

Vidsupra visión científica

Vol. 16 Núm. 2
julio-diciembre 2024

Órgano de difusión científica y tecnológica del
Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional
Unidad Durango



Educación
Secretaría de Educación Pública



Instituto Politécnico Nacional
"La Técnica al Servicio de la Patria"

Vidsupra visión científica

Órgano de difusión científica y tecnológica del Centro Interdisciplinario de Investigación
para el Desarrollo Integral Regional Durango CIIDIR-IPN



DIRECTORIO

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

- Arturo Reyes Sandoval. Director General
- Mauricio Igor Jasso Zaranda. Secretario General
- Ismael Jaidar Monter. Secretario Académico
- Ana Lilia Coria Páez. Secretaria de Investigación y Posgrado
- Yessica Gasca Castillo. Secretaria de Innovación e Integración Social
- Marco Antonio Sosa Palacios. Secretario de Servicios Educativos
- Javier Tapia Santoyo. Secretario de Administración
- Noel Miranda Mendoza. Secretario Ejecutivo de la COFAA
- José Alejandro Camacho Sánchez. Secretario Ejecutivo del POI
- Marx Yazalde Ortiz Correa. Abogado General
- Modesto Cárdenas García. Presidente del Decanato
- Orlando David Parada Vicente. Coordinador General de Planeación e Información
- Leonardo Rafael Sánchez Ferreiro. Coordinador General del CENAC
- Marco Antonio Ramírez Urbina. Coordinador de Imagen Institucional

CIIDIR UNIDAD DURANGO

- Eduardo Sánchez Ortíz. Director
- Diana Carolina Alanis Bañuelos. Subdirectora Administrativa
- César Arturo González Hernández. Subdirector de Servicios Educativos y de Integración Social.
- Mayra Edith Burciaga Siqueiros. Subdirectora Académico y de Investigación.
- Amelia Quezada Díaz. Jefa del Departamento de Posgrado
- Denise Martínez Espino. Jefa de la Unidad Politécnica de Integración Social
- Claudia Elia Soto Pedroza. Jefa de la UTEyCV
- Flor Isela Retana Rentería. Jefa del Dpto. de Investigación y Desarrollo Tecnológico
- Alejandra del Campo González. Jefa del Dpto. de Recursos Financieros y Materiales
- Adán Villarreal Márquez. Jefe de la Coordinación de Enlace y Gestión Técnica
- Lidia Marisa Hernández Estrada. Jefa del Departamento de Servicios Educativos
- Víctor Daniel Ríos García. Jefe de la Unidad de Informática
- Sara Silva Haro. Jefa del Departamento de Capital Humano

Vidsupra visión científica Vol. 16, No. 2, JULIO-DICIEMBRE 2024, es una publicación semestral editada por el Instituto Politécnico Nacional, a través del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango. Calle Sigma Núm. 119, Fracc. 20 de Noviembre II. C.P. 34220. Teléfonos: 618 8142091 y 618 8144540. <http://www.ciidirdurango.ipn.mx/vidsupra.html>. Editor responsable: Dr. Eduardo Sánchez Ortíz. Certificado de reserva de derechos No. 04-2023-122013590600-102, otorgado por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. ISSN en trámite. Responsable de la última actualización de este número, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango. Dr. Eduardo Sánchez Ortíz. Fecha de última modificación 30 de diciembre de 2024.

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación.

Queda estrictamente prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin previa autorización del Instituto Politécnico Nacional.

* Acanthocephala alata (Burmeister, 1835) en flor de terciopelo. Fotografía: M. en C. Daniel Ochoa García.



Educación
Secretaría de Educación Pública



Instituto Politécnico Nacional
"La Técnica al Servicio de la Patria"

CONTENIDO

- 27 **RÍOS: COMO ES ADENTRO, ES AFUERA**
Edwin Alán Rodríguez-Ríos, Josué Raymundo Estrada-Arellano,
Gabriel Fernando Cardoza-Martínez¹, Iliana Ivette Lozano-
Montelongo
- 38 **CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE MEZCLAS DE DESECHO DE NARANJA Y FRIJOL CON *PLEUROTUS OSTREATUS***
Chaidez Ayala Cristina Sarahi, Delgado Alvarado Eli Amanda,
Naranjo Jiménez Néstor, Torres Ricario Rene, Almaraz Abarca
Norma.
- 51 **DETERMINACIÓN DEL EFECTO INHIBIDOR DE LA α -GLUCOSIDASA DE MICELIO DE *HERICIUM ERINACEUS* CULTIVADO EN CONDICIONES CONTROLADAS DE ILUMINACIÓN**
Paez-Olivan Laura Anabel, Quiñones Pérez Carmen Zulema,
Naranjo Jiménez Néstor y Herrera Gamboa Jaime
- 55 **DOXORRUBICINA: UN CONTAMINANTE EMERGENTE DE PREOCUPACIÓN AMBIENTAL**
Areli Fragoso Ortiz, Luis Alberto González Burciaga, José Bernardo
Proal Nájera
- 64 **EVALUACIÓN HIPOGLUCEMIANTE Y ANTIOXIDANTE *in vitro* DE LAS FRACCIONES CROMATOGRÁFICAS OBTENIDAS A PARTIR DE UN EXTRACTO ETANÓLICO DE *Agave durangensis* Gentry**
Andrea López-Meraz, René Torres-Ricario, Siblie González-Rentería,
Norma Almaraz-Abarca, José Antonio Ávila-Reyes

RÍOS: COMO ES ADENTRO, ES AFUERA

Edwin Alán Rodríguez-Ríos¹, Josué Raymundo Estrada-Arellano¹, Gabriel Fernando Cardoza-Martínez¹, Iliana Ivette Lozano-Montelongo²

¹Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez del Estado de Durango. Avenida Universidad s/n, Fracc. Filadelfia, CP. 35010, Gómez Palacio, Durango, México.

²Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Durango, Instituto Politécnico Nacional. Calle Sigma No.119 Fracc. 20 de Noviembre II, 34235, Durango, Durango, México

RESUMEN

Ningún sistema se encuentra aislado; siempre está interactuando con otro. Tal es el caso de los ríos, cuyo origen y carácter están relacionados y deriva de su medio, tanto externo como interno. Se examinan los procesos y dinámicas que ocurren en estos medios, describiendo al río desde una perspectiva que lo considera como un ente complejo, que alberga una inmensidad de formas de vida que, a su vez, interactúan con sus factores bióticos. Atributos que permiten al río autorregularse y adaptarse con su medio circundante (cuenca hidrográfica). Asimismo, se conceptualiza al río, como el reflejo que evidencia el estado de salud general de la cuenca, cuya estabilidad depende de la condición y equilibrio del ecosistema fluvial, demostrando que, como es adentro, es afuera. En este contexto, se destacan ciertos procesos interesantes que se contrastan de manera análoga con otros sistemas naturales, donde simbólicamente se replican.

ABSTRACT

No system is isolated; it is always interacting with another. This is the case of rivers, whose origin and character are related and derive from their environment, both external and internal. The processes and dynamics that occur in these environments are examined, describing the river from a perspective that considers it as a complex entity, which houses an immensity of life forms that, in turn, interact with their biotic factors. Attributes that allow the river to self-regulate and adapt to its surrounding environment (hydrographic basin). Likewise, the river is conceptualized as the reflection that shows the general health of the basin, whose stability depends on the condition and balance of the river ecosystem, demonstrating that, as it is inside, so it is outside. In this context, certain interesting processes are highlighted that are contrasted in an analogous way with other natural systems, where they are symbolically replicated.

PALABRAS CLAVE:

Interrelación, cuenca hidrográfica, ecosistema fluvial, estado de salud, analogías.

KEY WORDS:

Interrelation, hydrographic basin, river ecosystem, health status, analogies.

INTRODUCCIÓN

La vida en el planeta Tierra es el resultado de la interacción e integración de un sinnúmero de componentes y procesos, que van desde escala subcelular hasta la planetaria. Una cualidad de estos sistemas es que las interacciones son una constante que se replica de manera fractal en todos los niveles de organización de la vida, y ninguno de sus componentes se encuentra aislado o es ajeno del resto (Carabias *et al.*, 2009; Castro-Carranza, 2020).

A escala ecosistémica, es posible apreciar estas interacciones de manera evidente, donde los organismos biológicos interactúan entre sí y con los componentes ambientales, compartiendo y transformando la materia y la energía. Un tipo de ecosistema que se caracteriza por su alta complejidad de interacciones y dinamismo que hay entre sus componentes, son los ríos (Sabater y Elosegui, 2009; Cheng *et al.*, 2018).

En los ríos, el agua es un elemento clave que hace que estos (y el ecosistema fluvial asociado) sean los más biodiversos de todos los ecosistemas epicontinentales. Pues a pesar de que la extensión de los ríos se estima cubre solo 0.1% de la superficie terrestre y que contienen aproximadamente 0.00015% del volumen de agua que discurre en el planeta, en ellos se reconocen alrededor del 10% de toda la diversidad conocida actualmente (Cervantes, 2007; Sabater y Elosegui, 2009; Gleick, 2019).

Aunque en el planeta el agua en su totalidad sea un recurso infinito, no es así para los ríos, los cuales dependen de su disponibilidad y de sus aspectos cualitativos, para conformarse, asegurar su adecuado funcionamiento, estado de salud, y perpetuar su enorme capacidad para albergar y propiciar la vida (Sánchez, 2007; Domínguez *et al.*, 2020).

Es decir, en los ríos, su formación, conformación y equilibrio están determinados por factores externos e internos (Horacio *et al.*, 2018; Gleick, 2019).

Donde, la disponibilidad de agua se relaciona directamente con la cuenca hidrográfica, incluyendo su tamaño, cobertura vegetal, uso de suelo, clima y el ciclo biogeoquímico del agua, aspectos asociados al medio externo. Mientras que los aspectos de calidad del agua, están vinculados tanto con el medio externo, es decir, a los componentes de la cuenca en relación al aporte de materiales y posibles contaminantes, como con el medio interno o ecosistema fluvial; el agua misma, sus propiedades, elementos disueltos y constituyentes biológicos, que en conjunto le confieren su capacidad resistente, auto-depuradora y resiliente (Cervantes, 2007; Gleick, 2019; Wang *et al.*, 2024).

En este contexto, el objetivo del presente trabajo es analizar y destacar cómo se interrelacionan los factores internos y externos en la existencia de un río, contextualizando los procesos de formación y modificaciones en la cuenca que le dan origen y lo caracterizan. Así mismo, se busca resaltar cómo la complejidad de los procesos ecosistémicos internos permite que el río se autorregule y mantenga un estado de equilibrio capaz de soportar una gran biodiversidad, tanto en la cuenca hidrográfica como en el ecosistema fluvial mismo. Un ecosistema cuyo estado de salud es el reflejo de las condiciones que suceden tanto adentro como afuera.

CUENCA HIDROGRÁFICA (MEDIO EXTERNO): DISPONIBILIDAD DEL AGUA Y ORIGEN DE LOS RÍOS

Los ríos tienen su origen en las partes más elevadas de un régimen montañoso o cualquier relieve demarcado por grietas o fisuras inundables, con cierto grado de pendiente que permite que el agua de las lluvias tome un cauce y confluya hasta la región más baja de esa cuenca hidrográfica (Figura 1) (Horacio *et al.*, 2018).



Figura 1. Vista aérea de una sección de la cuenca hidrográfica del río Piaxtla.

Fuente: Google (2021).

En este sentido, se considera a la cuenca hidrográfica como el esquema principal que le da origen y tipifica a un río, así como el medio externo con el cual está interactuando. Una cuenca se estructura de manera fractal ramificada, es decir, el agua de las lluvias escurre por gravedad hacia una porción de terreno inundable (nanocuenca), que a su vez forma parte de un terreno mayor (microcuenca), y que progresivamente constituye una red de drenaje (cuenca) (Figura 1 y 3). La confluencia de cursos del agua se puede ordenar y nombrar acorde a un sistema de clasificación jerárquico, donde los cauces que no reciben tributarios se les asigna del orden 1; cuando interactúan dos cauces de orden 1 dan origen a un cauce de orden 2, y así progresivamente (Sánchez, 2007; Pozo y Elosegui, 2009).

De modo que el tamaño y conformación de los ríos dependerá de la dimensión y orografía de la cuenca, del clima, la vegetación y de la distancia entre las montañas con el mar o su desembocadura. Así, las dimensiones de los ríos

pueden abarcar varios órdenes de magnitud, los hay desde pequeños arroyos con algunos centímetros de profundidad y anchura, hasta grandes ríos kilométricos, de decenas de metros de ancho y profundidad (Pozo y Elosegui, 2009). Esta red de drenaje, se puede esquematizar de manera análoga a las ramificaciones de un árbol (Horacio *et al.*, 2018; Castro-Carranza, 2020), donde las hojas representan las microcuencas, que se conectan a través de los peciolos con las ramitas (arroyos de orden 1), y estas a su vez se conectan con ramas mayores (arroyos de orden 2), luego con ramas aún más grandes (arroyos de orden 3) y finalmente con el tronco (río), que se conecta con la raíz, interactuando de este modo con otros elementos del suelo. De una manera similar a la desembocadura de un río al mar o en una planicie. Esta analogía también se representa en un sinnúmero de formas, por ejemplo, en las minúsculas estructuras respiratorias de algunos insectos acuáticos (Figura 2).

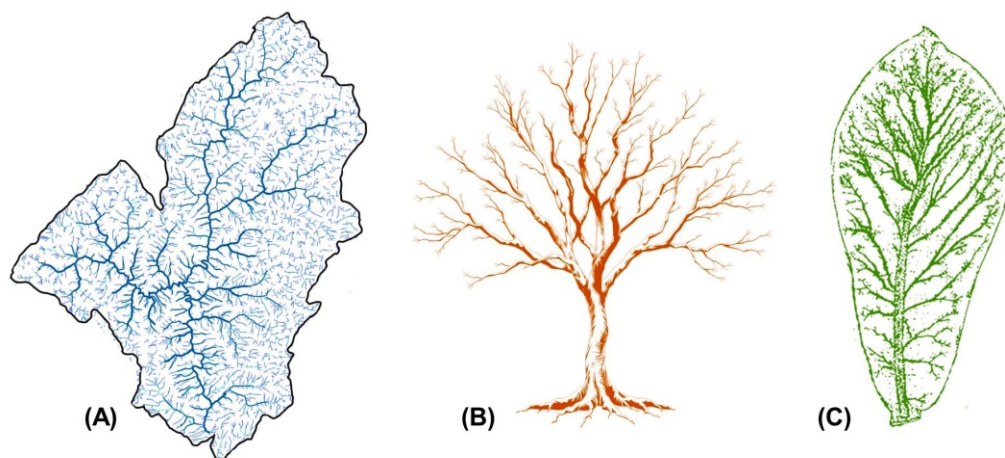


Figura 2. Esquemas ramificados de ordenamiento fractal en sistemas naturales. (A) Río en una cuenca hidrográfica, (B) árbol típico, (C) branquia de un insecto acuático.

Ilustración: E. Alán Rodríguez-Ríos.

CUENCA HIDROGRÁFICA (MEDIO EXTERNO): CONDICIONAMIENTO DE LA CALIDAD DEL AGUA DE LOS RÍOS

Recordando el ciclo del agua, esta tiene una ruta típica (Figura 3): el agua se precipita de la atmósfera en forma de lluvia sobre los continentes, donde una parte se infiltra al subsuelo y otra escurre por gravedad desde las partes altas por arroyos hacia los ríos, para regresar al océano. El agua de los océanos es calentada por la energía del sol hasta que se evapora, asciende y se condensa en la atmósfera. Las nubes también se forman a partir de la captación de vapor de agua proveniente de los ecosistemas terrestres, de fuentes derivadas de la evapotranspiración, como la evaporación del agua contenida en el suelo y de los cuerpos de agua, así como de la transpiración de las plantas y en menor proporción de los animales (Carabias *et al.*, 2009). Estos factores interactúan de manera sincrónica en un vaivén perpetuo, en apariencia caótico pero ordenado (Castro-Carranza, 2020).

Como es de apreciar, el agua siempre está en constante movimiento, en un camino donde interactúa con la atmósfera, la superficie terrestre, los océanos y la biósfera. Pasa por diferentes estados de agregación y adquiere diferentes propiedades químicas, físicas y

biológicas (Pozo y Elosegui, 2009).

El agua de las lluvias es parcialmente pura, pero a medida que cae y escurre por las pendientes de la cuenca, disuelve ciertos compuestos que están en su camino, los cuales se acumulan y son arrastrados aguas abajo (Pozo y Elosegui, 2009). Por lo tanto, la calidad del agua que fluye por los ríos está directamente relacionada con el tipo y cantidad de sedimentos y solutos que llegan a ella (Sierra-Ramírez, 2011). Un punto para destacar es la cobertura vegetal y particularmente la vegetación de ribera, que es el conjunto de plantas que crecen a las orillas de los ríos. Su importancia radica en que esta zona actúa como amortiguadora entre la cuenca y el río, regulando el flujo de escorrentías, su aporte nutrimental, sedimentario, filtra el agua y mejora su calidad (Wang *et al.*, 2024). En otras palabras, las características del medio circundante como el tipo y uso de suelo, y la cobertura vegetal determinan la calidad del agua (Gleick, 2019).

Entendiéndose a calidad de agua, como el grado en que esta es idónea o aceptable para satisfacer ciertos requerimientos, en este caso, el de los seres vivos (tanto acuáticos como terrestres). Por lo tanto, debe de contener nutrientes, minerales y otros elementos indispensables para la biodiversidad (Sierra-Ramírez, 2011; Domínguez *et al.*, 2020).



Figura 3. Ciclo del agua sobre una cuenca hidrográfica. Ilustración: E. Alán Rodríguez-Ríos.

Estos rasgos están condicionados por las modificaciones realizadas por los humanos en la cuenca. Actividades como la agricultura, la ganadería, la industria y la urbanización cambian las condiciones naturales de los ríos (Cuadro 1) (García-Ruiz y Lana-Renault, 2011; Postel y Richter, 2012). Para llevar a cabo estas actividades, se ha recurrido al desmonte y deforestación, factores que alteran la disponibilidad y calidad del agua. Esto se debe a que, al remover la vegetación local, cuya función

es similar a la hecha por la vegetación riparia, los suelos quedan expuestos, lo que los hace propensos a degradarse y erosionarse, facilitando su arrastre por las escorrentías (García-Ruiz y Lana-Renault, 2011; Wang et al., 2024). Además, en la urbanización grandes extensiones se impermeabilizan con concreto y asfalto, potenciando las inundaciones. Dependiendo del nivel de actividad, será el grado de alteración (Postel y Richter, 2012).

Cuadro 1. Actividades humanas ocurridas en la cuenca y sus efectos en los ríos.

Fuente: Postel y Richter (2012).

Actividad	Efecto
Pastoreo	Erosión del suelo, aumento de sedimentos
Desechos agrícolas y ganaderos	Eutrofización, eleva el consumo de oxígeno
Carreteras y urbanización	Erosión de suelos, desmonte. Suelos impermeables: impiden infiltraciones y crecimiento vegetal
Tala y desmonte	Cambios en la cobertura vegetal y estructuras de retención. Afecta las entradas de hojarasca y productividad de las cadenas tróficas
Vertidos industriales y urbanos	Entrada de metales pesados y compuestos tóxicos. Pérdida de calidad del agua, afectaciones de la salud humana y biodiversidad
Especies invasoras	Desplazamiento y pérdida de especies nativas
Presas	Trastoca la dinámica hidrobiológica de todo el ecosistema
Gestión del agua	Regulación y periodicidad de caudales en presas y canales

Una perturbación muy frecuente, es la contaminación. Cabe destacar que para que un elemento sea considerado contaminante, debe exceder los umbrales de depuración que tienen los ecosistemas fluviales (Sierra-Ramírez, 2011). Por ejemplo, las aguas residuales tienen un alto contenido de materia orgánica, lo que puede enriquecer excesivamente el río con nutrientes, provocando el crecimiento desmedido de algas y plantas acuáticas. Aunado a la descomposición de materiales esto conlleva a un fuerte consumo de oxígeno disuelto, pérdida de la calidad del agua, muerte de organismos e incluso daños a la salud humana (Cervantes, 2007; Sierra-Ramírez, 2011).

En las partes altas de la cuenca, la calidad del agua y el estado ecosistémico de los ríos son mejores en comparación con los que están ubicados en las partes bajas. Esto se debe al contraste que hay en la cantidad de agua que discurre en estas regiones, al bajo aporte de sedimentos y a un proceso acumulativo de perturbaciones. De modo que una perturbación que ocurre en las zonas altas, puede llegar a repercutir río abajo, afectando el entorno natural,

traduciéndose en la pérdida de calidad ambiental y detrimento en la biodiversidad (Pozoy Elosegui, 2009; Horacio *et al.*, 2018).

De ahí se resalta que cualquier actividad humana tiene consecuencias en los entornos naturales. Por lo tanto, el ideal es mantener la cuenca en un estado óptimo, considerando las actividades humanas como parte de los procesos ecológicos de los ríos, para asegurar integridad y funcionalidad ecosistémica y mejorar su resiliencia (Sánchez, 2007; Wang *et al.*, 2024).

RÍOS (MEDIO INTERNO): ECOSISTEMA FLUVIAL

Los ríos son ecosistemas sumamente dinámicos, heterogéneos y complejos (Pozo y Elosegui, 2009). Una complejidad que proviene de la interacción de sus componentes biológicos y su medio abiótico (Carabias *et al.*, 2009). Si hacemos una analogía, se podría decir que esta interacción ocurre de la misma manera que el río interactuando con su cuenca, solo que, en este caso, el río representaría el medio externo y el organismo el medio interno.

En primera instancia es necesario describir sus componentes abióticos. Los ríos están estructurados jerárquicamente en afluentes que se interceptan sucesivamente para formar cauces cada vez mayores, los cuales varían en complejidad en respuesta a su ubicación espacial-altitudinal, a la hidrología temporal, y al contenido y transporte de materiales. Esta dinámica se manifiesta también de manera espacial, en la anchura, profundidad y cobertura del cauce sobre la zona ribereña y planicie de inundación (Horacio *et al.*, 2018).

Este elevado dinamismo temporal y espacial propicia que los ríos sean muy heterogéneos. Esta heterogeneidad covaría con las lluvias y se diferencia entre los tramos de la cuenca, donde, conforme se desciende en altitud, hay menos pendiente, pero más anchura y profundidad. Estas variaciones de heterogeneidad se expresan en los diferentes hábitats a lo largo de todo el río, dictando el tipo comunidades bióticas que se van a establecer y que, consecuentemente influyen en la complejidad del río (Cheng *et al.*, 2018; Domínguez *et al.*, 2020).

Los componentes abióticos que confieren heterogeneidad son el cauce, caudal circulante, y el flujo de solutos y materiales (Sabater y Elosegui, 2009; Domínguez *et al.*, 2020).

- Los cauces son componentes principales en la composición física del medio abiótico, y presentan gran diversidad de formas. Pueden ser rápidos o en pozas, profundos o someros, con o sin deposición de sedimentos y materia orgánica, entre otros.
- El caudal circulante expresa la cantidad y la velocidad de agua que fluye por un punto, determina la cantidad y retención de materiales, así como la tasa de oxigenación del agua.
- La carga de materiales transportados, está conformada por partículas de erosión de suelos, rocas, materia orgánica y otros sedimentos de la cuenca. El tamaño de estas va desde arcillas y hojas, hasta rocas y troncos. Su concentración varía en función del caudal circulante, y a medida que el caudal disminuye, la concentración baja (Sierra-Ramírez, 2011).

Cuadro 2. Algunos parámetros fisicoquímicos del agua y su significancia para la vida acuática.

Fuente: Domínguez *et al.* (2020).

Parámetros	Significancia
Caudal	Influido por la velocidad de corriente. Establece los patrones hidrobiológicos del cauce
Temperatura	Influye en la solubilidad del agua, en el metabolismo y distribución de los organismos
Oxígeno disuelto	Indispensable para la respiración
pH	Afecta la disponibilidad de nutrientes y tasas fotosintéticas
Nutrientes	Compuestos como el fósforo y nitrógeno son esenciales para los organismos, pero en exceso producen eutrofización
Materia orgánica	Incide en los sólidos disueltos, cambia el pH, disponibilidad de nutrientes, afecta tasas de consumo de oxígeno. En exceso puede ser tóxica. Sirve de refugio para algunos organismos
Sólidos disueltos	Influye en la turbidez del agua y condiciona la entrada de luz. Aumenta la temperatura
Compuestos inorgánicos	Repercute en la inercia química de algunos iones y en la disponibilidad de minerales
Tóxicos	Metales pesados, herbicidas y pesticidas dañan a los organismos

De este hecho, se puede proyectar una simple analogía: los ríos actúan como las arterias y venas de un sistema circulatorio. Las arterias llevan sangre oxigenada y provista de elementos nutritivos para las células y tejidos, de la misma manera en que los ríos transportan agua oxigenada y nutrientes para los ecosistemas circundantes. Las venas, conducen sangre desoxigenada y metabolitos de desecho, similar a como los ríos también arrastran detritos y elementos contaminantes provenientes de su

Además, los organismos pueden modificar su entorno. Por ejemplo, en algunos ríos, un gran aporte de nutrientes provoca que las algas filamentosas se desarrollen y se reproduzcan de manera acelerada, incrementando la tasa fotosintética del sistema aumentando el oxígeno disuelto.

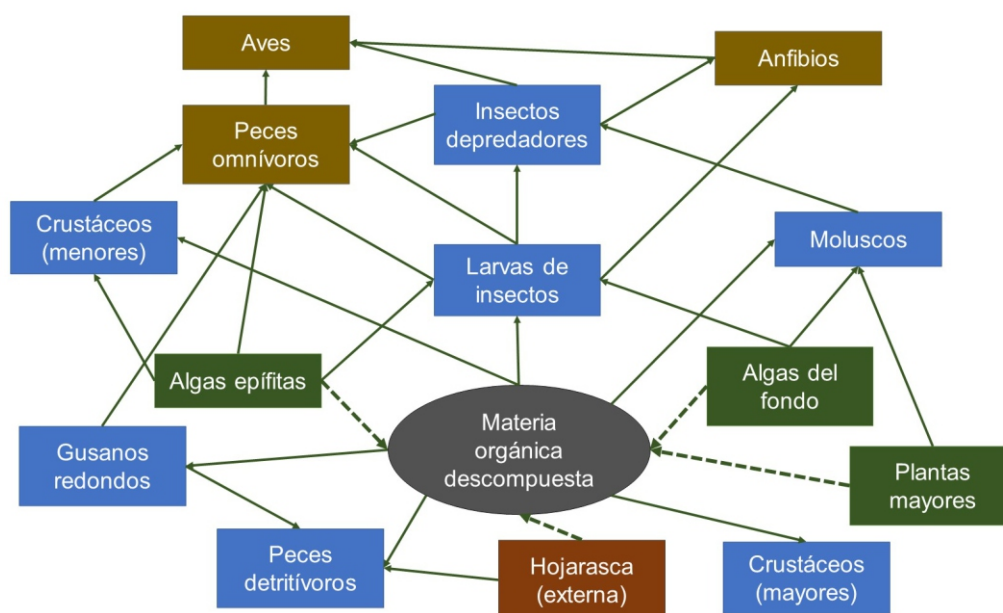


Figura 4. Ejemplo simplificado de una red trófica de un río. Ilustración: E. Alán Rodríguez Ríos.

Otro efecto es que, al poseer una biomasa tan grande, llegan a disminuir la velocidad de corriente y cambia la conformación de microhábitats, impidiendo que algunos invertebrados puedan colonizar esos sitios (Sabater y Elosegui, 2009; Sierra-Ramírez, 2011).

El componente biológico de los ríos es particularmente diverso, albergan aproximadamente el 10% de toda la diversidad biológica conocida, incluyendo entre otros: peces, algas, plantas acuáticas, reptiles, anfibios, aves, hongos, protozoos, esponjas, gusanos planos y redondos, arácnidos, crustáceos, moluscos e insectos.

Estos últimos seis grupos forman parte de los macroinvertebrados acuáticos, los cuales son un eslabón fundamental de las redes tróficas en los ríos (Figura 4).

Su función consiste en: 1) mantener el flujo de materia y energía, escándalo de los productores primarios a los niveles superiores, y 2) degradar y reintegrar la materia orgánica al sistema. Así pues, estos organismos también modifican su medio externo, depurando y limpiando el agua de los ríos (Sánchez, 2007; Sabater y Elosegui, 2009; Domínguez *et al.*, 2020).

Los procesos e interacciones que ocurren entre los componentes bióticos y abióticos confieren a los ríos un carácter resiliente, es decir, la capacidad para resistir ciertos cambios y regresar a su estado inicial o previo a disturbios moderados (Sánchez, 2007; Horacio *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2024).

Mientras más elementos de diferente índole participen en el entramado de interacciones de los ecosistemas fluviales y sean más diversos, mayor será la heterogeneidad, dinámica y complejidad (Carabias *et al.*, 2009; Horacio *et al.*, 2018). En otras palabras, serán ríos más saludables.

RÍOS: MEDIO INTERNO SALUDABLE, MEDIO EXTERNO SALUDABLE

La identidad y atributos de un río son el reflejo de su medio externo (la cuenca) y de las dinámicas que ocurren en su interior, entre los organismos con los factores ambientales. Estos procesos ecológicos son cíclicos y mantienen al ecosistema en un estado de equilibrio y bienestar, asegurando la prevalencia de la vida y todos los beneficios que de su existencia derivan (Gleick, 2019).

Los ríos saludables proveen una enorme gama de servicios ambientales, tales como: recurso hídrico, provisión de alimentos, purificación de agua, reducción del riesgo de inundaciones, mitigación de sequías, mantenimiento de suelos fértiles, suministro de nutrientes, regula la salinidad de zonas costeras, creación de sitios recreativos y de conservación de la biodiversidad (Postel y Richter, 2012; Cheng *et al.*, 2018).

En los humanos, al igual que en los ríos, influyen múltiples factores que determinan su estado de salud y funcionamiento (Figura 5) (Postel y Richter, 2012; Guyton y Hall, 2020; Moreno-Sánchez *et al.*, 2022).

De manera similar, se pueden clasificar en factores internos y externos. En los humanos, serían estos:

- Factores internos: genético-hereditarios, edad, sexo, enfermedades crónicas, estado y percepción emocional, alimentación, nivel de actividad física, sueño (algunos de estos, aunque influenciados por el ambiente, son decisiones personales).

- Factores externos: hábitat, calidad del agua, disponibilidad de alimentos, clima, exposición a sustancias, situación económica, educación, acceso a servicios de salud de calidad y prevención de enfermedades.

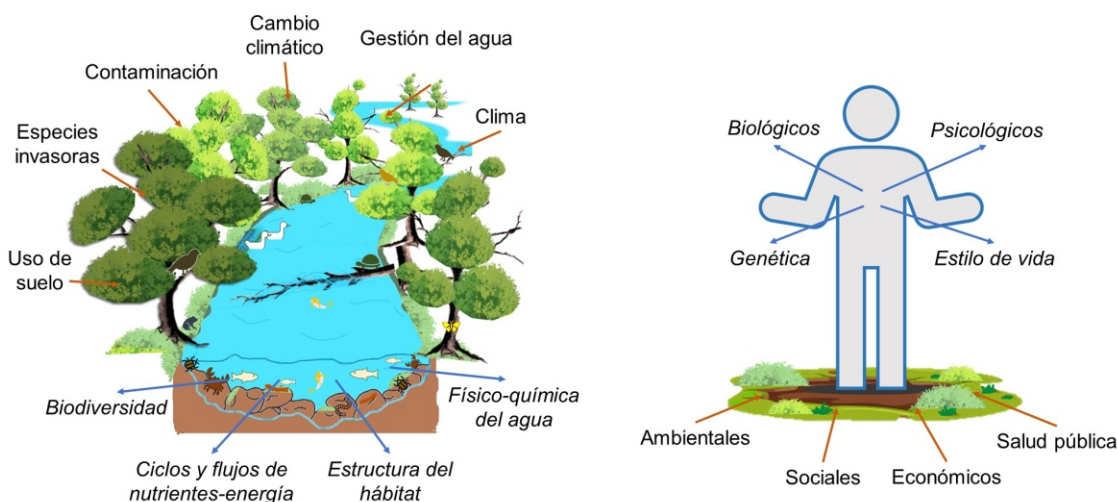


Figura 5. Factores internos y externos que inciden el estado de salud del río y del humano.

Ilustración: E. Alán Rodríguez-Ríos.

El ser humano necesita agua para subsistir; la utiliza de manera directa o indirecta en todas sus actividades, desde beberla hasta en la producción de alimentos, vestimenta u otros insumos. Por lo tanto, si queremos agua y que esta sea de calidad, es fundamental mantener un ciclo hidrológico adecuado sobre las cuencas hidrográficas (Riojas-Rodríguez *et al.*, 2013; Cheng *et al.*, 2018). Esto no solo dependerá de la esperanza que tengamos en el temporal de lluvias o de que se formen nubes en los océanos. Como ya vimos, depende de la interacción de muchísimos factores. Pero, en resumen, para seguir disponiendo del recurso agua, es indispensable que las cuencas hidrográficas estén lo más sanas y estables posibles. Que la cobertura vegetal de estas sea abundante y poco alterada, que se reduzca y modere el cambio de uso de suelo para actividades humanas, y se regulen el resto de actividades para reducir el impacto ambiental. Todo esto con el fin de asegurar el adecuado funcionamiento y estado de salud de los ríos (García-Ruiz y Lana-Renault, 2011; Gleick, 2019; Wang *et al.*, 2024).

Haciendo énfasis en lo anterior, el ser humano no es un elemento ajeno al mundo natural; interactúa con muchos ecosistemas y es un componente más de ellos, aunque para su mala fortuna los dañe demasiado.

Siempre dependerá de estos, de su medio externo para su adecuado desarrollo, salud y supervivencia (Riojas-Rodríguez *et al.*, 2013; Moreno-Sánchez *et al.*, 2022). En perspectiva es una analogía similar que se replica de los ríos con su cuenca, solo que a diferente escala (Castro-Carranza, 2020).

CONCLUSIÓN

La existencia de un río, y por lo tanto de la vida en los ecosistemas de una cuenca hidrográfica, depende de sus interacciones que tiene con el medio externo e interno, así como de su capacidad para integrar todos estos componentes y formar un sistema unificado. De modo que, hacia afuera, el río proporciona un recurso fundamental para el resto de ecosistemas de la cuenca, incluyendo al ser humano como un componente de ella. Hacia adentro, conforma y delimita un ecosistema fluvial dinámico y complejo, que se equilibra y adapta con su medio externo. Ambos, aspectos del mismo ente, demuestran que como es adentro, es afuera. Y si algún factor incide o afecta a uno de estos medios, sus efectos se reflejarán en correspondencia en el otro; por lo que, si uno se encuentra en condiciones saludables, el otro lo estará por igual.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Carabias, J., V. Arriaga, M. Cervantes, J. De La Maza, J. Sarukhán, R. Páez. 2009. Ecología y medio ambiente en el siglo XXI. Pearson Educación.
- Castro-Carranza, C. 2020. Teoría Gaia orgánica: una introducción. <https://tratarde.org/wp-content/uploads/2022/01/teor%C3%ADa-gaia-org%C3%A1nica-Carlos-de-Castro-intro-2020.pdf>
- Cervantes, M. 2007. Conceptos fundamentales sobre ecosistemas acuáticos y su estado en México. En: Perspectivas sobre conservación de ecosistemas acuáticos en México (Eds: Sánchez, O., E. López-López, M. J. Valdés-Casas, J. Carabias, Instituto Nacional de Ecología, pp.37-67.
- Cheng, L., J. Opperman, D. Tickner, R. Speed, Q. Guo, D. Chen. 2018. Managing the Three Gorges Dam to implement environmental flows in the Yangtze River. *Frontiers in Environmental Science*, 6:64.
- Domínguez, E., A. Giorgi, N. Gómez. 2020. La bioindicación en el monitoreo y evaluación de los sistemas fluviales de la Argentina: Bases para el análisis de la integridad ecológica (1a ed.). Eudeba.
- García-Ruiz, J. M., N. Lana-Renault. 2011. Hydrological and erosive consequences of farmland abandonment in Europe, with special reference to the Mediterranean region—A review. *Agriculture, ecosystems & environment*, 140:317-338.
- Gleick, P. H. 2019. The World's Water Volume 9: The Biennial Report on Freshwater Resources. Island Press.
- Google. 2021. Imagen satelital de una sección de la cuenca del río Piaxtla [Imagen de satélite]. Google Earth. <https://earth.google.com/web/@24.04196436>.
- IARAAGuyton, A. C., J. E. Hall. 2020. Textbook of Medical Physiology (14th ed.). Elsevier.
- Horacio, J., A. Ollero, D. Ballarín, A. Ibisate. 2018. Herramientas para el diagnóstico del ecosistema fluvial. En: Retos y experiencias de restauración fluvial en el ámbito de la red Natura 2000 (Eds: Díez, J., A. Ibisate), pp.22-44.
- Moreno-Sánchez, A. R. 2022. Health and Environment. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*, 65: 8-18.
- Postel, S., B. Richter. 2012. Rivers for life: Managing water for people and nature. Island Press.
- Pozo, J., A. Elosegui. 2009. El marco físico: La cuenca. En: Conceptos y técnicas en ecología fluvial (Eds: Elosegui A., S. Sabater). Fundación BBVA, pp.39-49.
- Riojas-Rodríguez, H., A. Schilmann, L. López-Carrillo, J. Finkelman. 2013. La salud ambiental en México: situación actual y perspectivas futuras *Salud Pública de México*, 55:638-649.
- Sabater, S., A. Elosegui. 2009. Presentación: Importancia de los ríos. En: Conceptos y técnicas en ecología fluvial (Eds: Elosegui A., S. Sabater). Fundación BBVA, pp.15-21.
- Sánchez, O. 2007. Ecosistemas acuáticos: Diversidad, procesos, problemática y conservación. En: Perspectivas sobre conservación de ecosistemas acuáticos en México (Eds: Sánchez, O., E. López-López, M. J. Valdés-Casas, J. Carabias). Instituto Nacional de Ecología, pp.11-36.
- Sierra-Ramírez, C. A. 2011. Calidad del agua: evaluación y diagnóstico. Universidad de Medellín. Medellín, Colombia. Ediciones de la U.
- Wang, Z., W. Huang, X. Guan. 2024. Ecosystem Resilience Trends and Its Influencing Factors in China's Three-River Headwater Region: A Comprehensive Analysis Using CSD Indicators (1982–2023). *Land*, 13:1224.

CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE MEZCLAS DE DESECHO DE NARANJA Y FRIJOL CON *PLEUROTUS OSTREATUS*

Chaidez Ayala Cristina Sarahi, Delgado Alvarado Eli Amanda, Naranjo Jiménez Néstor, Torres Ricario Rene, Almaraz Abarca Norma.

IPN-Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional. U. Durango. Sigma 119, Fraccionamiento 20 de noviembre II, Durango, Dgo. CP 34000

RESUMEN

Se realizaron técnicas que incluye análisis espectrofotométricos para caracterizar de manera química 9 mezclas fermentadas con hongo de pudrición blanca (HPB) *Pleurotus ostreatus*. Dichas mezclas están conformadas por desechos de naranja en combinación con frijol Pinto saltillo. Estas pasaron un lapso de 17 días en agitación para promover la fermentación en condiciones específicas de temperatura y en oscuridad absoluta para que los compuestos fenólicos no sufrieran cambios en su composición, ya que estos son fotosensibles. Las pruebas a las que se sometieron los productos obtenidos de la fermentación fueron: determinación de fenoles totales, flavonoides totales y taninos condensados totales, en las cuales la muestra compuesta por bagazo y hongo (BH) fue la que obtuvo mayor cantidad de dichos compuestos.

ABSTRACT

Techniques that include spectrophotometric analyzes were carried out to chemically characterize 9 mixtures fermented with white rot fungus (HPB) *Pleurotus ostreatus*. These mixtures are made up of orange waste in combination with Pinto saltillo beans. These spent a period of 17 days in agitation to promote fermentation under specific temperature conditions and in absolute darkness so that the phenolic compounds did not suffer changes in their composition, since these are photosensitive. The tests to which the products obtained from the fermentation were subjected were: determination of total phenols, total flavonoids and total condensed tannins, in which the sample composed of bagasse and fungus (BH) was the one that obtained the highest amount of said compounds.

PALABRAS CLAVE

Fermentación, compuestos fenólicos, fenoles, flavonoides y taninos.

KEY WORDS

Fermentation, phenolic compounds, phenoles, flavonoids and tannins.

INTRODUCCIÓN

El incremento de los locales comerciales en el estado de Durango, que venden productos que contiene como base principal naranja; se ha visto en aumento en los últimos años. La naranja es una fruta cítrica con características muy particulares, posee un alto contenido de humedad y fibra y un pH bajo, presenta una baja biodegradación. En su composición presenta aceites esenciales, estos en condiciones anaerobias inhiben el proceso de compostaje (Ruíz y Flotats, 2016).

Existen múltiples acciones de manejo que se han aplicado a los residuos de la naranja generados a partir de procesos alimenticios en donde este cítrico es empleado, entre los cuales podemos encontrar:

- Utilizado directamente para la alimentación del ganado, específicamente en rumiantes.
- El albedo de limón y el polvo de fibra alimenticia de naranja se ha empleado en concentración de diferentes para la producción de embutidos, como salchichas, con el fin de incrementar su contenido de fibra (Manrique, 2018).

El desecho de la extracción del jugo de la naranja está compuesto principalmente (Figura 1) de las membranas de endocarpios, vesículas, albedo, semillas y exocarpio. Estos residuos son caracterizados por su composición fisicoquímica, como: un pH entre 3 y 4, alto contenido de humedad que fluctúa alrededor del 70 y 90% y cerca de 95% total de sólidos corresponde a el contenido de la materia orgánica (Dávila y Sierra, 2018).

Entre los principales problemas que presentan los residuos sólidos de la naranja, es su alta fermentabilidad debido a su alto contenido de carbohidratos los cuales aceleran su degradación y son los causantes del mal olor, además gracias a su alto contenido de materia orgánica su eliminación directa se acorta de manera significativa, debido a que afecta la diversidad microbiana natural del suelo (Behzad y Keikhosro, 2018).

El frijol Pinto saltillo es un tipo de legumbre caracterizada por un crecimiento de guía. Tiene una altura promedio de 32 cm, alcanza la floración y madurez fisiológica entre los 62, 71, 115 y 123 días después de la siembra dependiendo de la zona geográfica donde se localicen y entre los 48, 59, 87 y 100 días cuando se habla de temporada de siembra. Su grano es de tamaño mediano (Figura 2) y altamente resistente a la oxidación, es de tipo pinto, posee un color crema claro con manchas color café (González *et al.*, 2009).

En otro sentido los hongos presentan una variedad muy amplia con lo que respecta a formas de vida, entre ellas encontramos los de pudrición, estos se diferencian con respecto de los cambios químicos y estructurales que le ocasionan a la madera, dividiéndose así en tres grandes grupos: Hongo de pudrición Parda o Marrón, Hongo de pudrición Blanda y Hongos de pudrición blanca (HPB) (Encinas y Moran, 2023).

Los hongos de pudrición blanca (HPB) son macroorganismos multicelulares, eucariotas y heterótrofos, se alimentan por absorción, gracias a su micelio en donde las hifas absorben los nutrientes mediante transporte activo y difusión facilitada al degradar el sustrato con enzimas extracelulares (Tapie *et al.*, 2016).

Los metabolitos secundarios (MS) son productos que se obtienen a partir de las rutas de biosíntesis del metabolismo primario del carbono en las plantas (Pérez-Alonso y Jiménez, 2011). Estos compuestos no tienen una importancia aparente, sino que son productos intermediarios metabólicos o productos que no son esenciales para el crecimiento de la planta, sin embargo, poseen un papel ecológico importante ya que muchos de los MS sirven como defensa contra herbívoros, virus, bacterias y hongos (Pérez y Jiménez, 2011). De igual manera los MS son necesarios para la interacción de la planta con su entorno y en la mayoría de los casos son producidos en respuesta a distintos tipos de estrés (Hernández *et al.*, 2018).

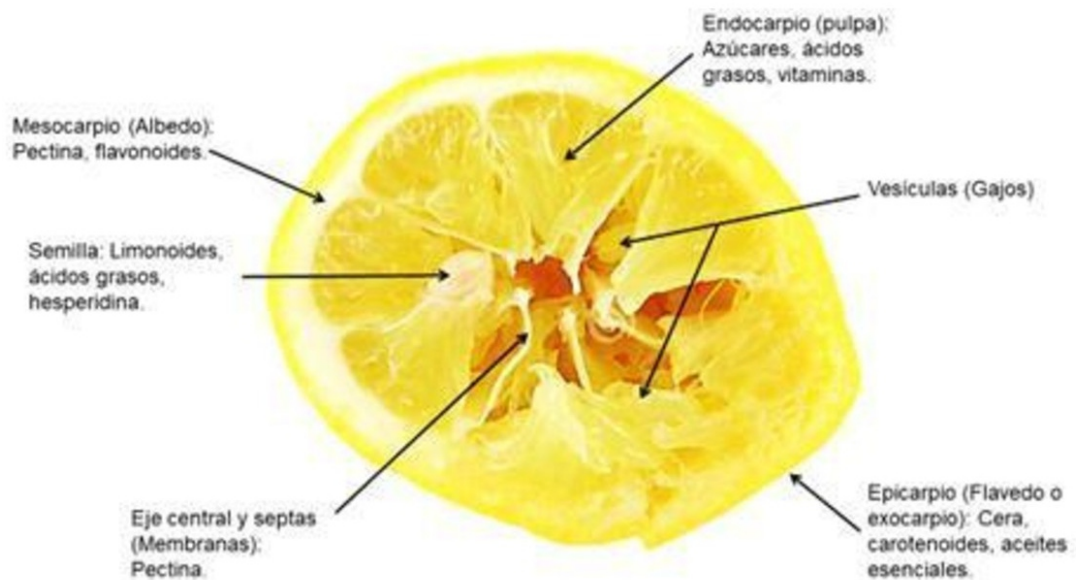


Figura 1. Composición química del desecho de naranja (Dávila Y Sierra, 2018).



Figura 2. Tamaño y color del frijol (Imagen propia).

A lo largo del tiempo, el hombre ha utilizado los MS para la fabricación de medicamentos, colorantes, fragancias, estimulantes, insecticidas, venenos, somníferos, impermeabilizantes, alucinógenos entre otros (Ramakrishna y Ravishankar, 2011). Gracias a la ruta de biosíntesis de los metabolitos secundarios, podemos encontrar que estos se clasifican en cuatro grupos principales: Terpenos, compuestos fenólicos, glicósidos y alcaloides, cada uno de estos poseen diferentes propiedades farmacológicas, por lo que se hará énfasis de manera notoria en los compuestos fenólicos ya que este trabajo se centra en este grupo de MS.

Los flavonoides se encuentran entre los compuestos naturales con una mayor distribución dentro del reino vegetal (plantas, frutas y verduras), este tipo de compuestos otorga características particulares, como lo son el color, sabor y aroma (Guany Liu, 2016).

Los flavonoides son el grupo más conocido de compuestos fenólicos, se encuentra prácticamente en todas partes de la planta y su ingesta está relacionada con los beneficios para la salud (Seleem *et al.*, 2017). Estos compuestos juegan un papel importante en las plantas, como protectores contra la radiación solar UV, patógenos y herbívoros (Seleem *et al.*, 2014; Falcone *et al.*, 2012).

Existen múltiples estudios tanto *in vitro* como *in vivo*, que han demostrado que el consumo de alimentos con un contenido alto de compuestos fenólicos se encuentra ligado a beneficios a la salud (Vázquez-Flores *et al.*, 2012).

Los compuestos fenólicos poseen una importante actividad biológica como antioxidante, antiinflamatoria, antidepresiva, antialérgica, anticancerígena y antidiabética entre otras y los podemos encontrar de manera natural en alimentos de origen vegetal como verduras, frutas y cereales (Wallader-Compeán *et al.*, 2020). Una vez que los alimentos son consumidos por el ser humano, los compuestos fenólicos son extractados en el tracto

gastrointestinal mediante diferentes enzimas y bajo condiciones específicas de pH, posteriormente estos son absorbidos por el intestino delgado y después pasan a través de las células epiteliales y finalmente terminan en el plasma (Sauceda *et al.*, 2011). Se sabe que tanto el hongo de la pudrición blanca (HPB) *Pleurotus ostreatus* como el frijol pinto saltillo tienen la presencia de dichos compuestos fenólicos, sin embargo, es poca la literatura que existe sobre el desecho de la naranja respecto a estos metabolitos secundarios, aunque se sabe que este cítrico por sí solo posee cantidades de algunos de estos compuestos. Es por ello por lo que en este artículo se establece la caracterización química de 9 mezclas diferentes compuestas por estos 3 componentes (desecho de naranja, HPB y frijol) mediante pruebas espectrofotométricas que midieron taninos condensados totales, fenoles y flavonoides totales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se recolectó el material vegetal de desechos de naranja en distintos puntos de la ciudad de Durango en donde se realizan productos con este cítrico, posteriormente se llevaron a su total sequedad, divididos en tres tipos (Figura 3). Posteriormente se pulverizó. Con lo que respecta al frijol (*Phaseolus vulgaris* variedad Pinto Saltillo), se utilizó una cosecha producida en el Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR) Unidad Durango en el año de 2019, éste se pulverizó para su homogenización. El hongo que se utilizó fue el micelio activo de *Pleurotus ostreatus*, con número de registro 255 2323 (P246 6).

En matraces de 250 mL se añadió 5gr de material pulverizado del desecho de naranja y de frijol, realizando un total de 9 mezclas (Tabla 1) por triplicado, se añadieron 150 mL de medio de cultivo (extracto de malta) y se llevaron a esterilizar. Al finalizar la esterilización se dejó enfriar el medio a temperatura ambiente, posteriormente se añadieron 5 granos de micelio

activo del hongo. Se colocaron en agitación constante durante 17 días para promover la fermentación. Este paso se realizó bajo condiciones de oscuridad y temperatura uniforme. Pasado este lapso las muestras se licuaron y se llevaron a maceración durante 24 horas. Los macerados resultantes de este proceso se centrifugaron a 6000rpm durante 10 minutos, para posteriormente llevarlas a sequedad. Los vasos en los que las muestras se llevaron a sequedad se llevaron a peso constante, para luego obtener el rendimiento de extracción. Los extractos fenólicos se prepararon de acuerdo con lo reportado por Kim y Lee (2002). Los extractos ya secos se resuspendieron en una solución de etanol al 80% a una concentración final de 100mg/mL. Se tomaron alícuotas para llevar a cabo las determinaciones espectrofotométricas de fenoles totales, flavonoides totales y taninos condensados totales.

La concentración de fenoles totales se estimó de acuerdo con Singleton y Rossi (1965). Se mezclaron 25 μ L de extracto con 125 μ L de reactivo de Follin-Ciocalteu (1:10 en agua). Después de 5 minutos, se añadieron 100 μ L de una solución saturada de carbonato de sodio. La mezcla se agito y se dejó en reposo durante 2 horas, la absorbancia se midió a 765 nm en un multiskan GO (Thermo Scientific). Se uso una curva estándar construida con seis concentraciones de ácido gálico (AG) para estimar el contenido fenólico en los extractos. El resultado se expresó como miligramos de equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto seco (mgEAG/gES).

La cuantificación de flavonoides se realiza de acuerdo con Ordoñez *et al.* (2006). Los extractos totales (100 μ L) se mezclaron con 100 μ L de $AlCl_3$ al 2%, las mezclas se agitaron, luego de 1 hora en la oscuridad se leyó la absorbancia a 405 nm en el multiskan.

Se utilizó una curva estándar, la cual se construyó con seis concentraciones de quercetina (Q) para estimar el contenido de

flavonoides en las mezclas fermentadas. Los resultados obtenidos se expresaron en miligramos equivalentes de quercetina por gramo de extracto seco (mg EQ/g ES).

La evaluación de taninos condensados se determinó usando como referencia la publicación de Julkunen-Titto (1985). Se mezclaron alícuotas de 80 μ L de muestra con 160 μ L de solución de vainillina al 4% (disuelta en metanol absoluto) y 80 μ L de HCl concentrado. Después de 20 min se leyó la absorbancia a 510 nm con metanol como blanco. La concentración de los taninos condensados totales en los diferentes extractos se estimó a partir de una curva de calibración construida con seis concentraciones de epicatequina (E) como estándar. El resultado se expresó en miligramos equivalentes de epicatequina por gramo de extracto seco (mg EE/g ES).

Todos los análisis se llevaron a cabo por triplicado y los resultados se presentaron como media $\pm$ desviación estándar (DE). Los datos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) de una vía y las medias se compararon con una prueba de tukey ($p > 0.05$) en los programas de InfoStat FCA versión 2022 y GraphPad Prism versión 8.0.0.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

El contenido de fenoles totales se muestra en la Tabla 2 y Figura 4. La concentración de fenoles totales varió significativamente entre las nueve mezclas. La mezcla que obtuvo el mayor contenido de fenoles es la conformada por bagazo y hongo (BH) con una concentración de 22.69 mg EAG/ mg ES. Seguida de la muestra que contiene cascara y hongo (CH) con una concentración de 13.1 mg EAG/ mg ES.

La concentración de fenoles totales varió de manera significativa, teniendo la cantidad más baja en la mezcla compuesta por frijol y hongo (FH) seguida de la mezcla blanco (BCO) la cual contiene solamente el hongo.

El contenido de flavonoides totales (FLT) se aprecia en la Tabla 3 y Figura 5. En donde se observa que al igual que en fenoles totales, la mayor cantidad de compuestos fenólicos se encuentra en la mezcla conformada por bagazo y hongo (BH) en una concentración de 0.0037 mg EQ/ mg ES, seguido por un cuarteto de mezclas con una diferencia mínima entre las que encontramos: cascará y hongo (CH) (0.0018 mg EQ/ mg ES), naranja y hongo (NH) (0.0018 mg EQ/ mg ES), bagazo, frijol y hongo (BFH) (0.0018 mg EQ/ mg ES) y naranja, frijol y hongo (NFH) (0.0018 mg EQ/ mg ES).

La estimación de taninos condensados totales en las mezclas fermentadas se observa en la Tabla 4 y Figura 6. Al igual que flavonoides y fenoles, los taninos condensados totales fueron acumulados significativamente en mayor cantidad en la mezcla BH (0.0283 mg EE/ mg ES), sin embargo, en este compuesto las concentraciones más bajas están presentes en la mezcla compuesta por cascará, frijol y hongo CFH (0.0056 mg EE/ mm ES).

Como es evidente para las tres pruebas espectrofotométricas la mezcla que obtuvo mayor concentración de estos compuestos en la mezcla BH, mostrando así la evidencia de un alto contenido de estos compuestos fenólicos en el bagazo resultante del desecho de la naranja, esto podría considerarse relevante para la producción y obtención de compuestos que favorezcan la acción beneficiosa en algunos padecimientos de la salud (Jing, 2014). Por lo anterior, se puede afirmar la disminución del desecho de este cítrico (Ruíz y Flotats, 2016). Según menciona López *et al.*, (2023) los desechos de la industria procesadora de este cítrico contienen compuestos que pueden ser recuperados y reincorporados al proceso productivo, tal como lo son las vitaminas, compuestos fenólicos, minerales y fibras. La reutilización de estos desechos no solo reducirá la contaminación, sino que también serían aprovechables las partes del fruto que son ricas en compuestos bioactivos e innovar generando productos con valor agregado.

En las mezclas compuestas por el bagazo y el hongo fueron superiores a donde se añadió el frijol en comparación con el estudio de López *et al.*, (2023), donde se analizó el desecho de naranja sin algún procedimiento fermentativo, obteniendo así una mayor concentración de estos compuestos.

Existe evidencia de la producción de compuestos fenólicos a partir de fermentación de frijol y hongo de pudrición blanca, aunado a que hay evidencia de que el desecho de naranja puede ser utilizado en este tipo de procesos, se busco explorar el potencial de producción de compuestos fenólicos a partir de la mezcla de estos tres componentes y así proponer el aprovechamiento de los desechos de naranja, que representan un potencial contaminante.

CONCLUSIÓN

La caracterización química de las mezclas de desechos de naranja y frijol Pinto saltillo fermentadas con *Pleurotus ostreatus*, demostró que este hongo tiene un notable potencial para mejorar el contenido de compuestos bioactivos en los residuos de la industria alimenticia. Mediante el uso de técnicas espectrofotométricas, se analizó el producto fermentado de las 9 mezclas, revelando diferencias significativas en la concentración de compuestos bioactivos.

La mezcla compuesta por bagazo y hongo (BH) destacó por su alto contenido de fenoles, flavonoides y taninos condensados totales, compuestos que son reconocidos por sus propiedades antioxidantes y beneficiosas para la salud. Estos hallazgos destacan el potencial de *Pleurotus ostreatus* no solo para transformar residuos alimenticios, sino también para enriquecer estos mismos con compuestos bioactivos de alto valor añadido, este enfoque de biorrefinerías no solo contribuye a la gestión sostenible de residuos, sino que también abre nuevas oportunidades para la producción de ingredientes funcionales en la industria alimenticia, farmacéutica, entre otras.

Además, gracias al alto contenido de compuestos fenólicos de la mezcla BH sugiere que la optimización de las condiciones de fermentación podría mejorar aún más la producción de compuestos bioactivos. Futuros estudios podrían explorar variaciones en la producción de residuos, tiempo de fermentación, diferentes tipos de fermentación y condiciones ambientales para maximizar la eficiencia de este proceso biotecnológico.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología por apoyar mi formación y brindarme los medios para realizar mis estudios. Al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango y al Instituto Politécnico Nacional y a sus profesores por hacerme crecer como profesionista. A los maestros y doctores que formaron parte fundamental para la realización de este artículo Delgado Alvarado Eli Amanda, Naranjo Jiménez Néstor, Torres Ricario Rene y Almaraz Abarca Norma.

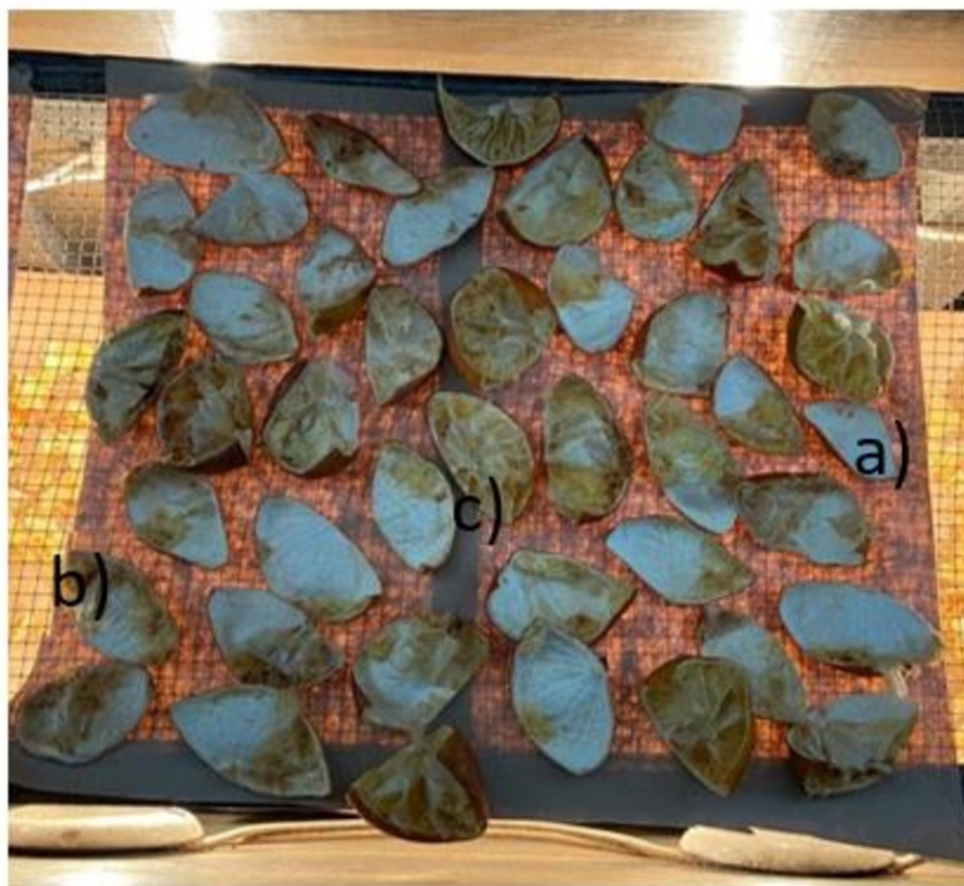


Figura 3. Residuos de naranja: a) la cascara, b) el bagazo y c) el desecho de naranja completo.

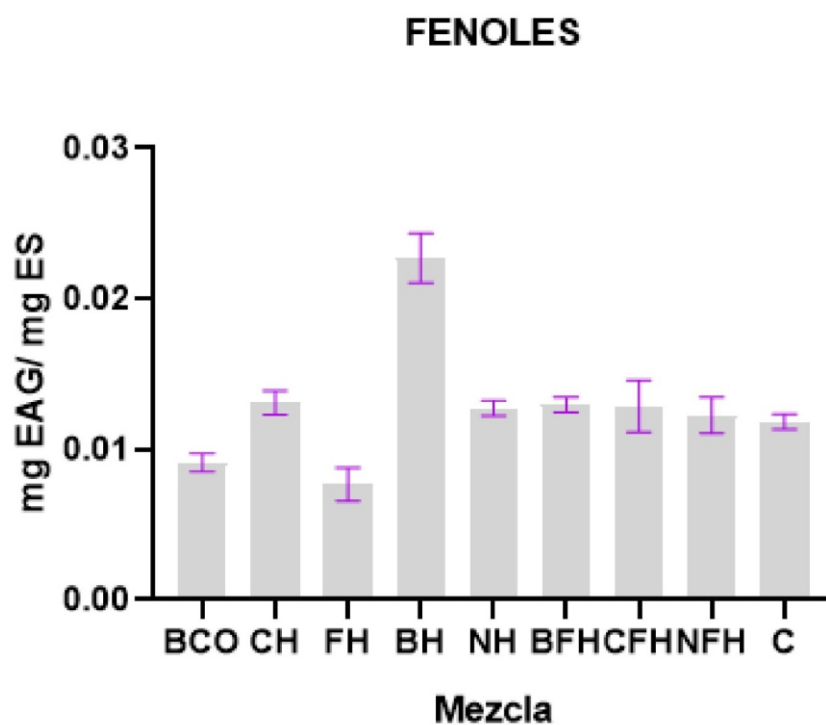


Figura 4. Variación del contenido de fenoles totales (FT) en las distintas mezclas.

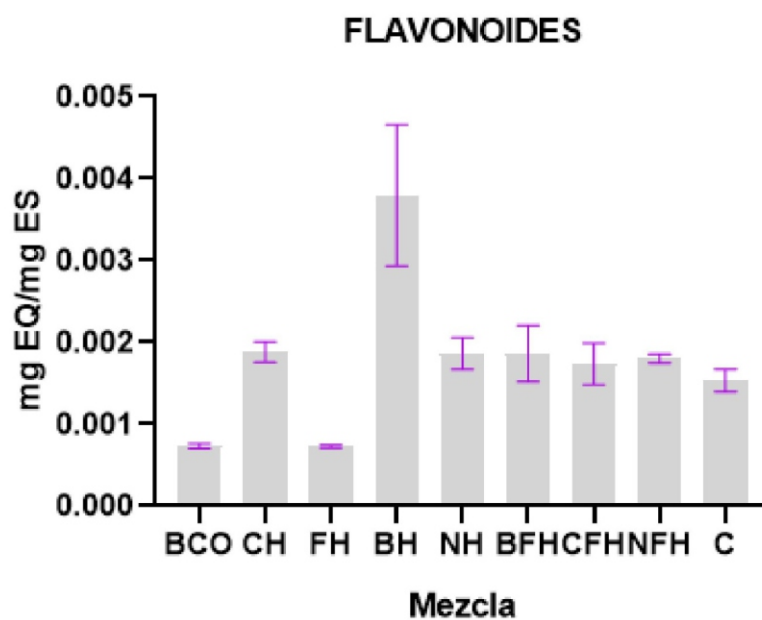


Figura 5. Variación del contenido de flavonoides totales (FLT) en las distintas mezclas.

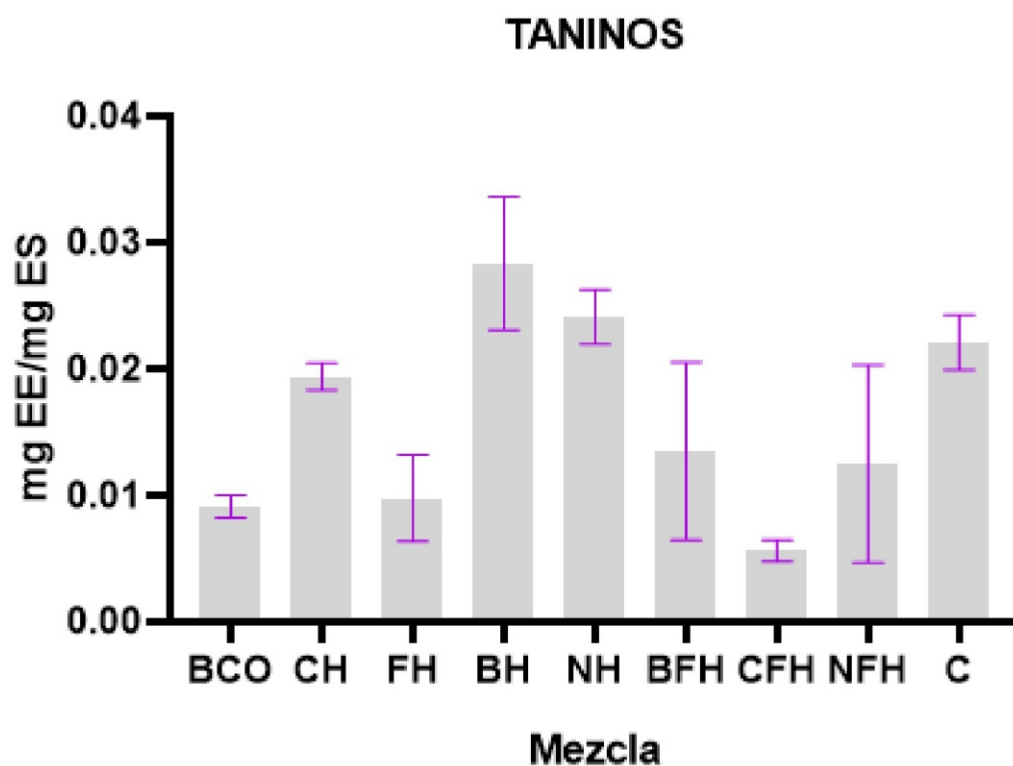


Figura 6. Variación del contenido de taninos condensados totales (TCT) en las distintas mezclas.

Tabla 1. Diseño de las mezclas.

MEZCLA	COMPONENTES	SIMBOLO
Blanco	Hongo	BCO
1	Cascara y hongo	CH
2	Frijol y hongo	FH
3	Bagazo y hongo	BH
4	Naranja y hongo	NH
5	Bagazo, frijol y hongo	BFH
6	Cascara, frijol y hongo	CFH
7	Naranja, frijol y hongo	NFH
8	Cascara y medio	C

Tabla 2. Concentraciones de fenoles (FT) en las nueve mezclas fermentadas.

MEZCLA	mg EAG /mg ES
BCO	0.0091 ± 0.0006 ^A
CH	0.0131 ± 0.0007 ^B
FH	0.0076 ± 0.0010 ^A
BH	0.0226 ± 0.0016 ^C
NH	0.0127 ± 0.0004 ^B
BFH	0.0129 ± 0.0005 ^B
CFH	0.0128 ± 0.0017 ^B
NFH	0.0122 ± 0.0011 ^B
C	0.0118 ± 0.0005 ^B
C	0.0118 ± 0.0005 ^B

EAG: equivalentes de ácido gálico. Medias con una letra común no son significativamente diferentes (prueba de Tukey $p > 0.05$).

Tabla 3. Concentraciones de flavonoides totales (FLT) en las nueve mezclas fermentadas.

MEZCLA	mg EQ /mg ES
BCO	0.0007 ± 0.00003 ^A
CH	0.0018 ± 0.0001 ^B
FH	0.0007 ± 0.00007 ^A
BH	0.0037 ± 0.0008 ^C
NH	0.0018 ± 0.00001 ^B
BFH	0.0018 ± 0.0003 ^B
CFH	0.0017 ± 0.0002 ^B
NFH	0.0018 ± 0.00005 ^B
C	0.0015 ± 0.0001 ^B

EQ: equivalentes de quercetina. Medias con una letra común no son significativamente diferentes (prueba de Tukey $p > 0.05$).

Tabla 4. Concentraciones de taninos condensados totales (TCT) en las nueve mezclas fermentadas.

MEZCLA	mg EE /mg ES
BCO	0.0091 ± 0.0009 ^A
CH	0.0193 ± 0.0010 ^{BC}
FH	0.0097 ± 0.0034 ^A
BH	0.0283 ± 0.0052 ^D
NH	0.0241 ± 0.0021 ^{CD}
BFH	0.0134 ± 0.0070 ^{AB}
CFH	0.0056 ± 0.0008 ^A
NFH	0.0124 ± 0.0078 ^{AB}
C	0.0220 ± 0.0021 ^{CD}

EE: equivalentes de epicatequina. Medias con una letra común no son significativamente diferentes (prueba de Tukey $p > 0.05$).

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Behzad, S., Keikhosro, K. 2018. Citrus processing wastes: Environmental impacts, recent advances, and future perspectives in total valorization. *Resources, Conservation and Recycling*, 129, 153-167. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2017.10.032>.
- Dávila, T.L.A., Sierra, A.T.H. 2018. Revisión de alternativas sostenibles para el aprovechamiento del orujo de naranja. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 52: 9-32.
- Encinas, O., Mora, N. 2003. Patrones de degradación de las maderas de Pino caribe, Curarire y Drago por *Gloeophyllum trabeum*, *Trametes versicolor* y *Pycnoporus sanguineus*. *Revista forestal venezolana* 47(1):1-14.
- Falcone F, M. L., Rius, S., Casati, P. 2012. Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. *Frontiers in Plant Science* 3: 222.
- Gonzáles, R.H., Rosales, S.R. Y López, H.J. 2009. Adoption of pinto saltillo bean cultivar un Durango, Mexico, Cooperative, pp.156.
- Guan, L.P., Liu, B.Y. 2016. Antidepressant-like effects and mechanisms of flavonoids and related analogues. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 121: 45-57.
- Hernández, A.J., Zaragoza, B.A., López, R.G., Peláez, A.A., Olmedo, J.A., Rivero, P.N. 2018. Actividad antibacteriana y sobre nematodos gastrointestinales de metabolitos secundarios vegetales: enfoque en Medicina Veterinaria. *Abanico veterinario*, 8(1):14-27.
- Jing, L. Z. 2014 Antifungal activity of citrus essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62.
- Julkunen-Tiitto, R. 1985. Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 33: 213-217.
- López, E. E., Ceruti, R. J., Vignatti, C. I., Piagentini, A. M. 202). Caracterización del bagazo de naranja remanente de la industria cítrica para su potencial utilización como ingrediente funcional. *Investigación Joven* 10(2):208-208.
- Manrique, A.G. 2018. Visión general del aprovechamiento de residuos cítricos como materia prima de biorrefinerías. *Cuadernos del Tomás* 10:153-168.
- Mite, A.I.A., Llor, J.L.M., Casillas, D.O.C., Larreta, F.S.G. 2022. Estudio Comparativo de la Composición Química, Fenoles Totales y Actividad Antioxidante de Citrus síntesis, Citrus reticulata y Citrus máxima. *RECIAMUC* 6(3):535-545.
- Ordoñez, A. A. L., Gomez, J. D., Vattuone, M. A. 2006. Antioxidant activities of Sechium edule (Jacq.) Swartz extracts. *Food Chemistry* 97: 452-458.
- Pérez, A.N., Jiménez E. 2011. Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el cultivo in vitro. *Biotecnología Vegetal*. 11(4):195-211. ISSN 2074-8647.
- APérez-Alonso, N., Jiménez, E. 2011. Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el cultivo in vitro. *Biotecnología vegetal*, 11(4).
- Ramakrishna, A., Ravishankar, G. A. 2011. Influence of abiotic stress singles on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior*, pp. 6,1720-1731.
- Ruiz, B. Flotats, X. 2016. Effect of limonene on batch anaerobic digestion of citrus peel waste. *Biochemical Engineering Journal*, 109:9-18.
- Sauceda, A. E. Q., Palafox, H., Sánchez, R. M. R., Aguilar, G. A. G. 2011. Interacción de compuestos fenólicos y fibra dietaria: capacidad antioxidante y biodisponibilidad. *Biotecnología* 13(3): 3-11.
- Seleem, D., Pardi, V., Murata, R. M. 2017. Review of flavonoids: A diverse group of natural compounds with anti-Candida albicans activity in vitro. *Archives of Oral Biology* 76: 76-83.

- Singleton, V.L., Rossi Jr., J.R., 1965. Colorimetric of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16:144-158.
- Tapie, W. A., García, D. P., Guerrero, H. S. 2016. Biodegradación de vinazas de caña de azúcar mediante el hongo de pudrición blanca *Pleurotus ostreatus* en un reactor de lecho empacado. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 19(2): 145-150.
- Vázquez-Flores, A. A., López-Díaz, J. A., Wall-Medrano, A., Laura, A. 2012. Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo. *Tecnociencia Chihuahua* 6(2): 84-93.
- Wallander-Compeán, L., Almaraz-Abarca, N., Alexandre-Iturbide, G. 2020. Compuestos bioactivos de formas silvestres de frijol común y una variedad domesticada. *Revista de Ciencias Farmacéuticas y Biomedicina* 71:71.

DETERMINACIÓN DEL EFECTO INHIBIDOR DE LA α -GLUCOSIDASA DE MICELIO DE *HERICIUM ERINACEUS* CULTIVADO EN CONDICIONES CONTROLADAS DE ILUMINACIÓN

Paez-Olivan Laura Anabel¹, Quiñones Pérez Carmen Zulema¹, Naranjo Jiménez Néstor², y *Herrera Gamboa Jaime¹

¹Instituto Tecnológico Nacional de México campus Valle del Guadiana, Km. 22,5 Carretera Durango-México, Villa Montemorelos, Durango.

²Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango, Calle Sigma 119, Fracc. 20 de noviembre II, Durango, Dgo, México.

RESUMEN

El hongo basidiomiceto *Hericium erinaceus*, es uno de los hongos comestibles y medicinales más consumido en el mundo. Este hongo presenta importantes funciones fisiológicas en seres humanos como la reducción de los niveles de glucosa y lípidos en sangre. Existen estudios que prueban dichas funciones utilizando el cuerpo fructífero sin modificar los parámetros de cultivo, por lo que el objetivo del presente estudio fue evaluar la capacidad de los compuestos bioactivos presentes en el micelio de *Hericium erinaceus* cultivado bajo condiciones controladas de iluminación led para inhibir la actividad de la enzima α -glucosidasa. Los resultados exhibieron actividad inhibitoria contra la enzima, con valores de EC_{50} menores a $50\mu\text{g/mL}$ en el tratamiento con luz led azul ($EC_{50} = 0.47\mu\text{g/mL}$). Este resultado demuestra que el micelio del hongo melena de león cultivado con luz led azul podría contribuir al desarrollo de tratamientos terapéuticos para la *Diabetes mellitus* tipo 2.

ABSTRACT

The basidiomycete fungi *Hericium erinaceus* is one of the most widely consumed edible and medicinal mushrooms in the world. This fungus has important physiological functions in humans, such as reducing blood glucose and lipid levels. There are studies that test these functions using the fruiting body without modifying the cultivation parameters, so the objective of the present study was to evaluate the capacity of the bioactive compounds present in the mycelium of *Hericium erinaceus* grown under controlled LED lighting conditions to inhibit the activity of the enzyme α -glucosidase. The results showed inhibitory activity against the enzyme, with EC_{50} values less than $50\mu\text{g/mL}$ in the treatment with blue LED light ($EC_{50} = 0.47\mu\text{g/mL}$). This result demonstrates that the lion's mane mushroom mycelium cultivated with blue LED light could contribute to the development of therapeutic treatments for type 2 *Diabetes mellitus*.

PALABRAS CLAVE

Antihyperglucemiante, compuestos bioactivos, luz led

KEY WORDS

Antihyperglycemic, bioactive compounds, LED light

INTRODUCCIÓN

La OMS (Organización Mundial de la Salud) en el 2016 estimó que 422 millones de personas de todos los grupos de edades padecían *Diabetes mellitus* (DM) (OMS, 2016), en comparación con las cifras presentadas en el 2021 en el Atlas de la Diabetes por la IDF (International Diabetes Federation), que estimó 537 millones de diabéticos en el mundo y prevé que para el 2030 este número llegue a 643 millones (D. Atlas, 2021). En México se utilizan más de 383 plantas para el tratamiento de DM (Mata *et al.*, 2013). Siendo escasos los tratamientos que incluyen a los hongos. Algunas de las especies de hongos con efectos antihiper glucemiantes son: *Fomes fometarius*, *Trametes elegans* y *Hericius erinaceus* (Pérez Jaramillo, 2024). En este último basidiomiceto autores como Liang *et al.* (2013) y Zhang *et al.* (2012), reportaron la disminución de los niveles de glucosa en sangre, triglicéridos séricos y colesterol total, utilizando extractos etanólicos de cuerpos fructíferos, pero no se han encontrado estudios donde evalúen la capacidad inhibitoria de la enzima alfa-glucosidasa en micelio y mucho menos bajo la manipulación de parámetros de cultivo. Se sabe que la mayoría de las especies de hongos responden y se adaptan a diversos estímulos ambientales incluida la luz, factor que estimula la productividad de diversos compuestos bioactivos. Kho *et al.*, (2016) reportaron que la luz led intensifica la producción de metabolitos secundarios entre los que podrían estar aquellos con capacidad antihiper glucemiante. Por tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la capacidad de los compuestos bioactivos presentes en el micelio de *Hericius erinaceus* cultivado bajo condiciones controladas de iluminación led para inhibir la actividad de la enzima α -glucosidasa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Producción de micelio bajo condiciones controladas de luz led.

Se realizó un diseño completamente al azar, tres tratamientos con tres repeticiones, y un total de 9 unidades experimentales (150 mL de caldo extracto de malta más 3 mL de micelio líquido de la cepa CCH003 de *Hericius erinaceus*) en el Laboratorio de Biotecnología de Hongos del CIIDIR-IPN Unidad Durango. Para el primer tratamiento tres matraces fueron expuestos a luz-LED blanca, en segundo tratamiento fueron expuestos a luz LED azul y para el tercer tratamiento los matraces inoculados permanecieron en oscuridad total, durante 15 días cada uno de ellos, las muestras obtenidas fueron almacenadas en ultra congelador hasta su utilización de acuerdo con Montoya *et al.* (2018).

Preparación de los extractos etanólicos de micelio

Se preparó un extracto crudo etanólico para las determinaciones de la prueba de α -glucosidasa. A cuatro gramos de micelio fresco de cada uno de los tratamientos se le agregaron 40 mL de una solución de etanol al 80% (v/v) para su maceración en oscuridad durante 72 h, después dichas muestras fueron sonicadas una hora y posteriormente se centrifugaron a 6000 rpm durante 10 minutos para recuperar el sobrenadante, el cual se llevó a sequedad (35°C) para conseguir un rendimiento final de 50 mg/mL utilizando etanol al 80% para obtener una solución concentrada y preparar diluciones finales a 10 mg/mL. Posteriormente se realizaron diluciones seriadas con un factor de dilución 1/10. Actividad inhibitoria de la enzima α -glucosidasa Para la evaluación de la actividad inhibitoria de la α -glucosidasa se utilizó la técnica propuesta por Kim *et al.* (2010).

Se evaluaron las siguientes concentraciones de los extractos de micelio para cada uno de los tratamientos: 1, 0.1, 0.01 y 0.001 mg/mL. Para el control acarbosa se evaluaron las concentraciones 1, 0.5 y 25 mg/mL. La absorbancia producida por la reacción de los compuestos bioactivos de cada uno de los extractos con la enzima α -glucosidasa (α -GLC), donde se hidroliza el sustrato sintético p-Nitrofenil- α - D-glucopiranosido (p-NGP) por acción de la α -GLC que libera unidades de p-nitrofenolato y α - D glucosa, fueron tomadas en un espectrofotómetro de microplacas (Multiskan Go thermo scientific) a 405 nanómetros. Las mediciones se realizaron por triplicado considerando como efecto inhibitorio los resultados con valores de EC_{50} menores a 50 μ g/mL.

El porcentaje de inhibición fue calculado con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición} = \{1 - [(B - D)/(A - C)]\} * 100$$

La absorbancia de la muestra es B, D es la absorbancia del blanco de la muestra, A se refiere a la absorbancia del control y C es la absorbancia del blanco del estándar.

Análisis estadístico

Se realizó un ANOVA de una vía y una prueba de Tukey con una confiabilidad del 95%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tomando como referencia la actividad inhibitoria del estándar comercial utilizado para el tratamiento de *Diabetes mellitus* 2, acarbosa (control estándar) se obtuvo un EC_{50} = 1.06 μ g de extracto / mL de disolvente. Por lo cual el único tratamiento que presenta la capacidad de inhibir la actividad enzimática de la α -GLC es el extracto de micelio estimulado con luz led azul con un valor de EC_{50} = 0.47 μ g/mL (Tabla 1). Valores similares fueron reportados por Armijos (2018), para cuerpos fructíferos de los basidiomicetos *Laetiporus* sp. (47.55 μ g/mL) y *Gerronema* sp.

(56.42 μ g/mL). De la Torre (2017) reportó valores menores para el hongo *Laccaria laccata* en un extracto de acetato de etilo (24.17 μ g/mL), esto podría indicar que al utilizar otro tipo de solvente en la extracción se podrían recuperar compuestos con mayor actividad antihiper glucemiante, que en los extractados con etanol.

La alfa-amilasa es un componente activo en la saliva y en la secreción pancreática, responsable de adherir los malto oligosacáridos en la maltosa, quien es sustrato de la α -GLC intestinal (Conforti et al., 2005). Al inhibir esta enzima se podría controlar eficazmente la elevación del nivel de glucosa postprandial en sangre (Kwon et al., 2006). De ahí la importancia de encontrar nuevos inhibidores naturales de estas enzimas para proponer nuevos tratamientos para contrarrestar los efectos de la hiperglucemia.

CONCLUSIÓN

Este estudio demostró que el micelio de *Hericium erinaceus* cultivado bajo condiciones controladas de luz LED azul, presenta una actividad inhibitoria significativa sobre la enzima α -glucosidasa, con un valor de EC_{50} de μ g/mL, comparado favorablemente con el estándar comercial, acarbosa, cuyo EC_{50} fue de 1.06 μ g/mL, lo que indica un potencial prometedor en el tratamiento de la *Diabetes mellitus* tipo 2. La capacidad del extracto de micelio estimulado con luz LED azul para inhibir esta enzima, que desempeña un papel crucial en la regulación de la glucosa postprandial, sugiere que los compuestos bioactivos generados bajo esta condición de cultivo, podrían ser candidatos viables para el desarrollo de terapias naturales para la diabetes y da pauta para investigaciones futuras sobre los efectos de diferentes condiciones de cultivo en la producción de metabolitos bioactivos con propiedades antihiper glucemiantes, y subrayan la importancia de explorar alternativas naturales a los tratamientos convencionales.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al Instituto Politécnico Nacional por el apoyo financiero por las becas COFAA y EDI, proyecto SIP 20240925 y al CONHACYT México por brindar apoyo para realizar los estudios posdoctorales de L. A. Páez Olivan (proyecto 3787825).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Armijos Celi, K. F. (2018). Actividad anticolinesterásica e hipoglucemiante de extractos obtenidos de hongos Basidiomicetos del cantón Loja y Saraguro (Tesis doctoral).
- Conforti, F., Loizzo, M. R., Statti, G. A., and Menichini, F. (2005). Comparative Radical Scavenging and Antidiabetic Activities of Methanolic Extract and Fractions from *Achillea ligustica* All. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28(9), 1791-1794.
- D. Atlas (2021). International diabetes federation, *IDF Diabetes Atlas*, International Diabetes Federation, Brussels, Belgium, 10th Ed., 2021.
- De La Torre Tacuri, C. E. (2017). Estudio químico y actividad biológica del hongo *Laccaria laccata* Scop. Cooke, en la región Sur del Ecuador (Tesis doctoral).
- Kho, C.-H., Kan, S.-C., Chang, C.-Y., Cheng, H.-Y., Lin, C.-C., Chiou, P.-C., and Liu, Y.-C. (2016). Analysis of exopolysaccharide production patterns of *Cordyceps militaris* under various light-emitting diodes. *Biochemical Engineering Journal*, 112, 226–232. DOI: 10.1016/j.bej.2016.04.028.
- Kim, J. S., Kwon, Y. S., Chun, W. J., Kim, T. Y., Sun, J., Yu, C. Y., and Kim, M. J. (2010). *Rhus verniciflua* Stokes flavonoid extracts have anti-oxidant, anti-microbial and α -glucosidase inhibitory effect. *Food chemistry*, 120(2), 539-543.
- Kwon, Y.-I., Vatter, D.A., and Shetty, K. (2006). Clonal herbs of Lamiaceae species against diabetes and hypertension. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 15, 107-118.
- Liang, B., Guo, Z., Xie, F., and Zhao, A. (2013). Antihyperglycemic and antihyperlipidemic activities of aqueous extract of *Hericium erinaceus* in experimental diabetic rats. *BMC complementary and alternative medicine*, 13(1), 253.
- Mata, R., Cristians, S., Escandón-Rivera, S., Juárez-Reyes, K., and Rivero-Cruz, I. (2013). Mexican antidiabetic herbs: valuable sources of inhibitors of α -glucosidases. *Journal of natural products*, 76(3), 468-483.
- Montoya, S., López, D. y Segura, B. (2018). Influencia de la luz azul sobre la productividad del cultivo sólido de *Ganoderma lucidum*. *Rev. Colomb. Biotecnol.* Vol. XX No. 1, 51 – 58. DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v20n1.73674
- Organización Mundial de la Salud (2016). Diabetes. Informe mundial sobre la Diabetes 2016. [Consultado 25 de septiembre de 2023]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
- Pérez Jaramillo, C. C. (2024). Evaluación del potencial hipoglicemiante de hongos micomicetos. Universidad del Tolima. Tesis Doctoral.
- Zhang, Z., Lv, G., Pan, H., Pandey, A., He, W. and Fan, L. (2012). Antioxidant and hepatoprotective potential of endopolysaccharides from *Hericium erinaceus* grown on tofu whey. *International journal of biological macromolecules*, 51(5), 1140-1146.

DOXORRUBICINA: UN CONTAMINANTE EMERGENTE DE PREOCUPACIÓN AMBIENTAL

Areli Fragoso Ortiz¹, Luis Alberto González Burciaga², José Bernardo Proal Nájera¹

¹Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango, Sigma 119, Fracc. 20 de Noviembre II, CP 34220 Durango, Durango, México.

²Posdoctorado CONAHCYT-Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango, Sigma 119, Fraccionamiento 20 de Noviembre II, CP 34220 Durango, Durango, México.

RESUMEN

El incremento de casos de cáncer a nivel mundial ha llevado al aumento en el uso de medicamentos citostáticos, capaces de tratar este padecimiento, entre los cuales se encuentran las antraciclinas como la doxorubicina (DOX), empleada en esquemas de tratamiento contra cáncer de mama, pulmón, ovario, estómago y leucemia. Una vez administrada, ésta es excretada por el cuerpo humano facilitando su presencia en efluentes hospitalarios y, por consiguiente, llega hasta las plantas de tratamiento de aguas residuales, las cuales son incapaces de degradarla. Por esta razón, se han detectado en diferentes matrices acuáticas en concentraciones que van desde ng/L hasta µg/L, lo que ha llevado a la investigación de sus efectos tóxicos en especies de algas, rotíferos y crustáceos, con resultados que respaldan la preocupación de sus posibles efectos adversos sobre la salud humana. Para remediar esta situación, varios procesos de tratamiento se han investigado en las últimas décadas, que comprenden métodos biológicos y procesos de oxidación avanzada con eficiencias de degradación de DOX que varían entre el 87% hasta su completa eliminación con fotocátalisis heterogénea y electrodegradación. Por lo que se puede concluir que ampliar las investigaciones sobre nuevos métodos para eliminar contaminantes emergentes como DOX, es de gran relevancia para prevenir su acumulación en cuerpos de agua y ambientes acuáticos.

Palabras clave:

citostáticos, doxorubicina, contaminación, toxicidad.

ABSTRACT

The increment in cancer cases worldwide has led to an increase in the use of cytostatic drugs capable of treating this disease, among which are anthracyclines such as doxorubicin (DOX), used in treatment schemes against breast, lung, ovarian, stomach and leukemia cancers. Once administered, it is excreted by the human body, facilitating its presence in hospital effluents and, consequently, it reaches wastewater treatment plants, which are unable to degrade it. For this reason, they have been detected in different aquatic matrices in concentrations ranging from ng/L to µg/L, which has led to research into their toxic effects on algal species, rotifers and crustaceans, with

Keywords:

cytostatics, doxorubicin, pollution, toxicity.

results that support concerns about their potential adverse effects on human health. To remedy this situation, several treatment processes have been investigated in recent decades, comprising biological methods and advanced oxidation processes with DOX degradation efficiencies ranging from 87% to complete removal with heterogeneous photocatalysis and electrodegradation. Therefore, it can be concluded that further research on new methods to eliminate emerging contaminants such as DOX is of great relevance to prevent their accumulation in water bodies and aquatic environments.

INTRODUCCIÓN

La DOX es un compuesto sintetizado a partir de la daunorrubicina, derivados de la bacteria *Streptomyces peucetius* que genera un pigmento rojo brillante y posee buena actividad antibiótica (Štenglová Netíková *et al.*, 2017). Este medicamento pertenece a la familia de las antraciclinas, un grupo de antibióticos citostáticos utilizados en tratamientos de quimioterapia para atacar células malignas responsables del cáncer. Su acción anticancerígena se debe a varias propiedades: puede intercalarse en el ADN, inhibir la actividad de la enzima topoisomerasa II (clave en la replicación y transcripción del material genético), alterar la función mitocondrial y generar radicales libres, los cuales inducen estrés oxidativo en las células cancerosas (Kciuk *et al.*, 2023). Además, son capaces de afectar negativamente al ser humano y organismos acuáticos, ya que no son selectivos, es decir, harán su función tanto en células dañadas como sanas. Entre sus propiedades nocivas se encuentran efectos citotóxicos, carcinogénicos, genotóxicos, mutagénicos y/o teratogénicos (Castellano-Hinojosa *et al.*, 2023).

Desde el punto de vista ambiental, la DOX es considerada un contaminante emergente y pseudo-persistente, ya que la vida media del fármaco en agua es de 180 días, 360 días en suelo y 1620 días en sedimentos.

Su degradación va siendo más lenta conforme las moléculas son adsorbidas en los sólidos suspendidos presentes en el medio acuoso, siendo esta la forma en que llega hasta los sedimentos (Castellano-Hinojosa *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2021).

El objetivo de este trabajo es informar sobre los usos de DOX, su detección en aguas residuales y los efectos negativos que puede causar en el ambiente. Para ello, se presentan estudios que evalúan tanto la presencia de esta sustancia en cuerpos de agua como su toxicidad en especies acuáticas.

DOXORRUBICINA: USOS Y APLICACIÓN

Actualmente, el aumento de casos de cáncer a nivel mundial ha desembocado en un incremento en la demanda de medicamentos para tratar dicho padecimiento. En 2018, se estimaron 18.07 millones de casos nuevos, y se prevé que para el año 2040 la cifra alcance 29.5 millones de pacientes con cáncer (Yadav *et al.*, 2021). La figura 1 presenta las estadísticas de incidencia de casos de cáncer a nivel mundial en 2022, con un enfoque especial en América Latina y el Caribe. A nivel global, el cáncer de mama es el tipo de cáncer más común, seguido por el cáncer de pulmón. En América, los cánceres de mama y próstata son los más frecuentes (GLOBOCAN, 2022).

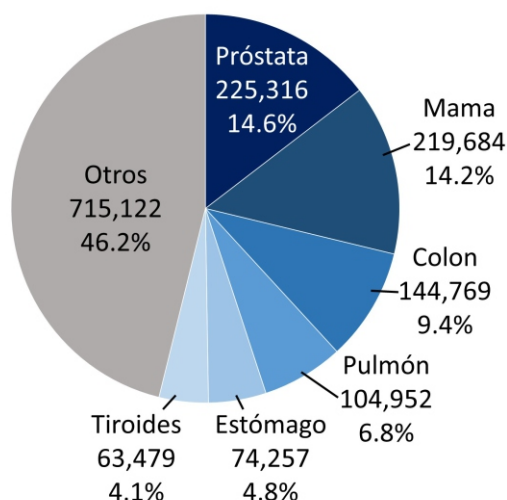
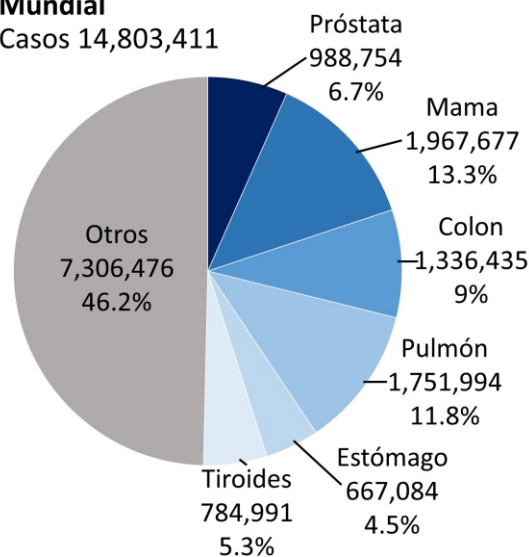
Latinoamérica y el Caribe
Casos 1,547,579**Mundial**
Casos 14,803,411

Figura 1. Incidencia de nuevos casos de cáncer en Latinoamérica y el Caribe (izquierda).
Incidencia de nuevos casos de cáncer a nivel mundial (derecha) (GLOBOCAN, 2022)

Los antibióticos citostáticos se utilizan en diversas regiones del mundo como parte de los regímenes de tratamiento contra el cáncer. Por ejemplo, en Cataluña, España, durante el periodo de 2010-2012 se emplearon 130 fármacos citostáticos, con un consumo que alcanzó 4.9 toneladas (Franquet-Griell *et al.*, 2015).

En cuanto a DOX, Johnson-Arbor y Dubey (2023) reportaron su uso en quimioterapia en EUA desde la década de 1960, con dosis que varían entre 40 y 75 mg/m². De acuerdo con Besse *et al.*, (2012) el uso de DOX en farmacias y hospitales en ciudades de Francia, se incrementó de 7.94 kg en 2004 a 16.82 kg en 2008. De manera similar, un estudio realizado en Río de Janeiro, Brasil, determinó el consumo de 20 citostáticos por día en un hospital público en el periodo de enero 2010 a diciembre 2017; el consumo promedio de DOX fue de 0.11 mg/día (Da Silva *et al.*, 2019).

En los últimos 50 años, la DOX se ha empleado como tratamiento contra varios tipos de cáncer como mama, pulmón, ovario, estómago y leucemia, principalmente (Yadav *et al.*, 2021; Zhao *et al.*, 2023). De acuerdo con el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), la dosis administrada de DOX para el tratamiento de leucemia linfoblástica aguda en adultos en México, varía entre 25-30 mg/m² (IMSS, 2018). Un 45% de la dosis es responsable del efecto antineoplásico, mientras que cerca del 40% va a ser desechado por medio de la orina (Moreno *et al.*, 2019). Estos residuos pasan a formar parte de las aguas residuales domésticas y hospitalarias, y generalmente son tratadas en plantas de tratamiento de agua residual (PTAR) (Yadav *et al.*, 2021).

PRESENCIA EN MATRICES DE AGUA Y EFECTO TÓXICO

En México, el tratamiento de agua residual y los parámetros establecidos para su descarga en aguas y bienes nacionales están establecidos en la norma NOM-001-SEMARNAT-2021. De manera similar, la norma NOM-073-ECOL-1994, establece los límites máximos permisibles de contaminantes contenidos en las descargas de aguas residuales a cuerpos receptores provenientes de la industria farmacéutica.

En esta norma, se contemplan los límites de toxicidad aguda con *Daphnia magna* para aquellas descargas que se consideran perjudiciales a pesar de que cumplen con los límites máximos permisibles. En este sentido, la DOX se ha detectado tanto en efluentes hospitalarios como en efluentes de PTAR, que representan las principales fuentes de este contaminante. Además, la industria farmacéutica es también una posible responsable de su presencia, como se muestra en la figura 2 (Castellano-Hinojosa *et al.*, 2023).

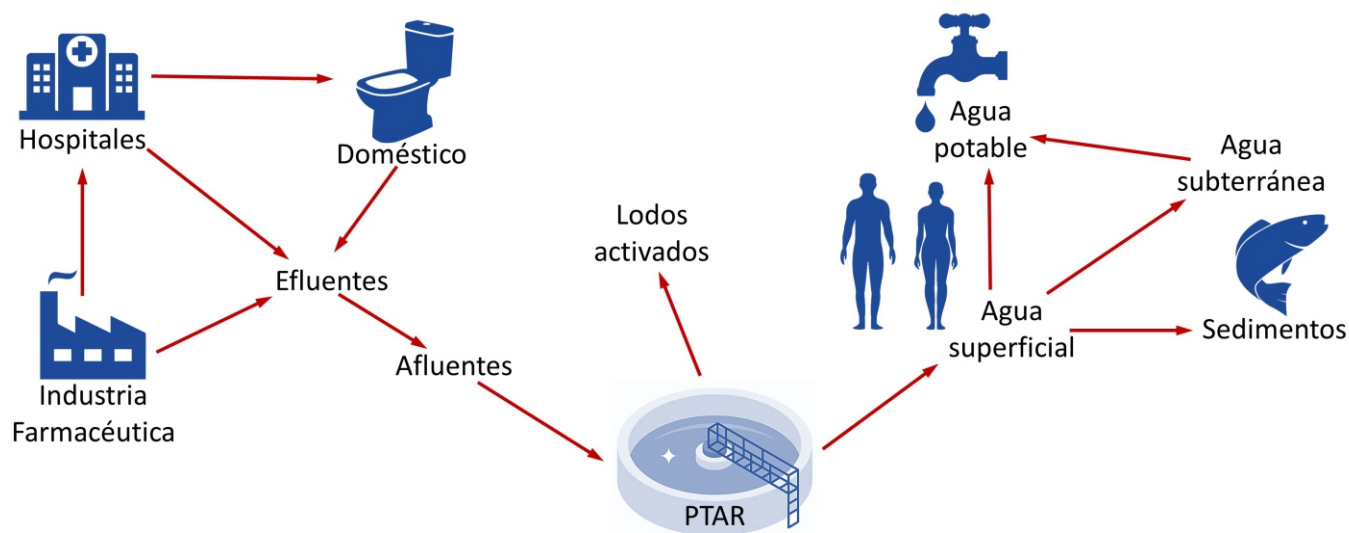


Figura 2. Posible ruta que sigue la DOX desde su fabricación, consumo y deshecho, hasta alcanzar cuerpos de agua (Modificado de: Yadav *et al.*, 2021; Catellano-Hinojosa *et al.*, 2023)

La identificación de DOX se ha logrado principalmente en matrices de agua, por medio del análisis de cromatografía líquida de alta resolución. Por ejemplo, en el Hospital Universitario de Viena, se monitorearon durante 28 días las aguas con residuos provenientes de la sala de tratamiento oncológico; determinando DOX en concentraciones de 0.1-0.5 µg/L (Mahník *et al.*, 2007).

En la ciudad de Sevilla, España, se estudiaron muestras de agua superficial, afluentes y efluentes de PTAR, encontrando DOX en afluentes a una concentración de 4.5 ng/L (Martín *et al.*, 2011). Posteriormente, en la misma localidad, se analizaron muestras de afluentes y efluentes recolectadas de cuatro PTAR diferentes a lo largo de un año. Los trenes de tratamiento de estas plantas constan de procesos convencionales, como el pretratamiento, sedimentación y lodos activados. Se identificó DOX en efluentes con una concentración de 20.3–42.4 ng/L, aunque no fue detectado en afluentes (Martín *et al.*, 2014).

Lo anterior puede explicarse debido a que, en la corriente de entrada a las PTAR, este

tipo de sustancias también están presentes en formas conjugadas, las cuales no se incluyen en la determinación de los fármacos libres. Así, los métodos analíticos empleados no son capaces de identificar estos conjugados. Durante el tratamiento biológico, dichos conjugados podrían descomponerse, liberando la forma libre de estos fármacos y resultando en concentraciones más elevadas (Ioannou-Ttofa y Fatta-Kassinou, 2020). En Río Grande del Sur, Brasil, Souza *et al.* (2018) determinaron la frecuencia de citostáticos en efluentes del Hospital Universitario de Santa María (HUSM), el cual trata un promedio de 25 mil pacientes al mes, convirtiéndolo en un hospital oncológico de referencia. En el estudio se detectaron concentraciones en el rango de 2.08 a 4.64 µg/L de DOX. De acuerdo con Li *et al.* (2021), los contaminantes presentes en efluentes son un medio por el cual se permite el paso de contaminantes recalcitrantes, persistentes o pseudo-persistentes al medio ambiente. Las diferentes concentraciones del fármaco y las matrices de agua donde fueron identificadas se resumen en la tabla 1.

Tabla 1. Presencia de DOX en diferentes matrices de agua

Fármaco	Concentración	Fuente	Lugar	Referencia
DOX	0.1-0.5 µg/L	Efluente de hospital	Viena, Austria	Mahník <i>et al.</i> , 2007
	4.5 ng/L	Afluente PTAR	Sevilla, España	Martín <i>et al.</i> , 2011
	20.3-42.4 ng/L	Efluente PTAR		Martín <i>et al.</i> , 2014,
	2.08-4.64 µg/L	Efluente de hospital	Río Grande del Sur, Brasil	Souza <i>et al.</i> , 2018

La DOX se encuentra entre los primeros 17 citostáticos que presentan toxicidad de 33 identificados en cuerpos de agua, su nivel tóxico es medido a través de bioensayos con la especie *D. magna* (Li et al., 2021). A través de esta prueba se ha reportado el daño que presentan algas, rotíferos y crustáceos, ante la exposición de DOX, incluso en concentraciones muy pequeñas (Castellano-Hinojosa et al., 2023). Lo anterior no es algo aislado, Zounková et al., (2007) reportaron la inhibición del crecimiento en algas al evaluar el fármaco contra *Pseudokirchneriella subcapitata*. Aunado a esto, se determinó que afecta la reproducción de rotíferos como la especie *Brachionus calyciflorus* (Martins et al., 2021), y dañan el ADN en crustáceos, especies como *Ceriodaphnia dubia* y *D. magna* se ven afectadas a concentraciones de DOX inferiores de 0.05 µg/L (Parrella et al., 2015). La especie *Thamnocephalus platyurus* es una de las más sensibles ante la toxicidad de este medicamento, presentando la disminución del 5% de los individuos (HC_s) con un valor de 76 µg/L (Li et al., 2021).

DEGRADACIÓN DE DOXORRUBICINA

Debido a la información brindada por diversos estudios sobre la toxicidad de contaminantes como la DOX y su detección en diferentes matrices de agua, algunas investigaciones se han orientado a la aplicación de procesos biológicos y procesos de oxidación avanzada (POA) para su remoción. Dentro de los métodos biológicos, el uso de la enzima Lacasa oxidorreductasa ha demostrado degradar completamente DOX en modelos de agua con concentraciones de 500 µg/L del contaminante, incluso en dosis bajas de la enzima (Kelbert et al., 2021). Otro trabajo con Lacasa oxidorreductasa, en el que se empleó un radical libre de nitróxido orgánico estable como mediador, mostró

porcentajes de degradación en el rango de 90% a 100% con diferentes parámetros experimentales (Jinga et al., 2022). Por otro lado, Rybczyńska (2021) evaluó el desempeño de micelio inmovilizado del hongo *Bjerkandera adusta* CCBAS 930 en la degradación de varias antraciclinas con buenos resultados, sin embargo, DOX mostró resistencia al hongo exhibiendo una degradación de solo el 87%.

Con respecto a los POA, son procesos que se caracterizan por la generación de especies de oxígeno no selectivas y alto poder oxidativo, como los radicales hidroxilos (OH·), que contribuyen significativamente en la generación de reacciones redox. Entre estas aplicaciones se encuentra los procesos tipo-Fenton, fotocatálisis, ozonación, radiación UV, cavitación por ultrasonido y oxidación electroquímica (Bello y Raman, 2019). En los últimos años, se han estudiado los POA como una alternativa para degradar aquellos contaminantes emergentes considerados como persistentes, se han reportado eficiencias altas de degradación al aplicar fotocatálisis homogénea con 95% de eliminación de DOX, y fotocatálisis heterogénea, la cual eliminó por completo el contaminante con el uso de TiO₂ y radiación UV (Calza et al., 2014; Garg et al., 2023). Junto con lo anterior, la electrodegradación avanzada para degradar DOX en agua usando un ánodo 3-D Ti/SnO₂, también eliminó por completo el contaminante (Orha et al., 2022). Por lo tanto, se pueden esperar altas eficiencias al degradar DOX en agua aplicando procesos como ozonación, fotocatálisis y oxidación química (Janssens et al., 2019). En la tabla 2 se presentan algunas investigaciones con aplicación de procesos biológicos y POA para la degradación de DOX en solución acuosa, obteniendo altas tasas de degradación.

Tabla 2. Aplicaciones de métodos biológicos y POA para degradación de DOX

Proceso	Condiciones	Degradación	Referencia
Enzimático	Lacasa/radical libre de nitróxido orgánico	90-100%	Jinga <i>et al.</i> , 2022
	Lacasa	100%	Kelbert <i>et al.</i> , 2021
Inmovilización de micelio de hongo	<i>Bjerkandera adusta</i> CCBAS 930	87.2%	Rybczyńska, 2021
Fotocatálisis heterogénea	[DOX] ₀ = 15 mg/L [TiO ₂ P25] = 200 mg/L Celdas vidrio Pyrex Lámpara TLK/50 40 W	100%	Calza <i>et al.</i> , 2014
Fotocatálisis homogénea	[DOX] ₀ = 10 mg/L [CSnCo0.5] = 25 mg/L Reactor por lotes Lámpara Hg con filtro UV	95%	Garg <i>et al.</i> , 2023
Electrodegradación	Ánodo 3-D Ti/SnO ₂	100%	Orha <i>et al.</i> , 2022

CONCLUSIONES

A pesar de que las concentraciones identificadas de DOX en efluentes son cantidades pequeñas, su presencia se ha logrado detectar en diferentes partes del mundo. Aunado a ello, la problemática de cáncer a nivel mundial está creciendo con el paso del tiempo, aumentando el uso de este tipo de medicamentos, lo que contribuye a la posibilidad de que sus concentraciones en el medio acuático sean mayores.

Debido a las evidencias de toxicidad de esta molécula orgánica en especies acuáticas, su identificación en agua, su persistencia y la falta de normatividad para regular la calidad del agua en efluentes de hospitales, industria y PTAR, convierte a la DOX en una preocupación ambiental.

Esta preocupación debe ser atendida para disminuir los impactos negativos en el medio ambiente. Lo anterior puede llevarse a cabo con una mejoría en las normas de tratamiento de aguas residuales y la inclusión de procesos terciarios más eficientes que sean capaces de destruir estos contaminantes.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCyT) por la beca provista al primer autor como parte del programa de Maestría en Ciencias en Gestión Ambiental, también al Instituto Politécnico Nacional por el apoyo y la facilitación de los recursos para llevar a cabo esta investigación. El segundo autor agradece al CONAHCyT por el apoyo otorgado dentro del Programa de Estancias Posdoctorales por México.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bello, M. M., A. A. A. Raman. 2019. Synergy of adsorption and advanced oxidation processes in recalcitrant wastewater treatment. *Environmental Chemistry Letters*, 17, 1125-1142.
- Besse, J.-P., J.-F. Latour, J. Garric. 2012. Anticancer drugs in surface waters. *Environment International*, 39(1), 73-86.
- Calza, P., C. Medana, M. Sarro, V. Rosato, R. Aigotti, C. Baiocchi, C. Minero. 2014. Photocatalytic degradation of selected anticancer drugs and identification of their transformation products in water by liquid chromatography-high resolution mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1362, 135-144.
- Castellano-Hinojosa, A., M. J. Gallardo-Altamirano, J. González-López, A. González-Martínez. 2023. Anticancer drugs in wastewater and natural environments: A review on their occurrence, environmental persistence, treatment, and ecological risks. *Journal of Hazardous Materials*, 447, 130818.
- Da Silva, R. F., L. De Lima Moura, L. O. Gavião, G. Brito Alves Lima, E. Dausacker Bidone. 2019. Local environmental risk assessment of anticancer drugs in a developing country. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 26(8), 2142-2161.
- Franquet-Griell, H., C. Gómez-Canela, F. Ventura, S. Lacorte. 2015. Predicting concentrations of cytostatic drugs in sewage effluents and surface waters of Catalonia (NE Spain). *Environmental Research*, 138, 161-172.
- Garg, T., Renu, Nitansh, D. Aggarwal, V. Kumar, K. Tikoo, C. Paulik, A. Kaushik, S. Singhal. 2023. Rational construction of g-C₃N₄/SnO₂/CoFe₂O₄ dual Z-scheme system as a potential scaffold for fluorescence sensing and visible light driven photocatalytic degradation of lethal pollutants. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 11(5), 110744.
- GLOBOCAN. 2022. The global cancer observatory, International Agency for Research on Cancer. https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/pie?mode=population&group_populations=0, Consulta: 16 de febrero de 2024.
- IMSS. 2018. Diagnóstico y Tratamiento Leucemia Linfoblástica Aguda en el Adulto. Guía de Evidencias y Recomendaciones: Guía de Práctica Clínica. México, Instituto Mexicano del Seguro Social, pp 12-13.
- Ioannou-Ttofa, L., D. Fatta-Kassinos. 2020. Cytostatic Drug Residues in Wastewater Treatment Plants: Sources, Removal Efficiencies and Current Challenges. En: *Fate and Effects of Anticancer Drugs in the Environment* (Eds: Heath, E., M. Isidori, T. Kojek, M. Filipič). Springer Nature, Suiza, pp. 103-138.
- Janssens, R., M. B. Cristovao, M. R. Bronze, J. G. Crespo, V. J. Pereira, P. Luis. 2019. Coupling of nanofiltration and UV, UV/TiO₂ and UV/H₂O₂ processes for the removal of anti-cancer drugs from real secondary wastewater effluent. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7(5), 103351.
- Jinga, L. I., M. Tudose, P. Ionita. 2022. Laccase-TEMPO as an Efficient System for Doxorubicin Removal from Wastewaters. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(11), 6645.
- Johnson-Arbor, K., R. Dubey. 2023. Doxorubicin. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459232/> Consulta: 28 de septiembre de 2024.
- Kciuk, M., A. Gielecińska, S. Mujwar, D. Kołat, Ż. Kałuzińska-Kołat, I. Celik, R. Kontek. 2023. Doxorubicin—An Agent with Multiple Mechanisms of Anticancer Activity. *Cells*, 12(4), 659.
- Kelbert, M., C. S. Pereira, N. A. Daronch, K. Cesca, C. Michels, D. De Oliveira, H. M. Soares. 2021. Laccase as an efficacious approach to remove anticancer drugs: A study of doxorubicin degradation, kinetic parameters, and toxicity assessment. *Journal of Hazardous Materials*, 409, 124520.

- Li, D., H. Chen, H. Liu, D. Schlenk, J. Mu, S. Lacorte, G. G. Ying, L. Xie. 2021. Anticancer drugs in the aquatic ecosystem: Environmental occurrence, ecotoxicological effect and risk assessment. *Environment International*, 153, 106543.
- Mahník, S. N., K. Lenz, N. Weissenbacher, R. M. Mader, M. Fuerhacker. 2007. Fate of 5-fluorouracil, doxorubicin, epirubicin, and daunorubicin in hospital wastewater and their elimination by activated sludge and treatment in a membrane-bio-reactor system. *Chemosphere*, 66(1), 30-37.
- Martín, J., D. Camacho-Muñoz, J. L. Santos, I. Aparicio, E. Alonso. 2011. Simultaneous determination of a selected group of cytostatic drugs in water using high-performance liquid chromatography-triple-quadrupole mass spectrometry. *Journal of Separation Science*, 34(22), 3166-3177.
- Martín, J., D. Camacho-Muñoz, J. L. Santos, I. Aparicio, E. Alonso. 2014. Occurrence and Ecotoxicological Risk Assessment of 14 Cytostatic Drugs in Wastewater. *Water, Air & Soil Pollution*, 225, 1896.
- Martins, N., A. Pradhan, C. Pascoal, F. Cássio. 2021. Individual and mixed effects of anticancer drugs on freshwater rotifers: A multigenerational approach. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 227, 112893.
- Moreno, E. K. G., L. F. Garcia, G. S. Lobón, L. B. Brito, G. A. R. Oliveira, R. Luque, E. De Souza Gil. 2019. Ecotoxicological assessment and electrochemical remediation of doxorubicin. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 179, 143-150.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-2021. 2021. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5645374&fecha=11/03/2022#gsc.tab=0, Consulta: 11 de marzo de 2024.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-073-ECOL-1994. 1994. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4866259&fecha=11/01/1995#gsc.tab=0, Consulta: 12 de marzo de 2024.
- Orha, C., C. Bandas, C. Lazau, M. I. Popescu, A. Baciú, F. Manea. 2022. Advanced Electrodegradation of Doxorubicin in Water Using a 3-D Ti/SnO₂ Anode. *Water*, 14(5), 821.
- Parrella, A., M. Lavorgna, E. Criscuolo, C. Russo, M. Isidori. 2015. Eco-genotoxicity of six anticancer drugs using comet assay in daphnids. *Journal of Hazardous Materials*, 286, 573-580.
- Rybczyńska-Tkaczyk, K. 2021. Enhanced Efficiency of the Removal of Cytostatic Anthracycline Drugs Using Immobilized Mycelium of *Bjerkandera adusta* CCBAS 930. *Molecules*, 26(22), 6842.
- Souza, D. M., J. F. Reichert, A. F. Martins. 2018. A simultaneous determination of anti-cancer drugs in hospital effluent by DLLME HPLC-FLD, together with a risk assessment. *Chemosphere*, 201, 178-188.
- Štenglová Netíková, I. R., M. Slušná, J. Tolasz, M. Št'astný, Š. Popelka, V. Štengl. 2017. A new possible way of anthracycline cytostatics decontamination. *New Journal of Chemistry*, 41(10), 3975-3985.
- Yadav, A., E. R. Rene, M. K. Mandal, K. K. Dubey. 2021. Threat and sustainable technological solution for antineoplastic drugs pollution: Review on a persisting global issue. *Chemosphere*, 263, 128285.
- Zhao, C., C. Li, M. Chen, T. Niu, Q. Zhao, T. Ni, D. Yan, W. Wu, D. Liu. 2023. Effective removal of antineoplastic doxorubicin by OD Nb₂O₅ quantum dots embed 3D porous C-doped g-C₃N₄: Degradation mechanism, pathway and toxicity assessment. *Applied Surface Science*, 612, 155861.
- Zounková, R., P. Odráška, L. Doležalová, K. Hilscherová, B. Maršálek, L. Bláha. 2007. Ecotoxicity and genotoxicity assessment of cytostatic pharmaceuticals. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 26(10), 2208-2214.

EVALUACIÓN HIPOGLUCEMIANTE Y ANTIOXIDANTE *in vitro* DE LAS FRACCIONES CROMATOGRÁFICAS OBTENIDAS A PARTIR DE UN EXTRACTO ETANÓLICO DE *Agave durangensis* Gentry

Andrea López-Meraz^a, René Torres-Ricario^a, Siblie González-Rentería^b, Norma Almaraz-Abarca^a y José Antonio Ávila-Reyes^a

^a Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango, Sigma 119, Fraccionamiento 20 de Noviembre II, Durango, Dgo., 34220 México.

^b Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Juárez del Estado de Durango, Av. Veterinaria s/n. Circuito Universitario Col. Valle del sur, Durango, Dgo., 34120 México.

RESUMEN

La *Diabetes mellitus* es una enfermedad crónico-degenerativa de relevancia global. Los compuestos fenólicos, productos del metabolismo secundario, han demostrado poseer propiedades antioxidantes y actividad antidiabética a través de diversos mecanismos *in vivo* e *in vitro*. En este contexto, el género *Agave*, nativo del continente americano y particularmente abundante en México, ha sido ampliamente estudiado por su riqueza en compuestos fenólicos y su uso tradicional en el tratamiento de diversas enfermedades, incluida la *Diabetes mellitus*.

Este estudio se centró en *Agave durangensis* Gentry (1982), una especie de importancia económica por su uso en la producción de mezcal y por sus aplicaciones etnobotánicas. Se obtuvieron extractos crudos mediante extracción etanólica y se fraccionaron cromatográficamente utilizando disolventes de polaridad ascendente (hexano, acetato de etilo y etanol). Se obtuvieron 29 fracciones, de las cuales se analizaron las mayoritarias. Los polifenoles, incluidos ácidos fenólicos y flavonoides, se identificaron mediante cromatografía en capa fina y HPLC-DAD (Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia con Detección por Matriz de Diodos).

Las evaluaciones antioxidantes utilizando la prueba de ABTS+ (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato) revelaron actividad bloqueadora de radicales libres en las fracciones más polares. Asimismo, la prueba de poder reductor de hierro mostró actividad reductora en estas fracciones. La actividad hipoglucemiante se evaluó a través de la inhibición de las enzimas alfa amilasa y alfa glucosidasa. Los resultados indicaron que dos fracciones, presumiblemente compuestas por compuestos terpénicos y esteroidales, inhibieron más del 50% de la actividad de dichas enzimas. Estos hallazgos sugieren que *Agave durangensis* posee compuestos bioactivos con potencial farmacológico para el manejo de la *Diabetes mellitus*.

Palabras clave:

Diabetes mellitus;
compuestos fenólicos;
capacidad antioxidante;
alfa glucosidasa; alfa
amilasa

ABSTRACT

Diabetes mellitus is a chronic-degenerative disease of global relevance. Phenolic compounds, products of secondary metabolism, have been shown to possess antioxidant properties and antidiabetic activity through various mechanisms *in vivo* and *in vitro*. In this context, the genus *Agave*, native to the American continent and particularly abundant in Mexico, has been widely studied for its richness in phenolic compounds and its traditional use in the treatment of various diseases, including *Diabetes mellitus*.

This study focused on *Agave durangensis* Gentry (1982), a species of economic importance for its use in the production of mezcal and for its ethnobotanical applications. Crude extracts were obtained by ethanolic extraction and chromatographically fractionated using solvents of ascending polarity (hexane, ethyl acetate and ethanol). Twenty nine fractions were obtained, of which the majority were analyzed. Polyphenols, including phenolic acids and flavonoids, were identified by thin layer chromatography and HPLC-DAD (High Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection).

Antioxidant evaluations using the ABTS+ (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) test revealed free radical blocking activity in the most polar fractions. Likewise, the iron reducing power test showed activity reducing activity in these fractions. The hypoglycemic activity was evaluated through the inhibition of the enzymes alpha-amylase and alpha-glucosidase. The results indicated that two fractions, presumably composed of terpenic and steroidal compounds, inhibited more than 50% of the activity of these enzymes. These findings suggest that *Agave durangensis* has bioactive compounds with pharmacological potential for the management of *Diabetes mellitus*.

KEY WORDS

Diabetes mellitus;
Phenolic compounds;
antioxidant capacity;
alpha glucosidase;
alpha amylase

INTRODUCCIÓN

La *Diabetes mellitus* (DM) es una enfermedad crónico-degenerativa que se caracteriza por un incremento en los niveles séricos de glucosa, resultado de una insuficiente producción de insulina por el páncreas o de una incapacidad del organismo para utilizarla adecuadamente. En México, la prevalencia de DM ha mostrado un aumento significativo, registrándose en 2018 aproximadamente un 10.3% de la población mayor de 20 años con esta condición, en comparación con el 9.2% reportado en 2012 (CENETEC, 2019).

El tratamiento de la DM requiere una combinación de educación para el paciente, actividad física, dieta, y el uso de agentes hipoglucemiantes orales e insulina (NOM-015-SSA2-2007). Entre los agentes hipoglucemiantes orales más comúnmente utilizados se encuentran las sulfonilureas, biguanidas y tiazolidindionas, que, si bien controlan eficazmente la hiperglucemia, no logran suprimir las enfermedades crónicas asociadas con la DM y pueden presentar efectos secundarios significativos (Benhalima y Mathieu, 2009), citotoxicidad (Ansari y Ansari, 2006) y representar un alto costo económico a largo plazo (International Diabetes Federation, 2021).

El estrés oxidativo se define como un desequilibrio bioquímico entre la producción de radicales libres (RL) o especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés Reactive Oxygen Species) y los antioxidantes. Este desequilibrio afecta la homeostasis del organismo, causando daño a nivel celular, tisular y sistémico. La diabetes mellitus (DM) está directamente relacionada con una excesiva formación de radicales libres y una reducción del potencial antioxidante (Hernández *et al.*, 2006).

Varios mecanismos contribuyen al aumento del estrés oxidativo en la DM, incluyendo la autooxidación de la glucosa, la glicación de proteínas, la activación de la vía de los polioles y la disminución de las defensas antioxidantes como el glutatión (GSH), junto con enzimas y vitaminas antioxidantes. Además, hay un incremento del estrés nitrosante, lo que conlleva a un aumento del radical libre peroxinitrito, un potente oxidante de lípidos, proteínas y de la actividad de la proteína quinasa C (Ceriello, 2002; Koo y Vaziri, 2003; Pricci *et al.*, 2003; Cohen, 2005).

Investigaciones recientes sugieren que ciertos fitoquímicos, como los compuestos fenólicos, además de sus propiedades antioxidantes, poseen actividad antidiabética a través de mecanismos variados. Estos incluyen la estimulación de la secreción de insulina (Jayaprakasam *et al.*, 2005; Adisakwattana *et al.*, 2008), inhibición de transportadores de glucosa (Tiwari y Rao, 2002), inhibición de enzimas gluconeogénicas (Adisakwattana *et al.*, 2008), y la inhibición de enzimas digestivas como la α -amilasa, α -glucosidasa y sacarasa (Tiwari y Rao, 2002; Mcue y Shetty, 2004; Burguieres *et al.*, 2008).

Históricamente, el *Agave* ha sido utilizado empíricamente para tratar diversas enfermedades, incluida la *Diabetes mellitus*. Estudios recientes han revelado que el extracto de *Agave* contiene metabolitos secundarios como saponinas esteroideas, glucósidos, compuestos fenólicos y flavonoides, los cuales aportan múltiples beneficios para la salud

(Hackman *et al.*, 2006; Almaraz *et al.*, 2009; Barriada-Bernal *et al.*, 2014). Diversas investigaciones han demostrado que estos metabolitos poseen efectos citotóxicos, antiinflamatorios y antidiabéticos tanto *in vitro* como *in vivo* (Kato *et al.*, 1995; Da Silva *et al.*, 2002; Birbal, 2003; Ohtsuki *et al.*, 2004; Hackman *et al.*, 2006; Gutiérrez-Urbe *et al.*, 2013; García *et al.*, 2009; Yokosuka y Mimaki, 2009).

En este estudio, las propiedades hipoglucemiantes y antioxidantes de las fracciones de extracto foliar de *Agave durangensis* obtenidas a partir de una separación en cromatografía en columna, fueron analizadas *in vitro* mediante las técnicas de ABTS+ (ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) y poder reductor de fierro, así como la inhibición de las enzimas alfa amilasa y alfa glucosidasa.

MATERIALES Y METODOS

Material vegetal

Se colectaron muestras juveniles de *Agave durangensis* ubicadas en el Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Instituto Politécnico Nacional, Unidad Durango. El material vegetal se lavó con agua destilada y se seleccionaron las pencas que se encontraron en buen estado, frescas y libres de plaga. Una vez limpias, fueron cortadas en trozos pequeños y posteriormente deshidratadas en una estufa a una temperatura de 45 °C, posteriormente fueron pulverizadas con una licuadora industrial Torrey LM-12 de volteo, hasta que solo quedara un polvo conformado de partículas de tamaño homogéneo.

Preparación de extracto

Para la preparación del extracto de *A. durangensis* (EAd) se pesó el polvo de las hojas y se procedió a macerar en etanol (80 % v/v) utilizando 1000 mL por cada 100 g de hojas; se colocaron en vasos de precipitados y se mantuvieron en agitación constante por 24 h. Posterior a ello se procedió a evaporar y concentrar el extracto en un rotavapor a 40 °C,

finalizando el proceso se recuperó el disolvente y se colocó el extracto en un frasco donde se dejó que terminara de secar para poder determinar el peso del extracto obtenido. Este fue almacenado a 4 °C en frascos ámbar hasta su uso en diferentes experimentos.

Separación cromatográfica del Extracto de *Agave durangensis*

Se lavó bien la columna de vidrio y se dio una última enjuagada con agua destilada y se dejó secar. Se colocó la columna a un soporte universal utilizando unas pinzas para soporte. Ya montada la columna se introdujo un algodón en forma de disco hasta el fondo de la columna, evitando obstruir el cuello donde se coloca la llave, después se colocaron dos capas de papel filtro en forma de disco. Para verter la sílica se debe de hidratar con el solvente con el cual comenzaremos a trabajar que en este caso fue Hexano, así que se colocó en un vaso de precipitado el hexano y la sílica y se fue vertiendo poco a poco mezclando continuamente. A partir de aquí no se debe dejar que se seque la sílica ya que esto puede causar rupturas, canales o burbujas en el empaquetado. Se añadieron 400g de sílica mezclada con aproximadamente 700 mL de hexano. En otro vaso de precipitado se mezcló 10% de arena sílice con 40 g de extracto hasta tener una mezcla homogénea. Esta mezcla se vertió por encima de la sílice ya colocada anteriormente. Posteriormente se colocaron otras dos capas de papel filtro y un algodón en forma de disco y se terminó de llenar la columna con hexano procurando no perturbar la superficie de la columna. Se empezó a correr la columna recolectando volúmenes de 200 mL y estos se concentraron en rotavapor Buchi. Mientras se corrió la columna se fue cambiando el gradiente de polaridad del eluyente de menor a mayor polaridad (hexano- acetato de etilo-etanol). Cada fracción se fue evaluando mediante CCF (Arias-González *et al.*, 2018).

Evaluación de capacidad antioxidante total ABTS+ de las fracciones mayoritarias del Extracto de *Agave durangensis* Gentry

Se usó la metodología descrita por Kuskoski *et al.* (2005), con modificaciones. El radical se obtuvo tras la reacción del ABTS+ (ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (7 mM) en buffer acetato de sodio 20 mM (pH 4.5) y persulfato de potasio (2,45 mM, concentración final) incubados a temperatura ambiente (24 ± 2 °C) y bajo oscuridad por 16 h y diluido en el mismo buffer hasta obtener una absorbancia de 0.70 (± 0.02) a 734 nm. La solución stock se mantiene estable a 4 °C por varias semanas y la dilución hasta por 72 h (Ozgen *et al.*, 2006). Se tomaron 10 μ L de las muestras a diferentes concentraciones las cuales se combinaron con 200 mL de la solución del buffer con el radical. Se dejaron reposando durante 6 minutos en oscuridad para hacer reacción y posteriormente se leyeron a 734 nm, se usó etanol absoluto como blanco. El control se preparó en las condiciones descritas previamente, sustituyendo el extracto por un volumen igual de etanol al 80 % (v/v). Los datos de los porcentajes de la capacidad bloqueadora de ABTS+ de las fracciones se graficaron y se analizaron mediante la prueba de comparación de medias de Tukey mediante los softwares Sigma Plot 11.0 y GraphPad 8 Prism.

Ensayo de poder Reductor Férrico de las fracciones mayoritarias del Extracto de *Agave durangensis* Gentry

Este ensayo se evaluó siguiendo el protocolo elaborado por Siddhuraju y Becker (2003) con algunas modificaciones. Para esto se adicionaron 250 μ L de cada muestra a diferentes concentraciones, después se añadieron 250 μ L de buffer de fosfatos (0.2 M, pH 6.6) y 250 μ L de ferrocianuro de potasio (0.1 % w/v). La mezcla se incubó durante 20 min a 50 °C., se añadieron 250 μ L de ácido tricloroacético (10 % w/v) y se

centrifugó a 2800 rpm durante 10 min a 25 °C. Se recuperaron las alícuotas del sobrenadante (aproximadamente 500 µL) que se mezclaron con agua desionizada y 100 µL de cloruro férrico (0.1 % w/v); la absorbancia se registró a 700 nm. Una mayor absorbancia de la mezcla de reacción indico un mayor poder reductor. Los datos de la capacidad reductora de las fracciones se graficaron y se analizaron mediante la prueba de comparación de medias de Tukey.

Inhibición *in vitro* de la α-amilasa de las fracciones mayoritarias del Extracto de *Agave durangensis* Gentry

La evaluación de la capacidad de las fracciones del EAd para inhibir la actividad de la enzima α-amilasa se realizó siguiendo el protocolo propuesto por Hua-Qiang *et al.* (2012) con modificaciones. Se tomaron 200 µL de la enzima α-amilasa pancreática (1 U/mL) y 40 µL de muestra fueron mezcladas e incubadas a 25 °C por 10 min. Posteriormente se añadió 400 µL de sustrato, se incubó por 37 °C durante 20 min. Después se añadieron 500 µL de DNS (ácido 3,5-dinitrobenzoico), la mezcla se puso a hervir por 5 min, se dejó enfriar y se leyó a una absorbancia de 540 nm. El porcentaje de inhibición se calculó mediante la siguiente formula:

$$\text{Porcentaje de Inhibición (\%)} = \frac{Ac - As}{Ac} \times 100$$

Donde As es la absorbancia de la solución cuando se agregó la muestra y Ac es la absorbancia del control. Los datos de los porcentajes de la capacidad inhibitoria de α-amilasa de las fracciones se graficaron y se analizaron mediante la prueba de comparación de medias de Tukey.

Inhibición *in vitro* de α-glucosidasa de las fracciones mayoritarias del Extracto de *Agave durangensis* Gentry

La evaluación de la capacidad de las fracciones del EAd para inhibir la actividad de la enzima α-glucosidasa se realizó siguiendo el protocolo propuesto por Kim *et al.* (2010) con

modificaciones. Se tomaron 50 µL de la enzima α-glucosidasa de *Saccharomyces cerevisiae* (50 µL, 2 U/mL), 50 µL de muestra y 50 µL de buffer PBS (Solución amortiguadora fosfato de potasio) (0.2 M, pH 6.8) fueron mezcladas e incubadas a 37 °C por 15 min. Posteriormente se añadieron 100 µL de sustrato pNPG (p-nitrofenil-β-D-glucopiranosido) y se incubó por 37 °C durante 10 minutos. Finalmente se leyeron las muestras en un Multiskan Go de Thermo Scientific®, a una absorbancia de 405 nm. El blanco se preparó sustituyendo el extracto por etanol al 40 % (v/v). El porcentaje de inhibición se calculó mediante la siguiente formula:

$$\text{Porcentaje de Inhibición (\%)} = \frac{Ac - As}{Ac} \times 100$$

Donde As es la absorbancia de la solución cuando se agregó la muestra y Ac es la absorbancia del control. Los datos de los porcentajes de la capacidad inhibitoria de α-glucosidasa de las fracciones se graficaron y se analizaron mediante la prueba de comparación de medias de Tukey.

Análisis de Datos

Todos los análisis se llevaron a cabo por triplicado y las variables analizadas fueron la actividad antioxidante (Poder reductor de Fierro y ABTS+) y el porcentaje de inhibición enzimática (α-glucosidasa y α-amilasa) los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) de una vía haciendo uso del programa estadístico Sigma Plot 11.0 y GraphPAD Prism 8. Las medias se compararon con la prueba de comparación de medias de Tukey, el nivel de significancia de error fue $p < 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Rendimiento de extracción

El rendimiento de extracción obtenido con etanol (80 % v/v) de *Agave durangensis* fue de 1.52%, esto con 4,850 g de tejido foliar. La selección del solvente es muy importante para la extracción, según Hayouni *et al.* (2007), los extractos obtenidos de solventes de alta polaridad son más efectivos combatiendo los radicales libres que aquellos que son obtenidos

usando un solvente de menor polaridad. Los compuestos fenólicos son antioxidantes con propiedades redox lo que les permite actuar como agentes reductores y donadores de hidrogeno (Pietta, 2000). Es por esto por lo que se eligió etanol como solvente de extracción, el rendimiento depende del disolvente y el método de extracción (Goli et al., 2004). El método de extracción debe permitir la extracción completa de los compuestos de interés y debe evitar su modificación química (Zuo et al., 2002).

Separación en cromatografía en columna del Extracto de *Agave durangensis* Gentry y determinación de metabolitos secundarios por cromatografía de papel

Se hicieron pasar por columna cromatográfica 40 g de EAd para la separación de compuestos (fraccionamiento) utilizando diferentes solventes como eluentes (hexano, acetato de etilo y etanol) las mezclas de los solventes empleados se presentan en la tabla 1.

Los eluatos colectados se fueron juntando siempre y cuando su perfil en cromatografía de capa fina fuera similar, así de 587 eluatos colectados se obtuvieron 29 fracciones de la columna. De las 29 fracciones colectadas fueron seleccionadas las fracciones que se encontraban en mayor cantidad para realizar las pruebas enzimáticas y antioxidantes, siendo estas la F7, F8, F9, F10, F11, F19, F20, F21, F24, F25, F26, F27 y F28.

Sin embargo, algunas de las muestras no se diluyeron correctamente y, en algunas de estas muestras quedaron partículas sin disolver. Esto llevo a que algunos resultados de la lectura de las absorbancias se vieran alterados, por lo que al hacer el análisis estadístico se optó por depurar los datos y dejar los datos de aquellas muestras que tenían acción antioxidante o inhibición enzimática y, a su vez se mantenían estables las lecturas de los triplicados.

Sipel et al. (2013) realizaron un estudio para ver si la dilución de la muestra influenciaba la capacidad antioxidante de estas mediante diferentes ensayos de actividad antioxidante incluyendo poder de fierro reductor y ABTS+.

Sus resultados indicaron que la actividad antioxidante registrada de las muestras de extractos comestibles podía depender significativamente de la dilución de la muestra en todos los ensayos realizados a excepción de poder de fierro reductor.

Por otro lado, Lankatillake et al. (2021), en un estudio realizado para ver el potencial de inhibición de extractos naturales de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa, concluyeron que el blanco es sumamente importante para determinar si la variación de los resultados finales puede estar sobreestimados o subestimados. También mencionan que no tener en cuenta las interferencias debido al color de los extractos de productos naturales, puede resultar en valores de actividad enzimática engañosamente altos o bajos.

Determinación de los compuestos fenólicos del Extracto de *Agave durangensis* Gentry

Como se puede ver en la tabla 2, encontró presencia de compuestos fenólicos en el 41 % de las muestras de fracciones del EAd analizadas con la técnica de cromatografía en papel. En las muestras F10 (90 % hexano – 10 % acetato de etilo), F11 (80 % hexano - 20 % acetato de etilo) y F19 (70 % hexano – 30 % acetato de etilo), se encontró la presencia tanto de Xatonas, flavonoles, taninos y ácidos fenólicos. Esto puede deberse a que, a pesar de que estas fracciones fueron obtenidas por hexano y acetato de etilo, la extracción del EAd se realizó con etanol. Lezoul et al. (2020) en un estudio en el que probaron distintos métodos de extracción para recuperar compuestos bioactivos de plantas medicinales, mencionaron que la maceración con etanol fue una técnica exitosa para extraer flavonoides, especialmente de las hojas de los géneros *Passiflora* y *Solanum*. También, revelaron la dificultad de determinar un único proceso de extracción adecuado para todas las diferentes plantas, mostrando diferencias significativas entre las especies que estudiaron, y, sugieren que se deben abordar más investigaciones para dilucidar que proceso de extracción es el adecuado para recuperar determinados compuestos individuales.

En cuanto a los estudios realizados para identificar compuestos fenólicos en *A. durangensis* hay tan solo un par; Almaraz *et al.* (2009) reportaron veintitrés flavonoides en tejidos foliares adultos de un extracto metanólico 60 % (v/v) de *A. durangensis*, todos estos glicósidos de flavonol, la mayoría de ellos siendo derivados de kaempferol. Estos mismos también reportaron tres glicósidos de kaempferol como componentes únicos del perfil fenólico de *A. aspérrima*.

Así mismo, Barriada-Bernal *et al.* (2014) evaluaron el perfil de flavonoides de un extracto etanólico 60% (v/v) de flores de *A. durangensis* y encontraron la presencia de cinco glucósidos de quercetina y tres glucósidos de kaempferol y mencionan que el perfil particular de flavonol en los extractos, es una característica relevante para determinar las propiedades antioxidantes, y además la composición de flavonoides en extractos de plantas revela la diversidad, la abundancia y la distribución de esos compuestos importantes en el reino vegetal.

Evaluación de capacidad antioxidante total ABTS+ de las fracciones mayoritarias del Extracto de *Agave durangensis* Gentry

La capacidad bloqueadora del radical catión ABTS+ de las diferentes fracciones de EAd presento diferencias significativas ($p < 0.05$) determinadas por el tipo de solvente utilizado en la separación, ya que como se puede ver en la Tabla 3 los mayores porcentajes de inhibición se observaron en las fracciones obtenidas con un mayor porcentaje de etanol, lo cual podría deberse a un mayor contenido de compuestos fenólicos en estas fracciones.

Estos resultados muestran que la fracción con más actividad antioxidante fue la F26 la cual alcanzo casi el 80 % de capacidad bloqueadora del radical ABTS+ a una concentración de 10 mg/mL. Esto coincide con lo mencionado por Hayouni *et al.* (2007) ya que los extractos obtenidos de solventes de alta polaridad son más

efectivos combatiendo los radicales libres que aquellos que son obtenidos usando un solvente de menor polaridad, esto gracias a los compuestos antioxidantes extraídos, y, como tal nos indican los resultados, las fracciones que tuvieron más acción antioxidante fueron fracciones obtenidas por las mezclas constituidas mayormente por etanol en la cromatografía en columna.

Ensayo de poder Reductor Férrico de las fracciones mayoritarias del Extracto de *Agave durangensis* Gentry

Los resultados del poder reductor de fierro tuvieron la misma tendencia que la capacidad bloqueadora de ABTS+ ya que destacaron las fracciones más polares. Las absorbancias de las fracciones registradas a 700 nm a una concentración de 5 mg/mL se muestran en la Tabla 4. Se considero el aumento de la absorbancia como indicador del poder reductor de las fracciones. El valor más alto correspondió a la F24 ($A_{700} 1.053 \pm 0.0499$).

Estos resultados son consistentes con el estudio realizado por Barriada-Bernal *et al.* (2014), donde se encontró una fuerte correlación entre los flavonoides y su capacidad reductora de iones Fe^{+3} en extractos de *A. durangensis*. Contrariamente a nuestros resultados, Puente-Garza *et al.* (2017) no encontraron una correlación entre los contenidos fenólicos y la capacidad antioxidante; en cambio, se encontró que las saponinas estaban significativamente correlacionadas con la capacidad antioxidante de los extractos de *Agave salmiana*. Las saponinas exhiben actividad biológica con potenciales beneficios para la salud, los cuales varían según la sapogenina, los azúcares unidos y su concentración en la planta. Muchas plantas medicinales se consideran ricas en saponinas y se exploran como posibles fuentes para el desarrollo de medicamentos con aplicaciones médicas (Tanaka *et al.*, 1996; Matsuura 2001; Kerwin, 2004).

Evaluación Enzimática α -glucosidasa de las fracciones mayoritarias del Extracto de *Agave durangensis* Gentry

En cuanto a la inhibición de la enzima α -glucosidasa solo la F20 alcanzo a inhibir más del 50 % de la actividad de esta enzima como se puede ver en la Tabla 5.

Ya se ha reportado la inhibición de estas enzimas con anterioridad, por ejemplo, Cerda-de los Santos (2011) evaluó diferentes jarabes de *Agave* y encontró que los extractos metanólicos fueron los que tuvieron más actividad inhibitoria de α -glucosidasa. El compuesto fenólico más predominante encontrado en los cromatogramas del extracto metanólico del jarabe presumiblemente se trata de 5,7-dihidroxi-4'-metoxi homoisoflavona, el cual posee una dihiroxiquinona que podría relacionarse con la reducción de la actividad de las enzimas invertasa y amiloglucosidasa de liberar glucosa de los controles. De acuerdo con lo anterior, se sugiere que el efecto antidiabético de ese extracto posiblemente corresponde a la actividad sinérgica de moléculas hidroxiflavonas presentes en el extracto obtenido con la mezcla de metanol y acetato de etilo.

En contraste, Galindo-Vargas (2022) evaluó la actividad inhibitoria de esta misma enzima, pero con extracto de *Agave potatorum* y se encontró que solo hubo actividad inhibitoria con los extractos de Hexano y Acetato de etilo y menciona que los compuestos potencialmente responsables de esta inhibición son compuestos terpénicos y esteroidales, lo que coincide con los resultados obtenidos en este estudio ya que como ya se mencionó, la única fracción que tuvo acción inhibitoria fue la F20, la cual fue recuperada con una mezcla mayormente compuesta por Hexano (50 % hexano-50 % acetato de etilo). No se realizaron estudios para ver si había presencia de compuestos terpénicos y esteroidales en las fracciones analizadas de este trabajo. Sin embargo, ya se han realizado estudios en los que se corrobora la presencia de estos compuestos en diferentes especies de

Agave. Camacho-Campos *et al.* (2020) evaluaron la composición fitoquímica de extractos etanólicos de hojas de *A. americana* y *A. angustifolia* encontrando presencia tanto de compuestos esteroidales como de terpenos en ambos extractos. Se recomienda la evaluación de la presencia de estos compuestos en el *A. durangensis* en futuras investigaciones para determinar su eficacia comparativa y su posible utilidad terapéutica.

Evaluación Enzimática α -amilasa de las fracciones mayoritarias del Extracto de *Agave durangensis* Gentry

Como se puede observar en la Tabla 6, en la evaluación de la inhibición de la enzima α -amilasa solo la F7 (90 % hexano- 10 % acetato de etilo) alcanzo el 50% de inhibición. Este comportamiento es totalmente contrario al observado en las pruebas antioxidantes, donde las fracciones más polares fueron las que más actividad antioxidante y reductora tuvieron. Esta prueba siguió una tendencia más parecida a la reportada por la enzima α -glucosidasa donde la fracción que logro inhibir más del 50% de la actividad enzimática esta probablemente compuesta de derivados de compuestos terpénicos y esteroidales más que de compuestos fenólicos.

En comparación Mendoza y Medina (2015) realizaron un ensayo de inhibición de alfa amilasa con fracciones de extractos etanólicos de hojas de Yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl) y en las fracciones eluidas con Amberlita XAD-2 obtuvieron porcentajes de inhibición mayores al 40 % sin embargo, no observaron correlación entre la actividad inhibitoria de α -amilasa y el contenido de flavonoides totales. Li *et al.* (2009), registraron un aumento en la actividad de la inhibición de α -glucosidasa de flavonas que presentan un grupo hidroxilo libre en el C-3 del anillo B, mientras que C-glucosilaciones en las posiciones C-6 o C-8 del anillo A debilitan la actividad inhibitoria.

Como ya se ha comentado hacen falta más estudios respecto a la relación de estructura-actividad entre los compuestos y las enzimas, ya que la actividad inhibitoria de las enzimas se ve influenciada por factores como la cantidad y ubicación de los grupos hidroxilo en los ácidos fenólicos, el peso molecular de los polisacáridos, y los niveles de acetilación y metilación (Gong *et al.*, 2020).

Es importante destacar que la ligera inhibición de la actividad de α -amilasa por los extractos analizados no debería descartar su valor. Según se explicó previamente, una estrategia efectiva para controlar la liberación de glucosa de los disacáridos en el intestino implica una inhibición moderada de la amilasa junto con una fuerte inhibición de la glucosidasa (Ercan y El, 2016). Los inhibidores potentes de la amilasa pueden causar problemas intestinales al fermentar anormalmente los carbohidratos no digeridos en el colon (Ercan y El, 2016; Nagmoti y Juvekar, 2013). Por lo tanto, es plausible que la inhibición moderada de las fracciones contra la amilasa pueda ser beneficiosa si también muestran una fuerte inhibición de la glucosidasa. Se requieren estudios adicionales para investigar cómo afectan las fracciones la actividad de estas enzimas y evaluar su potencial real contra la digestión y absorción de carbohidratos.

El potencial inhibitorio de los extractos de jarabe de agave sobre las enzimas digestivas α -glucosidasa y α -amilasa no fue contrastado con tratamientos antidiabéticos convencionales como acarbosa o miglitol en pacientes diabéticos. Por ende, se recomienda su evaluación en futuras investigaciones para determinar su eficacia comparativa y su posible utilidad terapéutica.

CONCLUSIONES

Los resultados de esta investigación brindaron información importante sobre las

fracciones del extracto etanólico de *Agave durangensis*, así mismo se corroboró la propiedad antioxidante y se comprobó la actividad enzimática presente en esta especie. En cuanto a los resultados encontrados en la prueba de HPLC-DAD mostraron la presencia de compuestos fenólicos como ácidos fenólicos y flavonoides. Además, este extracto etanólico parece tener relevante capacidad antioxidante ya que los compuestos presentes en este extracto sirvieron como bloqueadores de radicales libres y así mismo como reductores de metales de transición, esta actividad esta puede estar relacionada con la composición fenólica de esta especie. Así mismo, dos de las fracciones de este extracto que posiblemente están constituidas por compuestos terpénicos y esteroidales tuvieron actividad inhibitoria de la enzima α -glucosidasa y α -amilasa.

El conocimiento generado a partir de este estudio podría contribuir al aprovechamiento de compuestos del metabolismo secundario de las plantas, conocer y comprender la sinergia de estos compuestos para contrarrestar los problemas de salud derivados de la DM al tener actividad antioxidante y al inhibir la enzima α -glucosidasa, esto motiva a continuar con la caracterización de los metabolitos secundarios presentes en *A. durangensis* para la generación de nuevas alternativas farmacológicas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Instituto Politécnico Nacional y al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Instituto Politécnico Nacional, Unidad Durango, así como al Consejo Nacional de Ciencia, Humanidades y Tecnología por la beca a uno de los autores, y a los revisores, quienes hicieron sugerencias que ciertamente mejoraron la calidad del manuscrito.

Tabla 1_ Relación de solventes usados en separación cromatográfica y fracciones recuperadas

<i>Relación de Solventes</i>				
<i>Hexano</i>	<i>Acetato de Etilo</i>	<i>Etanol</i>	<i>Clave de Relación</i>	<i>Fracciones recuperadas</i>
100			A1	F1, F2, F3, F4, F5
90	10		A2	F6, F7, F8, F9, F10
80	20		A3	F11, F12, F13, F14, F15, F16
70	30		A4	F17, F18, F19
60	40		A5	F19
50	50		A6	F20
40	60		A7	F21
30	70		A8	F21
20	80		A9	F22
10	90		B1	F22
	100		B2	F22
	90	10	B3	F22, F23, F24, F25
	80	20	B4	F26
	60	40	B5	F26
	40	60	B6	F27
	20	80	B7	F27, F28
		100	B8	F29

Tabla 2_ Resultados de HPLC-DAD

<i>Fracción</i>	<i>Clave de Relación de Solventes</i>	<i>Compuesto asociado</i>	<i>TR (min)</i>	<i>max (nm)</i>
F19	A4	Ácido fenólico	11.266	239sh, 296sh, 323nm
F21	A7	Acido fenólico	4.804	293sh, 308 nm
F25	B3	Flavonoide	4.561	265, 290sh, 320sh, 346nm
F26	B4 y B5	Flavonoide	4.561	269, 292sh
F29	B8	Flavonoide	4.683	279, 295sh

No se identificaron compuestos en las fracciones F6, F7, F8, F9, F10, F11, F12, F13, F14, F15, F16, F17, F18, F20, F22, F23, F24, F27 y F28. TR: Tiempo de Retención; nm: nanómetros; sh: shadow; A4= Hexano 70 % - Acetato de Etilo 30 %; A7 = Hexano 40 % - Acetato de Etilo 60 %; B3 = Acetato de Etilo 90 % - Etanol 10 %; B4 = Acetato de Etilo 80 % - Etanol 20 %; B5 = Acetato de Etilo 60 % - Etanol 40 %; B8 = Etanol 100 %

Tabla 3_ Porcentaje de capacidad antioxidante ABTS

Fracciones	Media	Desviación Estándar	Grupo	Clave de Relación de Solventes
F26	71.341	3.485	a	B4 y B5
F24	60.404	5.955	a	B3
F28	50.348	4.563	ab	B7
F27	40.519	5.723	ab	B6 y B7
F10	29.882	3.075	ab	A2
F25	24.482	1.946	b	B3
F7	16.664	5.785	b	A2
F21	12.547	2.047	b	A7 y A8
F8	11.567	6.09	b	A2
F11	11.278	3.914	b	A3
F19	10.001	1.074	b	A5
F9	8.497	2.517	b	A2

A2 = Hexano 90 % - Acetato de Etilo 10 %; **A3** = Hexano 80 % - Acetato de Etilo 20 %; **A5** = Hexano 60 % - Acetato de Etilo 40 %; **A7** = Hexano 40 % - Acetato de Etilo 60 %; **A8** = Hexano 30 % - Acetato de Etilo 70 %; **B3** = Acetato de Etilo 90 % - Etanol 10 %; **B4** = Acetato de Etilo 80 % - Etanol 20 %; **B5** = Acetato de Etilo 60 % - Etanol 40 %; **B6** = Acetato de Etilo 40 % - Etanol 60 %; **B7** = Acetato de Etilo 20 % - Etanol 80 %; Las letras de los diferentes en cada fracción representan si hubo diferencias significativas $p < 0.05$

Tabla 4_ Resultados de ensayo de poder reductor férrico

Fracciones	Media	Desviación estándar	Grupo	Clave de Relación de Solventes
F24	1.053	0.0499	a	B3
EAd	0.897	0.0234	b	
F25	0.815	0.0559	b	B3
F28	0.672	0.0531	bc	B7
F11	0.643	0.00586	bc	A3
F26	0.625	0.0491	bc	B4
F20	0.4	0.0309	c	A6
F21	0.331	0.0206	c	A7 y A8
F19	0.275	0.00493	c	A5
F10	0.197	0.0155	c	A2
F9	0.193	0.00551	c	A2
F27	0.183	0.0168	c	B6
F8	0.144	0.00862	c	A2
F7	0.079	0.0131	c	A2

A2 = Hexano 90 % - Acetato de Etilo 10 %; **A3** = Hexano 80 % - Acetato de Etilo 20 %; **A5** = Hexano 60 % - Acetato de Etilo 40 %; **A7** = Hexano 40 % - Acetato de Etilo 60 %; **A8** = Hexano 30 % - Acetato de Etilo 70 %; **B3** = Acetato de Etilo 90 % - Etanol 10 %; **B4** = Acetato de Etilo 80 % - Etanol 20 %; **B6** = Acetato de Etilo 40 % - Etanol 60 %; **B7** = Acetato de Etilo 20 % - Etanol 80 %; Las letras de los diferentes en cada fracción representan si hubo diferencias significativas $p < 0.05$

Tabla 5_ Resultados de la inhibición de α -glucosidasa

Fracciones	Media	Desviación estándar	Grupo	Clave de relación de solventes
F20	78.86	0.105	a	A6
F21	29.334	2.949	b	A7
F10	26.506	4.998	b	A2
F9	23.731	4.654	b	A2
F28	13.534	3.008	bc	B7
F8	10.907	7.467	bc	A2
F27	10.122	5.651	bc	B6 y B7

A2 = Hexano 90 % - Acetato de Etilo 10 %; **A6** = Hexano 50 % - Acetato de Etilo 50 %; **A7** = Hexano 40 % - Acetato de Etilo 60 %; **B6** = Acetato de Etilo 40 % - Etanol 60 %; **B7** = Acetato de Etilo 20 % - Etanol 80 %; Las letras de los diferentes en cada fracción representan si hubo diferencias significativas $p < 0.05$

Tabla 6_ Resultados de inhibición de α -amilasa

Fracciones	Media	Desviación estándar	Grupos	Clave de relación de Solventes
F7	50.528	5.016	a	A2
F9	13.953	3.26	b	A2
F10	9.507	4.902	b	A2

A2 = hexano 90 % - acetato de Etilo 10 %; Las letras de los diferentes en cada fracción representan si hubo diferencias significativas $p < 0.05$

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adisakwattana, S.; Moonsan, P. y Yibchok-Anun, S. 2008. Insulin releasing properties of a Series of cinnamic acid derivatives in vitro and in vivo. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56:7838-7844.
- Almaraz-Abarca, N., Delgado-Alvarado, E. A., Hernández-Vargas, V., Ortega-Chávez, M., Orea-Lara, G., Leon, A. C. D. & Muniz-Martinez, R. 2009. Profiling of phenolic compounds of somatic and reproductive tissues of *Agave durangensis* Gentry (Agavaceae). *American Journal of Applied Sciences*, 6(6), 1076.
- Ansar, M.M. y Ansari, M. 2006. Nitric oxide involvement in pancreatic cell apoptosis by glibenclamide. *Nitric Oxide, Biology and Chemistry*. 14:39-44.
- Arias-González, I., García-Carrancá, A. M., Cornejo-Garrido, J., & Ordaz-Pichardo, C. (2018). Cytotoxic effect of *Kalanchoe flammula* and induction of intrinsic mitochondrial apoptotic signaling in prostate cancer cells. *Journal of ethnopharmacology*, 222, 133-147
- Barriada-Bernal, L. G., Almaraz-Abarca, N., Delgado-Alvarado, E. A., Gallardo-Velázquez, T., Ávila-Reyes, J. A., Torres-Morán, M. I., and Herrera-Arrieta, Y. 2014. Flavonoid composition and antioxidant capacity of the edible flowers of *Agave durangensis* (Agavaceae). *CyTA-Journal of Food*, 12(2), 105-114.
- Benhalima, K., & Mathieu, C. 2009. Challenges in the management of hyperglycaemia in type 2 diabetes. *IDF Diabetes Atlas*, 1-7.
- Birbal, S.; Tej, K. y Bhupinder, S. 2003. Potential Therapeutic Applications of Some Antinutritional Plant. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51:5579-5597.
- Burguières, E.; McCue, P.; Kwon, Y-I. y Shetty, K. 2008. Health-related functionality of phenolic-enriched pea sprouts in relation to diabetes and hypertension management. *Journal of Food biochemistry*. 32:3-14.
- Camacho-Campos, C., Pérez-Hernández, Y., Valdivia-Ávila, A., Rubio-Fontanills, Y., & Fuentes-Alfonso, L. 2020. Evaluación fitoquímica, antibacteriana y molusquicida de extractos de hojas de *Agave* spp. *Revista Cubana de Química*, 32(3), 390-405.
- CENETEC. 2019. Prevención, diagnóstico, tratamiento inicial, metas de control ambulatorio y referencia oportuna de la diabetes mellitus tipo 2 en el primer nivel de atención. Guía de Evidencias y Recomendaciones. Guía de Práctica Clínica. <https://cenetec-difusion.com/gpc-sns/?p=673>
- Cerda de los Santos, K. L. 2011. Evaluación del contenido de fenólicos, actividad antioxidante y efectos antidiabéticos de extractos de jarabes de agave (*A. atrovirens* Karw).
- Ceriello, A. 2002. Nitrotyrosine: new findings as a marker of postprandial oxidative stress. *International journal of clinical practice*. Supplement, (129), 51-58.
- Cohen, R. A. 2005. Role of nitric oxide in diabetic complications. *American journal of therapeutics*, 12(6), 499-502.
- Da Silva, B.; De Sousa, A.; Silva, G.; Mendes, T. y Parente, J. 2002. A new bioactive steroidal saponin from *Agave attenuate*. *Zeitschrift für naturforschung*. 57c: 423-428.
- Ercan, P., & El, S. N. 2016. Inhibitory effects of chickpea and *Tribulus terrestris* on lipase, α -amylase and α -glucosidase. *Food Chemistry*, 205, 163-169.
- Galindo-Vargas, N. 2022. Identificación de metabolitos secundarios con actividad inhibitoria de α -glucosidasa en extractos de hojas de *Agave potatorum* Zucc.
- Goli, A. H., Barzegar, M., & Sahari, M. A. 2004. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chemistry*, 92, 521-525

- Gong, L., Feng, D., Wang, T., Ren, Y., Liu, Y., & Wang, J. 2020. Inhibitors of α -amylase and α -glucosidase: Potential linkage for whole cereal foods on prevention of hyperglycemia. Food science & nutrition, 8(12), 6320-6337.
- Gutierrez-Urbe, J. A., & Serna-Saldivar, S. 2013. U.S. Patent No. 8,470,858. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office. Gutiérrez, J.; Serna, S. y Ozuna, A. V. 2007. Agave Syrup extract having anticancer activity. MX/A/2007/01470, US/20090124685 (Patente en trámite).
- Hackman, D.A.; Giese, N.; Markowitz, J.S.; McLean, A.; Ottariano, S. G.; Tonelli, Ch.; Weissner, W.; Welch, Sh. y Ulbricht, C. 2006. *Agave (Agave americana)*: an evidence-based systematic review by the Natural Standard Research Collaboration. Journal of Herbal Pharmacotherapy, 6(2):101-122.
- Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouis, M., Hamdi, M. 2007. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities *in vitro* of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. Food Chemistry, 105:1126-1134
- Hernández, C., Armas Castillo, D., Marquetty Hernández, A., Lemani Pérez, M., Márquez, I., Díaz Arce, D., & Companioni Gázquez, M. (2006). Disminución de la capacidad antioxidante en niños y adolescentes diabéticos. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas, 25(2), 0-0.
- International Diabetes Federation. (2021). IDF Diabetes Atlas 10th edition. www.diabetesatlas.org
- Jayaprakasam, B., Vareed, S. K., Olson, L. K., & Nair, M. G. 2005. Insulin secretion by bioactive anthocyanins and anthocyanidins present in fruits. Journal of agricultural and food chemistry, 53(1), 28-31.
- Kato, A.; Miura, T. y Fukunaga, T. 1995. Effects of steroidal glycosides on blood glucose in normal and diabetic mice. Chemical Pharmacologic Bulletin. 1 (1):167-168.
- Kerwin, S. 2004. Soy Saponins and the Anticancer Effects of Soybeans and Soy-Based Foods. Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents 4 (3):263-272.
- Kim, J. S., Kwon, Y. S., Chun, W. J., Kim, T. Y., Sun, J., Yu, C. Y., & Kim, M. J. 2010. Rhus verniciflua Stokes flavonoid extracts have anti-oxidant, anti-microbial and α -glucosidase inhibitory effect. Food chemistry, 120(2), 539-543.
- Koo, J. R., & Vaziri, N. D. 2003. Effects of diabetes, insulin and antioxidants on NO synthase abundance and NO interaction with reactive oxygen species. Kidney international, 63(1), 195-201.
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., & Fett, R. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Food Science and Technology, 25, 726-732.
- Lankatillake, C., Luo, S., Flavel, M., Lenon, G. B., Gill, H., Huynh, T., & Dias, D. A. 2021. Screening natural product extracts for potential enzyme inhibitors: Protocols, and the standardisation of the usage of blanks in α -amylase, α -glucosidase and lipase assays. Plant Methods, 17, 1-19.
- Lezoul, N. E. H., Belkadi, M., Habibi, F., & Guillén, F. 2020. Extraction processes with several solvents on total bioactive compounds in different organs of three medicinal plants. Molecules, 25(20), 4672.
- Li, H., Song, F., Xing, J., Tsao, R., Liu, Z., & Liu, S. 2009. Screening and structural characterization of α -glucosidase inhibitors from hawthorn leaf flavonoids extract by ultrafiltration LC-DAD-MS n and SORI-CID FTICR MS. Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 20(8), 1496-1503.
- Matsuura, H. 2001. Saponins in Garlic as Modifiers of the Risk of Cardiovascular Disease. The Journal of Nutrition 131 (3):1000-1005.

- McCue, P. y Shetty, K. 2004. Inhibitory effects of rosmarinic acid extracts on porcine pancreatic amylase in vitro. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 13 (1):101-106.
- Nagmoti, D. M., & Juvekar, A. R. 2013. In vitro inhibitory effects of *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. seeds on intestinal α -glucosidase and pancreatic α -amylase. *Journal of Biochemical Technology*, 4(3), 616-621.
- Ohtsuki, T.; Koyano, T.; Kowithayakorn, T.; Sakai, S.; Kawahara, N; Yukihiro, G.; Yamaguchia, N.e Ishibashi, M. 2004. New chlorogenin hexasaccharide isolated from *Agave fourcroydes* with cytotoxic and cell cycle inhibitory activities. *Elsevier, Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 12: 3841-3845.
- Ozgen, M., Reese, R. N., Tulio, A. Z., Scheerens, J. C., & Miller, A. R. 2006. Modified 2, 2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2, 2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(4), 1151-1157.
- Pietta, P.-G. 2000. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63, 1035-1042.
- Pricci, F., Leto, G., Amadio, L., Iacobini, C., Cordone, S., Catalano, S., ... & Pugliese, G. 2003. Oxidative stress in diabetes-induced endothelial dysfunction involvement of nitric oxide and protein kinase C. *Free Radical Biology and Medicine*, 35(6), 683-694.
- Puente-Garza, C. A., Meza-Miranda, C., Ochoa-Martínez, D., & García-Lara, S. 2017. Effect of *in vitro* drought stress on phenolic acids, flavonols, saponins, and antioxidant activity in *Agave salmiana*. *Plant physiology and biochemistry*, 115, 400-407.
- Siddhuraju, P., & Becker, K. 2003. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(8), 2144-2155.
- Sipel, A., Kevers, C., Pincemail, J., Grygiel, P. G., Defraigne, J. O., & Dommes, J. 2013. Sample dilution influences the determination of antioxidant capacity in food: how to minimize it?. *Food Analytical Methods*, 6, 1485-1491.
- Tanaka, O., Tamura, Y., Masuda, H., & Mizutani, K. 1996. Application of saponins in foods and cosmetics: Saponins of *Mohave yucca* and *Sapindus mukurossi*. *Saponins used in Food and Agriculture*, 1-11.
- Tiwari, A.K. y Rao, J.M. 2002. *Diabetes mellitus* and multiple therapeutic approaches of phytochemicals: Present status and future prospects. *Current Science*. 83 (1): 30-38.
- Yokosuka, A. y Mimaki, Y. 2009. Steroidal saponins from the whole plants of *Agave utahensis* and their cytotoxic activity. *Phytochemistry*. 70: 807-815.
- Zuo, Y., Chen, H., & Deng, Y. 2002. Simultaneous determination of catechins, caffeine and gallic acids in green, oolong, black and pu-erh teas using HPLC with photodiode array detector. *Talanta*, 57, 307-316.

NORMAS DE PUBLICACIÓN

Los autores que tengan interés en publicar en la revista VIDSUPRA del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Durango (CIIDIR-IPN-Durango), deberán ajustarse a los lineamientos establecidos para artículos científicos originales e inéditos.

Las contribuciones quedarán dentro de los siguientes tipos de trabajos:

- a) Resultados de investigación o experimentales
- b) Notas científicas
- c) Estudios de revisión
- d) Divulgación: monografía, ensayo, tesis, reflexión y crítica.

Los trabajos experimentales deberán presentar resultados originales de investigación, que no hayan sido previamente publicados. Se dividirán en las siguientes secciones:

TÍTULO. A continuación del título irán el (los) nombre (s) del (los) autor (es), y en seguida, el nombre de la institución donde se generó el trabajo.

RESUMEN. Deberá contener no más de 250 palabras. Establecerá brevemente el propósito del trabajo y los principales resultados y conclusiones. Evitar citas bibliográficas, abreviaciones no comunes, pero si son necesarias, deben ser definidas.

PALABRAS CLAVE. Serán de tres a cinco.

ABSTRACT. Deberá tener los mismos lineamientos que el RESUMEN

KEY WORDS. Serán de tres a cinco.

INTRODUCCIÓN. En esta sección se brindarán los antecedentes adecuados y se establecerán los objetivos del trabajo.

MATERIALES Y MÉTODOS. Se deberá proporcionar el suficiente detalle del trabajo experimental y de campo para que el trabajo pueda ser reproducido. Métodos ya publicados se pueden indicar con una referencia.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

La discusión deberá incluir la significancia de los resultados.

CONCLUSIONES

AGRADECIMIENTOS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS. Revisar un número reciente para consultar el estilo de la presentación de las referencias bibliográficas.

Tablas y Figuras se entregarán en archivos independientes con las siguientes características:

- Formato .jpg. de alta resolución y tamaño grande.
- Figuras, cuadros y fotografías deben ir en blanco y negro o escala de grises.
- Las tablas no deben llevar bordes verticales
- Los títulos respectivos no deben formar parte de la tabla o la figura.

ENTREGA DE DOCUMENTOS

Los documentos originales se entregarán vía correo electrónico, en formato Word, a la dirección vidsupra@gmail.com dirigidos a la M.C. Rebeca Alvarez Zagoya.

La comisión editora se reserva los derechos para la selección y publicación de los trabajos.

Los artículos contenidos en la revista son de la responsabilidad exclusiva de los autores.

PROCEDIMIENTO

Todos los trabajos que se envíen y cumplan con los lineamientos de este documento serán sometidos a revisión por parte de especialistas, con un estricto anonimato tanto de autores como de evaluadores.

La Coordinación Editorial se reserva el derecho de realizar la corrección de estilo y los cambios editoriales que considere necesarios para mejorar el trabajo.

Cada autor principal recibirá un ejemplar del número de la revista en que es publicado su artículo.

Toda correspondencia deberá dirigirse a:

vidsupra@gmail.com
Revista VID SUPRA, CIIDIR IPN Unidad Durango
Unidad Politécnica de Integración Social
Sigma No. 119, Fraccionamiento 20 de Noviembre II
Durango, Dgo., México, 34220
Tel. (618) 814 2091 y Fax (618) 814 4540
Teléfono de red IPN (55) 5729 6000 Ext. 82615

Los autores son los únicos responsables del material, textos e imágenes que utilizan en sus respectivos trabajos, debiendo respetar siempre los derechos de autor de terceras personas, por lo que la Revista no se hace responsable de lo contenido en este tema respecto al trabajo de los autores.

CIIDIR DURANGO

CENTRAL DE INSTRUMENTACIÓN

Central de Instrumentación

Laboratorios de fisicoquímica
y microbiología

Servicios

Análisis de alimentos
Análisis de agua
Análisis de suelos
Análisis de bebidas con
contenido alcohólico

Acreditaciones

Entidad Mexicana de Acreditación
Laboratorio de Ensayos
COFEPRIS
Laboratorio Tercero Autorizado



Informes:

DRA. LAURA SILVIA GONZÁLEZ VALDEZ
Coordinadora de la Central de Instrumentación CIIDIR IPN
Unidad Durango
Calle Sigma Núm. 119 Fracc. 20 de Nov. II
Durango, Dgo. México. C.P.34220
Tel (618) 814-20-91 Y 814 45 40 Extensiones: 82615 Y 82601
Correo electrónico: ci_dgo@ipn.mx