

REVISTA *de la* SOCIEDAD
QUÍMICA
de MÉXICO

(Rev. Soc. Quím. Méx.)



Páginas 295-344

REVISTA *de la* SOCIEDAD
QUÍMICA
de MÉXICO

FUNDADOR

Q. José I. Bolívar Goyanes†

EDITOR

Guillermo Delgado Lamas

CONSEJO EDITORIAL

- Francisco Bolívar Zapata • Guillermina Burillo Amezcuca • Miguel Costas Basín
- Gabriel Cuevas González-Bravo • Eduardo Díaz Torres • Carl Djerassi
- Ernest L. Eliel • Nikolaus H. Fischer • Federico García Jiménez
- Ángel Guzmán Sánchez • Pedro Joseph-Nathan • Eusebio Juaristi Cosío
- Jaime Keller Torres • Víctor Manuel Loyola Vargas • Mario Molina Pasquel
- Joaquín Palacios Alquisira • Héctor Salgado Zamora • Elvira Santos de Flores
- Ratnasamy Somanathan Ramasamy • Joaquín Tamariz Mascarúa
- Hugo Torrens Miquel • Luz Elena Vera Ávila • Francisco Yuste López

EDITOR TÉCNICO

Arturo Sánchez y Gándara

TIPOGRAFÍA

Eric Sánchez Romero

ASISTENCIA SECRETARIAL

Rosa Jaime Cerón • Raquel Feregrino Curiel • Lidia Hernández García

La *Revista de la Sociedad Química de México* publica preferentemente contribuciones originales de investigación en todas las ramas de la teoría y práctica de esta ciencia. Los artículos son sometidos a proceso de arbitraje del cual depende la aceptación del manuscrito para su publicación.

Indizada en Chemical Abstracts, Bioscience Information Service, Chemisches Zentralblatt, Sumario Actual de Revistas (España), Latindex, Periódica, Russian Institute of Scientific and Technical Information. Incluida en el Índice de Revistas Mexicanas de Investigación Científica y Tecnológica del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

Las instrucciones para los autores aparecen publicadas en el número 1 de cada volumen.
El costo de la suscripción anual es de \$500.00 para la República Mexicana y \$55 USD para el extranjero.
Se distribuye gratuitamente entre los socios de la *Sociedad Química de México*.

REVISTA *de la* SOCIEDAD
QUÍMICA
de MÉXICO



CONTENIDO / CONTENTS

Vol. 47, Núm. 4, 2003

Investigación

- Layered Silicates and Mesostructured Aluminosilicates Promoters of Benzyltoluenes**
Bernardo Francisco,* Gabriel A. Arroyo, Olivia Noguez, Juan M. Aceves,
José M. Domínguez, Francisco Delgado, René Miranda **295-297**
- Síntesis y evaluación del efecto ansiolítico de un nuevo derivado
pirimido[1,6-a]pirimidínico**
Alejandro Muñoz-Zurita, Jesús Sandoval-Ramírez,* Luis Emilio Espinoza-Moreno,
Carmen Parra-Cid, Luis Alberto Juárez-Leyva, Daniel Limón-Pérez de León,
Gonzalo Flores **298-302**
- A chemical study of the mycelium of *Alternaria tagetica***
Gabriela Arana-López, Marcela Gamboa-Angulo, Karlina García-Sosa,
Fabiola Escalante-Erosa, Luis M. Peña-Rodríguez* **303-306**
- Inestabilidad de muestras obtenidas durante la hidrodeseintegración
de residuos del petróleo**
María T. Gómez, Gustavo Marroquín, Jorge Ancheyta,* Marco I. Soto,
Guillermo Centeno **307-312**
- Estudio del efecto de distintos promotores en la reacción directa entre silicio
y cloruro de metilo**
Jorge Cervantes Jáuregui,* Arturo Zizumbo López,
Alberto Florentino Aguilera Alvarado,
José Emigdio Frausto Romero, Bonfilio Acosta Solís
y Francisco Javier Luna García **313-319**
- Revisión**
- ¿Es el glóbulo fundido un intermediario general en la vía de plegamiento
de las proteínas globulares?**
María Elena Cháñez-Cárdenas y Edgar Vázquez-Contreras* **320-327**

CONTENIDO / CONTENTS

Vol. 47, Núm. 4, octubre-diciembre del 2003

Comunicación Técnica

- Degradación del material pétreo de la zona arqueológica de El Tajín,
Veracruz, México, por efecto de la lluvia ácida**
Humberto Bravo,* Rogelio Soto, Rodolfo Sosa, Pablo Sánchez,
Ana Luisa Alarcón y Jaime Ruíz 328-330
- Comportamiento de películas de Quitosán compuesto en un modelo
de almacenamiento de aguacate**
S. Patricia Miranda,* Galo Cardenas, Damián López, Alma V. Lara-Sagahon 331-336

Obituario

- Biographical profile of
Doctor Raymundo Cruz Almanza (1945-2003)**
Guillermo Delgado 337-338
- Índice del volumen 339-342
- Índice de autores 343-344

*En los artículos con más de un autor, el asterisco indica a quién debe dirigirse la correspondencia.

REVISTA *de la* SOCIEDAD
QUÍMICA
de MÉXICO

(Rev. Soc. Quím. Méx.)



Páginas 295-344

Vol. 47, Núm. 4, octubre-diciembre del 2003

REVISTA *de la* SOCIEDAD QUÍMICA *de* MÉXICO

(*Rev. Soc. Quím. Méx.*)

ISSN 0583-7693

Publicación trimestral editada y distribuida por la **Sociedad Química de México, A.C.**, Barranca del Muerto 26 (esq. Hércules). Col. Crédito Constructor, Delegación Benito Juárez, C.P. 03940, México, D.F.
Tels.: 5662-6823 y 5662-6837. Fax: 5662-6823.
Editor: Guillermo Delgado Lamas (E-mail: delgado@servidor.unam.mx)
Editor Técnico: Arturo Sánchez y Gándara (E-mail: sygeditores@att.net.mx)

D.R. © Sociedad Química de México, A.C.
Se prohíbe la reproducción o impresión parcial o total sin la autorización por escrito del titular de los derechos.

Reserva del título número 158-67 (mayo de 1967) otorgado por la Dirección General de Derechos de Autor, SEP.
Certificado de licitud número 3565 y de contenido número 3867 otorgados por la Comisión Calificadora de Publicaciones y Revistas Ilustradas de la Secretaría de Gobernación.

Publicación periódica. Registro número 0790 790.
Características 2294 5112, autorizado por SEPOMEX, 23 de julio de 1990. Oficio número 317 Exp. 091.70/2485.
Autorizada como correspondencia de segunda clase por la Dirección General de Correos con fecha 25 de agosto de 1967.

Edición e impresión: **S y G Editores S.A. de C.V.**, Calle Cuapinol 52, Col. Santo Domingo, Delegación Coyoacán, 04369 México, D.F.
Tels.: 5619-5293, 5617-5610, E-mail: sygeditores@att.net.mx.

Investigación

Layered Silicates and Mesostructured Aluminosilicates Promoters of Benzyltoluenes

Bernardo Francisco,^{1*} Gabriel A. Arroyo,¹ Olivia Noguez,¹ Juan M. Aceves,¹ José M. Domínguez,² Francisco Delgado,³ René Miranda¹

¹ Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. 1 de Mayo s/n Cuautitlán Izcalli, Estado de México, C. P. 54740 tel/fax 00 52 5 6232056, e-mail garroyo@servidor.unam.mx.

² Instituto Mexicano del Petróleo, Eje Lázaro Cárdenas 152 Gerencia de Competencia. 007730 México D.F.

³ Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Prolongación Carpio y Plan de Ayala, Col. Casco de Santo Tomás, México, D. F., CP 11340, Tel 7-29-63-00 ext. 62413, e-mail fdelgado@woodward.enb.ipn.mx.

Recibido el 15 de agosto del 2003; aceptado el 14 de octubre del 2003

Abstract. Several hydrous layered silicates, modified kanemites, aluminosilicates and various mesoporous materials, were hydrothermally synthesized, and then evaluated as new catalysts for obtaining benzyltoluenes. In addition, the dependence of the catalyst concentration, the influence of the reaction time and the effect of the temperature were studied.

Key words: Layered silicates, kanemites, catalysis, benzyltoluenes.

Resumen Varios materiales mesoporosos como los silicatos laminares hidratados y kanemitas modificadas fueron obtenidos hidrotérmicamente y posteriormente evaluados como nuevos catalizadores en la obtención de benciltoluenos. Asimismo, se estudia la dependencia de la concentración del catalizador, la influencia del tiempo de reacción y el efecto de la temperatura.

Palabras clave: Silicatos laminares, catálisis, kanemitas, benciltoluenos

Introduction

The remarkable ability of aluminosilicates to perform interesting transformations has found widespread applications and uses in research chemistry and industrial areas [1]. Mainly these materials have acquired important interest in the catalytic field due to their usefulness and high activity. Therefore, this kind of material are of current interest and many groups among us [2], are now working in this area in order to seek for novel catalysts as well as their corresponding applicative alternatives.

The family of hydrous layered silicates includes natural minerals such as kanemite [3], $\text{NaHSi}_2\text{O}_4(\text{OH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, a sodium hydrated silicate with laminated structure that shows large possibilities in catalysis due to its structural and superficial characteristics as well as to its facile synthesis [4-6].

In relation to this subject and due to the importance that represents for the industry, this paper deals with the potential of kanemite and mesoporous materials to induce the one pot promotion of benzyltoluenes from simple reagents: toluene and benzylchloride. It is worth mentioning, that the target molecules are largely employed as insulating oils in high-voltage electrical devices [7], and as high octane fuels for aircraft engines [8], among others uses [9].

These new catalytic materials offer considerable advantages over conventional homogeneous acid catalysts; in particular, the products are obtained after simple filtration of the cat-

alyst. Conversely, the common Friedel-Crafts alkylation using typical Lewis acids, generally affords complex reaction mixtures requiring laborious work-up to isolate the products [10]; furthermore, they are highly toxic, pollutants of the environment and of high-cost [11]. Thus, layered silicates and aluminosilicates represent an important alternative as new heterogeneous catalysts for the production of the target molecules.

Results and Discussion

The results of several experiments performed with various layered silicates and mesostructured aluminosilicates in order to obtain the benzyltoluenes are summarized in the table 1; it is note worthy that the reaction crude mixture does not showed by-products, as detected by GC-MS. In general, good yields and pure compounds were obtained at low reaction times, being the work-up procedures very simple. Therefore, these new options are highly competitive with those methods previously informed in the literature. These results, in addition to the easy preparation of the kanemites and the mesoporous material led us to conclude that these catalysts are interesting alternatives for the production of *ortho* and *para*-benzyltoluenes.

Finally, the effect of the catalyst concentration, the time and the temperature of reaction were investigated in the cases of MCM-7 and (H-TBA-K) 0.3 M HCl, in order to establish

Table 1. Layered silicates and mesostructured aluminosilicates, novel catalyst for the production of benzyltoluenes.

Entry	Catalyst	Yield* (%)
	Modified Kanemites	
1	(H-TBA-K) 0.3 M HCl	99.42
2	(H-TBA-K) 1.5 HCl	45.29
3	(SO ₄ ²⁻ -TBA-K) 0.3 M H ₂ SO ₄	1.84
4	(SO ₄ ²⁻ -TBA-K) 1.5 H ₂ SO ₄	96.85
	Mesoporous Materials	
5	MCM-44	99.00
6	MCM-17	93.60
7	MCM-7	99.90

The obtained data corresponds to the average of 3 events.

the corresponding optimum reaction conditions for these two novel catalysts. Thus the results of the dependence of catalyst concentration, the role of the reaction time and the effect of the temperature on the promotion of the benzyltoluene are reported in figures 1-3 respectively. As can be seen, the mesoporous material (MCM-7) is a higher effective Lewis – catalyst to promote these new options of Friedel-Crafts toluene alkylation, since it required less concentration, 50 mg, as well as lower temperatures and reaction times to reach better yields, all this in comparison to the kanemitic moiety, (H-TBA-K) 0.3 M HCl.

Experimental

General. Toluene (Aldrich) was dried prior to use (Na/benzophenone). The benzylchloride was also purchased from Aldrich and used as received. The modified kanemites and mesoporous materials were synthesized using previously reported procedures [4,12]. Purified products were characterized by spectroscopic means: ¹H NMR spectra were recorded

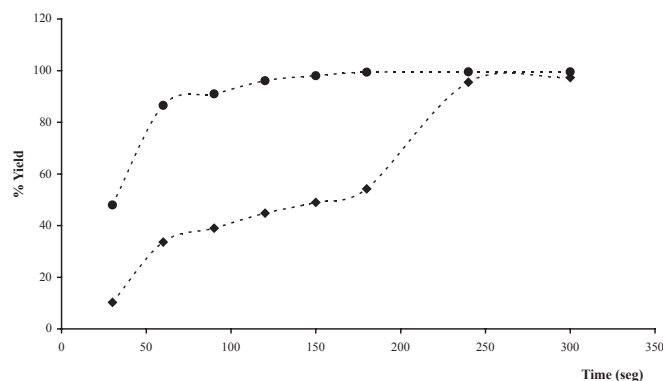


Fig. 1. Dependence of catalyst concentration on the formation of benzyltoluenes; reflux temperature, toluene 23 mmol; benzylchloride 2.3 mmol; reaction time 5 h; catalyst: ♦MCM-7 and •(H-TBA-K) 0.3 M HCl.

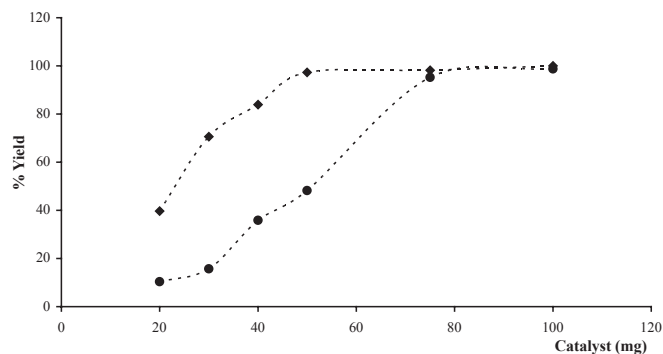


Fig. 2. Influence of the reaction time on the rate of benzyltoluene formation; reflux temperature; toluene 23 mmol; benzylchloride 2.3 mmol; reaction time 5 h, catalyst: ♦MCM-7 50 mg and •(H-TBA-K) 0.3 M HCl-100 mg.

in a Varian FT-200 spectrometer using CDCl₃ as solvent and TMS as internal reference; EIMS (70 ev) spectra and GC-MS analysis were obtained using a JEOL JMS AX505HA mass spectrometer. For the optimization of the experiments a Polyscience Corporation Temperature Controller Model 73 was employed, the corresponding formation in percent data were acquired by a Varian Gas Chromatographer 3400 equipped with a flame ionization detector and a 30 m x 0.53 mm column packed with polyethylenglicol, the relative proportion of the products were calculated assuming that the detector gave equal response for each experiment.

Benzyltoluenes. To 2.5 ml of anhydrous toluene were added 0.25 ml of benzylchloride and 100 mg of catalyst, followed by magnetic stirring under reflux during 4 hrs. The reactions were monitored by GC-MS until the total disappearance of the reagent. The reaction mixture was filtered on a celite bed, washed with NaHCO₃ (5 %, 3 x 10 ml), the organic phase was dried (Na₂SO₄ anh.), and the remaining toluene was eliminated under reduced pressure. Finally the product was purified by

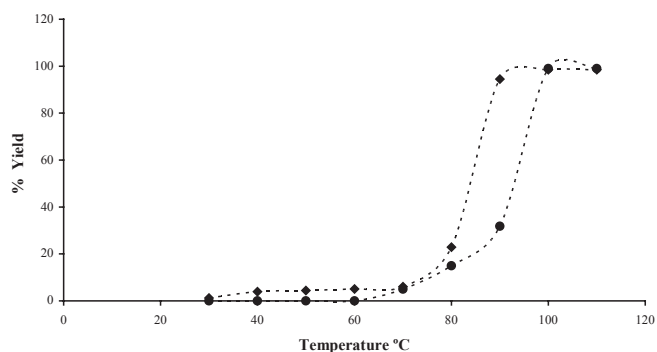


Fig. 3. Effect of temperature on benzyltoluenes formation; toluene 23 mmol; benzylchloride 2.3 mmol; reaction time 4 h; catalyst: ♦MCM-7 50 mg and •(H-TBA-K) 0.3 M HCl-100 mg.

column chromatography. The mixture of *ortho* and *para*-benzyltoluenes was characterized by spectroscopic means and compared with reported data(1): ^1H NMR (CDCl_3 , TMS, 200 MHz) δ 2.20 (s, 3H), 2.32 (s, 3H), 3.92 (s, 2H), 4.00 (s, 2H), 7.2 (m, 9H); EIMS (70 ev) m/z (%) 182 (48) M^+ , 91 (100) $[\text{C}_7\text{H}_7]^+$.

Acknowledgement

Financial support from DGAPA-UNAM (PAPIIT-IN215598) is acknowledged.

References

1. Meurig-Thomas, J. *Scientific American* **1992**, *266*, 112-118.
2. Miranda, R.; Arroyo, G. A.; Penieres, G.; Salmón, M.; Cabrera, A.; Álvarez, C.; Delgado, F. *Research Trends* **2003**, *in press*.
3. Johan, Z.; Maglione, G. F. *Bull. Soc. Fr. Mineral. Cristallogr.* **1972**, *95*, 371-382.
4. Terres, E.; Domínguez, J. M. "Synthesis and Modifications Of Layered Silicates: Kanemite and Megadite" Symp. *Synthesis of Zeolites, Layered Compounds and Other Microporous Materials*, Div. Petr. Chem. Inc. 209th Natl. Meet. ACS. Anaheim CA., U.S.A. april 2-7, **1995**, 261.
5. Yanigisawa, T.; Shimizu, T.; Kuroda, K.; Kato, C. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1990**, 988.
6. Wong, S. T.; Cheng, S. *Chem. Mater.* **1993**, *5*, 770.
7. Berger, N.; Jay, P. *IEEE Trans. Electr. Insul.* **1986**, *EJ-21*, 59.
8. Lamneck, J. H.; Wise, P. H. *Naatl, Adris, Comm. Aeronaut, Tech. Notes*, **1950**, *17*, 2230.
9. Fu, X.; He, M.; Lei Q.; Luo, B. *Synth. Commun.* **1991**, *21*, 1273.
10. Berger, N.; Jay, P. *IEEE Trans. Electr. Insul.* **1986**, *EJ-21*, 59. Lamneck, J. H. Wise, P. H. *Naatl, Adris, Comm. Aeronaut Tech. Notes.* **1950**, *17*, 2230.
11. Salmón, M.; Miranda, R.; Angeles, E. *J. Chem. Soc., Chem Commun.* **1990**, 1188; *High Lights Chem. and Ind.* **1991**, 26. *The Janssen Chimica Catalog / Handbook of Fine Chemicals for Research and Industry 1993-1994*, *23*, 317-37. Miranda, R.; Aceves, J. M.; Corona-Cortés, H.; Domínguez, J. M.; Cabrera A.; Salmón, M. *Synth. Commun.* **1994**, *24*, 727.
12. Terrés, E.; Ramírez, S. S. Domínguez, J. M. Montoya, A.; Navarrete, J.; Gómez-Cisneros, M. *Microporous and Macroporous Materials; Materials Research Society; Symposium Proceedings 1996*, *431*, 111; *Symposium April 8-11*, , San Francisco CA, USA.

Investigación

Síntesis y evaluación del efecto ansiolítico de un nuevo derivado pirimido[1,6-a]pirimidínico

Alejandro Muñoz-Zurita,¹ Jesús Sandoval-Ramírez,^{1*} Luis Emilio Espinoza-Moreno,² Carmen Parra-Cid,¹ Luis Alberto Juárez-Leyva,¹ Daniel Limón-Pérez de León,¹ Gonzalo Flores³

¹ Facultad de Ciencias Químicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

² Departamento de Ciencias Básicas, Ingeniería y Tecnología. Universidad Autónoma de Tlaxcala.

³ Instituto de Fisiología. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Apartado postal 1742, Puebla, Pue. C.P. 72000. México. Teléfono y fax: 01-222-2295500 Ext. 7382. *E-mail: jsandova@siu.buap.mx

Recibido el 27 de octubre del 2003; aceptado el 1 de diciembre del 2003

Resumen. Se describe la síntesis de la (*E*)-9-estirilcarboxamido-6,8-dioxo-7-propil-1,3,4,6,7,8-hexahidro-2H-pirimido[1,6-a]pirimidina (**9**) a partir de 6-aminouracilo (**4**) utilizando una vía de síntesis químico- y regioselectiva; además se reporta el estudio fármaco-biológico de **9** utilizando el modelo experimental ansiolítico del laberinto elevado en cruz. Adicionalmente, se presenta la relación dosis efecto de **9** sobre la actividad locomotora empleando el modelo de campo cerrado en ratas macho Wistar; la cual concluye que al administrar crónicamente diferentes dosis de **9** se genera un efecto ansiolítico importante y una disminución de la actividad locomotora.

Palabras clave: Antagonistas de receptores de adenosina, quimioselectividad, ansiedad, locomoción, modelo experimental ansiolítico.

Abstract. The synthesis of (*E*)-6,8-dioxo-7-propyl-9-styrylcarboxamido-1,3,4,6,7,8-hexahydro-2H-pyrimido[1,6-a]pyrimidine (**9**) from 6-aminouracil (**4**) using a chemo- and regioselective pathway is described herein. Additionally we report the pharmacobiological evaluation of the compound **9** using the anxiolytic test plus maze elevator and the effect of **9** over the locomotor activity in the Wistar rats. The results suggest that compound **9** exhibit a significant anxiolytic activity with considerable motor depression.

Key words: Adenosine receptors antagonist, chemoselectivity, anxiety, locomotion, anxiolytic experimental model.

Introducción

La ansiedad es un síntoma vinculado a la idiosincrasia de cada persona, su incremento es un componente inevitable en muchos estados emocionales que se asocia generalmente con trastornos psiconeuróticos y puede ser generada por estímulos tanto internos como externos y que no pueden ser fácilmente explicados en términos biológicos ó psicológicos.

A principios de la década de 1960, los trastornos de ansiedad eran tratados con barbitúricos (de fórmula general **1**), aunque después cayeron en desuso debido a sus negativos efectos secundarios. Hoy día, los compuestos de elección para el tratamiento de la ansiedad son las benzodiazepinas, como el diazepam (**2**), aunque se sabe que altas dosis de estos compuestos producen fármaco-dependencia [1]. Las investigaciones sobre nuevos tratamientos para los estados de ansiedad han arrojado importantes resultados; así, una alternativa son los antagonistas de los receptores de adenosina de tipo A_{2A} y derivados de la 2,4-pirimidindiona [2], por lo que diversos grupos de investigación en el mundo se han encaminado hacia la obtención de nuevas estructuras que permitan una terapéutica ansiolítica con menores efectos secundarios y mayores beneficios.

En 1995, Simo describió la síntesis y caracterización del novedoso agente ansiolítico **3** (Fig. 1) antagonista de los receptores de adenosina, de esqueleto pirimido[1,2,3-cd]purindiónico [3].

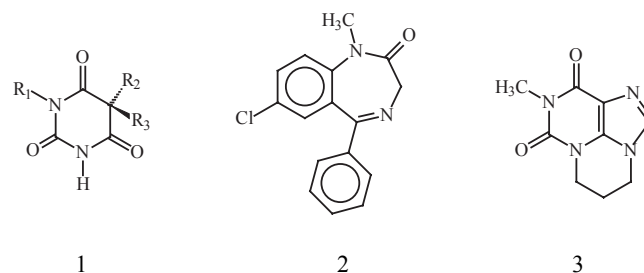


Fig. 1

Por otra parte, se ha reportado la participación de los receptores adenosinérgicos de tipo A_{2A} en las conductas motoras y cognitivas [4] y se ha encontrado que compuestos antagonistas de receptores A_{2A} revierten los estados de ansiedad, ya sea naturales o bien inducidos por fármacos. Se sugiere que los antagonistas adenosinérgicos de tipo A_{2A} tienen efectos motores y pueden revertir los estados de ansiedad.

Nos hemos interesado en sintetizar nuevos compuestos antagonistas de receptores de adenosina selectivos [5-7] y probar su eficacia en modelos experimentales ansiolíticos, para desarrollar una terapéutica con menor efecto secundario y mayor beneficio sobre los estados de ansiedad.

Resultados y discusión

La ruta de síntesis del compuesto pirimido[1,6-*a*]pirimidínico **9** utiliza 6-aminouracilo (**4**) como material de partida, tal como se describe en la figura 2.

La alquilación selectiva del 6-aminouracilo (**4**) en posición 3, se llevó a cabo empleando una modificación al método descrito por Müller en 1991 [8], que permite la obtención de un solo regioisómero a través de la formación *in situ* del derivado trisililado, utilizando cantidades prácticamente equimolares de hexametildisilazano (HMDS). El derivado trisililado no es purificado, sino que rápidamente fue utilizado para la reacción con yoduro de *n*-propilo; el rendimiento de la reacción de este primer paso fue de 92%. Un análisis del espectro de ¹H-RMN permite comprobar que la alquilación se llevó a cabo en N3 y no el N1, ya que la señal de los protones del grupo amino en C6 no sufrieron cambio alguno en su desplazamiento químico pues es sabido que cuando existe alquilación en N1 se presenta un desplazamiento químico hacia campos bajos [8]. La espectroscopía de UV-Vis muestra una banda de absorción hacia 261 nm, característica para un carbonilo α,β-insaturado β-aminosustituido.

La nitrosación quimio y regioselectiva de **5** en C5 se llevó a cabo utilizando nitrito de sodio en medio ácido. Con estas condiciones no se afecta el grupo amino unido a la posición 6 debido a su efecto de resonancia como grupo electrodonador

del sistema carbonílico α,β-insaturado, lo que induce la sustitución electrofílica en C5. Los derivados nitroso son fácilmente reconocibles por su color amarillo-naranja ($\lambda_{\text{máx}}$ 320 nm) y por la banda intensa en el infrarrojo hacia 1510 cm⁻¹ correspondiente a la vibración N = O [9]. Adicionalmente, en el espectro de RMN ¹³C la señal del C5 se encuentra considerablemente desplazada: de δ 74.66 hasta δ 140.31 lo que indica la presencia de un grupo fuertemente desprotector como lo es el grupo nitroso.

La reducción del grupo nitroso en C5, se efectuó empleando el método que utiliza hidrosulfito de sodio en medio básico; al respecto se realizaron estudios acerca de la influencia de la concentración de la base y la temperatura y encontramos que la concentración de la base no es un factor importante para llevar a cabo la reducción; en cambio, nuestro estudio arrojó que con temperaturas inferiores a 60 EC se debe emplear mayor cantidad de agente reductor y en consecuencia se crea un mayor problema para separarlo, disminuyendo notablemente el rendimiento de la reacción. El producto diaminado **7** es sumamente inestable al exponerlo ante el ambiente y a la luz, por lo que debe someterse de inmediato a la próxima reacción sin necesidad de purificación. La diamina **7** se obtuvo con un rendimiento del 65%.

La obtención de la amida **8** se logró mediante una reacción regioselectiva en donde sólo se formó la amida en C5. El agente de acoplamiento empleado fue el clorhidrato de 1-[3-(dimetilamino)propil]-3-etilcarbodiimida (EDC) con rendimientos cuantitativos.

El grupo amino en C5 es más nucleofílico que el presente en C6 ya que el grupo en C6 actúa como electrodonador del sistema carbonílico α,β-insaturado. La isomería *trans* del doble enlace permaneció inalterada, lo que se comprobó al analizar las bandas del espectro de IR (971 cm⁻¹) [10], y al medir las constantes de acoplamiento del sistema vinílico en el espectro de RMN ¹H ($J_{\text{trans}} = 15.8$ Hz) [10]. El espectro de UV-Vis tiene un máximo de absorbancia en 280 nm característico para una absorción de derivado cinámico.

Finalmente, la reacción entre el compuesto **8** y 1,3-dibromopropano, en presencia de K₂CO₃ como base y dimetilformamida (DMF) como disolvente permitió formar el nuevo anillo entre las posiciones N1 y la amina en C6 para obtener el compuesto (*E*)-9-estirilcarboxamido-6,8-dioxo-7-propil-1,3,4,6,7,8-hexahidro-2H-pirimido[1,6-*a*]pirimidina (**9**) con un 61% de rendimiento, sin obtener evidencia del producto monocíclico **10** (Figura 3), compuesto que podría formarse si solamente se efectúa un ataque nucleofílico sobre una parte de la molécula de 1,3-dibromopropano. Al analizar el espectro de RMN ¹H se observa que la señal en δ 6.11, que correspondía a los dos protones del grupo amino unido a la posición C6, se encuentra desplazada hasta δ 6.9 y la integración es para un solo protón intercambiable con deuterio. La isomería del sistema vinílico permanece inalterada.

Los datos reportados en la literatura [11] para la obtención de compuestos similares presentan rendimientos para esta última reacción de 57%, rendimiento similar al que se reporta en este trabajo.

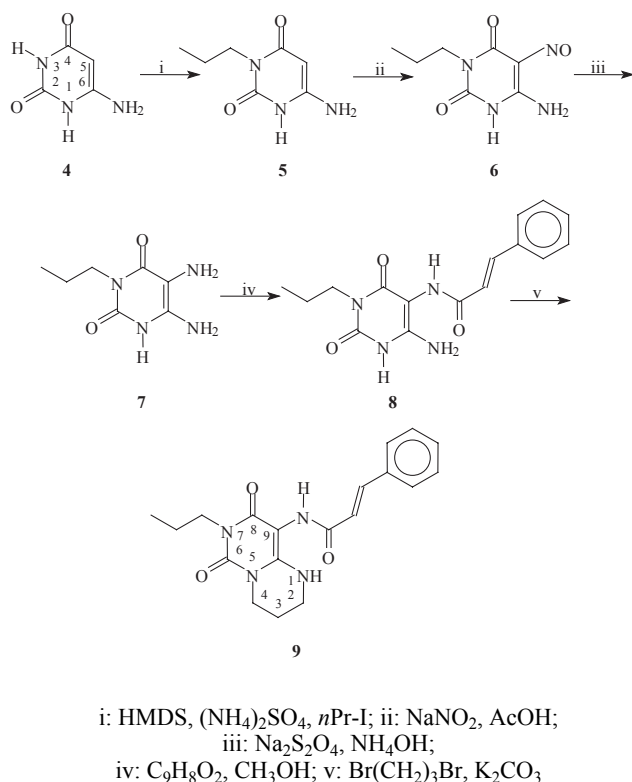
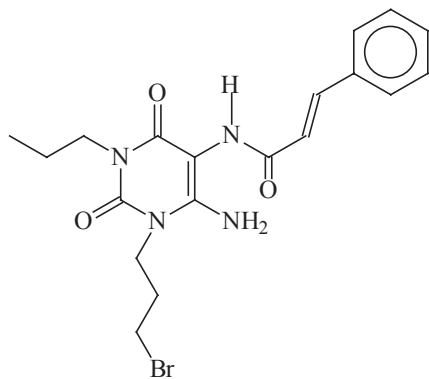


Fig. 2. Síntesis quimio- y regioselectiva del compuesto (*E*)-9-estirilcarboxamido-6,8-dioxo-7-propil-1,3,4,6,7,8-hexahidro-2H-pirimido[1,6-*a*]pirimidina (**9**)



10

Fig. 3

Farmacología

Prueba *in vivo*. Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar, obtenidas del Bioterio de la BUAP, de 250-280 g, los cuales fueron mantenidos en cajas de acrílico bajo las mismas condiciones de agua y alimento, con un ciclo de luz /oscuridad de 12 × 12 h, a una temperatura de 22 ± 3 EC. La evaluación de efecto ansiolítico se realizó utilizando el modelo experimental del laberinto elevado en cruz, el cual consiste en un temor innato de los roedores a los espacios abiertos y altos. En este modelo, un incremento en el número de veces que entra ó permanece en brazo abierto corresponde a un perfil ansiolítico, en tanto que lo contrario corresponde a un efecto ansiogénico [12]. Con el fin de mostrar la actividad depresora del derivado pirimido[1,6-*a*]pirimidina **9** se estudió la actividad locomotora usando un actímetro computarizado el cual consiste en una caja de acrílico de 20 × 40 × 20 cm con ocho fotodiodos y un contador computarizado de Tecnología Digital de México [13].

Se administró crónicamente al grupo control el vehículo (etanol: aceite mineral, 1:2) y a los grupos experimentales las diferentes dosis del nuevo derivado pirimido[1,6-*a*]pirimidina (**9**) a razón de 0.5, 1.0 y 20 mg / Kg s.c. Al octavo día de administración, a cada animal de cada grupo se sometieron al laberinto elevado durante un tiempo de 10 min / día. Este nuevo compuesto produjo un incremento en el número de veces al cual entra al brazo abierto (figura 4), aunque que no hubo diferencia significativa a la dosis de 0.5, 10 y 20 mg / Kg. Sin embargo a dosis de 1 a 5 mg / Kg produjo un incremento significativo en el número de visitas al brazo abierto que fue de 1.5 ± 0.3 y 3.2 ± 0.6 SEM. Esto significa un incremento del 113% del grupo con la nueva droga respecto al control. En este rango de dosis el derivado pirimido[1,6-*a*]pirimidina (**9**) generó el efecto ansiolítico a través de la interacción con los receptores adenosinérgicos A₁ o A_{2A}, receptores involucrados en procesos de ansiedad [5].

Respecto a la permanencia al brazo abierto encontramos que a dosis de 1 mg / kg los sujetos permanecen mas tiempo

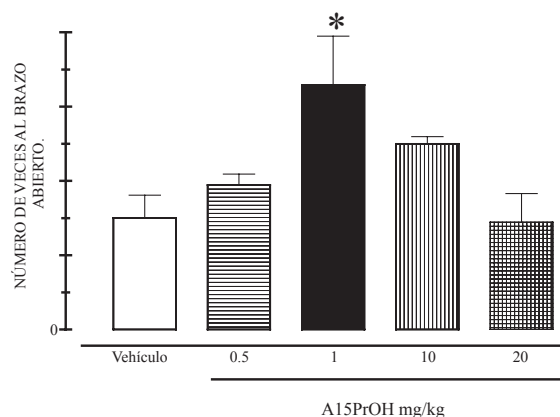


Fig. 4.

en los brazos abiertos 25.14 ± 4.38 seg más respecto al control (figura 5), lo que indica que el incremento es del 100 %, debido a su probable efecto ansiolítico. Para demostrar el efecto depresor del compuesto **9** se administraron diferentes dosis al octavo día de administración se evaluó la conducta motora en el modelo de campo cerrado (descrito anteriormente). Se administró el derivado pirimido[1,6-*a*]pirimidina **9** a dosis de 0.5, 1.0 10.0 y 20.0 mg / Kg, se introdujo a cada animal a las cajas de actividad motora (figura 6) y se cuantificó el número de veces que el animal interrumpe el haz de luz, lo que se expresa como cuentas acumuladas. Nuestros resultados sugieren que el compuesto **9** produce una considerable disminución de la actividad locomotora en un 37, 46, 52 y 58 % respectivamente en cada dosis. Estos datos ponen de manifiesto que el compuesto (*E*)-9-estirilcarboxamido-6,8-dioxo-7-propil-1,3,4,6,7,8-hexahidro-2*H*-pirimido[1,6-*a*]pirimidina (**9**) posee un efecto depresor sobre la conducta locomotora, esto probablemente por su efecto sobre núcleos motores centrales o a nivel periférico lo cual se demostró en el modelo experimental de laberinto elevado en cruz y en el de locomoción en campo cerrado.

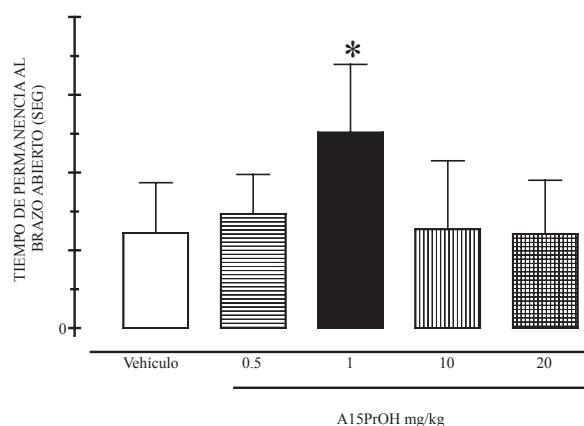


Fig. 5.

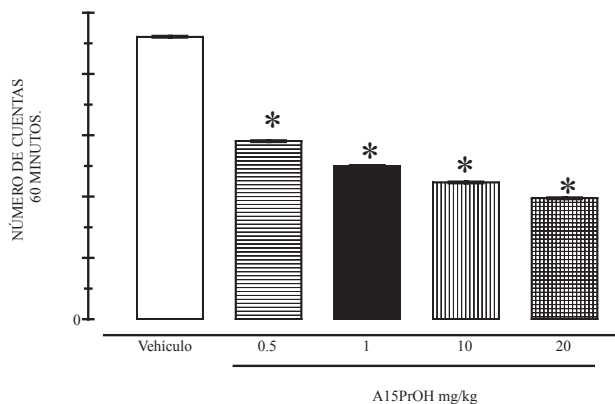


Fig. 6.

Parte experimental

Los puntos de fusión fueron determinados en un fusiómetro Melt-temp; se empleó la escala de grados centígrados, utilizando la técnica de capilar abierto y no fueron corregidos. Los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C se realizaron en un espectrómetro Varian a 400 y 100 MHz respectivamente utilizando DMSO- d_6 y CDCl_3 como disolventes y las señales de los protones remanentes de los disolventes deuterados se utilizaron como referencia interna. Los espectros de UV-Vis. fueron determinados en un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda Bio 40 empleando soluciones etanólicas al 98 %; las longitudes de onda se expresan en nm. Los espectros de infrarrojo se midieron en un espectrofotómetro Shimadzu FTIR-8400; los datos se expresan en cm^{-1} . Los espectros de masas se determinaron a 70 eV en un espectrómetro Hewlett Packard 5989 A, acoplado a un cromatógrafo de gases Hewlett Packard 5990 serie II; los datos se expresan en relación m/z .

6-amino-3-propiluracilo (5). En un matraz de fondo redondo de 125 mL provisto de refrigerante para reflujo se preparó una suspensión de 6-aminouracilo (2.54 g, 20 mmol), HMDS (6.5 mL, 30 mmol) y $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0.243 g, 1.92 mmol); la mezcla se calentó bajo atmósfera de argón y se agitó magnéticamente hasta llegar a reflujo con lo cual se obtuvo una solución transparente y homogénea. Después de 15 min se disminuyó la temperatura (40-50 °C), se añadió nPr-I (1.9 mL, 20 mmol) y nuevamente se calentó hasta reflujo. La reacción fue seguida por cromatografía en capa fina (usando como eluyentes $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ 9:1) hasta que desapareció la materia prima (aprox. 3 h). Se dejó enfriar hasta 40 °C y se añadió 10 mL de solución saturada de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (45 g / 100 mL) con lo cual se obtuvo una suspensión que se agitó durante 30 min y a continuación se agregaron lentamente 20 mL de solución saturada de NaHCO_3 . Se filtró al vacío, se enjuagó con agua fría, hexano y finalmente con éter dietílico. Rendimiento: 92 %. Polvo blanco amorfo: pf 267-269 EC (lit. 275 °C [9]); UV (EtOH) λ_{max} (ϵ) 261 (3508) nm; IR (KBr) ν_{max} 2930, 1741, 1631 cm^{-1} ; RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 6.32 (2H, b, $-\text{NH}_2$), 4.53 (1H, s, H-5), 3.59 (2H, t, $-\text{CH}_2-\text{N}_3$, $J=7.32$ Hz), 1.46 (2H, m, -

CH_2CH_3 , 7.32 Hz), 0.80, (3H, t, $-\text{CH}_3$, $J=7.32$ Hz); RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ 163.67 (C-4), 154.53 (C-2), 151.92 (C-6), 74.66 (C-5), 21.52 ($-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 11.73 ($-\text{CH}_3$); EM-IE: m/z (int. rel.): 169 $[\text{M}]^+$ (22), 127 (100).

6-amino-5-nitroso-3-propiluracilo (6). En un matraz de 100 mL equipado con embudo de adición se disolvió **5** (5 mmol, 0.84 g) en 20 mL de AcOH al 80 % y se comenzó a agregar NaNO_2 (10 mmol, 0.69 g) disuelto en 5 mL de agua, durante 45 min. Al finalizar la adición de NaNO_2 se agitó vigorosamente durante 40 min más y se enfrió a 0 °C; con lo cual se formó un precipitado que se filtró al vacío y se lavó con agua fría. Se secó en un desecador al alto vacío. Rendimiento: 85%. Polvo amarillo amorfo: pf > 300 °C; UV (EtOH) λ_{max} (ϵ) 320 (5920) nm; IR (KBr) ν_{max} 3294, 3185, 1511 cm^{-1} ; RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 11.37 (1H, b, $\text{N}_1\text{-H}$), 3.79 (2H, t, $-\text{CH}_2-\text{N}_3$, $J=7.32$), 1.60 (2H, m, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $J=7.32$), 0.89 (3H, t, $-\text{CH}_3$, $J=7.32$); RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ 161.84 (C-4), 150.27 (C-2), 145.49 (C-6), 140.31 (C-5), 40.23 ($-\text{CH}_2-\text{N}_3$), 21.37 ($-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 11.76 ($-\text{CH}_3$).

5,6-diamino-3-propiluracilo (7). En un matraz de 100 mL, se preparó una solución de 6-amino-5-nitroso-3-propiluracilo (**6**) (10 mmol, 1.98 g) en 40 mL de NH_4OH al 6% aq.; la solución color rojo intenso se calentó hasta que alcanzó una temperatura cercana a los 80 °C y enseguida se comenzó a agregar el $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ (3 equivalentes, 0.522 g) en pequeñas porciones durante 10 min al cabo de los cuales la reacción se decolora. Inmediatamente después el crudo de reacción se concentró al vacío y el precipitado cremoso que se obtiene se filtró rápidamente al vacío y se sometió a la próxima reacción debido a su inestabilidad ante el ambiente. Rendimiento: 60-65%. Agujas cristalinas amarillas que descomponen antes de fundir.

(E)-6-amino-5-estirilcarboxamido-3-propiluracilo (8). En un matraz de fondo redondo, se preparó una suspensión de 5,6-diamino-3-propiluracilo (**7**) (6.5 mmol, 1.19 g), ácido *trans*-cinámico (6.5 mmol, 1.18 g) y EDC (6.5 mmol, 1.2 g) en 20 mL de CH_3OH y se agitó vigorosamente, la reacción se siguió por placa ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ 9:1) hasta que se comprobó la desaparición de la materia prima (aprox. 10 h) y la formación de una nueva suspensión, que se enfrió a 0 °C para generar un precipitado, que se filtró al vacío dentro de la campana de extracción y al final se enjuagó con agua fría y con CH_3OH helado. Se secó al alto vacío. Rendimiento: 76%. Polvo blanco amorfo, descompone antes de fundir; UV (EtOH) λ_{max} (ϵ) 272 (6670) nm; IR (KBr) ν_{max} 3318, 3187, 1648 cm^{-1} ; RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 8.7 (1H, NH estirilamida), 7.41 (6H, m, 5 arom. y BCH=), 6.85 (1H, d, BCH=, $J=16.08$), 6.11 (2H, $-\text{NH}_2$), 3.6 (2H, t, Et- CH_2-N , $J=6.2$), 1.5 (2H, m, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $J=7.32$), 0.81 (3H, t, $-\text{CH}_3$, $J=7.32$); RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz): δ 165.58 (C=O estirilamida), 161.15 (C-4), 150.49 (C-6), 150.39 (C-2), 139.44 ($-\text{CH}=\text{}$), 135.50 (arom.), 130.04 (arom.), 129.55 (arom.), 128.04 (arom.), 122.93 ($=\text{CH}-$), 87.69 (C-5), 40.20 (Et- CH_2-N), 21.50 ($-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 11.76 ($-\text{CH}_3$).

(E)-9-estirilcarboxamido-6,8-dioxo-7-propil-1,3,4,6,7,8-hexahidro-2H-pirimido[1,6-a]pirimidina (9). En un matraz de 100 mL se disolvió **8** (1 mmol, 0.314 g) en 6 ml de DMF, se agregó K₂CO₃ (2 mmol, 0.27 g) y posteriormente se añadió Br(CH₂)₃Br (1.5 mmol, 0.15 mL) y se agitó vigorosamente; la reacción se siguió por CCF con el mismo sistema de eluyentes utilizado, hasta que se consumió el material de partida. Se agregó 50 mL de agua destilada, se enfrió a 0 °C y se formó un precipitado blanquecino que posteriormente se filtró al vacío. Una vez seco, se disolvió en 50 mL de CH₂Cl₂ y se concentró en el rotavapor, se purificó por columna cromatográfica usando un sistema de eluyentes de acetona: hexano (2:3). Se concentró y secó al alto vacío, recristalización en CH₃OH caliente. Rendimiento: 61%. Aguja blancas: pf 134-136 °C; UV (EtOH) λ_{max} (ε) 270 (5844) nm; IR (KBr) ν_{max} 3420, 2957, 1696, 1690, 958 cm⁻¹; RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 8.2 (1H, b, N-H estirilamida), 7.53 (1H, d, -CH=), 7.3 (5H, m, 5 arom.), 6.9 (1H, N-H), 6.75 (1H, d, -CH=), 3.79 (2H, t, -CH₂-N7, J= 6.2), 3.78 (2H, t, -CH₂-N1, J= 6.2), 3.34 (2H, t, -CH₂-N4, J= 6.2), 1.61 (2H, m, -CH₂CH₃, J= 7.32), 0.87 (3H, t, -CH₃, J= 7.32); RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ 166.21 (C=O estirilamida), 59.02 (C-8), 150.02 (C-6), 147.3 (C-10), 139.44(-CH=), 134.6 (arom.), 129.9 (arom.), 128.8 (arom.), 127.9 (arom.), 120.18, 141.6 (2C, =CH-), 89.62 (C-9), 43.04 (-CH₂-N7), 40.92 (C-2), 39.22 (C-4), 21.33 (-CH₂CH₃), 11.43 (-CH₃); EM-IE: m/z (int. rel.): 354 [M]⁺ (30.5), 223 (100), 181 (21.3), 110 (24).

Agradecimiento

Los autores agradecen a VIEP-BUAP el apoyo otorgado para el proyecto VIEP II-58G02. A. M-Z. Agradece a CONACYT el apoyo económico a través de la beca-crédito 121993.

Referencias

1. Woods, J. H.; Katz, J. L.; Winger, G. *Pharmacological Reviews* **1987**, *39*, 251-419.
2. Yacoubi, N. E.; Ledent, C.; Parmentier, M.; Costentin, J.; Vaugeois, J. M. *Psychopharmacology* **2000**, *148*, 153-163.
3. Simo, J.; Rybar, A.; Alföldi, J. *Synthesis* **1995**, 837-839.
4. Svenningsson, P.; Le Moine, C.; Fisone, G.; Fredholm, B. B. *Prog. Neurobiol.* **1999**, *59*, 355-399.
5. Muñoz-Z., A.; Sandoval-R., J.; Parra-C., C.; Limón-P., D. *Rev. Soc. Quím. Méx.* **2002**, *46*, 131-135.
6. Sandoval-R., J.; Müller, C. E. *Synthesis*, **1995**, 1295-1299.
7. Hayallah, A. M.; Sandoval-R., J.; Reith, U.; Schobert, U.; Preiss, B.; Schumacher, B.; Daly, J. W.; Müller, C. E. *J. Med. Chem.* **2002**, *47*, 1500-1510.
8. Müller, C. E. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *45*, 6539-6540.
9. Nakanishi, K.; Solomon, P. H. en *Infrared Absorption Spectroscopy*, Holden day Inc. New York, **1977**.
10. Friebolin, H., en *Basic One- and Two-Dimensional NMR Spectroscopy*. VCH Publ. New York. **1993**.
11. Weyler, S.; Hayallah, A. M.; Müller, C. E. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 47-54.
12. Pellow, S.; Chopin, P.; File, S. *J. Neurosci. Meth.* **1985**, *14*, 149-167.
13. Silva-G., A.; Bermúdez, M.; Quirino, R.; Srivastava, L. K.; Flores, G. *Brain Res.* **2003**, *973*, 285-292.

Investigación

A chemical study of the mycelium of *Alternaria tagetica*

Gabriela Arana-López, Marcela Gamboa-Angulo, Karlina García-Sosa, Fabiola Escalante-Erosa, Luis M. Peña-Rodríguez *

Grupo de Química Orgánica, Unidad de Biotecnología, Centro de Investigación Científica de Yucatán. Calle 43 # 130 Col. Chuburná de Hidalgo, Mérida, Yucatán, México 97200. Email: lmanuel@cicy.mx

Recibido el 9 de septiembre del 2003; aceptado el 2 de diciembre del 2003

Abstract. Purification of the ethyl acetate extract of the mycelium of *Alternaria tagetica* resulted in the isolation of two major components, identified as ergosterol endoperoxide (**1**) and a complex mixture of triglycerides (**5a-5f**). While the former was identified by comparing its spectroscopic data with those in the literature, individual triglycerides were identified after careful analysis of their FABMS data and the results obtained from the GC/MS analysis of their hydrolysis products.

Key words: *Alternaria tagetica*, mycelium, ergosterol endoperoxide, triglycerides, marigold, fatty acids.

Resumen. La purificación del extracto de acetato de etilo del micelio de *Alternaria tagetica* resultó en el aislamiento de dos componentes mayoritarios, identificados como endoperoxido de ergosterol (**1**) y una mezcla compleja de triglicéridos (**5a-5f**). La identificación se realizó mediante la comparación de sus datos espectroscópicos con los de la literatura. Los triglicéridos fueron identificados después de un análisis cuidadoso de sus datos de FABMS y los resultados obtenidos en el análisis de GC/MS de sus productos hidrolizados.

Palabras clave: *Alternaria tagetica*, micelio, endoperoxido de ergosterol, triglicéridos, Cempazuchitl, ácidos grasos.

It is estimated that more than 75% of plant diseases are caused by fungal infections. This causes a lower production of economically important crops and limits agricultural development [1-5]

One phytopathogen of significant economical importance is *Alternaria tagetica* Shome & Mustafee, recognized as the causal agent of early blight in stems, leaves and flowers of marigold (*Tagetes erecta*) plants. Pigments extracted from marigold flowers are widely used in the textile and food industries and it has been reported that *A. tagetica* infections can cause up to a 100% reduction in the yield of flower pigments [6,7,8]

Although there exist in the literature several reports on the phytotoxic metabolites of *A. tagetica* when grown in liquid culture [9,10], to date there is no chemotaxonomic knowledge on the mycelium of this fungus. We wish to report herein the isolation and identification of ergosterol endoperoxide (**1**) and a complex mixture of triglycerides (**5a-5f**) as the major chemical components of the mycelium of *A. tagetica*.

Results

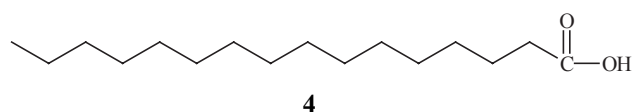
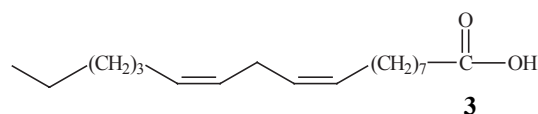
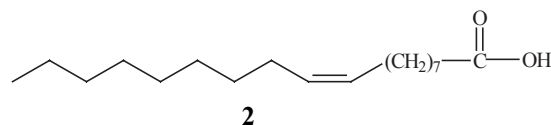
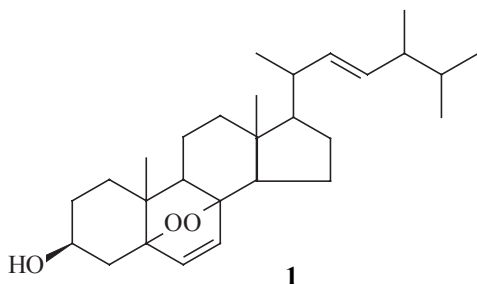
Initial solvent partition of the ethyl acetate extract of the mycelium of *A. tagetica* using hexane and ethyl acetate, produced the corresponding low and medium-polarity fractions. Purification of the low polarity fraction yielded two major components in pure form. The spectroscopic data of the most polar component was in agreement with those reported in the literature for ergosterol endoperoxide (**1**) [11,12], a product known to be an artifact resulting from the spontaneous reaction between ergosterol and

atmospheric oxygen [13] or through simultaneous photooxidation and enzymatic reactions [14].

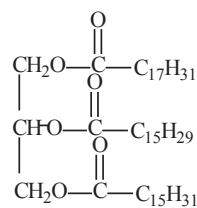
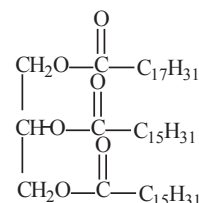
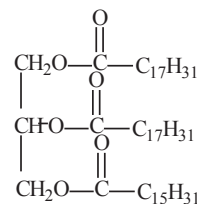
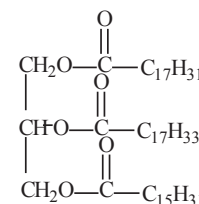
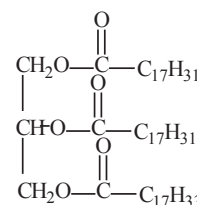
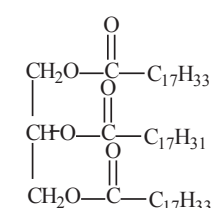
The IR spectrum of the less polar and most abundant component presented characteristic ester-group absorption bands at 1739 and 1321 cm^{-1} . The presence of an ester group in the structure of the second metabolite was further suggested by two oxygenated methylene signals at δ 4.15 and 4.30 ppm in its ^1H NMR spectrum and the corresponding ester carbonyl-carbon signals at δ 173.43, 173.02 ppm in its ^{13}C NMR spectrum. However, and even though a number of additional signals could be clearly observed in the ^1H NMR spectrum (e.g. vinylic, allylic, and methyl-group protons), it was evident that there were significant differences in their integration values, thus indicating the presence of more than one product. A number of attempts were made to separate the mixture into its individual components, including extensive tlc analysis and chemical modification of the mixture, but they all proved unsuccessful. Still, the spectroscopic data strongly suggested that the second component was of a triglyceride nature.

Alkaline hydrolysis of the second component yielded the expected product of higher polarity on tlc, thus confirming the triglyceride nature of the starting material. The IR spectrum of the hydrolysis product showed the characteristic band for a carboxylic acid carbonyl group at 1707 cm^{-1} and the lack of absorption bands in the ester region of the spectrum. Similarly the ^1H NMR spectrum of the hydrolysis product showed no signals corresponding to oxygenated methylenes or methines, while the signals corresponding to vinylic, allylic and aliphatic methylenes and methyl protons remained with chemical shift values similar to those observed in the spectrum of the original triglyceride.

A GC/MS analysis of the hydrolysis product showed the presence of two major components in a 2:1 ratio. The mass spectrum of the major component ($t_R = 23.07$ min) presented two molecular ion peaks at m/z 280 and 282, while the minor component ($t_R = 20.85$ min) showed a molecular ion peak at m/z 256. These data indicated that the major component of the hydrolysis product was in fact a mixture of two fatty acids, oleic ($C_{18}H_{34}O_2$, **2**), acid linoleic ($C_{18}H_{32}O_2$, **3**); while the minor component was identified as palmitic acid ($C_{16}H_{32}O_2$, **4**).



A FAB-MS analysis of the original triglyceride showed the presence of six protonated molecular ion peaks at m/z 829, 831, 855, 857, 881 and 883, together with four distinct protonated fragments ion peaks at m/z 281, 279, 253 and 258. The presence of the four fragment ions, combined with the results of the GC/MS analysis of the hydrolysis product, allowed for the identification of the four fatty acids (oleic, linoleic, palmitoleic and palmitic acid) present in the triglyceride. Taking into account a triglyceride structure and the molecular ion peaks observed in the FAB-MS of the second component, there are limited ways in which the four fatty acids can combine with glycerol to produce triglycerides that fit the protonated molecular ion peaks observed in the FAB-MS of the original sample. On the basis of these results the second component can be identified as a mixture of the triglycerides **5a-5f**.

**5a****5b****5c****5d****5e****5f****5**

Discussion

The occurrence of ergosterol endoperoxide (**1**) in the mycelium of *A. tagetica* is not surprising. Fungal mycelial masses are characterized for their high sterol content, with ergosterol being the most abundant component (ca 80-90% of total sterols) [14-16]. Ergosterol is a synthetic precursor of calciferol (Vitamin D₂) a metabolite present in the fruiting body of some edible fungi [16,17].

Phytopathogenic fungi are one of the main causes of economic losses in agriculture and important efforts are being made for the development of fungicides. Taking into account that the majority of the most efficient fungicides work by inhibiting sterol biosynthesis, knowing the sterol composition produced by the fungus represents an important tool for the development of new agents for pathogen control [16].

Taking into account that the triglyceride mixture was obtained in a high percentage (9.7%) from the mycelium of *A. tagetica*, and that 65.3% of the hydrolysis corresponds to linoleic acid, it can be affirmed that 6.5% of the total mycelial mat corresponds to linoleic acid. However, this value is low when compared to the amount of linoleic acid obtained from sunflower, sesame or saffron seeds (35 to 80%) [18,19]. Linoleic acid is a polyunsaturated essential fatty acid, necessary for the development and the normal functioning of animal and human tissue [19].

Saturated and unsaturated C₁₀-C₂₆ fatty acids are synthesized by fungi from carbohydrates, particularly when cultures are maintained in an aerated, sugar-rich, medium with low nitrogen content. The predominant fatty acids are C₁₆ and C₁₈, with palmitic acid being the main C₁₆ acid and both oleic and linoleic acids being the most important C₁₈'s [20,21].

It is important to mention that a significant number of extracts from fungi belonging to the Zigomicetes, Ascomycetes, Basidomycetes and Deuteromycetes, known to produce fatty acid mixtures, have shown nematocidal activity [22]. The mycelial extract of *A. tagetica* has shown activity when tested in the antimicrobial assay; additional evaluations in various assays are underway, the results of these tests will be published in due course.

Materials and methods

General. IR. spectra were determined using a Nicolet Prôtege 460 spectrophotometer. Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) analyses were carried out in a Hewlett Packard 5890 gas chromatograph coupled to a 5971A mass selective detector (GC conditions: column Hp Ultra 1, flow 1 mL/min; oven temp 70 °C to 290 °C; gradient 8 °C/min; injector 290 °C, detector 290 °C). The ¹H NMR (300 MHz) and ¹³C NMR (75 MHz) spectra were recorded in a JEOL Eclipse 300 MHz spectrometer, using CDCl₃ as solvent and tetramethylsilane (TMS) as internal standard. Vacuum liquid chromatography (VLC) [23] was run using tlc-grade silica gel 60 GF₂₅₄ (Merck), while flash column chromatography [24] purifications were run using silica gel (230-400 mesh, Merck).

Fungal material. Cultures of *Alternaria tagetica* Shome & Mustafee (ATCC 58771), grown in liquid CET medium (Casamino acid enriched with a *Tagetes erecta* infusion) for 28 days, at 26 °C and natural light conditions [25], were filtered and the mycelium was frozen immediately.

Extraction and isolation. The frozen mycelial mats from 37 L of culture media were lyophilized and ground to produce 407.7 g of powdered material, which was successively extracted for 24 h with ethyl acetate and methanol using a soxhlet apparatus.

The crude ethyl acetate extract (105.0 g) was suspended in a mixture of water: methanol (9:1, v/v, 10 L) and the resulting aqueous suspension was successively partitioned with hexane (three times, 2:1, v/v) and ethyl acetate (three times, 2:1, v/v) to yield the corresponding low (81.5 g) and medium polarity (10.6 g) fractions, respectively. A portion (10.2 g) of the low polarity fraction was purified by VLC using a gradient elution with mixtures of hexane and acetone, to produce 16 fractions (A-P). Successive purifications of fraction I (113.1 mg) using flash column chromatography (hexane:acetone 80:20 v/v) and preparative tlc (benzene:ethyl acetate 80:20, v/v, eluted twice), yielded a colorless oil, soluble in chloroform, that

appeared as single spot on tlc (R_f 0.35, hexane: chloroform: ethyl acetate (60:20:20 v/v). The pure metabolite was identified as ergosterol endoperoxide (**1**) by comparing its spectroscopic data with those reported in the literature [11,12].

A second portion (70.5 g) of the low polarity fraction was percolated through silica gel (70-230 mesh, Merck) eluting with mixtures of hexane:ethyl acetate of increasing polarity to obtain 12 main fractions (A1-L1). Fraction A1 (24.8 g) was further purified by VLC (5 x 10 cm) using a gradient elution with hexane:acetone mixtures to produce 10.2 g of a colorless oil (Fraction A2), soluble in chloroform, which presented a single component on tlc (R_f 0.47 hexane: ethyl acetate, 95:5). The spectroscopic data of the purified metabolite are the following: IR (CHCl₃): 2929, 2855, 1739, 1464, 1231 cm⁻¹. MS [*m/z* (%): 576 (51.85), 573 (22.00), 552 (35.19), 549 (2.00), 523 (7.41), 439 (15.74), 423 (9.26), 370 (32.11), 314.5 (47.22), 264 (49.07), 195 (17.59, M⁺-C₂₅H₃₃O₃), 109 (26.85, M⁺-C₃₁H₄₇O₃), 61 (100). FAB-MS [*m/z* (%): 881 (0.30), 857 (0.40), 855 (0.42), 831 (0.13), 829 (0.18), 603 (2.50), 601 (2.20), 577 (4.40), 575 (4.17), 551 (1.10), 549 (0.60), 461 (0.83), 391 (5.00), 369 (3.33), 277 (13.33), 185 (100), 149 (4.58), 93 (95.83), 75 (19.17), 57 (10.83). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 5.32 (m), 4.30 (dd, *J*=4.32 and 11.9 Hz), 4.15 (dd, *J*= 5.9 and 11.9 Hz), 2.77 (t, *J*= 6.0 Hz), 2.32 (m), 2.04 (m), 1.62 (s), 1.28 (s), 0.89 (m). ¹³C NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 173.43-173.02 (s), 130.42-128.10 (d), 62.11 (t), 34.40-34.23 (t), 32.12-29.26 (t), 27.43-27.38 (t), 25.84 (t), 25.09-25.05 (t), 22.89-22.77 (t), 14.30 (q).

Hydrolysis of A2. A mixture of A2 (483.4 mg) and 100 mL of 30% methanolic KOH was stirred until complete consumption of starting material was observed on tlc (14 h). The reaction mixture was diluted with 100 mL of water and the resulting suspension was extracted twice with 250 mL of ethyl acetate. The organic layer was washed with distilled water (100 mL), saturated solution of NaCl (500 mL) and dried over anhydrous Na₂SO₄. Although the crude hydrolysis product (A3, 357.4 mg) showed a single spot on tlc (R_f 0.3 hexane:acetone, 85:15, v/v), GC/MS analysis indicated the presence of at least two major products [*t_R* 20.84 (A4) and 23.07 (A5) min]. Mass spectral data for each component are shown below:

A4. LREIMS [*m/z* (%): 256 [M]⁺ (35.56), 240 (7.78), 213 (15.56), 185 (12.22), 129 (38.89), 97 (14.44), 73 (82.22), 60 (100), 14 (37.78). **A5.** LREIMS [*m/z* (%): 280 [M]⁺ (13.33), 95 (35.56), 60 (100), 41 (84.44).

Acknowledgements

The authors wish to thank Prof. Peter G. Waterman, University of Strathclyde, Glasgow, Scotland, and Dr. Guillermo Delgado, Instituto de Química, UNAM México, for ¹H and ¹³C NMR spectra. The financial support from Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología is also gratefully acknowledged.

References

1. Sherf, A.; MacNab A. *Vegetable Diseases and Their Control*, 2nd Ed. United States of America **1986**, pp: 1-2.
2. Herrera T.; Ulloa, M. El Reino de los Hongos. En: *Micología Básica y Aplicada* 1^a Ed. México, **1990**, pp: 375-377, 470.
3. Burge, M.N. *Fungi in Biological Control Systems*. 1st Ed., Great Britain, **1988**, pp: 1-7.
4. Ingold, C.T. *The Biology of Fungi*. 4th Ed., Great Britain **1979**, pp. 151-154.
5. Pelczar, M.J.; Reid R.D; Chan, E.C.S. *Microbiology*. 4th Ed., United States of America **1990**, pp: 247, 251, 168.
6. Shome, S.K.; Mustafee, T.P. *Curr. Sci* **1966**, 35, 370-371.
7. Neher, R. *Monograph of the Genus Tagetes (Compositae)*. Ph.D. monograph. Michigan, United States of America **1989**, pp: 149-250.
8. Cotty, P.J.; Misaghi, I.J.; Hine, R.B. *Phytopathology* **1983**, 73, 1326-1328.
9. Gamboa-Angulo, M.M.; García-Sosa, K.; Alejos-Gonzalez, F.; Escalante-Erosa, F.; Delgado-Lamas, G.; Peña-Rodríguez, L.M. *J. Agric. Food. Chem.* **2001**, 49, 1228-1232.
10. Gamboa-Angulo, M.M.; García-Sosa, K.; Alejos-González, F.; Escalante-Erosa, F.; Delgado-Lamas, G.; Peña-Rodríguez, L.M. *J. Nat. Prod.* **2001**, 63, 117-1120.
11. Ayer, W.; Peña-Rodríguez, L. *Phytochemistry* **1987**, 26, 1353-1355.
12. Lobo, A.M.; Macedo de Abreu, P.; Prabhakar, S.; Godinho, L.S.; Jones, R.; Rzepa, H.S.; Williams, D.J. *Phytochemistry* **1988**, 27, 3569-3574.
13. Peña-Rodríguez, L.M. Bioactive Metabolites of *Alternaria brassicae* and *Monocillium nordinii*. Ph.D. Thesis, University of Alberta., Edmonton, Alberta **1985**.
14. Turner, W.B.; Aldrige, D.C. *Fungal Metabolites II*. 1st Ed., Great Britain 1986, pp: 314-315; Debieu, D.; Gall, C.; Gredt, M.; Bach, J.; Malosse, C.; Leroux, P. *Phytochemistry* **1992**, 31, 1223-1233.
15. Debieu, D.; Gall, C.; Gredt, M.; Bach, J.; Malosse, C.; Leroux, P. *Phytochemistry* **1992**, 31, 1223-1233
16. Trigos A. *Rev. Latinoam. Quím.* **1995**, 24, 141-147
17. Ikan R. *Natural Products: a Laboratory Guide*. 2nd Ed. United States **1991**, pp:143-159 .
18. Merck Index, 9th Ed, United States of America, **1976**.
19. Egan, H.; Kirk, R.; Sawyer, R. *Análisis Químico de Alimentos de Pearson*, México **1988**, pp: 1-586.
20. Dembitsky, V.; Shubina, E.; Kashin, A. *Phytochemistry* **1992**, 31, 845-849.
21. Kahlos K. *Mycological Research* **1996**, 100, 23-26.
22. McMurry, J. *Química Orgánica*. 3th Ed. México **1994**, pp: 1055-1071.
23. Pelletier, W.; Chokshi, H.; Desai, H. *J. Nat. Prod* **1986**, 49, 849-900.
24. Still, C.; Kahn, M.; Mitra, A. *J. Org. Chem* **1978**, 43, 2923-2925.
25. Granja-Pérez, P.E. Aislamiento e Identificación de Metabolitos Producidos por *Alternaria tagetica* Shome & Mustaffe y Optimización de las Condiciones de Cultivo del Hongo. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Yucatán, México. 1997.

Investigación

Inestabilidad de muestras obtenidas durante la hidrodesintegración de residuos del petróleo

María T. Gómez,¹ Gustavo Marroquín,^{1,2} Jorge Ancheyta,^{1,*} Marco I. Soto,¹ Guillermo Centeno^{1,3}

¹ Instituto Mexicano del Petróleo, Eje Central Lázaro Cárdenas 152, México, D. F. 07730, Fax: (55) 9175-8429, E-mail: jancheyt@imp.mx

² Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada - IPN, Legaria 694, México, D. F. 11500

³ Instituto Tecnológico de Ciudad Madero, Juventino Rosas y Jesús Urueta, Col. Los Mangos, Cd. Madero, Tamaulipas, 89440 México

Recibido: 29 de abril 2003; aceptado: 11 de diciembre del 2003

Resumen. En este trabajo se estudió la estabilidad de muestras obtenidas durante la hidrodesintegración catalítica del residuo de vacío del crudo Maya. La estabilidad se analizó mediante la cuantificación del contenido de sedimentos totales con el método ASTM D 4870, al cual se le hicieron ligeras modificaciones en cuanto a la cantidad de muestra y el tiempo de filtración. Las pruebas experimentales se realizaron por dos analistas en diferentes días. Con base en un análisis estadístico se encontró que el método presenta buena repetibilidad y la muestra permanece estable cuando las determinaciones se realizan en los dos primeros días de almacenamiento. Para tiempos mayores a dos días se tuvo inestabilidad en la muestra, lo que se atribuyó a la polimerización de las olefinas.

Palabras clave: estabilidad, sedimentos, hidrodesintegración.

Abstract. In this work the stability of samples obtained during the catalytic hydrocracking of Maya vacuum residue was studied. The stability was analyzed by means of the quantification of total sediments with the ASTM D 4870 method, in which some modifications in terms of amount of sample and filtration time were done. The experimental tests were carried out by two analysts in different days. On the basis on a statistical analysis good repeatability of the method was found and the sample remains stable when determinations were conducted in the first two days of sample storage. For periods of time higher than two days the sample exhibited instability, which was attributed to olefins polymerization.

Key words: stability, sediments, hydrocracking

Introducción

El procesamiento de crudos en los centros de refinación, a través de los años ha conducido a la necesidad de utilizar crudos cada vez más pesados, y por consiguiente ha crecido la problemática para la infraestructura con que cuentan las refinerías; por esta situación y con la finalidad de superar este obstáculo, se ha considerado seriamente la necesidad de realizar modificaciones o en muchos casos la instalación completa de nuevas unidades de proceso [1].

Las consideraciones ambientales requieren del desarrollo de catalizadores y procesos mejorados para la eliminación de heteroátomos y convertir las cargas de hidrocarburos a productos con menor intervalo de ebullición [1-3]. Es muy importante la eliminación de impurezas metálicas como vanadio, níquel y hierro, puesto que se conoce ampliamente el efecto adverso que tienen estos compuestos en la actividad de los catalizadores que se usan en procesos dentro de la refinería tales como hidrotratamiento, hidroconversión y desintegración catalítica FCC, principalmente.

Existe un número importante de tecnologías disponibles para convertir residuos del petróleo a destilados ligeros. La capacidad mundial de procesamiento de residuos casi ha alcanzado el doble de su valor en los últimos 10 años logrando un nivel cercano a los 14 millones de barriles por día. En México,

la capacidad total para conversión de residuos corresponde al 2.74% de la capacidad mundial. Para el procesamiento de residuales se cuenta con dos unidades de hidrodesintegración que corresponden al 18.35% de la capacidad nacional de conversión de residuos y al 0.5% de la capacidad mundial [4-6].

La demanda creciente para producir destilados que generan combustibles más limpios utilizando como carga los residuales del petróleo, conduce a una hidroconversión de estos residuales a temperaturas más altas [7]. Sin embargo, a condiciones más severas se tienen serios problemas operacionales, tales como la deposición del coque sobre el catalizador, así como la formación de lodos o sedimentos en los productos de reacción [8], lo cual puede ocasionar problemas de inestabilidad de los mismos.

La estabilidad de un aceite residual se define como su habilidad para evitar la formación de lodos durante su manejo y almacenamiento. En un aceite residual estable no hay apilamiento o interacción entre las micelas formadas a partir de los asfaltenos. La propiedad que está directamente relacionada con este impedimento para formar micelas es la aromaticidad, es decir, el tipo y número de moléculas aromáticas presentes en la fase aceitosa. Así, un aceite debe poseer un cierto nivel de aromaticidad para lograr que los asfaltenos se encuentren en suspensión y no precipiten; por debajo de dicho nivel las micelas tienden a aglomerarse y a formar residuos con aspecto de lodo [9].

El fenómeno de la inestabilidad de productos del petróleo se asocia invariablemente con la composición química y con las propiedades físicas de los componentes. La inestabilidad ocurre debido a la baja resistencia del producto a influencias ambientales durante su almacenamiento o bien por la susceptibilidad a procesos oxidativos y/o degradativos.

En el caso de los crudos y residuales, los sedimentos y depósitos tienen una relación cercana con los lodos, tanto como sus composiciones lo estén; la principal diferencia parece estar en la naturaleza del material. Existe una suposición frecuente, pero no siempre real, de que los sedimentos se originan de los componentes inorgánicos del petróleo; sin embargo, ellos se pueden formar a partir de los componentes inherentes del aceite crudo, tales como las metaloporfirinas, o bien, por la introducción de contaminantes (Fe y otros metales) que el crudo puede arrastrar durante su transporte por ductos y bombas.

Los sedimentos también se pueden formar a partir de materiales orgánicos, aunque se infiere que se forman principalmente de materiales inorgánicos entre los cuales están las sales, arena, corrosión y otros contaminantes que son insolubles en el crudo y se asientan en el fondo de los recipientes de almacenamiento.

Como se mencionó anteriormente, la inestabilidad del crudo y sus productos se manifiesta en la formación de lodos, sedimentos y en general el líquido se torna oscuro. La formación de lodo o sedimento se presenta como alguna de las siguientes formas: (1) material disuelto en el líquido, (2) material precipitado, y (3) material emulsificado en el líquido. Bajo condiciones favorables, el lodo o sedimento se disolverá en el líquido con un incremento potencial de la viscosidad; el lodo o sedimento que es insoluble en el crudo, se puede asentar en el fondo de los tanques de almacenamiento o permanecer en el crudo formando una emulsión.

En la mayoría de los casos la porción más pequeña de los sedimentos se asentará con cierta facilidad; mientras que, la porción más grande permanecerá en el crudo en forma de emulsión.

Se debe enfatizar que la inestabilidad no se encuentra directamente relacionada con el contenido de nitrógeno, oxígeno y azufre. La formación de color, lodo y sedimentos, es el resultado de varios factores, de los cuales el principal podría ser la ubicación y la naturaleza del heteroátomo presente, el cual determina la reactividad [10].

Durante el almacenamiento del producto, los compuestos insaturados se pueden llegar a oxidar en presencia de aire, con lo cual pueden llegar a formar sedimentos. Sin embargo, la adición de un solvente aromático es efectiva en la disminución de la formación de sedimentos durante la hidrodesintegración, en cambio, no se puede evitar la oxidación durante el almacenamiento [11].

Durante la hidrodesintegración catalítica de los residuos, los lodos y sedimentos se producen a través de la hidrodesintegración de resinas y fracciones asfálticas ligeras, así como por la desalquilación de asfaltenos pesados; al reducirse la solubilidad mutua de estos últimos se provoca la sedimentación y la formación de lodos [11,12].

La formación de sedimentos es el mayor problema que se presenta en los reactores durante la hidrodesintegración de resi-

duos del petróleo, por lo que los rendimientos que se obtienen disminuyen por la presencia de lodos. La formación de un líquido aromático pesado es la primera etapa que origina la formación de sólidos o coque en el reactor. Esta formación de sedimentos ocurre debido a la disminución de la solubilidad de los asfaltenos en los maltenos [13]. Además, la solubilidad de hidrógeno en el sólido es más baja que en la fase ligera, lo que origina una pobre transferencia de hidrógeno y un incremento en las reacciones de aromatización y condensación [14, 15].

El enfriamiento de la fase pesada a la salida del reactor produce la precipitación de los sedimentos o sólidos. La continuación de las reacciones químicas en presencia de una deficiencia de hidrógeno origina irremediablemente la formación de conglomerados de partículas sólidas, mismas que se depositan en el interior del reactor [16].

Por otro lado, la presión parcial del hidrógeno tiene como función reducir la selectividad hacia las reacciones de condensación y en consecuencia, producir compuestos altamente insaturados, ya que estas reacciones originan la formación de coque y productos inestables en los equipos de proceso.

Debido a que la formación de sedimentos es de primordial importancia en procesos de hidrodesintegración de residuos, puesto que la continuidad de su operación depende de dicha formación [17], en este trabajo se estudia el fenómeno de inestabilidad en función del contenido de sedimentos en muestras de residuo hidrodesintegrado.

Experimentación

Método de análisis. Para el análisis de sedimentos totales se utilizó el método ASTM D 4870-99 [18], que consiste en pesar originalmente una muestra de hidrocarburo de 11 g con una precisión de 0.01 g, la cual se filtra a vacío a 100°C mediante 2 filtros medium Whatman GF/A de 47 mm de diámetro, previamente pesados con una precisión de 0.0001 g. Al terminar la filtración se procede a lavar la muestra retenida en los filtros. Posteriormente, dicha muestra se seca a 110°C por 20 min, se enfría en un desecador y se pesa con una precisión de 0.0001 g.

Cabe mencionar que la cantidad de muestra indicada en el método ASTM D-4870-99 se modificó, ya que al pesar la cantidad original (11 g), el tiempo de filtración en caliente en algunas ocasiones excedió 25 min y ello indicaba que el análisis de la muestra estaba fuera de método. Por esto la cantidad de la muestra se redujo a 1.5-5.0 g, mejorándose el control en la adición de la misma y reduciendo el tiempo de filtración (<25 min) [19].

Reactivos. Se utilizaron tolueno y *n*-heptano de alta pureza (grado HPLC). El *n*-heptano y el tolueno se mezclaron en una proporción de 85/15% vol. para realizar el lavado de los sedimentos según el método ASTM D-4870 [18].

La razón de emplear reactivos de alta pureza fue para evitar la posible interferencia de las impurezas en los resultados, sin embargo, también se pueden usar reactivos de grado industrial.

Tabla 1. Propiedades de la carga y producto de hidrodesintegración

	Carga	Producto
Peso específico 20/4 °C	1.057	0.997
Insolubles en nC ₇ (asfaltenos), % peso	25.46	14.9
Azufre total, % peso	5.07	3.1
Ni + V, ppm	778.3	336

Muestra problema. La muestra para analizar es un producto de la hidrodesintegración catalítica del residuo de vacío del crudo Maya obtenida a nivel micro-reactor. En la Tabla 1 se presentan las propiedades principales de la muestra hidrodesintegrada así como las de la carga.

Resultados y discusión

Precisión del método. Puesto que se hicieron ligeras modificaciones al método original de análisis (cantidad de muestra y tiempo de filtración) fue necesario realizar pruebas de repetibilidad y reproducibilidad del mismo para establecer su precisión y determinar el error experimental durante el análisis.

La repetibilidad es la precisión de un método analítico expresado como la concordancia entre determinaciones independientes realizadas bajo las mismas condiciones (analista, tiempo, aparato, reactivos, laboratorio, etc.). Se determina mediante el análisis de una misma muestra repetida veinte veces [20-22].

La reproducibilidad es la precisión de un método expresado como la concordancia entre determinaciones independientes realizadas bajo diferentes condiciones (analista, tiempo, aparato, reactivos, laboratorio, etc.). Se determina mediante el análisis por triplicado de una muestra valorada por dos analistas en dos días diferentes, siendo un total de 12 análisis [20-21].

El criterio de aceptación para tener buenos resultados de repetibilidad y reproducibilidad es que el coeficiente de variación (*CV*) sea menor a 2%. El *CV* se calcula como [20]:

$$CV = \left(\frac{DE}{y} \right) \times 100 \quad (1)$$

Donde la desviación estándar (*DE*) y el valor promedio (\bar{y}) de los diferentes resultados experimentales (y_i) se determinan con las siguientes ecuaciones [20-22]:

$$DE = \left[\frac{N \left(\sum_{i=1}^N y_i^2 \right) - \left(\sum_{i=1}^N y_i \right)^2}{N(N-1)} \right]^{1/2} \quad (2)$$

$$\bar{y} = \frac{\sum_{i=1}^N y_i}{N} \quad (3)$$

Para el caso de repetibilidad, el número de datos experimentales (*N*) es de 20 y para la reproducibilidad de 12.

Las pruebas de repetibilidad para determinar la concentración de sedimentos totales se realizaron diariamente durante dos semanas por un mismo analista, mientras que las pruebas de reproducibilidad se efectuaron por un segundo analista una vez que terminaron las primeras. Cada analista realizó 20 pruebas en diferentes días.

Durante la realización de los análisis la muestra presentó señales de inestabilidad, ya que conforme transcurrían los días se obtenía mayor cantidad de sedimentos. Este comportamiento puede ser porque la muestra contenía una cantidad considerable de productos ligeros o también la inestabilidad puede ocurrir debido a la baja resistencia del producto a influencias ambientales durante su almacenamiento.

En la Tabla 2 se presentan los resultados obtenidos por los dos analistas durante diferentes días de análisis. Se observa que con el analista 1 se obtuvieron valores de sedimentos entre 0.80 y 0.91 % peso, y con el analista 2 los valores estuvieron

Tabla 2. Resultados experimentales de cuantificación de sedimentos totales

No. de análisis	Días	Sedimentos (% peso) Analista 1	Días	Sedimentos (% peso) Analista 2
1	1	0.80	9	0.97
2	1	0.82	9	0.99
3	1	0.82	9	1.01
4	1	0.81	9	0.97
5	2	0.84	13	1.09
6	2	0.85	13	1.14
7	2	0.84	13	1.10
8	2	0.86	13	1.14
9	2	0.86	14	1.19
10	2	0.85	14	1.07
11	3	0.86	14	1.22
12	3	0.85	14	1.25
13	6	0.86	15	1.17
14	6	0.87	15	1.18
15	7	0.87	15	1.23
16	7	0.88	15	1.24
17	7	0.89	16	1.30
18	7	0.89	16	1.25
19	7	0.90	16	1.24
20	7	0.91	16	1.25
Valor mínimo		0.80		0.97
Valor máximo		0.91		1.30
Diferencia		0.11		0.33
Promedio		0.8565		1.1500
Varianza		0.0009		0.0108
Desviación estándar		0.0296		0.1040

Tabla 3. Valores estadísticos de la repetibilidad

Variables	Analista 1	Analista 2
$\sum y_i$	17.13	23.00
$\sum y_i^2$	14.69	26.66
N	20	20
y	0.86	1.15
DE	0.0296	0.1040
$CV, \%$	3.46	9.05

entre 0.97 y 1.30 % peso. El analista 1 obtuvo resultados muy similares en los primeros días de prueba, mientras que con el analista 2 se obtienen valores de sedimentos más altos.

En la figura 1 se observan de manera más clara las diferencias entre los resultados obtenidos por ambos analistas, así como la tendencia que existe al incrementarse los valores de sedimentos conforme transcurre el tiempo.

La determinación de la repetibilidad de los resultados se realizó para cada analista mediante las ecuaciones descritas anteriormente. Los resultados se muestran en la Tabla 3.

Los CV de los dos analistas son mayores al del criterio de aceptación. El valor de CV más bajo se obtuvo con el analista 1, quien realizó los análisis en los primeros días.

Con base en estos resultados se podría pensar que el método no presenta buena repetibilidad, sin embargo, para demostrar lo contrario, se calcularon los CV 's con los contenidos de sedimentos obtenidos por el mismo analista en el mismo día de prueba. En la Tabla 4 se presentan los resultados obtenidos. De esta tabla se observa que con el analista 1 se

cumple con CV con resultados del mismo día, sin embargo, con el analista 2, los valores de CV siguen siendo altos.

Por lo tanto se puede concluir que la repetibilidad se cumple sólo con los análisis realizados en los primeros días. Esto significa que el problema de la variación en el contenido de sedimentos no deriva del método o del analista, sino de otros efectos, tales como la estabilidad de la muestra.

Los resultados de reproducibilidad del método con dos analistas y pruebas realizadas en dos días diferentes se presentan en la tabla 5.

En cada columna se utilizaron los resultados mostrados en la tabla 2 de los dos primeros días para el analista 1 y de diferentes días para el analista 2. Para el analista 1 se usaron los resultados de los días 1 y 2, ya que sólo en esos días se tuvieron un mínimo de tres análisis consecutivos por día.

De estos resultados se observa que el método aparentemente tampoco presenta buena reproducibilidad de los resultados experimentales, ya que los CV 's calculados son mayores al criterio recomendado. Sin embargo, al igual que en la repetibilidad, la reproducibilidad de los resultados de sedimentos pudiera estar influenciada por otros efectos y no por la incorrecta aplicación del procedimiento por parte del analista.

Estabilidad de la muestra

La estabilidad es la propiedad de una muestra de conservar su integridad fisicoquímica y concentración de la sustancia de interés después de almacenarse durante un tiempo determinado bajo condiciones específicas. Se determina por comparación de los resultados de los análisis iniciales de tres muestras con los obtenidos de las mismas muestras después de perma-

Tabla 4. Repetibilidad de análisis realizados en el mismo día

Analista	1			2				
	1-4	5-10	15-20	1-4	5-8	9-12	13-16	17-20
Pruebas	1-4	5-10	15-20	1-4	5-8	9-12	13-16	17-20
y	0.81	0.85	0.89	0.98	1.12	1.18	1.20	1.26
DE	0.0096	0.0089	0.0141	0.0191	0.0263	0.0789	0.0351	0.0271
$CV, \%$	1.18	1.05	1.58	1.94	2.35	6.67	2.91	2.15

Tabla 5. Resultados de la reproducibilidad

Analista	No. de análisis*			
	1-3, 5-7	1-3, 5-7	1-3, 5-7	1-3, 5-7
Analista 1	1-3, 5-7	1-3, 5-7	1-3, 5-7	1-3, 5-7
Analista 2	1-3, 5-7	5-7, 9-11	9-11, 13-15	13-15, 17-19
$\sum y_i$	11.27	11.78	11.88	12.34
$\sum y_i^2$	10.76	11.86	12.09	13.18
y	0.93	0.98	0.99	1.03
DE	0.1254	0.1656	0.1730	0.2117
$CV, \%$	13.35	16.87	17.47	20.59

* Según la tabla 2.

necer almacenadas por un tiempo determinado en diferentes condiciones.

Para análisis químicos el criterio de aceptación para que una muestra se considere estable es que el coeficiente de estabilidad (CE_k) para cada día de análisis (k) tenga un valor de $100 \pm 3\%$. El cálculo de CE_k se realiza de la siguiente manera [20-22]:

$$CE_k = \frac{\sum_{i=1}^3 CE_i}{3} \tag{4}$$

El coeficiente de estabilidad para cada una de las tres muestras (CE_i) se determina de la siguiente manera:

$$CE_i = \frac{C_{i,k}}{C_o} \times 100 \tag{5}$$

donde $C_{i,k}$ es la concentración de sedimentos para la muestra “ i ” en el día de análisis “ k ”, y C_o es la concentración inicial de sedimentos analizada en el primer día.

Para determinar la estabilidad de la muestra se utilizaron los resultados del analista 1 de diferentes días de almacenamiento reportados en la tabla 2 y el procedimiento descrito anteriormente. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 6. Se emplearon los resultados del analista 1 ya que sólo con él se tuvieron valores de concentración inicial (C_o), puesto que el analista 2 inició las determinaciones hasta el día nueve.

Se puede observar que se cumple con el criterio de aceptación sólo en los días 1 y 2, ya que los valores se encuentran dentro del intervalo recomendado. Este analista finalizó las pruebas el día 7 en donde el coeficiente de estabilidad está fuera del intervalo.

Es claro que el valor del CE aumenta con el transcurso de los días de análisis, esto demuestra que el tiempo de almacenamiento afecta de manera importante los resultados de contenido de sedimentos.

Tabla 6. Estabilidad de la muestra para el analista 1

Día de análisis (k)	C_o	1	2	7
Muestra (i)	Concentración de sedimentos ($C_{i,k}$)			
1	0.80	0.82	0.85	0.88
2	0.84	0.82	0.84	0.89
3	0.87	0.81	0.86	0.89
	Coeficientes de estabilidad			
CE_1		102.50	106.25	110.00
CE_2		97.62	100.00	105.95
CE_3		93.10	98.85	102.30
$CE, \%$		97.74	101.70	106.08

Lo anterior significa que la estabilidad de la muestra únicamente se presenta en los primeros días de análisis, lo cual confirma la buena repetibilidad que se obtuvo con los resultados del analista 1 en estos días.

En la figura 1 se muestra también una curva que representa la tendencia de todos los valores de sedimentos ($\%Sed$) en función del tiempo (t). Esta curva se ajustó adecuadamente al siguiente polinomio de tercer orden con un valor de $R^2 = 0.9643$:

$$\%Sed = 0.843 - 1.188 \times 10^{-2}t + 3.452 \times 10^{-3}t^2 - 6.749 \times 10^{-5}t^3$$

la derivada de la ecuación anterior es:

$$\frac{d\%Sed}{dt} = -1.188 \times 10^{-2} + 6.905 \times 10^{-3}t - 2.025 \times 10^{-5}t^2$$

Para determinar el tiempo en el que el contenido de sedimentos no cambia, es decir, cuando la muestra no presenta problemas de estabilidad, la ecuación (7) se iguala a cero ($d\%Sed/dt = 0$), y de la expresión resultante se despeja el tiempo, el cual para este caso resultó ser de $1.82 \approx 2$ días. Esto implica que la estabilidad de la muestra se tiene sólo hasta el segundo día de almacenamiento.

Se sabe que una fracción del petróleo hidrodesintegrada (como la utilizada en este estudio) puede formar gomas debido a la polimerización de olefinas después que transcurre cierto periodo de tiempo, y éstas intervienen en su estabilidad. Este fenómeno puede ser una de las causas de la inestabilidad de este tipo de muestras durante el almacenamiento [23-24].

Por lo tanto, la inestabilidad de estas muestras se puede atribuir también al grado de insaturación de las mismas (nivel de especies olefinicas). Para verificar lo anterior, se realizaron análisis del número de bromo de las muestras a diferentes tiempos de almacenamiento. Cabe mencionar que el número

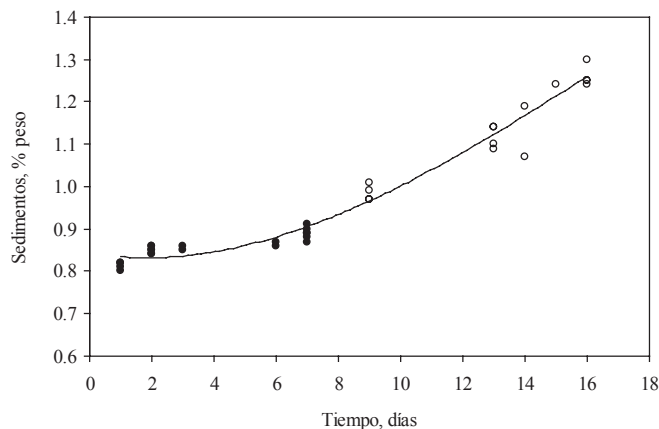


Fig. 1. Comportamiento del contenido de sedimentos con el transcurso del tiempo. (●) Analista 1, (○) Analista 2, (—) Ajuste a un polinomio de tercer orden.

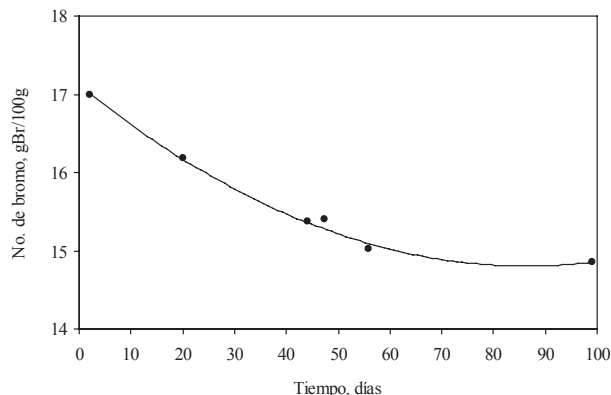


Figura 2. Número de bromo del producto en función del tiempo.

de bromo es un indicativo del contenido de compuestos insaturados presentes en una muestra.

En la figura 2 se presenta la variación de esta propiedad respecto al tiempo. Se puede observar en general que el número de bromo de la muestra disminuye con el paso del tiempo, es decir, que la concentración de compuestos insaturados de la misma se reduce, lo cual sugiere que las especies olefínicas se están polimerizando y dicha polimerización finaliza en la formación de gomas, que incrementan el contenido de sedimentos durante el almacenamiento de la muestra.

En los primeros 20 días, que es cuando se hicieron las determinaciones de contenido de sedimentos, se aprecia una reducción de una unidad en el número de bromo, lo cual correspondió a un incremento en el contenido de sedimentos de aproximadamente 0.5 % peso para el mismo periodo de tiempo. La reducción del número de bromo siguió un comportamiento lineal hasta 50 días de almacenamiento, después de este tiempo, el valor de este parámetro se mantiene constante.

Conclusiones

El método ASTM D-4870 para la cuantificación de sedimentos en muestras de hidrocarburos pesados se modificó ligeramente en términos de cantidad de muestra y tiempo de filtración, con lo cual se logró que todos los análisis de muestras provenientes de la hidrodesintegración de residuos estuvieran dentro del método.

Respecto a la precisión del método, se obtuvo un coeficiente de variación menor al 2% sólo en los dos primeros días de análisis. Es decir, que la repetibilidad en los resultados sólo se asegura en los días iniciales.

La estabilidad de la muestra sólo se mantuvo también en los primeros dos días. En consecuencia, la inestabilidad de la muestra afectó la repetibilidad y la reproducibilidad de los resultados de sedimentos, por lo tanto, la variación de los mismos no se atribuye al método empleado o a una incorrecta aplicación del procedimiento por parte de los analistas.

Para tener resultados de sedimentos confiables en este tipo de muestras es recomendable que éstas no se almacenen

por más de dos días, de esta manera el método presentará una buena precisión en las determinaciones.

Referencias

1. Kum, H.; García, J.; Morales, A.; Caprioli L., Galiasso R.; Salazar A. *Boletín Técnico INTEVEP*, Diciembre **1984**, 13, 239-251.
2. Longstaff D.C., Balaji G.V., Kim J.W., Kwak S., Tsai C.H., Hanson F.V., *UNITAR "Heavy Crude and Tar Sands" 6th International Conference (Houston 2/12-17/95) Proceedings*, **1995**, 2, 427-39.
3. Nag N.K. *NPRA Annual Meeting* (San Francisco, California), March 19-21, **1989**.
4. Schulman, B.L.; Dickenson, R.L. *UNITAR 5th International Conference (Caracas 8/4-9/91) Proceedings* **1991**, 4, 105-13.
5. Zambrano, R.G. *XLVI Reunión de Expertos de ARPEL*, Río de Janeiro, Agosto 16-19, **1982**.
6. Pazos, M.J.; Aquino, L.; Pachano, J. *Revista Técnica INTEVEP*, Julio **1981**, 1, 135-141.
7. Saito, K.; Shimizu, S.; *Petrotech* (Tokyo), **1985**, 8, 54-60.
8. Symoniak, M.F.; Frost, A.C. *Oil & Gas J.* March 15, **1971**, 76-81 (1971).
9. Dirección en internet: <http://www.sited92.de/html/essay/main1.htm>
10. Musherush, G.; Speight, J.G. *Petroleum Products: Inestability and Incompatibility*, Taylor & Francis Publishers, Washington, USA, **1995**.
11. Mochida, I.; Zhao, X.-Z.; Sakanishi, K. *Ind. Eng. Chem. Res.* **1990**, 29, 334-337.
12. LePage, J.F.; Morel, F.; Trassard, A.M.; Bousquet, J. *ACS. Div. Petroleum Chem. Prepr.* April 5 **1987**, 2, 470.
13. Pemex-Subdirección de Producción, Taller de actualización tecnológica de hidrodesulfuración y reformación de naftas: Proceso H-Oil, México, Marzo 8-9, **2001**.
14. Aiba, T.; Kaji, H.; Suzuki, T. *Chem. Eng. Prog.* **1981**, 77, 37-44.
15. Miki, Y.; Yamadaya, S.; Oba, M.; Sugimoto, Y. *J. Catal.* **1983**, 83, 371-383.
16. Gray, M.R. *Upgrading Petroleum Residues and Heavy Oils*, Marcel Dekker, Inc., New York, USA, **1994**.
17. Beaton, W. I.; Bertolacini, R. *J. Catal. Rev. Sci. Eng.* **1991**, 33, 281-317.
18. Método ASTM D 4870-99, "Standard Test Method for Determination of Total Sediment in Residual Fuels", **1990**.
19. Gómez, M. T., Ancheyta, J., Marroquín, G., Alonso, F., Centeno, G., *Rev. Soc. Quím. Méx.* **2003**, 47, 124-130.
20. Millar, J. N.; Millar J. C., *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*, 4ª edición, Ed. Prentice Hall, España, **2002**, 4-7, 21-23.
21. Juran, J. M.; Gryna, F. M., *Análisis y Planeación de la Calidad*, 3ª edición, Ed. Mc Gra Hill, México, **1995**, 442-446.
22. Montgomery, D. C., *Diseño y Análisis de Experimentos*, Ed. Iberoamérica, México, **1991**, 18-20.
23. Speight, J.G., *Handbook of Petroleum Analysis*, John Wiley & Sons, New York, USA, **2001**.
24. Mochida, I.; Zhao, X.-Z.; Sakanishi K., *Ind. Eng. Chem. Res.* **1989**, 28, 418-421.

Investigación

Estudio del efecto de distintos promotores en la reacción directa entre silicio y cloruro de metilo

Jorge Cervantes Jáuregui,*¹ Arturo Zizumbo López,² Alberto Florentino Aguilera Alvarado,¹ José Emigdio Frausto Romero,¹ Bonfilio Acosta Solís¹ y Francisco Javier Luna García¹

¹ Facultad de Química, Universidad de Guanajuato. Colonia Noria Alta s/n. Guanajuato, Guanajuato, 36050. México. Tel. 01-473-73-20006, ext. 8113, E-mail: jauregi@quijote.ugto.mx

² Centro de Graduados, Instituto Tecnológico de Tijuana. Blvd. Industrial s/n. Tijuana, Baja California, 22500, México.

Recibido el 25 de junio del 2003; aceptado 16 de diciembre del 2003

Trabajo dedicado a la memoria del Dr. Jacobo Gómez Lara, respetado Maestro y entrañable amigo

Resumen. El dimetildiclorosilano (Me₂SiCl₂, DD), monómero principal en la producción industrial de polisiloxanos, se obtiene a partir de la reacción directa gas-sólido entre silicio y cloruro de metilo, utilizando cobre como catalizador así como diversos promotores. La reacción es conocida como el proceso directo desde su descubrimiento hace poco más de cincuenta años. En este trabajo, se discuten las condiciones más adecuadas para activar el silicio y con ello poder estudiar el efecto de distintos promotores. De estos estudios destaca la importancia del efecto sinérgico de los promotores zinc y estaño como el aspecto clave en la selectividad de la reacción hacia mayores porcentajes de DD. También se discuten condiciones de la reacción mediante las cuales se incrementó sustancialmente el rendimiento sin detrimento de la selectividad. Así mismo, se estudió el efecto que tiene la temperatura sobre la selectividad de la reacción.

Palabras clave: dimetildiclorosilano, activación de silicio, polisiloxanos, reacción directa, promotores

Abstract. Dimethyldichlorosilane (Me₂SiCl₂, DD), the main monomer in the industrial production of polysiloxanes is obtained by a gas-solid reaction between silicon and methyl chloride using copper as a catalyst as well as various promoters. This reaction has been named as the direct process since its discovery about fifty years ago.

We discuss results related to the important role of silicon activation on the direct reaction performance and the effect of several reaction promoters. A synergic effect is observed when zinc and tin are used and they have a strong influence in the reaction selectivity to DD. Reaction conditions to improve the reaction yield without effecting the selectivity are also discussed. The effect of temperature on the reaction selectivity is other important aspect considered in this study.

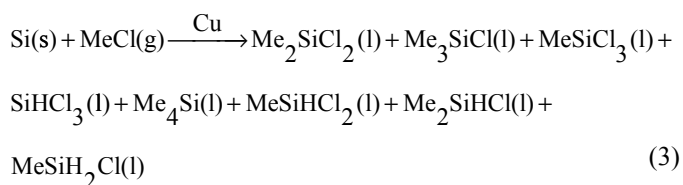
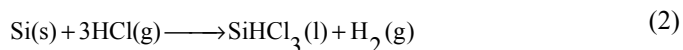
Key words: Dimethyldichlorosilane, silicon activation, polysiloxanes, direct reaction, promoters

Introducción

La reacción entre silicio y cloruro de metilo, en presencia de un catalizador de cobre para obtener principalmente dimetildiclorosilano (DD) como materia prima básica en la industria de los polisiloxanos, fue descubierta de manera independiente por Rochow en los Estados Unidos y por Muller en Alemania [1,2] durante la década de los años cuarenta del siglo anterior, aunque los resultados de su trabajo independiente fueron publicados con algunos años de diferencia.

Dicho proceso es conocido como el "proceso directo" y a la fecha continua siendo usado a gran escala por los principales productores de polisiloxanos en el mundo. Cabe hacer mención que la importancia comercial del proceso directo es tal, que se refleja en un mercado anual cercano a los diez billones de dólares debido al gran impacto en la vida moderna de los polisiloxanos comerciales. Este es pues uno de los casos más exitosos de una reacción catalítica heterogénea gas-sólido.

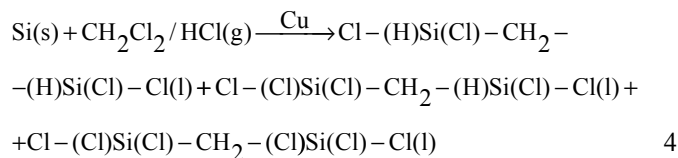
Las reacciones industriales básicas en la química del silicio se indican a continuación:



La reacción 3, que es el motivo de este trabajo, presenta diversas posibilidades en función del gran número de productos que se pueden obtener. Si bien se busca que el producto mayoritario sea el DD, la reacción puede desplazarse hacia la obtención de otros compuestos de gran utilidad, como lo son aquellos en los que está presente el enlace silicio-hidrógeno, tal y como lo han demostrado Kanner y Lewis [3].

Otros autores han reinvestigado la reacción con el propósito de sintetizar otro tipo de compuestos potencialmente útiles

como materias primas en la preparación de nuevos polímeros funcionalizados de silicio. Con tal propósito, Il Nam Jung [4] mostró el efecto de usar cloruro de metileno en fase gaseosa mezclado con cloruro de hidrógeno:



Actualmente, la industria de los polisiloxanos demanda la producción comercial de un silicio cuya calidad asegure altos rendimientos en dimetildiclorosilano. Esto es debido a que la reacción directa es bastante compleja y por esta razón los consumidores de silicio solicitan un control sobre el contenido de sus impurezas, ya que estas juegan un papel fundamental en la reacción [5]. La alta dispersión de impurezas afecta en gran medida la selectividad de la reacción hacia DD.

Si bien existe una gran cantidad de información publicada y patentada relacionada con esta reacción, muchos de sus aspectos fundamentales continúan estudiándose y las experiencias industriales así como muchos de sus fundamentos científicos empezaron a ser compartidas hasta inicios de la década de los noventas. Diversos enfoques sobre la reacción directa desde el punto de vista científico e industrial fueron recopilados por primera vez en un texto editado por Lewis y Rethwisch [6]. De estas experiencias y análisis de la reacción directa, se conoce que la etapa clave de la reacción es la inicial e involucra la activación del silicio, proceso que se define como la incorporación al silicio del catalizador de cobre, de diversos promotores tales como zinc y estaño entre otros, al igual que de activadores, usados estos últimos en cantidades ínfimas que de acuerdo a distintas experiencias, no se puede hablar de un porcentaje específico, mas sin embargo tienen influencia en la reacción. La activación puede realizarse *in situ* en el mismo reactor, o bien efectuarse en una unidad diferente de la que luego habrá que transportar el silicio al reactor bajo atmósfera de nitrógeno. En ambos casos, el silicio se mezcla con el catalizador de cobre y con los diversos promotores, entre los que destacan estaño y zinc, a una temperatura de 300 °C y bajo flujo del gas inerte. A la combinación entre el silicio, el catalizador de cobre y los promotores, se le denomina masa de contacto. La preparación eficiente de esta masa de contacto, se puede realizar mezclando íntimamente el silicio en polvo con el catalizador de cobre y con los promotores, para posteriormente calentarla bajo flujo del gas inerte a la temperatura indicada. Uno de los catalizadores utilizados es el cloruro cuproso, el cual durante la activación, se reduce a cobre metálico con desprendimiento de tetracloruro de silicio gaseoso. El cobre que se produce, se encuentra en un estado muy activo y forma una película muy delgada sobre la superficie del silicio conjuntamente con la formación de una alea-

ción, la que se considera que es la forma catalíticamente activa del cobre. Se ha argumentado que casi todo el cobre formado se transforma en un compuesto intermetálico, conocido como la fase h [7]. Finalmente, la masa de contacto se hace reaccionar con cloruro de metilo el cuál paulatinamente sustituye a la corriente de gas inerte. La temperatura de la reacción normalmente se mantiene en 300 °C. En los laboratorios y en la industria el tipo de reactores usados han sido reactores de lecho fijo o fluidizado. Los estudios sobre el efecto de los promotores en la cinética de la reacción, es un tema que se mantiene en el interés de distintos grupos que investigan el tema [8].

El trabajo que aquí se describe, tiene como antecedentes los estudios iniciados en nuestro grupo en 1986, en los que se obtuvieron los primeros resultados en pequeños reactores de laboratorio, utilizando como materia prima ferrosilicio, que es una aleación comercial de fabricación nacional. Dada la gran cantidad de impurezas que contiene esta aleación, la distribución de productos fue muy alta y la selectividad hacia dimetildiclorosilano muy baja [9]. Posteriormente se realizó otro trabajo en el que el punto central fue el estudio de la reactividad de la masa silicio con cobre o con cloruro cuproso, empleando para ello reactores con cuerpo de cuarzo y como materia prima silicio metalúrgico o aleaciones cobre/silicio. En estos estudios se hizo énfasis, en la preparación de la masa de contacto, y en el estudio por técnicas de microscopía electrónica de barrido, con el fin de realizar observaciones en la superficie del silicio, antes y después del ataque con cloruro de metilo [10].

Uno de los principales problemas en los trabajos anteriores, fue el bajo rendimiento atribuido a una activación del silicio poco eficiente como resultado de la preparación inadecuada de la masa de contacto.

Los objetivos que se establecieron en la presente investigación fueron los siguientes:

La implementación de un método práctico para lograr la activación eficiente del silicio.

Mediante la adición de distintos promotores, investigar la posible relación entre el efecto de su adición, con la selectividad de la reacción.

Establecer las condiciones de reacción adecuadas con el fin de lograr un control sobre la reacción en términos de reproducibilidad, selectividad hacia DD e incremento sustancial del rendimiento.

Estudiar el efecto de la temperatura en la selectividad de la reacción.

Resultados y discusión

En las condiciones generales de operación usadas en el sistema (Fig. 1) se estableció fijar la cantidad de silicio, el tamaño de partícula, el tiempo de reacción y la temperatura de activación. El flujo de cloruro de metilo se varió entre 45 y 50 mL/min, la temperatura de la reacción entre 280 y 300 °C y la cantidad de cloruro cuproso y los promotores de acuerdo a la información reportada en la Tabla 1.

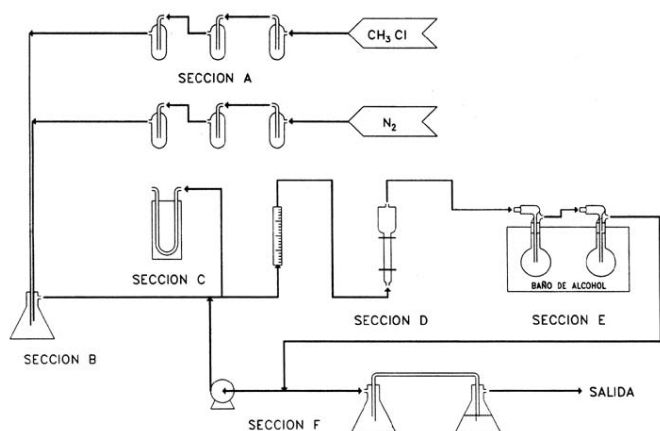


Fig. 1. Sistema de reacción.

Activación del silicio

La preparación de la masa de contacto y como consecuencia el proceso de activación del silicio se realizó tanto en el interior del reactor, como en un sistema separado tal y como se describe en la parte experimental. En los dos casos, la activación fue corroborada al detectarse incrementos en la temperatura de la masa de contacto durante el paso de nitrógeno gas a 300 °C. Los incrementos observados se ilustran en la figura 2, y fueron obtenidos introduciendo un termopar en el seno del lecho conteniendo la masa de contacto. Se utilizó un registrador-controlador de temperatura y como indica el registro, se producen fuertes variaciones en la temperatura como resultado del inicio de la formación de sitios activos en el silicio [11]. Estos incrementos son el resultado de la reducción del cloruro cuproso a cobre metálico, cuya reacción genera además tetracloruro de silicio gaseoso. Como lo indican reportes de la literatura, el cobre reducido está en un estado muy activo y forma una película muy fina sobre el silicio generando la formación

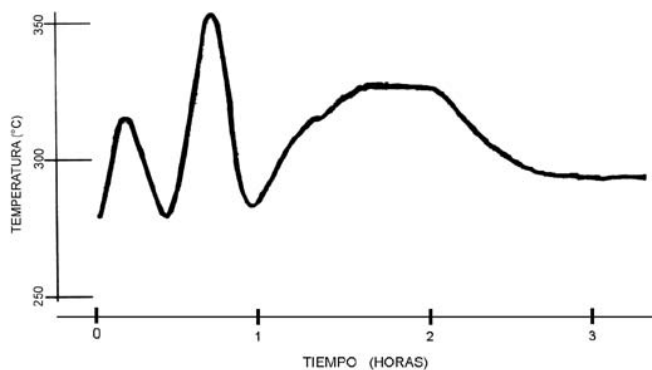


Fig. 2. Activación de la carga de silicio dentro del reactor de acero

de una aleación, que es la forma catalíticamente activa del cobre y en que casi todo se transforma a un compuesto intermetálico Cu_3Si , conocida como la fase [12]. La observación descrita, si bien es simple desde el punto de vista de la complejidad que representa el estudio de la activación del silicio, fue de gran apoyo en el éxito de las pruebas experimentales subsiguientes. El seguimiento físico de la activación del silicio fue un método práctico mediante el cual se pudo corroborar si la preparación de la masa de contacto había sido adecuada, ya que esta es la etapa clave que permite estudiar de manera confiable el efecto de los promotores.

Efecto de los promotores

Superado en buena medida el problema de la activación del silicio, se procedió a efectuar pruebas en las que se variaron cantidades y tipos de promotores. Entre los promotores utilizados se incluye al óxido de zinc, óxido de estaño, aluminio, zinc, cobre y estaño metálicos, así como trióxido de arsénico.

En la tabla 1 se presentan resultados ilustrativos de diez pruebas, cuyos resultados, tal y como se indicó en el desarrollo experimental, fueron realizadas en un reactor de 2.5 cm de

Tabla 1. Síntesis de mezclas de metilclorosilanos con diversos promotores.

Prueba	Si	Catalizador	Promotores (g)	Volumen de mezcla (mL)	MTCS %	DD %	TMCS %
1	37	CuCl (8)	Cu(1)ZnOZn*	10	75	15	10
2	33	CuCl (15)	ZnO(2.5)ZnSn*	40	30	60	10
3	33	CuCl (15)	ZnO(2.5)CuZnSn*	60	15	80	5
4	33	CuCl (15)	ZnO(2.5)SnO ₂ CuZnSn*	35	40	55	5
5	33	CuCl (15)	ZnO(2.5)CuZnSn*	22	25	70	5
6	40	CuCl (7.5)	ZnO(2.5)CuZnSn*	17	30	65	5
7	33	CuCl (15)	ZnO(2.5)Al(0.25)ZnSn*	64	10	85	5
8	33	CuCl (15)	ZnO(2.5)Al(0.25)ZnSnAs*	65	11	83	6
9	40	CuCl (8)	ZnO(2.5)Al(0.25)ZnSnAs*	55	35	55	10
10	40	Cu (5)	ZnO(2.5)Al(0.25)ZnSnAs*	10	67	30	3

*Las cantidades adicionadas de los promotores ZnSn, CuZnSn, ZnSnAs, fueron de aproximadamente 0.005 g.

diámetro interno. En la tabla se indica el volúmen de mezcla de metilclorosilanos obtenidos, y el análisis en porcentaje en peso obtenido para metiltriclorosilano (MeSiCl_3 , MTS), dimetildiclorosilano (Me_2SiCl_2 , DD) y trimetilclorosilano (Me_3SiCl , TMCS) determinado por cromatografía de gases. Se indican también, las cantidades usadas de silicio, catalizador y promotores. De acuerdo al análisis efectuado por RMN de ^1H , los desplazamientos químicos de los productos se asignan de la siguiente manera: la señal a $\delta 0.15$ ppm corresponde a TMCS, la de $\delta 0.50$ a DD y la de $\delta 0.75$ ppm a MTS. En las mejores condiciones de reacción, evidentemente la señal de DD es la más intensa.

La literatura informa que la presencia de zinc puede incrementar la selectividad hacia DD así como la velocidad de la reacción. También se ha discutido el efecto sinérgico zinc/estaño como un factor que influye de manera muy importante en la selectividad [12].

Precisamente de los resultados de la tabla 1, puede deducirse la importancia de la presencia de zinc y estaño en la selectividad, el rendimiento y la reproducibilidad de la reacción.

De las distintas pruebas realizadas, se discuten los resultados. La prueba 1, se realizó sin utilizar estaño y se observa que el rendimiento es el más bajo obtenido, al igual que la selectividad hacia DD. A partir de la reacción 2, se usó óxido de estaño y se incrementó la cantidad de cloruro cuproso. De inmediato se detectó un efecto positivo sobre el rendimiento y la selectividad hacia DD.

La utilización combinada de zinc, estaño y cobre como activadores, (se estimó una cantidad aproximada de 0.005 g y que fue usada en las pruebas 3 y 5), ayudó a mejorar notablemente la selectividad hacia DD lográndose elevar los rendimientos a porcentajes del 75 y 80%, sin embargo, el rendimiento en uno y otro caso fue bastante diferente por problemas en la operación no atribuibles a la preparación de la masa de contacto y por tanto a la activación del silicio. El uso de cantidades importantes de óxido de estaño combinado con la misma proporción de óxido de zinc (prueba 4), fue de un rendimiento medio afectando la selectividad hacia DD. La prueba 6 fue útil para volver a verificar el efecto de los promotores ZnO , Zn , Sn y Cu mezclado con cantidades menores de cloruro cuproso. Si bien mejoró la selectividad, el rendimiento fue bastante bajo. En las reacciones 7 se incorporó aluminio metálico. El resultado fue similar al obtenido en la prueba 3 tanto en selectividad como en rendimiento. En la prueba 8, se adicionó arsénico a la mezcla zinc, estaño y aluminio, obteniéndose un resultado que reproduce los de las pruebas 3 y 7. En esta prueba se observó que la temperatura mostró la tendencia a incrementarse con frecuencia y fue necesario realizar varios ajustes durante el desarrollo de la prueba. El aluminio adicionado en las reacciones 7 y 8 contribuyó a incrementar cualitativamente la velocidad de la reacción, sin afectar el rendimiento y la selectividad. No se cuenta con información cuantitativa al respecto pero el resultado concuerda con otros reportados previamente en los que se indica que el aluminio es un promotor muy importante de la reacción [13]. En la prueba 9, los mismos promotores se mezclaron con cantidades menores de

cloruro cuproso (se disminuyó casi a la mitad), y en este caso si bien el rendimiento no se vio muy afectado con respecto a las dos pruebas anteriores, la selectividad hacia DD disminuyó. En este caso, al igual que en el caso anterior, hubo dificultades para controlar la temperatura abajo de los 300 °C.

En la prueba 10, no se utilizó cloruro cuproso como catalizador, sino cobre metálico y los mismos promotores que en los casos anteriores. Tanto el rendimiento como la selectividad hacia DD se vieron severamente afectados.

Los resultados obtenidos en cuanto a la selectividad hacia DD superiores a 80%, son bastante significativos en relación con reportes de la literatura en los que se ha informado de la obtención de DD. Un porcentaje como el obtenido, se encuentra entre valores promedio típicos de la reacción. La consecuencia de poder reproducir la reacción directa es digna de mencionarse, ya que en ello queda implicado el hecho de haber dominado las etapas preparativas tales como la activación del silicio, el uso adecuado del catalizador y los promotores, y en general haber operado correctamente el sistema. Se hace hincapié en lo anterior, dado que uno de los grandes retos de esta reacción, desde el punto de vista de su desarrollo en el laboratorio y desde luego en la industria, es su reproducibilidad.

Con base en los datos experimentales, se puede confirmar que la utilización conjunta de zinc y estaño como promotores, tiene efectos positivos en la reacción, aunque como ya se mencionó antes, parece ser necesario utilizar aluminio para mejorar la velocidad de la reacción. zinc y estaño, actúan como agentes de transferencia de metilos [13], y los autores señalan que el fuerte sinérgico zinc-estaño también propicia la disminución en el punto de fusión y en la tensión superficial de la mezcla de metales en la superficie de la masa de contacto. Estos mismos autores sostienen que se origina un incremento en la dispersión del catalizador y promotores sobre la superficie del silicio, así como de la velocidad de difusión del catalizador y promotores sobre la misma superficie. Afirman también que tal dispersión incrementa la movilidad de los metales en la aleación superficial formada. Si la dispersión se incrementa, el número de sitios activos sobre la superficie del silicio también aumenta. La baja tensión superficial resulta en un alto grado de humedecimiento y propagación de los metales en la superficie del silicio. Asimismo, su disminución puede ser también la causa de que los metales en la fase líquida puedan penetrar en pequeñas cavidades en el silicio.

Las figuras 3 y 4 ilustran micrografías obtenidas en el microscopio electrónico de barrido de muestras de silicio antes y después de la reacción con cloruro de metilo. En la figura 4 se muestra claramente la alteración de la superficie como resultado de la reacción.

Otro propósito del trabajo, fue estudiar el efecto de la temperatura en la selectividad de la reacción. Una herramienta importante en esta etapa del trabajo, fue el seguimiento que se realizó de la reacción directa en función del registro de la temperatura y del análisis cromatográfico realizado en muestras tomadas durante el transcurso de la reacción, y con ello tener una mejor idea del efecto de la temperatura sobre la selectividad.

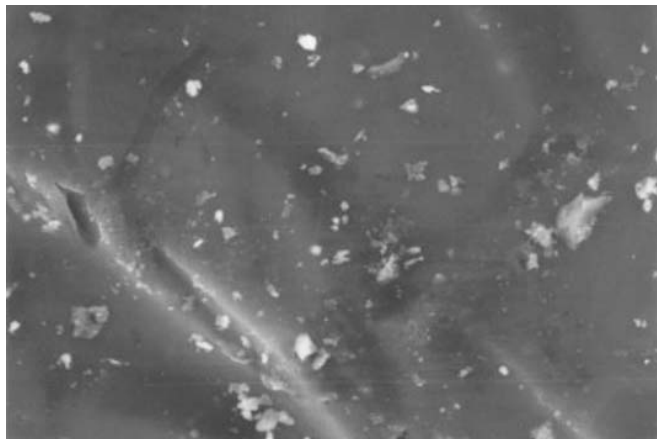


Fig. 3. Micrografía de una muestra de silicio antes de la reacción

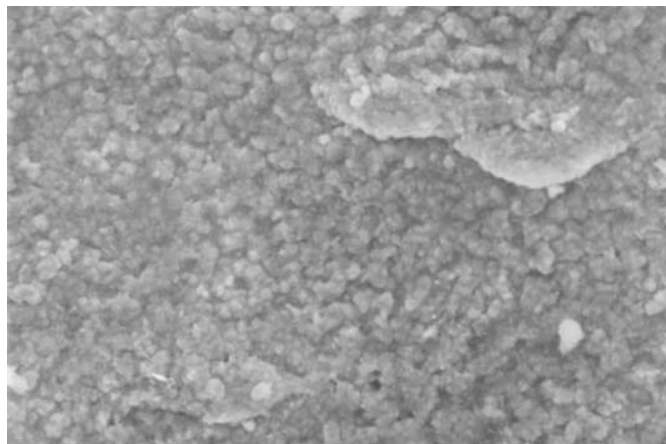


Fig. 4. Micrografía de una muestra de silicio después de la reacción.

En las figuras 5 a 8, se presentan gráficas ilustrativas que corresponden a seguimientos de la reacción en diferentes tiempos. En la figura 5, se muestra como se puede obtener una selectividad hacia DD cuando la temperatura se mantiene por debajo de los 300°C, tal y como puede verse en la figura 6. Sin embargo, se observó un incremento importante de la temperatura después de dos horas de operación. El porcentaje de DD es superior a 60%.

En la figura 7, se observa que cerca de las cuatro horas de reacción, la selectividad hacia DD cae drásticamente. La respuesta a este cambio tan marcado se encuentra en la figura 8, en la que se puede ver que la temperatura promedio fue superior a los 300 °C, lo que indica que al incrementar la temperatura se favorece la obtención del metiltriclorosilano (MTCS), siendo este uno de los problemas principales al que se enfrentan los operadores de esta reacción ya que el objetivo mantener una relación DD/MTCS lo más alta posible buscando para ello mejoras continuas en la operación del reactor con el fin de disminuir la formación de MTCS.

En el texto editado por Lewis y Rethwisch sobre reacciones directas catalizadas del silicio [6], se indica que uno de los aspectos que han sido mantenidos como información muy reservada a nivel de la industria de los polisiloxanos, es la

relación altura/diámetro del reactor de producción de metilclorosilanos. Diversos resultados denotan precisamente la importancia de profundizar sobre aspectos finos del diseño del reactor con el fin de lograr un conocimiento y dominio completo de la reacción tanto en el laboratorio como en la escala industrial. Es por ello que de las reacciones denominadas directas entre las que se identifican la reacción entre silicio y cloro, silicio y cloruro de hidrógeno y la que es motivo de este estudio, silicio y cloruro de metilo (todas ellas reacciones gas-sólido), se considera a esta última como la más compleja y la que ha representado mayores problemas cuando se intenta su escalamiento.

Parte experimental

El silicio empleado fue adquirido de la Compañía “Metales Aguila” (98.5% en peso) y fue molido a -300 mallas cuidando de no contaminarlo durante la molienda y clasificación. Los reactivos utilizados tales como óxido de zinc, óxido de estaño, zinc, estaño, cobre, cloruro cuproso y trióxido de arsénico

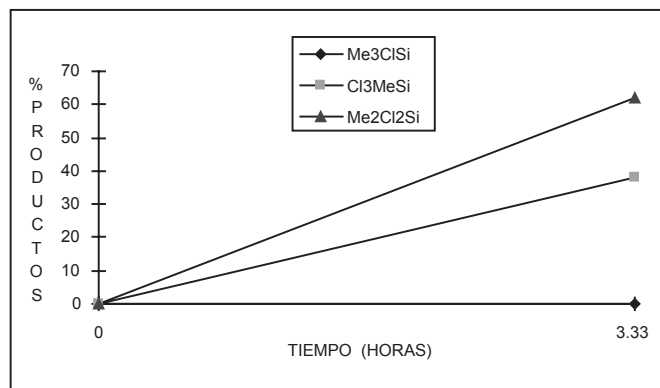


Fig. 5. Distribución de productos

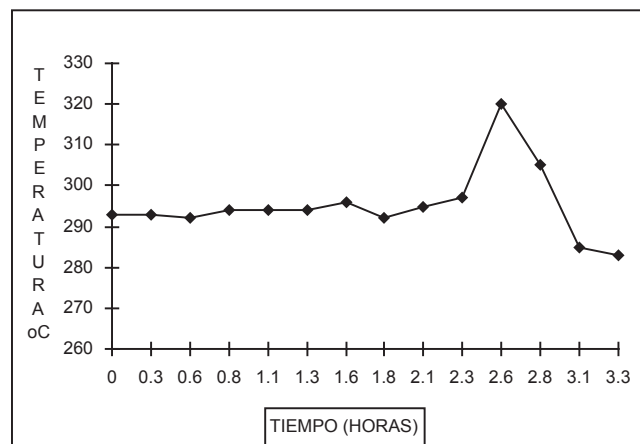


Fig. 6. Variación de la temperatura contra tiempo de reacción.

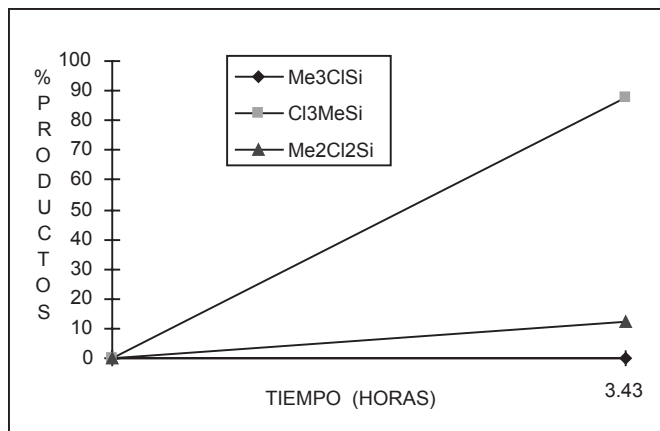


Fig. 7. Distribución de productos.

adquiridos de Backer. El cloruro de metilo usado (99.5% en pureza) fue adquirido de Air Products and Chemicals, Inc. y el nitrógeno gaseoso de INFRA. Todas las reacciones cuyos resultados se reportan en la tabla 1, fueron efectuadas en un reactor de acero inoxidable de 2.5 cm de diámetro interno y 30 cm de longitud, provisto de un cabezal para retorno de finos unido con una brida al tubo de acero inoxidable.

El sistema de reacción. El sistema de reacción se muestra en la figura 1 y cuenta con las siguientes secciones:

- Sección A: Suministro y secado de gases
- Sección B: Mezclado de gases
- Sección C: Medición de flujo y presión
- Sección D: Reactor
- Sección E: Condensación de productos
- Sección F: Recirculación de gases al reactor y neutralización

El reactor consta de tres zonas: distribución y filtración, reacción, carga y retorno de finos.

La experimentación realizada, permitió el establecimiento de condiciones generales de operación que a continuación se describen.

El proceso de activación. La masa de contacto se preparó mezclando silicio metalúrgico (98.5% en peso) en polvo (-300 mallas) con cloruro cuproso y los promotores, todo ello en un recipiente cerrado y bajo atmósfera de nitrógeno. Se efectuó la mezcla agitando manual y mecánicamente el recipiente. La masa de contacto fue transferida al reactor bajo flujo de nitrógeno gas. La activación se realizó a 300 °C durante 1 h y manteniendo un flujo constante de nitrógeno gas suficiente para fluidizar la masa. Posteriormente, se inició el paso de cloruro de metilo, buscando mantener la temperatura de reacción entre 280 y 300 °C.

A continuación se describe una reacción típica:

La masa de contacto se preparó mezclando íntimamente 32.5 g de silicio en polvo con 15 g de cloruro cuproso, 2.5 g

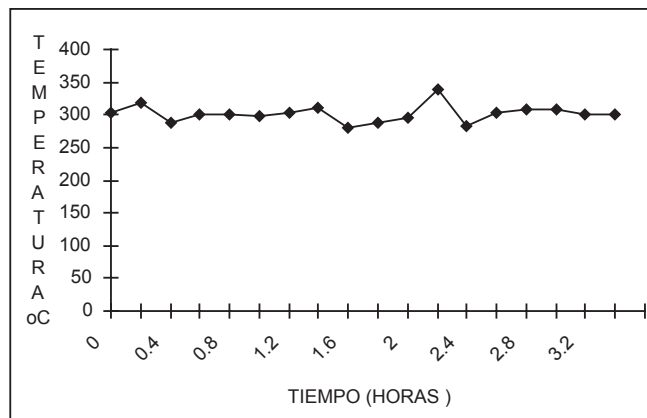


Fig. 8. Variación de la temperatura contra el tiempo de reacción.

de óxido de zinc y muy pequeñas cantidades de estaño, zinc y cobre metálicos (0.005 g en total). Dicha masa se transfirió al reactor manteniendo un flujo permanente de nitrógeno gaseoso. La masa fue calentada a 300 °C dentro del reactor durante 1 h bajo corriente de nitrógeno gas. Con el fin de tener evidencias de la activación del silicio, se introdujo un termopar al seno de la masa con el fin de registrar variaciones en la temperatura de la masa. Pasado este tiempo, se suspendió el flujo de nitrógeno gaseoso y se inició el paso de cloruro de metilo (45-50 mL/min), manteniendo la temperatura del reactor entre 280 y 300 °C. Cualquier cambio en la temperatura debido al carácter exotérmico de la reacción fue registrado y de inmediato se procedió al ajuste correspondiente. Al transcurrir la reacción, se fue observando la condensación paulatina de la mezcla de productos, junto con cloruro de metilo que condensó en un matraz enfriado con una mezcla de metanol y hielo seco. El cloruro de metilo condensado se eliminó en la medida en que el matraz alcanzó la temperatura ambiente. Se midió el volumen de metilclorosilanos obtenido y se procedió a caracterizar la mezcla. El tiempo total de la reacción incluyendo la etapa de activación del silicio fue de 14 h.

Con el propósito de estudiar el efecto de la temperatura en la distribución de los productos, se implementó un sistema de muestreo antes del condensador. Las muestras fueron obtenidas periódicamente y analizadas de inmediato utilizando un cromatógrafo de gases.

Identificación de productos. La identificación de los productos se realizó por RMN de ¹H en un espectrómetro Varian Gemini de 200 MHz y en un cromatógrafo de gases Intermast IGC 112M con detector de conductividad térmica equipado con un registrador-integrador Perkin-Elmer LS100. La columna utilizada fue una OV-210 en cromosorb PHP 80/100, con temperaturas del inyector de 120 °C, horno 95 °C y detector 160 °C. El gas acarreador fue helio con un gasto de 30 mL/min. Con el fin de estudiar las modificaciones en la superficie del silicio como resultado de la reacción entre la masa de contacto con el cloruro de metilo, se recurrió al estudio por microscopía electrónica de barrido de algunas muestras de silicio antes

y después de la reacción. El equipo utilizado fue un microscopio electrónico de barrido marca JEOL modelo JSM-35C. El registro de la temperatura en el reactor durante la activación y posteriormente en la reacción, se efectuó con un registrador modular de temperatura Cole-Palmer modelo 2030. El análisis en porcentaje en peso obtenido por cromatografía de gases de las mezclas de metilclorosilanos obtenidos fue limitado exclusivamente a metiltriclorosilano (MeSiCl_3 , MTS), dimetildiclorosilano (Me_2SiCl_2 , DD) y trimetilclorosilano (Me_3SiCl , TMCS), ya que son los que se obtienen en mayor porcentaje en la reacción directa. En la identificación de los productos realizada por RMN de ^1H , los desplazamientos químicos de los productos indicados fueron referidos a tetrametilsilano (Me_4Si , TMS, 0 ppm). Todos los espectros fueron obtenidos usando cloroformo deuterado como disolvente.

Conclusiones

En función de los resultados obtenidos en este trabajo, se logró implementar un método práctico para preparar la masa de contacto y activar el silicio, siendo esto fundamental para poder estudiar el efecto de los promotores. Las cantidades de catalizador y promotores utilizadas en la preparación de la masa de contacto mostraron un efecto positivo en la activación del silicio. La activación pudo corroborarse mediante observaciones físicas y en todas las pruebas correspondieron sin duda a la reacción inicial entre el silicio y el catalizador de cobre que se manifestó en un incremento importante de la temperatura. Se considera esta observación como una contribución importante en el contexto del estudio de la reacción directa entre silicio y cloruro de metilo catalizada por cobre.

Resulta evidente la relación que existe entre los distintos promotores utilizados, sus cantidades y la combinación de estos con el catalizador, con la selectividad de la reacción hacia DD y en buena medida también en el rendimiento, el cual fue mejorado sustancialmente. La distribución de productos mejoró en su tendencia hacia DD, llegándose a obtener porcentajes superiores al 80% con reproducibilidad en el resultado.

En cuanto a los promotores utilizados, la combinación que permitió obtener mejores resultados se basó en el uso de óxido de zinc, zinc, estaño, aluminio y cobre, mezclados con cloruro cuproso. Tal y como lo han propuesto otros autores, se requiere la presencia de zinc y estaño los que ejercen un efecto sinérgico que promueve la reacción hacia rendimientos y selectividades altas en DD.

De los datos obtenidos, se pudo ilustrar la fuerte influencia de la temperatura sobre la selectividad hacia DD, por

ejemplo, una misma combinación de catalizador y promotores que en una reacción generó una buena selectividad hacia DD, en otra se vio afectada cuando la temperatura de la reacción era superior a los 300 °C.

Agradecimientos

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología el apoyo otorgado a este proyecto en sus etapas iniciales, de la misma manera a la Dirección General de Investigación Científica y Superación Académica de la Secretaría de Educación Pública. Así mismo, nuestro agradecimiento a la M.C. Dolores Elena Alvarez de la Facultad de Arquitectura de la Universidad de Guanajuato por la realización de los estudios de microscopía electrónica.

Referencias

1. Rochow, E. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1945**, *67*, 963-965.
2. Muller, R. *Chem. Tech.* **1950**, *2*, 41-49.
3. Kanner, B.; Lewis, K. M., in: *Catalyzed direct reactions of silicon*, Lewis, K.M.; Retwisch, D.G. Eds., Elsevier Science Publishers B. U., The Netherlands, **1993**, 42-46.
4. Nam, Y. I.; Ho, Y. S.; Soo, H. J., *Abstracts XXV the Organosilicon Symposium*, University of Southern California, Los Angeles, **1992**.
5. Rong, H. M.; Forwald, K.; Hammes, P. H.; Schüssler, G.; in: *Catalyzed direct reactions of silicon*, Lewis, K.M.; Retwisch, D.G. Eds., Elsevier Science Publishers B. U., The Netherlands, **1993**, 84-89.
6. Lewis, K.M.; Retwisch, D.G., *Catalyzed direct reactions of silicon*, Elsevier Science Publishers B. U., The Netherlands, **1993**.
7. Doraiswamy, L. K.; Gokarn, A. N., in: *Catalyzed direct reactions of silicon* Lewis, K.M.; Retwisch D.G. Eds., Elsevier Science Publishers B. U., The Netherlands, **1993**, 160-164.
8. Olakangil, J.F.; Retwisch, D.G.; Yilmaz, S.; Kuivila, C. S., in: *Silicon for the Chemical Industry V*. H. A. Oye; H.M. Rong; L. Nygaard; G. Schussler; J.Kr. Tuset Eds., Tapir Trykery Editors, Trondheim, Norway, **2000**, 325-330.
9. Cervantes, J. J., Aguilera, A. F., Vázquez, V. A., Luna, F. J. *Rev. Soc. Quím. Méx. Resúmenes del XXII Congreso Mexicano de Química*, **1986**. Oaxaca, Oax.
10. Martínez, L. E. *Tesis de licenciatura en Ingeniería Química*, Universidad de Guanajuato, Guanajuato, Guanajuato, **1992**.
11. Banholzer, W.F.; Lewis, N.; Ward, W. *J. Catal.* **1986**, *101*, 405-415.
12. Gasper-Galvin, L.D.; Sevenich, D.M.; Friedrich, H.B.; Retwisch, D.G., *J. Catal.* **1991**, *128*, 468-478.
13. Gasper-Galvin, L.D.; Retwisch, D.G.; Sevenich, D.M.; Friedrich, H.B., in: *Catalyzed direct reactions of silicon* Lewis, K.M.; Retwisch, D.G., Eds., Elsevier Science Publishers B.U., The Netherlands, **1993**, 283-289.

Revisión

¿Es el glóbulo fundido un intermediario general en la vía de plegamiento de las proteínas globulares?

María Elena Cháñez-Cárdenas¹ y Edgar Vázquez-Contreras^{2*}

¹ Departamento de Neuroquímica, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suárez”. Insurgentes sur 3877, Col. La Fama, 14269.

² Instituto de Química. Departamento de Bioquímica. Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito Exterior, Ciudad Universitaria México, D.F. 04510, México. * Tel (+52) 56 22 45 65; Fax: (+52) 56 16 22 17; vazquezc@servidor.unam.mx

Recibido el 2 de septiembre del 2003; aceptado el 10 de noviembre del 2003

Resumen. El glóbulo fundido se considera como un tercer estado termodinámico de la ruta del plegamiento de las proteínas (junto con los dos previamente establecidos: nativo y desnaturalizado). Este estado ha sido observado bajo ciertas condiciones desnaturantes, y es un conformero con propiedades intermedias entre los estados nativo y desplegado. En los estudios de plegamiento de proteínas, es particularmente importante conocer la estructura y los cambios de energía asociados a la formación de estados intermediarios transitorios que se puedan identificar durante el proceso de plegamiento de proteínas globulares, para entender los factores que dirigen el proceso de plegamiento. Un gran número de estudios indican que muchas proteínas globulares (aunque no todas) presentan este estado intermediario bajo condiciones de equilibrio.

Palabras clave: Plegamiento de proteínas, intermediarias del plegamiento, glóbulo fundido.

Abstract. The molten globule state has been considered like a third thermodynamic state of the protein molecules (in addition to the two previously established states —the native and the unfolded—). This intermediate state is observed under certain denaturant conditions, and represents a conformational state with properties between those observed in the native and unfolded states. In protein folding studies it is important to understand the structure and energy changes associated with the formation of transient intermediate states involved during the acquisition of the three-dimensional structure. Many, but not all globular proteins in folding studies show this compact intermediate state under equilibrium conditions.

Key words: Protein folding, molten globule.

El plegamiento (“folding”) es el proceso mediante el cual una cadena polipeptídica en estado desplegado (*U* de “unfolding”) se pliega hacia la estructura tridimensional que posee una función biológica específica. A esta última se le conoce como estado nativo (*N*), pues es en esta condición en la cual la proteína pasará la inmensa mayoría su existencia (revisado en [1]). Debido a que la información genética está codificada en el ADN y se expresa únicamente después de que la estructura *N* se ha formado, al plegamiento se le conoce como la segunda parte del código genético y es por tanto, una cuestión fundamental en la biología molecular actual.

Intermediarios estables

El modelo más sencillo para explicar el plegamiento de una proteína, es el de dos estados. En este modelo, los procesos de desnaturalización y plegamiento son completamente cooperativos y no hay poblaciones de intermediarios estables en el equilibrio; en cualquier momento, sólo existe una variación entre las poblaciones entre el estado *N* y el *U*. En el caso de proteínas en las cuales existen regiones de la cadena polipeptídica con estabilidad estructural independiente, este modelo no es apropiado. Como resultado de esta idea, se ha propuesto que durante la transición tridimensional de la secuencia primaria hacia la estructura tridimensional con actividad biológica,

existen estados transitorios —intermediarios cinéticamente accesibles— que actúan como guías en el plegamiento. De ahí que en la actualidad, una buena parte de los estudios de plegamiento están enfocados en la búsqueda de estos conformeros, pues si se llega a conocer su estructura así como los cambios de energía asociados a su formación, será posible entender los factores que gobiernan el plegamiento por medio de rutas productivas.

A pesar de que el plegamiento de proteínas monoméricas es generalmente un proceso de dos estados, existen proteínas para las cuales un aumento en la condición desnaturante alrededor de la transición *N/U*, produce conformaciones parcialmente desplegadas (Tabla I). La presencia de intermediarios en la ruta de plegamiento ocasiona que el cambio en las propiedades estructurales de las proteínas al aumentar la condición desnaturante no sea descrito monofásicamente, o bien que los patrones obtenidos siguiendo diferentes propiedades —estructurales o funcionales— de la proteína en cuestión, no sean coincidentes (Fig. 1).

Condición desnaturante

En este sentido, uno de los primeros ejemplos descritos para el plegamiento fue el de la anhidrasa carbónica [2], cuyo modelo

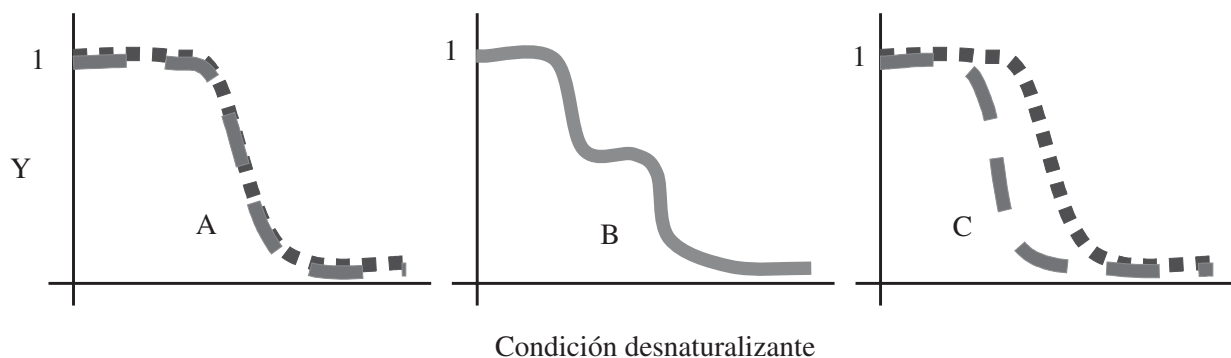


Fig. 1. Algunas pruebas para determinar el patrón de plegamiento en estudios al equilibrio. Y: es una señal de la proteína sensible a cambios en los diferentes niveles de estructura de la misma (ver más adelante en el texto). A. patrones monofásicos coincidentes (mecanismo de dos estados). B. patrón no monofásico (tres estados). C.- patrones no coincidentes (no dos estados).

molecular cristalográfico no presenta dominios. Para esta enzima se ha estudiado el corrimiento en la constante de velocidad para el plegamiento (K_{pleg}), como función de la concentración de clorhidrato de guanidinio (Gdn-HCl), un potente desnaturalizante. Las alteraciones producidas por este perturbante, se cuantificaron por cambios en dicroísmo circular (CD), absorción ultravioleta y rotación óptica (Y en la Figura 1). La observación fue clara, los patrones de desnaturalización obtenidos por estas técnicas no son coincidentes; además, estudios de la cinética de renaturalización de esta enzima sugieren que la reacción no es un proceso homogéneo de primer orden. A partir de estos resultados se ha concluido que en la transición existe al menos un intermediario.

Para algunas proteínas se ha propuesto que el mecanismo de plegamiento es a través de dominios estructurales, en el cual ciertas unidades de estructura secundaria se pliegan independientemente para formar regiones globulares que finalmente colapsan en la estructura *N*. Este postulado es razonable cuando existen evidencias experimentales (por cristalografía o calorimetría) que hagan sospechar la evidencia de los dominios, como en el caso de la piruvato cinasa [3] o la 3-fosfoglicerato cinasa [4]. El hecho es que las estructuras intermedias estables se han observado incluso cuando no hay razón para sospechar la existencia de dominios en el plegamiento.

Por más pequeña que sea la secuencia de aminoácidos es imposible pensar que una proteína pueda visitar todas las conformaciones posibles para plegarse correctamente. Por ejemplo, si una cadena polipeptídica tiene 100 residuos y en promedio cada residuo puede adoptar 10 conformaciones, la cadena podrá adoptar 10^{100} conformaciones. Si la velocidad de transformación de una conformación en otra es muy rápida por ejemplo de 10^{-13} s, el tiempo promedio requerido para visitar todas las posibles conformaciones sería del orden 10^{81} años. El resultado de esta estimación, es muchas veces mayor que la edad del universo (15^9 años). A pesar de lo anterior, las proteínas generalmente adoptan su estructura tridimensional funcional en intervalos de milisegundos-segundos. Para resolver esta paradoja, Levinthal a finales de la década de los 60s,

postuló la existencia de rutas preferenciales en el plegamiento de los polipéptidos. En estas rutas, la cadena polipeptídica viaja a través de una secuencia específica de intermediarios hasta plegarse en la estructura *N*. Debido a lo anterior, la detección y caracterización de los intermediarios estables que aparecen en las rutas desde el estado *N* (desnaturalización) o hacia él (renaturalización) son preguntas centrales en los estudios de plegamiento. A pesar de la inmensa diferencia que existe entre las secuencias y los motivos estructurales de las proteínas, los intermediarios que se observan en los estudios al equilibrio de muchas proteínas presentan características comunes: son estructuras de tamaño molecular y cantidad de estructura secundaria parecidas a las que existen en la estructura *N*, pero que carecen de estructura terciaria específica. A principios de la década de los 80s dos grupos [5,6] de manera independiente propusieron que los intermediarios observados al equilibrio, probablemente pertenecen a un estado físico común de las proteínas globulares, al cual denominaron estado de "glóbulo fundido" (GF). A mediados de esa década, otro grupo [7,8] mostró por medio de cinéticas de renaturalización, que para la α -lactalbúmina desnaturalizada con Gdn-HCl, existe un intermediario idéntico al que se observa en estudios al equilibrio. Por lo tanto, se ha propuesto regularmente en la literatura que el GF es un intermediario general del plegamiento de proteínas.

El glóbulo fundido (GF)

El glóbulo fundido (GF) es un estado de la cadena polipeptídica obtenido experimentalmente en la renaturalización de *U* o en la desnaturalización de *N*. Las características estructurales comunes [9-11] al estado de GF son: *i*) La presencia de una elevada cantidad de estructura secundaria; *ii*) ausencia de la mayoría de la estructura terciaria específica producida por el alto empaquetamiento de las cadenas laterales; *iii*) es un conformero compacto, con un radio de giro entre 10 y 30% mayor que el observado para el estado *N* y *iv*) la molécula ha perdido

parte del núcleo hidrofóbico, lo que incrementa la accesibilidad de superficie hidrofóbica de la molécula al solvente. A la fecha, no ha sido posible cristalizar a ningún polipéptido en este estado y sus propiedades de RMN (resonancia magnética nuclear) se parecen más a la estructura *U* que a la *N*. A pesar de los aspectos aparentemente estáticos de la estructura descritos anteriormente para el GF, la molécula es muy dinámica y flexible. El estado de GF no puede ser representado por una única conformación sino por un número de conformaciones diferentes que se interconvierten rápidamente unas en otras. De hecho, estas características permiten que algunas moléculas de agua penetren en la estructura. En este estado condensado la entropía configuracional de *U* ha sido reducida significativamente debido a las restricciones impuestas por el volumen excluido [12].

Las técnicas convencionales (Fig. 1) utilizadas para caracterizar la estructura del GF son *i*) espectro de dicroísmo circular en la región 222 nm, a esta longitud de onda se verifica la presencia del enlace peptídico que modifica las propiedades de elipticidad en esa región; este hecho demuestra un cambio en la cantidad de estructura secundaria tipo α hélice. Por otra parte, siguiendo el cambio en la elipticidad a una longitud de onda de 270 nm, se pueden observar modificaciones en la estructura terciaria, al hacer evidente el ocultamiento o exposición de los aminoácidos aromáticos al solvente; *ii*) técnicas hidrodinámicas como cuantificación de la viscosidad y cromatografía de filtración molecular para determinar el tamaño molecular de la proteína y *iii*) el uso de moléculas fluorescentes como el ANS, o sus análogos, para detectar la formación de regiones particulares expuestas al solvente [13,14]. Todas estas técnicas proveen de información sobre características estructurales promedio de la proteína en cuestión. En los últimos años, se han utilizado nuevas aproximaciones para caracterizar la estructura del GF, entre ellas se encuentran: RMN, dispersión de rayos X en solución y técnicas de ingeniería de proteínas. Estos métodos han sido exitosos en la caracterización del GF que aparece al someter a las proteínas a condiciones ligeramente desnaturizantes. Estos estudios recientes muestran que la estructura del GF es más heterogénea de lo que inicialmente se pensaba. Una porción de la estructura está más organizada, parecida a la estructura *N*, mientras que otras se tornan menos organizadas; las características estructurales detalladas, dependen fuertemente de la proteína en estudio.

Cuando algunas proteínas se someten a condiciones que difieren significativamente de aquellas que se observan *in vivo*, el número de conformaciones estructuradas que pueden ser estables aumenta. De ahí que para hacer evidente el estado intermediario es necesario someter a la proteína a condiciones extremas. Es precisamente a partir de estas observaciones que se ha propuesto que el GF puede ser un intermediario en la vía de plegamiento *in vivo*.

Por otra parte, se ha argumentado en la literatura que los estados intermediarios detectados en la reacción de plegamiento-desplegamiento de muchas proteínas bajo diversas circunstancias, son ejemplos del estado GF [15]. Sin embargo, hay

que tomar en cuenta que la cuantificación de las mismas propiedades físicas no siempre es posible para todas las proteínas en condiciones idénticas, por lo cual, el asignar la presencia del mismo estado a todas ellas no es totalmente concluyente.

En la Tabla I se muestran 66 proteínas diferentes que poseen dentro de la vía de plegamiento al intermediario tipo GF; este número sugiere que el GF no es una rara excepción; por el contrario es probable que este intermediario sea típico para muchos tipos de proteínas en condiciones de desnaturización discretas.

Las proteínas pueden ser transformadas *in vitro* al estado de GF al modificar algunas condiciones del medio que las contiene. Por ejemplo (revisado en [10]), al incrementar o disminuir el pH de la solución; también es posible obtener este estado al incrementar la temperatura. Al agregar concentraciones moderadas de perturbantes químicos como la urea o sales de guanidinio; o bien por la influencia de sales como el LiClO₄ y otras. El GF puede obtenerse también al someter a la proteína a un aumento en la presión atmosférica. También se ha reportado que el ácido tricloroacético produce la aparición del GF [16], así como el hexafluoroisopropano [17].

Las proteínas pueden ser transformadas al GF sin modificar las condiciones de la solución que las contiene, es decir en condiciones que semejan el medio original en donde se encuentra la proteína, modificando la estructura química de la macromolécula. A continuación se describen los ejemplos disponibles en la literatura.

El GF se presenta en la nucleasa estafilococal al remover 21 residuos del C-terminal de la proteína [18]. Sorprendentemente, remover únicamente 13 de estos residuos lleva a la proteína a desplegarse calorimétricamente en un mecanismo de dos estados [19]. Siguiendo con esta caracterización, se ha encontrado que una doble mutación en esta proteína, también produce un GF [20]. Por otra parte, una triple mutación puntual, transforma la estructura nativa de la lisozima del fago T4 en un GF [21]. El reemplazo de residuos de ácido aspártico en la superficie del dominio P de la colicina A por alanina, son necesarios para la formación del GF (Tabla I). El caso más crítico en cuanto a alteraciones de la vía del plegamiento por mutación de algunos residuos, se ha reportado en la apomio-globina [22] y en la interleucina 6 [23], en donde una mutación puntual modifica el patrón de plegamiento.

Para la proteína BPTI (Tabla I), el simple hecho de reducir sus puentes disulfuro, produce un GF [24]; se ha mostrado también que un análogo de la proteína que contiene únicamente uno de los puentes disulfuro, posee bajo ciertas condiciones experimentales características de GF [25].

Los intermediarios tipo GF se han detectado en proteínas que no tienen relaciones estructurales aparentes (Tabla I) y bajo diversas condiciones, todas ellas extremas. Diversas propiedades físicas se han cuantificado para este tipo de intermediarios. La mayor parte de la señal de dicroísmo circular (entre 200-240 nm) observada en la enzima nativa es retenida en el estado intermediario, lo cual sugiere que la estructura secundaria se conserva; esto es, las α -hélices y estructuras β

Tabla I. Proteínas cuyo patrón de plegamiento incluye a un glóbulo fundido.

α -lactalbúmina ⁵ [26-28]	análogo de cardiotoxina III [29]
citocromo c [5]	BPTI ϕ [30]
anhidrasa carbónica [31]	glutamini-tARN sintetasa [32]
fragmento Fc de IgG [33]	α -fetoproteína [34]
hormona de crecimiento bovina [35]	dihidrofolato reductasa [36]
aspartato aminotransferasa [37]	apo-ceruloplasmina [38]
β -lactamasa [39]	albúmina ³ [40,41]
β -lactoglobulina [42]	equinatoxina II [43]
fosfoglicerato cinasa [10]	interferon gama [44]
interleucina ⁶ [10,45,46]	Fosfatasa [47]
colicina ⁹ [48,49]	xilosa reductasa [50]
triptofano sintasa ⁸ [51,52]	Catepsina [53]
Arc [54]	Fetuina [55]
des-pentapéptido-insulina ⁸ [56]	apoflavodoxina (fragmento) [57]
estefina B [58]	proteína triplex ⁵ [59]
proteína de unión del retinol [60]	Papaina [61]
Lisozima [62]	Lectina de cacahuete [63]
Acetilcolinesterasa [64]	fosfolipasa A2 [65]
factor-4 de las plaquetas [66]	StAR ⁶ [67]
creatinasa (en estado A) [68]	proteína que une maltosa [69]
Apomioglobina [70]	proteína de unión de calcio ⁶ [71]
nucleasa estafilococal [72]	proteína de 33 kDa ⁹ [73]
superóxido dismutasa [74]	Caleritrina [75]
Barstar [76]	PAS domain receptor photoactive yellow protein [77]
ribonucleasa A [78]	Cistatina [79]
Factor de necrosis tumoral [80]	Clusterina [81]
DnaK [82]	glutamato deshidrogenasa [83]
prion del scrapie [84]	Xilanasas [85]
Barnasa [86]	neurotoxina del botulismo [87]
ADN metiltransferasa ⁷ [88]	apolipoproteína E4 [89]
creatina cinasa ⁹⁰	

⁵: humano, cobayo y bovino, respectivamente; ⁶: 1 β , 2 y 6 respectivamente; ⁹: A y E, respectivamente; ⁸: subunidad β 2 y subunidad α respectivamente; ⁸: análogo monomérico de la insulina; ³: de huevo y de suero humano, respectivamente; ϕ : inhibidor de la tripsina pancreática bovina; ⁷: subunidad de reconocimiento; ⁶: del virus herpes simplex; ⁵: steroidogenic acute regulatory protein; ⁶: en el retículo sarcoplásmico; ⁹: del fotosistema II.

se forman espontáneamente en la renaturalización o permanecen en la desnaturalización [91]. Por otra parte, en el estado intermediario, la señal de CD entre 260-290 nm disminuye casi completamente, lo cual resulta de la pérdida de la asimetría en el ambiente que rodea a los fluoróforos intrínsecos de la proteína *i.e.* los aminoácidos aromáticos.

Después de la formación del intermediario, el espectro de RMN se torna más sencillo, semejante al observado para el enrollamiento al azar. Esto es de esperarse ya que se pierde el ambiente particular que se encuentra alrededor de cada aminoácido [5]. La intensidad de fluorescencia de los aminoácidos aromáticos sufre apagamiento y corrimiento a longitudes de onda mayores, lo cual es resultado de la exposición parcial o total de estos residuos al solvente. En los casos en los que ha sido posible cuantificar la viscosidad intrínseca, tiempos de relajación rotacional y coeficientes de difusión de estos intermediarios, se ha observado que son indistinguibles de los que se observan en *N*, pero muy diferentes a los que se presentan en el enrollamiento al azar [5,92]. Estas observaciones en con-

junto han permitido demostrar que el GF es una estructura globular compacta semejante a la que presenta *N*.

Si el GF define a los intermediarios que aparecen en la ruta cinética entre *N* y *U* entonces, el “modelo de condensación” para el plegamiento de un polipéptido puede ser una buena aproximación para describir al proceso (revisado en [93]). En este modelo, el enrollamiento al azar espontáneamente colapsa bajo la influencia del efecto hidrofóbico para formar una estructura condensada que puede ser un GF. Este intermediario demuestra el número limitado de conformaciones accesibles en la condensación del polímero hacia la conformación *N*.

La alternativa al modelo de condensación es el “modelo de nucleación” (revisado en [93]); en el cual, la configuración metaestable asumida espontáneamente por un pequeño segmento del polipéptido es similar a aquella que el mismo segmento tiene en la estructura *N*. Este pequeño núcleo se asemeja a la configuración en la enzima *N* tanto en sus interacciones secundarias como terciarias. A partir de este núcleo, otros seg-

mentos de la cadena difunden para producir la estructura *N*. La evidencia para esta propuesta deriva de observaciones en las cuales pequeños segmentos de polipéptido pueden asumir estados estructurados diferentes al enrollamiento al azar.

Descripción de un glóbulo fundido

Debido a lo anterior es de utilidad describir la estructura del GF de una proteína globular típica:

La α -lactalbumina y la lisozima que une Ca^{2+}

La α -lactalbumina (α -LA) y la lisozima, son proteínas globulares homólogas, que consisten de 123 a 130 residuos. Desde el punto de vista evolutivo, la familia α -LA-lisozima se divide en tres grupos [94]: α -LA, lisozima que une Ca^{2+} y lisozima convencional (que no une Ca^{2+}). La estructura tridimensional de los tres grupos es esencialmente la misma, está compuesta por el dominio carboxilo terminal que está formado por 4 α -hélices y una hélice 3_{10} . Se ha podido caracterizar otro dominio, el cual contiene una hoja β , una hélice 3_{10} , además de largas asas irregulares [95]. Estas enzimas poseen 4 puentes disulfuro; la α -LA y la lisozima que une Ca^{2+} unen al catión cerca de la región interdominios.

El GF de la α -lactalbúmina

Este intermediario que es el paradigma del GF, se ha observado bajo diferentes condiciones experimentales e incluye un intermediario al equilibrio en la desnaturalización inducida por desnaturalizantes, acidificación del medio (conocido como “estado A”) y removiendo el ion Ca^{2+} a pH neutro. También se ha observado en los eventos tempranos de estudios cinéticos para la renaturalización [96] y se ha demostrado que todos estos intermediarios, son idénticos entre ellos. Dentro de las características que poseen estos intermediarios se encuentran las siguientes:

a. Estructura secundaria

Todos los elementos de estructura secundaria presentes en el estado A, de la α -LA, son estables en *N*, todos ellos se encuentran en el dominio α , por lo cual este GF tiene una estructura heterogénea [11]. La formación de estos elementos helicoidales, indica interacciones nativas entre las hélices, ya que los elementos helicoidales no son estables por ellos mismos.

b. Grado de compactación y plegamiento terciario semejante al estado nativo

El tamaño compacto de una proteína en estado de GF se conoce desde hace tiempo, este hecho es consistente con la presen-

cia de plegamiento terciario semejante al estado nativo, *i.e.* organización espacial de los elementos de la estructura secundaria como en el estado *N* [11]. El radio de giro (R_G) cuantificado por dispersión de rayos X es solamente 10 % mayor que el del estado *N* y es mucho más pequeño que aquel de la enzima con los puentes disulfuro intactos en el estado *U*, la cual es el doble de la enzima *N*. El GF de esta enzima es el más pequeño reportado.

El GF de la α -LA posee tanto empaquetamiento nativo como no nativo de las cadenas laterales, que se forma gracias a interacciones no polares entre los aminoácidos hidrofóbicos, lo cual permite estabilizar elementos de estructura secundaria en la molécula. Además de los aspectos estáticos mencionados anteriormente, el GF de esta proteína es muy dinámico y flexible, por lo que no puede ser representado por una única conformación, sino por un número de ellas que se interconvierten unas en otras. Este carácter dinámico y flexible permite a las moléculas de agua penetrar al interior de la proteína, de tal forma que el GF está muy hidratado [11].

El GF de la lisozima que une Ca^{2+}

La lisozima de la leche equina o canina pertenece a las lisozimas que unen Ca^{2+} y forma un intermediario tipo GF en Gdn-HCl y también en condiciones ácidas (revisado en [11]). Estas propiedades lo hacen análogo al descrito para la α -LA. Aún así, el GF de esta lisozima es muy diferente. Este conformero es más parecido al estado *N*, muchas de las interacciones de empaquetamiento de residuos aromáticos se preservan. Pero a diferencia del GF que presenta la α -LA, el de la lisozima que une Ca^{2+} no presenta transición térmica cooperativa, es un intermediario del desplegamiento térmico, se supone que las interacciones nativas que contiene son las responsables de este efecto. Por medio de diversas pruebas se ha concluido que en el interior del GF de la Lisozima que une Ca^{2+} , existen residuos de triptofano inmóviles, esta observación es contraria a la que se presenta en el intermediario de la α -LA, cuyos triptofanos están expuestos al solvente.

Posibles papeles del glóbulo fundido *in vivo*

En las secciones anteriores se mencionaron las características del GF encontrado en la vía de plegamiento de algunas proteínas *in vitro*, en condiciones que se alejan en gran medida de aquellas que se observan en los seres vivos. Pero ¿el GF tiene algún papel en el plegamiento *in vivo*? Para contestar esta pregunta hay que recordar que existen muchas diferencias entre las condiciones que se utilizan en los experimentos para evidenciar la presencia del GF, mencionados en las secciones anteriores y las condiciones que ocurren en el ambiente celular. Por ejemplo, la temperatura, salinidad, capacidad amortiguadora de las soluciones, así como la concentración de proteína y cosolutos son muy diferentes en ambas situaciones. En

los sistemas vivos, las proteínas pueden ser sometidas a diferentes condiciones desnaturizantes leves como cambios en temperatura, pH o solubilidad en membranas. Debido a lo anterior, tiene sentido considerar los posibles papeles *in vivo* de proteínas ligeramente desnaturizadas, incluyendo al GF:

1. Observaciones generales: (i) la proteína de choque térmico (heat-shock) GroEL une y estabiliza al estado no nativo de cadenas nascentes; (ii) algunas proteínas de choque térmico unen subunidades inactivas de proteínas oligoméricas para prevenir su agregación inespecífica y/o transportarlas a su lugar de ensamblaje; y (iii) algunas proteínas de choque térmico que unen proteínas secretadas e importadas, están involucradas en los eventos de translocación transmembranal. De acuerdo a lo anterior, es razonable asumir que algunas proteínas de choque térmico, en particular GroEL, reconocen y unen a una proteína nascente en estado de GF [1]. GroEL retarda el plegamiento cuando se agrega a la proteína en estado *U* (tiempo cero) o cuando se encuentra en estado de GF (después de 1 o 2 s) [1].
2. Existen numerosos reportes de proteínas que no pueden ser translocadas a través de las membranas en su estado nativo, pero son competentes para la translocación cuando se encuentran en un estado no nativo susceptible a proteólisis. Las conclusiones a partir de estas observaciones involucran al GF como el conformero idóneo para la translocación [1,97].
3. Es posible que el proceso de degradación en los lisosomas (en donde se ha descrito la participación de proteínas de choque térmico), a pH ácido o bien por medio de proteosomas (*ej.* sistema ubiquitina ATP dependiente), sea facilitado por la anterior desnaturización proteica, la cual probablemente sea la transición al estado de GF [1].
4. Existen posibles papeles de intermediarios en el plegamiento en la formación de fibrillas amiloides en algunas enfermedades conformacionales o plegopatías [98].

Aunque todas las observaciones anteriores indican que los estados no nativos de las proteínas pueden jugar algún papel *in vivo*, si los intermediarios dirigen la reacción de plegamiento, es todavía una pregunta abierta y sujeta a debate.

El pre-glóbulo fundido

En 1994 Uversky y Ptitsyn [99], reportaron el desplegamiento de la β -lactamasa a través de dos intermediarios, al primero lo clasificaron como un GF y al segundo le llamaron “intermediario parcialmente plegado”, porque es menos compacto que el GF, pero más que el estado desplegado y posee una parte de la estructura secundaria de la enzima nativa o del GF. Sugirieron que este intermediario parcialmente plegado podría ser la contraparte al equilibrio del primer intermediario cinéti-

co que se forma en esta enzima en pocos milisegundos. Más adelante [100], estudiaron el desplegamiento de la anhidrasa carbónica B y encontraron un comportamiento parecido al de la β -lactamasa. Una mejor observación sobre las características del intermediario parcialmente plegado, los llevó a sugerir un nuevo nombre para este intermediario y lo rebautizaron como pre-GF para resaltar la jerarquía de este conformero en la ruta de plegamiento. Chaffotte y colaboradores [101] describieron la presencia de este estado en el desplegamiento de un fragmento de la subunidad β 2 de la triptofano sintasa. La presencia de este intermediario también se ha encontrado en la desnaturización de la apomioglobina [102].

Consideraciones finales

El tiempo típico requerido para la biosíntesis de una cadena polipeptídica es entre 10 y 100 s. Este tiempo es en promedio mucho mayor que aquel que se necesita para la formación del GF (aproximadamente 1 s), pero menor a aquel que algunas proteínas necesitan para llegar a *N*, el cual puede ser hasta de 10^3 s. Por lo tanto, una cadena nascente durante e inmediatamente después de su biosíntesis puede estar en el estado de GF. Tal vez, la naturaleza prefiera mantener a la cadena nascente en este estado, que es lo suficientemente flexible para ajustarse a eventos posteriores como la oligomerización o el transporte transmembranal o bien su cotransporte por medio de una chaperona o chaperonina.

La comparación de las propiedades de los GFs observados en diferentes proteínas es muy importante para la elucidación de los mecanismos moleculares comunes por los cuales el glóbulo fundido es estabilizado. Así mismo conocer las características de este conformero eventualmente permitirá determinar en primer lugar, el papel de los intermediarios en la vía de plegamiento y por otra parte, la pertinencia del glóbulo fundido como un intermediario general para el plegamiento de las proteínas *in vivo*.

Referencias

1. Creighton, T. E. *Protein Folding*. W. H. Freeman and Company, N. Y. **1992**, 547 p.
2. Wong, K. Y.; Tanford, C. *J. Biol. Chem.*, **1973**, *248*, 8518-8523.
3. Doster, W.; Hess, B. *Biochemistry*, **1981**, *20*, 772-780.
4. Adams, B.; Burgess, R. J.; Pain, R. H. *Eur J Biochem.*, **1985**, *152*, 715-20.
5. Ohgushi, M.; Wada, A. *FEBS Letters*, **1983**, *164*, 21-24.
6. Ptitsyn, O. B.; Dolgikh, D. A.; Gil'manshin, R. I.; Shakhnovich, E. I.; Finkel'shtein, A. V. *Mol Biol (Mosk)*. **1983**, *17*, 569-76.
7. Kuwajima, K.; Hiraoka, Y.; Ikeguchi, M.; Sugai, S. *Biochemistry* **1985**, *24*, 874-881.
8. Ikeguchi, M.; Kuwajima, K.; Mitani, M.; Sugai, S. *Biochemistry* **1986**, *25*, 6965-6972.
9. Christensen, H.; Pain, R. H. *Eur Biophys J*. **1991**, *19*, 221-229.
10. Ptitsyn, O. B. The Molten Globule State. In: *Protein Folding*. Creighton, T.E. Ed. Freeman. USA. **1992**, p. 243.

11. Arai, M.; Kuwajima, K. *Adv Protein Chem.* **2000**, *53*, 209-82.
12. Dobson, C. M. *Curr. Op. Struc. Biol.*, **1991**, *1*, 22-27.
13. Semisotnov, G. V.; Rodionova, N. A.; Razgulyaev, O. I.; Uversky, V. N.; Gripas, A. F.; Gilmanshin, R. I. *Biopolymers* **1991**, *31*, 119-128.
14. Cháñez-Cárdenas, M. E. *Boletín de Educación Bioquímica.* **1998**, *17*, 11-17.
15. Dill, K. A.; Shortle, D. *Annu. Rev. Biochem.*, **1991**, *60*, 795-825.
16. Kumar, T. K.; Subbiah, V.; Ramakrishna, T.; Pandit, M. W. *J Biol Chem* **1994**, *269*, 12620-12625.
17. Cort, J. R.; Andersen, N. H. *Biochem Biophys Res Commun* **1997**, *233*, 687-691.
18. Shortle, D.; Meeker, A. K. *Biochemistry*, **1989**, *28*, 936-944.
19. Griko, Y.V.; Gittis, A.; Lattman, E.E.; Privalov, P. L. *J. Mol. Biol.* **1994**, *243*, 93-99.
20. Li, Y.; Jing, G. *J. Biochem. (Tokyo)* **2000** *128*, 739-744.
21. Uversky, V. N.; Leontiev, V. V.; Gudkov, A. T. *Protein Eng.* **1992**, *5*, 781-783
22. Cavagnero, S.; Nishimura, C.; Schwarzing, S.; Dyson, H. J.; Wright, P. E. *Biochemistry* **2001**, *40*, 14459-14467.
23. Matthews, J. M.; Norton, R. S.; Hammacher, A.; Simpson, R. J. *Biochemistry* **2000**, *39*, 1942-1950.
24. Amirt, D.; Haas, E. *Biochemistry* **1988**, *27*, 8889-8893.
25. Ferrer, M.; Barany, G.; Woodward, C. *Nat Struct Biol* **1995**, *2*, 211-217.
26. Nozaka, M.; Kuwajima, K.; Nitta, K.; Sugai, S. *Biochemistry*, **1978**, *17*, 3753-3758.
27. Dolgikh, D. A.; Gilmanshin, R. I.; Brazhnikov, E. V. ; Bychkova, V. E.; Semisotnov, G. V.; Yu, S.; Venyaminov, S. Yu.; Ptitsyn, O. B. *FEBS Letters* **1981**, *136*, 311-315 .
28. Baum, J.; Dobson, C.M.; Evans, P. A.; Hanley, C. *Biochemistry* **1989**, *28*, 7-13.
29. Kumar, T. K.; Jayaraman, G.; Lee, C. S.; Sivaraman, T.; Lin, W. Y.; Yu, C. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1995**, *207*, 536-543.
30. Kosen, P. A.; Creighton, T. E.; Blout, E. R. *Biochemistry* **1983**, *22*, 2433-2440.
31. Dolgikh, D. A.; Kolomiets, A. P.; Bolotina, I. A.; Ptitsyn, O. B. *FEBS Letters* **1984**, *165*, 88-92.
32. Das, B. K.; Bhattacharyya, T.; Roy, S. *Biochemistry.* **1995**, *34*, 5242-5247.
33. Vonderviszt, F.; Lakatos, S.; Gal, P.; Sarvari, M.; Zavodszky, P. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1987**, *14*, 148(1), 92-98.
34. Uversky, V. N.; Kirkitadze, M. D.; Narizhneva, N. V.; Potekhin, S. A.; Tomashevski, A. Yu. *FEBS Lett*, **1995**, *364*, 165-167.
35. Brems, D. N.; Havel, H. A. *Proteins.* **1989**, *5*(1), 93-95.
36. Uversky, V. N.; Kutysenko, V. P.; Protasova, N. Yu.; Rogov, V. V.; Vassilenko, K. S.; Gudkov, A. T. *Protein Sci.* **1996**, *5*, 1844-1851.
37. Herold, M.; Kirschner, K. *Biochemistry.* **1990**, *29*, 1907-1913
38. De Filippis, V.; Vassiliev, V. B.; Beltramini, M.; Fontana, A.; Salvato, B.; Gaitskhoki, V. S. *Biochim. Biophys. Acta.* **1996**, *1297*, 119-123.
39. Goto, Y.; Fink, A L. *Biochemistry* **1989**, *28*(3), 945-952.
40. Tatsumi, E.; Hirose, M. *J Biochem (Tokyo)*, **1997**, *122*, 300-308.
41. Muzammil, S.; Kumar, Y.; Tayyab, S. *Eur..J. Biochem.* **1999**, *266*, 26-32.
42. Ptitsyn, O. B.; Pain, R.H.; Semisotnov, G.V.; Zerovnik, E.; Razgulyaev, O.I. *FEBS Lett.* **1990**, *262*(1), 20-24.
43. Poklar, N.; Lah, J.; Salobir, M.; Macek, P.; Vesnaver, G. *Biochemistry* **1997**, *36*, 14345-114352.
44. Nandi, P.K. *Int. J. Biol. Macromol.* **1998**, *22*, 23-31.
45. Dryden, D.; Weir, M. P. *Biochim. Biophys. Acta.* **1991**, *30*; 1078(1), 94-100.
46. De Filippis, V.; de Laureto, P. P.; Toniutti, N.; Fontana, A. *Biochemistry.* **1996**, *35*, 11503-11511.
47. Kuciel, R.; Mazurkiewicz, A. *Acta Biochim Pol.* **1997**, *44*, 645-657.
48. Van der Goot, F.G.; Gonzalez-Manas, J. M.; Lakey, J. H.; Pattus, F. A. *Nature.* **1991**, *5* (354), 408-410.
49. Menill, A. R.; Cohen, F. S.; Cramer, W. A. *Biochemistry.* **1990**, *29*, 5829-5836.
50. Rawat, U.; Rao, M. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 9415-9423.
51. Goldberg, M. E.; Semisotnov, G. V.; Friguier, B.; Kuwajima, K.; Ptitsyn, O. B.; Sugai, S. *FEBS Lett.* **1990**, *9*, 26351-26356.
52. Ogasahara, K.; Matsushita, E.; Yutani, K. *J. Mol. Biol.* **1993**, *234*, 1197-1206.
53. Jerala, R.; Zerovnik, E.; Kidric, J.; Turk, V. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 11498-11504.
54. Silva, J. L.; Silveira, C. F.; Correia, Jr. A.; Pontes, L. *J. Mol. Biol.* **1992**, *223*, 545-555.
55. Wang, C.; Lascu, I.; Giartosio, A. *Biochemistry.* **1998**, *37*, 8457-8464.
56. Hua, Q.X.; Kochoyan, M.; Weiss, M. A. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1992**, *89*, 2379-2383.
57. Maldonado, S.; Jimenez, M.A.; Langdon, G. M.; Sancho, J. *Biochemistry.* **1998**, *37*, 10589-10596.
58. Zerovnik, E.; Jerala, R.; Kroon-Zitko, L.; Turk, V.; Pain, R. H. *Biol. Chem. Hoppe. Seyler.* **1992**, *373*, 453-458.
59. Kirkitadze, M. D.; Barlow, P. N.; Price, N. C.; Kelly, S. M.; Boutell, C. J.; Rixon, F. J.; McClell, D. A. *J. Virol.* **1998**, *72*, 10066-10072.
60. Bychkova, V. E.; Berni, R.; Rossi, G. L.; Kutysenko, V. P.; Ptitsyn, O. B. *Biochemistry*, **1992**, *31*, 7566-7571.
61. Edwin, F.; Jagannadham, M. V. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1998**, *252*, 654-60.
62. Lu, J.; Dahlquist, F. W. *Biochemistry* **1992**, *31*, 4749-3756.
63. Reddy, G. B.; Srinivas, V. R.; Ahmad, N.; Surolia, A. *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 4500-4503.
64. Dolginova, E. A.; Roth, E.; Silman, I.; Weiner, L. M. *Biochemistry* **1992**, *31*, 12248-54
65. Yuan, C.; Byeon, I. J.; Poi, M.J.; Tsai, M.D. *Biochemistry* **1999**, *38*, 2919-2929.
66. Mayo, K. H.; Barker, S.; Kuranda, M. J.; Hunt, A.J.; Myers, J.A.; Maione, T. E. *Biochemistry.* **1992**, *31*, 12255-12265.
67. Bose, H. S.; Whittall, R. M.; Baldwin, M. A.; Miller, W. L. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1999**, *96*, 7250-7255.
68. Schumann, J.; Jaenicke, R. *Eur. J. Biochem.* **1993**, *213*, 1225-1233.
69. Sheshadri, S.; Lingaraju, G. M.; Varadarajan, R. *Protein Sci.* **1999**, *8*, 1689-1695.
70. Barrick, D.; Baldwin, R. L. Stein and Moore Award address. *Protein Sci.* **1993**, *2*, 869-876
71. Christova, P.; Cox, J. A.; Craescu, C. T. *Proteins* **2000**, *40*, 177-184.
72. Fink, A. L.; Calciano, L. J.; Goto, Y.; Nishimura, M.; Swedberg, S. A. *Protein Sci.* **1993**, *2*, 1155-1160.
73. Shutova, T.; Irrgang, K.; Klimov, V.V.; Renger, G. *FEBS Lett.* **2000**, *467*, 137-140.
74. Silva, N. Jr.; Gratton, E.; Mei, G.; Rosato, N.; Rusch, R.; Finazzi-Agro, A. *Biophys. Chem.* **1993**, *48*, 171-182.
75. Aitio, H.; Laakso, T.; Pihlajamaa, T.; Torkkeli, M.; Kilpelainen, I.; Drakenberg, T.; Serimaa, R.; Annala, A. *Protein Sci.* **2001**, *10*, 74-82.
76. Khurana, R.; Udgaonkar, J. B. *Biochemistry* **1994**, *33*, 106-115.
77. Lee, B.C.; Croonquist, P.A.; Sosnick, T.R.; Hoff, W.D. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 20821-20823.
78. Denton, J. B.; Konishi, Y.; Scheraga, H. A.. *Biochemistry.* **1982**, *21*, 5155-5163.
79. Staniforth, R. A.; Giannini, S.; Higgins, L. D.; Conroy, M. J.; Hounslow, A. M.; Jerala, R.; Craven, C. J.; Waltho, J. P. *EMBO. J.* **2001**, *20*, 4774-4781.
80. Hlodan, R.; Pain, R. H. *FEBS Lett.* **1994**, *343*, 256-260.

81. Bailey, R. W.; Dunker, A. K.; Brown, C. J.; Garner, E. C.; Griswold, M. D. *Biochemistry*. **2001**, *40*, 11828-11840.
82. Shi, L.; Palleros, D. R.; Fink, A. L. *Biochemistry* **1994**, *33*, 7536-7546.
83. Ghobadi, S.; Safarian, S.; Moosavi-Movahedi, A. A.; Ranjbar, B. *J. Biochem. (Tokyo)* **2001**, *130*, 671-677.
84. Safar, J.; Roller, P.P.; Gajdusek, D.C.; Gibbs, C. J. Jr. *Biochemistry* **1994**, *33*, 8375-8383.
85. Nath, D.; Rao, M. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2001**, *288*, 1218-1222.
86. Freire, E.; Xie, D. *Biophys. Chem.* **1994**, *51*, 243-251.
87. Cai, S.; Singh, B. R. *Biochemistry*. **2001**, *40*, 15327-15333.
88. Hornby, D.P.; Whitmarsh, A.; Pinarbasi, H.; Kelly, S. M.; Price, N. C.; Shore, P.; Baldwin, G. S.; Waltho, J. *FEBS Lett.* **1994**, *355*, 57-60.
89. Morrow, J. A.; Hatters, D. M.; Lu, B.; Hochtl, P.; Oberg, K.A.; Rupp, B.; Weisgraber, K.H. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 50380-50385.
90. Ou, W.; Wang, R. S.; Lu, J.; Zhou, H. M. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* **2002**, *34*, 970-982.
91. Chan, H.S.; Dill, K.A. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1990**, *87*, 6388-6392.
92. Dolgikh, D. A.; Gilmanshin, R. I.; Brazhnikov, E. V.; Bychkova, V. E.; Seminostov, G. V.; Venyaminov, S. Y.; Ptitsyn, O. B. *FEBS Letters*. **1981**, *136*, 311-315.
93. Kyte, J. *Structure in Protein Chemistry*. Garland Publishing, Inc. New York & London. **1995**, 606 p.
94. Nitta, K.; Sugai, S. *Eur J Biochem.* **1989**, *182*, 111-118.
95. Pike, A. C.; Brew, K. Acharya, K. R. *Structure*. **1996**, *4*, 691-703.
96. Kuwajima K. *FASEB J.* **1996**, *10*, 102-109.
97. Bychkova, V. E.; Pain, R. H.; Ptitsyn, O. B. *FEBS Lett.* **1988**, *238*, 231-234.
98. Cháñez-Cárdenas, M. E.; Cisneros-Armas, D. A.; del Pozo-Yauner; Becerril, B.; Fernández-Velasco, D. A. Enfermedades Relacionadas al Plegamiento Anómalo de las Proteínas. En: Cea Bonilla A.; del Arrenal Mena I. P.; Riveros Rosas H.; Vázquez-Contreras E. (eds). **2002**, *Mensaje Bioquímico*, Vol XXVI. UNAM, México, DF (<http://laguna.fmedic.unam.mx/mensajebioquimico>).
99. Uversky, V. N.; Ptitsyn, O. B. *Biochemistry*. **1994**, *33*, 2782-2791.
100. Uversky V. N.; Ptitsyn, O. B. *J. Mol. Biol.* **1996**, *255*, 215-228.
101. Chaffotte, A. F.; Guijarro, J. I.; Guillou, Y.; Delepierre, M.; Goldberg, M. E. *J. Protein. Chem.* **1997**, *16*, 433-439.
102. Uversky, V. N.; Fink, A. L. *Biochemistry (Moscow)* **1999**, *64*, 552-555.

Degradación del material pétreo de la zona arqueológica de El Tajín, Veracruz, México, por efecto de la lluvia ácida

Humberto Bravo,^{1*} Rogelio Soto,² Rodolfo Sosa,¹ Pablo Sánchez,¹ Ana Luisa Alarcón¹ y Jaime Ruíz¹

¹ Sección de Contaminación Ambiental, Centro de Ciencias de la Atmósfera, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, C.P. 04510, México, D.F., Tel: 56224052, E-mail: bravo@servidor.unam.mx

² División de Ciencias Básicas, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, C.P. 04510, México, D.F.

Recibido el 17 de noviembre del 2003; aceptado el 14 de enero del 2004

Resumen. Se estudió el efecto que la lluvia ácida causó sobre roca caliza proveniente de la zona arqueológica de El Tajín, en el estado de Veracruz. Se hizo incidir lluvia ácida, preparada en el laboratorio, cuya concentración iónica fue similar a las muestras de agua de lluvia procedentes de dicho lugar. Con el objeto de acelerar el deterioro de la roca caliza, el pH de la lluvia artificial se ajustó a 4.4, que representa uno de los valores más ácidos encontrados en las muestras de agua de lluvia de dicha región. El experimento se realizó en una cámara de intemperismo acelerado, y los resultados obtenidos permiten proponer un mecanismo para la disolución de la roca, así como cuantificar la cantidad de de carbonato de calcio que se disolvió por efecto de la lluvia ácida.

Palabras clave: Lluvia ácida, roca caliza, El Tajín.

Abstract. In this work we studied the effect of acid rain on limestone rock sample from El Tajin, Veracruz. Acidic water, with ionic concentration similar to acid rain samples from El Tajin, was applied to the rock sample in a laboratory setting.

The experiment was performed in a chamber designed to accelerate simulated environmental exposure. To further accelerate the deterioration of the limestone sample, simulated acid rain with a reduced pH (4.4) was also applied. Our results allow us to propose a mechanism for the dissolution of the rock, and to determine the calcium carbonate quantity was dissolved by acid rain.

Key words: Acid rain, Limestone rock, El Tajin.

Introducción

La lluvia ácida representa actualmente un problema potencial que incide en mayor o menor grado sobre todos los ecosistemas. El deterioro que sufre la roca caliza que forma parte de los monumentos, construidos con este material, no es la excepción.

La contaminación atmosférica, especialmente la que ocasiona el dióxido de azufre, es un factor preponderante en la formación de yeso ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), sobre la roca carbonatada. El yeso se puede formar por reacciones que comienzan con el depósito seco del SO_2 en la superficie de la roca, o por la acción del ácido sulfúrico sobre ella [1,2].

Baer [3], manifiesta que además de los gases ácidos, la humedad de la atmósfera es otro de los factores que se debe tomar en consideración en este tipo de investigaciones. Indica, asimismo, que el proceso de deterioro se debe enfocar desde el punto de vista de la termodinámica.

En México, se han realizado investigaciones sobre el efecto que la lluvia ácida ha ocasionado sobre los monumentos de la zona arqueológica de Tulum, en Quintana Roo [4,5]. Los resultados obtenidos permiten concluir que, en efecto, la disolución del material se favorece cuando éste interacciona con la lluvia ácida.

Se ha mencionado [6] el uso de cámaras de intemperismo acelerado para estudiar los efectos de algunas mezclas de aire contaminado sobre material calcáreo. Esta técnica permite la determinación de cada contaminante por separado, pero pre-

senta el inconveniente de que es difícil simular los niveles de turbulencia de la atmósfera, así como los efectos de la precipitación natural.

Reddy [7], por otra parte, puntualiza que la disolución de la roca caliza aumenta la concentración de calcio en el efluente, lo cual repercute en una pérdida superficial de carbonato de calcio. Este fenómeno, conocido como recesión superficial, es directamente proporcional a la cantidad de lluvia incidente, así como a su concentración de ion hidrógeno.

Resultados y discusión

En la Tabla 1 se muestran, para el efluente, los valores de pH, del número de moles netos del ion calcio (la diferencia entre la concentración total del calcio en el efluente y del calcio en el blanco), y del número de moles del ion bicarbonato, para cada una de las tres muestras de roca caliza que se analizaron, durante los 10 años de simulación del estudio. Debido al valor del pH del blanco (4.4), la concentración de bicarbonato es despreciable comparada con la obtenida después de la neutralización del carbonato de calcio por la lluvia ácida [8].

En la Tabla 2 se indican los valores acumulativos de los números de moles netos del ion calcio y del ion bicarbonato para cada año, y en la figura 1, se muestra la gráfica que relaciona el número de moles de cada una de estas especies para las tres muestras.

Tabla 1. pH y números de moles netos de ion calcio y de ion bicarbonato, en el efluente, para las tres muestras de roca caliza. Tiempo simulado de exposición: 10 años.

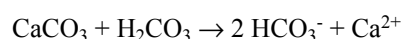
Año	pH	$n_{Ca^{2+}} \times 10^4, \text{ mol}$			$n_{HCO_3^-} \times 10^4, \text{ mol}$		
		Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
1	7.04	0.81	0.87	0.80	2.36	1.09	2.13
2	7.22	0.64	0.42	0.44	1.41	1.01	0.97
3	7.16	0.73	0.73	0.56	1.40	1.40	1.13
4	7.10	0.72	0.64	0.54	1.25	1.28	1.04
5	7.20	0.63	0.68	0.61	1.24	1.23	1.05
6	7.05	0.81	0.67	0.59	1.46	1.16	1.09
7	7.18	0.75	0.75	0.54	1.45	1.36	1.13
8	6.95	0.72	0.70	0.60	1.44	1.18	1.22
9	7.33	0.73	0.67	0.74	1.31	1.23	1.27
10	7.10	0.62	0.60	0.71	1.04	0.90	1.15

Tabla 2. Número de moles acumulativos netos de ion calcio y de ion bicarbonato.

Año	$n_{Ca^{2+}} \times 10^4, \text{ mol}$			$n_{HCO_3^-} \times 10^4, \text{ mol}$		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
1	0.81	0.87	0.80	2.36	1.09	2.13
2	1.45	1.29	1.24	3.77	2.10	3.10
3	2.18	2.02	1.80	5.17	3.50	4.23
4	2.90	2.66	2.34	6.42	4.78	5.27
5	3.53	3.34	2.95	7.66	6.01	6.32
6	4.34	4.01	3.54	9.12	7.17	7.41
7	5.09	4.76	4.08	10.57	8.53	8.54
8	5.81	5.46	4.68	12.01	9.71	9.76
9	6.54	6.13	5.42	13.32	10.94	11.03
10	7.16	6.73	6.13	14.36	11.84	12.18

El valor de la pendiente (*m*) de cada una de las rectas (cercano a 2), indica que en la estequiometría de la reacción, se obtienen 2 moles de bicarbonato por cada mol de calcio, de

tal manera, que la reacción de disolución que se propone es la siguiente:



Mecanismo que otros autores [9] han reportado como responsable en el proceso de disolución del material pétreo.

Por otra parte, en la Tabla 3, se indica la diferencia en masa que se obtuvo para cada una de las muestras antes y después del experimento. Este valor representa la cantidad de carbonato de calcio que se disolvió por efecto de la lluvia ácida. En la misma tabla, se indica la masa de carbonato de calcio obtenida a partir de la concentración total neta del ion calcio en el efluente, durante todo el periodo que duró el estudio, para cada una de las muestras.

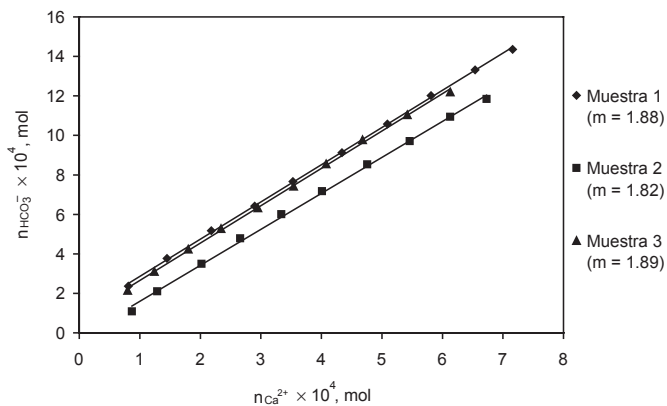


Fig. 1. Relación entre el número de moles acumulativos netos del ion bicarbonato y el número de moles acumulativos netos del ion calcio, durante la disolución de tres muestras de roca caliza por efecto de la lluvia ácida.

Parte experimental

En una cámara construida de acrílico y con las dimensiones siguientes: 104 cm (lado) × 78cm (lado) × 120 cm (altura), se hizo incidir sobre tres muestras de roca caliza (área de 25 cm²,

Tabla 3. Masas de carbonato de calcio determinadas gravimétricamente (*) y mediante la concentración total neta de calcio en el efluente(**).

Muestra	m _{CaCO₃} (*), mg	m _{CaCO₃} (**), mg
1	75.70	71.60
2	64.40	67.19
3	74.00	61.25
(media ± desviación estándar de la media), mg	71.37 ± 6.09	66.68 ± 5.19

aproximadamente), pesadas previamente, el agua ácida preparada en el laboratorio, con una concentración iónica similar a la composición del agua de lluvia procedente de El Tajín, durante los años 2002-2003. El pH del agua se ajustó con HNO₃ a 4.4, y el flujo volumétrico del agua que incidió sobre las muestras fue 0.45 mL/min, aproximadamente. De acuerdo con este valor y con el dato de precipitación pluvial en El Tajín (1180 mm/año), la recolección de 750 mL de efluente, durante 28 horas de goteo, simuló un año de irrigación en condiciones naturales.

En una cámara de intemperismo acelerado (diseñada y construida en la Sección de Contaminación Ambiental del Centro de Ciencias de la Atmósfera), se simularon las condiciones de temperatura promedio existentes en El Tajín (aprox. 25 °C), así como la humedad relativa promedio en dicho lugar (aprox. 80%). Para satisfacer la primera condición se utilizó una lámpara de luz infrarroja, cuya intensidad se podía graduar a voluntad, y la alta humedad relativa requerida, se obtuvo al evaporar cierta cantidad de agua mediante un resistor eléctrico (graduado mediante un reóstato). El valor de ambos parámetros se verificaba frecuentemente mediante un baroter-mohigrógrafo.

Al efluente recolectado de cada una de las muestras y de un blanco que se corrió simultáneamente, se le determinó el pH, la conductividad y las concentraciones de los iones siguientes, mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC): Na⁺, K⁺, NH₄⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Cl⁻, NO₃⁻ y SO₄²⁻. Se determinó, asimismo, la concentración de HCO₃⁻, volumétricamente.

En vista de que estos mismos parámetros (excepto la concentración de bicarbonato) se le determinaron al agua inciden-

te, fue posible estimar la contribución iónica que aportó la roca caliza durante su disolución.

Después de la exposición de la roca caliza al agua ácida por un período equivalente a 10 años, las muestras de material pétreo se secaron y se pesaron nuevamente.

Agradecimientos

Al Dr. Juergen Brueggemann, responsable del mantenimiento y conservación de los monumentos de la zona arqueológica de El Tajín, al Ing. Daniel Goeritz, delegado del INAH en Veracruz, y al Sr. Alejandro Santéz García, custodio de la zona arqueológica de El Tajín.

Referencias

- Cheng, J.R.; Castillo, R. *A Study of Marble Deterioration at City Hall, Schenectady, New York*, **1984**, 34, 1, 15-19.
- McGee, S.M. The Formation of Chemical Alteration Products. Acidic Deposition State of Science and Technology. *Vol. III: Terrestrial, Materials, Health and Visibility Effects. The U.S. National Acidic Precipitation Assessment Program*. **1991**, 140-144.
- Baer, S.N. Effects of Acidification of Materials and Cultural Property. *Studies in Environmental Science 30. Acidification and its Policy Implications*. Proceedings of an International Conference held in Amsterdam, **1986**, may 5-9, 189-213.
- Bravo, A.H.; Soto, A.R.; Saavedra, R.M.I.; Torres, J.R.; Granada, M.L.M.; Sánchez, A.P. Acid Rain in Mexico Case: Maya Monuments. *Air Pollution VI*, eds. C.A. Brebbia, C.F. Ratto & H. Power, WIT Press: Boston, Southampton, **1998**, 661-674.
- Bravo, A.H.; Soto, A.R.; Torres, J.R.; Sánchez, A.P. Effects of Wet Acidic Deposition on Carbonate Stone from Maya Monuments, Mexico (Paper # 939). *Air & Waste Management. Annual Conference & Exhibition Proceedings (CD-ROM)*. Junio **2000**.
- Lipfert, W.F. Effects of Acid Deposition on the Atmospheric Deterioration of Materials. *Materials Performance*, July **1987**.
- Reddy, M.M. Acid Rain Damage to Carbonate Stone: A Quantitative Assessment Based on the Aqueous Geochemistry of Rainfall Runoff from Stone. *Earth Surface Processes and Landforms* **1988**, 13, 335-354.
- Manahan, S.E. *Environmental Chemistry*. Lewis Publishers, Fourth Edition. **1991**, Chapter 2, 9-35.
- L. Don Leet, L., Judson, Sh. *Fundamentos de Geología Física*. Ed. Limusa, **1965**, capítulo 12, 181-196.

Comunicación Técnica

Comportamiento de películas de Quitosán compuesto en un modelo de almacenamiento de aguacate

S. Patricia Miranda,^{1*} Galo Cárdenas,² Damián López,¹ Alma V. Lara-Sagahon¹

¹ Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Estudios Superiores, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. 1° de Mayo s/n, Cuautitlán Izcalli, C.P. 54700, Estado de México, México

² Departamento de Polímeros, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Concepción, Edmundo Larenas 129, Concepción, Chile

Recibido el 27 de junio del 2003; aceptado el 20 de enero del 2004

Resumen. Se conoce que las películas de quitosán son buenas barreras al oxígeno y al dióxido de carbono. No obstante, las películas de quitosán mezcladas con emulsificantes y plastificantes mejoran sus propiedades fisicomecánicas. La adición de glicerol, tween 80 y cera a las películas, aseguran la permeabilidad al agua y mejoran las propiedades mecánicas como elongación, fuerza de tensión y módulo elástico. Este material novedoso potencialmente puede ser usado como empaque de alimentos biodegradable.

Palabras clave: Películas de quitosán, películas biodegradables, películas comestibles, permeabilidad al vapor de agua, pruebas mecánicas, almacenamiento de aguacate.

Abstract. Chitosan films are known as a good oxygen and carbon dioxide barrier. However, chitosan composite films containing mixtures with emulsifier and plastifiers are able to improve their physico-mechanical properties. The addition of glycerol, tween 80 and wax into the films ensure the water permeability and improve mechanical properties such as elongation, tension force and elastic modulus. This novel materials exhibit a potential to be used as biodegradable food packing.

Key words: Chitosan films, biodegradable films, edible films, water vapor permeability, mechanical properties, avocado storage conditions.

Introducción

Las películas y recubrimientos comestibles y biodegradables representan una alternativa de empaque sin costos ambientales. Aunque no se pretende el reemplazo total de películas de empaque sintéticas, se tiene el potencial de reducir considerablemente estos materiales.

Los materiales que se emplean para la formación de películas y recubrimientos comestibles y biodegradables son proteínas, lípidos y polisacáridos.

Los polisacáridos solubles en agua son polímeros de cadena larga que se disuelven o dispersan en agua confiriendo un efecto viscoso [1] y son comúnmente usados en alimentos como espesantes debido a que incrementan su viscosidad cuando son hidratados. Los polisacáridos también pueden formar películas comestibles. Esta clase de películas incluyen las que son a base de celulosa y sus derivados, quitosano, almidones, dextrinas, alginatos, carragenina y pectina [2-6]. Debido a su relativa insolubilidad en estado natural, la celulosa y la quitina son químicamente tratadas para incrementar su solubilidad en agua. El alginato y la pectina requieren adición de iones de calcio para formar geles [3].

El mecanismo de formación de películas de polisacáridos, es el rompimiento del polímero en segmentos y regenerar la cadena del polímero al interior de la matriz de la película o gel. Esto es usualmente logrado por evaporación de un solvente, creando enlaces hidrofílicos con hidrógeno y enlaces iónicos [3].

Las películas de polisacáridos pueden emplearse para extender la vida de anaquel de frutas, hortalizas, productos marinos o de carne, reduciendo su deshidratación, rancidez oxidativa y obscurecimiento superficial [1]. Los polisacáridos pueden reducir los niveles internos de O₂ y elevar los de CO₂ permitiendo prolongar la vida de anaquel de los productos vegetales frescos [1].

Los beneficios de los recubrimientos a base de polisacáridos son: a) Retención de sabor, ácidos, azúcares, textura y color, b) mayor estabilidad durante el embarque y almacenamiento, c) mejor apariencia y d) reducción de pudriciones ya que reduce la posibilidad de que las condiciones anaeróbicas se presenten [1].

El quitosán es de interés potencial como base de películas y recubrimientos comestibles porque tiene propiedades de barrera al oxígeno además de tener actividad bactericida y fungicida contra algunos patógenos de frutos [7-10]. Sin embargo, el quitosán es una molécula hidrofílica la cual debe tratarse con algunos aditivos para propiciar cierta hidrofobicidad y mejorar sus propiedades mecánicas, además de que a alta humedad relativa se puede disolver.

El objetivo de este trabajo es estudiar la permeabilidad al vapor de agua y propiedades mecánicas de películas de quitosán con aditivos que proveen humectación, elasticidad e hidrofobicidad, neutralizadas y no neutralizadas, bajo condiciones simuladas de almacenamiento del aguacate y condiciones inversas de humedad relativa a temperatura de refrigeración y temperatura ambiente.

Materiales y métodos

Determinación de la actividad de agua en aguacate. Se seleccionaron aguacates variedad Hass en estado de madurez comercial obtenidos de la Central de Abasto del Estado de México. Los aguacates fueron lavados, despulpados y la pulpa fue homogeneizada manualmente para determinar la actividad de agua (A_w) en un Aqualab modelo CX2. Esta prueba se realizó por triplicado.

Preparación de quitina y quitosán. La quitina se preparó a partir de caparzones de camarón, se llevó a cabo la desmineralización con HCl 1N a 30 °C y la desproteínización con NaOH 1N a 100 °C.

Se desacetiló la quitina para obtener quitosán usando NaOH al 50% p/v a 100 °C por 1-2 horas.

Caracterización de quitosán

Determinación del peso molecular. Se usó un viscosímetro Ostwald de 0.44 mm con un baño termostático de Cole Palmer. Una vez obtenida la viscosidad intrínseca se obtuvo K y a de tablas para HAc/NaAc siendo 0.076 y 0.76 respectivamente [11]. A partir de los datos y con la ecuación de Mark Houwinks se obtuvo el peso molecular viscosimétrico.

Grado de desacetilación. Se usó un potenciómetro W1W pH 531 con electrodo de vidrio combinado. El porcentaje de desacetilación se determinó por titulación potenciométrica [12].

Preparación de la solución base de quitosán. Se preparó una solución de quitosán al 2 % p/v en una solución de ácido acético al 1%.

Preparación de las soluciones para películas de quitosán compuestas. A partir de la solución base de quitosán se prepararon las soluciones para formar las películas compuestas. Se adicionó glicerol, tween 80 y cera de abeja a las concentraciones de 0.3, 0.6 y 0.1 % respectivamente. Posteriormente las soluciones se homogenizaron en un homogenizador marca Silverson L4R por 15 minutos. Se dejaron reposar las soluciones hasta que se eliminaron las burbujas.

Formación de películas. Se usaron recipientes de vidrio de 10 cm de diámetro, los cuales fueron lavados y desengrasados con acetona. A cada recipiente se le adicionó 15 ml de cada una de las soluciones de quitosán. Los recipientes se dejaron a temperatura ambiente 24 °C y 50% humedad relativa y por evaporación del solvente se formaron las películas.

A otro grupo igual de películas se les neutralizó "in situ", sumergiendo los recipientes con la película formada en una solución de hidróxido de sodio 1N por 5 minutos y posteriormente fueron lavadas con agua hasta eliminar todo el hidróxido restante. Las películas se dejaron secar a temperatura ambiente y fueron almacenadas en un recipiente cerrado a 25 °C.

Evaluación del grosor de las películas. El grosor de las películas fue medido con un micrómetro Mitutoyo modelo Digimatic con una resolución de 0.001 mm. Las películas se midieron en 5 puntos y fue considerado el valor promedio.

Evaluación de la permeabilidad al vapor de agua de películas compuestas de quitosán

Acondicionamiento de la cámara ambiental y la cámara de prueba. Las cámaras ambientales fueron acondicionadas 24 h antes, con soluciones saturadas KCl y K_2SO_4 creando humedades relativas de 85 y 97%, respectivamente. Las celdas de prueba fueron acondicionadas con las mismas soluciones.

De acuerdo a la ASTM E96-80, el método gravimétrico sugiere una celda de doble fondo. Los dos grupos de películas fueron colocadas en las celdas de prueba, sujetadas con bandas de goma y selladas. El peso inicial se registró y las celdas de prueba fueron transferidas a las cámaras ambientales las cuales ya estaban acondicionadas a 85% y 97% de humedad relativa. Las cámaras ambientales se mantuvieron a $4^\circ C \pm 2$ y a $24^\circ C \pm 2$. La pérdida o incremento de peso de las celdas de prueba fueron monitoreadas a través del tiempo y se registraron un mínimo de siete valores a partir del estado de equilibrio [13].

Se graficaron la pérdida o ganancia de peso contra el tiempo y la pendiente resultante fue dividida por el área expuesta de la película obteniéndose así, la Transmisión de Vapor de Agua. Los datos fueron tratados de acuerdo a las ecuaciones descritas para Permeabilidad en la ASTM y se hicieron las correcciones de acuerdo con lo descrito por Schwartzberg y Mc Hugh para películas hidrofílicas quienes consideran el aire estancado entre la solución saturada dentro de la cámara de prueba y la superficie de la película dentro de la cámara así como la presión parcial debajo de la película.

Al grupo de 8 películas compuestas no neutralizadas, se le realizó la determinación de permeabilidad al vapor de agua bajo condiciones de Humedad relativa interna de 85% y externa de 97% (modelo de condiciones de almacenamiento de aguacate) y viceversa, a temperaturas de 4 °C y 24 °C. De igual manera se realizó el experimento al grupo de 8 películas compuestas neutralizadas.

El planteamiento estadístico fue un análisis de varianza para un experimento factorial en bloques completos y los bloques fueron la temperatura a 4 °C y 24 °C y los factores i) 8 Películas, ii) humedad relativa de 85% interna y 97 % externa, 97% interna y externa, iii) películas no neutralizadas y películas neutralizadas.

Evaluación de las propiedades mecánicas de películas compuestas de quitosán

Las propiedades mecánicas fueron evaluadas con los métodos estándar de la ASTM (D882-91) para tensión [14]. Películas recién formadas se cortaron en listones de 2.8 cm de ancho por 10.5 cm de largo y se almacenaron a 30 °C y 50% de humedad relativa por 48 horas antes de la prueba. Se empleó un analizador de textura TAXT2, (Texture Technologies, Corp., New York), a una velocidad

transversal de 2 mm / s para tensión. El área expuesta de la película fue de 6.7 cm de largo. Se evaluó la fuerza de tensión y elongación al punto de fractura y módulo elástico. Se probaron cuatro muestras por película y por prueba. Con el método estadístico ANOVA-MANOVA $p < 0.05$, se analizaron los datos obtenidos.

Resultados y discusión

Evaluación de la actividad de agua en aguacate Hass. De acuerdo a los datos obtenidos en el Aqualab, el valor promedio de la actividad de agua de la pulpa del aguacate es de 0.973. Por lo tanto la Humedad relativa del aguacate es 97.3 % ($HR = Actividad\ de\ agua * 100$).

Determinación del peso molecular del quitosán y grado de desacetilación del quitosán. De los datos obtenidos y de la ecuación de Mark-Houwinks se obtuvo un peso molecular para el quitosán de 130,000 g/mol. El grado de desacetilación fue de 85% y completamente soluble en una solución de ácido acético al 1%.

Elaboración de películas de quitosán compuestas. Las películas de quitosano compuestas tuvieron las siguientes características en general: translúcidas, elásticas sin fracturas y sin poros. Las películas que contenían cera presentaron partículas sin disolver y las que contenían glicerol eran más elásticas. Las que contenían Tween 80 eran elásticas y adherentes.

Las películas que fueron neutralizadas presentaron un comportamiento hidrofóbico, es decir no se disolvían al contacto con el agua.

Determinación del grosor de las películas de quitosán compuestas. La Tabla 1, muestra el grosor de las diferentes películas no neutralizadas y neutralizadas.

En general se observa que el grosor de las películas se incrementa cuando algún aditivo se adiciona, en particular los que contienen ácidos grasos como es la cera de abeja y el

Tabla 1. Grosor promedio de películas de quitosán compuestas (mm).

Película	no neutralizada	neutralizada
Quitosán	0.015	0.012
Quitosán-cera de abeja	0.027	0.028
Quitosán-glicerol	0.014	0.015
Quitosán-tween 80	0.017	0.015
Quitosán- cera-glicerol	0.035	0.026
Quitosán- cera -tween	0.035	0.022
Quitosán-glicerol-tween	0.022	0.016
Quitosán-cera-glicerol-tween	0.033	0.017

tween, el máximo grosor es obtenido con las películas de quitosán con cera y tween y cera glicerol.

También se observa que la neutralización de las películas disminuye el grosor de éstas y esto puede ser debido al efecto de precipitación del polímero. El efecto de disminución del grosor es más dramático en las películas que tienen dos aditivos, en particular la película compuesta con tres aditivos, debido esto a la presencia de otros grupos orgánicos activos que son capaces de generar interacciones atómicas en la macromolécula cuando es neutralizada.

Evaluación de la permeabilidad al vapor de agua de películas de quitosán compuestas. En la figura 1A, se observan los resultados obtenidos de permeabilidad efectiva al vapor de agua de la películas de quitosán neutralizadas y no neutralizadas a temperatura de 4°C bajo las condiciones simuladas del almacenamiento de aguacate, en donde la humedad relativa interna (del aguacate) es de 97% y la externa (del refrigerador) es de 85%.

La menor permeabilidad efectiva fue presentada por la película de quitosán no neutralizada con un valor de 0.2613 g mm / m² h KPa y el valor mas alto de permeabilidad fue para las películas de quitosán-cera-glicerol neutralizada con un valor de 6.96 g mm / m² h KPa. Este último valor, se debe principalmente a la presencia de glicerol ya que el glicerol

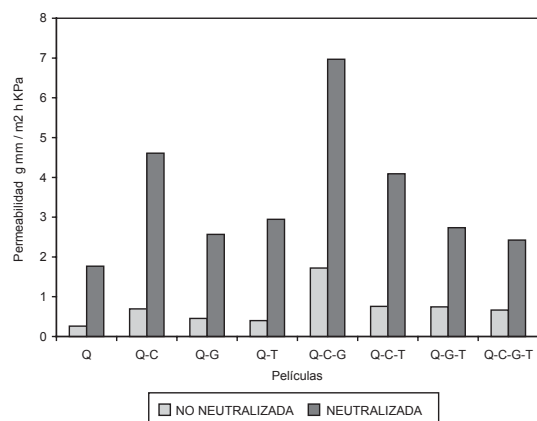


Fig. 1A

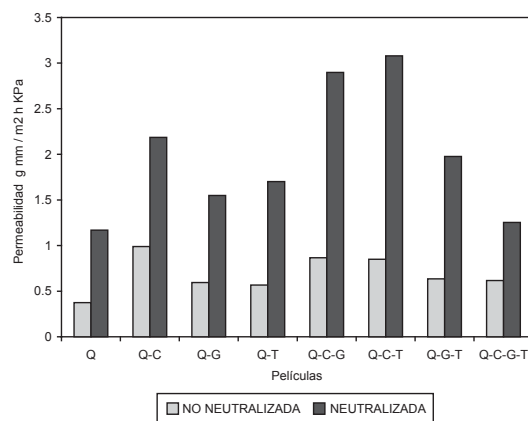


Fig. 1B

produce relajación en las cadenas del quitosano reduciendo los enlaces de hidrógeno e incrementando el espacio intermolecular, aumentando además, la sorción de moléculas polares como el agua, ya que la neutralización de la película se llevó a cabo *in situ* por lo que la superficie de la película estirada expuesta a la solución neutralizadora se precipitó formándose así poros grandes.

La Figura 1B, muestra los resultados de permeabilidad efectiva del mismo grupo de películas bajo las mismas condiciones de temperatura pero con el flujo de permeante en dirección opuesta, es decir humedad interna 85% y humedad externa 97%.

Se observa que las películas de quitosán no neutralizadas muestran el valor más bajo de permeabilidad con un valor de 0.3744 g mm / m² h KPa.

En ambos casos figura 1A y 1B, es evidente que la neutralización causa un efecto sobre el incremento en la permeabilidad y es mucho mayor cuando el sentido del flujo del permeante es de adentro hacia fuera o sea de 97% de humedad relativa interna y 85% de humedad relativa externa.

En las figuras 2A y 2B se resumen los valores de permeabilidad de las películas de quitosán compuestas bajo las dos condiciones de humedad relativa pero en este caso a temperatura de 24 °C.

Las películas de quitosán no neutralizadas en la figura 2A exhiben el valor mas bajo de permeabilidad efectiva siendo 0.2435 g mm / m² h KPa, mientras que en la figura 2B, en las condiciones inversas de humedad relativa, también las películas de quitosán neutralizadas y no neutralizadas muestran valores semejantes de 0.27 g mm / m² h KPa.

En todas las condiciones experimentales aquí probadas, las películas de quitosán poseen el valor mas bajo de permeabilidad al vapor de agua y estos valores son mas bajos que los obtenidos previamente por Garnica, en donde las películas de quitosán con aditivos fueron estudiadas bajo un gradiente de humedad relativa mucho mayor (100 -0 %), siendo estos valores 700 % mayores a las que se obtienen en este trabajo en donde el gradiente de humedad relativa es de 97-85 % [15]. Esto demuestra que la permeabilidad de las películas hidrofílicas está relacionada directamente con el gradiente de humedad relativa.

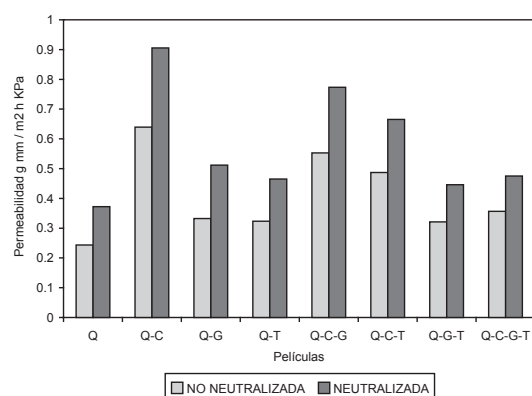


Fig. 2A

Ahora bien, la dirección de flujo del permeante es otra de las condiciones que tienen influencia en la permeabilidad de las películas y esto puede verse en las figuras 1A y 1B en donde 1 A son las condiciones simuladas de almacenamiento recomendadas de aguacate, y es 134 % mayor que 1B donde las condiciones de humedad relativa son inversas. Este mismo efecto fue reportado por Mauer quien obtuvo valores de 300% mayores cuando el flujo del permeante en películas de ? caseína con glicerol [16].

Los valores de permeabilidad a 4 °C son mayores a los que presentan las películas a 24 °C y para explicar este fenómeno, existen algunas hipótesis, la primera propone que la sorción de agua se incrementa debido al decremento en la temperatura iniciando el factor preponderante de transferencia [17, 18]; Rogers observó un incremento en permeabilidad de polietileno a bajas temperaturas y muestra que la difusión y la sorción se desvían de la forma lineal a bajas temperaturas debido al efecto plastificante de las moléculas sorbidas [19]. La segunda hipótesis se basa en un cambio en la estructura de la película entre 5 y -10°C que afecta la difusión de agua en la matriz. Otra hipótesis concierne a las propiedades de las moléculas del penetrante.

Evaluación de las propiedades mecánicas de películas compuestas de quitosán.

Las propiedades mecánicas de las películas son tan importantes como las propiedades de barrera. La fuerza de tensión, da una medida de la integridad y durabilidad de las películas para potenciales aplicaciones y el porcentaje de elongación es una medida que representa las propiedades de estiramiento de las mismas.

Los resultados de elongación de películas de quitosán compuesto neutralizadas y no neutralizadas se muestran en la figura 3. El mayor porcentaje de elongación fue de las películas de quitosán-cera y tween y quitosán —cera— glicerol no neutralizadas con valores de 9.3 y 9.1 respectivamente. Estos valores representan un aumento de 365 % de elongación respecto a las películas de quitosán no neutralizada sin aditivos. El valor mas bajo de elongación fue de 0.1 % en la película de quitosán neutralizada, lo que indica que la neutralización en efecto elimina las interacciones entre cadenas del polímero haciéndolo mas rígido.

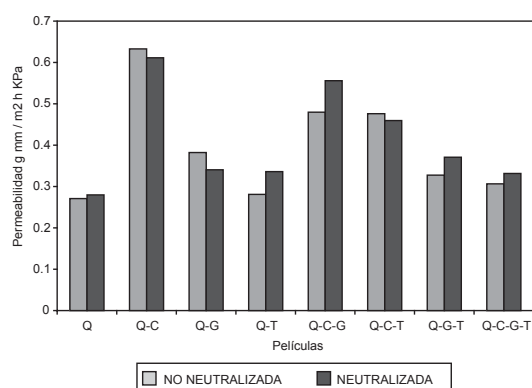


Fig. 2B

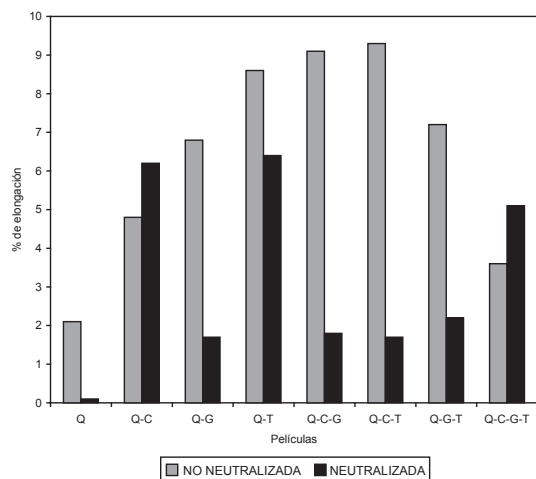


Fig. 3

La adición de cera, glicerol y tween a las películas de quitosán, incrementa el porcentaje de elongación debido al glicerol y al éster del ácido graso presente en la composición del tween los cuales actúan como plastificantes. La medida molecular, la configuración y el total de grupos polares en los plastificantes así como su compatibilidad con las cadenas de quitosán es lo que hace que exhiba diferentes porcentajes de elongación [20,25]. Se observa que la mayoría de las películas no neutralizadas muestran valores mayores comparados con las películas neutralizadas. En el caso de las películas de quitosán- cera- tween hubo un aumento en la elongación de 342 % comparado con la película de quitosán solo no neutralizado.

Las películas de quitosán exhiben valores de elongación mas bajos en la mayoría de las películas, sin embargo cuando se lleva a cabo la neutralización usando NaOH se nota que éste reacciona con los aditivos, haciendo mas flexible a las películas que los contienen, particularmente con cera y tween.

La fuerza de tensión que se obtiene en las películas de quitosán compuesto tanto neutralizado como no neutralizado se resume en la figura 4.

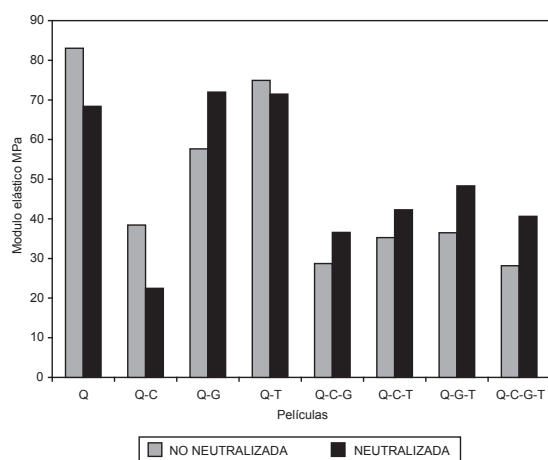


Fig. 5

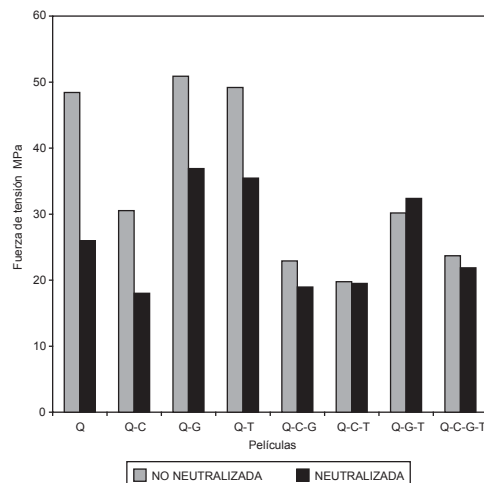


Fig. 4

Los valores máximos de tensión los presentan las películas no neutralizadas de quitosán, quitosán con glicerol y quitosán con tween con valores de 48.4, 50.9 y 49.2 MPa respectivamente. También se obtuvieron valores altos con las películas de quitosán-tween y quitosán-glicerol neutralizado. Esto es importante si se piensa en la posible aplicación de estas películas como envolturas de alimentos.

El módulo elástico es definido por Mauer [16] como la fuerza intrínseca de las películas y es evaluado en el rango lineal de la gráfica de fuerza de tensión.

La figura 5 resume el comportamiento elástico de las películas de quitosán compuesto neutralizadas y no neutralizadas.

Las películas de quitosán-glicerol, quitosán-tween y quitosán neutralizadas muestran el valor máximo de 71.9, 71.4 y 68.4 MPa respectivamente. El valor mas bajo fue para las películas de quitosán-cera con 22.5 MPa. En cuanto a las películas no neutralizadas el valor mas grande lo presentan las películas de quitosán y quitosán-tween con valores de 83 y 74.9 MPa.

Las propiedades mecánicas en términos de elasticidad y rigidez no son muy diferentes comparadas con los polímeros sintéticos. El módulo de elasticidad de biomateriales varía de 2500-3000 MPa, son menores para los polímeros rígidos como los almidones termoplásticos de 50 MPa y más bajos para materiales elásticos como polihidroxialcanoatos de cadena mediana [26].

Conclusiones

La literatura provee una vasta cantidad de información sobre las propiedades de barrera de biomateriales. De cualquier modo, las comparaciones entre biomateriales son complicadas y algunas veces no posibles debido al uso de diferentes tipos de equipos y a las diversas condiciones de evaluación. De acuerdo a las condiciones de almacenamiento de frutas y vegetales deben ser considerados algunos factores ya sean mecánicos o químicos involucrados en el diseño de películas para evitar el daño por microorganismos.

Se obtuvieron películas de quitosán compuesto transparentes, elásticas, sin poros ni fracturas. Las películas de quitosán conteniendo tween son más elásticas y con mejores propiedades adherentes. Las películas neutralizadas se comportan hidrofóbicamente y del análisis estadístico se concluye que el tipo de película, la neutralización y la temperatura tienen efecto significativo sobre la permeabilidad efectiva al vapor de agua. Con este trabajo se tiene información suficiente que nos permite pensar en algunas condiciones que pueden ser adecuadas para el recubrimiento de frutos en particular el aguacate para alargar su vida útil.

Agradecimientos

Al apoyo económico del Programa de Cátedras, en particular la 1.06 de Biotecnología de la FESC-UNAM

Referencias

- Bosques, M, E.; Vernon C, J.; Pérez F, L.; Guerrero L, I. *Industria Alimentaria*, **2000** Ene Feb. p. 4-36.
- Krochta, J. M.; De Mulder Johnston, C. *Food Technology* **1997**, *51*, 60-74.
- Butler, B.L.; Vergano, P.J.; Testing R.F.; Bunn, J.M.; Wiles J.L. *Journal of Food Science* **1996**, *61*, 953 - 961.
- Coffin, D. R.; Fishman, M. L. *J. Agric. Food Chem.* **1993**, *41*, 1192-1197.
- McHugh, T. H.; Huxsoll, C.C.; Krochta, J.M. *Journal of Food Science* **1996**, *61*, 87-91.
- Gnanasambandam, R.; Hettiarachchy, N.S., Coleman, M. *Journal of Food Science* **1997**, *62*, 395-398.
- Wong, D. W. S.; Gastineau, F. A.; Gregorsy, K. S.; Tillin, S. J.; Pavlath, A. E., *J. Agric. Food Chem.* **1992**, *40*, 540-544.
- Wiles, J.L.; Vergano, P.J.; Barron, F.H.; Bunn, J.M.; Testin, R.F. *Journal of Food Science* **2000**, *65*, 1175-1179.
- Hosokawa, J.; Nishiyama, M.; Yoshihara, K.; Kubo, T. *Ind. Eng. Chem. Res.* **1990**, No. 29: 800-805.
- Olabarrieta, I.; Forstrom, D.; Gedde, U.W. Hedenqvist, *Polymer.* **2001**, 4401-4408.
- Schwartzberg, H.G. in "Edible films coatings to improve Food Quality", Lancaster-Basel, PA Technomic Publishing Co. **1994**, p 139-187.
- MacHugh, T.H.; Avena-Bustillos, R.; Krochta, J.M. *Journal of Food Science* **1993**, *58*, 899-903.
- ASTM. "Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials", ASTM E 96-80, **1987**, p. 629-636
- ASTM. "Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting", ASTM D 882-91, **1994a**, p 194-202
- Garnica, M. O. Tesis Profesional. FESC-UNAM **2001**.
- Mauer, L.J.; Smith, D.E.; Labuza, T.P. *International Dairy Journal* **2000**, *10*, 353-358
- Labuza, T.P. and Contreras-Medellín R. *Cereal Food World* **1981**, *26*, 335-343
- Johansson, F. and Leufven, A. *J. Food Sci.* **1994**, *59*: 1328-1331.
- Rogers, C.E. "Polymer permeability", in J. Comyn (Ed.). Elsevier, New York, **1985**, p 11-73
- Chen, H. *J. Dairy Sci.* **1995**, *78*: 2563-2583.
- Fairley, P.; Monahan, F.J.; German, J.; Bruce, J.; Krochta, J.M. *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 438-443.
- Gennadios, C.L.Weller.; Hanna, M.A.; Froning, G.W. *J. Food Sci.* **1996**, *61*, 585-589.
- McHugh, T.H.; Aujard, J.F.; Krochta, J.M. *J. Food Sci.* **1994**, *59*, 416-423.
- Park, H.J.; Weller, C.L.; Vergano, P.J.; Testin, R.F. *J. Food Sci.* **1993**, *58*, 1361-1370.
- Sothornvit, R. and Krochta, J.M. *J. Food Sci.* **2000**, *65*, 700-703.
- Weber, C.J. "Biobased Packaging Materials for the Food Industry" **2000**, Nov, 12-44.

Obituario

Biographical profile of Doctor Raymundo Cruz Almanza (1945-2003)

Guillermo Delgado

Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, Coyoacán, 04510 México, D. F., e-mail: delgado@servidor.unam.mx

A sudden demise of Doctor Raymundo Cruz Almanza on October 21, 2003 made a hole in the chemical scientific community of Mexico. He was a distinguished scientist at the Institute of Chemistry, member of the Mexican Academy of Sciences, member of the National Research System and Professor at the Faculty of Chemistry of the National University (UNAM).

Doctor Cruz Almanza started his education in Atlacomulco, State of México, where he was born in 1945. Later, he joined at the National Prep School, and in 1970 received his B.Sc. degree in Chemistry from the School of Chemistry of the National University. His research dissertation was directed towards the synthetic chemistry of quinone and hidroquinone products [1]. Subsequently, he continued his postgraduate studies in Organic Chemistry at the Faculty of Chemistry, UNAM. His Ph. D. degree was conferred in 1976 on a research project related to the synthesis and mass spectrometry of filocladene, 3-metilen-colestane and tetrahydrocafest-17-ene [2]. He joined Professor Alan R. Katritzky (University of East Anglia, England (1977-1978), and later Professor Alexander McKillop (University of East Anglia, England (1981-1982) groups for his post-doctoral stays, where he pursued his research in the field of heterocyclic synthesis. In 1985, he did a stay at the Research Department of Syntex, Cuernavaca.

He was Professor at the Faculty of Chemistry of the National University since 1971, Researcher at the Institute of Chemistry since 1973, Professor at the State of México University (since 1975), and co-founder of the Postgraduate Chemical Studies at the Autonomous University of the State of Morelos. In 1996, he received the *Presidencia del Estado de México* in the Scientific Area by the Government of the State of México.

Dr. Raymundo Cruz Almanza's research dealt with the chemical synthesis of substances of biological interest and the development of new synthetic methods. Among the later, the procedures to obtain aldehydes [3], the deprotection of tetrahydropyrane ethers [4], the preparation of ∞ -diazocetones [5], are to be mentioned. He completed the synthesis of some natural substances or their structural analogues, such as the isocostic acid [6], the *O*-methyl-cannabinochromene [7], peperomin C [8], demethoxyencecaline [9], and taxane diter-

penes [10], are among many others and he also made contributions in macromolecular chemistry [11] and cyclizations through carbenoids [12]. Recently, he has brilliantly directed his research to the development of a synthetic methodology employing free radicals [13-15].

Doctor Cruz Almanza was mentor of more than sixty students, who are also co-authors of his publications. In the last five years a total of about thirty papers was published in international journals of repute such as *Tetrahedron*, *Tetrahedron Letters*, *The Journal of Organic Chemistry*, *Supramolecular Chemistry*, among others, which reflects his leadership, high productivity, and scientific excellence.

His research is characterized through his commitment to the highest standards of research and his generous sharing of ideas and time has inspired innumerable students and colleagues to share his enthusiasm and joy for heterocyclic chemistry and related areas of chemistry.

He participated in almost a hundred national and international scientific events. His first contribution was presented in 1969, at the 4th Mexican Congress of Chemistry which was held in Mexico City, and for the last time in the last week of September 2003, participated in the 35th Mexican Congress of Chemistry, which took place in Ixtapa, Guerrero.

All through his academic career, Doctor Cruz Almanza was a scientist known for his extensive and generous institutional participation; he was more than ten times member of the Internal Council of the Institute of Chemistry, he was also three times member of the Technical Council of Scientific Research of the National University, and was also a University Councilor. He enthusiastically participated since 1997 in the modification of the Chemistry Postgraduate Program at the National University, he was also a member of several commissions and committees, and he was three times among one of the final candidates for the position of director of the Institute of Chemistry.

He had an affable disposition and a profound humane nature. Doctor Cruz Almanza was appointed as a Head of the Organic Synthesis Department of the Institute of Chemistry from 1995 to 1999, and from may 2003 to the date of his decease.

The Mexican Chemical Society condoles the demise of Dr. Raymundo Cruz-Almanza.

References

1. García Jiménez, F.; Cruz-Almanza, R. *Rev. Latinoam. Quím.* **1970**, *1*, 16-21.
2. Cruz-Almanza, R.; Castillo, R.; García, F.; Reed, R. I. *Org. Mass Spectr.* **1977**, *12*, 21-23.
3. (a) Katritzky, A. R.; Cook, M. J.; Brown, S. B.; Cruz-Almanza, R.; Millet, G. *J. Chem. Soc., Perkin 1*, **1979**, 2493-2499; (b) Lemini, C.; Ordóñez, M.; Pérez-Flores, F. J.; Cruz-Almanza, R. *Synt. Commun.* **1995**, *25*, 2695-2702.
4. Cruz-Almanza, R.; Pérez-Flores, F. J.; Avila, M. *Synt. Commun.* **1990**, *20*, 1125-1131.
5. Cuevas-Yáñez, E.; García, M. A.; De la Mora, M. A.; Muchowski, J. M.; Cruz-Almanza, R. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 4815-4817.
6. Cruz-Almanza, R.; Martínez, R. M. *Aust. J. Chem.* **1982**, *35*, 451-456.
7. de la Torre, M.; García, F.; Cruz-Almanza, R. *J. Heterocyclic Chem.* **1981**, *18*, 1251-1252.
8. Cruz-Almanza, R.; Padilla-Higareda, F. *Heterocycles* **1992**, *34*, 2323-2330.
9. Cruz-Almanza, R.; Pérez-Flores, F. J.; Cárdenas, J.; Vázquez, C.; Fuentes, A. *Synt. Commun.* **1994**, *13*, 1009-1018.
10. Romero, M. A.; Pérez Franco, R.; Cruz-Almanza, R.; Padilla Higareda, F. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 3255-3258.
11. Martínez-García, M.; Chávez, M. I.; Bautista, E.; Lara, F.; Toscano, R. A.; Cogordán, J. A.; Cruz-Almanza, R. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 6019-6026.
12. Cuevas Yáñez, E.; Arceo de la Peña, A.; Muchowski, J. M.; Cruz-Almanza, R. *Rev. Soc. Quím. Méx.* **2003**, *47*, 202-206.
13. Miranda, L. D.; Cruz-Almanza, L. D.; Pavón, M.; Alva, E.; Muchowski, J. M. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 7153-7157).
14. Miranda, L. D.; Cruz-Almanza, R.; Alvarez García, A.; Muchowski, J. M. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 3035-3038.
15. Guerrero, M. A.; Cruz-Almanza, R.; Miranda, L. D. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 4953-4958.

Revista de la Sociedad Química de México

Índice del Volumen 47, 2003

Investigación

- Memorias conformacionales en la predicción de estructura terciaria de polipéptidos
*Ramón Garduño Juárez** y *Luis B. Morales* **6-21**
- Modeling of the Free-Radical Copolymerization Kinetics with Crosslinking of Methyl Methacrylate / Ethylene Glycol Dimethacrylate Up to High Conversions and Considering Thermal Effects
Eduardo Vivaldo-Lima, Rosalba García-Pérez* and *Oswaldo J. Celedón-Briones* **22-33**
- Síntesis y actividad relajante en músculo liso vascular de una serie de 1,4-dihidropiridinas análogas de nicardipina
*Martha Noyola y Zurisaddai Hernández-Gallegos** **34-37**
- Nueva proposición para predecir datos de retención obtenidos mediante cromatografía de gases de hidrocarburos derivados de las naftas
Edward Cornwell and Gianni Cordano **38-43**
- Compuestos perazufrados de platino(II) con ditioéteres y tiolatos fluorados. Estructuras cristalinas de [Pt(SC₆F₅)₂(p-C₆H₄FSCH₂CH₂-p-SC₆H₄F)], [Pt(p-SC₆HF₄)₂(o-C₆H₄FSCH₂CH₂-o-SC₆H₄F)] y [Pt(p-SC₆HF₄)₂(p-C₆H₄FSCH₂CH₂-p-SC₆H₄F)]
*Jorge Bautista, Agustí Bertran, Sylvain Bernès, Ubaldo Duran y Hugo Torrens** **44-52**
- Development of Hydrophilic Ultrafiltration Membrane from Polysulfone-Polyvinylpyrrolidone
*Heriberto Espinoza-Gómez and Shui Wai Lin** **53-57**
- Elimination of Chlorinated Unsaturated Hydrocarbons from Water by Ozonation. Simulation and Experimental Data Comparison
Tatiana I. Poznyak, A. Manzo, and José Luis Mayorga* **58-65**
- Transferencia de carga a través de la interfase de dos soluciones electrolíticas inmiscibles: fundamento y caso de estudio
Miguel Velázquez Manzanares **66-72**
- Tetraethylortosilicate and Titanium Tetraisopropoxide as Complexing Agents for Chromium(III) and Copper(II)
*Heilen Arce, Omar Rojas, Gilberto Mondragón, Alejandro Sáenz, and Mavis L. Montero** **73-76**
- Synthesis, Structural, and Theoretical Study of New b-Heterosubstituted Captodative Olefins 1-Acetylvinylyl Arenecarboxylates
*Jorge A. Mendoza, Hugo A. Jiménez-Vázquez, Rafael Herrera, and Joaquín Tamariz** **108-116**
- 2D 1H and ¹³C NMR from the adducts of the dichloro carbene addition to b-ionone. The role of the catalyst on the phase transfer reaction
Eduardo Díaz, José Luis Nava, Héctor Barrios, David Corona, Ángel Guzmán, Ma. de Lourdes Muciño, and Aydée Fuentes* **117-123**
- Reactivity of IrH₂{C₆H₃-2,6-(CH₂PBut₂)₂} towards alkene compounds
*Valente Gómez-Benítez, Rocío Redón, and David Morales-Morales** **124-126**
- The Use of N,N'-Di[a-phenylethyl]-diamines as Phosphorylated Chiral Derivatizing Agents for the Determination of the Enantiomeric Purity of Chiral Secondary Alcohols
Gloria E. Moreno, Virginia M. Mastranzo, Leticia Quintero, Cecilia Anaya de Parrodi, and Eusebio Juaristi** **127-129**
- Terpenoids and Flavones from *Achillea falcata* (Asteraceae)
Maurizio Bruno, Sergio Rosselli, Rosa Angela Raccuglia, Antonella Maggio, Felice Senatore, Nelly Apostolides Arnold, Claire A. Griffin, and Werner Herz **130-131**
- Preparation of 11-Hydroxylated 11,13-Dihydrosesquiterpene Lactones
*Howard G. Pentes, Francisco A. Macias and Nikolaus H. Fischer** **132-138**
- Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils from *Annona cherimola* (Annonaceae)
María Yolanda Ríos, Federico Castrejón, Norma Robledo, Ismael León, Gabriel Rojas, and Víctor Navarro* **139-142**
- Sesquiterpene Lactone Sequestration by the Tortoise Beetle *Physonota arizonae* (Cassidinae)
*Manuel Aregullín and Eloy Rodríguez** **143-145**
- Mechanism of Glutamate Neurochemistry: Electron Transfer and Reactive Oxygen Species
Peter Kovacic, Ratnasamy Somanathan and Michelle Inzunza* **146-150**
- Cumarinas presentes en especies del género *Casimiroa*
*Aida N. García-Argáez, Nadia M. González-Lugo, Carmen Márquez y Mariano Martínez-Vázquez** **151-154**
- Preparación de materiales mesoporosos tipo Ti-MCM-41 y su uso en la apertura nucleofílica de epiclorhidrina con L-prolinol
Deyanira Ángeles Beltrán, Ana Marisela Maubert Franco, Leticia Lomas, Víctor Hugo Lara Corona, Jorge Cárdenas y Guillermo Negrón **155-159**
- New Eremophilanoids from the Roots of *Psacalium radulifolium*. Hypoglycemic, Antihyperglycemic and Anti-Oxidant Evaluations
*María Luisa Garduño-Ramírez and Guillermo Delgado** **160-166**
- Isolation and Chemical Transformations of Some Anti-inflammatory Triterpenes from *Salvia mexicana* L. var. *minor* Benth.
*Rosalba Argumedo Delira, Hortensia Parra-Delgado, Ma. Teresa Ramírez Apan, Antonio Nieto Camacho y Mariano Martínez-Vázquez** **167-172**
- Two New Oleanolic Acid Saponins from the Roots of *Viguiera hypargyrea*
Laura Alvarez, Alejandro Zamilpa, Silvia Marquina, and Manasés González* **173-177**

- Análisis isoblográfico de la interacción entre a-sanshool, sesamina, asarinina, fagaramida y piperina sobre la actividad larvica en *Culex quinquefasciatus* Say
*Andrés Navarrete, * Alejandro Flores, Carmen Sixtos y Benito Reyes* **178-185**
- Cytotoxic Evaluation of a Series of Bisalkanoic Anilides and Bisbenzoyl Diamines
*Luis Chacón-García, M. Elena Rodríguez and Roberto Martínez** **186-189**
- El análisis conformacional a la luz de la teoría topológica de átomos en moléculas. Contribución de la energía atómica a la energía molecular
*Fernando Cortés Guzmán, * Jesús Hernández-Trujillo, * Gabriel Cuevas* **190-201**
- Synthesis and Properties of 2-diazo-1-[2-(thiophen-2-ylmethoxy)-phenyl]-ethanone. Intramolecular Cyclization Through a Carbenoid Intermediate
*Erick Cuevas Yañez, Abraham Arceo de la Peña, Joseph M. Muchowski y Raymundo Cruz Almanza** **202-206**
- Estudio fitoquímico de *Salvia uruapana*
*René Manjarréz, Bernardo A. Frontana-Uribe y Jorge Cárdenas** **207-209**
- Potentiometric Analysis of a Reaction System of Organic Acids
*Agustín Jaime Castro-Montoya, * Manuel Herrera-Solano, Pedro Alberto Quintana-Hernández and Medardo Serna-González* **211-215**
- Assignment of the ^1H and ^{13}C NMR spectra of N_2, N_6 -dibenzoyl- N_2, N_9 -bis(2',3'-di-O-benzoyl-(α)-L-threofuranosyl)-2,6-diaminopurine
Guillermo Delgado and Ramanarayanan Krishnamurthy** **216-220**
- Correlación electrónica fuerte: sistemas con electrones 4f y 5f
*Ernesto Chigo-Anota y Juan Francisco Rivas Silva** **221-226**
- Photochemistry of 7-Alcoxy and Thioalcoxy-3,3-dimethoxybicyclo[2.2.2] oct-5-en-2-one. Sequence 1,3-acyl shift-decarbonylation reaction
Odón Arjona, Rocío Medel, Joaquín Plumet and Jenny K. Rojas* **227-229**
- La cinética de reacción y su influencia en la distribución de pesos moleculares, en un sistema de polimerización en emulsión sembrado
*José Antonio Arcos Casarrubias, * Roberto Olayo y Jaime Noriega Bernechea* **230-239**
- Preparación y caracterización de una arcilla porosa de estructura heterogénea (PCH)
*Tzayhrí Gallardo, * Sofía Arellano, Pavel Torres, Socorro López y Guillermo Osorio* **240-244**
- Síntesis de nuevos monómeros para fotopolimerizaciones catiónicas
Ricardo Acosta Ortiz y James V. Crivello* **245-250**
- Preparación de hidrogeles anfífilicos sensibles a diferentes valores de pH utilizando monómeros ácidos con espaciadores hidrofóbicos
*Eduardo Rogel-Hernández, Angel Licea-Claverie, * José Manuel Cornejo-Bravo y Karl-Friedrich Arndt* **251-257**
- A Novel Diaryl Ether Ullmann-Type Synthesis using Thallium Derivatives as Both Aryl Components
Héctor Salgado-Zamora **258-259**
- Layered Silicates and Mesostructured Aluminosilicates Promoters of Benzyltoluenes
*Bernardo Francisco, * Gabriel A. Arroyo, Olivia Noguez, Juan M. Aceves, José M. Domínguez, Francisco Delgado, René Miranda* **297-299**
- Síntesis y evaluación del efecto ansiolítico de un nuevo derivado pirimido[1,6-a]pirimidínico
*Alejandro Muñoz-Zurita, Jesús Sandoval-Ramírez, * Luis Emilio Espinoza-Moreno, Carmen Parra-Cid, Luis Alberto Juárez-Leyva, Daniel Limón-Pérez de León, Gonzalo Flores* **300-304**
- A chemical study of the mycelium of *Alternaria tagetica*
*Gabriela Arana-López, Marcela Gamboa-Angulo, Karlina García-Sosa, Fabiola Escalante-Erosa, Luis M. Peña-Rodríguez ** **305-308**
- Inestabilidad de muestras obtenidas durante la hidrodesintegración de residuos del petróleo
*María T. Gómez, Gustavo Marroquín, Jorge Ancheyta, * Marco I. Soto, I Guillermo Centeno* **309-314**
- Estudio del efecto de distintos promotores en la reacción directa entre silicio y cloruro de metilo
*Jorge Cervantes Jáuregui, * Arturo Zizumbo López, Alberto Florentino Aguilera Alvarado, José Emigdio Frausto Romero, Bonfilio Acosta Solís y Francisco Javier Luna García* **315-321**
- Revisión**
- Formación de sedimentos durante la hidrodesintegración de residuos del petróleo
*María T. Gómez, Jorge Ancheyta, * Gustavo Marroquín, Fernando Alonso, Gerardo Betancourt y Guillermo Centeno* **260-266**
- Comparación de los métodos analíticos existentes para la determinación del contenido de compuestos aromáticos presentes en el petróleo y sus derivados
*Georgina C. Laredo, * Yolanda Figueroa y Federico Jiménez-Cruz* **267-274**
- ¿Es el glóbulo fundido un intermediario general en la vía de plegamiento de las proteínas globulares?
*María Elena Cháñez-Cárdenas y Edgar Vázquez-Contreras** **322-329**

Comunicación Técnica

Toxicidad crónica en ratones del herbicida Dicamba y su derivado 2-metoxi-3,6-diclorobenzaldoxima <i>Artemisa Romero,* Guillermo James, Mineko Shibayama, Kazuko Aoki y Luis Jiménez</i>	77-80	Degradación del material pétreo de la zona arqueológica de El Tajín, Veracruz, México, por efecto de la lluvia ácida <i>Humberto Bravo,* Rogelio Soto, Rodolfo Sosa, Pablo Sánchez, Ana Luisa Alarcón y Jaime Ruíz</i>	330-332
Effect of the mixing method on the sustained release profile of pelanserin from HPMC / citric acid matrix tablets <i>Rogelio Espinoza-Ramos y Leopoldo Villafuerte-Robles*</i>	81-87	Comportamiento de películas de Quitosán compuesto en un modelo de almacenamiento de aguacate <i>S. Patricia Miranda,* Galo Cardenas, Damián López, Alma V. Lara- Sagahon</i>	333-338
Historia y Desarrollo de la Química en México			
Determinación de nitratos y nitritos en agua. Comparación de costos entre un método de flujo continuo y un método estándar <i>Erika Cabrera Molina, Lucía Hernández Garcíadiego, Humberto Gómez Ruíz y Ma. del Pilar Cañizares Macías*</i>	88-92	The Problems of Scientific Development in Mexico <i>Alberto Sandoval</i>	93-99
Semblanzas			
Clasificación de petróleos mexicanos mediante cromatografía de gases y análisis de componentes principales <i>Nora K. Cañipa-Morales, Carlos A. Galán-Vidal,* José A. Pérez-Ortiz y Mario A. Guzmán-Vega</i>	275-282	Scientific Contributions of Dr. Alfonso Romo de Vivar <i>Nikolaus H. Fischer</i>	105-106
Estudio de un método alternativo para la purificación de arsénico del agua <i>Valquiria Campos</i>	283-286	El aporte a la Química Iberoamericana del doctor Alfonso Romo de Vivar <i>Mario Silva</i>	107
Obituario			
Comportamiento isotérmico de la precipitación salina en un destilador solar experimental <i>Saúl I. Armendáriz,* Miguel Ángel Porta-Gándara, Robert E. Foster, Petros G. Koutsoukos, Raúl G. Bautista-Margulis y Gabriel Alonso</i>	287-294	<i>Alberto Sandoval Landázuri (1918-2002)</i>	3-5
		Biographical profile of Doctor Raymundo Cruz Almanza (1945-2003) <i>Guillermo Delgado</i>	337-338
		Editorial	1-2, 101-104

*Revista de la Sociedad Química de México***Índice de autores, Volumen 47, 2003**

Aceves, J. M.	295	Cornwell, E.	38
Acosta-Ortiz, R.	245	Cortés-Guzmán, F.	190
Acosta-Solís, B.	313	Crivello, J. V.	245
Aguilera-Alvarado, A. F.	313	Cruz-Almanza, R.	202
Alarcón, A. L.	298	Cuevas-Yañez, E.	202
Alonso, F.	260	Cuevas, G.	190
Alonso, G.	287	Delgado, F.	295
Álvarez, L.	167	Delgado, G.	1, 101, 160, 211, 337
Anaya de Parrodi, C.	127	Domínguez, J. M.	295
Ancheyta, J.	260, 307	Duran, U.	44
Ángeles-Beltrán, D.	155	Escalante-Erosa, F.	303
Aoki, K.	77	Espinoza-Gómez, H.	53
Apostolides-Arnold, N.	130	Espinoza-Moreno, L. E.	298
Arana-López, G.	303	Espinoza-Ramos, R.	81
Arce, H.	73	Figueroa, Y.	267
Arceo de la Peña, A.	202	Fischer, N. H.	105, 138
Arcos-Casarrubias, J. A.	230	Flores, A.	178
Aregullín, M.	143	Flores, G.	298
Arellano, S.	240	Foster, R. E.	287
Argumedo-Delira, R.	167	Francisco, B.	295
Arjona, O.	227	Frausto-Romero, J. E.	313
Armendáriz, S. I.	287	Frontana-Uribe, B. A.	207
Arndt, K-F	251	Fuentes, A.	117
Arroyo, G. A.	295	Galán-Vida, C. A.	275
Bautista, J.	44	Gallardo, T.	240
Bautista-Margulís, R. G.	287	Gamboa-Angulo, M.	303
Bernès, S.	44	García-Argáez, A. N.	151
Bertran, A.	44	García-Pérez, R.	22
Betancourt, G.	260	García-Sosa, K.	303
Bravo, H.	330	Guardiño-Juárez, R.	6
Bruno, M.	130	Guardiño-Ramírez, M. L.	160
Cabrera-Molina, E.	88	Gómez, M. T.	260, 307
Campos, V.	283	Gómez-Benítez, V.	124
Cañipa-Morales, N. K.	275	Gómez-Ruiz, H.	88
Cañizares-Macias, M. del P.	88	González, M.	167
Cárdenas, G.	331	González-Lugo, N. M.	151
Cárdenas, J.	155, 207	Griffin, C. A.	130
Castrejón, F.	139	Guzmán-Vega, M. A.	275
Castro-Montoya, A. J.	211	Hernández Garciadiego, L.	88
Celedón-Briones, O. J.	22	Hernández-Gallegos, Z.	34
Centeno, G.	260, 309	Hernández-Trujillo, J.	190
Cervantes-Jáuregui, J.	315	Herrera, R.	108
Chacón-García, L.	186	Herrera-Solano, M.	211
Chávez-Cárdenas, M. E.	320	Herz, W.	130
Chigo-Anota, E.	221	Inzunza, M.	146
Cordano, G.	38	James, G.	77
Cornejo-Bravo, J. M.	251		

Jiménez, L.	77	Parra-Cid, C.	300
Jiménez-Cruz, F.	267	Parra-Delgado, H.	167
Jiménez-Vázquez, H. A.	108	Pentes, H. G.	132
Juárez-Leyva, L. A.	298	Peña-Rodríguez, L. M.	303
Juaristi, E.	127	Pérez-Ortiz, J. A.	275
Koutsoukos, P. G.	287	Plumet, J.	227
Kovacic, P.	146	Porta-Gándara, M. A.	287
Krishnamurthy, R.	211	Poznyak, T. I.	58
Lara-Corona, V. H.	155	Quintana-Hernández, P. A.	211
Lara-Sagahon, A. V.	331	Quintero, L.	127
Laredo, G. C.	267	Raccuglia, R. A.	130
León, I.	139	Ramírez-Apan, M. T.	167
Licea-Claverie, A.	251	Redón, R.	124
Limón-Pérez de León, D.	298	Reyes, B.	178
Lomas, L.	155	Ríos, M. Y.	139
López, D.	331	Rivas-Silva, J. F.	211
López, S.	240	Robledo, N.	139
Loyola, M.	34	Rodríguez, E.	143
Luna-García, F. J.	313	Rodríguez, M. E.	186
Macías, F. A.	132	Rogel-Hernández, E.	251
Maggio, A.	130	Rojas, G.	139
Manjares, R.	207	Rojas, J. K.	227
Manzo, A.	58	Rojas, O.	73
Márquez, C.	151	Romero, A.	77
Marquina, S.	167	Rosselli, S.	130
Marroquín, G.	260, 309	Ruíz, J.	328
Martínez, R.	186	Sáenz, A.	73
Martínez-Vázquez, M.	151, 167	Salgado-Zamora, H.	258
Mastranzo, V. M.	127	Sánchez, P.	330
Maubert-Franco, A. M.	155	Sandoval, A.	93
Mayorga, J. L.	58	Sandoval-Landázuri, A.	3
Medel, R.	227	Sandoval-Ramírez, J.	298
Mendoza, J. A.	108	Senatore, F.	130
Miranda, R.	295	Serna-González, M.	211
Miranda, S. P.	331	Shibayama, M.	77
Mondragón, G.	73	Silva, M.	107
Montero, M. L.	73	Sixtos, C.	178
Morales, L. B.	6	Somanathan, R.	146
Morales-Morales, D.	124	Sosa, R.	330
Moreno, G. E.	127	Soto, M. I.	309
Muchowski, J. M.	202	Soto, R.	330
Muciño, M. del L.	117	Tamariz, J.	108
Muñoz-Zurita, A.	298	Torrens, H.	44
Navarrete, A.	178	Torres, P.	240
Navarro, V.	139	Vázquez-Contreras, E.	320
Negrón, G.	155	Velázquez-Manzanares, M.	66
Nieto-Camacho, A.	167	Villafuerte-Robles, L.	81
Noguez, O.	295	Vivaldo-Lima, E.	22
Noriega-Bernechea, J.	230	Wai-Lin, S.	53
Olayo, R.	230	Zamilpa, A.	167
Osorio, G.	240	Zizumbo-López, A.	315