

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

CENTRO DE DESARROLLO DE PRODUCTOS BIÓTICOS

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

MEMORIA DEL SEMINARIO B2011

Yautepec, Morelos

Noviembre 2011

**DOCTORADO EN CIENCIAS EN DESARROLLO DE PRODUCTOS BIÓTICOS
SEMINARIO B2011**

Martes 29 de noviembre de 2011

SEMINARIO I

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

9:00-9:25 Juárez García Erika

Estudio bioquímico y estructural del almidón durante el desarrollo del plátano Macho (*Musa paradisiaca* L.)

9:25-9:50 Ortega García Gilberto

Evaluación de cepas de *Trichoderma* spp. en la inducción de la defensa bioquímica en cebolla para el manejo de *Sclerotium rofsii* y *Alternaria porri* y su uso como alternativa de reducción de la fertilización química

9:50-10:15 Pavón Reyes Leticia

Micropropagación de *Bursera linanoe* mediante organogénesis y/o embriogénesis somática

10:15-10:40 Rivera Corona José Luis

Evaluación de las características fisicoquímicas y mecánicas de películas biodegradables a base de harina de sorgo dulce (*Sorghum bicolor*) adicionadas con mucílago de nopal (*Opuntia ficus*) y nanopartículas

10:40-10:50 RECESO

SEMINARIO II

Moderador: Dr. Javier Solorza Feria

10:50-11:20 Patricia Álvarez Fitz

Biotransformación y actividad biológica de 7- metoxitariacuripirona, dafnoretina y verbenalina

11:20-11:50 García Sosa Paola Rossy

Comportamiento de búsqueda y selección de hospedero en *Toxotrypana curvicauda* Gerstaecker

11:50-12:20 Sibaja Hernández Roberto

Evaluación del potencial de especies del género *Acacia* como productoras de gomas

12:20-12:50 Velázquez Martínez José Rodolfo

Uso de los fructanos de *Agave angustifolia* Haw como material prebiótico y encapsulante para bacterias probióticas

12:50-13:00 RECESO

SEMINARIO III

Moderadora: Dra. Gabriela Sepúlveda Jiménez

13:00-13:40 Palma Rodríguez Heidi María

Efecto del tamaño del gránulo de almidón tratado con ácido en la encapsulación de vitamina C

13:40-14:20 Pérez Escalante Verónica

Efecto de los pigmentos de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) en la pigmentación y crecimiento del pez dorado (*Carassius auratus*)

Estudio bioquímico y estructural del almidón durante el desarrollo del plátano Macho (*Musa paradisiaca* L.)

Erika Juárez García

El desarrollo del plátano inicia con la transición de la flor en fruto, durante esta etapa almacena grandes cantidades de almidón, siendo éste su componente mayoritario. El almidón de plátano Macho en estado inmaduro presenta una fracción importante que es resistente a la hidrólisis por las enzimas digestivas, la cual se comporta fisiológicamente similar a la fibra dietaria. Se ha sugerido que esta característica se debe a su estructura. A pesar de los diversos estudios realizados en almidón de plátano, se han encontrado discrepancias entre ellos en cuanto a su estructura y relación con las propiedades fisicoquímicas y funcionales, lo cual podría estar influenciado por la organización y distribución de sus componentes dentro de la estructura granular, que a su vez está dictado por la biosíntesis. En cereales se ha demostrado que durante el crecimiento del gránulo de almidón, éste presenta características estructurales diferentes, esto ha sugerido que la actividad de las enzimas de biosíntesis difiere durante la formación del gránulo; sin embargo, no se han reportado trabajos que integren los cambios en la estructura del almidón, durante el desarrollo del gránulo, con la actividad de las enzimas de su biosíntesis. Por todo lo anterior, se plantea estudiar los cambios bioquímicos y estructurales en el almidón de plátano Macho (*Musa paradisiaca* L.) durante su desarrollo. El fruto se caracterizará física y químicamente. Se aislará el almidón y se le realizará una caracterización morfológica, fisicoquímica, molecular y estructural. También se identificarán y medirá la actividad de las enzimas de biosíntesis del almidón. La información obtenida en este trabajo proporcionará conocimiento acerca de la estructura, organización y distribución de los componentes del almidón durante su biosíntesis en el fruto, y con esto poder explicar la alta resistencia que presenta el almidón de plátano a la hidrólisis por las enzimas digestivas.

Evaluación de cepas de *Trichoderma* spp. en la inducción de la defensa bioquímica en cebolla para el manejo de *Sclerotium rofsii* y *Alternaria porri* y su uso como alternativa de reducción de la fertilización química

Gilberto Ortega García

Trichoderma es un género de hongos que estimula la defensa bioquímica de las plantas y con ello aumenta la resistencia a las enfermedades. Sin embargo, la respuesta de la planta depende de la especie y cepa de *Trichoderma* utilizada. Estudios previos en cebolla, muestran que el tratamiento a nivel radicular con *Trichoderma asperellum* estimula el desarrollo, reduce la severidad de la enfermedad provocada por el hongo *Sclerotium rofsii* y aumenta la actividad de la enzima peroxidasa de los bulbos, estas respuestas dependen de la variedad si es o no pigmentada. Además, es importante conocer otras respuestas de la defensa bioquímica que contribuyan a la resistencia local y sistémica en cebolla, no sólo para el control de *S. rofsii* si no también para *Alternaria porri*. Asimismo, *Trichoderma* promueve el crecimiento vegetal, esto podría deberse a la segregación de hormonas y aumento en la disposición nutrientes, traduciéndose en un aumento en el rendimiento de los cultivos y estableciendo la posibilidad de reducir el uso de fertilizantes químicos. Por estas razones esta investigación tiene como objetivo evaluar diferentes cepas de *Trichoderma* como inductores de la defensa bioquímica local y sistémica para el control de *S. rofsii* y *A. porri* así como evaluar el uso de estas cepas como alternativa parcial a la fertilización química. Para esto se evaluará la incidencia y severidad de la enfermedad, el desarrollo de la enfermedad (degradación de clorofila, de peroxidación de lípidos y viabilidad celular). Para conocer el efecto en la inducción de la respuesta de defensa se obtendrán los perfiles de actividad de las enzimas quitinasas, β -1,3 Glucanasa, peroxidasa (proteínas PR) en plantas de cebolla pigmentadas y no pigmentadas inoculadas con los aislamientos de *Trichoderma* spp. y los patógenos *S. rofsii* o *A. porri*. También se comparará la aplicación de *Trichoderma* spp con diferentes dosis de fertilización en cuanto a rendimiento, incorporación de macronutrientes, pesos fresco y seco de bulbos y follajes de las plantas.

**Micropropagación de *Bursera linanoe* mediante organogénesis
y/o embriogénesis somática
Leticia Pavón Reyes**

Bursera linanoe (linaloe) es un árbol utilizado para la obtención de aceite esencial y su madera en la fabricación de artesanías. La sobreexplotación del árbol, ha generado una disminución significativa de las poblaciones naturales. La propagación del árbol mediante técnicas convencionales, como la germinación de semillas o el uso de estacas, presenta dificultades. Por lo tanto, el uso de técnicas biotecnológicas, como el cultivo de células y tejidos vegetales, representa una alternativa que permitiría preservar el germoplasma y proponer protocolos para su propagación. Cabe mencionar, que no existen antecedentes sobre el establecimiento de cultivos *in vitro* del género *Bursera*. En el establecimiento de las metodologías de micropropagación es importante definir el tipo de explante, medio de cultivo, así como el tipo y concentración de los reguladores de crecimiento vegetal (RCV) que permitan la micropropagación por organogénesis y/o embriogénesis directa o a través de la formación previa de callos (organogénesis o embriogénesis indirecta). Las arabinogalactano-proteínas (AGP's) son moléculas que pueden mejorar las tasas de multiplicación de brotes en el proceso de organogénesis y favorecer la conversión en el desarrollo de embriones somáticos. El objetivo de este trabajo es micropropagar *Bursera linanoe* mediante organogénesis y/o embriogénesis somática. Para establecer el cultivo aséptico, se evaluarán diferentes tipos de explantes (hojas, entrenudos, yemas axilares y embriones cigóticos inmaduros) y se establecerán procedimientos de desinfección de los mismos. Se determinará un medio de cultivo, con las combinaciones adecuadas de RCV (auxinas y citocininas), que permitan la multiplicación y desarrollo de las plantas. Se considera el uso de las AGP's como moléculas que pudieran mejorar la tasa de multiplicación en el proceso de organogénesis y como moléculas mejoradoras de la conversión de embriones, en el caso de embriogénesis. Para corroborar el tipo de respuesta: organogénica y/o embriogénica de los cultivos, se realizarán observaciones histológicas que evidencien el desarrollo de brotes o la presencia de embriones.

Evaluación de las características fisicoquímicas y mecánicas de películas biodegradables a base de harina de sorgo dulce (*Sorghum bicolor*) adicionadas con mucílago de nopal (*Opuntia ficus*) y nanopartículas

José Luis Rivera Corona

En últimos años ha habido un interés creciente en generar biopelículas de fuentes renovables para su aplicación como empaques para la preservación de alimentos principalmente. Polisacáridos como el almidón, celulosa y gomas han sido estudiados por su capacidad para formar biopelículas. Se han reportado muchos estudios acerca de películas generadas a base de almidón, encontrándose que, debido a la naturaleza hidrofílica del almidón, las características fisicoquímicas y mecánicas de tales películas son pobres, por lo que actualmente se estudia la incorporación de compuestos hidrofóbicos o compuestos que promuevan el entrecruzamiento entre cadenas poliméricas, de forma que se refuercen las propiedades mecánicas y de barrera de las películas a base de almidón. Materiales como agarosa, alginatos y gomas han sido estudiados como aditivos a detalle, en contraste, la composición y propiedades de mucílagos y nanopartículas como materiales de refuerzo de biopelículas han sido menos estudiadas. El mucílago de nopal es un heteropolímero con propiedades funcionales y con capacidad para formar biopelículas, mientras que las nanopartículas, está reportado confieren una mayor resistencia a los materiales a los que se adicionan. Por otra parte, la harina de sorgo contiene Kafirina, una proteína capaz de generar biopelículas a partir de disoluciones etanólicas. El objeto de este trabajo es evaluar el efecto que tiene la adición de mucílago de nopal y nanopartículas en las características fisicoquímicas y mecánicas de películas biodegradables a base de harina de sorgo. Se evaluarán las películas producidas a partir de soluciones con diferentes concentraciones de harina de sorgo, mucílago de nopal y nanopartículas, las películas se generarán por el método de vaciado en caja y se determinarán las propiedades reológicas de la solución filmogénica. Se determinará la resistencia a la tensión y elasticidad a las películas, así como la solubilidad en agua y permeabilidad a vapor de agua.

Biotransformación y actividad biológica de 7- metoxitariacuripirona, dafnoretina y verbenalina

Patricia Álvarez Fitz

La Biotransformación es un proceso en el cual un compuesto se transforma en otro mediante el uso de biocatalizadores. Estas transformaciones son catalizadas por diferentes microorganismos como bacterias, hongos y levaduras, utilizados por su resistencia ambiental y química, poder transformador de sustratos difíciles y alta selectividad. La biotransformación es utilizada como una alternativa en la búsqueda de nuevas rutas de producción de compuestos específicos, farmacéuticos y agroquímicos, que difícilmente podrían obtenerse por síntesis química. Los compuestos 7-metoxitariacuripirona (7-m), dafnoretina (df) y verbenalina (vb) (aislados de plantas pertenecientes a familias *Aristolochia*, *Polemoniaceae* y *Verbenaceae*, con propiedades insecticidas, repelentes de insectos y antifúngicas), serán sometidos a biotransformación con la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (Sc). Por medio de cromatografía en capa fina (CCF) se observará si la levadura modifica estos compuestos, los productos obtenidos serán purificados por cromatografía en columna, para después ser sometidos a Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de ^1H y ^{13}C , para realizar su elucidación estructural. Se evaluará la actividad de los compuestos puros y transformados en larvas neonatas de la palomilla *Copitarsia decolora* y el hongo *Sclerotium rolfsii*, para determinar si los cambios en la estructura química provocan modificaciones en la actividad biológica. Se ha observado por medio de CCF que los compuestos 7-m y vb fueron transformados por Sc. El compuesto 7-m se transformó en un compuesto polar y vb en un compuesto de mediana polaridad. El análisis preliminar de RMN, indica que el grupo nitro de 7-m fue modificado a un grupo amino. Los compuestos vb y df se encuentran en análisis de RMN.

Comportamiento de búsqueda y selección de hospedero en *Toxotrypana curvicauda* Gerstaecker

García Sosa Paola Rossy

Debido al impacto económico que genera *T. curvicauda* se han realizado estudios sobre su biología, así como sobre el comportamiento de búsqueda de hospedero para mejorar o generar métodos de posible control que no sean contaminantes al ambiente ni tóxico al humano. Por esta razón, se han propuesto otras alternativas de manejo basadas en la modificación del comportamiento de estos insectos. Particularmente, se ha reportado que las hembras de *T. curvicauda* presentan una serie de comportamientos guiados por el fruto hospedero. Debido a esto, se estudió el papel de los estímulos químicos y visuales emitidos por el fruto de papaya, sobre la respuesta de atracción de *T. curvicauda*. Para lo cual, se obtuvieron extractos de volátiles de papaya (*Carica papaya* L.) (hexano y metanol) por aeración dinámica (super Q) e identificaron mediante CG-EM; en cuanto al estímulo visual, se retomó el modelo utilizado por Villa-Ayala (2004). Durante 300s se estudio el comportamiento pre y post aterrizaje (hembras maduras 4-6d edad) hacia cada estímulo mediante bioensayos en túnel de viento. Durante los bioensayos se observó que el extracto de hexano provocó mayor respuesta de atracción en túnel (22%) de la mosca hacia la fuente de olor. En ese extracto se identificaron 10 compuestos en su mayoría hidrocarburos: nonanal, fenilacetoneitrilo, isotiocianato de bencilo, tetradecano, pentadecano, β -sesquifelandreno, hexadecano, heptadecano, octacosano y hexatriacontano. En el extracto con metanol se identificaron 2 compuestos: fenilacetoneitrilo e isotiocianato de bencilo y no se registró el arribo a la fuente de olor. En cuanto al estímulo visual, sólo un 5% de las hembras presentó una respuesta de atracción hacia el estímulo.

Evaluación del potencial de especies del género *Acacia* como productoras de gomas

Roberto Sibaja Hernández

Las gomas de especies del género *Acacia* que crecen en África (*Acacia senegal* y *Acacia seyal*), tienen usos en las industrias de alimentos y farmacéuticas. En México, en la selva baja caducifolia; crecen *Acacia cochliacantha* y *Acacia farnesiana*; de las cuales se desconoce el proceso de gomosis, así como las características fisicoquímicas, bioquímicas y reológicas de las gomas. Tomando en cuenta lo anterior: se colectó goma de *Acacia cochliacantha* y *Acacia farnesiana* en RESIMONE, Yautepec; Morelos y se comparó con las gomas de *A. senegal* y *P. laevigata*. La goma de *A. cochliacantha*, presenta 25.95 % de proteína, lo cual favorecería la propiedad de emulsificación, *A. farnesiana* presenta 74.77 % de fibra dietética, la cual podría usarse para mejorar la fibra alimentaria. Además; presentan una disminución del 21 al 28 % de la tensión superficial por efecto de la concentración (1-3%), lo cual sugiere una actividad como tensoactivo y emulsificante. Presentan coloración amarillo-crema y concentraciones aceptables de metales pesados con respecto a los criterios internacionales: Fe; <105, Cu; <29, Mn; <221 y Zn; <10 (ppm). La viscosidad al 1 % (p/p) es dependiente de la temperatura (4-60°C); *A. cochliacantha* presenta valores de 3.5 mPa*s a 1.3 mPa*s y *A. farnesiana* 2.8 mPa*s a 1.7 mPa*s. Las gomas presentaron mejores propiedades emulsificantes al 10 % (p/p), generando partículas de tamaño pequeño; de 0.1-0.2 µm y las de tamaño grande; de 0.7- 1.0 µm. Por los parámetros de color, metales pesados y análisis proximal, se puede considerar a las gomas de *A. cochliacantha* y *A. farnesiana* como aceptables de acuerdo a los criterios de la FAO (1990); además; las gomas de ambas especies poseen características semejantes en comportamiento reológico y de emulsificación con respecto a las de *A. senegal* y *P. laevigata*, por lo cual se pueden considerar un recurso biótico potencial.

Uso de los fructanos de *Agave angustifolia* Haw como material prebiótico y encapsulante para bacterias probióticas

José Rodolfo Velázquez Martínez

En México el género *Agave* cuenta con alrededor de 150 especies, de las aproximadas 200 especies reconocidas a nivel mundial, y solo algunas destacan económicamente, principalmente en la elaboración de bebidas alcohólicas con denominación de origen, siendo el cultivo de *Agave angustifolia* Haw, uno de los más afectados. En este sentido, resulta benéfico para esta cadena productiva, encontrar y proponer alternativas de uso de la planta y/o sus componentes, como es el caso de los fructanos, que son carbohidratos de reserva localizados en las piñas (tallos), considerados fibras solubles no digeribles por el hombre. Por tal motivo, se plantea evaluar los fructanos de *Agave angustifolia* Haw (FAaH), como material prebiótico y encapsulante. Los fructanos se extrajeron por lixiviación; se eliminaron del extracto sólidos suspendidos, compuestos iónicos y proteínas por filtración, cromatografía y ultrafiltración (30 KDa) respectivamente; el proceso se siguió por cromatografía de capa fina. De manera preliminar, se obtuvo el perfil del peso molecular de los FAaH por cromatografía de exclusión molecular (sephadex G-50) y usando FAaH de alto peso molecular (>12 KDa), solo fermentó la cepa de *Lactobacillus johnsonii*. Posteriormente, del extracto de FAaH se obtuvieron 3 fracciones por ultrafiltración (3 y 1 KDa) con bajo, mediano y alto peso molecular y se secaron por liofilización. Como continuación de este trabajo, se probarán nueve cepas de bacterias probióticas (*Bifidobacterium* y *Lactobacillus*), utilizando como fuente de carbono las fracciones de los FAaH bajo condiciones anaeróbicas en medio semisintético. La cepa (s) seleccionadas se encapsularán con alginato:FAaH (fracciones) en las proporciones 25:75, 50:50, 75:25 y 100:0 (2% p/v), se determinará la viabilidad de las cápsulas bajo condiciones gastrointestinales humanas *in vitro* y se evaluará por microscopía óptica el desgaste del soporte y viabilidad.

Efecto del tamaño del gránulo de almidón tratado con ácido en la encapsulación de vitamina C

Heidi María Palma Rodríguez

La encapsulación se usa para prevenir la degradación, controlar la liberación y enmascarar sabores de compuestos activos (vitaminas, minerales, antioxidantes, enzimas, probióticos, entre otros) utilizados en la formulación de alimentos. La eficiencia de encapsulación y la estabilidad de las microcápsulas durante el almacenamiento, dependen de la composición del material de revestimiento. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del tamaño de gránulo de almidón tratado con ácido en la microencapsulación de vitamina C. Para ello, se obtuvieron microcápsulas de vitamina C mediante secado por aspersión, utilizando tres materiales de revestimiento (almidones modificados de papa [AP], maíz [AM] y arroz [AA]). Los encapsulados con AP y AA presentaron una retención mayor de vitamina C (100 y 93%, respectivamente), mientras que los elaborados con AM tuvieron menor retención (64 %). Los encapsulados con AM presentaron un contenido menor de vitamina C en la superficie de la microcápsula (37%) en comparación con los de AP y AA ($\approx 43\%$). Los encapsulados con AA tuvieron un diámetro de partícula promedio mayor ($D[v,0.5] = 7 \mu\text{m}$) a los AP y AM ($D[v,0.5] \approx 5 \mu\text{m}$). A través de microscopía electrónica de barrido se observó una forma irregular y superficie rugosa de todos los encapsulados. Las diferencias observadas están en función al tamaño y estructura molecular del gránulo, ya que con los almidones de gránulo pequeño (AA) y grande (AP) mostraron una matriz constituida por cadenas cortas de amilopectina que producen un recubrimiento con espacios, que permiten la retención de la vitamina C en la superficie, mientras que el almidón (AM), con una proporción mayor de cadenas de tamaño intermedio, producen una matriz más compacta con menor retención, pero mayor estabilidad durante el almacenamiento.

Efecto de los pigmentos de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) en la pigmentación y crecimiento del pez dorado (*Carassius auratus*)

Verónica Pérez Escalante

El pez dorado (*Carassius auratus*) es uno de los peces ornamentales más populares en el mercado. Estos adquieren su pigmentación a partir de su dieta debido a que no pueden sintetizar sus propios pigmentos. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de una dieta adicionada con antocianinas de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) en la supervivencia, crecimiento y distribución de los cromatóforos en la piel de *Carassius auratus*. Se prepararon tres dietas experimentales al mezclar alimento comercial para tilapia con 40, 80 o 160 mg de pigmento/kg de alimento, se usó almidón de papa como aglutinante y se obtuvieron los pelets. Los peces se cultivaron en condiciones de laboratorio y se alimentaron con la dieta experimental durante ocho semanas. Se evaluaron parámetros de supervivencia, crecimiento, alimento consumido, tasa de conversión alimenticia y se analizaron los cortes histológicos de las áreas de la cabeza, dorso y aleta caudal para ubicar los cromatóforos. Los valores de supervivencia fueron mayores ($P < 0.05$) en las dietas con pigmento comparado con el grupo control (96 y 90%, respectivamente). En cuanto a los valores de crecimiento, hubo un aumento significativo en las dietas experimentales, así como la tasa de conversión alimenticia fue significativamente diferente al control. En los tejidos se identificaron cromatóforos del tipo melanóforos e iridóforos, sin embargo el número de estas células se distribuyen más en las áreas de la aleta caudal seguidos de la cabeza y dorso lo que significa que la pigmentación no es homogénea en todo el pez. La adición de harina de jamaica causó un efecto favorable en la supervivencia, y crecimiento así como un incremento las células que acumulan pigmentos. Con este estudio se demuestra que la harina de jamaica puede ser utilizada como fuente alternativa de pigmentos naturales para proporcionar color a peces de ornato (*C. auratus*).