



Autor: Alfredo Jesús Ibáñez Gabilondo

Título: **Construcción y caracterización de un inmunosensor piezoeléctrico para la detección de triyodotironina (T_3)**

Los biosensores son elementos utilizados para la detección de una gran variedad de analitos, y se diferencian de los sensores químicos convencionales por el uso de una biomolécula o, incluso, de un organismo vivo para lograr una mayor sensibilidad y selectividad hacia el analito que se desea medir.

El objetivo del trabajo fue la construcción y caracterización de un biosensor del tipo inmunoquímico, para la detección de la hormona triyodotironina, utilizando como transductor de señal un cristal piezoeléctrico de cuarzo.

La hormona Triyodotironina se detectó recubriendo el cristal de cuarzo con una monocapa de anti-triyodotironina y midiendo la alteración en la frecuencia de oscilación del cristal de cuarzo al introducirse el cristal en la muestra.

El uso de esta técnica dio como resultado una respuesta lineal y de alta sensibilidad, lo que significó que el inmunosensor construido

era efectivo y de fácil manejo. Pero la falta de un mejor sistema de despliegue de señal imposibilitó la realización de la segunda parte de este trabajo, que consistía en la comparación entre el inmunosensor y otros sistemas de medición comerciales, debido a que carecía de una sensibilidad comparable con la del resto del inmunosensor.

Asesor: Eric Cosio

Autor: Julia Cecilia Carlín Gereda

Título: **Identificación y purificación de proteínas de almacenamiento de Mashua (*Tropaeolum tuberosum*)**

Las proteínas de almacenamiento presentes en tubérculos han sido poco estudiadas, siendo caracterizadas en detalle las provenientes de pocas especies. Fue por esta razón que se plantearon como objetivos de este trabajo la identificación de las proteínas de almacenamiento mayoritarias en los tubérculos de la mashua y la purificación parcial de una de ellas para un posterior estudio.

El trabajo consistió en extraer las proteínas de almacenamiento de los tubérculos de la mashua e identificar las mayoritarias utilizando electroforesis desnaturalizante en geles de poliacrilamida y cromatografía de intercambio aniónico. Se lograron identificar tres proteínas mayoritarias de peso molecular aproximado 23, 30 y 55 KDa. Se determinó por cromatografía de afinidad por lectinas que ninguna de estas proteínas aparentaba tener carácter glicoproteico.

La proteína mayoritaria de 23 KDa fue la única purificada casi totalmente. Para esto se utilizó una variedad de técnicas cromatográficas que incluyó cromatografía de intercambio aniónico, cromatografía de afinidad por lectinas y cromatografía de interacción hidrofóbica. Para la purificación final se utilizó electroforesis preparativa en geles de poliacrilamida.

Asesor: Eric Cosio

Autor: Lissette Irene Lozano Lewis
Titulo: Estudio del Mecanismo de Reacción para la Formación de Compuestos μ_2 -Alquilidénicos Homodinucleares de Hierro.

El presente trabajo de investigación trata de demostrar experimentalmente el mecanismo de reacción propuesto por Richard Korwagen en una investigación realizada en 1989 sobre la síntesis del $(\mu_2\text{-CH}_2)(\mu_2\text{-CO})[\text{CpFe}(\text{CO})]_2$, a partir del bisciclopentadienil.dicarbonilhierro (Fe-Fe) (Fp_2).

Para ello se trabajó, en la primera parte de la síntesis, la reacción del Fp_2 con un alcoholato de sodio, para dar un compuesto intermedio X, cuya fórmula es $[\mu_2\text{-ROCO-}\mu_2\text{-CO-}[\text{CpFeCO}]_2]\text{M}^+$, donde M. es un metal alcalino. Se utilizaron 3 métodos de estudio: las pruebas analíticas propias de los acetales y compuestos alcalinos; la espectroscopía UV – Visible, para medir la desaparición del reactivo y la aparición del producto y la espectroscopía FTIR en pastila de KBr, para determinar qué grupos funcionales característicos posee, así también como qué clase de enlaces C-O.

Entre los resultados analíticos obtenidos están insolubilidad en los solventes apróticos; sin embargo, tiene solubilidad baja en etanol, y se "solubilidad totalmente" en ácido sulfúrico 10%, en peso, etanólico; pero lo que sucede en realidad es una hidrólisis ácida completa, demostrada porque al neutralizar la solución se precipita $\text{Fe}(\text{OH})_3$; en cuanto a las reacciones propias de los acetales, es sensible a la humedad, y al oxígeno.

No se pudo hacer un estudio detallado de su espectro UV- Visible, porque es insoluble en casi todos los solventes y se descompone fácilmente al ambiente produciendo un precipitado marrón. Sólo se utilizó esta técnica para los estudios cinéticos. Los resultados fueron: una cinética de primer orden con respecto al Fp_2 , con lo cual queda demostrado que el primer paso es una adición nucleofílica de segundo orden (concertada). Con los primeros minutos de la reacción y con concentraciones inferiores a 0,02 $\mu\text{g/ml}$ se conoce la velocidad de la aparición del compuesto X. Con concentraciones mayores a esta, las mediciones sólo son útiles a partir de los 20 minutos y se puede conocerla velocidad de desaparición de Fp_2 , pues en los primeros 20 minutos existe la interferencia de la aparición del precipitado X.

Los resultados más importantes son los obtenidos del FTIR, donde se notan claramente las tres bandas pertenencias a los tres tipos de enlace C-O que existen en el puente del complejo: C-O simple a $1354,2\text{cm}^{-1}$; C-O aniónico a $1450,3\text{cm}^{-1}$, y C-O doble a $1600,5\text{cm}^{-1}$.

Se puede concluir que se cumplieron los objetivos teóricos de la presente tesis, con respecto a la segunda parte de la síntesis, se trata de una primera adición de segundo orden, con una serie de cambios internos instantáneos de primer orden hasta llegar a los 3 productos finales.

Asesor: Richard Korswagen

Autor: Noemí González Delgado

Título: **Compuestos antifúngicos en tubérculos de mashua (*Tropaeolum tuberosum*)**

En el trabajo de tesis que se presenta a continuación se buscó extraer y purificar compuestos que presentasen actividad antifúngica o antibacteriana, a partir de tubérculos de mashua (*Tropaeolum tuberosum*). Se trabajó, de manera independiente, con un extracto de proteínas de pared celular y con un extracto etanólico.

En las pruebas realizadas con el extracto de proteínas de pared celular no se encontró ninguna actividad inhibitoria en *Candida albicans*, sino más bien un efecto contrario. Sin embargo, del extracto etanólico se logró purificar, con ayuda de diferentes técnicas cromatográficas, un compuesto con actividad antifúngica permanente y actividad antibacteriana transitoria. En las pruebas de actividad biológica se ensayó con *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Escherichia coli* y *Enterobacter sp.*

El compuesto purificado es incoloro, bastante volátil y con cierto olor a anís, muy hidrofóbico, soluble en cloroformo, acetonitrilo, metanol y etanol, pero insoluble en soluciones etanólicas con más de 30% de agua. Se hizo un análisis de aminoácidos totales, para determinar si el compuesto aislado tenía carácter proteico. El porcentaje de aminoácidos en

la muestra era muy pequeño, por lo que se puede suponer que el compuesto de interés no es un péptido.

Para comprobar la pureza del compuesto se analizó la muestra por cromatografía de gases, por HPLC con una columna de sílica gel 60 y con una de fase reversa y por cromatografía de capa fina. Dado que se logró purificar el compuesto considerablemente, se pueden realizar otro tipo de pruebas para su elucidación estructural.

Asesor: Eric Cosio

Autor: Carla Cristina Rospigliosi Vermejo

Título: **Microanálisis de aminoácidos en proteínas de almacenamiento de olluco (*Ullucus tuberosus*)**

La primera parte del presente trabajo consistió en la optimización de las condiciones y técnicas necesarias para el análisis de la composición de aminoácidos en proteínas. Para ello, en una primera etapa se buscó optimizar la separación de los derivados feniltiocarbamoilados (PTC) por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Se desarrollaron diversos métodos variando los parámetros longitud de onda de detección, gradiente de elución, fase móvil y temperatura de corrida, lográndose una buena separación de los derivados con cuatro de los métodos desarrollados. Además, se logró separar los aminoácidos por cromatografía de capa fina (TLC), lo cual fue útil para determinar si la reacción de derivatización se completó y para identificar aminoácidos y sus respectivos derivados PTC por el factor de retención (R_f) característico que poseen.

Se logró optimizar la hidrólisis de proteína por adición de un antioxidante a la mezcla de reacción. Se compararon los resultados obtenidos al utilizar el método desarrollado en el presente trabajo para el análisis de la composición total de aminoácidos para la proteína albúmina sérica bovina (BSA). Estos resultados obtenidos se compararon con la composición estándar reportada para la misma proteína, obteniéndose resultados satisfactorios.

La segunda parte del trabajo consistió en purificar las proteínas solubles de tubérculos de olluco. Se logró separar proteínas de 16, 20 y 33 kDa mayoritarias y proteínas secundarias de 10 y 62 kDa, por diversas técnicas cromatográficas y electroforéticas. Se determinó la composición total de aminoácidos en las proteínas purificadas (proteínas principales y secundarias) mostrando todas un alto contenido del aminoácido esencial treonina (10% del total de aminoácidos analizados, aproximadamente) y la mayoría presentó un alto contenido de los aminoácidos esenciales Ile, Leu, Phe y Lys.

Asesor: Eric Cosio