub> = 59.15 Hz, 18H, **SiCH<sub>3</sub>**). **<sup>13</sup>C-RMN (189 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm)** = 173.54, 139.24, 128.70, 128.13, 127.41, 44.01, 33.43, 0.20. **ESI-MS m/z (%)**: 294.1 (100) [M<sup>+1</sup>] 278.1 (77.7) [M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>].



*N*-(piridin-2-il)-2-(trimetilsilil)acetamida (**2c**): Obtenido como un sólido blanco. **P.f** = 109-110 °C **IR** (ATR): 3221, 3034, 2960, 1642 cm<sup>-1</sup>. **<sup>1</sup>H-RMN (750 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm)** = 9.25 (d, *J* = 20.27 Hz, 1H, **NH**), 8.66 (d, *J* = 20.3 Hz, 1H, **CH**), 8.27 – 8.19 (m, 2H, **CH**), 7.72 – 7.64 (m, 1H, **CH**), 7.04 – 6.97 (m, 1H, **CH**), 1.98 (s, *J*<sub>Si-H</sub> = 59.90 Hz, 2H, **CH<sub>2</sub>**), 0.13 (s, *J*<sub>Si-H</sub> = 59.92 Hz), 9H, **SiCH<sub>3</sub>**). **<sup>13</sup>C-RMN (189 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm)** = 171.26, 152.19, 147.58, 138.50, 119.37, 114.26, 30.82, -1.23. **ESI-MS m/z (%)**: 209.1 (100) [M<sup>+1</sup>].



*N,N*-isopropil-2,2-bis(trimetilsilil)acetamida (**2e**): Obtenido como un sólido blanco. **P.f** = 153-152 °C **IR** (ATR): 3296, 3061, 2960, 1616 cm<sup>-1</sup>. **<sup>1</sup>H-RMN (750 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm)** = 4.97 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, **NH**), 4.02 (m, *J* = 8.1, 6.5 Hz, 1H, **CH**), 1.20 (s, 1H, **CH**), 1.10 (d, *J* = 6.7 Hz, 7H, **CH<sub>3</sub>**), 0.12 – 0.07 (s, *J*<sub>Si-H</sub> = 59.75 Hz, 18H, **SiCH<sub>3</sub>**). **<sup>13</sup>C-RMN (189 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm)** = 172.81, 41.55, 33.63, 23.44, 0.29. **ESI-MS m/z (%)**: 246.1 (73.3) [M<sup>+1</sup>] 230.1 (100) [M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>].



*N,N*-difenil-2,2-bis(trimetilsilil)acetamida (**3d**): Obtenido como un sólido blanco. **P.f** = 118-119 °C. **IR** (ATR): 3066, 2954, 1642 cm<sup>-1</sup>. **<sup>1</sup>H-RMN (750 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm)** = 7.53 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, **CH**), 7.41 (m, *J* = 22.9, 7.7 Hz, 8H, **CH**), 2.05 (s, *J*<sub>Si-H</sub> = 56.46, 1H, **CH**), 0.30 (d, *J* = 1.5 Hz, *J*<sub>Si-H</sub> = 58.68 Hz, 18H, **SiCH<sub>3</sub>**). **<sup>13</sup>C-RMN (189 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm)** = 174.19, 144.54, 143.70, 129.63, 129.47, 128.86, 127.53, 127.06, 125.74, 29.81, 0.71. **ESI-MS m/z (%)**: 356.2 (100) [M<sup>+1</sup>].

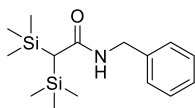
*N,N*-difenil-2-(trimetilsilil)acetamida (**3e**): Obtenido como un sólido blanco. **P.f** = 49-50 °C. **IR** (ATR): 3066, 2928, 1658 cm<sup>-1</sup>. **<sup>1</sup>H-RMN (750 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm)** = 7.35-7.23 (m, *J* = 7.9 Hz, 10H, **CH**), 2.03 (s, *J*<sub>Si-H</sub> = 59.98 Hz, 2H, **CH<sub>2</sub>**), 0.12 (s, *J*<sub>Si-H</sub> = 59.18 Hz, 9H, **CH<sub>3</sub>**). **<sup>13</sup>C-RMN (189 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm)** = 172.99, 144.15, 143.48, 129.44, 129.26, 128.97, 127.39, 126.87, 125.93, 27.42, -0.68. **ESI-MS m/z (%)**: 284.1 (100) [M<sup>+1</sup>] 230.1 (45) [M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>].

### Etapa 3: Evaluación de actividad antimicrobiana de α-sililamidas

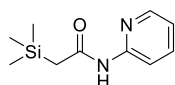
Las α-sililamidas se probaron para inhibir el crecimiento bacteriano utilizando cuatro cepas: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* (bacteria Gram+), *Salmonella enterica* y *Serratia marcescens* (bacteria Gram-). Se colocaron 5 mL de inóculo de cada cepa bacteriana cultivada en medio Trypticasein Broth (T.S.B.) a 37°C en una incubadora hasta alcanzaron una densidad óptica de 600 nm de 0.5 ± 0.02 unidades. Posteriormente, se inocularon 200 µL de estos cultivos en 25 mL de agar TSB fundido. Este agar se colocó en cajas Petri y se mantuvo a temperatura ambiente hasta su completa solidificación. En cada placa se realizaron pocillos de 0.8 cm de diámetro y cada pocillo se llenó con 50 µL de cada muestra a una concentración de 200 mg/mL. Como control positivo, se colocó en el centro 50 µL de kanamicina a 35 µg/mL. Las placas se mantuvieron a 4 °C durante 16 h para permitir la difusión de las muestras en agar. Después, las placas se incubaron a 37 °C durante 36 h, y finalmente se midieron los halos de inhibición observados.<sup>4</sup>

### Discusión de Resultados

Jagessar y Rampersaud (2008) realizaron un estudio de la actividad antimicrobiana de las amidas: p-bromoacetanilida, acetanilida, nitrobenzamida y benzamida. Utilizando la técnica de sensibilidad a la difusión en disco de Stokes y el método de vertido en placa descubrieron que todos los compuestos, con excepción de la benzamida, exhibieron actividades tanto antibacterianas como antifúngicas.



En este estudio hacemos una comparación de la actividad antimicrobiana de nuestra serie de acetamidas cuando tenemos a silicio como sustituyente Sililo (Me<sub>3</sub>) en posición α, ya que se ha observado que en otra clase de compuestos la introducción de silicio ha resultado un incremento de la actividad biológica.

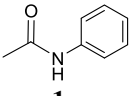
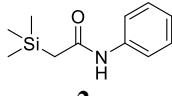
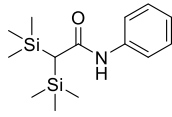
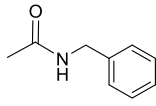
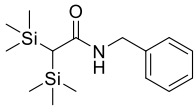
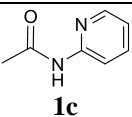
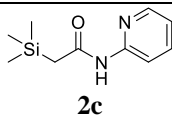
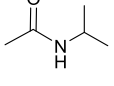
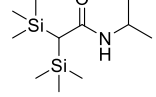
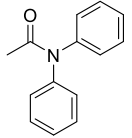
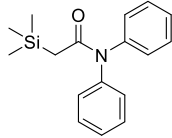
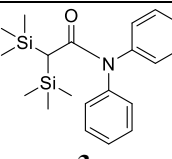




Por lo cual, se procedió a la síntesis de una familia de acetamidas con la finalidad de introducir a silicio (-SiMe<sub>3</sub>) en posición  $\alpha$  a través de una reacción de sustitución nucleofílica entre la acetamida de interés y TMSCl como fuente de silicio, la reacción fue realizada en THF anhidro en presencia de LDA a -78°C. Para su posterior evaluación de actividad antimicrobiana mediante la técnica de antibiograma pozos en agar frente a cepas de interés clínico.

Como se muestra en el cuadro 1 cuando se fijó al sustituyente R<sub>1</sub> como Hidrogeno y se comenzó sustituyendo R<sub>2</sub> por un grupo fenilo **1a** Inicialmente esperábamos la formación de una  $\alpha$ -sililamidas como único producto, sin embargo, se observó una doble sustitución nucleofílica que generó la formación de una bis- $\alpha$ -sililamida en una proporción 2:1 siendo el producto mayoritario la  $\alpha$ -sililamidas. Este mismo efecto se observó para la acetamida terciaria **1e** pero ahora en una proporción 5:1 para la formación de la  $\alpha$ -sililamidas como producto mayoritario. Cabe resaltar que en ambos casos se recuperó parte de materia prima sin reaccionar (Entrada 1 y 5).

Este efecto fue más notorio cuando se tiene como sustituyente R<sub>2</sub> un grupo bencilo **1b** y un grupo isopropilo **1d** ya que para ambos solo se observó la formación de la bis- $\alpha$ -sililamida como único producto, con un rendimiento del 43.9% y 11.7% respectivamente, recuperándose parte de la materia prima y otras impurezas no identificadas. No obstante, para **1d** se esperaba un rendimiento similar como los anteriores por lo cual se encuentra bajo investigación para mejorar el rendimiento producto (Entrada 2 y 4).

Entrada	Amida	Producto	Rendimiento (%) (Proporción 2/3)
1	 <b>1a</b>	 <b>2a</b>	69 ( <b>2a/3a</b> = 2:1)
		 <b>3a</b>	
2	 <b>1b</b>	 <b>3b</b>	43.9 ( <b>2b/3b</b> = 0:1)
3	 <b>1c</b>	 <b>2c</b>	82 ( <b>2c/3c</b> = 1:0)
4	 <b>1d</b>	 <b>3d</b>	11.7 ( <b>2d/3d</b> = 0:1)
5*	 <b>1e</b>	 <b>2e</b>	74.6 ( <b>2e/3e</b> = 5:1)
		 <b>3e</b>	
Condiciones: <b>1</b> (1 equiv), LDA (3 equiv), TMSCl (3 equiv) en 30 mL de THF a -78 °C. *Se utilizaron 2 equiv de LDA			

Cuadro 1. Síntesis de  $\alpha$ -sililamidas a partir de acetamidas enolizables.



En cambio, cuando se introduce un grupo electrodonador por medio del sustituyente *N*-(piridin-2-ilo) **1c** solo se observó la formación de la  $\alpha$ -sililamida como único producto con un rendimiento del 82%. Por lo que creemos que existe una estabilización a partir de la coordinación intramolecular de nitrógeno-silicio que explicaría este alto rendimiento y selectividad de la reacción (Entrada 5).

Basándonos en las observaciones anteriores, se propone el siguiente mecanismo para la formación de las  $\alpha$ -sililamidas que concuerda con la estequiometría que se plantea

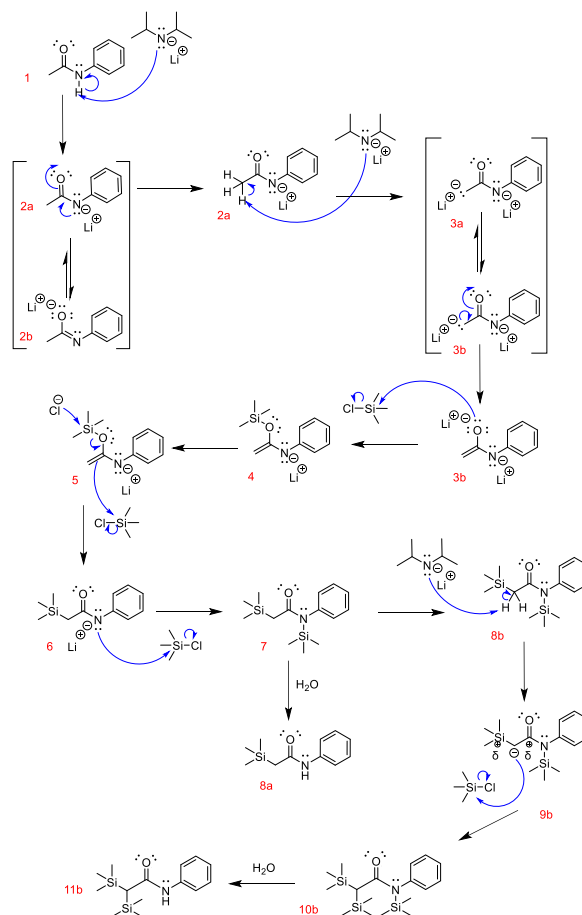
En general cada equiv. de acetamida se utilizan 3 equiv. de base y 3 equiv. de TMSCl (Esquema 1). Mediante una reacción de sustitución nucleofílica entre el TMSCl y las diferentes amidas enolizables en presencia de una base (LDA). Se piensa que de manera inicial un equivalente de la base sustrae el hidrogeno *N*-sustituido para generar un enolato intermediario **2a**, al cual mediante un segundo equivalente de la base sustrae el hidrogeno  $\alpha$  generando un  $\alpha$ -amidocarbanión **3a** estabilizado por su deslocalización  $\pi$  e iones litio en el medio de reacción. Este  $\alpha$ -amidocarbanión se adiciona nucleofílicamente sobre el TMSCl para generar un enolato de silicio tipo sililenoéter como intermediario **4**.

Que reacciona con un segundo equivalente de TMSCl al ser el electrófilo más fuerte en el medio, generando la formación del enlace C-Si en el intermediario **6**. Que a su vez reacciona con otro equivalente de TMSCl realizando una *N*-sustitución estabilizando la molécula **7**. Debido a la labilidad del enlace Si-N este enlace se rompe durante la extracción (work-up) regenerando la función amida y obteniendo el producto **8a**.

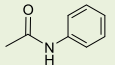
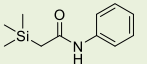
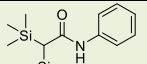
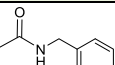
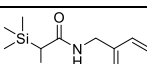
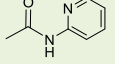
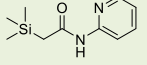
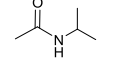
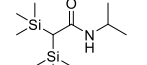
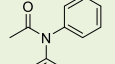
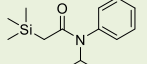
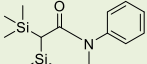
Probablemente debido la falta de impedimento estérico esta molécula y el exceso de base el intermediario **7** puede seguir reaccionando, y con la base realizando una segunda abstracción de un protón en posición  $\alpha$  **8b**, ahora estabilizado por el sustituyente sililado **9b**. Lo que permite una segunda sustitución nucleofílica por otro TMSCl en esta posición, generando una bis- $\alpha$ -sililamida. La posterior ruptura del enlace Si-N en el work-up, nos genera el producto **11b**.

### Antibiograma pozos en agar

Siguiendo la evaluación de referencia de Raymond C.Jagessar y Davendra Rampersaud en la cual amidas como **1a** demostraron efecto actimicrobiano frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.<sup>5</sup> Las  $\alpha$ -sililamidas se probaron por duplicado para inhibir el crecimiento bacteriano utilizando cuatro cepas: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* (bacteria Gram+), *Escherichia coli* y *Serratia marcescens* (bacteria Gram). Las  $\alpha$ -sililamidas se disolvieron en DMSO estéril a una concentración de 200 mg/mL y luego se analizaron en el método de difusión en pozos de agar. En general las  $\alpha$ -sililamidas exhibieron actividad inhibitoria microbiana frente S. aureus con excepción de **2a** y **2d**. Siendo la cepa más susceptible a la inhibición del crecimiento por la  $\alpha$ -sililamida **2e**. Sin embargo, la bis- $\alpha$ -sililamida **3e** no participo en el estudio debido a su insolubilidad a la concentración de estudio. Cabe resaltar que aparentemente para la



Esquema 1. Mecanismo para la formación de las  $\alpha$ -sililamidas.

Producto	Halo de inhibición en milímetros (mm)			
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. marcescens</i>	<i>E. Coli</i>
 <b>1a</b>	0.9	---	3.5	---
 <b>2a</b>	---	---	---	---
 <b>3a</b>	0.5	---	---	---
 <b>1b</b>	0.3	---	0.7	0.1
 <b>2b</b>	0.6	1.2	1.2	---
 <b>1c</b>	---	---	---	---
 <b>2c</b>	0.6	---	0.4	---
 <b>1d</b>	---	---	---	---
 <b>2d</b>	---	---	---	---
 <b>1e</b>	0.75	---	---	---
 <b>2e</b>	2.15	---	---	---
 <b>3e</b>	X	X	X	X
X = No participo en el estudio				

Cuadro 2. Evaluación de actividad antimicrobiana de las  $\alpha$ -sililamidas sintetizadas por pozos en agar.

*Pelargonium Peltatum* (Geraniaceae). *Molecules* 2022, 27 (11), 3436.

(5) Jagessar, R. C.; Rampersaud, D. Amides as Antimicrobial Agents. *New York Science Journal* 2008, 1 (1).

acetamida **1e** la incorporación del grupo sililo se vio reflejado en un aumento en la medida de su halo de inhibición. No obstante, se encuentra bajo investigación pruebas alternativas para formación de micelas en emulsión como un sistema de liberación de los compuestos antimicrobianos, ya que la alta concentración y el medio de difusión limitaron el alcance de esta prueba provocando que el experimento no fuera reproducible.

Las medias de las zonas de inhibición generadas por las  $\alpha$ -sililamidas contra *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* y *S. marcescens* se presentan en el cuadro 2.

### Conclusiones

A través de la reacción de sustitución nucleofílica entre cloruro de trimetilsilano y enolatos de amidas enolizables fue posible obtener una serie de  $\alpha$ -sililamidas estables a condiciones de aire y humedad. La *N*-(piridin-2-il)-2-(trimetilsilil)acetamida (**2c**), con el sustituyente electrodonador presento el mayor rendimiento experimental de reacción y selectividad para la formación  $\alpha$ -sililamidas. Posiblemente fue favorecido por la presencia del sustituyente electrodonador para la estabilización del grupo sililo, lo cual sería interesante su evaluación en trabajos posteriores, así como estudiar la funcionalización y estabilización de grupos funcionales sililados más reactivos que puedan ser utilizados como andamios para la formación moléculas organosililadas más complejas.

### Referencias

- (1) Ramesh, R.; Reddy, D. S. Quest for Novel Chemical Entities through Incorporation of Silicon in Drug Scaffolds. *Journal of Medicinal Chemistry*. American Chemical Society May 10, 2018, pp 3779–3798. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b00718>.
- (2) Franz, A. K.; Wilson, S. O. Organosilicon Molecules with Medicinal Applications. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2013. <https://doi.org/10.1021/jm3010114>.
- (3) Pooni, P. K.; Showell, G. A. Silicon Switches of Marketed Drugs. *Mini Rev Med Chem* 2006, 6 (10), 1169–1177. <https://doi.org/10.2174/138955706778560120>.
- (4) Alonso, A.-M.; Reyes-Maldonado, O. K.; Puebla-Pérez, A. M.; Arreola, M. P. G.; Velasco-Ramírez, S. F.; Zúñiga-Mayo, V.; Sánchez-Fernández, R. E.; Delgado-Saucedo, J.-I.; Velázquez-Juárez, G. GC/MS Analysis, Antioxidant Activity, and Antimicrobial Effect of

# Síntesis y Caracterización por RMN de $^1\text{H}$ y $^{13}\text{C}$ de dos Líquidos Iónicos de Tipo Vinilimidazolio teniendo como Anión $\text{Cl}^-$ [ $\text{VImC}_x\text{Cl}$ ] ( $x = 4$ y $8$ )

Dra. Consuelo Mendoza Herrera<sup>1</sup>, Est. Noé Escamilla González<sup>2</sup>, Dra. Laura Orea Flores<sup>3</sup>, Dr. J. Antonio Rivera Márquez<sup>4</sup>.

**Resumen**—Debido a la necesidad de tener disolventes alternativos en los diversos procesos químicos que provean seguridad en la industria química, el presente trabajo está enfocado en la síntesis de dos líquidos iónicos (LIs) de tipo vinilimidazolio [ $\text{VImC}_x\text{Cl}$ ] ( $X = 4$  o  $8$ ) con la finalidad de contribuir con sustitutos de disolventes orgánicos. Los LIs de interés fueron sintetizados a través de reacciones a reflujo bajo  $\text{N}_2$  (g) por 36 h a  $60^\circ\text{C}$ . Los productos obtenidos fueron purificados por medio de lavados con  $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$  y caracterizados mediante RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ . Todos los espectros mostraron las señales características de los LIs en estudio. Así mismo, con la finalidad de obtener los LIs en un rendimiento óptimo se realizaron pruebas variando la proporción del cloruro correspondiente, obteniendo rendimientos bajos (6 % para [ $\text{VImC}_4\text{Cl}$ ], 31 % para [ $\text{VImC}_8\text{Cl}$ ]). Esto representa un área de estudio para mejorar los rendimientos de estos LIs.

**Palabras clave**—Líquido iónico, Reacciones de síntesis, Disolventes orgánicos, Resonancia Magnética Nuclear

## Introducción

La necesidad de crear tecnologías más sostenibles en los procesos ya existentes ha llevado a encontrar nuevas rutas dentro de la industria química que faciliten algunos procesos como la síntesis orgánica, catálisis, separación y purificación sin implicar altos costes o impacto ambiental. Dadas las altas demandas de productos químicos, es inherente encontrar los medios que beneficien la selectividad y rendimiento de las reacciones químicas, por lo que dentro de este campo de investigación se encuentra la aplicación de líquidos iónicos (también llamadas sales iónicas) que sustituyan a los disolventes convencionales como el agua, metanol, acetona u otros compuestos orgánicos volátiles al conferirle mejores propiedades fisicoquímicas como lo son una buena estabilidad térmica, bajas presiones de vapor, buena capacidad para disolver numerosas sustancias, bajo punto de fusión (menor de  $100^\circ\text{C}$ ) y un atractivo potencial para ser reutilizado.

A pesar de que el primer líquido iónico fue reportado en el año de 1914 por el científico ruso Paul Walden, quién lo denominó como “sal fundida”, actualmente sus aplicaciones se han extendido en numerosas industrias como la farmacéutica, petroquímica y textil en procesos como destilación extractiva, electrólisis, limpieza de fluidos, catalizadores y reacciones de hidrodesulfurización e hidrogenación (Alvarez et al., 2012). Sin embargo, aún es necesaria una mayor investigación para determinar el efecto que las variables como temperatura, densidad, viscosidad y pureza pudieran tener sobre su óptimo desempeño a gran escala y estabilidad a diversos procesos; además, también es necesario llevar a cabo más pruebas que contribuyan en el entendimiento sobre su papel en las rutas químicas dentro de la catálisis.

Dentro de la literatura, se identifican dos tipos de líquidos iónicos: los líquidos iónicos próticos (PIL, por sus siglas en inglés) o sales de Brønsted y los líquidos iónicos apróticos (AIL) o convencionales. La diferencia entre ambas familias es su forma de obtención y la organización química (Borja, 2015), ya que si bien, están conformados por un catión orgánico y un anión que puede ser orgánico o inorgánico. Los cationes más comunes y estudiados son el colonio, amonio, fosfino, pirodino y pirrolidino; por su parte, los aniones más comunes y estudiados son los basados en hexafluorofosfato ( $\text{PF}_6^-$ ), tetrafluoroborato ( $\text{BF}_4^-$ ), trifluoroacetato ( $\text{CF}_3^- \text{COO}^-$ ), haluros ( $\text{I}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ), sulfato de metilo ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}_4\text{S}^-$ ), tosilato ( $p\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3^-$ ) y nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) (Sharma et al., 2023). Sin embargo, los líquidos iónicos no se limitan a estos compuestos y las investigaciones con respecto a otros componentes ha ido en aumento.

<sup>1</sup> La Dra. Consuelo Mendoza Herrera es Profesor-Investigador de la Facultad de Ingeniería Química, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla Pue. [maria.mendozah@correo.buap.mx](mailto:maria.mendozah@correo.buap.mx)

<sup>2</sup> El Est. Noé Escamilla González es estudiante de la Facultad de Ingeniería Química, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla Pue. [orlando.cruz@alumno.buap.mx](mailto:orlando.cruz@alumno.buap.mx)

<sup>3</sup> La Dra. Laura Orea Flores es Profesor-Investigador del Centro de Química, Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla Pue. [maria.orea@correo.buap.mx](mailto:maria.orea@correo.buap.mx)

<sup>4</sup> El Dr. J. Antonio Rivera Márquez es Profesor-Investigador de la Facultad de Ingeniería Química, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla Pue. [jrivmar@yahoo.com.mx](mailto:jrivmar@yahoo.com.mx)

Los líquidos iónicos se caracterizan por sus diversas aplicaciones entre ellas como sustitutos de los disolventes orgánicos debido reúnen varias propiedades que aportan grandes ventajas frente a otros disolventes orgánicos para que se utilicen como fase líquida en la que efectúan reacciones químicas en condiciones de operación, presión y temperatura, moderadas. No obstante, el aprovechamiento de estas ventajas potenciales para efectuar un proceso químico a escala industrial está sujeto a dos condiciones previas; su capacidad para que pueda realizarse en este medio la reacción química con resultados comparables a los obtenidos con otros disolventes orgánicos. La otra condición la establece la economía y la protección ambiental.

Con base en lo anterior, el presente trabajo tiene como objetivo preparar LIs de tipo vinilimidazolio [VImC<sub>x</sub>Cl] (X = 4 o 8) con el interés de ampliar las alternativas de disolventes que permitan tener procesos químicos en la industria química.

### Descripción del Método

En la Tabla 1 se describen los reactivos y disolventes utilizados para el desarrollo de la parte experimental.

Tabla 1: Reactivos y disolventes utilizados en este trabajo

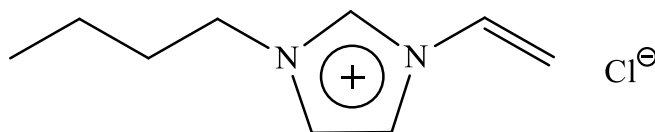
Nombre	Fórmula	Pureza [%]	Proveedor
1-vinilimidazolio	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub>	99.99	Sigma-Aldrich
Cloruro de butilo	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> Br	99.99	Sigma-Aldrich
Cloruro de octilo	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub> Br	99.99	Sigma-Aldrich
Acetato de etilo	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	99.99	MEYER
Cloroformo deuterado	CDCl <sub>3</sub>	99.99	MEYER
Éter	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	99.99	MEYER

Los espectros de RMN fueron obtenidos a temperatura ambiente utilizando un equipo Bruker 500 MHz, usando como referencia TMS ( $\delta=0$ ). El disolvente utilizado fue cloroformo deuterado (0.03% v/v TMS).

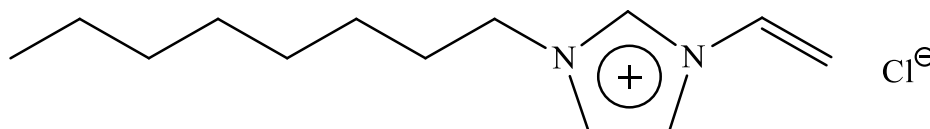
### I. Preparación de los LIs [VImC<sub>4</sub>Cl] **1** y [VImC<sub>8</sub>Cl] **2**

La preparación de los líquidos iónicos [VImC<sub>4</sub>Cl] (cloruro de 1-vinil-3-butylimidazolio **1**, **Figura 1**) y [VImC<sub>8</sub>Cl] (cloruro de 1-vinil-3-octylimidazolio **2**, **Figura 2**) fue realizada de acuerdo a lo reportado en la literatura (Guzmán y colaboradores, 2011). El procedimiento se describe a continuación.

En un matraz de bola de dos bocas bajo atmósfera de N<sub>2</sub> se añadió 1-vinilimidazolio (0.05mol) al cloruro de butilo u octilo (0.055mol, 10% de exceso), la mezcla se calentó a 60°C y se mantuvo en agitación constante por 36 h, formándose 3 fases: acuosa, orgánica y sólido. El LI contenido en la fase orgánica fue separado y purificado a través de 5 a 7 extracciones sucesivas con acetato de etilo (8x5mL). Finalmente, el líquido iónico fue secado al vacío a 60°C por 24h.



**Figura 1:** Cloruro de 1-vinil-3-butylimidazolio [VImC<sub>4</sub>Cl] **1**



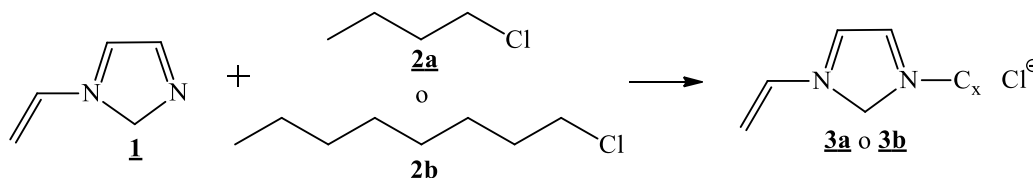
**Figura 2:** Cloruro de 1-vinil-3-octylimidazolio [VImC<sub>8</sub>Cl] **2**

Cada reacción fue monitoreada por medio de cromatografía en capa fina utilizando como soporte gel de sílice y como eluyente cloroformo. La caracterización de los productos obtenidos fue realizada por medio de la determinación del punto de ebullición y Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ .

### Comentarios finales

#### Resumen de resultados

Se realizaron las reacciones de síntesis de los líquidos iónicos de tipo vinilimidazolio  $[\text{VImC}_4\text{Cl}]$  **3a** y  $[\text{VImC}_8\text{Cl}]$  **3b** como se muestra en la **Figura 3**.

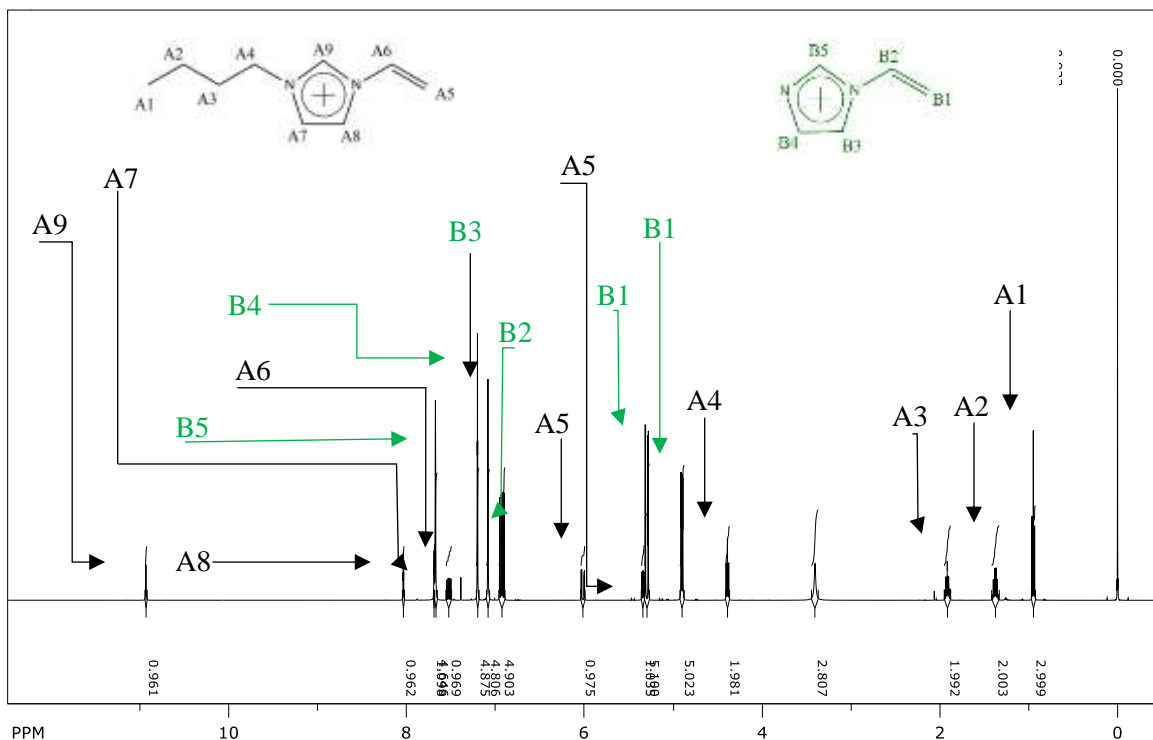


**Figura 3.** Reacción de síntesis de los LIs  $[\text{VImC}_x\text{Cl}]$  donde  $X = 4$  (**3a**) y  $8$  (**3b**).

A partir de lo anterior fueron obtenidos crudos de reacción observándose tres fases: la acuosa, orgánica y un sólido amarillo. Dicha mezcla fue tratada por medio de lavados con acetato de etilo, de donde fue posible separar el líquido iónico correspondiente  $[\text{VImC}_4\text{Cl}]$  **3a** y  $[\text{VImC}_8\text{Cl}]$  **3b** de la fase orgánica, siendo obtenido como un líquido ligeramente viscoso de color amarillo claro.

Los LIs aislados fueron identificados por medio de resonancia magnética nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ .

Con respecto al espectro RMN de  $^1\text{H}$  de **3a** (**Figura 4**), se identifica en 0.95 ppm corresponde a una señal triple asignada al  $\text{CH}_3$  ( $\text{H}_{\text{A}1}$ ) integrando para 3H, posteriormente una señal sextuple, quintuple y triple en 1.38, 1.92 y 4.39 ppm ( $\text{H}_{\text{A}2}$ ,  $\text{H}_{\text{A}3}$  y  $\text{H}_{\text{A}4}$  respectivamente) con una relación de integrales 2:2:2 y son atribuidas a los grupos  $-\text{CH}_2$  de la cadena alquílica. En 5.34 y 6.02 ppm se observan dos dobles de dobles correspondientes a los hidrógenos del grupo  $-\text{CH}_2$  del vinilo ( $\text{H}_{\text{A}5}$ ) con una integral de 1:1. En la zona aromática se identifican una señal cuadruple y dos triples en 7.52, 7.69 y 8.04 ppm, las cuales se atribuyen a los  $\text{H}_{\text{A}6}$ ,  $\text{H}_{\text{A}7}$  y  $\text{H}_{\text{A}8}$ . Por último, en 10.93 ppm se identificó una señal simple integrando para un átomo de hidrógeno atribuida al grupo  $-\text{CH}$  ( $\text{H}_{\text{A}9}$ ) del anillo del vinilimidazolio. Adicionalmente fue posible identificar la presencia del 1-vinilimidazolio (**1**) no reactante, el cual se indica en el espectro de  $^1\text{H}$  (**Figura 4**) con la letra B.



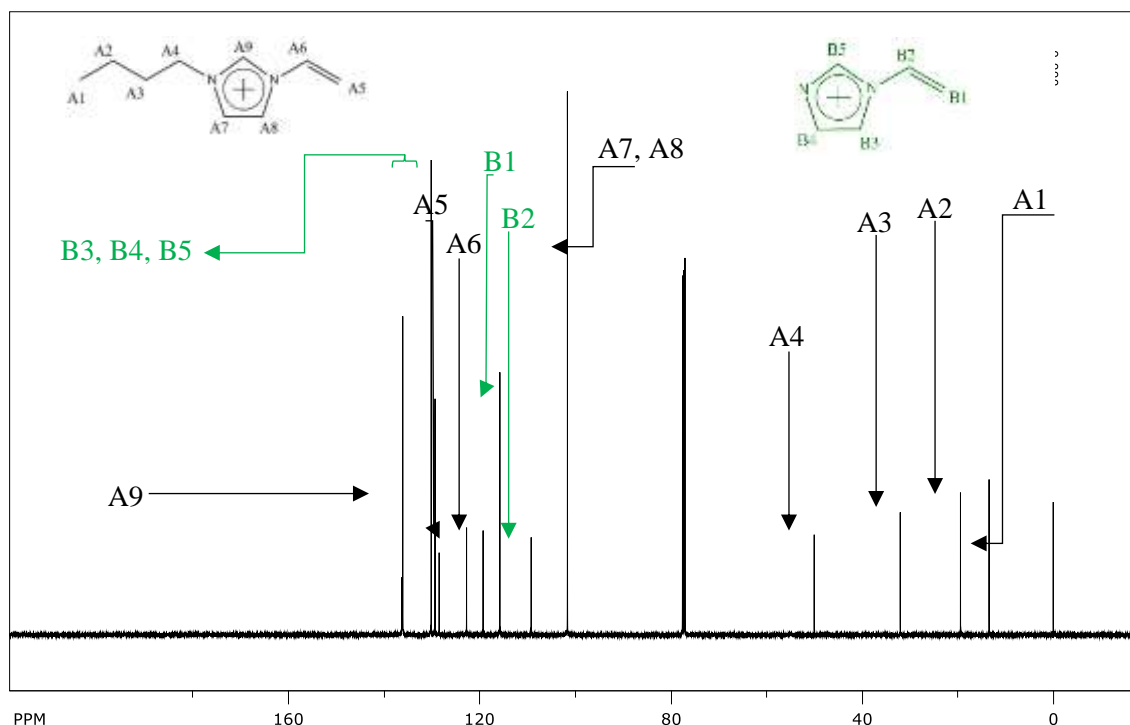
**Figura 4** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de la reacción del LI **3a**.  
(500 MHz en  $\text{CDCl}_3$  a T.A., referencia interna TMS)

En la **Tabla 2** se presentan de forma resumida los desplazamientos químicos de los LI **3a** (A) y **1** (B). Adicionalmente, con base en el espectro de  $^1\text{H}$  se determinó que la relación molar entre los compuestos identificados **1:3a** es de 1:0.2.

**Tabla 2.** Desplazamientos químicos de  $^1\text{H}$  del LI Cloruro de 1-vinil-3-butylimidazolio (**3a**) y 1-vinylimidazolio (**1**).

Molécula	Desplazamiento químico ppm ( $\delta$ )								
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9
Cloruro de 1-vinil-3-butylimidazolio <b>3a</b>	0.95	1.38	1.92	4.39	5.39 y 6.02	7.52	7.69	8.04	10.93
1-vinylimidazolio <b>1</b> (B)	B1	B2	B3	B4	B5				
	4.90 y 5.30	6.92	7.08	7.20	7.67				

En la **Figura 5** se muestra el espectro de  $^{13}\text{C}$  del LI **3a**, observando las señales correspondientes a los distintos átomos de carbono del LI preparado.



**Figura 5.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de la reacción del LI **3a**.  
(500 MHz en  $\text{CDCl}_3$  a T.A., referencia interna TMS)

Con respecto al LI **3b**, tanto en el espectro de  $^1\text{H}$  como de  $^{13}\text{C}$  se identificaron señales y desplazamientos químicos análogos a **3a**. En la **Tabla 4** se indican los valores de  $\delta$  de  $^1\text{H}$  respectivamente, para el LI **3b**.

**Tabla 3.** Desplazamientos químicos de  $^1\text{H}$  del LI Cloruro de 1-vinil-3-octilimidazolio (**3b**) y 1-vinilimidazolio (**1**).

Molécula	Desplazamiento químico ppm ( $\delta$ )								
	A1	A2-A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13
Cloruro de 1-vinil-3-butylimidazolio <b>3b</b>	0.86	1.27	1.92	4.37	4.91	6.94	7.08	7.21	10.78
1-vinilimidazolio <b>1</b> (B)	B1	B2	B3	B4	B5				
	6.01 y 6.043	7.56	7.70		8.10				

En el caso del espectro de  $^{13}\text{C}$  se observan todas las señales correspondientes a cada uno de los átomos de carbono del LI  $[\text{VImC}_8\text{Cl}]$ . Los desplazamientos químicos ( $\delta/\text{ppm}$ ) observados son: 14.06 (A1), 22.55 (A2), 26.20 (A6), 28.93 (A7), 29.00 (A4), 30.18 (A5), 31.65 (A3), 50.30 (A8), 101.75 (A13), 115.85 (A9), 130.00 (A10), 136.08 y 136.14 (A11 y A12); así también se identificaron las señales atribuidas a los átomos de carbono de la molécula B correspondiente al 1-vinilimidazolio (**1**): 109.24 (B5), 119.49 (B1), 128.53 (B2), 130.05 (B3 y B4).

Con base en lo anterior se corroboró la obtención de los LIs de interés; sin embargo, con la finalidad de obtener los LIs en un rendimiento óptimo se realizaron algunas pruebas adicionales modificando la relación molar del cloruro de butilo (**2a**) u octilo (**2b**). De esta manera, se logró determinar un rendimiento del 7 % (**3a**) y 31 % (**3b**).

### Conclusiones

Con base en los resultados obtenidos se concluye que los LIs de interés ( $[\text{VImC}_x\text{Cl}]$  en donde  $X = 4$  o  $8$ ) fueron obtenidos mediante la metodología propuesta contribuyendo así con una nueva alternativa como sustituto de disolvente orgánica en diversos procesos químicos. Así también, es posible mencionar que los rendimientos obtenidos fueron bajos, lo cual implica un área de oportunidad para analizar las distintas condiciones de reacción con la finalidad de mejorar el rendimiento de estos.



Adicionalmente, es posible mencionar que se observó un comportamiento análogo con los LIs en donde el contraion es el ion bromuro, los cuales ya se encuentran reportados en la literatura.

### *Recomendaciones*

De acuerdo a lo mencionado arriba en el presente trabajo, se sugiere llevar a cabo un estudio variando las condiciones de reacción con la finalidad de encontrar condiciones de reacción óptimas que permitan incrementar los rendimientos.

### **Referencias**

Díaz-Alvarez J. C., Martínez-Rey R y Barrero-Acosta R. "Líquidos iónicos: propiedades fisicoquímicas y aplicación potencial en el mejoramiento de crudos pesados" Rev. Ion., Vol. 25, No. 1, 2012.

Castillo-Borja F. "Líquidos Iónicos: Métodos de Síntesis y Aplicaciones" Rev. Conc. Tec., Vol. 49, 2015, 52-56.

Guzmán-Lucero D., Olivares-Xometl O., Martínez-Palou R., Likhanova Natalya V., Domínguez-Aguilar Marco A. y Garibay-Febles V. "Synthesis of Selected Vinylimidazolium Ionic Liquids and their Effectiveness as Corrosion Inhibitors for Carbon Steel in Aqueous Sulfuric Acid" Ind. Eng. Chem. Res., Vol. 50, No. 12, 2011, 7129-7140.

Pooja-Sharma, Shubham-Sharma y Harsh-Kumar. "Introduction to Ionic Liquids, Applications and Micellization behaviour in presence of different additives" Rev. Mol. Liq., 2023.

# Implementación de una Práctica a Microescala en el Laboratorio de Química Farmacéutica

Dr. Rafael Manuel de Jesús Mex Alvarez<sup>1</sup>, Dra. María Magali Guillen Morales<sup>2</sup>, Dra. Patricia Margarita Garma Quen<sup>3</sup>, Dra. Giselle Guillermo Chuc<sup>4</sup>, Br. Roger Enrique Chan Martínez<sup>5</sup>, Br. Edwin Roman Chulin Canul<sup>6</sup>

**Resumen**—Se implementó la síntesis de ácido acetilsalicílico a microescala en la asignatura de Química Farmacéutica como una estrategia didáctica y de gestión del laboratorio para el ahorro de tiempo y reactivos; del manual de la asignatura que se realiza a macroescala se adaptó la técnica y se desarrolló experimentalmente con 13 estudiantes voluntarios, los productos obtenidos se purificaron y se analizaron para determinar la calidad del compuesto obtenido, con un fusiómetro digital se estableció su punto de fusión y con espectroscopía infrarroja se determinó la identidad del producto; los estudiantes mostraron interés y lograron obtener el producto esperado con un buen rendimiento y calidad.

**Palabras clave**— química verde, sustentabilidad, gestión.

## Introducción

El uso de la química a microescala en el laboratorio escolar permite optimizar recursos materiales y reducir la generación de residuos de impacto ambiental; por ello, la implementación de técnicas de microescala conlleva a concientizar y promover una cultura ecológica entre los estudiantes, por esto la química a microescala ha tenido un desarrollo importante en América latina<sup>1-3</sup>. Otra ventaja sustancial es que al emplear menos reactivos en el proceso se puede realizar más experimentos y los estudiantes tienen la oportunidad de experimentar en grupos pequeños o personalmente lo que mejora el proceso enseñanza-aprendizaje en el laboratorio escolar y presenta la ventaja pedagógica de fomentar el trabajo colaborativo gracias a su flexibilidad que tiende a simplificar el procedimiento experimental y esto permite que aumente la atención, la autoconfianza y la satisfacción de los estudiantes<sup>1,2</sup>.

En consecuencia, el objetivo del presente trabajo de investigación fue implementar una práctica de microescala en el laboratorio de química farmacéutica para la síntesis de ácido acetilsalicílico con el propósito de fomentar una cultura de sustentabilidad y compromiso ambiental entre los estudiantes y mejorar la gestión del tiempo y recursos materiales y humanos en las prácticas de laboratorio.

## Metodología

Primero se realizó la síntesis del ácido acetilsalicílico propuesta en el manual, para ello se colocó en un matraz erlenmeyer ácido salicílico, anhídrido acético) y se adicionó gotas de ácido fosfórico y se calentó el matraz en baño maría por 15 min. Terminado el tiempo de incubación se removió el matraz del baño maría y se agitó suavemente; luego se añadió a la mezcla de reacción agua destilada; posteriormente, se colocó el matraz en baño de hielo y se observó el depósito de cristales blancos. Se recrystalizó el sólido formado y se realizaron las pruebas de calidad.

La síntesis a microescala fue similar a la técnica anterior pero usando el equipo de microescala y ajustando las cantidades de los reactivos en proporción 1:10.

Posterior a la experiencia del laboratorio se realizó una encuesta a los estudiantes participantes por medio de un cuestionario de Google Form para conocer sus impresiones, sugerencias, acuerdos y desacuerdos al respecto. También se les solicitó que cada estudiante realizara sus cálculos de manera individual y elaborara un informe de resultados.

<sup>1</sup> Rafael Mex Alvarez es doctor en educación y doctor en salud pública, profesor titular de la FCQB UACam, Campeche, México, [rafammex@uacam.mx](mailto:rafammex@uacam.mx) (autor correspondiente)

<sup>2</sup> María Magali Guillen Morales es profesora de tiempo completo de la FCQB UACam, Campeche, México.

<sup>3</sup> Patricia Margarita Garma Quen es profesora titular de la FCQB UACam, Campeche, México.

<sup>4</sup> Giselle Guillermo Chuc es profesora de tiempo completo de la FCA UACam, Campeche, México.

<sup>5</sup> Roger Chan Martínez es estudiante de la carrera de QFB de la FCA UACam, Campeche, México.

<sup>6</sup> Edwin Chulin Canul es estudiante de la carrera de QFB de la FCA UACam, Campeche, México.

## Resultados

Todos los estudiantes pudieron sintetizar el ácido acetilsalicílico en microescala, el rendimiento de la síntesis fue similar al obtenido en el método a macroescala; el punto de fusión y el espectro de infrarrojo coincidió con el del compuesto por lo cual se puede afirmar que la calidad del producto obtenido fue buena.

Inicialmente, los estudiantes tuvieron que familiarizarse con los materiales de microescala y adaptarse al uso de los mismos, por su tamaño. Debido a que solamente se usó la décima parte de los reactivos, todos los estudiantes lograron realizar personalmente la experiencia de síntesis y aún así se logró un ahorro significativo de los reactivos, del 70%.

Los resultados de la encuesta realizada, indican que el 84% (figura 1) de los estudiantes quisiera realizar todas las prácticas del manual a microescala porque la considera una forma interactiva y atractiva para aprender sobre los fundamentos de la síntesis y análisis de fármacos, además que visualizaron la ventaja de un trabajo personalizado, aunque se procesaba de manera individual se fomentó el trabajo colaborativo al permitirlos interactuar y consultar en todo momento con sus compañeros de mesa, con el resto de la clase y con su profesor.

El 15% mostró un interés en la microescala pero refirió que no encontraba alguna aplicación práctica o lo consideraba como experiencias de un nivel educativo más temprano; esta discrepancia se presenta porque los estudiantes estuvieron restringidos en el acceso a laboratorio durante la pandemia y apenas están retornando a la presencialidad; en contraposición la mayoría de los estudiantes que mostró un interés en la microescala ya han realizado estancias en laboratorios clínicos y saben que se manejan cantidades pequeñas con el uso de micropipetas o equipos automatizados.

### ¿Qué práctico quiero realizar la siguiente sesión?

13 respuestas

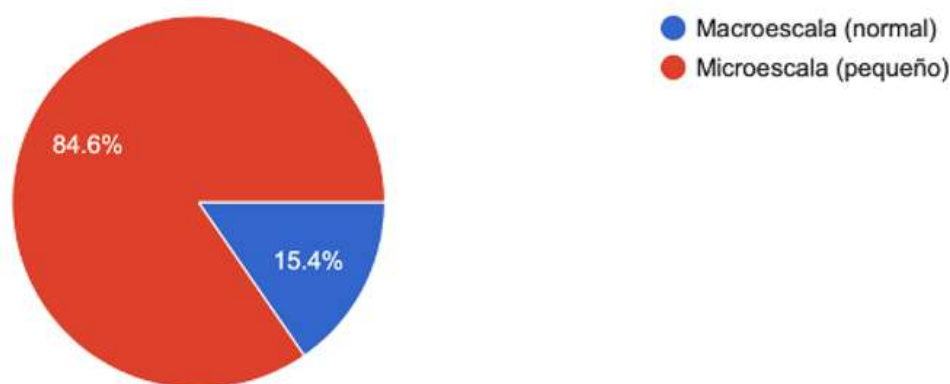


Fig. 1. Encuesta sobre la preferencia de la modalidad de experimentación (Fuente: Elaboración propia).

En la misma encuesta se les pidió a los estudiantes que dijeran su apreciación (figura 2) hacia las prácticas a microescala, el 87% mostró un deseo de volver a experimentar a microescala, el 83% comentó que es útil para el aprendizaje y el 90% de los encuestados dijo que realizar técnicas a microescala los motiva a mejorar sus habilidades y a aprender sobre el fundamento de las reacciones químicas; en contraposición, solamente el 77% de los estudiantes considera que las prácticas a microescala son de importancia para su desarrollo profesional y entranamiento para su vida laboral, es decir, la consideran atractivas y quieren experimentar a microescala; pero suponen que no tienen utilidad práctica.

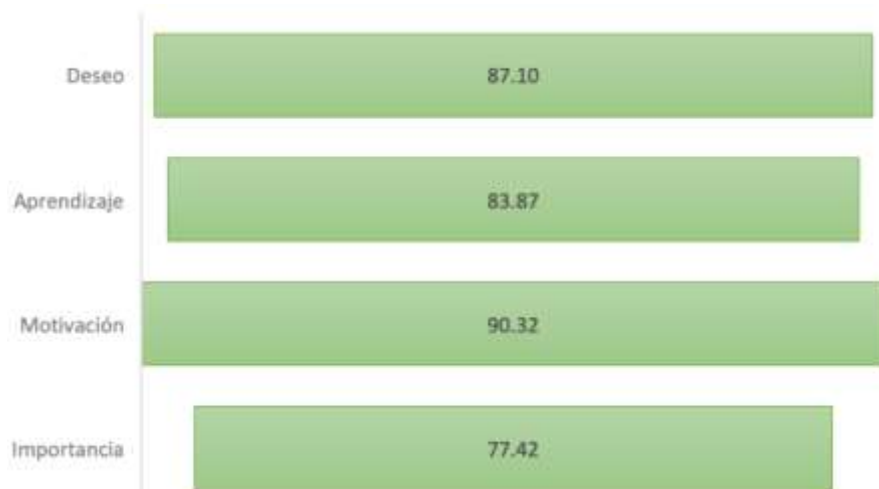


Fig. 2. Apreciación estudiantil de la técnica a microescala empleada (Fuente: elaboración propia).

### Conclusión

Se implementó exitosamente una práctica en el laboratorio de química farmacéutica para la síntesis de ácido acetilsalicílico, con un porcentaje alto de aprobación por parte de los estudiantes involucrados que despertó su interés para continuar realizando prácticas a microescala y conocer más sobre las ventajas de este método.

### Referencias

1. Díaz OA, Alvarez E. (2004). Micro-escala zinc determination in a specific medicine. *Quim. Nova*, 27(5), <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000500025>
2. Aponte Rojas, Abdiel, Aguilar González, Richard, & Sánchez, Ilsa Austin. (2013). Trabajos prácticos en microescala como estrategia didáctica en cursos de química de educación media. *Actualidades Investigativas en Educación*, 13(2), 177-195.
3. Gonzales-Balladares, J. D. y Toque-Huaman, E. (2022). Química a microescala en la enseñanza experimental usando una microbalanza de cristal de cuarzo. *Educación Química*, 33(4). <http://dx.doi.org/10.22201/fq.18708404e.2022.4.0.81489>

# Determinación de Vitaminas A, E y D en Carne de Víbora de Cascabel (*Crotalus sp.*) por HPLC

Dr. J. Ascención Montalvo González<sup>1</sup>, MC. Jorge Rafael Figueroa Morales<sup>2</sup>, MC. Isaac Espinosa Santana<sup>3</sup>, MC. Tomás Mario Ávalos Ruvalcaba<sup>4</sup>, MC. Angélica Barrón Jaime<sup>5</sup>, Dr. Luis Gibrán Rodríguez Vega<sup>6</sup>

**Resumen.** Se valoró el contenido de vitamina A, E y D de la carne de víbora de cascabel (*Crotalus sp.*) exenta de piel, en tres presentaciones, fresca, cocida y seca, los resultados obtenidos fueron comparados con otros alimentos que contienen estos micronutrientes. La cantidad de vitamina A obtenido en la carne fresca fue de 0.65µg/g de muestra, la vitamina E se encontró 4.70µg/g de muestra, la vitamina D no fue detectada por este método.

**Palabras clave.** Víbora de Cascabel, Vitaminas liposolubles, HPLC

## Introducción

Hay muchas culturas en todo el mundo que tienen tradiciones y costumbres que involucran a la fauna salvaje, como la caza, la pesca y la recolección de productos forestales no maderables. Estas prácticas pueden tener una importancia cultural y económica para las comunidades locales y pueden haber sido parte de su modo de vida durante generaciones.

En México, varias especies de fauna silvestre son utilizadas para diferentes propósitos<sup>1</sup>. La mayoría se obtienen a través de la caza, que se considera una actividad cuando su principal objetivo es satisfacer las necesidades básicas de los cazadores y sus familias<sup>2</sup>.

Los tipos reportados de uso de vida silvestre son consumo personal o para la venta de carne, pieles para ropa, mascotas, y sustancias medicinales<sup>3</sup>.

Los animales proporcionan las materias primas para remedios prescritos clínicamente y también son usados en forma de amuletos y encantos en rituales mágicos religiosos y ceremonias. La zooterapia ha tratado diferentes enfermedades considerando la fauna medicinal, la cual está basada en animales salvajes, incluyendo alguna especie en vías de extinción.

Como la víbora es una especie que habita prácticamente en todo México, puede ser de mucha importancia el conocer la composición nutricional de su carne, así como las propiedades farmacológicas que pueda aportar a los humanos su consumo.

Las vitaminas son un subgrupo de sustancias que son esenciales para el funcionamiento celular, el crecimiento y el desarrollo normal. Existen 13 vitaminas esenciales, lo cual significa que son necesarias para que el cuerpo funcione, son las siguientes: vitamina A, vitamina C, vitamina D, vitamina E, vitamina K, vitamina B1 (tiamina), vitamina B2 (riboflavina), vitamina B3 (niacina), ácido pantoténico, biotina, vitamina B6, vitamina B12 y folato (ácido fólico)<sup>4</sup>.

Las vitaminas se agrupan en dos categorías, las liposolubles que se almacenan en el tejido graso del cuerpo, las cuatro vitaminas liposolubles son: A, D, E y K. El otro grupo está conformado por las hidrosolubles que el cuerpo las tiene que usar inmediatamente.

## Metodología

### Muestreo

Se recolectaron dos especímenes de la especie *Crotalus sp.*; a la cual se le determinó el contenido de vitamina A, D y E en carne cruda cocida y seca.

<sup>1</sup> El Dr. J. Ascención Montalvo González es profesor investigador de la Unidad Académica de Ciencias Químico-Biológicas y Farmacéuticas de la Universidad Autónoma de Nayarit [amontalvo5@gmail.com](mailto:amontalvo5@gmail.com) (autor corresponsal).

<sup>2</sup> El maestro Jorge Rafael Figueroa Morales es profesor investigador de la Unidad Académica de Ciencias Químico-Biológicas y Farmacéuticas de la Universidad Autónoma de Nayarit.

<sup>3</sup> El Maestro Isaac Espinosa Santana es profesor investigador de la Unidad Académica de Ciencias Químico-Biológicas y Farmacéuticas de la Universidad Autónoma de Nayarit.

<sup>4</sup> El maestro Tomás Mario Ávalos Ruvalcaba es profesor investigador de la Unidad Académica de Ciencias Químico-Biológicas y Farmacéuticas de la Universidad Autónoma de Nayarit.

<sup>5</sup> La maestra Angélica Barrón Jaime es profesor investigador de la Unidad Académica de Ciencias Químico-Biológicas y Farmacéuticas de la Universidad Autónoma de Nayarit.

<sup>6</sup> El doctor Luis Gibrán Rodríguez Vega es profesor investigador de la Unidad Académica de Ciencias Químico-Biológicas y Farmacéuticas de la Universidad Autónoma de Nayarit.

## Materiales y reactivos

Rotavapor, embudos de separación de 250 ml, papel filtro, probetas (10, 25, 50 y 100 ml), pipetas graduadas y volumétricas (2, 5, 10 y 25 ml), matraces aforados de vidrio (25, 50, 100, 250, 500 y 1000 ml), tubos de ensayos de diferentes tamaños, soportes universales, pinzas, hidróxido de sodio, hexano, sulfato de sodio, metanol.

## Métodos de análisis

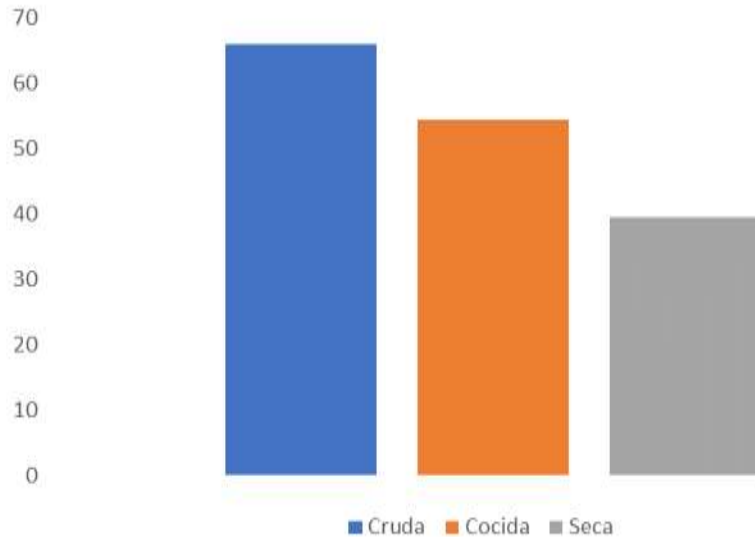
La marcha experimental se llevó a cabo de acuerdo al procedimiento descrito<sup>5</sup>. Para la cuantificación de vitaminas se usó un equipo HPLC (Agilent Technologies 1260, Waldbronn, Germany) equipado con un detector de arreglo de diodos (DAD) y una columna Agilent Zorbax Extend C18 (250mm x 4.6 mm x 5  $\mu$ m). La fase móvil fue metanol:agua 95:5 (v/v) con un flujo de 0.5 ml/min. La longitud de onda de detección fue entre 280-330 nm. La cuantificación se realizó con curvas de calibración de cada vitamina.

## Resultados

En el presente trabajo se llevó a cabo la cuantificación de las vitaminas A, E y D utilizando un equipo HPLC (Agilent Technologies 1260, Waldbronn, Germany) en la carne de este reptil en tres diferentes presentaciones (fresca, seca y cocida). Las concentraciones obtenidas se comparan con los alimentos convencionales ricos en estos micronutrientes.

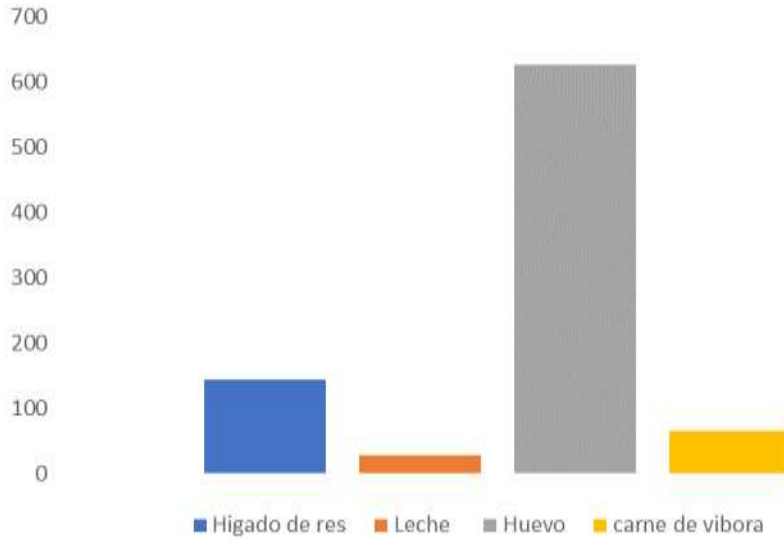
## Valores de vitamina A

La carne al ser cocinada pierde vitaminas, la cantidad que se pierde depende del método de cocción utilizado. Por ello es importante determinar dicho parámetro en carne cruda, cocida y seca, en este caso observamos (gráfica 1) que hay diferencia significativa en la carne cruda (66 $\mu$ g) con respecto de los otros dos analitos (39.5 y 54.5 $\mu$ g) seca y cocida respectivamente.



**Gráfica 1.** Vitamina A ( $\mu$ g/100g de muestra) en carne cruda, cocida y seca de víbora de cascabel

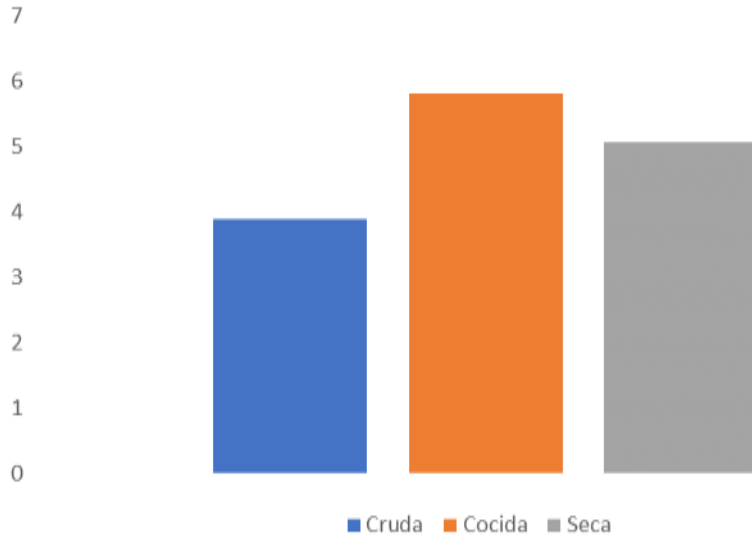
En comparación con el hígado de res y el huevo Julieta Ramos y col.<sup>6</sup> la carne fresca de víbora tiene menor contenido de vitamina A y un poco más que la leche, esto se representa en la gráfica 2.



**Gráfica 2.** Vitamina A(µg/100g de muestra) en carne fresca de iguana negra comparado con otros productos que contienen este micronutriente

**Valores de vitamina E**

En la gráfica 3, se observa que tanto la carne cocida y seca son las que presentan una mayor cantidad de vitamina E (5.82 y 5.07mg/100g) respectivamente, mientras que el contenido de esta vitamina es de 3.90 mg en carne cruda. El contenido de vitamina E hallado para la carne de víbora se encuentra por abajo de los valores reportados por Badui<sup>7</sup>. para el maíz y cacahuete, pero está por arriba del aguacate. Las cantidades reportadas para estos alimentos son de 30, 16 y 1.5mg/100g respectivamente.



**Gráfica 3.** Vitamina E (mg/100g de muestra) en carne cruda, cocida y seca de víbora.

**Valores de vitamina D**

La cantidad de vitamina D en las carnes de origen animal es generalmente bastante baja en comparación con otros alimentos ricos en esta vitamina, como los pescados grasos, los huevos y los productos lácteos. La vitamina D se encuentra principalmente en las partes grasas de los alimentos de origen animal. Por lo tanto, las carnes magras suelen contener muy poca cantidad de vitamina D en comparación con los cortes más grasos.

La vitamina D no fue detectada por este método esto puede ser por que la víbora contiene muy poca de esta vitamina y se degrada o no se logra extraer por el método utilizado.



### Discusión

La variabilidad en el contenido de vitaminas liposolubles en los alimentos es un fenómeno ampliamente documentado y se atribuye a una serie de factores influyentes, que pueden abordarse desde una perspectiva científica. En este contexto, se puede destacar que la cantidad de vitaminas liposolubles en los alimentos está sujeta a la interacción de varios elementos, incluyendo la edad, el sexo, la dieta y la ubicación geográfica de la fuente alimentaria.

En el caso de la vitamina A, se observó una mayor concentración en la carne fresca en comparación con las carnes cocidas y secas. Esta disparidad podría explicarse mediante un análisis de los procesos de cocción a los que se someten las diferentes muestras de carne. El tratamiento térmico al que se someten las carnes cocidas y secas puede contribuir a la degradación de la vitamina A, reduciendo su contenido en comparación con la carne fresca, que no ha sido sometida a un proceso de calentamiento significativo. Este hallazgo respalda la importancia de considerar los efectos del procesamiento térmico en la preservación de las vitaminas liposolubles en los alimentos.

Por otro lado, la vitamina E mostró una concentración más alta en las carnes cocidas y secas. Este resultado podría asociarse a la influencia positiva de los tratamientos de cocción en la extracción de la vitamina E de las muestras. La aplicación de calor durante la cocción puede facilitar la liberación de esta vitamina, lo que resulta en una mayor concentración en comparación con la carne fresca. Este hallazgo destaca la importancia de comprender cómo los métodos de procesamiento pueden afectar la biodisponibilidad de las vitaminas liposolubles en los alimentos.

Además de las vitaminas liposolubles, las carnes también son una fuente significativa de vitaminas del complejo B, como la tiamina, riboflavina, niacina, vitamina B6 y B12. Estas vitaminas son esenciales para una variedad de funciones metabólicas en el cuerpo humano. La carne magra, sin embargo, contiene cantidades mínimas de vitamina A, necesaria para el mantenimiento de los tejidos y la visión, lo que subraya la importancia de obtener esta vitamina de otras fuentes alimentarias.

Por último, es relevante mencionar que las carnes prácticamente no contienen vitamina D y ácido ascórbico (vitamina C). Sin embargo, el hígado se destaca como una fuente importante de vitamina A, D y K<sup>8</sup>, lo que enfatiza la diversidad de vitaminas liposolubles que pueden encontrarse en distintas partes de un animal y cómo su consumo puede contribuir a la ingesta de estas vitaminas en la dieta.

### Conclusión

La víbora de cascabel es consumida por gran parte de la población rural mexicana con el fin de remediar alguna enfermedad, en las comunidades serranas la consumen como una fuente más de alimentación, en base a esto nos fue de gran interés el analizar el contenido de vitaminas liposolubles de la carne de víbora de cascabel (*Crotalus sp.*) y se realizó la determinación en carne cruda, cocida y seca para ver si había diferencia en la concentración de las vitaminas después de que la carne es sometida a altas temperaturas. En base a estos resultados podemos concluir que la carne de víbora puede ser un complemento de la dieta, sin embargo, el consumo de esta especie debe hacerse de manera racional es decir apoyados en centros de investigación y en las autoridades correspondientes, ya que el uso intensivo pondría en peligro la preservación de la especie.

### Bibliografía

- 1.- Tania Vianney Gutiérrez Santillán, Ángel Moreno Fuentes, Arturo Sánchez González and Gerardo Sánchez Rojas. Knowledge and use of biocultural diversity by Nahua in the Huasteca región of Hidalgo, Mexico. *Ethnobiology and Conservation* 2019, 8:7.
- 2.- a) Jeffrey P. Jorgenson, Maya subsistence hunters in Quintana Roo, Mexico, *ORYX*, Vol. 29, No. 1, January 1995. b) Juhani Ojasti. Manejo de Fauna Silvestre Neotropical. Printed in United States of America. 2000.
- 3.- a) Laura E. Cruz Lara, Consuelo Lorenzo, Lorena Soto\*, Eduardo Naranjo y Neptalí Ramírez Marcial. Diversidad de mamíferos en cafetales y selva mediana de las cañadas de la selva lacandona, Chiapas, México. *Acta Zool. Mex. (n.s.)* 20(1) (2004). b) Raúl Perezgrovas-Garza. Acercamiento a la diversidad de animales domésticos localmente adaptados en las montañas de Chiapas. *Quehacer Científico en Chiapas* 11 (1) 2016.
- 4.- umm.edu [internet]. Baltimore. 24 de junio 2013 [15 mayo 2014]. Disponible en: [umm.edu/health/medical/ency/articles/vitamin-a](http://umm.edu/health/medical/ency/articles/vitamin-a).
- 5.- Hart F. L.; Análisis moderno de los alimentos; Acribia. Zaragoza España, 1991.
- 6.- Julieta Ramos Elorduy y José M. Pino M. Contenido de vitaminas de algunos insectos comestibles de México, *Rev. Soc. Quim. Mex.* 45, 2, 2001.
- 7.- Badui Dergal Salvador, Química de los alimentos 4ed. Ed. Person Educación México, 2006
- 8.- Carvajal S. G. Valor nutricional de la carne de: res, cerdo y pollo. Corporación de fomento ganadero, 2001

# Validación de Método por HPLC para la Determinación de la Liberación de Diclofenaco en Microcápsulas de *Aloe vera*

Yolanda Guadalupe Moreno Mendoza<sup>1</sup>, Dr. Ángel Antonio Vértiz Hernández<sup>2\*</sup>,  
<sup>3</sup>Dra. Olga Edith González Lugo, Dr. Azahel de Jesús Rangel López<sup>4</sup>.

**Resumen**—En la presente investigación se realizó el análisis y cuantificación de diclofenaco en microcápsulas obtenidas a partir de *Aloe vera*. **Metodología:** se desarrolló el método mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) bajo las siguientes condiciones cromatográficas siguientes, un volumen de inyección de 50 µL, una fase móvil de MetOH:KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (20:80 v/v), flujo de 1 mL/min, fase estacionaria C18 (4.6 mm X 50 mm; 3 µm), temperatura de 20°C, longitud de onda de 275 nm, tiempo de retención para diclofenaco de 1.4 min en un tiempo de corrida de 3 min. **Resultados:** la validación demostró selectividad, linealidad, precisión, exactitud, fue sensible y estable en un rango de 2.5 a 160 µg/mL considerando la normativa NOM-177-SSA1-2013. **Conclusión:** el diclorometano permite microcápsulas con mayor homogeneidad de tamaño y rendimiento. Asimismo, el método analítico por HPLC para diclofenaco cumplió con los criterios de validación (NOM-177-SSA1-2013), demostrando ser selectivo, lineal, exacto, preciso y estable en un rango de 2.5 a 160 µg/mL bajo la instrumentación de un cromatógrafo Perkin Elmer modelo Flexar con detección Uv/Vis en el laboratorio de tecnología y salud de la UAMRA-UASLP.

**Palabras clave**—Diclofenaco, microcápsulas, HPLC, validación.

## Introducción

Las micropartículas poliméricas, son formulaciones para la administración de fármacos que resultan ser una estrategia clave en la búsqueda de nuevos sistemas terapéuticos para la liberación controlada de los fármacos ya que logran proteger a las moléculas de la degradación y reducir la acción irritante gastrointestinal de algunos activos, al igual que, permiten direccionar los fármacos en un sitio de acción específico. (Gómez Rodríguez, G.H., 2018). La característica principal de las micropartículas es que cuentan con un diámetro de 1-1000 µm y de acuerdo a su clasificación pueden dividirse en microcápsulas o microesferas. Las microesferas son matrices homogéneas que tienen inmersa a la sustancia activa en el cuerpo de la esfera. Mientras que una microcápsula es un cuerpo esférico que recubre al principio activo (Zárate-Hernández, E. y col., 2021). Igualmente se pueden clasificar según su morfología en mononucleares, polinucleares y tipo matriz (Ghosh, 2006). La farmacéutica suele utilizar esta tecnología aprovechando las ventajas que proporciona, como controlar la liberación de una dosis adecuada del principio activo (Jiang et al., 2012), enmascarar el sabor de medicamentos masticables y/o líquidos en emulsiones (Hu et al., 2013) y reducir la irritabilidad gástrica del medicamento (Jiang y Schwendeman, 2001).

Actualmente la creación de nuevas formas farmacéuticas se centra en mejorar la biodisponibilidad del principio activo en la zona de acción durante un largo periodo de tiempo. (Sachin et al., 2019). Por ejemplo, el diclofenaco sódico (DFC: analgésico, antiinflamatorio y antipirético no esteroideo; perteneciente al grupo de los AINEs) comparado con otros AINEs, tiene una potencia análoga pero menores efectos secundarios, se trata de un medicamento con propiedades inhibitorias que presenta mecanismos de acción que le otorgan una efectividad significativa en la reducción de inflamaciones y actuando como analgésico. El DFC presenta una oportunidad para experimentar con nuevas formulaciones como lo son las microcápsulas debido a que tiene una biodisponibilidad excelente y su unión a proteínas representa un 99.5% (Fletes Calderón, M. E., 2019). Estas formulaciones han basado su efectividad en la capacidad de ellas para favorecer la liberación de principio activo de manera sitio específica y una de las técnicas que favorece la valoración de la liberación es una técnica de química analítica, la cromatografía de alta resolución.

La detección por cromatografía líquida de alta presión (por sus siglas en inglés, HPLC) es un método ampliamente utilizado para la determinación y cuantificación de DFC presente en formas farmacéuticas, es una técnica que permite separar los elementos en una mezcla compleja, con la finalidad identificarlos y cuantificarlos.

Con el propósito de asegurar la fiabilidad de este procedimiento, resulta fundamental realizar una validación de acuerdo con las pautas establecidas en la normativa NOM-177-SSA1-2013. Esta norma sugiere la verificación y

<sup>1</sup>Yolanda Guadalupe Moreno Mendoza, estudiante de la carrera de Ingeniería Química de la Unidad Académica Multidisciplinaria Región Altiplano de la UASLP, email: A29211@alumnos.uaslp.mx.

<sup>2</sup>\*Dr. Ángel Antonio Vértiz Hernández, Dr. en Ciencias Biomédicas e investigador de la Unidad Académica Multidisciplinaria Región Altiplano de la UASLP, email: [antonio.vertiz@uaslp.mx](mailto:antonio.vertiz@uaslp.mx), autor para correspondencia.

<sup>3</sup>Dra. Olga Edith González Lugo, Dra. en Ingeniería y Ciencias de los Materiales e investigador de la Unidad Académica Multidisciplinaria Región Altiplano de la UASLP, email: [olga.gonzalez@uaslp.mx](mailto:olga.gonzalez@uaslp.mx).

<sup>4</sup>Dr. Azahel de Jesús Rangel López, Dr. en Ciencias Biomédicas e investigador de la de la Unidad Académica Multidisciplinaria Región Altiplano de la UASLP, email: [azael.rangel@uaslp.mx](mailto:azael.rangel@uaslp.mx).

confirmación de aspectos como la selectividad, linealidad, exactitud y precisión, límite de cuantificación (LOQ) y límite de estabilidad que presenta la muestra a lo largo del tiempo.

Shiv Sankar Bhattacharya en 2013 llevó a cabo el análisis de diclofenaco sódico en plasma de roedores utilizando cromatografía líquida-espectrometría de masas (LC/MS/MS) y HPLC con detección UV (LLOQ: 20 ng/ml y tiempo de ejecución de 30 min). El proceso validado tiene una ventaja adicional debido al uso de acetonitrilo y metanol, es decir, una fase móvil simple que puede evitar afectar la vida útil de una columna. El método fue específico y sensible con el límite de cuantificación de 20 ng/ml. En las pruebas de estabilidad, el DFC en plasma de conejo se conservó estable durante el almacenamiento y el procedimiento de ensayo.

Regina Kasperek en 2008 desarrolló y validó un método HPLC que resultó ser selectivo, simple, rápido y preciso para la determinación simultánea de diclofenaco sódico y clorhidrato de papaverina en tabletas.

Bushra Tuwfeeq Alquadeib en 2019 desarrolló un nuevo método de HPLC selectivo y sensible para la cuantificación de DFC en forma farmacéutica utilizando lidocaína como estándar interno. La separación cromatográfica se llevó a cabo en una columna simétrica de 4,6 mm x 150 mm, utilizando como fase móvil ortofosfórico 0,05 M al 35 % y acetonitrilo al 65 % con un caudal de 2,0 ml/min siendo monitoreado a 210 nm. El método fue validado para cumplir con los lineamientos de la Conferencia Internacional sobre Armonización, incluyendo especificidad, linealidad, límite de detección, límite de cuantificación, exactitud, precisión y robustez. Se determinó que el método es adecuado. Con estas bases el objetivo de este trabajo determinar el contenido de DFC en las microcápsulas, usando un método HPLC selectivo, lineal y preciso.

## Metodología

### *Procedimiento de elaboración de las microcápsulas*

Se localizó una planta de *Aloe vera* (AV) de la especie *barbardensis* situada en la región del Altiplano Potosino, se eligieron y extrajeron 2 hojas de dicha planta, posteriormente se lavaron y se reposaron en agua destilada durante dos horas. Se retiró la epidermis y se extrajo el parénquima de cada hoja, y se procesó con una batidora de inmersión (modelo FPSBHB9000), se sometió a un proceso de filtrado al vacío para obtener un gel homogéneo de consistencia viscosa con características ideales para encapsular. Para la encapsulación se llevó a cabo el método de doble emulsión y evaporación con solventes, la primera emulsión se obtuvo combinando solución de DFC con solución de Eugenol en Tween 80 al 1% y sometiendo a agitación, en la segunda emulsión se puso en contacto la primera emulsión con el gel de AV en una proporción 1:10, se sometió a agitación. Se utilizaron alcohol acetona, acetato de etilo y diclorometano para la evaporación de diferentes muestras, se mantuvieron en agitación a temperatura ambiente durante 3 horas. Las muestras se colocaron en cajas Petri, y se llevaron al secado en un horno a 32°C hasta la evaporación total del líquido y así conocer la cantidad de microcápsulas obtenidas. La película obtenida de cada solvente se colocó en un tubo Eppendorf.

### *Determinación y cuantificación de DFC*

Reactivos: el análisis se realizó bajo el uso de solución de diclofenaco inyectable 75 mg/3mL marca AMSA, fosfatos (PO<sub>4</sub>) 98.0 % marca Alfa Aesar, metanol (CH<sub>3</sub>OH) grado HPLC marca TEDIA, ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) 85% marca Alfa Aesar y agua destilada. Mismos, que se suplementaron para análisis en un equipo HPLC marca: Perkin Elmer modelo flexar (UV/vis).

Las condiciones cromatográficas: volumen de inyección de 50 µL, una fase móvil de MetOH:KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (20:80 v/v), flujo de 1 mL/min, fase estacionaria C18 (4.6 X 50 mm; 3 mm), temperatura de 20°C, longitud de onda de 275 nm, tiempo de retención para DFC de 1.4 min en un tiempo de corrida de 3 min.

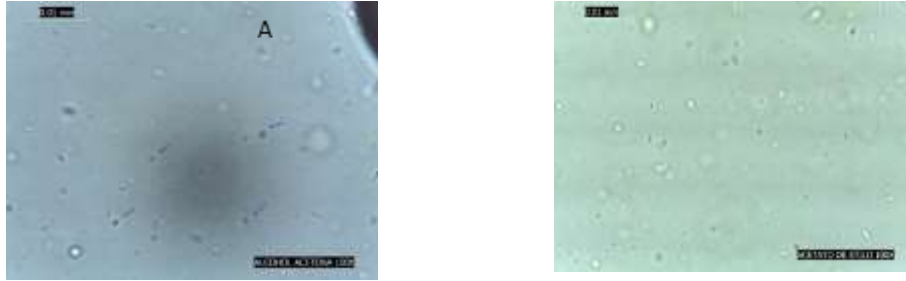
Preparación de la solución madre: consistió en tomar una determinada cantidad de solución de diclofenaco (32 µl), el cual fue aforado en un volumen de 5 ml con agua destilada para tener una concentración de 25000 mg/ml. A partir de la solución madre se tomaron los volúmenes necesarios para la preparación de las diluciones correspondientes a cada uno de los puntos a analizar.

Validación del método: se determinó con base en los parámetros de selectividad, curva de calibración, linealidad, precisión, exactitud, sensibilidad y estabilidad considerando la NOM-177SSA1-2013 y el Centro de Referencia de la FDA (CDER-FDA).

## Resultados

Las microcápsulas de AV cargadas de principio activo (DFC y Eugenol) evaporadas con los diferentes disolventes se disponen en un rango de tamaño de 0.889-4.48 µm, con una media total de 2.1052 µm, figura 1.

B



**Figura 1. Observación de microcápsulas en la doble emulsión en microscopio óptico (1000X). El panel (A) representa la evaporación con alcohol acetona, el (B) Evaporación con acetato de etilo.**

Según el estudio de González-Lugo y cols. (2021), el diclorometano y el acetato de etilo generan microesferas de tamaño homogéneo. El alcohol acetona favorece a producir mayor cantidad de microesferas y de menor tamaño a comparación de las formadas con diclorometano y acetato de etilo, siendo considerada como la mejor opción de microencapsulado (tabla 2).

**Tabla 2. Tamaño de microcápsulas de Aloe vera cargadas con diclofenaco y eugenol.**

Solvente empleado para evaporación	Mediciones (µm)					Medias (µm)	Desviación estándar
	1	2	3	4	5		
Diclorometano	1.79	1.47	2.14	1.31	1.79	1.7	0.288027776
Acetato de etilo	0.889	1.97	2.5	2.25	2.45	2.0118	0.591527649
Alcohol acetona	2.59	2.5	1.47	1.98	4.48	2.604	1.020364641

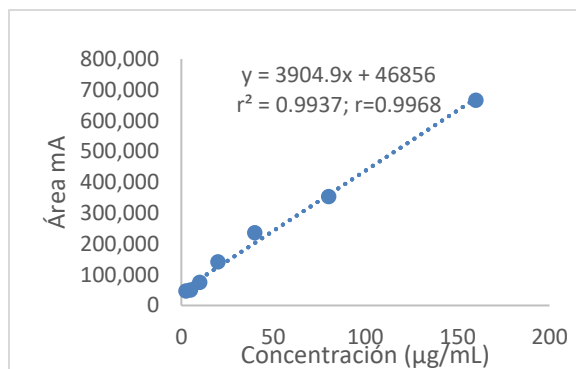
Se obtuvieron datos del rendimiento de la producción de microcápsulas varían entre el 0.9631-1.9889%, con un valor medio de 1.4095%, la determinación de estos datos se puede observar en la tabla 3.

**Tabla 3. Cálculo del rendimiento de las microcápsulas.**

Muestra	Peso del material utilizado (g)	Peso de las microcápsulas (g)	Rendimiento (%)
DFC-EUG-AV-TWEEN 80-Diclorometano	15.4262	0.1969	1.2764
DFC-EUG-AV-TWEEN 80-Acetato de etilo	15.6263	0.1505	0.9631
DFC-EUG-AV-TWEEN 80-Alcohol acetona	15.5058	0.3084	1.9889

**Determinación de la liberación de DFC de microcápsulas de Aloe vera**

Bajo los lineamientos de la NOM-177-SSA1-1998 se determinó que el método fue selectivo/sin interferencias para DFC bajo análisis de la muestra, blanco fortificado con DFC y blanco de solventes (agua y metanol), presentó linealidad en un rango de 2.5 a 160 µg/mL con un  $r^2= 0.9937$  y  $r= 0.9968$  para DFC (Figura 1).



**Figura 1. Gráfica de linealidad para DFC por el método de regresión lineal. Los resultados representan el X ± E.E de una n= 3.**

La precisión se determinó como porcentaje de coeficiente de variación (% CV) de puntos control alto, medio y bajo (PC<sub>1 a 3</sub>) y la exactitud con %DR para PC<sub>1a3</sub>, en ese sentido el %CV estuvo en un rango mínimo de 0.78% a 9.01% para precisión en modalidad repetibilidad y de 1.04 % a 6.88 % para reproducibilidad. La exactitud se estableció para los puntos PC1: 150µg/ml; PC2: 30µg/ml; PC3: 4µg/ml para DFC dando como resultado un % DR en un rango mínimo de -10.30% y máximo de 19.57% repetibilidad y de -6.30 a 17.12 en reproducibilidad (**tabla 4**).

**Tabla 4.** Precisión y exactitud del método para detección de diclofenaco.

<b>DICLOFENACO</b>						
<b>REPETIBILIDAD</b>						
<b>PUNTO</b>	<b>Promedio</b>	<b>D.E.</b>	<b>%CV</b>	<b>Criterio</b>		
<b>PC1</b>	692,961	62474.17	9.01	≤ 15	<b>PRECISIÓN</b>	
<b>PC2</b>	166,073	9470.71	5.72	≤ 15		
<b>PC3</b>	59,418	464.09	0.78	≤ 20		
	<b>C<sub>T</sub></b>	<b>C<sub>E</sub></b>		<b>%DR</b>		
<b>PC1</b>	150	165.46	3.99	-10.30	≤ 15	<b>EXACTITUD</b>
<b>PC2</b>	30	30.53	-9.57	-1.76	≤ 15	
<b>PC3</b>	4	3.21	-11.88	19.57	≤ 20	
<b>REPRODUCIBILIDAD</b>						
<b>PUNTO</b>	<b>Promedio</b>	<b>D.E.</b>	<b>%CV</b>	<b>Criterio</b>		
<b>PC1</b>	669,495	46119.62	6.88	≤ 20	<b>PRECISIÓN</b>	
<b>PC2</b>	153,968	9091.10	5.90	≤ 15		
<b>PC3</b>	59,800	622.51	1.04	≤ 15		
	<b>C<sub>T</sub></b>	<b>C<sub>E</sub></b>		<b>%DR</b>		
<b>PC1</b>	150	159.45	-0.18	-6.30	≤ 15	<b>EXACTITUD</b>
<b>PC2</b>	30	27.43	-9.67	8.56	≤ 15	
<b>PC3</b>	4	3.31	-11.83	17.12	≤ 20	

D.E. Representa la Desviación Estándar, %C.V. Representa el Coeficiente de Variación, %D.R. Representa el por ciento de Desviación Relativa, PC<sub>1</sub>. Representa Punto de concentración conocida (150 µg/ml), PC<sub>2</sub>. Representa Punto de concentración conocida (30 µg/ml), PC<sub>3</sub>. Representa Punto de concentración conocida (4 µg/ml), C<sub>T</sub> Representa la concentración teórica, C<sub>E</sub> Representa la concentración obtenida.

El límite de cuantificación fue de 2.5µg/mL con un % CV de 0.80 y un % DR de 20.71, asimismo, las preparaciones demostraron estabilidad a largo plazo de 15 a 4°C, demostrando precisión (%CV de 0.86 a 0.66 %) y exactitud con un DR de -5.25 a 16.73%.

#### *Análisis*

Según la literatura, microcápsulas elaboradas bajo condiciones similares con el método de emulsión se obtuvieron en tamaños que van desde 415 µm hasta los 750 µm. En el caso de nuestra investigación, las microcápsulas evaluadas del tamaño y morfología mediante microscopía óptica permitió medir que tienen un tamaño promedio de 2.1052 µm, es decir, las formulaciones cumplen con la característica de menos de 1 milímetro. El tamaño de las microcápsulas de AV cargadas con DFC es un factor fundamental para su estabilidad y liberación. Las microcápsulas de menor tamaño logran liberar el principio activo más rápidamente y pueden ser más susceptibles a la degradación.

Los rendimientos de la producción de microcápsulas varían en el rango 0.9631-1.9889%, teniendo un valor medio de 1.4095%. Cano Mendoza (2022) reporta que los resultados del rendimiento de la producción de microesferas con diclofenaco de sodio tienen un valor medio de 18.96%. Haciendo una comparación, se deduce que en la investigación conseguimos un rendimiento menor respecto a las referencias, sin embargo no existe un porcentaje de rendimiento que este considerado como aceptable. Una vez elaboradas se preparó el método para cuantificar su liberación por ello, para confiabilidad se debe validar el método analítico a usar.



Los parámetros necesarios para que un método analítico sea considerado como validado son: selectividad, rango (intervalo de concentraciones), linealidad, precisión (repetibilidad y reproducibilidad), exactitud, sensibilidad y estabilidad de la muestra (largo plazo). El rango de concentraciones, se desarrolló en base a estudios en los cuales se realizaron combinaciones de diclofenaco con eugenol para su encapsulación con *Aloe vera*, reportan una concentración mínima esperada de 2.5 µg/ml, por lo cual se realizaron cálculos teniendo esta concentración como un 25-27 % de la C<sub>min</sub>, y muy por encima de esa concentración quedando las concentraciones distribuidas homogéneamente y equidistantes en 7 puntos; por lo que se tuvo un rango desde 2.5 µg/ml hasta 160 µg/ml con siete puntos de concentración en la curva, los cuales fueron C1 (2.5 µg/mL), C2 (5 µg/mL), C3 (10 µg/mL), C4 (20 µg/mL), C5 (40 µg/mL), C6 (80 µg/mL), C7(160 µg/mL).

La selectividad se demostró al analizar el solvente que se utilizó, para poder confirmar que no existiera el pico que correspondía a la molécula de diclofenaco y el cual fluye en un tiempo de 1.481 min (TR), tras un tiempo de corrida de 3.0 min. Los cromatogramas que corresponden a los blancos de agua destilada y blanco metanol no mostraron picos característicos de la molécula de interés.

Se comprobó la linealidad con los parámetros establecidos por la NOM-177-SSA1-2013, la cual considera un coeficiente de correlación ( $r \geq 0.99$ ), así como un coeficiente de determinación ( $r^2 \geq 0.99$ ); para el caso del diclofenaco se tuvo un  $r = 0.9968$  así como un  $r^2 = 0.9937$ . Esto sugiere una relación lineal entre la respuesta del instrumento de trabajo y las concentraciones conocidas de DFC. Al analizar el  $r^2$  vemos que el 99.37% de la respuesta obtenida depende de la concentración, complementariamente tenemos muy poco margen para que la variación de la respuesta sea debida a factores no controlados en la experimentación como el 0.32%. En los ensayos realizados relativa (%D.R.) < 15% en las concentraciones analizadas, correspondientes a los puntos control: PC1(150 µg/ml), PC2(30 µg/ml), PC3(4 µg/ml) menor al 20%, el método sugiere ser repetible y reproducible de acuerdo a los lineamientos de la NOM-177-SSA1-2013 ya que cita que debe de cumplir con un C.V  $\leq 15\%$  para PC2 y PC1 y de  $\leq 20\%$  para PC3.

El límite de cuantificación de acuerdo con las características del equipo de cromatografía de líquidos de alta eficiencia utilizado para desarrollar el método (Flexar LC/Perkin Elmer) y a las condiciones cromatográficas utilizadas, se constituyó por 2.5 µg/ml para DFC. La determinación de este límite cumplió con los criterios de exactitud y precisión con respecto de un CV de 0.80% y una D.R de 20.71%, la normativa considera un criterio de C.V y D.R  $\leq 20\%$ .

El análisis de la estabilidad a largo plazo se demostró bajo criterios de precisión y exactitud en la molécula en un ciclo de 15 días a 4 °C. Teniendo un %CV < 15% en un rango de 0.66 % a 5.25. Así mismo se obtuvieron valores de D.R. < 15% en un rango -5.25% a 16.73% estando la molécula dentro del rango de aceptación establecido en la normativa que cita un valor de CV y DR  $\leq 20\%$ .

Los resultados obtenidos y los sugeridos por la NOM-177-SSA1-1998, así como los que proporciona la guía de validación del CDER de la FDA marcan una homología del 100% en los criterios de validación, mismos, que fueron analizados y retomados en nuestro trabajo haciendo más énfasis en los descritos por la NOM-177-SSA1-1998 que son los que se aplican directamente en la validación de este método analítico cromatográfico. Por ello, argumentamos que cumplimos con ambas guías de validación para métodos analíticos.

### Limitaciones

Este trabajo constituye un método analítico basado en las concentraciones de carga de una formulación nueva de diclofenaco (microcápsulas de *Aloe vera*) para una liberación sostenida y sitio específica.

### Conclusiones

Los resultados indican que el diclorometano permite la formulación de microcápsulas con mayor homogeneidad de tamaño lo que pudiera favorecer en el momento de una liberación de la formulación y su rendimiento. Los datos sugieren que el método analítico por HPLC para la determinación de diclofenaco cumplió con los criterios de validación de la NOM-177-SSA1-2013, demostrando ser selectivo, lineal, exacto, preciso y estable en un rango de 2.5 a 160 µg/mL bajo la instrumentación de un cromatógrafo Perkin Elmer modelo Flexar con detección Uv/Vis en el laboratorio de tecnología y salud de la UAMRA-UASLP.

## Referencias

- ALQUADEIB, B. T. (2019). Development and validation of a new HPLC analytical method for the determination of diclofenac in tablets. *Saudi Pharmaceutical Journal*. Volumen 27, pp. 66-70.
- BHATTACHARYA, S.S.; BANERJEE, S; GHOSH, A.K.; CHATTOPADHYAY, P.; VERMA, A.; GHOSH, A. (2008). A RP-HPLC method for quantification of diclofenac sodium released from biological macromolecules. *International Journal of Biological Macromolecules*, pp. 354-359
- FLETES CALDERON, M. E. (2019). Influencia de parámetros de proceso en la disolución de microcápsulas de Diclofenac elaboradas mediante la metodología de la gelificación iónica, aplicando diseño factorial de experimentos 2k. UNAN- MANAGUA.
- GHOSH, S. (2006). Functional coatings and microencapsulation a general perspective. *Functional coatings. Polymer Microencapsulation*. Wiley-vch Verlag gmbh & Co. Kгаа, Weinheim. P 1-25
- HU, X. et al. (2013). Preparation and evaluation of orally disintegrating tablets containing taste-masked microcapsules of berberine hydrochloride. *AAPS PharmSciTech*, 14(1): 29-37.
- JIANG, H. et al. (2012). Superparamagnetic core-shell structured microspheres carrying carboxyl groups as adsorbents for purification of genomic DNA. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 401, 74-80.
- JIANG, W. y SCHWENDEMAN, S. P. (2001) Stabilization of a model formalinized protein antigen encapsulated in poly (lactide-co-glycolide)-based microspheres. *Journal of Pharmaceutical Science*, 90: 1558-1569.
- KASPEREK, R. (2008). Determination of diclofenac sodium and papaverine hydrochloride in tablets by HPLC method. *Polish Pharmaceutical Society*, pp. 403-408.
- biotecnológicos. *CienciaUAT*, 15(2), 21-36. <https://doi.org/10.29059/cienciauat.v15i2.1472>
- SACHIN, S et al. (2019). Formulation, Development and In vitro Characterization of Modified Release Tablets of Capecitabine. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. DOI:10.1080/03639045.2019.1698595.
- ZÁRATE HERNÁNDEZ, E., HERNÁNDEZ ESQUIVEL, R. A., PÉREZ URIZAR, J. T. (2021). Microcápsulas y microesferas: una visión a la caracterización integral y aplicación para la liberación de medicamentos



## Evaluación de sustratos + purín de *Urtica dioica* L. sobre el crecimiento de *Citrus limon*, *Citrus sinensis* y *Rosa grandiflora*

MITA Alberta San Juan Martínez<sup>1</sup>, Dra. Lorena Casanova Pérez<sup>2</sup>,  
TSU Yasmin Silva Reyes<sup>3</sup>, M.C Florencia García Alonso<sup>4</sup>

**Resumen**— Un problema en la agricultura es la deficiencia de nutrientes del suelo, por tanto, el objetivo del proyecto fue determinar el efecto de la aplicación del purín de *Urtica dioica* L. en *Citrus limón*, *Citrus sinensis* y *Rosa grandiflora* en Tlachinol, Hidalgo. El diseño experimental consistió en bloques al azar: T1 (lombricomposta - suelo + purín), T2 (Estiércol - suelo + purín) y (hojas secas - suelo + purín) y T3 testigo (100% suelo), con 3 repeticiones. El análisis de los datos se realizó con ANOVA y prueba de medias *Tukey* ( $p \leq 0.05$ ). Los resultados indican que el T1, tanto frutales como ornamentales, las plantas presentaron mayor altura existiendo diferencia estadística significativa en comparación con el T2 y el Testigo. En consecuencia, se concluye que la combinación entre lombricomposta – suelo + purín es un tipo de abono orgánico que presenta mayor efectividad en el crecimiento de las especies involucradas.

**Palabras clave**— abono orgánico, frutales, nutrientes, ornamentales, suelo.

### Introducción

Una de las pérdidas de mayor impacto en la agricultura es el agotamiento del suelo, ya que este recurso representa la base de la producción de alimentos, tanto en comunidades rurales, como urbanas (Méndez y Viteri, 2007). Este agotamiento es originado por deficiencias de macro y micro nutrientes, tanto en agua y suelo, también puede deberse a un antagonismo entre los elementos, un nivel de pH inadecuado y a un manejo deficiente en el programa de fertilización (Zamora, 2016).

Al respecto, en la Sierra Hidalguense se identifican problemas de nutrición en las plantas frutales y ornamentales debido al historial de manejo que ha involucrado el uso inadecuado de fertilizantes químicos, que permitió a los productores agrícolas obtener mayor producción en el corto plazo, pero que ha provocado efectos negativos en el suelo en el largo plazo. En este contexto, Ramos y Terry (2014) sugieren que una opción lo constituye el empleo de abonos orgánicos, entre ellos los purines que presentan parte del N en formas orgánicas, más o menos estables, que paulatinamente van mineralizándose y pasando a disposición de las plantas. El uso de biofertilizantes o purines aplicados como control de plagas y enfermedades surge con la finalidad de tener una mejor salud y ayudar al medio ambiente (Moya *et al.*, 2008; Castillo y Rodríguez, 2014; Amagua, 2020)

Así mismo, los purines son inocuos para productores, consumidores y medio ambiente, siendo ya aceptados ampliamente, ya que se han demostrado sus ventajas en los cultivos, por tanto, su uso traería grandes beneficios sin ejercer un impacto perjudicial sobre el ambiente (Grajeda *et al.*, 201; Chávez *et al.*, 2020). Los purines son fermentos que se preparan con hierbas, restos vegetales o estiércol, estos aportan aminoácidos y otras sustancias que ayudan al mejoramiento del suelo y a las plantas, aumentando los nutrientes para las mismas pero los más importantes, son los que aportan microorganismos para un buen desarrollo de las plantas (Amagua, 2020).

En este caso particular, el purín de ortiga es un estimulador de crecimiento dado su alto contenido de N y de otros componentes naturales como P, K, Ca, Mg, B, Fe, Mo, citoquininas, auxinas, giberelinas, aminoácidos; éste mejora la sanidad y el desarrollo de las raíces (IPES/FAO, 2010). El purín de ortiga es el biopreparado natural más conocido, este extracto fermentado estimula el crecimiento de las plantas y hace que sean más resistentes al estrés biótico y abiótico; se suministra directamente a la tierra de cultivo mediante riego o a las hojas en pulverización. El purín actúa contra los pulgones, ácaros y enfermedades, además tiene concentraciones importantes de histamina y acetilcolina, sustancias responsables de las reacciones urticantes que, al estar en altas densidades, pueden alterar el sistema nervioso de algunos insectos (Ileer *et al.*, 2022). Los sustratos orgánicos como composta, lombricomposta, hojarasca y estiércol son abonos orgánicos, materiales resultantes de la descomposición natural de la materia orgánica por acción de los microorganismos presentes en el medio, los cuales digieren los materiales, transformándolos en otros benéficos que aportan nutrimentos al suelo y, por tanto, a las plantas que crecen en él;

<sup>1</sup> La MITA Alberta San Juan Martínez es profesora de asignatura en la Universidad Tecnológica de Huasteca Hidalguense, México. [alberta.sanjuan@uthh.edu.mx](mailto:alberta.sanjuan@uthh.edu.mx) (autor correspondiente)

<sup>2</sup> La Dra. Lorena Casanova Pérez es Profesora de Tiempo Completo en la Universidad Tecnológica de Huasteca Hidalguense, México. [lorena.casanova@uthh.edu.mx](mailto:lorena.casanova@uthh.edu.mx)

<sup>3</sup> La TSU Yasmin Silva Reyes es estudiante de la Universidad Tecnológica de Huasteca Hidalguense, México. [20200036@uthh.edu.mx](mailto:20200036@uthh.edu.mx)

<sup>4</sup> La M.C Florencia García Alonso es profesora de asignatura en la Universidad Tecnológica de Huasteca Hidalguense, México. [florencia.garcia@uthh.edu.mx](mailto:florencia.garcia@uthh.edu.mx)

Ramos y Terry (2014) indican que los abonos orgánicos tienen altos contenidos de nitrógeno mineral y cantidades significativas de otros elementos nutritivos para las plantas.

En consecuencia, el objetivo de la presente investigación fue determinar el efecto de los sustratos y purín de *Urtica dioica* L. sobre el crecimiento *Citrus limon*, *Citrus sinensis* y *Rosa grandiflora*. Los hallazgos obtenidos son importantes en la eventual implementación para disminuir problemas de deficiencias nutricionales en algunos frutales y ornamentales en la Sierra Hidalguense, México.

### Metodología

#### *Enfoque y tipo de estudio*

La presente investigación presentó un enfoque cuantitativo, se aplicó un diseño de bloques completamente al azar (DBCA), con tres tratamientos (T1, T2 y T3) y un testigo, así como 3 repeticiones, en plantas de limón (*Citrus limon*), naranja (*Citrus sinensis*) y rosa (*Rosa grandiflora*), en el municipio de Tlanchinol, Hidalgo. Se consideró como variable principal la altura de las plantas de rosas, limón y naranja.

#### *Sitio de estudio*

La investigación se desarrolló en el vivero municipal de Tlanchinol, ubicado entre 20° 54' 45'' latitud Norte y 98° 39' 24'' longitud Oeste. Un municipio donde predomina el clima templado con temperatura media anual de 18.9°C y una precipitación pluvial de 2,601 milímetros por año.

#### *Obtención de material vegetal*

El follaje de la ortiga y las estacas de las especies evaluadas (*Citrus limón*, *Citrus sinensis* y *Rosa grandiflora*) fueron recolectadas en la localidad de Tolago, Lolotla, Hidalgo.

#### *Preparación de purín de ortiga*

La preparación de purín de ortiga se desarrolló en el laboratorio de la Universidad Tecnológica de la Huasteca Hidalguense. Las hojas de ortiga recolectadas se secaron y trituraron, para el secado se empleó una estufa por un tiempo de 72 horas a una temperatura de 70 ° C, el triturado/molido se llevó a cabo con la ayuda de mortero, guantes de látex y papel estraza, obteniendo una muestra de 200 gramos. Para la obtención del purín (fermentado) se agregó 20 gramos de muestra seca por litro de agua en envases herméticos, dejando transcurrir siete días (IPES y FAO, 2010).

#### *Evaluación de efectividad del purín*

Para la evaluación de la efectividad del purín elaborado con base en ortiga, se requirieron 108 estacas de 15 cm (36 – *Rosa grandiflora*, 36- *Citrus sinensis* y 36 – *Citrus limon*). Las estacas fueron propagadas en diversos sustratos T1: lombricomposta-suelo, T2:hojarasca-suelo y T3:estiércol-suelo, todos con una proporción de 50%, referente al testigo únicamente fue suelo. Después de la siembra de las estacas se aplicó el purín diariamente durante tres días y después cada 5 días, para lo cual tuvo que ser previamente diluido en agua en una proporción de 1:9.

#### *Registro de datos*

Los datos obtenidos referente a la variable altura de *Citrus limón*, *Citrus sinensis* y *Rosa grandiflora* en cm cada tercer día durante dos semanas, se concentraron en un registro en Excel.

#### *Análisis de datos*

A partir de los datos obtenidos con el diseño experimental de bloques completamente al azar (DBCA) se realizó una comparación de medias con la prueba *Tukey alfa* 0.05, utilizando el programa SAS (*Statistical Analysis System*).

### Resultados

El análisis de los datos obtenidos muestra que la altura promedio de las plantas de las especies involucradas: *Citrus limón*, *Citrus sinensis* y *Rosa grandiflora*, fue influenciada por el tipo de sustrato y purín de ortiga, esto se evidencia de forma numéricamente y estadísticamente como se muestra en la Figura 1.



Figura 1. Altura promedio de las plantas evaluadas según tratamiento.  
Fuente: Datos de campo

Se determinó con la prueba de comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ), mediante el paquete estadístico *Statistical Analysis System* como mejor tratamiento T1: lombricomposta-suelo + purín de ortiga en relación a la variable altura, se mostró mayor crecimiento en las tres especies evaluadas: limón, naranja y rosa.

En la comparación de medias del cultivo de limón de igual manera sobresalió T1: lombricomposta-suelo + purín de ortiga, con 11.95 cm resultando ser mejor que los tratamientos de estiércol de vaca-suelo + purín de ortiga, hojas secas + purín y el testigo que solo presentó 7.65 cm (Cuadro 1).

Tratamientos	Media (cm)	Agrupación
Lombricomposta-suelo + purín de ortiga	11.9567	A
Estiércol de vaca-suelo + purín de ortiga	8.5278	B
Hojas secas-suelo-suelo + purín de ortiga	8.3889	BC
Testigo	7.6544	C

Cuadro 1. Comparación de medias de altura en el *Citrus limon*

En las estacas de naranja durante el periodo de evaluación en el tratamiento de lombricomposta + purín de ortiga se logró hasta 11.61 cm, seguida el estiércol de vaca + purín de ortiga y hojas secas + purín de ortiga con 8.36 cm, superando el valor de testigo que fue de 7.63 cm (Cuadro 2).

Tratamientos	Media (cm)	Agrupación
Lombricomposta-suelo + purín de ortiga	11.6144	A
Estiércol de vaca-suelo + purín de ortiga	8.9167	B
Hojas secas-suelo-suelo + purín de ortiga	8.3600	BC
Testigo	7.6433	C

Cuadro 1. Comparación de medias de altura en el cultivo de *Citrus sinensis*

Aplicando de igual manera en rosas la lombricomposta-suelo + purín de ortiga presentó el valor más alto con 11.69 cm, posteriormente el estiércol de vaca-suelo + purín de ortiga con 9.05 cm, hojas secas-suelo + purín de ortiga con 8.3 y testigo con 7.62 cm (Cuadro 3).

Tratamientos	Media (cm)	Agrupación
Lombricomposta-suelo + purín de ortiga	11.6933	A
Estiércol de vaca-suelo + purín de ortiga	9.0556	B
Hojas secas-suelo-suelo + purín de ortiga	8.3044	BC
Testigo	7.6211	C

Cuadro 3. Comparación de medias de altura en *Rosa grandiflora*

### Análisis

Los resultados obtenidos coinciden con Oliver *et al.*, (2018) quienes señalan que, el purín (fermentado aeróbico) de ortigas es recomendable como estimulador del crecimiento en las plantas, sin embargo, falta información de su uso en plantas leñosas, ya que los trabajos encontrados se refieren únicamente a hortalizas. Castillo y Espejo (2015) mencionan que el efecto del purín de hojas de *Urtica dioica* L. “ortiga” sobre el crecimiento de *Raphanus sativus* L. “rabanito” en condiciones de laboratorio, se expresa positivamente en los parámetros: crecimiento, indicaron que se han obtenido excelentes resultados en la activación de la germinación con el uso de purín de *Urtica dioica* L. ya que al estar los nutrientes debidamente distribuidos, permite que el nitrógeno que es un constituyente de un gran número de compuestos orgánicos, incluidas las hormonas de crecimiento producir mejor efecto en el cultivo de rabanito. Se cree que el purín estimula el crecimiento de diferentes cultivos, sus efectos se atribuyen en parte a que contribuye con microorganismos al suelo, que aceleran los procesos microbianos como la transformación de la materia orgánica, aumentando las cantidades de nutrientes que pueden ser asimilados por las plantas, esto influiría positivamente sobre el desarrollo y el rendimiento de los cultivos (Cavigioli y Oliver, 2018).

Al igual que, Oliver *et al.* (2018) quienes demostraron que las aplicaciones de las diferentes dosis de purín en cultivo de hortalizas en ningún caso generaron un efecto perjudicial para el crecimiento de las plantas y el purín 100% mostró efectos significativos, respecto del tratamiento control. Este purín resulta valioso al combinarse a la lombricomposta, un complejo constituido por una amalgama de deyecciones de lombriz (incluyendo metabolitos propios de las especies utilizadas), materia orgánica humificada y microorganismos, cuya adición a los medios de cultivo es capaz de incrementar la germinación, el crecimiento, la floración, la fructificación y la resistencia a patógenos de una gran cantidad de especies vegetales (Domínguez, Lazcano y Gómez, 2010). Es así como, al combinar purín de ortiga y lombricomposta ambos contribuyeron en la estimulación del crecimiento de las plantas demostrando ser el mejor tratamiento, debido a que el purín es un abono 100 % natural, por poseer un alto contenido en microelementos y minerales como: el hierro (Fe), calcio (Ca), fósforo (P), Silicio (Si) y principalmente Nitrógeno (N) siendo un nutriente necesario para las plantas en crecimiento, además de aportar vida al suelo (Amagua, 2020)

### Conclusiones

La combinación entre lombricomposta – suelo + purín fue el tipo de abono orgánico que presentó mayor efectividad en el crecimiento de los frutales (*Citrus limón*, *Citrus sinensis*) y ornamental (*Rosa grandiflora*) en la Sierra Hidalguense, ya que se evidenció un efecto positivo hacia los cultivos con plantas de mayor altura. Asimismo, esta investigación permitió el establecimiento de una metodología para la preparación del purín de ortiga, la fermentación del mismo y su combinación con sustratos orgánicos con el fin de aumentar los volúmenes cosechados.

### Limitaciones

La investigación realizada presentó limitaciones en cuestión de tiempo y también económico al utilizar recursos propios y disponibles en la región de la Sierra Hidalguense. Al replicar la investigación se requiere integrar otras variables que permite evaluar la efectividad del purín de ortiga y los demás insumos utilizados. Asimismo, validar estos resultados en otras especies de plantas, involucrando dosis diferentes de purín de ortiga.

### Recomendaciones

Se recomienda investigaciones que evalúen el efecto del purín de ortiga en el crecimiento y desarrollo de plantas leñosas.

### Referencias

- Amagua, O. (2020). Beneficios del purín de ortiga (*Urtica Dioica*) a cultivos de tomate riñón. *CITED*, 2(2), 1-16. [https://www.researchgate.net/publication/350709265\\_Beneficios\\_del\\_purin\\_de\\_Ortiga\\_Urtica\\_Dioica\\_a\\_cultivos\\_de\\_tomate\\_rinon\\_una\\_Revisio\\_n\\_Sistematica\\_de\\_la\\_Literatura\\_Benefits\\_of\\_Nettle\\_Urtica\\_Dioica\\_slurry\\_to\\_kidney\\_tomato\\_crops\\_a\\_Systematic\\_Review\\_of](https://www.researchgate.net/publication/350709265_Beneficios_del_purin_de_Ortiga_Urtica_Dioica_a_cultivos_de_tomate_rinon_una_Revisio_n_Sistematica_de_la_Literatura_Benefits_of_Nettle_Urtica_Dioica_slurry_to_kidney_tomato_crops_a_Systematic_Review_of)
- Castillo I. L. y Espejo M. (2015). Efecto del purín de hojas de ortiga, *Urtica dioica*, sobre el crecimiento del rabanito, *Raphanus sativus*, en condiciones de laboratorio. Documento en línea [https://www.semanticscholar.org/paper/Efecto-del-pur%C3%ADn-de-hojas-de-ortiga%2C-Urtica-dioica%2C-Irigoin\\_Espejo/950c63355844972f3de923dffda4478c3408b7dd#references](https://www.semanticscholar.org/paper/Efecto-del-pur%C3%ADn-de-hojas-de-ortiga%2C-Urtica-dioica%2C-Irigoin_Espejo/950c63355844972f3de923dffda4478c3408b7dd#references)

Caviglioli J. P. y Oliver M. (2018). Efectos del purín de ortigas sobre el crecimiento de plantas de lechuga. Universidad Nacional de La Plata, 28 p. [http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/71089/Documento\\_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/71089/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Chávez D. I.F., Zelaya M. L. X., Cruz C. C. I., Rojas A. E., Ruíz R. S. y de los Santos. V. S. (2020). Consideraciones sobre el uso de biofertilizantes como alternativa agro-biotecnológica sostenible para la seguridad alimentaria en México. *Revista Mexicana Ciencias Agrícolas* 11(6),33-46 <https://cienciasagricolas.inifap.gob.mx/index.php/agricolas/article/view/2492/3577>

Domínguez J., Lazcano C. y Gómez B. G. (2010). Influencia del vermicompost en el crecimiento de las plantas. Aportes para la elaboración de un concepto objetivo. *Acta Zoológica Mexicana*, Número Especial 2, 359-37. <https://www.scielo.org.mx/pdf/azm/v26nspe2/v26nspe2a27.pdf>

IPES/FAO (2010). Biopreparados para el manejo sostenible de plagas y enfermedades en la agricultura urbana y periurbana. Documento en línea <https://www.fao.org/3/as435s/as435s.pdf>

Méndez M. J. y Viteri S. E. (2007) Alternativas de biofertilización para la producción sostenible de cebolla de bulbo (*Allium cepa*) en Cucaita, Boyacá. *Agronomía Colombiana* 25(1), 168-175. <http://www.scielo.org.co/pdf/agc/v25n1/v25n1a19.pdf>

Oliver M., Caviglioli J. P., Marasas M., Simontacchi M., & Maydup M. L. (2018). Efecto de un fermentado vegetal de ortiga sobre el crecimiento de lechuga. *Investigación Joven*, 4(2), 71. Recuperado de <https://revistas.unlp.edu.ar/InvJov/article/view/4947>

Ramos A. D. y Terry A. E. (2014). Generalidades de los abonos orgánicos: Importancia del Bocashi como alternativa nutricional para suelos y plantas. *Cultivos tropicales* 35(4), 52-59 [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S025859362014000400007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S025859362014000400007)

Zamora E. (2016). Algunas deficiencias nutricionales en cultivos protegidos. Cultivos Protegidos HORT-CP-002. Universidad de Sonora. Recuperado <https://dagus.unison.mx/Zamora/2.%20ALGUNAS%20DEFICIENCIAS%20NUTRICIONALES%20EN%20CULTIVOS%20PROTEGIDOS.pdf>

### Notas Biográficas

La **MITA Alberta San Juan Martínez** es profesora de asignatura de la Universidad Tecnológica de la Huasteca Hidalguense, Huejutla de Reyes, Hidalgo. Realizó su ingeniería en Biotecnología en la Universidad Tecnológica de la Huasteca Hidalguense y la maestría en Ingeniería y Tecnología Ambiental en la Universidad Centro Panamericano de Estudios Superiores.

La **Dra. Lorena Casanova Pérez** es profesora de tiempo completo de la Universidad Tecnológica de la Huasteca Hidalguense, Huejutla de Reyes, Hidalgo. La Dra. Casanova realizó la maestría en ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural en el Colegio de la Frontera Sur y sus estudios de doctorado en Agroecosistemas Tropicales en el Colegio de Postgraduados. Ha publicado artículos científicos en revistas JCR y Conacyt, es miembro del Sistema Nacional de Investigadores.

La **TSU Yasmín Reyes Silva** es estudiante de la Universidad Tecnológica de la Huasteca Hidalguense, Huejutla de Reyes, Hidalgo. Realizó el nivel TSU (Técnico Superior Universitario) en Agrobiotecnología la Universidad Tecnológica de la Huasteca Hidalguense y actualmente cursa la ingeniería en la misma institución.

La **M. C. Florencia García Alonso** es profesora investigadora de la Universidad Tecnológica de la Huasteca Hidalguense, Huejutla de Reyes, Hidalgo. La M.C. García es Licenciada en Biología por el Instituto Tecnológico de Huejutla, realizó la maestría en ciencias en Agroecosistemas Tropicales en el Colegio de Postgraduados Campus Veracruz. La M. C. García ha publicado artículos científicos en revistas Conacyt.

### Apéndice

Morfología y Ecología de *Urtica dioica* L.

*Urticaceae* (Subdivisión *Magnoliophytina*, clase *Magnoliopsida*, subclase *Hamamelididae*)

*Urtica dioica* L. Cast.: Ortiga mayor Eusk.: Asun handi

Caracteres diagnósticos: Hierba perenne, con tallos postrados, delgados y persistentes (similares a rizomas), que producen cada año ramas aéreas verticales de hasta 1,5 m de altura. Hojas opuestas, pecioladas, ovado-lanceoladas, de margen serrado y con estípulas. Las partes aéreas con abundantes pelos patentes, algunos de los cuales (los más largos) son urticantes. Es una planta dioica (= diferenciada en individuos masculinos -a la izquierda en la imagen- y femeninos -a la derecha-). Las flores aparecen en inflorescencias ramificadas (panículas) que cuelgan de los nudos superiores. Individualmente son pequeñas y poco llamativas, tienen un perianto monoclamídeo de 4 piezas de color verde, y 4 estambres (las masculinas) o el gineceo (las femeninas). Éste es bicarpelar y consta de ovario súpero y estigma sésil, ± plumoso. El fruto es un pequeño aquenio. Florece en primavera y verano.

Forma vital: Hemicriptófito.

Ecología y distribución en la Península Ibérica: Planta nitrófila, vive en huertas, caminos, y lugares nitrificados en general, con una cierta humedad. En la Península, solamente falta en las regiones más secas.

Distribución general: De origen eurasiático, es actualmente subcosmopolita.