

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

CENTRO DE DESARROLLO DE PRODUCTOS BIOTICOS

**DOCTORADO EN CIENCIAS EN
DESARROLLO DE PRODUCTOS BIÓTICOS**

MEMORIA DEL SEMINARIO A2009

Yautepec, Morelos

Junio 2009

DOCTORADO EN CIENCIAS EN DESARROLLO DE PRODUCTOS BIÓTICOS

SEMINARIO A2009

Lunes 15 de junio de 2009

SEMINARIO I

Moderadores: Dra. Gabriela Trejo Tapia y Dr. René Arzuffi Barrera

9:00-9:30 **Santiago Moisés Gallegos Tintoré**

Evaluación del potencial de las proteínas de *Jatropha curcas* L. para la producción de ingredientes bioactivos y películas biodegradables

9:30-10:00 **Janet María León Morales**

Efecto del estrés oxidativo causado por cobre en la inducción de betacianinas y en la respuesta antioxidante de plantas de *Beta vulgaris* L.

10:00-10:30 **Heidi María Palma Rodríguez**

Efecto del tamaño del gránulo de almidón en la retención y estabilidad de la vitamina C durante su almacenamiento por encapsulación

10:30-10:45 RECESO

10:45-11:15 **Verónica Pérez Escalante**

Formulación de un alimento enriquecido con antocianinas de la flor de jamaica para potenciar la pigmentación en peces de ornato (*Carassius auratus*)

11:15-11:45 **Assael Yadir Luna Guerrero**

Factores bióticos y abióticos relacionados con la muerte prematura del duraznero (*Prunus persica* (L.) Batsch) en Morelos y cambios bioquímicos y fisiológicos en el proceso patológico

11:45-12:00 RECESO

SEMINARIO IV

Moderadora: Dra. Gabriela Sepúlveda Jiménez

12:00-12:40 **Rosa Elena Espinoza Mendoza**

Caracterización morfo estructural del grano de arroz variedad Morelos A-98 mediante análisis fractal de imágenes digitales

12:40-13:20 **Jacqueline Capataz Tafur**

Secreción de proteínas arabinogalactanos en suspensiones celulares de *Beta vulgaris* L. en respuesta a la concentración de sacarosa

13:20-14:00 **Norma Leticia Martínez Mata**

Evaluación de efectos citotóxico y antioxidante de extractos de *Kalanchoe daigremontiana* R.

Evaluación del potencial de las proteínas de *Jatropha curcas* L. para la producción de ingredientes bioactivos y películas biodegradables

Santiago Moisés Gallegos Tintoré

Jatropha curcas es una planta originaria de México y América central, resistente a la sequía. Por su alto contenido de aceite, ha sido objeto de numerosas investigaciones encaminadas a la obtención de biodiesel. Sin embargo, el aprovechamiento de otras fracciones como la proteína de la pasta desgrasada, ha sido relegado a un segundo plano. En años recientes, se han demostrado los efectos benéficos para el organismo de una dieta saludable. Un grupo de ingredientes con funcionalidad biológica, son los péptidos que pueden ser liberados y ejercer un sinnúmero de efectos fisiológicos *in vivo*. Diversos sistemas formulados con proteínas como gelatina, colágeno, caseína, entre otras, han sido empleados para la liberación controlada de fármacos, nutrientes, péptidos bioactivos y organismos prebióticos. El empleo de proteínas vegetales en la formulación de películas es una posibilidad prometedora, ya que han sido poco estudiadas y son por lo general económicas y menos riesgosas que las de origen animal. El objetivo de este trabajo es evaluar el potencial de las proteínas de *J. curcas* para la producción de ingredientes bioactivos y películas biodegradables. Inicialmente se obtendrá un aislado proteínico (APJ) a partir de harina de semilla desgrasada, se generarán hidrolizados enzimáticos a partir del APJ empleando diferentes condiciones. Se determinará la actividad antioxidante (AOX) de los hidrolizados mediante diferentes metodologías y a partir del mejor, se obtendrán fracciones por Cromatografía Líquida de Separación Rápida de Proteínas (FPLC), para posteriormente, purificar los péptidos de las fracciones con mayor AOX mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). Se determinará la AOX así como el peso molecular, secuencia y contenido de aminoácidos de los péptidos purificados. Por otra parte, el APJ se empleará para elaborar las películas aplicando un diseño factorial 2² evaluando como factores, la concentración de proteína y plastificante. Los productos serán caracterizados físicoquímica y estructuralmente.

Efecto del estrés oxidativo causado por cobre en la inducción de betacianinas y en la respuesta antioxidante de plantas de *Beta vulgaris* L.

Janet María León Morales

En las plantas, el cobre a concentraciones tóxicas genera estrés oxidativo afectando la fotosíntesis y el crecimiento. Este estrés es ocasionado por la producción masiva de especies reactivas de oxígeno (ERO) como el anión superóxido y el radical hidroxilo, a través de las reacciones de Fenton. Sin embargo, algunos reportes muestran que la NADPH oxidasa también está implicada con la producción del anión superóxido. Para regular los niveles tóxicos de ERO generados por la exposición al cobre, se reporta la inducción de las enzimas superóxido dismutasa (SOD) y peroxidasa (POX), principalmente. Sin embargo, no se conoce si metabolitos secundarios como las betacianinas son parte de la respuesta antioxidante que se induce por la exposición al cobre. Las betacianinas son cromoalcaloides del betabel (*Beta vulgaris* L.) que en ensayos *in vitro* tienen actividad antioxidante, pero se desconoce su función en las plantas. En *B. vulgaris* L., la infiltración de bacterias induce la acumulación de betacianinas y la expresión del gen *BvGT* que codifica para una glucosiltransferasa, posiblemente involucrada con la síntesis de betacianinas. Esta inducción fue precedida por la acumulación de ERO. Por lo que, el objetivo de este trabajo es evaluar el efecto del estrés oxidativo causado por cobre en la inducción de la expresión del gen *BvGT* y la síntesis de betacianinas y su relación con la respuesta antioxidante de plantas de *B. vulgaris* L. Se realizará el tratamiento con cobre y se evaluará la inducción de la expresión del gen *BvGT*, la síntesis de betacianinas y la actividad de POX. A través del uso de inhibidores se buscará disminuir la actividad de NADPH oxidasas, de SOD y de POX, y analizar su efecto en los niveles de expresión del gen *BvGT* y en la inducción de la síntesis de betacianinas.

Efecto del tamaño del gránulo de almidón en la retención y estabilidad de la vitamina C durante su almacenamiento por encapsulación.

Heidi María Palma Rodríguez

La vitamina C ó L-ácido ascórbico es uno de los nutrientes más adicionados a los alimentos ya sea, como antioxidante y/ó suplemento vitamínico para reforzar la ingesta diaria. Sin embargo, su aplicación se ve limitada ya que es altamente inestable a las condiciones de proceso y almacenamiento como son la temperatura y la presencia de luz y oxígeno. La estabilidad de la vitamina C puede mejorarse mediante la encapsulación, la cual es una técnica en donde las partículas de un ingrediente activo se forman como un núcleo y son cubiertas por una pared delgada como material de revestimiento, por lo que resulta un medio eficaz para proteger ingredientes activos de su degradación. La eficiencia de la encapsulación así como la estabilidad de las microcápsulas durante el almacenamiento, dependen en gran medida de la composición del material de revestimiento. Los criterios de selección de un material de revestimiento se basan principalmente en sus propiedades fisicoquímicas como la solubilidad, peso molecular; transición vítrea; cristalinidad; formación de película y propiedades emulsionantes. Entre los materiales utilizados frecuentemente como material de revestimiento se encuentra el almidón. Este carbohidrato tiene potencial para ser aplicado en la encapsulación debido a sus propiedades como hinchamiento, solubilidad, gelatinización, capacidad de formación de película y pasta. El tamaño y la estructura del gránulo están relacionados con dichas propiedades, por ejemplo los gránulos pequeños ($\leq 10\mu\text{m}$) tienen menor temperatura de empastado, mayor absorción de agua, una fácil hidratación, presentan menor hinchamiento, su entalpia de gelatinización es menor y son mas susceptibles a la hidrólisis ácida o enzimática en comparación con los gránulos grandes ($>10\mu\text{m}$). El objetivo de este proyecto es evaluar el efecto del tamaño del gránulo de almidón en la encapsulación y retención de la vitamina C durante el almacenamiento.

Formulación de un alimento enriquecido con antocianinas de la flor de jamaica para potenciar la pigmentación en peces de ornato (*Carassius auratus*)

Verónica Pérez Escalante

En los últimos años la acuicultura se ha interesado por la aplicación de los pigmentos en peces cultivados tanto en organismos comestibles como en ornamentales. La pigmentación de los peces ornamentales es uno de los criterios más importante que dicta la calidad en el mercado. Los peces como muchos otros animales son incapaces de sintetizar sus propios pigmentos, por lo que tienen que adquirirlos de la dieta para lograr una pigmentación. Los pigmentos comúnmente usados son la astaxantina, cantaxantina y luteína. Otra fuente importante de pigmentos y que podrían suministrarse a través de la dieta son las antocianinas. El objetivo de este trabajo es elaborar un microencapsulado con un alimento base para peces, enriquecido con antocianinas y evaluar su efectividad en la pigmentación de peces de ornato japones (*Carassius auratus*). Los microencapsulados se van a obtener realizando una emulsión con el alimento base, las antocianinas y alginato de sodio como material pared, secados por liofilización. Se estudiará la estabilidad de los pigmentos microencapsulados a temperaturas de 4° C y 25° C y a diferentes tiempos de almacenamiento (5, 10, 20 y 30 días) se realizará la extracción y cuantificación de antocianinas, también se evaluará la permanencia en el medio acuático durante 1, 5, 10, 15, 30 y 60 min, así como la forma y tamaño de los microencapsulados mediante microscopía electrónica de barrido (MEB) y electrónica de transmisión (MET). Finalmente los microencapsulados se probarán en el pez para evaluar su asimilación y su pigmentación en la piel, realizando cortes histológicos. Se evaluará el crecimiento, desarrollo gonádico y tasa de conversión del alimento para observar la respuesta de los organismos por efecto del pigmento.

Factores bióticos y abióticos relacionados con la muerte prematura del duraznero (*Prunus persica* (L.) Batsch) en Morelos y cambios bioquímicos y

fisiológicos en el proceso patológico

Assael Yadir Luna Guerrero

La muerte prematura del duraznero (MPD) es un complejo de factores que causan la muerte repentina de árboles jóvenes de durazno (3-7 años) en todo el mundo. Este problema ha sido ampliamente estudiado en el sureste de los Estados Unidos, en donde se ha determinado que ocurre a causa de dos factores que están directamente relacionados con la muerte (daño por heladas y cancro bacteriano causado por *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*) y los factores que predisponen o favorecen al desarrollo del complejo, como son el pH, las prácticas culturales y el nematodo de anillo de la especie *Criconeoides xenoplax*. En el proceso patológico se desencadenan una serie de cambios bioquímicos, principalmente en la producción de algunos compuestos como: carbohidratos, algunos fitorreguladores como auxinas, citocininas y la prunasina, un compuesto cianogénico, así como la activación enzimática de polifenol oxidasa y la peroxidasa. En los últimos años se ha detectado un problema que afecta a los cultivos de durazneros jóvenes (menos de 7 años) en la localidad de Tetela del Volcán, Morelos, el cual se asemeja a los síntomas de la muerte prematura, sin embargo, se desconoce si es el mismo problema que en Estados Unidos, si se presentan todos, algunos o ninguno de los factores asociados a la MPD o es una enfermedad completamente diferente. Por tal motivo, el objetivo de este trabajo será determinar los principales factores bióticos y abióticos relacionados con la MPD en Morelos. Para esto se llevará a cabo: a) una exploración nematológica para determinar las principales especies de nematodos fitoparásitos asociados al cultivo de durazno en Morelos, b) los patógenos involucrados en la enfermedad y c) la relación de la enfermedad con heladas y prácticas culturales. Posteriormente se estudiarán los cambios bioquímicos durante la enfermedad.

Caracterización morfo estructural del grano de arroz variedad Morelos A-98 mediante análisis fractal de imágenes digitales

Rosa Elena Espinosa Mendoza

El arroz juega un papel preponderante en la alimentación de la población mundial; la escalada de precios a nivel internacional y su uso para generar biocombustibles han traído como consecuencia un serio desabasto en diversos países. En México la situación es más compleja ya que se comercializan productos de calidad inferior, haciendo alusión al arroz que se siembra en el Estado de Morelos. Esta situación hace necesaria una protección legal que delimite la región de origen del arroz que ostenta la calidad Morelos. Para ello, se requiere establecer una descripción morfo estructural del grano con el objeto de establecer diferencias distintivas únicas. En este trabajo se llevó a cabo la caracterización morfo estructural del grano de arroz variedad Mor A-98. En cortes transversales del grano, en cinco etapas de maduración fisiológica (7, 14, 21, 28 y 35 días después de anthesis DAF) y cuatro posiciones en la panícula, se evaluaron cuatro descriptores de dimensionalidad para el crecimiento (perímetro, área, longitud máxima y longitud mínima), tres descriptores de forma (factores de forma, compacidad y elíptico) para el endospermo y para los gránulos de almidón. Así como tres descriptores de regularidad (dimensión fractal de área, dimensión fractal de perímetro y dimensión fractal de textura). Se utilizaron técnicas de microscopía óptica y electrónica de barrido complementadas con herramientas de tratamiento digital de imágenes (TDI). Encontrándose cuantitativamente que hay un crecimiento acelerado del endospermo durante las primeras dos semanas, y lento en las últimas; en lo que respecta a la forma del corte transversal esta tiende a un círculo. Se determinó también que la morfo estructura del granulo de almidón varia en las diferentes etapas de llenado así como en las dos regiones del endospermo (opaca- traslucida), coincidiendo esto con los descriptores de regularidad (dimensión fractal de textura) de los cortes transversales del grano.

Secreción de proteínas arabinogalactanos en suspensiones celulares de *Beta vulgaris* L. en respuesta a la concentración de sacarosa

Jacqueline Capataz Tafur

En los cultivos de *Beta vulgaris* L., las proteínas arabinogalactanos (AGPs) se acumulan en el medio extracelular y son un modelo experimental para conocer los factores que afectan su secreción. En este trabajo, se evaluó el efecto de la concentración de sacarosa en el crecimiento y la secreción de las AGPs de *B. vulgaris* L. A 43.8 mM de sacarosa, los cultivos alcanzaron un crecimiento máximo de 10.33 g L⁻¹. En contraste, a 87.6 y a 131.5 mM, la máxima biomasa fue de 15.97 y de 23.68 g L⁻¹, para cada una. Los máximos de AGPs secretadas fueron de 13.49, 59.12 and 67.80 mg L⁻¹ con 43.8, 87.6 y 131.5 mM de sacarosa, respectivamente. A medida que se aumentó la concentración de sacarosa, las células tendieron a formar agregados más grandes que coincidió con una mayor presencia de AGPs, sugiriendo un papel como moléculas de adhesión celular. Para establecer si el aumento en la secreción fue debido a un estrés osmótico por sacarosa, los cultivos de *B. vulgaris* crecidos inicialmente con 43.8 mM de sacarosa, fueron alimentados en el día 7 del cultivo (azúcares residuales equivalentes a 23.78 mOsm kg⁻¹) con sacarosa o manitol (azúcar no metabolizable) hasta un potencial osmótico de 95.97 mOsm kg⁻¹. Los cultivos alimentados con sacarosa, incrementaron la biomasa (2 veces) y la secreción de AGPs (6 veces) en comparación con el control. En contraste, las células alimentadas con manitol mostraron un crecimiento casi similar al del control, pero la secreción de AGPs aumentó 6 veces (a 84.0 mg L⁻¹). Estos resultados indican que la secreción de AGPs por las células de *B. vulgaris* puede estar relacionada con el crecimiento de los cultivos, pero también podría ser parte de la respuesta celular al estrés osmótico.

Evaluación de efectos citotóxico y antioxidante de extractos de

***Kalanchoe daigremontiana* R.**

Norma Leticia Martínez Mata

El cáncer es una enfermedad originada entre otras cosas por sustancias químicas que promueven la formación de radicales libres (RL) causantes de daños oxidativo en biomoléculas. Una alternativa de tratamiento convencional es a través de compuestos vegetales llamados fitofármacos; tienen la función de inactivar y restaurar lesiones o mutaciones ocasionadas por RL en las células. *Kalanchoe daigremontiana* R, (“Arantó”) es una especie que tradicionalmente se utiliza para el tratamiento del cáncer; sin embargo, no se tienen reportes científicos sobre su efecto anticancerígeno. En este trabajo se evalúa el probable efecto anticancerígeno a través de: a) estudios biodirigidos de citotoxicidad en líneas de células de cáncer humano: Kb (nasofaringe), Hep (larínge), MCF-7 (mama) y PC-3 (próstata) y b) actividad antioxidante de los extractos mediante el radical 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH) y la cuantificación de la cantidad total de polifenoles. En el caso de los estudios de citotoxicidad se calculó la CI_{50} mediante tinción celular con sulfurodamina B ($\lambda= 490$ nm). En el DPPH se midió la decoloración de este compuesto a una $\lambda= 517$ nm evaluándose la CI_{50} mientras que en el caso de los polifenoles se determinaron usando el reactivo Folin - Ciocalteau ($\lambda= 760$ nm) y se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico (mg EAG)/ g de extracto. Se probaron 6 extractos de hojas frescas maceradas con hexano (HX), cloroformo (CLO) y metanol (MET). Los extractos con mayor actividad citotóxica fueron CLO Y MET ($CI_{50} < 1.5$ μ g/ml), siendo más sensible la línea Kb, seguida de Hep y MCF-7. El efecto antioxidante se presentó en extractos de mediana polaridad (CLO) con CI_{50} de 1.5 μ g/ml con respecto al control, el antioxidante sintético “Trolox” ($CI_{50}= 2.2$ μ g/ml). Finalmente, los extractos con mayor contenido de polifenoles fueron los de alta polaridad (MET) en los que los fenoles totales fueron 38.7 mg eq de AG/g de extracto; considerado como un valor elevado.