

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

CENTRO DE DESARROLLO DE PRODUCTOS BIÓTICOS

DOCTORADO EN CIENCIAS

EN DESARROLLO DE PRODUCTOS BIÓTICOS

MEMORIA DEL SEMINARIO A-2011

**Yautepec, Morelos
Junio, 2011**

**DOCTORADO EN CIENCIAS EN DESARROLLO DE PRODUCTOS BIÓTICOS
SEMINARIO A-2011**

P R O G R A M A

Jueves 2 de junio de 2011

SEMINARIO I

Moderador: René Arzuffi Barrera

9:00-9:25 Fandila Carlos Amaya

9:25-9:50 Liliana Carolina Córdova Albores

SEMINARIO II

Moderador: Javier Solorza Feria

9:50-10:20 Nayeli Monterrosas Brisson

10:20-10:50 Paul Mauricio Sánchez Ocampo

10:50-11:00 RECESO

11:00-11:30 Estrella Lara Cortés

11:30-12:00 Israel Benitez García

Viernes 3 de junio de 2011

SEMINARIO IV

Moderadores: Mario Rodríguez Monroy y Gabriela Sepúlveda Jiménez

9:00-9:40 Carolina Chávez Murillo

9:40-10:20 Santiago Gallegos Tintoré

10:20-11:00 Janet María León Morales

11:00-11:10 RECESO

11:10-11:50 Assael Yadir Luna Guerrero

11:50-12:30 Maribel Ovando Martínez

12:30-13:10 Vicente Espinosa Solis

Digestibilidad de carbohidratos y fermentación *in vitro* de harina de plátano (*Musa paradisiaca* L.) sometida a tratamientos físicos y su efecto anticancerígeno

Fandila Carlos Amaya

Los cambios en los hábitos alimenticios, específicamente en la disminución de la ingesta de alimentos ricos en fibra dietética (FD) o carbohidratos indigeribles (CI), se relacionan con problemas de salud como sobrepeso y obesidad y su efecto en patologías como cáncer de colon. La tendencia actual es buscar ingredientes que además de aportar CI tengan respuesta glucémica baja. La FD y el almidón resistente (AR) son los principales CI en la dieta, no son digeridos en el intestino delgado, por lo tanto llegan al colon donde son fermentados por la microflora colónica. La harina de plátano inmaduro contiene AR y, adicionalmente FD y polifenoles. Cuando el plátano inmaduro es sometido a cocción, la fracción de AR disminuye ó se pierde, por lo que se ha recurrido a modificaciones físicas como el “annealing” (anillado), para incrementar y mantener dicha fracción. Los productos finales de mayor importancia obtenidos durante la fermentación son ácidos grasos de cadena corta (AGCC) como acetato, propionato y butirato. Se ha reportado que estos AGCC tienen efectos benéficos en el organismo. El acetato se utiliza como fuente de energía en periodos largos de ayuno, el propionato inhibe la síntesis de colesterol, mientras que el butirato induce la apoptosis e inhibe la proliferación de líneas celulares de cáncer. El objetivo del presente trabajo es estudiar la digestibilidad y fermentación *in vitro* de la harina de plátano inmaduro sometida a tratamientos físicos, así como su efecto anticancerígeno. A las muestras se les medirá la digestibilidad *in vitro* mediante la velocidad de hidrólisis del almidón, se cuantificará la fracción indigerible (FI) y capacidad de antioxidante. La cuantificación de AGCC se realizará del sobrenadante de la fermentación *in vitro*, se inducirá cáncer en organismos de experimentación (ratones) y se evaluará el efecto de los AGCC sobre el crecimiento de los colonocitos.

Compuestos antifúngicos de *Jatropha curcas* y su mecanismo de acción sobre *Fusarium* spp a nivel molecular, bioquímico y celular

Liliana Carolina Córdova Albores

El Estado de Morelos ocupa el tercer lugar de producción a nivel nacional de gladiolo. Las zonas productoras de este ornamental han sido seriamente afectadas por la fusariosis causada por hongos del género *Fusarium*. El manejo de la enfermedad es generalmente mediante el empleo de fungicidas químicos. Sin embargo, existen un sinnúmero de reportes sobre la resistencia que presentan. Otra alternativa para el manejo de la fusariosis es el uso de aceites vegetales. Las semillas de *Jatropha curcas* han demostrado tener actividad antifúngica sobre *Fusarium oxysporum*, *F. semitectum*, *F. solani*, *Colletotrichum capsici*, *C. gloeosporioides*, entre otros. Se ha demostrado que la actividad biológica que presenta esta especie vegetal se debe a la presencia de los ésteres de forbol. Los mecanismos de acción del éster de forbol activo TPA (4 β -12-*O*-tetradecanoylforbol-13-acetato) son conocidos únicamente sobre células animales. Dado el potencial demostrado de *J. curcas* para el control de hongos del género *Fusarium* y que los mecanismos de acción de los ésteres de forbol se han realizado únicamente en células animales, se propone como objetivo elucidar el o los mecanismos de acción antifúngico de los ésteres de forbol del aceite de *J. curcas* sobre hongos del género *Fusarium* aislados de cormos de gladiolo. Para ello, se aislarán, identificarán y caracterizarán los ésteres de forbol mediante cromatografía en columna, espectrometría de masas y resonancia magnético nuclear, se evaluará el efecto de los ésteres de forbol sobre las propiedades de la membrana plasmática a nivel bioquímico (inhibición de ATPasa y activación de la proteína quinasa C) y morfológico mediante microscopia electrónica de barrido, microscopia electrónica de transmisión. A nivel molecular se investigará la expresión o represión de genes específicos en *Fusarium*. A nivel celular se evaluarán los ésteres de forbol sobre el proceso de infección en cormos de gladiolo mediante histología e histoquímica.

Evaluación del potencial citotóxico de extractos de *Castilleja tenuiflora* Benth. en líneas celulares de cáncer

Paul Mauricio Sánchez Ocampo

Castilleja tenuiflora (Orobanchaceae) es una planta conocida como “hierba del cáncer” y es usada en la medicina tradicional mexicana para tratar tumores, esterilidad, desórdenes gastrointestinales y cirrosis. Esta planta acumula iridoides glicosilados y feniletanoides, los cuales están asociados a diversas actividades biológicas como son: antioxidante, citotóxica, antitumoral e inmunoestimulante. Por lo que se proponen, como una terapia alternativa para el tratamiento de enfermedades como el cáncer. Esta enfermedad es la segunda causa de muerte en México después de las enfermedades cardiovasculares, siendo el carcinoma cérvico uterino la principal causa de muerte en mujeres y el cáncer de próstata en hombres. El objetivo de este trabajo es evaluar la actividad citotóxica de los extractos de diferente polaridad de *C. tenuiflora* silvestre mediante ensayos *in vitro* sobre la proliferación de cuatro líneas celulares provenientes de cánceres humanos: carcinoma de colon (HF-6), nasofaríngeo (KB), mama (MCF-7) y próstata (PC-3). Para esto se colectaron plantas de *C. tenuiflora* en Juchitepec, Estado de México, las cuales se secaron, pulverizaron y maceraron para obtener extractos de diferente polaridad (hexano, acetato de etilo y metanol). El mayor rendimiento de extracción se obtuvo con metanol (18.87%, base seca). La citotoxicidad de los extractos se evaluó por el método de la sulforodamina B y se obtuvo que únicamente los extractos de acetato de etilo de hoja y de tallo inhibieron el crecimiento de las células de cáncer nasofaríngeo (KB) con valores de IC₅₀ de 82.2 y 112.4 µg/ml, respectivamente; estos valores son mayores a lo establecido por el Instituto Nacional de Cáncer de EEUU para que un extracto sea considerado citotóxico (20 µg/ml). Los resultados hasta ahora obtenidos son contrarios a lo esperado; en los siguientes experimentos se evaluará material vegetal colectado en otros sitios y épocas del año así como fracciones aisladas y químicamente identificadas.

Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en flores de Dalia

Estrella Lara Cortés

Las flores de Dalia (*Dahlia* spp.) se han consumido en mesoamérica antes de la conquista española. Actualmente, estos hábitos persisten entre la población que consumen flores en ensaladas y sopas. Se sabe que las flores de algunas especies de plantas contienen compuestos naturales, como compuestos fenólicos. Con el fin de proveer evidencia científica para la investigación y desarrollo de flores comestibles de diferentes especies de Dalia en México como alimento funcional, se investigó el contenido de compuestos polifenólicos, el tipo, y la actividad antioxidante de sus flores, las cuales fueron facilitadas por la Asociación Mexicana de la Dalia. Las lígulas fueron separadas de la cabeza de la flor y liofilizadas. El método Folin Ciocalteu, HPLC y ensayos (DPPH) 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl se siguieron para analizar el contenido y el tipo de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante en 8 colores (morado, amarillo, rosa, violeta, guinda, blanco, naranja y rojo) de las flores. Los resultados que mostraron el mayor contenido de compuestos fenólicos en las flores de Dalia fueron el púrpura (127.446 mg de AG g⁻¹), seguido por el amarillo (102.068 mg de AG g⁻¹) y el color morado (77.771 mg de AG g⁻¹). El menor contenido de polifenoles ha sido en las flores de color rojo (3.573 mg de AG g⁻¹). El tipo de compuestos fenólicos varió según el color de la flor. El más alto valor de compuestos fenólicos fue para hesperidina (398.9 mg g⁻¹) y en la mayoría de las flores los compuestos fenólicos detectados fueron los ácidos gálico y cafeico. Con respecto a la capacidad antioxidante la mayor inhibición se observó con flores de color púrpura y guinda (24%). Los valores más bajos se registraron en morado, rojo y blanco (ca. 17%). Es importante llevar a cabo investigaciones sobre la sinergia entre los compuestos fenólicos y otros componentes nutricionales de las flores de Dalia.

Análisis de la regulación de la biosíntesis de carotenoides en cultivos *in vitro* de *Tagetes erecta*

Israel Benítez García

Los carotenoides son pigmentos naturales que presentan actividad biológica en enfermedades como el cáncer. Actualmente, la regulación de la biosíntesis de carotenoides no ha sido completamente esclarecida. En *Solanum lycopersicum*, se ha reportado que el gen *lcy-β* que codifica para la enzima β-licopeno ciclasa, regula la biosíntesis de carotenoides; por otro lado, en *Brassica oleracea*, se ha reportado que los plastoglobulos (estructuras de almacenamiento de carotenoides) podrían estar involucrados con la regulación de carotenoides y que la presencia de estas estructuras se debe a la expresión del gen *or*, que codifica para una enzima asociada a la formación de plastoglobulos en cromoplastos. *Tagetes erecta* es una especie que acumula carotenoides, presenta flores con tonalidades que van del amarillo claro al anaranjado intenso. En variedades de coloración amarillo claro, se ha reportado que la presencia mínima de carotenoides, se debe a la disminución del transcrito del gen *lcy-β* y a la disminución del número de plastoglobulos. No se sabe, si esta evidencia esté asociada a la regulación de la biosíntesis, por lo tanto, se propone utilizar un cultivo *in vitro* de una variedad de flor amarillo claro de *T. erecta*, para analizar la regulación de la biosíntesis y acumulación de carotenoides, por medio de la sobre-expresión de los genes *lcy-β* y *or*. Se establecerá una línea celular *in vitro*, a la cual se le integrarán por medio de biobalística, los genes carotenogénicos (*lcy-β* y *or*), las líneas transgénicas se seleccionarán por resistencia a kanamicina y se analizarán por PCR y Southern blot. Para conocer el nivel de transcrito de los genes, se realizará un qRT-PCR. Por otro lado se analizará el contenido de pigmentos por medio de HPLC, así mismo se comparará la producción de pigmentos con el nivel de transcrito, para determinar la relación entre la expresión de los genes y la acumulación de los pigmentos.

Caracterización fisicoquímica, estructural y de textura del almidón de arroz (*Oryza sativa* subespecie Indica) cultivado en México

Carolina Estefanía Chávez Murillo

El arroz contiene hasta un 90% de almidón, por tanto las propiedades de este polisacárido y su relación con los componentes minoritarios, influyen sus características al ser cocido. En México, existe poca información relacionada con la calidad del arroz que se comercializa, por lo que el objetivo del trabajo fue analizar las características fisicoquímicas, de textura y de digestibilidad del almidón de variedades de arroz cultivadas en México. Se utilizaron nueve variedades de arroz donadas por el INIFAP (Zacatepec, Mor.). En base a sus dimensiones, los granos de arroz se clasificaron en grano medio, largo y extralargo. Huimanguillo presentó el mayor contenido de amilosa (30.4%) y las variedades Morelos presentaron el contenido más bajo (de 24.3 a 25.2%). Referente a las propiedades térmicas, la variedad Filipino presentó la temperatura de inicio de gelatinización más baja (60.6 °C), mientras que Champotón tuvo el valor más alto (71.9 °C); en cuanto a la entalpía de retrogradación es notable que A06 sólo mostró un porcentaje de retrogradación de 33% en comparación con Culiacán que retrogradó en un 71%, indicando posibles diferencias en la estructura de la amilopectina. El perfil de formación de pastas mostró que las variedades con mayor contenido de amilosa tuvieron valores de viscosidad de pico y viscosidad final mayor que las variedades con menor contenido de amilosa. En cuanto al aspecto nutricional, no se encontró ninguna correlación entre la digestibilidad *in vitro* de almidón de arroz gelatinizado con el resto de los parámetros analizados en esta investigación. El análisis de la longitud de cadena de la amilopectina reveló diferencias entre el porcentaje de cadenas de grado de polimerización de 6-12 y 13-24 parámetros que repercutieron en los resultados de propiedades térmicas y de empastado, así como en la digestibilidad del almidón en estado crudo.

Aprovechamiento de las proteínas de *Jatropha curcas* L. para la producción de ingredientes antioxidantes

Santiago Gallegos Tintoré

Debido a que *Jatropha curcas* L. presenta un alto contenido de aceite, ha sido objeto de numerosas investigaciones encaminadas a la obtención de biodiesel. Sin embargo, la proteína de la pasta desgrasada es relegada a un segundo plano, aun cuando estudios previos demuestran su potencial antioxidante. Los péptidos son un grupo de ingredientes con funcionalidad biológica, que pueden ser liberados y ejercer un sinnúmero de efectos fisiológicos *in vivo*. En este trabajo, semillas de *J. curcas* L. pertenecientes a un genotipo no tóxico originario de Puebla, México se procesaron para obtener un aislado proteínico (APJ) y a partir de éste se obtuvieron hidrolizados enzimáticos empleando diferentes tiempos de hidrólisis con la enzima comercial alcalasa y el sistema pepsina-pancreatina. Se determinó la composición química del APJ, así como el grado de hidrólisis y la actividad antioxidante (AOX) de los hidrolizados, empleando pruebas químicas (captación de radicales libres DPPH, quelación de Cu^{2+} y Fe^{2+}). Los hidrolizados obtenidos a 50min de digestión con alcalasa (HL50AL); 60 y 180min con pepsina-pancreatina (HL60PP y HL180PP), se fraccionaron mediante cromatografía de filtración en gel. Se determinó la AOX de estos hidrolizados empleando la línea celular CACO 2, así como de las fracciones cromatográficas obtenidas a partir de HL50AL y HL180PP. El contenido de aminoácidos estuvo correlacionado con la AOX encontrando altas concentraciones de Phe, Tyr, Arg y Leu en las fracciones con mayor actividad, las cuales presentaron pesos moleculares aproximados de 1550, 870 y 80Da. El mapa peptídico de éstas se determinó mediante HPLC, encontrando picos mayoritarios a 17, 20, 22, 24 y 26 min. de tiempo de retención. Por lo anterior se concluye que *J. curcas* es fuente de proteína y péptidos con actividad antioxidante.

Toxicidad del cobre y la inducción de betacianinas en plantas de betabel (*Beta vulgaris* L.)

Janet María León Morales

El exceso de cobre afecta diversos procesos bioquímicos y fisiológicos en las plantas, los cuales están relacionados con la generación de especies reactivas de oxígeno. Dentro de las respuestas de defensa inducidas por cobre se encuentra la síntesis de metabolitos secundarios, que puede estar regulada por la etapa de desarrollo de la hoja; sin embargo, se desconoce si contribuyen a prevenir los efectos tóxicos del cobre. Las betacianinas son metabolitos secundarios del betabel con actividad antioxidante *in vitro*, cuya síntesis es inducida por diversas condiciones medioambientales adversas y es precedida por la acumulación de H₂O₂. Por lo que el objetivo del trabajo fue evaluar el efecto del exceso de cobre en el crecimiento, en la inducción de la síntesis de betacianinas en hojas de diferentes edades y en raíces de plantas de betabel. Plantas de seis semanas fueron sometidas en un sistema de hidroponía a diferentes concentraciones de CuSO₄·5H₂O (50, 100 y 250 μM) y como control 0.3 μM. Después de seis días de tratamiento, el cobre fue absorbido y acumulado por las raíces del betabel, sin embargo, no fue traslocado a las hojas. En todos los tratamientos se observó un efecto negativo del cobre sobre el crecimiento de hojas jóvenes y raíces. En las hojas viejas se observó disminución en el contenido de clorofila y muerte celular; mientras que en las hojas jóvenes, donde no hay síntomas visibles de toxicidad, se indujo la síntesis de betacianinas en todos los tratamientos con exceso de cobre. Por lo que, estos metabolitos pueden formar parte del mecanismo de defensa de las plantas de betabel al estrés por cobre y esta respuesta es dependiente de la edad de la hoja.

Factores asociados a la muerte prematura del duraznero (*Prunus persica* (L.) Batsch) en Morelos y cambios bioquímicos ocurridos durante el proceso patológico

Assael Yadir Luna Guerrero

La muerte prematura del duraznero (MPD) es un complejo de enfermedades que causa la muerte repentina de durazneros jóvenes y se caracteriza por el colapso repentino de los árboles en primavera. La mayor parte de la información que se tiene de este complejo se debe a estudios realizados en los EUA. En Morelos ha existido desde hace tiempo un problema con síntomas semejantes a la MPD. El objetivo del trabajo fue determinar los factores bióticos y abióticos asociados a la MPD en la zona productora de Morelos y los cambios bioquímicos que ocurren durante el proceso patológico en árboles con y sin síntomas de MPD. Para ello se realizaron muestreos de suelo, raíces y ramas de durazneros en 23 huertos. Las pruebas bioquímicas se hicieron en tres de los 23 huertos y consistieron en determinación de actividad enzimática de la peroxidasa, polifenoloxidasa y cuantificación de azúcares reductores en raíces y ramas de árboles sanos y enfermos. Los resultados mostraron que los principales factores bióticos (bacteria *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* y el nematodo *Mesocriconema xenoplax*) y algunos de los factores abióticos asociados a la MPD (suelo es de tipo franco arenoso y con $\text{pH} \leq 6.5$) se encuentran en Morelos. La actividad enzimática de la peroxidasa fue mayor en los árboles enfermos mientras y la actividad de la polifenoloxidasa fue mayor en casi todos los casos. La cantidad de azúcares reductores fue mayor en ramas de árboles enfermos al de las ramas de árboles sanos. Se concluye que en Morelos se encuentran los principales factores bióticos y abióticos asociados a la MPD y se observaron diferencias en la actividad enzimática y cantidad de azúcares reductores de los árboles sanos y enfermos.

Efecto de la variedad y condiciones de riego o temporal sobre la calidad nutricional de frijol común

Maribel Ovando Martínez

El frijol es una leguminosa cuyo consumo está supeditado a su calidad culinaria y nutricional. Sin embargo, la calidad del frijol puede depender de la variedad y factores abióticos presentes durante el crecimiento de la planta y desarrollo de la semilla. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de la variedad y condiciones de riego o temporal sobre las características físicas, composición química, propiedades fisicoquímicas, estructurales y digestibilidad *in vitro* del almidón de dos variedades de frijol (Pinto Durango y Negro 8025) cultivados bajo condiciones de riego en Celaya y bajo condiciones de temporal en Ocampo, Guanajuato. Las características físicas de la semilla dependieron de la variedad de frijol y mostraron diferencias por efecto del riego y temporal. Bajo condiciones de temporal incrementó el contenido de proteínas y disminuyó el contenido de almidón en frijol crudo y cocido, mientras que la digestibilidad *in vitro* del almidón dependió de la variedad y mostró poco efecto por el riego y temporal. En el almidón aislado de frijol cultivado bajo condiciones de temporal, se observó un incremento en la longitud de cadena promedio y en las cadenas con grado de polimerización 25-36 y 37-40. No se observaron diferencias significativas en la ΔH_{gel} y ΔH_{ret} por efecto de la variedad y condiciones de riego y temporal. Las muestras cultivadas bajo condiciones de temporal presentaron un incremento en el pico de viscosidad y una disminución en la viscosidad de rompimiento. El contenido de almidón de digestión lenta incrementó bajo condiciones de temporal, mientras que la predicción del índice glucémico fue afectada por la variedad de frijol. Los resultados indican que la calidad del frijol dependerá de la variedad y de la adaptación de cada una de ellas a las condiciones de riego o temporal.

Propiedades de digestión de almidones nativos y modificados de mango y plátano

Vicente Espinosa Solis

Una forma de clasificar el almidón es en base a la digestibilidad: almidón de digestión rápida (ADR), almidón de digestión lenta (ADL) y almidón resistente (AR). Las fracciones ADL y AR son importantes para el tratamiento y prevención de enfermedades como: diabetes y enfermedades cardiovasculares, debido a ello, la importancia de su estudio. El objetivo del presente trabajo fue modificar la estructura de los almidones de plátano y mango para disminuir su digestibilidad aumentando las fracciones de ADL y/o AR, así como también evaluar las características fisicoquímicas y estructurales de los productos obtenidos. Para lo cual, los almidones de plátano y mango fueron sometidos a dos diferentes tratamientos: una hidrólisis ácida (2.2M, 35 °C) por 3, 7 y 15 días de reacción y un tratamiento enzimático por 4, 8, 12 y 24 h de reacción. El tratamiento con hidrólisis ácida disminuyó la digestibilidad del almidón de plátano y mango, aumentando el contenido de ADL de 5.1% a 35.4% para el caso del almidón de plátano, mientras que el caso del almidón de mango ésta modificación no tuvo efecto alguno sobre la fracción de almidón ADL. Empleando la modificación enzimática se generó un mayor contenido de AR en comparación con los almidones nativos llegando a aumentar de 16.2 % a 44% para el caso del plátano y de 13.9% a 22.7% para el caso del almidón de mango. Los productos obtenidos se les determinaron sus características fisicoquímicas y estructurales, mediante calorimetría diferencial de barrido y cromatografía líquida de alta resolución por exclusión de tamaño, para poder explicar sus propiedades de digestión