

QUIMICA CENTRAL

Facultad de Ciencias Químicas

Vol. 7 Núm.1 (2021)



ISSN-i 1390-5562

ISSN-e 2477-9121



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
QUIMICA CENTRAL Ciencia y Naturaleza

AUTORIDADES

Dr. Fernando Sempértegui Ontaneda, Ph.D.

RECTOR

Dra. María Augusta Espín, Ph.D.

VICERRECTORA ACADEMICA Y DE POSGRADO

Dra. María Mercedes Gavilanez, Ph.D.

**VICERRECTORA DE INVESTIGACION, DOCTORADOS E
INNOVACION**

Econ. Marco Posso Zumárraga

VICERRECTOR ADMINISTRATIVO

Dra. Martha Suárez Heredia, Ph.D.

DECANA

COMITÉ EDITORIAL

Martha Suárez Heredia, Ph.D.

EDITOR

Pablo Bonilla Valladares, Ph.D.

Elithsine Espinel Armas, MSc.

Carlos Cevallos Morillo, Ph.D.

Fabio Idrovo Espín, Ph.D.

Flavio López Velecela, MSc.

Franklin Gavilanez Elizalde, PhD.

Lourdes Pazmiño Martínez, MSc.

Milton Villacís García, PhD.

Raúl Bahamonde Soria, PhD (c).

Trosky Yáñez Darquea, MSc.

APOYO TECNOLÓGICO

Ing. Clever Oña Bautista

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

Ing. José Chulde Chulde

SISTEMA INTEGRADO DE BIBLIOTECAS

COMITÉ CIENTIFICO

Juan Antelo, PhD

UNIVERSIDAD SANTIAGO DE COMPOSTELA

Giovanni Carabalí Sandoval, Ph.D.

INSTITUTO DE GEOFISICA. UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MEXICO

Carlos Salazar Camacho, Ph.D.

UNIVERSIDAD TECNICA DEL CHOCÓ. DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

Giovanni Carabalí Sandoval, Ph.D.

INSTITUTO DE GEOFISICA. UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MEXICO

Katherine Vaca Escobar, Ph.D.

INVESTIGADORA SENESCYT

Pablo Cisneros Pérez, Ph.D.

UNIVERSIDAD IKIAM

William Calero Cáceres, Ph.D.

UNIVERSIDAD TECNICA DE AMBATO

Miguel Vallejo Reina, Ph.D.

INVESTIGADOR TITULAR DEL INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES FORESTALES, AGRÍCOLAS Y PECUARIAS (INIFAP). MÉXICO

Patricio Espinoza Montero, PhD.

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA

Alex Palma, Ph.D.

UNIVERSIDAD YACHAY

QUÍMICA CENTRAL, Volumen 7, Número 1, (2021). Revista científica bianual de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador, Quito-Ecuador.

El contenido de los artículos es responsabilidad exclusiva de los autores y no refleja el punto de vista de la Facultad de Ciencias Químicas. Tiraje: 100 ejemplares. Química Central también se publica electrónicamente bajo licencia Creative Commons.

Dirección: Facultad de Ciencias Químicas, Calle Jerónimo Leyton y Gato Sobral. Ciudadela Universitaria, Quito. Teléfonos: (593 2) 3216 975 / 2523 710 / 2500 409. Apartado postal: 17-03-1369, Quito-Ecuador.

Sitio Web: <https://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/QUIMICA>
Correo electrónico: fcq.quimica.central@uce.edu.ec

ISSN-i1390 - 5562
ISSN-e2477 - 9121

Abril - 2021

DOI: <https://doi.org/10.29166/quimica.v7i1>

CONTENIDO

EDITORIAL.....	vi
Estudio <i>in silico</i> de factores transcripcionales básicos de zipper de leucina de <i>Carica papaya</i> L.....	1
<i>Domínguez Bucheli Karime, Endara Chiriboga Esmeralda, Idrovo Espín Fabio.</i>	
Metales Pesados en Cerveza Artesanal.....	8
<i>López Balladares Oscar, Espinoza Montero Patricio, Fernández Lenys, Montero Jimenez Marjorie, Bonilla Valladares Pablo</i>	
Aislamiento de <i>Salmonella spp.</i> en heces de fauna urbana en un parque recreativo de Quito.....	26
<i>Cangui Panchi Sandra, Delgado Juca Karol, Terán Soto Rommy, Echeverría Llumipanta Inés, Tapia Calvopiña Iván</i>	
Reemplazo del colorante rojo 40 por antocianinas en mermeladas; influencia en el color y las propiedades reológicas.....	36
<i>Almachi Villalba Dennys, Suárez Heredia Martha, Bonilla Valladares Pablo, Díaz Basantes Milene</i>	
Revisión sistemática de inmunopatogenia molecular y vacunas Covid-19 (SARS-COV-2).....	56
<i>Solís Sánchez María Ilusión</i>	
Caracterización de metabolitos secundarios en una especie del género <i>Picramnia</i> de la Provincia de Napo.....	84
<i>Bermudes Puga Stalin, Romero Zambrano Génesis</i>	
Instrucciones para los autores.....	85

EDITORIAL

En los momentos actuales, cuando pareciera que súbitamente todo se estremece, que la normalidad desaparece, que a la vuelta de la esquina una buena parte de la zona de confort conocida se ha diluido, sin posibilidad de regreso; nos desconcertamos. Estamos en la típica esquina de los desencuentros, al final de un callejón de puertas cerradas. Y es aquí cuando empezamos a comprender que tal vez, si nos esforzamos por pensar otros mundos o por interpretar los nuevos símbolos, entonces tendremos futuro.

Fue precisamente Carl Gustav Jung quien para nuestra fortuna nos heredó en su libro “Símbolos de Transformación” una llave para resolver paradigmas en tiempos de crisis y pandemia: el ser humano y el ave Fénix tienen similitudes. Esa emblemática criatura capaz de elevarse desde las cenizas de su propia destrucción, simboliza también el poder de la resiliencia, como la posibilidad inigualable para renovarnos en seres mucho más fuertes.

A mediados de diciembre del año 2017, la revista científica de la Facultad de Ciencias Químicas enfrentó su propia crisis y desaparición, para luego resurgir ahora “**QUIMICA CENTRAL**”, con el fin de incorporar en la tradición disciplinar de la Facultad la tendencia contemporánea de la producción indexada abierta y al servicio de la comunidad.

La política editorial de la revista reconoce así la necesidad de incorporar en la producción científica experimental el enfoque interdisciplinar. La revista procura espacio para publicar los resultados obtenidos en la huella dejada por Michael Gibbons et al, destacando los diversos modos de generación de conocimiento.

El renacimiento de la revista se debe principalmente al entusiasmo de su Editor por transmitir la dinámica de la ciencia y la investigación transdisciplinaria en las sociedades contemporáneas; a su compromiso firme para contribuir decididamente a la producción de conocimiento en diferentes contextos de aplicación o uso.

Así, en la presente edición se incorpora esta visión multidisciplinaria cuyos contenidos van desde la contribución del análisis bioinformático hasta la producción experimental, en una muestra selectiva al servicio de la comunidad científica.

Dr. José Augusto Rosero, Ph.D.
Dirección de Doctorados e Innovación
Universidad Central del Ecuador

Estudio *in silico* de factores transcripcionales básicos de zipper de leucina de *Carica papaya* L.

In silico study of basic leucine zipper transcription factors of *Carica papaya* L.

Domínguez Bucheli K.¹, Endara Chiriboga E.¹, Idrovo Espín F.^{2*}

¹Universidad de Las Américas, Facultad de Ingenierías y Ciencias Aplicadas
email: kmdominguez@udlanet.ec
email: eendara@udlanet.ec

²Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Químicas.
email: fmidrovo@uce.edu.ec*

Artículo Original

Recibido: octubre 2020

Publicado: abril 2021

DOI: <https://doi.org/10.29166/quimica.v7i1.2811>

Resumen: Los factores transcripcionales regulan la expresión de genes al interactuar directamente con el ADN. La clase de factores básicos de zipper de leucina o bZIP en *arabidopsis* posee 75 miembros con dominios de aminoácidos similares entre todos sus miembros. En este trabajo se estudió *in silico* el genoma de papaya con la finalidad de encontrar posibles genes ortólogos bZIP en papaya. Se encontró 37 secuencias posibles, se realizó el análisis bioinformático de las secuencias. Se agrupó las secuencias y nombró de forma similar a la clasificación de *arabidopsis*. Los resultados expuestos a continuación podrían ser utilizados para evaluar de forma experimental la función biológica posible de estos genes en papaya.

Palabras clave: bZIP, factores transcripcionales, papaya, caricáceas

Abstract: Transcription factors regulate gene expression by interacting directly with DNA. The class of basic leucine zipper factors or bZIP in *arabidopsis* has 75 members with similar amino acid domains among all its members. In this work, the papaya genome was studied *in silico* in order to find possible ortholog bZIP genes in papaya. 37 possible sequences were found, the bioinformatics analysis of the sequences was performed. The sequences were grouped and named similarly to the *arabidopsis* classification. The results presented below could be used to experimentally evaluate the possible biological function of these genes in papaya.

Key Words: bZIP, transcription factors, papaya, caricaceae

1. Introducción

Los factores transcripcionales (FT) son proteínas que se unen a secuencias específicas de ADN y regulan la transcripción (1) activándola o

reprimiéndola en respuesta a señales específicas intracelulares o ambientales (2).

La base de datos TRANSFAC 7.0 (3) agrupa a los factores transcripcionales de mamíferos en 5 superclases principales, cada una de estas se divide a su vez en clases y estas en familias. Los bZIP pertenecen a la superclase de dominios básicos y a la clase de factores básicos de zipper de leucina (del inglés Basic Leucine Zipper factors), el dominio está formado por una repetición periódica de leucinas por cada 7 residuos de aminoácidos (denominado heptámero) y la conformación resultante es una α -hélice (4, 5) que permiten la formación del dímero de zipper de leucina (figura 1a). Cada posición de los residuos se designa con letras empezando por la posición g y seguidas de las posiciones a, b, c, d, e y f. Los residuos de leucina de forma general se ubican en cada posición d (6) de acuerdo como se ilustra en la figura 1b.

Adicionalmente, en el extremo N-terminal existe una región básica que facilita la unión del ADN (4).

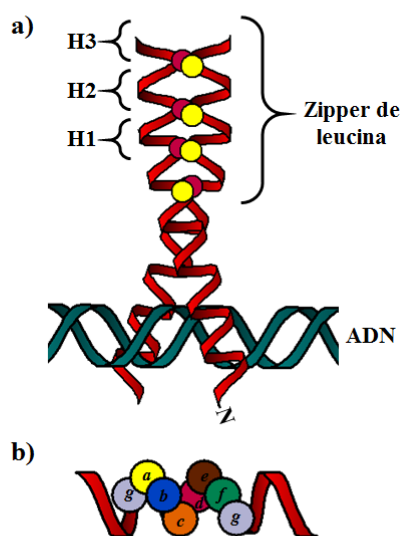


Figura 1. Descripción gráfica de los factores transcripcionales bZIP a) dominio básico de zipper de leucina y forma de unión al ADN b) composición del heptámero en función de la posición de aa.

Para *Arabidopsis thaliana* Jakoby et al. (7) clasificaron a los bZIP dentro de una familia con 75 miembros, familia compuesta a su vez por 10

grupos que compartían similitud de secuencias proteicas.

El genoma secuenciado de *Carica papaya* se publicó el en el año 2008 (8) y desde entonces ha servido como referencia para el estudio de genes involucrados en diferentes procesos metabólicos de la papaya (9-12) la caracterización de secuencias bZIP del grupo D (13) así como también genes ortólogos de otras caricáceas (14,15)

El presente trabajo es un estudio *in silico* a partir del genoma secuenciado de *C. papaya* que contempló la descripción de factores transcripcionales básicos de zipper de leucina en esta especie vegetal.

2. Parte Experimental

2.1. Materiales

Se utilizó las bases de datos bioinformáticos TAIR de arabisopsis (16) y PHYTOZOME (17) para papaya. Adicionalmente la plataforma *en línea* para predicción de secuencias proteicas FGESH (18) y finalmente los softwares, MEGA7 (19), PerftBlast (20).

2.2. Métodos

2.2.1 Búsqueda de secuencias

Se tomaron como referencia las 75 secuencias proteicas bZIP de arabisopsis (7) y se buscaron las secuencias de nucleótidos a partir de sus números de acceso en la base de datos TAIR (16). El genoma completo de papaya se descargó desde PHYTOZOME (17). Con las secuencias de arabisopsis se realizó un tBLASTx local (21) contra el genoma de papaya mediante PerftBlast (20). Se seleccionó las secuencias codificantes con valores E menores que 10^{-17} y porcentajes de

identidad, superiores a 25% dentro del genoma de *C. papaya*.

2.2.2 Análisis bioinformático

Se realizó la predicción proteica de las secuencias codificantes mediante FGENESH (18), el alineamiento (ClustalW), modelo y filogenia (Maximum Likelihood) de las predicciones proteicas se realizó mediante MEGA7 (19). Se utilizó la secuencia 26S (número de accesoión AAF22522.1)

que codifica para una subunidad del proteasoma de *arabidopsis* como *outgroup*.

3. Resultados y Discusión

3.1. Número y función probable de genes *CpbZIP*

A partir de la búsqueda tBLASTx local se encontró 37 secuencias *CpbZIP* (tabla 1), se agrupó cada secuencia en siete grupos de acuerdo con la clasificación para *arabidopsis* propuesta por Jakoby et al. (7).

Tabla 1. Distribución de secuencias de nucleótidos de genes que codifican para bZIP de *A. thaliana* y posibles ortólogos en *C. papaya*.

Grupo/Nº <i>AtbZIP</i>	Función conocida en <i>A. thaliana</i>	<i>CpbZIP</i> (este estudio)
A/13	Respuesta a señalización por ABA, respuesta a estrés osmótico y sequía en tejidos vegetativos (22-26).	7
B/3	Modificación de las histonas durante estrés, respuesta a estrés salino en el retículo endoplasmático (27,28).	1
C/4	Desarrollo de semillas, respuestas mediadas por ABA a estrés abiótico (29,30).	2
D/10	Dependiendo del factor transcripcional, activador o represor de la expresión de genes de defensa (31).	6, reportados previamente en papaya (13)
E/2	Desarrollo del polen (32).	3
F/3	Adaptación a bajas concentraciones de zinc (33).	1
G/8	Germinación de semillas, elongación de hipocótilos (34)	3
H/2	Captación de nitrógeno, fotomorfogénesis (35).	1
I/13	Señalización osmosensora (36)	5
S/17	Respuesta a la luz (37).	8

Claramente se observó que las secuencias *CpbZIP* están presentes en un número menor que sus contrapartes de *arabidopsis*. Esta característica se repite en prácticamente todos los genes de las dos especies al compararlas entre sí, en promedio existe una reducción del 20% de genes en papaya. Presumiblemente esto se debe a las diferencias morfológicas entre *arabidopsis* y papaya (8).

En los grupos H y C el número de genes de *arabidopsis* fue el doble que los de papaya, probablemente por efecto de las dos duplicaciones genómicas consecutivas (de sus siglas en inglés *whole genome duplications* WGD) que sufrió el genoma de *arabidopsis* en comparación con el de papaya que no tuvo duplicación alguna (38). Para el resto de los genes de *arabidopsis* cuyo número

no es doble de los genes de papaya, probablemente algunas copias de genes en arábidoopsis se perdieron por el proceso llamado de *fraccionamiento* que puede ocurrir luego de un evento de WGD (39).

Las funciones de los genes que codifican para bZIP en arábidoopsis son plenamente conocidas (tabla 1) y como una primera aproximación, es factible esperar respuestas biológicas parecidas entre genes ortólogos con secuencias similares, pero de diferentes especies. De hecho, algunos de los genes CpbZIP del grupo D respondieron a ácido salicílico (13) y podrían estar involucrados en la defensa en plantas en contra de patógenos de la misma forma como lo hacen en arábidoopsis. Sin embargo, para conocer las funciones de los demás genes de papaya encontrados en este trabajo, se debería demostrar experimentalmente. Las predicciones *in silico* son un excelente punto de partida, pero las diferencias morfológicas y fisiológicas entre arábidoopsis y papaya, se remontan de acuerdo con Fang et al. (40) hace 72 millones de años.

Alineamiento y composición del dominio básico de zipper de leucina

Las 37 secuencias proteicas CpbZIP compartieron dominios básicos de zipper de leucina similares, formados por los heptámeros de residuos de leucina y espaciados regularmente cada 7 aa (figura 2) lo que concuerda con lo expuesto previamente por Hakoshima (4).

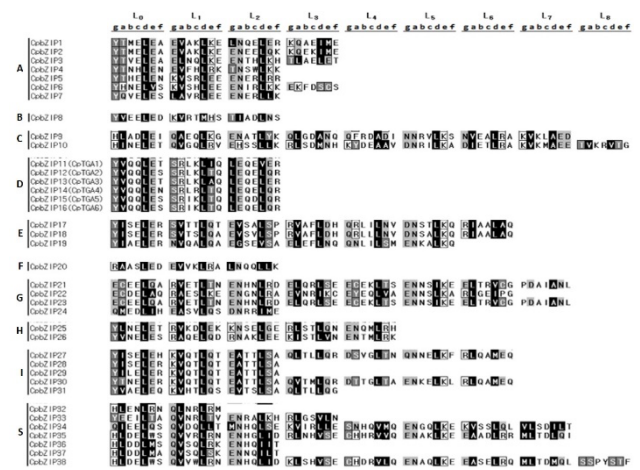


Fig. 2. Alineamiento de secuencias predichas de aminoácidos CpbZIP en sus respectivos grupos, se detallaron también los heptámeros L0 a L8 dentro de los dominios bZIP y los tipos de aminoácidos alifáticos (cuadrados negros), básicos (cuadrados blancos), ácidos (cuadrados grises claros) e hidroxílicos (cuadrados grises oscuros).

Como criterio para seleccionar las 37 secuencias CpbZIP se consideró que cada heptámero debía contener uno de los aminoácidos L, M, I, V, C, A y S en la posición *d* ya que Moitra et al. (41) determinaron que la estabilización del dominio básico zipper de leucina depende del aminoácido en esa posición en particular y que el orden descendiente de estabilidad lo confería el aminoácido en la secuencia indicada. De forma general entre todas las CpbZIP predichas, la leucina es el aminoácido que se repite con mayor frecuencia en la posición *d* dentro de todos los heptámeros (L0 a L8).

Los heptámeros con aa diferentes no fueron considerados y las secuencias se cortaron hasta el heptámero anterior completo. Este es el motivo por el cual se encontró CpbZIP, con números de heptámeros y longitud variables (figura 2).

Los aa ubicados en posiciones *g* y *e* en cambio, son los responsables de la formación de dímeros y la interacción entre aa cargados de forma opuesta (positiva/negativa) promueven la dimerización

mientras que la interacción entre aa cargados de forma similar (positiva/positiva o negativa/negativa) inhiben la dimerización en FT bZIP de arabidopsis (42). Esto coincide con lo encontrado en las secuencias CpbZIP que mostraron la presencia de aa negativos y positivos en estas posiciones en particular que podrían interactuar entre sí de una forma específica, promoviendo la dimerización o inhibiéndola, según las características de los aa involucrados.

3.3 Árbol filogenético de secuencias CpbZIP

La filogenia de las 37 secuencias generó tres clados (Figura 3), el primero formado por los miembros de los grupos A (4 subclados), D (3 subclados), G (2 subclados), S (3 subclados), H, C y F y un clado más pequeño formado por los grupos I (3 subclados) y E (2 subclados) y el tercer clado formado únicamente por la a secuencia B.

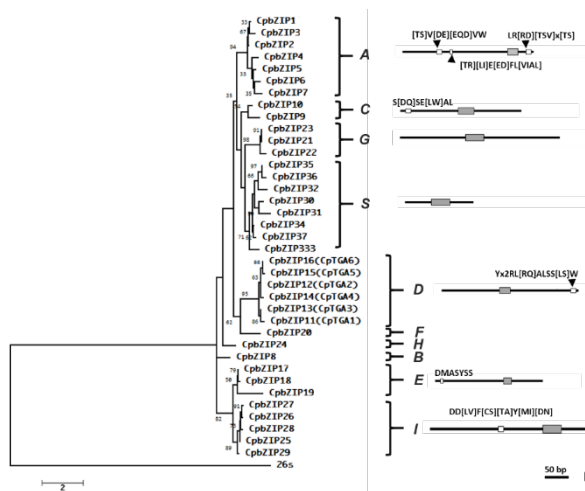


Fig. 3. Árbol filogenético (Maximum Likelihood) de CpbZIP. El mejor método de sustitución de aa para el conjunto de datos fue calculado con MEGA 7 (19) el análisis involucró 38 secuencias de aa. Todas las posiciones que contenían gaps y datos faltantes fueron eliminadas. Se adjunta la firma característica de cada grupo, el bZIP se representa como un rectángulo gris.

Se observó que la clasificación de heptámeros propuesta en la figura 2 es consistente con este

árbol es decir las secuencias se agruparon en los clados correspondientes a su grupo en particular.

El árbol filogenético también mostró duplicación específica de linajes entre los subclados, lo que quiere decir que cada miembro podría tener funciones similares dentro de cada grupo que deberían demostrarse de forma experimental. Junto al árbol filogenético se incluyó las firmas de cada grupo que son representaciones gráficas que ilustran la posición del bZIP en cada grupo y otros dominios conservados que no necesariamente cumplen una función biológica determinada. Estas firmas fueron originalmente descritas también por Jakoby et al. (7). Las letras sin corchetes representan la secuencia de aa en esas posiciones en particular, las mismas que son constantes en todos los miembros del grupo, mientras que las letras entre corchetes representan aminoácidos variables que pueden ocupar esa posición en particular (solo una de las encerradas entre corchetes).

Mediante este trabajo se determinó la presencia de genes con características de FT bZIP en el genoma de papaya desde un enfoque *in silico* a partir bases de datos genómicos y predicción de genes, como estrategia para la notación de genes no descritos aún y cuya función biológica requiere ser confirmada de forma experimental. De acuerdo con Martínez (43), el advenimiento de tecnologías de secuenciación, el número creciente de genomas vegetales disponibles y las herramientas bioinformáticas han permitido la notación de genes con la finalidad de incrementar el conocimiento de las familias génicas y de la evolución.

4. Conclusiones

Se encontró *in silico* 37 secuencias que podrían ser ortólogos a factores transcripcionales básicos de

zipper de leucina (CpbZIP) en el genoma de papaya. En función de la similitud de las secuencias, estas se nombraron y agruparon en 10 grupos, de forma análoga a la clasificación de secuencias caracterizadas bZIP de *Arabidopsis*. Se elaboró el alineamiento y filogenia de las secuencias encontradas cuyas funciones biológicas podrían ser evaluadas de forma experimental a partir de esta información generada.

Agradecimientos

Al Dr. Jorge Santamaría por su valioso apoyo y constante colaboración en todos los trabajos y proyectos científicos ejecutados.

Referencias

1. T. R. Hughes in *A Handbook of Transcription Factors*, Ed.: T. R. Hughes, Springer Science+Business Media B.V., New York, 2011, pp. 1.
2. Salgado, H.; Martínez-Antonio, A.; Janga, S. *FEBS Lett.* 2007, 58, 3499–3506.
3. Matys, V.; et al. *Nuc. Ac. Res.* 2006, 34, D108–D110.
4. Hakoshima, T. *eLS*, 2014, 1–5.
5. Landschulz, W.H.; Johnson, P.F.; McKnight, S.L. 1988. *Science*. 1998, 240:1759–64.
6. O'Shea E.K.; Klemm, J.D.; Kim, P.S.; Alber, T. *Science*. 1991, 254, 539–44.
7. Jakoby, M.; Weisshaar, B.; Dröge-Laser, W.; Vicente-Carbajosa, J.; Tiedemann, J.; Kroj, T.; Parcy, F. *Trends Plant Sci.* 2002, 7, 3, 106–111.
8. Ming, R.; et al. *Nature*. 2008, 452, 24, 991–996.
9. Takata, N.; Saito, S.; Tanaka, C.; Uemura, M. *BMC Evol. Biol.* 2010, 10, 126.
10. Peraza-Echeverría, S.; Santamaría, J.M.; Fuentes, G.; Menéndez-Cerón, M.; Vallejo-Reyna, M.A.; Herrera-Valencia, V.A. *Genes Genom.* 2012, 34, 4, 379–390.
11. Estrella-Maldonado H.; et al. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 2016, 126, 2, 187–204.
12. Estrella-Maldonado, H.; et al. *Plant Growth Regul.* 2018, 37, 2, 502–516.
13. Idrovo-Espín, F.M.; Peraza-Echeverría, S.; Fuentes, G.; Santamaría, J.M. *Plant Physiol. Bioch.* 2012, 54, 113–122.
14. Arizala-Quinto, E.; Viteri, G.; Idrovo-Espín, F. J. *Basic App. Gen.* 2019, 30, 1, 1–3.
15. Cevallos-Vilatuña T.; Garzón-Salazar K.; Idrovo-Espín F. *Rev. Amazónica Ciencia Tec.* 2019, 8, 1, 1–11.
16. Swarbreck, D.; et al. *Nuc. Ac. Res.* 2008, D1009–14.
17. Goodstein, D.M.; et al. *Nuc. Ac. Res.* 2012, D1178–86.
18. FGENESH. <http://www.softberry.com/berry.phtml?topic=fgenes&group=programs&subgroup=gfind> (accesado 6 de abril 2020).
19. Kumar, S.; Stecher, G.; Tamura, K. *Molec. Biol. Evol.* 2016, 33, 7, 1870–1974.
20. Santiago-Sotelo, P.; Ramirez-Prado, J. H. *BioTechn.* 2012, 53, 5, 299–300.
21. Altschul S. F.; Madden T. L.; Schäffer A. A.; Zhang J.; Zhang Z.; Miller W.; Lipman D. J.; *Nucl. Ac. Res.* 1997, 25, 3389–3402.
22. Uno, Y.; Furihata, T.; Abe, H.; Yoshida, R.; Shinozaki, K.; Yamaguchi-Shinozaki, K. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2002, 99, 11632–11637.
23. Choi, H.; Hong, J.; Ha, J.; Kang, J.; Kim, S. Y. *J. Biol. Chem.* 2000, 275, 1723–1730.
24. Kang, J.; Choi, H.; Im, M.; Kim, S. *Plan Cell.* 2002, 14, 343–357.
25. Yoshida, T.; et al. *Plant J.* 2010, 61, 672–685.
26. Yoshida, T.; et al. *Plant Cell Environ.* 2015, 38, 35–49.

27. Liu, J.; Srivastava, R.; Howell, S. *Plant Cell*. 2007, 19, 4111-4119.
28. Song, Z.T.; Sun, L.; Lu, S. J.; Tian, Y.; Ding, Y.; Liu, J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2015, 3, 112, 9, 2900–2905.
29. Ehlert, A.; Weltmeier, F.; Wang, X.; Mayer, C.; Smeeckens, S.; Carbajosa, V.; Lase, W. *Plant J.* 2006, 46, 890–900.
30. Matioli, C.C.; et al. *Plant Physiol.* 2011, 157, 2, 692-705.
31. Kesarwani, M.; Yoo, J.; Dong, X. *Plant Physiol.* 2007, 144, 1, 336–346.
32. Gibalova, A.; Renák, D.; Matczuk, K.; Dupl'áková, N.; Cháb, D.; Twell, D.; Honys, D. *Plant Molec. Biol.* 2009, 70, 581–601.
33. Assunção, A.; et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2010, 107, 10296–10301.
34. Hsieh, W.; Hsieh, H.; Wu, S. *Plant Cell*. 2012, 24, 3997–4011.
35. Huang, L.; Zhang, H.; Zhang, H.; Deng, X.; Wei, N. *Plant Sci.* 2015, 238, 330–339.
36. Tsugama, D.; Liu, S.; Takano, T. *PLOS One*. 2014, 9, 8, e103930.
37. Rook, F.; Weisbeek, P.; Smeeckens, S. *Plant Molec. Biol.* 1998, 37, 171–178.
38. Bowers, J.E.; Chapman, B.A.; Rong, J.; Paterson, A.H. *Nature*. 2003, 422, 433–438.
39. Langham, R.J.; Walsh, J.; Dunn, M.; Ko, C.; Goff, S. A.; Freeling, M. *Genetics*. 2004, 166, 2, 935–945.
40. Fang, J.; et al. *Euphytica*, 2016, 209, 323–339
41. Moitra, J.; Szilák, L.; Krylov, D.; Vinson, C. *Biochem.* 1997, 36, 41, 12567–12573.
42. Deppmann, C., Acharya, A.; Rishi, V.; Wobbes, B.; Smeeckens, S.; Taparowsky, E.; Vinson, C. *Nuc. Ac. Res.* 2004, 32, 11, 3435–3445.
43. Martínez, M. *Comput. Struct. Biotechnol. J.* 2013, 8, 10, e201307001.

Metales Pesados en Cerveza Artesanal

Heavy Metals in Artisanal Beer

López Balladares O^{1*}; Espinoza Montero P.^{2*}, Fernández L.³, Montero Jimenez M.⁴, Bonilla Valladares P.⁵

^{1,5}Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Químicas.

email:olopez@uce.edu.ec*

email:pmbobilla@uce.edu.ec

^{2,3,4}Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Escuela de Ciencias Químicas

email:pespinoza646@puce.edu.ec

email:lmfernandez@puce.edu.ec

email:marjorie_cpp@hotmail.com

Artículo de Revisión

Recibido: enero 2021

Publicado: abril 2021

DOI: <https://doi.org/10.29166/quimica.v7i1.2800>

CONTENIDO

1. Introducción
2. Métodos de detección de metales pesados
 - 2.1 Detección de metales pesados en cerveza
3. Concentraciones de metales pesados en cervezas artesanales
4. Efectos de metales pesados en la cerveza.
5. Ingesta tolerable y efectos en la salud
 - 5.1. Plomo
 - 5.2. Cobre
 - 5.3. Cadmio
 - 5.4. Hierro
 - 5.5. Zinc
 - 5.6. Cromo
 - 5.7. Aluminio
 - 5.8. Manganeso
 - 5.9. Níquel
 - 5.10. Arsénico
 - 5.11. Cobalto

Sinopsis, /Perspectivas/ Punto de vista

Referencias

1. Introducción

La cerveza es una bebida que se obtiene por fermentación de malta. Civilizaciones como los sumerios y mesopotámicos, 10000 ac, fueron los pioneros en nombrar y referirse a este producto en sus escritos.¹

La cerveza es una de las bebidas más consumidas en el mercado a nivel global, alcanzando un 75%. El principal productor de cerveza es China con 448 millones de hectolitros. A nivel mundial, Europa es el continente con mayor consumo per cápita anual. Los países que lideran la lista de consumo son República Checa con 144 L, Alemania 107 L, Austria 106 L y Polonia 96 L.²

La cerveza artesanal tiene su origen a pequeña escala en Reino Unido en la década de los 70, razón por la cual se les conoce como micro cervecería.² Esta bebida se fabrica a partir de cebada, lúpulo, levadura y agua; la concentración de alcohol varía

y generalmente es más alta comparada con la cerveza industrial (> 4° gl). Sus componentes

finales son alcoholes, hidratos de carbono no fermentados en forma de dextrinas, vitaminas, minerales, ácidos, fenoles, dióxido de carbono y agua alrededor del 90 %.³

La cerveza artesanal ha ido ganando espacio en el mercado nacional e internacional. La mayor parte de la producción de esta cerveza se ha centrado en las micro cervecías, lo cual ha provocado estragos económicos en las grandes industrias tradicionales de cerveza. Un ejemplo es el caso de Budweiser que en el pasado basaba su publicidad en las raíces de la compañía, siendo originarias de una microcervecía, lo cual causó efectos en los productores más grandes.⁴ En Ecuador existen cincuenta y cinco (55) micro cervecías registradas en Quito, Guayaquil, Cuenca, Manta, Loja e Ibarra principalmente.⁵ El 79,2 % de los ecuatorianos que consume bebidas alcohólicas prefiere la cerveza con respecto al 20,8 % que decide ingerir bebidas destiladas como el ron, vodka, whisky y también vino. Según cifras reveladas en la Encuesta Nacional de Ingresos y Gastos en Hogares Urbanos y Rurales del Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC),⁶ desde el 2010 se ha abordado con impulso el emprendimiento de las cervezas artesanales; como ejemplo la "República de la Cerveza" en Guayaquil es un emprendimiento privado que tiene como propósito distinguir e impulsar la degustación de algunas variedades de cerveza.⁶

Uno de los factores que juega en contra de la calidad de una cerveza artesanal es la presencia de metales pesados. Este contaminante pueden provenir de varias fuentes como: la materia prima, el empleo de aditivos que contengan trazas metálicas durante el proceso de fermentación y maduración, y la contaminación proveniente de la

corrosión del equipamiento para la elaboración de la cerveza.⁷ Estos metales inducen alteración de las propiedades de envejecimiento prematuro de la cerveza, además de causar posibles daños a la salud de los consumidores.

Los Metales Pesados son elementos químicos que poseen alta densidad (mayor a 4 g cm^{-3}), masa y peso atómico por encima de 20, y son tóxicos en concentraciones bajas. Entre los de gran importancia se pueden citar: Plomo (Pb), cobalto (Co), Estaño (Sn), Cadmio (Cd), Manganeseo (Mn), Zinc (Zn), Hierro (Fe), Mercurio (Hg), Cobre (Cu), Molibdeno (Mo), Níquel (Ni), Cromo (Cr), Aluminio (Al), Selenio (Se), Vanadio (V), Talio (Tl), Arsénico (As), entre otros.^{8,9} El objetivo de la presente revisión es abordar la temática actualizada de la presencia y determinación de metales pesados en cerveza artesanal, puntualizando al final del manuscrito sobre los problemas que pueden acarrear en la salud de los consumidores la presencia de los principales metales que se han reportado como contaminantes en esta bebida.

2. Métodos de detección de metales pesados

Entre los métodos más empleados para detectar metales en cerveza, se encuentran: espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito (GF-AAS, por sus siglas en inglés),¹⁰ espectroscopia de absorción atómica con llama (FAAS, por sus siglas en inglés),¹¹ redisolución anódica por polarografía, voltamperometría de redisolución anódica con pulso diferencial (DPASV, por sus siglas en inglés),¹¹ espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente (ICP-MS, por sus siglas en inglés),¹² espectrometría de emisión óptica de

plasma inducida por microondas,¹³ polarografía diferencial de pulsos (DPP, por sus siglas en inglés),¹⁴ espectrofotometría de absorción atómica electro térmica (ETAAS, por sus siglas en inglés),¹⁵ espectrofotometría de absorción atómica con atomización en horno de grafito y corrección Zeeman¹⁶ y métodos espectrométricos de absorción molecular UV-Vis.¹⁷

2.1. Detección de metales pesados en cerveza

Para cada metal se puede elegir un método de determinación específico que dependerá de la naturaleza y las propiedades del elemento, y de la matriz donde se encuentre dicho metal. Para determinar metales pesados en muestras de cerveza se debe considerar la eficiencia de los procedimientos de digestión como tratamientos de ceniza seca, digestión con ácido nítrico y la desgasificación de la muestra.

En el caso del Fe, la espectrofotometría de absorción molecular UV-Vis con 1,10 fenantrolina, se ha encontrado como método más apropiado para la determinación en la cerveza en comparación con la FAAS. Mientras que esta misma técnica utilizando tiocianato de potasio (KSCN) y ácido sulfosalicílico comparado con FAAS poseen el mismo grado de precisión.¹⁷

Para la determinación de Cu, Al y Cd en cerveza, se han desarrollado procedimientos mediante espectrometría de absorción atómica electro térmica. Las muestras de cerveza se tratan con peróxido de hidrógeno (H₂O₂), ácido nítrico (HNO₃) y fosfato diácido de amonio (NH₄H₂PO₄) y se inyectan en el horno donde son mineralizadas, con la finalidad de atomizar los metales.¹⁵

Mediante espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente, durante la producción de cervezas artesanales se ha monitoreado la existencia de metales pesados como Fe, Pb, Cd, Ni, Cu, Zn, Cr y As. Los resultados mostraron que la materia prima como: agua, malta, lúpulo y levadura, son fuentes de contaminación muy baja ($\mu\text{g L}^{-1}$) en Cr, Zn y Cu. Mientras que, la fase de filtración puede generarse el aumento de la concentración de Cd, Zn, Fe y As en la bebida. Cervezas artesanales elaboradas sin la filtración final no presentaron incremento en la concentración de estos metales en el producto.¹²

Mediante espectrometría de emisión óptica de plasma inducida por microondas, se ha determinado Zn, Fe, Cr, Cu, Mn, Co, Ni, Al junto con otros elementos en muestras de cerveza industriales y artesanales, se lograron parámetros analíticos como límite de detección (LOD, por sus siglas en inglés), precisión y exactitud adecuados para el propósito del trabajo.¹³

En Cuenca-Ecuador se ha reportado el contenido de Zn, Cd, Pb y Cu en las cervezas artesanales más consumidas, mediante la técnica de redisolución anódica por polarografía. Las muestras fueron pretratadas mediante desecación, a 100 °C en estufa, se añadió gotas de aceite de oliva para evitar la espuma y se calentó a fuego hasta que se detuvo la hinchazón de la muestra; se calcinó en la mufla a 525 °C hasta obtener cenizas blancas. Para el caso del Pb, 2 de cada 8 clúster estaban fuera de la norma, con un contenido de más de 0,1 mg L⁻¹; para el del Zn, 1 de cada 8 clúster analizados sobrepasó la concentración de Zn permitido, según la norma el límite permitido es hasta 1 mg L⁻¹; para el caso del Cu, 2 de cada 8 clúster analizados sobrepasaron la concentración de Cu, según la

norma acepta hasta 1 mg L^{-1} . La norma vigente para cerveza no regula el contenido de Cd, razón por la cual para el análisis de los resultados obtenidos de este metal se tomó como referencia la norma brasileña para cervezas; todos los clúster estaban dentro de la norma ya que los contenidos no sobrepasaron los $0,5 \text{ mg L}^{-1}$.¹⁸

El método de voltamperometría de redisolución anódica (ASV) ha sido utilizado para determinar metales pesados como Cu, Pb y Cd en bebidas de malta sin alcohol. En una investigación de bebidas en Irán se detectaron concentraciones de Cu, Pb y Cd de 0,51, 0,04 y 0,05 mg/100 mL, respectivamente. De acuerdo a la ingesta diaria aceptable (IDA) establecida por los EEUU, los niveles de estos metales se encuentran por debajo del IDA.¹⁹

La voltamperometría de redisolución anódica asistida por ultrasonido (sono - ASV), ha permitido la detección del contenido total de Cu en cerveza, utilizando electrodos de película fina de mercurio y de carbono vítreo. Para ello, se introduce una sonda de inmersión en una celda de tres electrodos con temperatura controlada, opuesta a un electrodo de trabajo de Nafion cubierto con mercurio, una película de mercurio formada ex situ o un electrodo de carbono vítreo desnudo. Por este método, se requiere un pretratamiento mínimo de la muestra, que consiste en la acidificación de la cerveza con HNO_3 diluido y la desgasificación con argón. Después de la deposición de Cu sobre el electrodo en presencia de ultrasonido, se emplea una exploración de onda cuadrada para obtener la señal

analítica. En ausencia de ultrasonido, la pasivación de los electrodos por especies orgánicas y las tasas más bajas de transporte de masa impiden la obtención de cualquier señal medible. La limpieza cavitacional *in situ* del electrodo por insonación mantiene la actividad del electrodo. Los niveles de contenido total de Cu en cerveza “Pedigree Bitter”, se encontraron en el rango de 100 a 300 μg de $\text{Cu}\cdot\text{L}^{-1}$. Este reporte destaca la validez del método sono-ASV como una técnica electroanalítica útil en medios complicados de medir.²⁰

Se ha utilizado voltamperometría de separación por adsorción de pulso diferencial (DPAdSV) para determinar Fe en cervezas. Un método altamente sensible, selectivo, rápido, confiable y económico para el análisis directo de Fe libre en muestras de cerveza “Lager” pálidas, oscuras y sin alcohol. Para ello se utilizó el electrodo colgante de gota de mercurio. El Fe libre en las cervezas oscuras fue más alto que en las cervezas pálidas, que aún es más alto que el contenido de Fe libre en las cervezas sin alcohol. Las Cervezas oscuras presentaron un promedio de $121 \mu\text{g L}^{-1}$ de Fe, las cervezas pálidas $92 \mu\text{g L}^{-1}$ y las cervezas sin alcohol $63 \mu\text{g L}^{-1}$. El Fe libre en cervezas puede estar relacionado con las mayores cantidades de ingredientes en las cervezas oscuras, como son lúpulo y malta, los cuales poseen cantidades significativas de Fe. La malta oscura se obtiene por extracción con agua caliente lo que causaría probablemente la solubilidad parcial del Fe, aumentando así la concentración en las cervezas oscuras.²¹

3. Concentraciones de metales pesados en cervezas artesanales

Resultados en la determinación de metales pesados en cervezas artesanales en algunas investigaciones se muestran en la tabla:

Tabla1. Metales pesados de cervezas artesanales. Primera parte.

Método	Información de la cerveza**	Metales						Referencia
		Cr	Ni	Zn	Cd	Pb	Cu	
		µg L ⁻¹	µg L ⁻¹	µg L ⁻¹	µg L ⁻¹	µg L ⁻¹	µg L ⁻¹	
Espectrometría de emisión óptica de plasma inducida por microondas	Ciudad Cruz das Almas, Bahía-Brasil	1,0-118,15	< 7-1130	550-2580			16,64-3670,3	13
Espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente (ICP-MS)	Cerveza lager / Italia	n.d.*-24,51	n.d.	n.d.-1081,60	n.d.-35,29	n.d.	n.d.	12
Espectroscopia de absorción atómica con llama (FAAS)	Bialystok-Polonia						13,3-85,8	22
Espectrometría de absorción atómica electrotermica (ETAAS)	España				0-1,3		31 – 84	15
Espectrometría de absorción atómica con atomización en horno de grafito y corrección Zeeman	Rural/ Brasil				1,4	32		16
Espectrofotometría de Absorción Atómica con Horno de Grafito (GF-AAS)	Guayaquil-Ecuador				0,32-0,76			10
Espectroscopia de absorción atómica con llama (FAAS)	Quito-Ecuador			8,6 – 44,3		55,2 – 78,5		11
Espectrofotómetro de absorción atómica	Zambia			30-22700		0-500	0-3000	23

** Tipo de cerveza y/u origen. * no detectado

Tabla 1. Metales pesados de cervezas artesanales. Segunda parte.

Método	Información de la cerveza**	Metales				Referencia
		Zn (II)	Cd (II)	Pb (II)	Cu (II)	
		µg L ⁻¹	µg L ⁻¹	µg L ⁻¹	µg L ⁻¹	
Redisolución anódica en el polarógrafo	Rubia Compañía /Cuenca-Ecuador	117-1277	21-51	7-28	148-750	18
	Negra Compañía/ Cuenca-Ecuador	382-478	10-19	3-34	95-382	18
	Roja Compañía/ Cuenca-Ecuador	93-347	13-57	9-100	94-297	18
	Rubia Factory/ Cuenca-Ecuador	106-999	29-133	18-34	171-308	18
	Roja Factory/ Cuenca-Ecuador	60-538	14-50	15-64	111-451	18
	Negra Factory/ Cuenca-Ecuador	99-666	0-95	22-58	239-17659	18
Voltamperometría de Redisolución Anódica con Pulso Diferencial (DPASV)	Quito-Ecuador	373,2 – 705,6		44,8 – 274,0		11
Polarografía diferencial de pulsos (DPP) y voltamperometría de separación anódica (ASV)	San Luis Potosí-México			13,2 – 66,4		14
Voltamperometría de separación anódica (ASV)	Cerveza sin alcohol/ Irán	1,34	0,05	0,04	0,51	19

** Tipo de cerveza y/u origen.

* no detectado

Tabla1. Metales pesados de cervezas artesanales. Tercera parte.

Método	Información de la cerveza**	Metales					Referencia
		Al	Fe	As	Mn	Co	
		$\mu\text{g L}^{-1}$	$\mu\text{g L}^{-1}$	$\mu\text{g L}^{-1}$	$\mu\text{g L}^{-1}$	$\mu\text{g L}^{-1}$	
Espectrofotometría de Absorción Atómica con Horno de Grafito (GF-AAS)	Guayaquil-Ecuador			n.d*- 3,9			10
Espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente (ICP-MS)	Cerveza lager - Italia		4,22 - 40,03	n.d.-4.81			12
Espectroscopia de absorción atómica con llama (FAAS)	Bialystok-Polonia		62,4-1199		65,4-277		22
Espectrometría de absorción atómica electrotérmica (ETAAS)	España	90 - 960					15
Espectrometría de emisión óptica de plasma inducida por microondas (ICP-OES)	Ciudad Cruz das Almas, Bahía-Brasil		2,11-73,29			0.08-0.57	13
Espectrofotómetro de absorción atómica (AAS)	Zambia		n.d.-245000				23

** Tipo de cerveza y/u origen.

* no detectado

En la Tabla 1 primera parte, se pudo identificar seis metales en sus formas totales. El Cr detectado en cervezas artesanales de Brasil por Pires et al.,¹³ mediante ICP-OES fue de 118,15 $\mu\text{g L}^{-1}$, siendo más alto que el reportado por Passaghe et al.¹² para cervezas de Italia mediante ICP-MS, 24,51 $\mu\text{g L}^{-1}$.^{12,13} En cuanto al Ni se encontró 1130 $\mu\text{g L}^{-1}$ en cervezas artesanales de Brasil por el método de ICP-OES empleado por Pires et al.,¹³ mientras que en cervezas de Italia registradas por Passaghe et

al.¹² por el método ICP-MS no se pudo detectar dicho metal.^{12,13} El Zn detectado en cervezas artesanales en Quito-Ecuador y Zambia, muestra ser mayor en Zambia hasta una concentración 22700 $\mu\text{g L}^{-1}$ y menor en Ecuador hasta 44,3 $\mu\text{g L}^{-1}$.^{10,23} El Cd total que se determinó en cervezas artesanales de Italia, España, Brasil y Ecuador, muestra ser mayor en Italia por el método ICP-MS, 35,29 $\mu\text{g L}^{-1}$ y significativamente menor en Ecuador según el registro de Rodríguez¹⁰ mediante el método de GF-AAS, 0,76 $\mu\text{g L}^{-1}$.^{10,12} El Pb total

cuantificado en cervezas artesanales de Italia, Brasil, Ecuador y Zambia muestra ser mayor en Zambia con $500 \mu\text{g L}^{-1}$, mediante el método FAAS, y no detectable en Italia por el método de ICP-MS.^{12,23} El Cu total que se determinó en cervezas artesanales de Brasil, Italia, Polonia, España, Brasil y Zambia, muestra ser mayor en Brasil por el

En la Tabla 1 segunda parte, se muestra la detección de cuatro iones metálicos. El Zn(II) detectado en cervezas artesanales de Cuenca-Ecuador, Quito – Ecuador, México e Irán, señala una mayor concentración en las cervezas “Rubia Compañía”, registradas por Becerra,¹⁸ en Cuenca-Ecuador por el método de redisolución anódica por polarografía, y menor concentración en cervezas sin alcohol registradas por Sadeghi et al.,¹⁹ en Irán por el método de ASV, 1277 y $1,34 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.^{18,19} El Cd(II) detectado en cervezas artesanales de Cuenca-Ecuador, México e Irán, señala una mayor concentración en las cervezas “Rubia Factory” registradas por Becerra¹⁸ en Cuenca-Ecuador, que las cervezas sin alcohol registradas por Sadeghi et al.,¹⁹ en Irán, 133 y $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente por los métodos descritos anteriormente.^{18,19} El Pb(II) detectado en cervezas artesanales de Cuenca-Ecuador, Quito-Ecuador, México e Irán, señala mayor concentración en las cervezas registradas por Borja¹¹ en Quito-Ecuador, por el método de DPASV, y menor concentración en cervezas sin alcohol registradas por Sadeghi et al.,¹⁹ en Irán por el método de ASV, 274 y $0,04 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.^{11,19} El Cu(II) detectado en cervezas artesanales de Cuenca-Ecuador e Irán, señala una mayor concentración en las cervezas “Negra Factory” registradas por Becerra¹⁸ en respectivamente.^{12,23} El As detectado en cervezas artesanales de Guayaquil-Ecuador e Italia, señala

método ICP-OES con $3670,3 \mu\text{g L}^{-1}$ y no detectable en Italia por el método de ICP-MS.^{12,13} Se puede observar una mayor cantidad de estos cinco metales en cervezas artesanales de Brasil y Zambia. Lo cual evidencia que, la fuente de estos metales puede ser diversa y que depende mucho de la localidad de estudio.

Cuenca-Ecuador, que las cervezas sin alcohol registradas por Sadeghi et al.,¹⁹ en Irán, 17659 y $0,51 \mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente, por los métodos descritos anteriormente.^{18,19} Como se puede observar las cervezas sin alcohol analizadas en esta tabla contienen menor concentración de iones metálicos, lo cual induce a corroborar lo descrito por Concon,²⁴ Robards,²⁵ Reilly y otros,²⁶ que el alcohol podría contribuir en la solubilidad de los metales en el proceso extractivo durante la maceración.²⁴⁻²⁶

En la Tabla 1, tercera parte, se muestra la detección de cinco metales. El Al y Mn total detectado en cervezas artesanales de España por Viñas et al.,¹⁵ y de Polonia por Zambrzycka et al.,²² señalan valores significativos de concentración por los métodos ETAA y FAAS, 960 y $277 \mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente, mientras que el Co total registrado por Pires et al.¹³ en cervezas de Brasil mediante ICP-OES es mínima su presencia, $0,57 \mu\text{g L}^{-1}$.^{13,15,22} El Fe total detectado en cervezas artesanales de Italia, Polonia, Brasil y Zambia, señala una mayor concentración en las cervezas registradas por Reilly²³ en Zambia por el método de AAS, y menor concentración en cervezas registradas por Passaghe et al.,¹² en Italia por el método de ICP-MS, 245000 y $40,03 \mu\text{g L}^{-1}$,

una concentración similar en las cervezas registradas por Rodríguez¹⁰ en Guayaquil-Ecuador

por el método de GF-AAS, respecto a las cervezas registradas por Passaghe et al.,¹² en Italia por el método de ICP-MS, 3,9 y 4,81 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.^{10,12}

4. Efectos de metales pesados en la cerveza

La presencia de metales pesados en cerveza, en concentraciones altas desfavorecen el proceso de fermentación porque pueden generar efectos tóxicos para las levaduras.²⁷

Se conoce que los cambios de sabor ocurren inevitablemente en la cerveza durante el envejecimiento y depende del tipo de cerveza, de su naturaleza y condiciones de almacenamiento. Un tipo importante de cambio durante el envejecimiento de la cerveza es causado por compuestos carbonílicos aromáticos activos, que pueden formarse por reacciones de radicales.²⁸

Según Bamforth y Parsons (1985),²⁹ los radicales hidroxilos son los intermediarios más importantes en la formación de compuestos aromatizantes envejecidos en la cerveza; ya que, pueden dar paso a la degradación de los componentes orgánicos. Por otro lado, los metales pesados catalizan estas reacciones e intervienen en la formación de radicales de ácidos grasos.³⁰ Por lo tanto, los iones de metales pesados son de importancia decisiva para el envejecimiento de la cerveza. En este sentido, se conoce, que iones de Fe y Cu tienen una influencia negativa en la estabilidad del sabor de la cerveza. Se reporta que las concentraciones de Cu por debajo de 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ causan daños en el producto final. Los orígenes de estos dos metales en la cerveza se dan a partir de materias primas, equipos de elaboración, tierra de diatomeas, entre otros, que ha sido bien investigado como pérdida

durante el proceso de elaboración de granos pelados, producción de levadura y elaboración de cerveza.³¹

Los niveles de Cd en la cerveza pueden ser debido a los residuos de productos agroquímicos utilizados como insecticidas y fungicidas, que contienen Cd; también puede atribuirse, entre otras razones, a la contaminación ambiental en aquellos lugares donde existen complejos industriales cerca de las gramíneas.³²

Una maceración prolongada a temperaturas muy altas probablemente cause una extracción completa de Cd del mosto; características tecnológicas como el prensado y factores químicos como el contenido de alcohol, acidez del mosto, también podrían causar la extracción de Cd.²⁴⁻²⁶ Este efecto se puede atribuir a la gran mayoría de los metales pesados como Fe, Pb, Al, Cr, Mn, Ni, Zn, Co, Cu, entre otros.

5. Ingesta tolerable y efectos en la salud

Existen algunos elementos que son necesarios en la alimentación del hombre denominados como esenciales, sin embargo, se debe analizar cuando estos metales pesados intervienen en dosis elevadas o en la ingesta diaria de los alimentos.

5.1. Plomo

El Pb encontrado en las cervezas puede tener su origen desde el medio ambiente como resultado de actividades humanas tales como liberación industrial, productos químicos desechados incorrectamente o aplicación inapropiada de pesticidas y humos del tráfico³³.

Este metal no cumple una función esencial. Una persona adulta sin exposición al Pb, puede ingerir a través de la alimentación entre 0,3 y 0,5 mg de Pb por día; este metal es eliminado hasta el 80 % mediante el funcionamiento de los riñones. Si la ingesta diaria supera los 0,6 mg, entonces es capaz de acumularse y causar intoxicación³⁴. El Comité Mixto FAO/OMS ha establecido para el Pb una ingesta semanal tolerable provisional (PTWI, por sus siglas en inglés) de 25 µg por kilogramo de peso corporal por semana.³⁴

Durante la absorción del Pb en el torrente sanguíneo, éste es transportado por los glóbulos rojos unidos a las proteínas del plasma en un 95% de la fracción circulante del metal, posteriormente el Pb se distribuye al sistema óseo y hacia los tejidos blandos como médula ósea, sistema nervioso central, riñón e hígado.³⁵ Un procedimiento muy similar ocurre con el resto de los metales pesados.

La presencia de Pb en el organismo interrumpe el metabolismo de la vitamina D y del Ca, además, ocasiona competencia con el Fe y el Ca causando problemas a la salud, éstas son anemia e hipocalcemia respectivamente. Una vez que el Pb ingresa al organismo, el grupo de enzimas que metabolizan los aminoácidos azufrados (metionina y cisteína), lo convierten en PbS.³⁵ El Pb inorgánico se absorbe, se distribuye, se acumula y se excreta de forma directa, es decir, no se metaboliza. En cambio, el Pb orgánico es transformado a $Pb_3(PO_4)_2$ y posteriormente a $Pb_3(PO_4)_4$ el cual posee una solubilidad menor, y por consiguiente no se excreta de igual manera que el Pb inorgánico inicial, aumentando así la concentración y generando la acumulación del metal en el organismo.^{35,36}

El envenenamiento agudo por Pb puede causar síntomas como: calambres en el estómago, pérdida de apetito, fatiga, náuseas, vómito, mal humor, dificultad para dormir, dolor de cabeza, dolores articulares, dolores musculares, disminución del deseo sexual, estreñimiento y anemia. El envenenamiento crónico, es decir, a largo plazo, causa efecto perjudicial en varios sistemas, de los cuales los de mayor impacto son el renal, hematopoyético, reproductor y nervioso.³⁷

5.2. Cobre

El Cu presente en las cervezas puede tener su origen desde la contaminación del equipamiento durante el proceso de elaboración, en la que se genera la deposición del metal a causa de la corrosión del material.³⁸

El Cu es un micronutriente esencial que se encuentra presente entre 50-120 mg en la persona adulta. De este total de Cu, el 60 % forma parte del esqueleto, los músculos y la piel, aunque también está presente en algunos órganos como el cerebro y el hígado en los cuales existe mayor concentración.³⁹ El Cu funciona como componente de varias metaloenzimas que actúan como oxidasas para lograr la reducción del oxígeno molecular.

Nuestra ingesta requerida es de 1000 µg de Cu diariamente. El Cu en cantidades prominentes es capaz de ocasionar daños permanentes a la salud; en niños menores de un año que perciban una ingestión elevada de dicho metal durante catorce días o más puede causar enfermedad al hígado y riñón. En cuanto a la persona adulta el consumo excesivo de Cu puede ocasionar trastornos digestivos entre ellos: calambres estomacales, diarrea, náuseas y vómito.⁴⁰

5.3. Cadmio

El Cd al igual que el Pb puede aparecer en la cerveza, por origen de la contaminación ambiental depositado en las semillas de las gramíneas utilizadas para la fabricación de la bebida.³²

El Cd, no se considera esencial para la vida humana. Lo relevante del Cd son los niveles de exposición, es decir, las vías por las que el Cd ingresa al alimento. Se puede medir Cd en la sangre, la orina, el cabello y las uñas, partes del cuerpo donde se acumula este metal.⁴¹

En cuanto a la ingestión semanal tolerable en los alimentos, La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria estableció el valor de 2,5 µg de Cd por kg de peso corporal.⁴² Los consumos en grandes cantidades desenlazan efectos secundarios, incluyen disfunción renal proteinuria y necrosis de este órgano, hipertensión, daño hepático, toxicidad reproductiva, daño pulmonar si la exposición es por inhalación, y efectos óseos como osteomalacia.³²

5.4. Hierro

La presencia del Fe en la cerveza se le atribuye especialmente a la corrosión del equipamiento utilizado para la producción de la bebida, pero, además, es el resultado de la solubilidad del mineral durante la extracción de la malta oscura al aplicar agua caliente a la materia prima rica en Fe.²¹

El Fe es un mineral esencial que cumple funciones diversas en el organismo tales como la intervención en procesos metabólicos, forma parte de complejos moleculares, es componente de enzimas, participa en la síntesis de ADN al

constituir la enzima ribonucleotido reductasa, cumple funciones de transporte de electrones al tener la capacidad de aceptarlos y donarlos, y también, en el transporte oxígeno por medio de la hemoglobina. El Fe absorbido se utiliza para formar hemoproteínas o a su vez se almacena en forma de ferritina.⁴³

La recomendación de ingesta diaria es de 10 a 22 mg día⁻¹.⁴⁴ El exceso de Fe produce hemocromatosis la cual es una enfermedad causada por la acumulación de Fe, que genera cambios patológicos; los síntomas son astenia, letargia, artralgia, y en etapa avanzada de la enfermedad causa cirrosis hepática, diabetes e hiperpigmentación cutánea.⁴³

5.5. Zinc

El Zn presente en las cervezas tiene origen similar al del Fe, por lo que maceraciones prolongadas a temperaturas altas puede favorecer al aumento de su concentración.³⁸

Es un componente funcional de varias proteínas que contribuyen a la expresión génica y la regulación de la actividad genética. También tiene un papel en la función inmunológica y las citosinas.⁴⁵ La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria⁴⁶ establece una ingesta diaria tolerable de entre 16,3 y 9,4 mg día⁻¹ para los hombres y de 12,7 y 7,5 mg·día⁻¹ para las mujeres.

La intoxicación aguda incluye síntomas como náuseas, vómitos, dolor epigástrico, calambres abdominales y diarrea. La toxicidad crónica dada por ingestas de entre 50 mg día⁻¹ y 300 mg día⁻¹ durante largos períodos causan trastornos similares a los de una deficiencia de cobre y se manifiestan

por cambios fisiológicos y bioquímicos como hipocupremia, leucopenia, neutropenia, anemia sideroblástica, disminución de la función de enzimas que contienen cobre, alteraciones del metabolismo del colesterol.⁴⁷

5.6. Cromo

El contenido de Cr en la cerveza resulta de la composición de los ingredientes utilizados en el proceso de elaboración de la cerveza y también de fuentes exógenas, desde la contaminación del equipo de la cervecería utilizado para el manejo de la cerveza, incluida la fermentación, acondicionamiento, filtración, carbonatación y material de embalaje.⁴⁸

Mientras que el Cr(III) es considerado esencial, ya que participa en la eficacia de la insulina para la regulación del metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas, el Cr(VI) puede provocar toxicidad sistémica que se produce por ingestión. Los efectos tóxicos por parte de este Cr(VI) son daño glomerular y tubular, sensibilización cutánea, inflamación de neumocitos, citotoxicidad, acción cáustica directa, e interacción con biomoléculas. Según la International Agency for Research on Cancer (IARC), el ion Cr(VI) es considerado carcinógeno del grupo I, alertando su peligrosidad ya que está asociada por las aberraciones cromosómicas, alteraciones de cromátidas hermanas y reacciones cruzadas en la cadena de ADN.⁴⁹

La EFSA ha establecido una ingesta diaria de Cr(III) tolerable de 300 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de peso corporal.⁵⁰ El Cr(VI) al ser carcinógeno por vía oral y, aunque la mayor parte se convierte en la forma trivalente en el estómago, no se puede descartar que una parte

pequeña pase a los intestinos y se absorba. La EFSA ha establecido una dosis de referencia (BMDL10) de 1 mg kg^{-1} de peso corporal por día por los efectos carcinógenos sobre el intestino.⁴⁷

5.7. Aluminio

El Al resultante en la cerveza es causado por la corrosión de los materiales utilizados durante la elaboración de la bebida. Es más crítica su presencia en cervezas envasadas en lata de aluminio durante el tiempo en el que se encuentra almacenada antes de su consumo.⁵¹

No se conoce que el Al realice una función fisiológica en el organismo humano. La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) establece la ingesta semanal tolerable para un adulto de 60 kg el valor de 1 mg de Al / kg de peso corporal.⁵²

Se han descrito efectos neurotóxicos clínicamente relevantes en pacientes en diálisis los cuales mostraban desorientación, deterioro de la memoria y, en etapas avanzadas, demencia.⁵³

5.8. Manganeso

El Mn presente en cervezas tiene su origen durante el proceso de elaboración de la bebida por la corrosión del material de los tanques de almacenamiento, y otra fuente es originaria en la molienda de las materias primas, pero está presente en niveles aún más altos en el lúpulo que puede ser lixiviado durante la maceración.⁵⁴

El manganeso es un elemento esencial. un cofactor para una serie de reacciones enzimáticas, particularmente aquellos involucrados en la fosforilación, colesterol y síntesis de ácidos grasos

El Instituto Norteamericano de Medicina (IOM) estableció en 2001 una ingesta adecuada de 2,3 mg día⁻¹ para un hombre adulto, 1,8 mg día⁻¹ para una mujer adulta.⁴⁷

La toxicidad del manganeso se denomina "manganismo". Es un trastorno neuropsiquiátrico caracterizado por irritabilidad, dificultad para caminar, alteraciones del habla, y comportamiento compulsivo que puede incluir correr, pelear y cantar.⁵⁵

5.9. Níquel

El Ni aunque se encuentra en las materias primas en cantidades traza, es posible aumentar la concentración en la cerveza por la contaminación durante el almacenamiento y transporte a través del contacto de la bebida con el equipo, los tanques y el empaque.³⁸

Es esencial en pequeñas cantidades. La EFSA (2015) estableció la ingesta diaria tolerable de 2,8 mg de Ni / Kg de peso corporal, aunque ese valor podría no ser lo suficientemente protector para los individuos sensibilizados al Ni.⁵⁶

El Ni es un conocido hematotóxico, inmunotóxico, neurotóxico, genotóxico, tóxico para la reproducción, tóxico pulmonar, nefrotóxico, hepatotóxico y cancerígeno. Puede causar la formación de radicales libres en varios tejidos, lo que conduce a diversas modificaciones en las bases del ADN, aumenta la peroxidación de lípidos y alteración del homeostasis del calcio y sulfhidrilo.⁵⁷

5.10. Arsénico

La presencia de As en la cerveza se debe principalmente a la contaminación por aplicación de pesticidas durante la agricultura de la gramínea utilizada para la fabricación de la bebida. Otra fuente de contaminación es la tierra de diatomeas, la cual es utilizada para eliminar levadura, lúpulo y otras partículas durante el proceso de filtración.^{10,12}

El Grupo Científico de Contaminantes de la Cadena Alimentaria (CONTAM) de la EFSA (2009) establece la ingesta semanal tolerable provisional (ISTP) de 15 mg kg⁻¹ de peso corporal. El As provoca síntomas gastrointestinales, graves alteraciones del sistema cardiovascular y sistema nervioso central, y eventualmente muerte. En los individuos supervivientes, puede observarse melanosis, hemólisis, encefalopatía, hepatomegalia, polineuropatía y depresión de la médula ósea.⁵⁸

5.11. Cobalto

El Co al igual que varios metales descritos con anterioridad puede migrar por corrosión desde el material de los equipos hasta la cerveza.³⁸

El Co es esencial para la formación de la vitamina B-12. La ingesta media de Co de los adultos es de 5-8 µg día⁻¹. Aún no se ha establecido una cantidad diaria recomendada (RDA) segura para el Co.⁵⁹

Concentraciones elevadas puede provocar efectos adversos como cardiomiopatía y problemas de visión o audición.⁶⁰

Sinopsis/perspectiva/punto de vista

De los métodos aplicados para la cuantificación de metales pesados en cerveza artesanal, existe un predominio de los espectroscópicos. Sin embargo, las técnicas electroquímicas aparecen como una alternativa versátil y económica con alta sensibilidad, para la determinación de Zn (II), Cd (II), Pb (II) y Cu (II), con posibilidad de aplicar su cobertura. ICP-MS es la más utilizada debido a que puede discriminar isótopos, además de sus límites de detección muy bajos (menores a 10^{-6} mg L⁻¹). Este método requiere de equipamiento muy caro y sofisticado, y su ventaja es que permite cuantificar un amplio número de metales como: Cr, Ni, Zn, Pb, Al, Fe, Cd, Cu, As y Mn.

En esta revisión se han abordado algunos métodos, sin embargo quedan muchos estudios por hacer en matriz de cerveza artesanal, algunos de ellos ya se han aplicado en alimentos, como el reportado por Guoning & Tieqiu, (1991)⁶¹, quien cuantificó simultáneas de Cu, Pb, Zn, Cd, Fe, Co, Ni y Mn en alimentos electroquímicamente.⁶¹

De acuerdo con esta revisión, es evidente que los metales pesados podrían aparecer en cualquier etapa de su elaboración, según la tabla 1, principalmente se han encontrado al Zn, Pb, Fe, Cu, y Cd, de los cuales, el Zn, Fe, y Cu están en mayores concentraciones, los cuales podrían considerarse potencialmente peligrosos para la salud, si su ingesta sobrepasa los niveles tolerables.

Igual que a nivel mundial, la cerveza artesanal representa una bebida en crecimiento en Ecuador, y a diferencia de la cerveza industrial puede atraer mayores riesgos de exposición en metales pesados, debido al poco control sanitario durante su

producción. Finalmente, los autores queremos remarcar que es una necesidad urgente estudiar a profundidad la calidad de la cerveza artesanal, para evitar futuras complicaciones en los consumidores, para ellos invocamos a utilizar tecnologías analíticas baratas y versátiles como son los diferentes métodos electroquímicos, en los casos que sean posible.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses que pudieren haber sesgado los resultados incluidos en el manuscrito.

Referencias

- (1) Ibáñez, P. Guía de la Cerveza en Chile 2013. Deloitte http://www.kirinholdings.co.jp/english/news/2014/0108_01.html (accessed Apr 15, 2020).
- (2) Calvillo, E. La Cerveza Artesanal, una experiencia multisensorial <https://www.mdpi.com/2218-1989/9/11/272/htm> (accessed Mar 20, 2020).
- (3) Cárdenas, H. A. R. Determinación de Parámetros Físicoquímicos para la Caracterización de Cerveza Tipo Lager Elaborada por Compañía Cervecera Kunstmann S.A., Universidad Austral de Chile, Valdivia Chile, 2003.
- (4) Murray, D. W.; O'Neill, M. A. Craft Beer: Penetrating a Niche Market. *Br. Food J.* 2012, 114 (7), 899–909. <https://doi.org/10.1108/00070701211241518>.
- (5) Jimenez, M. En Ecuador existe 70 cervecerías artesanales. El telégrafo <https://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/econo>

- mia/8/en-ecuador-existen-70-cervecerias-
artesanales (accessed Sep 19, 2020).
- (6) Jimenez, M. Salud y feliz Día de la Cerveza. El Telégrafo. <https://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/sociedad/6/cerveza-diainternacional-consumo-ecuador> (accessed Feb 4, 2020).
- (7) Pohl, P. Metals in Beer. In *Beer in Health and Disease Prevention*. Div. Anal. Chem. Fac. Chem. Wroclaw Univ. Technol. 2009, 349–358. <https://doi.org/doi.org/10.1016/B978-0-12-373891-2.00033-X>.
- (8) Concon, J. M. Heavy Metals in Food. In: *Food Toxicology, Part B: Contaminents and Additives*. N. Y. Dekker 2009, 3 (4), 1043–1045.
- (9) Londoño Franco, L. F.; Londoño Muñoz, P. T.; Muñoz Garcia, F. G. Los riesgos de los metales pesados en la salud humana. *Bioteología En El Sect. Agropecu. Agroindustrial* 2016, 14 (2), 145. [https://doi.org/10.18684/BSAA\(14\)145-153](https://doi.org/10.18684/BSAA(14)145-153).
- (10) Rodríguez Uzho, X. A. Contaminación por arsénico y cadmio en cervezas artesanales que se expiden en la ciudad de Guayaquil, Ecuador., Universidad de Guayaquil, Guayaquil, 2020.
- (11) Borja Vera, R. A. Determinación de Pb(II), Zn(II) en cervezas artesanales de Quito, mediante Voltametría de Redisolución Anódica, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, 2019.
- (12) Passaghe, P.; Bertoli, S.; Tubaro, F.; Buiatti, S. Monitoring of Some Selected Heavy Metals throughout the Brewing Process of Craft Beers by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Eur Food Res Technol* 2015, 17. <https://doi.org/10.1007/s00217-015-2445-7>.
- (13) Pires, L. N.; de S. Dias, F.; Teixeira, L. S. G. Assessing the Internal Standardization of the Direct Multi-Element Determination in Beer Samples through Microwave-Induced Plasma Optical Emission Spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 2019, 1090, 31–38. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.09.033>.
- (14) Zapata-Flores, E. D. J.; Gazcón-Orta, N. E.; Flores-Vélez, L. M. A Direct Method for the Determination of Lead in Beers by Differential Pulse Polarography-Anodic Stripping Voltammetry. *J Mater Env. Sci* 2016, 7 (12), 4.
- (15) Viñas, P.; Aguinaga, N.; López-García, I.; Hernández-Córdoba, M. Determination of Cadmium, Aluminium, and Copper in Beer and Products Used in Its Manufacture by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry. *J. AOAC Int.* 2002, 85 (3), 736–743. <https://doi.org/10.1093/jaoac/85.3.736>.
- (16) Soares, L. M. V.; Moraes, A. M. M. de. Lead and Cadmium Content of Brazilian Beers. *Ciênc. E Tecnol. Aliment.* 2003, 23 (2), 285–289. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612003000200031>.
- (17) Dobrin, S.; Soceanu, A.; Gheorghiu, C. B.; Tanase, M. Comparative Methods Applied for the Determination of Total Iron from Beer Samples. *Ovidius Univ. Ann. Chem.* 2010, 6.
- (18) Becerra Delgado, J. M. Determinación de metales en cervezas, Universidad del Azuay, Quito, 2014.
- (19) Sadeghi, N.; Jodakhanlou, M.; Oveisi, M. R.; Jannat, B.; Behzad, M.; Hajimahmoodi, M. Determination of Zinc and Copper Micronutrients and Lead and Cadmium Contaminants in Non-Alcoholic Malt Beverages by Anodic Stripping Voltammetry. *J Food Safe Hyg* 2017, 3 (3), 6.
- (20) Agra-Gutiérrez, C.; Harcastle, J. L.; Ball, J. C.; Compton, R. G. Anodic Stripping Voltammetry of Copper at Insonated Glassy Carbon-Based Electrodes: Application to the Determination of Copper in Beer. *The Analyst*

- 1999, 124 (7), 1053–1057.
<https://doi.org/10.1039/a902974e>.
- (21) Sancho, D.; Blanco, C. A.; Caballero, I.; Pascual, A. Free Iron in Pale, Dark and Alcohol-Free Commercial Lager Beers: Free Iron in Commercial Lager Beers. *J. Sci. Food Agric.* 2011, 91 (6), 1142–1147. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4298>.
- (22) Zambrzycka-Szelewa, E.; Nalewajko-Sieliwoniuk, E.; Zaremba, M.; Bajguz, A.; Godlewska-Żyłkiewicz, B. The Mineral Profile of Polish Beers by Fast Sequential Multielement HR CS FAAS Analysis and Its Correlation with Total Phenolic Content and Antioxidant Activity by Chemometric Methods. *Molecules* 2020, 25 (15), 3402. <https://doi.org/10.3390/molecules25153402>.
- (23) Reilly, C. Heavy Metal Contamination in Home-produced Beers and Spirits. *Ecol. Food Nutr.* 1973, 2 (1), 43–47. <https://doi.org/10.1080/03670244.1973.9990315>.
- (24) Concon, J. M. *Food Toxicology. Part A: Principles and Concepts; Part B: Contaminants and Additives.* Marcel Dekker Inc N. Y. Basel 1988, 1013. <https://doi.org/10.1002/food.19880321032>.
- (25) Robards, K.; Worsfold, P. Cadmium: Toxicology and Analysis. A Review. *The Analyst* 1991, 116 (6), 549. <https://doi.org/10.1039/an9911600549>.
- (26) Reilly, C. *Metal Contamination of Food; Applied Science Publishers: Cornell University, 1980.*
- (27) Gigliarelli, P. Noventa por ciento agua. *Revista MASH-Ciencia Cervecera* <https://www.revistamash.com/2017/detalle.php?id=406> (accessed May 14, 2020).
- (28) Hashimoto, N.; Kuroiwa, Y. Proposed Pathways for the Formation of Volatile Aldehydes during Storage of Bottled Beer. *Proc. Annu. Meet. - Am. Soc. Brew. Chem.* 1975, 33 (3), 104–111. <https://doi.org/10.1080/00960845.1975.12007147>.
- (29) Bamforth, C. W.; Parsons, R. New Procedures to Improve the Flavor Stability of Beer. *Res. Dep. Bass PLC 137 High Str. Burton--Trent Engl. DE14 1JZ* 1985, 43 (4), 197–202. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-43-0197>.
- (30) Schaich, K. M. Metals and Lipid Oxidation. *Contemporary Issues. Lipids* 1992, 27 (3), 209–218. <https://doi.org/10.1007/BF02536181>.
- (31) Zufall, C.; Tyrell, Th. The Influence of Heavy Metal Ions on Beer Flavour Stability. *J. Inst. Brew.* 2008, 114 (2), 134–142. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2008.tb00318.x>.
- (32) Mena, C.; Cabrera, C.; Lorenzo, M. L.; López, M. C. Cadmium Levels in Wine, Beer and Other Alcoholic Beverages: Possible Sources of Contamination. *Sci. Total Environ.* 1996, 181 (3), 201–208. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(95\)05010-8](https://doi.org/10.1016/0048-9697(95)05010-8).
- (33) Hotz, C.; Lowe, N. M.; Araya, M.; Brown, K. H. Assessment of the Trace Element Status of Individuals and Populations: The Example of Zinc and Copper. *J. Nutr.* 2003, 133 (5), 1563S–1568S. <https://doi.org/10.1093/jn/133.5.1563S>.
- (34) Rubio, C.; Gutiérrez, A. J.; Martín Izquierdo, R. E.; Lozano, G.; Hardisson, A. El Plomo Como Contaminante Alimentario. *Rev. Toxicol. Asoc. Esp. Toxicol. Pamplona Esp.* 2004, 21 (2–3), 72–80.
- (35) Rodríguez Rey, A. R.; Cuellar Luna, L.; Maldonado Cantillo, G.; Suardiaz Espinosa, M. E. Efectos nocivos del plomo para la salud del

- hombre. *Rev. Cuba. Investig. Bioméd.* 2016, 35 (3), 251–271.
- (36) Ramírez, A. V. El cuadro clínico de la intoxicación ocupacional por plomo. *An. Fac. Med.* 2013, 66 (1), 57. <https://doi.org/10.15381/anales.v66i1.1352>.
- (37) García-Lestón, J.; Méndez, J.; Pásaro, E.; Laffon, B. Genotoxic Effects of Lead: An Updated Review. *Environ. Int.* 2010, 36 (6), 623–636. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2010.04.011>.
- (38) Pohl, P. Determination and Fractionation of Metals in Beer: A Review. *Food Addit. Contam. Part A* 2008, 25 (6), 693–703. <https://doi.org/10.1080/02652030701772323>.
- (39) Taboda Lugo, N. El zinc y el cobre: micronutrientes esenciales para la salud humana. *Acta Médica Cent. Cent. Prov. Genética Médica St. Clara Villa Clara Cuba* 2017, 11 (2), 11.
- (40) Dozier, M. C.; McFarland, M. L.; Lesikar, B. J. Problemas Del Agua Potable: El Cobre. *Coop. Tex. Extensión El Sist. Univ. Tex. M* 2006, 1–3.
- (41) Tirado Amador, L. R.; González Martínez, F. D.; Martínez Hernández, L. J.; Wilches Vergara, L. A.; Celedón Suárez, J. N. Niveles de metales pesados en muestras biológicas y su importancia en salud. *Rev. Nac. Odontol.* 2015, 11 (21). <https://doi.org/10.16925/od.v11i21.895>.
- (42) International Cadmium Association. Cadmium Exposure and Human Health. *Cadmium Intake From Foods. Int. Cadmium Assoc.* 2016.
- (43) Toxqui, L.; De Piero, A.; Courtois, V.; Bastida, S.; Sánchez-Muniz, F. J.; Vaquero, M. P. Deficiencia y sobrecarga de hierro. Implicaciones en el estado oxidativo y la salud cardiovascular. *Nutr. Hosp.* 2010, No. 3. <https://doi.org/10.3305/nh.2010.25.3.4583>.
- (44) Cervecera, P.; Clapé, J.; Rigolfas, R. *Alimentación y Dietoterapia*, cuarta edición.; Interamericana Mc Graw-Hill: Madrid, 2004; Vol. 2.
- (45) Mansour, S. A. Heavy Metals of Special Concern to Human Health and Environment. In *Practical Food Safety*; Bhat, R., Gómez-López, V. M., Eds.; John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, UK, 2014; pp 213–233. <https://doi.org/10.1002/9781118474563.ch12>.
- (46) EFSA. European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for Chromium. *EFSA J.* 2014, 25.
- (47) Castells-Garralda, V.; Tascón, E. V.; Bosch-Collet, J.; Gómez-Catalán, J.; Llobet-Mallafre, J.; Perelló-Berenguer, G.; Nadal Lomas, M. Elementos Traza En Los Alimentos. Estudio de Dieta Total En Cataluña. *Esp. General. Cataluña Dep. Salud* 2015.
- (48) Farri, R.; Gimino, M. J.; Lagarda, M. J. THE OCCURRENCE OF CHROMIUM IN RAW MATERIALS AND ITS FATE IN THE BREWING PROCESS. *J. Inst. Brew.* 1987, 93 (5), 394–395. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1987.tb04524.x>.
- (49) Cuberos, E.; Rodríguez, A. I.; Prieto, E. Niveles de Cromo y Alteraciones de Salud en una Población Expuesta a las Actividades de Curtiembres en Bogotá, Colombia. *Rev. Salud Pública* 2009, 11 (2), 278–289. <https://doi.org/10.1590/S0124-00642009000200012>.
- (50) EFSA. European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for Manganese. *EFSA J.* 2013, 44.
- (51) Vela, M. M.; Toma, R. B.; Reiboldt, W.; Pierri, A. Detection of Aluminum Residue in Fresh and Stored Canned Beer. *Food Chem.* 1998, 63

- (2), 235–239. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(97\)00236-7](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(97)00236-7).
- (52) EFSA. European Food Safety Authority. Safety of Aluminium from Dietary Intake, Scientific Opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Food Contact Materials (AFC). *EFSA J.* 2008, 1–34.
- (53) Parkinson, I. S.; Ward, M. K.; Kerr, D. N. Dialysis Encephalopathy, Bone Disease and Anaemia: The Aluminum Intoxication Syndrome during Regular Haemodialysis. *J. Clin. Pathol.* 1981, 34 (11), 1285–1294. <https://doi.org/10.1136/jcp.34.11.1285>.
- (54) Porter, J. R.; Bamforth, C. W. Manganese in Brewing Raw Materials, Disposition During the Brewing Process, and Impact on the Flavor Instability of Beer. 4.
- (55) Yoon, S.; Han, S. S.; Rana, S. V. S. Molecular Markers of Heavy Metal Toxicity – A New Paradigm for Health Risk Assessment. 2008, 14.
- (56) Subdirección General de Promoción de la Seguridad Alimentaria. Niquel. Ministerio de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad. AECOSAN 2018, 1–3.
- (57) Das, K. K.; Das, S. N.; Dhundasi, S. A. Nickel, Its Adverse Health Effects & Oxidative Stress. *OXIDATIVE STRESS* 15.
- (58) Järup, L. Hazards of Heavy Metal Contamination. *Br. Med. Bull.* 2003, 68 (1), 167–182. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldg032>.
- (59) University of Rochester Medical Center Rochester. Cobalt. Health Enciclopedia. Univ. Rochester Med. Cent. Rochester 2020.
- (60) Paustenbach, D. J.; Tvermoes, B. E.; Unice, K. M.; Finley, B. L.; Kerger, B. D. A Review of the Health Hazards Posed by Cobalt. *Crit. Rev. Toxicol.* 2013, 43 (4), 316–362. <https://doi.org/10.3109/10408444.2013.779633>.
- (61) Guoning, F.; Tieqiu, C. H. Simultaneous Determination of Copper, Lead, Zinc Cadmium, Iron, Cobalt, Nickel and Manganese in Food by Square Wave Voltammetry. *Chin. J. Anal. Chem.* 1991, 7 (20).

Aislamiento de *Salmonella spp.* en heces de fauna urbana en un parque recreativo de Quito

Prevalence of *Salmonella spp.* in canine and domestic pigeon feces in "La Carolina" park

Cangui Panchi S.^{1*}; Delgado Juca¹ K.; Terán Soto R.¹; Echeverría Llumipanta I.¹; Tapia Calvopiña I.¹

¹Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Químicas.
email: spcangui@uce.edu.ec*
email: kmdelgadoj@uce.edu.ec
email: riteran@uce.edu.ec
email: icecheverría@uce.edu.ec

Artículo original

Recibido: febrero 2021

Publicado: abril 2021

DOI: <https://doi.org/10.29166/quimica.v7i1.2921>

Resumen: La zoonosis es considerada un problema de salud pública a nivel mundial y una de las enfermedades con mayor incidencia es la salmonelosis ya que el microorganismo sobrevive a condiciones ambientales extremas y por su fácil transmisión mediante el contacto directo con animales y alimentos contaminados con materia fecal. Los reservorios zoonóticos más importantes son los perros (*Canis lupus familiaris*) y las palomas domésticas (*Columba livia*) por su cercana convivencia con el ser humano y porque excretan el patógeno hasta tres meses posteriores a la infección. El objetivo de la investigación fue determinar la prevalencia de *Salmonella spp.* en heces caninas y de paloma doméstica en el Parque "La Carolina". Se recolectaron 100 muestras de heces de cada animal anotando las características macroscópicas más relevantes seguido de un análisis microbiológico adecuado. Los resultados mostraron una prevalencia del 3% en heces caninas y 5% en heces de paloma doméstica. El análisis estadístico de las características macroscópicas como factor de riesgo en la determinación de *Salmonella spp.* no tiene una correlación significativa. Se concluye que la existencia del microorganismo en la materia fecal de ambos reservorios zoonóticos representa el primer paso para determinar un problema de salud pública. Por ello, posteriormente es necesario analizar que serovariedades fueron encontradas en este estudio y profundizar en que grado afectan la salud del ser humano, ya que este patógeno es eliminado y diseminado con facilidad.

Palabras clave: Zoonosis, *Salmonella spp.*, Heces, Perros, Palomas domésticas

Abstract: Zoonosis is considered a public health problem worldwide and one of the diseases with the highest incidence is salmonellosis because the micro-organism survives extreme environmental conditions and because of its easy transmission through direct contact with animals and food contaminated with faecal matter. The most important zoonotic reservoirs are dogs (*Canis lupus familiaris*) and domestic pigeons (*Columba livia*) because of their close cohabitation with humans

and because they excrete the pathogen up to three months after infection. The aim of the research was to determine the prevalence of *Salmonella spp.* in canine and domestic pigeon faeces in "La Carolina" Park. A total of 100 faecal samples were collected from each animal, noting the most relevant macroscopic characteristics followed by an appropriate microbiological analysis. The results showed a prevalence of 3% in canine faeces and 5% in domestic pigeon faeces. Statistical analysis of macroscopic characteristics as a risk factor in the determination of *Salmonella spp.* has no significant correlation. It is concluded that the existence of the microorganism in the fecal matter of both zoonotic reservoirs represents the first step to determine a public health problem. Therefore, later it is necessary to analyze which serovars were found in this study and to delve into the degree to which they affect human health, since this pathogen is easily eliminated and spread.

Key Words: Zoonosis, *Salmonella spp.*, Feces, Dogs, Domestic pigeons

1. Introducción

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a las enfermedades zoonóticas como un grupo de infecciones transmitidas de animales a seres humanos debido su contacto directo e indirecto, a través de mordeduras, arañazos, saliva, caspa y especialmente por el contacto con sus excrementos (1). Las zoonosis se consideran un problema de salud a nivel mundial, ya que han provocado 600 millones de casos de enfermedades y 420 000 muertes en el año 2015 (2).

Según la Organización Panamericana de la Salud (OPS) de los 1 415 patógenos humanos conocidos en el mundo, 61% son zoonóticos (3). En Ecuador se ha registrado que el 80% de patologías infecciosas están relacionadas con el contacto cercano entre animales y humanos, principalmente con la materia fecal (4). La materia fecal animal puede transmitir virus, bacterias, hongos y protozoos (5). Dentro de las bacterias que han sido aisladas con mayor importancia en lugares públicos destaca *Salmonella* que es causante de la infección conocida como salmonelosis (6).

La sintomatología ocasionada por *Salmonella enteritidis* en los humanos cursa con fiebre, diarrea, vómitos, cólico abdominal, malestar general y escalofríos (7). Los dos principales modos de transmisión de *Salmonella spp.* según la OMS son el consumo de alimentos contaminados con materia fecal y el contacto directo con los animales (1).

Los parques y plazas de muchas ciudades tienen un alto tránsito de personas y muchas de ellas, se dedican a la venta y preparación de comida ambulante. Esto implica la presencia de animales cuyos desechos biológicos como las heces fecales podrían diseminarse y llegar a contaminar el suelo, agua y alimentos consumidos por la población. Las autoridades sanitarias constantemente buscan controlar la presencia de la fauna urbana en estos sitios, sin llegar a darse una solución efectiva (9)(10). Se ha calculado que alrededor de 5 566 a 6 350 perros que deambulan libremente en las calles de todo el Distrito Metropolitano de Quito (11) y se ha registrado que en el centro histórico de esta misma ciudad viven aproximadamente 2 000 palomas domésticas en constante movimiento (12).

Los perros y las palomas domésticas son muy cercanos al ser humano y constituyen los mayores reservorios de *Salmonella spp.*, además, este microorganismo puede sobrevivir durante un tiempo prolongado en las heces debido a que desarrolla ciertas capacidades bacterianas para soportar los cambios drásticos de pH, mantener una elevada adhesión a las células intestinales del humano o de otro animal, conservar una alta competencia para sobrevivir al antagonismo de la flora intestinal, penetrar en los tejidos sin dificultad y producir toxinas (exotoxinas o endotoxinas) (8).

Los perros pueden transportar este patógeno de forma asintomática o sintomática, pero con desprendimiento intermitente, incluso algunos serovares de *Salmonella spp.* pueden adaptarse genómicamente para sobrevivir en esta especie hospedadora (11). Por otro lado, la paloma doméstica es potencialmente zoonótica, ya que su materia fecal se dispersa con mucha facilidad en el ambiente contaminando alimentos y agua (5).

El objetivo de esta investigación fue determinar la prevalencia de *Salmonella spp.* en heces caninas y de paloma doméstica recolectadas en el Parque “La Carolina” del Distrito Metropolitano de Quito, un sitio altamente concurrido de la ciudad, donde la venta y preparación de comida ha aumentado drásticamente debido a la migración y donde la presencia de perros y palomas es constante.

2. Parte experimental

2.1. Materiales y reactivos

Debe describirse la calidad, pureza, origen de los reactivos, materiales y equipos utilizados en la investigación. Como medios de cultivos se emplearon: Agua Peptonada Tamponada CONDA, Agua Peptonada Tamponada CONDA, Caldo Rappaport Vassiliadis CONDA, Agar XLD

DIFCO, Agar TSA HIMEDIA, Agar TSI HIMEDIA, Agar LIA CONDA, Agar Simmons Citrato DIFCO, Agar Urea MERCK, Agar MIO CONDA, Agar Fenilalanina Desaminasa CONDA y Caldo BHI CONDA.

2.2. Diseño y muestra

Debido a la falta de registros o bases de datos que indiquen una población exacta de perros y palomas domésticas existentes en el lugar del muestreo, este estudio no posee un marco muestral, por lo que para el cálculo del tamaño de muestra se utiliza la fórmula que considera a la población como infinita o desconocida:

$$n = \frac{Z^2 x p x q}{e^2}$$

Donde:

- n = tamaño de muestra
- Z = valor de estandarización que indica el nivel de confianza (constante 1,96 para el 95% de representatividad)
- e = límite error muestral (10% = 0,1)
- p = probabilidad a favor (0,5)
- q = probabilidad en contra (0,5)

$$n = \frac{(1,96)^2 x (0,5) x (0,5)}{(0,1)^2} = 96,04$$

Por lo tanto, se recolectaron 100 muestras de heces caninas y 100 de heces de palomas domésticas tanto frescas como secas. Las muestras secas se incluyeron en el estudio para conocer si a pesar de la influencia de las condiciones ambientales y de la microbiota del entorno aún era posible aislar *Salmonella* y también porque la materia fecal en estas condiciones tiene mayor facilidad de dispersarse en el ambiente y contaminar distintas áreas entre las que se puede considerar los lugares

donde se expenden alimentos, lo que podría sugerir la evidencia de ser un potencial riesgo para la salud.

Las muestras fueron recolectadas en envases estériles y se mantuvieron entre 2 a 8°C previo a su procesamiento en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador. El período de muestreo fue los domingos desde el 29 de Julio hasta el 2 septiembre del año 2018. El parque se dividió en 7 zonas para la recolección de las muestras de heces: jardín botánico (9 muestras de heces de perro, 11 de paloma), pista atlética (13 muestras de heces de perros, 18 de paloma), juegos infantiles (30 muestras de heces de perro, 16 de paloma), zona canina (7 muestras de heces de perro, 1 de paloma), laguna “El Quinde” (10 muestras de heces de perros, 27 de paloma), pista de ciclismo (10 muestras de heces de perro, 9 de paloma) y canchas (21 muestras de heces de perros, 18 de paloma). Se registraron características como: tipo y consistencia de todas las muestras.

2.3. Detección de *Salmonella* en heces

Se siguió la metodología descrita en “Manual para la Vigilancia, Prevención y Control Sanitario de Agentes Zoonóticos y Zoonosis relacionada a la Paloma Doméstica” del Ministerio de Salud de Perú (13) y en el caso de los perros se aplicó el “Instructivo Técnico para la Detección de *Salmonella spp*” según la norma ISO 6579:2002 (14). Luego, se pesó 1 gramo de cada una de las muestras de heces de perros y de palomas, luego se colocó en un tubo contenía 9 ml de medio de pre-enriquecimiento Agua de Peptona Tamponada y se incubó a 37°C por aproximadamente 24h. A continuación, se tomó 1 mL del caldo y se subcultivó en Rappaport-Vassiliadis que se incubó

a 41.5°C por un período de entre 18 y 24h. Después se sembró en agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD) que se incubó por 24 a 48 h a 37°C. Las colonias sospechosas de *Salmonella spp.* (centros de color negro y colonias transparentes) se aislaron y criocongelaron para su posterior identificación.

2.4. Identificación de bacterias aisladas

Las bacterias fueron identificadas por pruebas bioquímicas como: LIA (desarboxilación de la lisina), TSI (fermentación y producción de sulfuro hidrógeno y gas), Simmon Citrato, MIO (descarboxilación de la ornitina para la producción de indol y movilidad bacteriana), Urea (enzima ureasa) y Fenilalanina descarboxilasa (desaminación de la fenilalanina) (13) (14).

2.5. Análisis de Datos

Para realizar el análisis estadístico, todos los datos fueron trasladados a una base de datos en Microsoft Office Excel 2016 y se transfirieron al programa informático Software SPSS versión 2.0, también se utilizó el programa bioinformático WinEpi Working in Epidemiology de la Universidad de Zaragoza de la Facultad de Veterinaria (www.winepi.net). Todos estos programas ayudaron al análisis descriptivo de los resultados para finalmente establecer la prevalencia de *Salmonella spp.* en las muestras de materia fecal canina y de paloma doméstica, haciendo uso de cálculos estadísticos como: porcentajes, frecuencias, rangos de prevalencia real, Chi2 de Pearson, Chi2 con corrección de Yates, test exacto de Fisher, Odds Ratios (OR) e intervalos de confianza.

3. Resultados

En la Tabla 1 se presentan las bacterias aisladas en la materia fecal de ambos agentes zoonóticos. Se

aisló en mayor porcentaje cepas de *Enterobacter aerogenes* (43% en heces de perros y 48% en palomas) seguido de *Escherichia coli* (35% en heces de perros y 40% en palomas) y con menor frecuencia otros agentes microbianos como *Proteus spp.* (12% en heces de perros y 1% en palomas), *Klebsiella pneumoniae* (6% en heces de perros y 4% en palomas), *Shigella spp.* (5% en heces de perros y palomas), *Serratia marcenses* (1% en perros) y *Salmonella spp.* (3% en heces de perros y 5% en palomas). El análisis estadístico realizado mediante el programa bioinformático indica que el rango de prevalencia real de *Salmonella* en heces de perros es de 0 – 6% y para las palomas es de 1 – 9%.

Tabla 1. Bacterias aisladas de las muestras de heces de perros y palomas

Bacterias	Perros (N=100)		Palomas (N=100)	
	MP (%)	IC 95%	MP (%)	IC 95%
<i>Salmonella spp.</i>	3	0,14 – 2,52	5	0,40 – 7,32
<i>Enterobacter aerogenes</i>	43	0,47 – 1,43	48	0,70 – 2,20
<i>Escherichia coli</i>	35	0,45 – 1,43	40	0,70 – 2,13
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	0,42 – 5,57	4	0,18 – 2,38
<i>Shigella spp.</i>	5	0,28 – 3,57	5	0,28 – 3,57
<i>Serratia marcenses</i>	1	-	0	-
<i>Proteus spp.</i>	12	1,72 – 15,93	1	0,01 – 0,58

MP: muestras positivas

El análisis estadístico comparativo entre los dos grupos investigados; es decir, perros y palomas

domésticas y la variable de prevalencia indican que el 5% encontrado en las heces de palomas domésticas tiene una estimación de riesgo OR = 1,70; por lo tanto, es 1,70 veces más probable que se encuentre *Salmonella spp.* en heces de paloma doméstica que en heces de perros, aunque estos resultados no son estadísticamente significativos por la mínima diferencia encontrada entre los reservorios zoonóticos, lo que sugiere que tanto las heces de perros como las de palomas pueden contener *Salmonella spp.*

Las muestras positivas para *Salmonella spp.* fueron aisladas en diferentes zonas del parque: canchas 4,8%, juegos infantiles 3,3% y pista atlética 7,7% en las heces caninas; juegos infantiles 6,3%, laguna “El Quinde” 7,4%, pista atlética 5,6% y pista de ciclismo 11,1% en las heces de paloma doméstica.

El análisis estadístico de las características macroscópicas se realizó para evaluar los posibles factores de riesgo existentes en las muestras de heces que puedan indicar que los perros o las palomas domésticas tengan salmonelosis. Según el tipo de muestra, en la materia fecal canina seca se cuantificó una prevalencia de 2/53 (3,77%) con un OR = 2,13 (IC 95% = 0,19 – 24,25), por otro lado, en las heces secas de paloma doméstica indicaron una prevalencia de 3/59 (5,08%) con un OR= 2,25 (IC 95% = 0,36 – 14,11). Asimismo, se registró la consistencia de la materia fecal canina que contenía *Salmonella spp.* que fue únicamente firme 3/62 (4,83%), mientras que en la materia fecal de la paloma doméstica se aisló esta bacteria con mayor frecuencia en heces blandas 2/26 (7,69%) con un OR = 1,97 (IC 95% = 0,31 – 12,52). Los resultados obtenidos no son estadísticamente significativos, por lo que no se puede establecer una relación entre las características

macroscópicas y la presencia de *Salmonella spp.* en las heces de perros y palomas domésticas.

4. Discusiones y conclusiones

La prevalencia de *Salmonella* en la materia fecal de los perros en nuestro estudio fue del 3% y en palomas del 5%. Otros estudios reportan porcentajes mayores en heces de perros, como el de Amadi et al., donde analizaron 144 muestras de heces no diarreicas de perros callejeros y aislaron el 5,6% en seis parroquias de la isla de Granada entre los meses de agosto y octubre del 2016 (15). El aislamiento del 5% en la materia fecal de paloma doméstica (*Columbia livia*) concuerda con el estudio realizado en Sorocaba, Brasil en el período de noviembre 2014 a marzo 2015, donde se reportó una prevalencia del 4,23% de un total de 118 muestras (18). Resultados similares se obtuvieron en el estudio de Gong et al., donde se describe una prevalencia similar de positividad igual a 4,1% (19). Por otro lado, en una investigación realizada en Egipto se reportó una prevalencia más alta del 13,3% (6/45) durante un período de 12 meses entre 2010 – 2011, con el análisis de hisopos rectales de muestras frescas (20). Los hallazgos en este último estudio pueden atribuirse a la diferencia en la recolección de la muestra, obteniendo un mejor resultado en el hisopo rectal que en las muestras de heces.

Por otro lado, en una investigación en la ciudad de Bari (Italia) entre el 15 de abril y 15 noviembre del 2010, donde se examinaron un total de 152 muestras fecales caninas y 66 muestras fecales de paloma doméstica no se logró aislar *Salmonella*, esto puede deberse al mayor control sanitario que existe en los países del primer mundo a diferencia de Latinoamérica (21).

Otro estudio realizado en Ecuador reportó una prevalencia mayor (12,5%) al muestrear heces de perros en Yaruquí-Quito (16). En Nigeria, una investigación reportó una prevalencia del 43,7% de *Salmonella spp.* al analizar heces de perros callejeros (17). La diferencia entre las prevalencias de cada estudio se debe principalmente a la influencia de factores como: modo de muestreo, cantidad de muestras, métodos de aislamiento e identificación del microorganismo y el lugar de la toma de muestra.

El aislamiento de diferentes bacterias en una misma muestra suele ser muy común y se conoce como coinfección, que se evidenció en esta investigación. Duijvestijn et al, reportaron también uno o más agentes patógenos en el 86,5% de cachorros diarreicos y 77,8% de cachorros asintomáticos, los animales estuvieron infectados con uno, dos, tres y hasta cuatro patógenos, 29,2%, 27,1%, 16,7% y 10,4% respectivamente. Entre estos se reportó *Salmonella spp.*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*, *Escherichia coli -hemolítica*, *Campylobacter spp.*, virus y parásitos (22). En otro estudio donde se analizaron muestras de materia fecal de paloma doméstica de una ciudad de Costa Rica se reportaron coinfecciones ya que se logró aislar *Salmonella entérica* (24,1%), *Chlamydophila psittaci* (9,2%), *Escherichia coli enteropatógena* (6,4%) y *Campylobacter jejuni* (1,4%) (23).

En cuanto a las características macroscópicas, otros estudios también recalcan la importancia de determinar el tipo de muestra, como en la investigación de Cinquepalmi et al., donde analizaron 418 muestras fecales de perros (44% muestras frescas y 56% muestras envejecidas) aunque finalmente, no se logra aislar el patógeno

(24). Por otro lado, en el caso de las palomas, existe un estudio realizado en Brasil reportan una prevalencia total de 7,94% de 126 muestras fecales frescas y secas (25). Por lo tanto, ambos tipos de muestras son de alto riesgo de contaminación para los humanos en especial para personas inmunodeprimidas, ancianos, niños y mujeres embarazadas, debido a la larga supervivencia del patógeno en la materia fecal de los dos reservorios zoonóticos y en especial en el caso de las palomas que puede existir mayor diseminación de las heces por su vuelo migratorio. Finalmente, con respecto a la consistencia de las heces, el estudio de Westermarck et al., recalca la importancia de su determinación donde se afirma que los perros sanos tienen una prevalencia de 0 a 2%, mientras que en los perros diarreicos puede llegar al 30% en el caso que sean alimentados con una dieta inapropiada de carnes crudas y existan otros factores insalubres (26). Por lo que, podría ser importante reportar la consistencia de la materia fecal, aunque también se conoce que la presencia de diarrea no es un signo clínico que indique que los animales padecen de enteritis causada por *Salmonella spp.* porque pueden ser portadores asintomáticos (19).

Entre las limitaciones de este estudio debemos considerar que en los resultados obtenidos no se determina el género, edad, alimentación y otras características que pueden influir en la microbiota de las heces de los animales analizados. Además, el uso de procesos automatizados y la inclusión de análisis por biología molecular pueden ayudar a identificar los serotipos de *Salmonella* circulantes y así establecer su verdadero potencial para causar enfermedades en humanos. Por otro lado, entre las fortalezas de este estudio está la contribución estadística y la determinación sobre el posible

papel de las heces de perros y palomas como fómites para la diseminación de bacterias patógenas como *Salmonella spp.* Otra fortaleza es que en este estudio se analiza materia fecal de las dos especies zoonóticas de mayor presencia en parques y plazas de las ciudades, lo que implica un mayor contacto con la población que asiste a estos sitios.

En conclusión, los datos de prevalencia de *Salmonella* reportados en este estudio indican la existencia del microorganismo en la materia fecal de ambos reservorios zoonóticos y representan el primer paso para determinar un problema de salud pública. Por ello, es necesario que posteriormente se analicen que serovariedades fueron encontradas en este estudio para determinar el grado con el que afectan la salud del ser humano. Las muestras fecales de paloma doméstica tienen una prevalencia mayor que la de perros, lo que es alarmante porque son animales que recorren grandes distancias por su capacidad de volar, por lo que el microorganismo puede llegar a distribuirse más fácilmente. Es mandatorio establecer medidas de control y regulación de estos animales en los lugares recreativos y muy transitados para evitar la adquisición de salmonelosis y otras enfermedades zoonóticas.

Conflicto de intereses

Los autores declaran de manera explícita, no tener conflictos de intereses que pudieran haber sesgado los resultados incluidos en el manuscrito.

Agradecimientos y patrocinio

Agradecemos a la Universidad Central del Ecuador, a la Facultad de Ciencias Químicas y a su Área de Microbiología.

Referencias

1. Organización Mundial de la Salud. Salmonella (no tifoidea) [Internet]. 2018 [cited 2019 Apr 27]. Available from: [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))
2. Organización Mundial de la Salud. Zoonosis y medio ambiente [Internet]. World Health Organization; 2015 [cited 2019 Apr 26]. Available from: https://www.who.int/foodsafety/areas_work/zoonose/es/
3. Organización Panamericana de la Salud. Mortalidad en la región de las Américas [Internet]. 2017 [cited 2019 Apr 27]. Available from: https://www.paho.org/salud-en-las-americas-2017/?post_t_es=mortalidad-en-la-region-de-las-americas&lang=es
4. Ministerio de Salud Pública del Ecuador. Programa de control de la zoonosis [Internet]. 2008 [cited 2019 Apr 27]. Available from: http://instituciones.msp.gob.ec/dps/losrios/index.php?option=com_content&view=article&id=37&Itemid=95
5. Gargiulo A, Russo T, Schettini R, Mallardo K, Calabria M, Menna L, et al. Occurrence of enteropathogenic bacteria in urban pigeons (*Columba livia*) in Italy. Vector-Borne Zoonotic Dis [Internet]. 2014;14(4):251–5. Available from: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/vbz.2011.0943>
6. Merck. Manual merck de veterinaria. Sexta. Kahn C, Line S, editors. Barcelona: Océano; 2007.
7. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. Microbiología médica [Internet]. Sexta. Barcelona: El Seiver; 2017 [cited 2019 Jul 15]. Available from: https://www.academia.edu/38755861/Microbiologia_médica._Murray_6ta_edición
8. Jawetz S, Melnick M, Adelberg A. Microbiología médica. 25a ed. León J de, editor. Mc Graw Hill; 2010.
9. Asociación Empresarial Española de la Industria de Sanidad y Nutrición Animal. La industria de sanidad animal protagonista de la lucha contra las zoonosis [Internet]. 2015 [cited 2019 Jul 16]. Available from: [http://www.veterindustria.com/key/noticias/la-industria-de-sanidad-animal-protagonista-de-la-lucha-contra-las-zoonosis_13564_4_13405_0_1_in.html#lightbox\[13564\]/0/](http://www.veterindustria.com/key/noticias/la-industria-de-sanidad-animal-protagonista-de-la-lucha-contra-las-zoonosis_13564_4_13405_0_1_in.html#lightbox[13564]/0/)
10. Servicio Nacional de Sanidad Animal. Recomendaciones de Senasa para prevenir enfermedades en zonas inundadas [Internet]. 2016 [cited 2019 Apr 27]. Available from: <https://www.agrositio.com.ar/noticia/180382-recomendaciones-senasa-para-prevenir-enfermedades-en-zonas-inundadas>
11. Barba E. Estimación poblacional de perros callejeros en 20 sectores censales del sur de Quito por medio de un muestreo censal con el método captura y recaptura. Univ las Américas. 2017;86.
12. Quiguango D. Determinación de la presencia de parásitos externos en palomas de Castilla (*Columba livia*) en la ciudad de Quito, tomando como referencia tres lugares pilotos “La Magdalena”, “Plaza de San Francisco” y “Cotocollao.” Univ Cent Ecuador Fac Med Vet y Zootec [Internet]. 2015;44. Available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/6967>
13. Ministerio de Salud del Perú. Manual para la vigilancia prevención y control sanitario de agentes zoonóticos y zoonosis relacionados a la paloma doméstica [Internet]. Perú; 2015 [cited 2019 Apr 27]. Available from: <http://www.digesa.minsa.gob.pe>

14. Ministerio de Agricultura de Chile. Instructivo técnico para la detección de *Salmonella* spp. según ISO 6579:2002 [Internet]. 2015 [cited 2020 Oct 15]. Available from: <http://www.sag.cl/sites/default/files/it-lab-26-v02.pdf>
15. Amadi VA, Hariharan H, Arya G, Matthew V, Nicholas R, Pinckney R, et al. Serovars and antimicrobial resistance of non-typhoidal *Salmonella* isolated from non-diarrhoeic dogs in Grenada, West Indies. *Vet Med Sci* [Internet]. 2018 Feb [cited 2019 Apr 28];4(1):26–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29468078>
16. Vasco K, Graham J, Trueba G. Detection of zoonotic Enteropathogens in children and domestic animals in a semirural community in Ecuador. *Applied and environmental microbiology* [Internet]. 2016 [cited 2019 Apr 28];82(14):4218–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27208122>
17. Jajere S, Onyilokwu S, Adamu N, Atsanda N, Saidu A, Adamu S, et al. Prevalence of *Salmonella* infection in dogs in Maiduguri, northeastern Nigeria. *Int J Microbiol* [Internet]. 2014 [cited 2019 Apr 28];2014:392548. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25404944>
18. Oliveira M, Camargo B, Cunha M, Saidenberg A, Teixeira R, Matajira C, et al. Free-ranging synanthropic birds (*Ardea alba* and *Columba livia* domestic) as carriers of *Salmonella* spp. and diarrheagenic *Escherichia coli* in the vicinity of an urban zoo. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 2017;18(1):65–9.
19. Gong J, Zhang J, Xu M, Zhu C, Yu Y, Liu X, et al. Prevalence and fimbrial genotype distribution of poultry *Salmonella* isolates in China (2006 to 2012). *Appl Environ Microbiol* [Internet]. 2014 Jan [cited 2019 Apr 28];80(2):687–93. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24242234>
20. Osman K, Mehrez M, Erfan A, Nayerah A. *Salmonella enterica* Isolated from Pigeon (*Columba livia*) in Egypt. *Foodborne Pathog Dis.* 2013;10(5):481–3.
21. Tarsitano E, Greco G, Decaro N, Nicassio F, Lucente M, Buonavoglia C, et al. Environmental monitoring and analysis of faecal contamination in an urban setting in the city of Bari (Apulia Region, Italy): health and hygiene implications. *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2010 [cited 2019 May 11];7(11):3972. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21139871>
22. Duijvestijn M, Mughini L, Schuurman N, Schijf W, Wagenaar J, Egberink H. Enteropathogen infections in canine puppies: occurrence, clinical relevance and risk factors. *Vet Microbiol* [Internet]. 2016 Nov 15 [cited 2019 Apr 28]; 195:115–22. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113516303492?via%3Dihub>
23. Torres A, Blanco K, Rodríguez C, Duarte F, Jiménez M, Esperón F. Zoonotic agents in feral pigeons (*Columba livia*) from Costa Rica: possible improvements to diminish contagion risks. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 2017;18(1):49–54.
24. Cinquepalmi V, Monno R, Fumarola L, Ventrella G, Calia C, Greco M, et al. Environmental contamination by dog's faeces: a public health problem? *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2012 Dec 24 [cited 2019 Apr 28];10(1):72–84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23263659>
25. Sousa E, Júnior A, Pinto A, Machado R, Carrasco A, Marciano J, et al. Prevalence of

Salmonella spp. antibodies to *Toxoplasma gondii*, and newcastle disease virus in feral pigeons (*Columba livia*) in the city of Jaboticabal, Brazil. *J Zoo Wildl Med.* 2010;41(4):603–7.

26. Westermarck E. Chronic diarrhea in dogs: what do we actually know about it? *Top Companion Anim Med* [Internet]. 2016;31(2):78–84. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.tcam.2016.03.00>

Reemplazo del colorante rojo 40 por antocianinas en mermeladas; influencia en el color y las propiedades reológicas.

Replacement of the red dye 40 with anthocyanins in jams; influence on color and
rheological properties.

Almachi Villalba D.^{*1}; Suárez Heredia M.²; Bonilla Valladares P.³; Díaz Basantes M.⁴

^{1,2,3}Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Químicas. Carrera de Química
email:dpalmachi@uce.edu.ec*
email:masuarez@uce.edu.ec
email:pmbonilla@uce.edu.ec

⁵Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Químicas. Carrera Química de Alimentos
email:mfdiaz@uce.edu.ec

Artículo original

Recibido: septiembre 2020

Publicado: abril 2021

DOI: <https://doi.org/10.29166/quimica.v7i1.2592>

Resumen: Se determinó el efecto sobre el color y las propiedades reológicas al reemplazar el colorante sintético rojo 40 por colorantes antocianínico y copigmentos en una formulación de mermelada. Se preparó una base de mermelada con una metodología y fórmula unitaria estandarizadas. Se añadió los colorantes variando su concentración entre 200 y 800 ppm; es decir; los factores de estudio fueron el tipo de colorante y su concentración y las variables respuesta fueron el color y el área de histéresis. Se determinó que el tipo de colorante utilizado no presentó significancia estadística sobre el color, debido a que la interacción del copigmento en una matriz con 46,75% de agua desfavorece el equilibrio de las fuerzas de interacción entre la antocianina y el ácido rosmarínico, que forman el copigmento. El efecto de interacción generado por la concentración y tipo de colorante tiene significancia estadística en el área de histéresis. Por lo tanto, la reología permitió determinar que la adición de los colorantes aumenta el área de histéresis; es decir, favorece la destrucción del sistema al ser sometido a esfuerzos. Sin embargo, los colorantes podrían ser aplicados a nivel industrial, ya que no se observaron lazos de histéresis que significarían la destrucción irreversible del producto

Palabras clave: área de histéresis, propiedades reológicas, colorante rojo 40, colorante antocianínico, copigmento

Abstract: The effect on color and rheological properties was determined by replacing red 40 synthetic dye with anthocyanin dye and copigments in a jam formulation. A jam base was prepared with a standardized methodology and unitary formula. The dyes were added varying their

concentration between 200 and 800 ppm; that is, the study factors were the type of dye and its concentration and the response variables the color and the area of hysteresis. It was established that the type of dye used did not have statistical significance on color, because the interaction of the copigment in a matrix with 46.75% of water discourages the equilibrium of the interaction forces between the anthocyanin and the rosmarinic acid that form the copigment. Otherwise, the interaction effect generated by the concentration and type of dye has statistical significance in the hysteresis area. Thus, The Rheology allowed to determine that the addition of dyes increases the hysteresis area; in the other words, it favors the destruction of the system when subjected to efforts. However, it could have industrial applicability, since were not observed hysteresis ties, that would mean the irreversible destruction of the product.

Key Words: zone of hysteresis, rheological properties, dye red 40, anthocyanin dye, copigments

1. Introducción

El color de los alimentos es uno de los parámetros más importantes para los consumidores al momento de elegir un producto; los seres humanos tienen la tendencia a elegir alimentos con colores vivos ya que lo relacionan con frescura y beneficios para su salud.¹

La industria alimentaria utiliza colorantes, que en su mayoría son de origen sintético, debido a su alto poder de tinción. El uso de colorantes sintéticos genera daños a la salud, como lo demuestra el estudio desarrollado en la ciudad de Southampton. La investigación se enfocó en niños entre los 3 y 9 años, definió el efecto del consumo de ciertas mezclas de benzoato de sodio con colorantes; entre ellos el rojo 40, representado en la figura 1. El estudio concluyó que las mezclas podrían exacerbar la hiperactividad en los niños hasta la niñez media; motivando a organismos reguladores de Europa la prohibición de su consumo o que en la etiqueta se incluya la leyenda “podría tener un efecto en la actividad y atención de los niños”.²

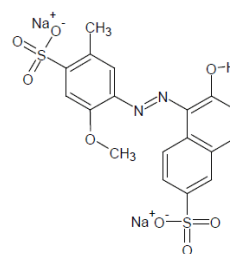


Figura 1 Estructura química de colorante sintético rojo 40.

Se ha demostrado que la microbiota intestinal metaboliza el 70% de los colorantes azo como el rojo 40; a través, de enzimas azoreductasas; en donde, los principales productos del metabolismo son compuestos químicos análogos al 1-naftol y aminas aromáticas tóxicas o mutagénicas.³ Por tanto, la industria alimenticia debe buscar nuevas alternativas; en donde, el uso de colorantes naturales debe cobrar relevancia, considerando los beneficios adicionales que éstos pueden aportar. Por ejemplo, la administración de una mezcla de bayas maduras de las variedades ‘Tifblue’ (*Vaccinium virgatum asheii* Aiton) y ‘Rubel’ (*Vaccinium corymbosum* L.) a adultos mayores con deterioro cognitivo leve; durante 16 semanas, mejora la memoria visual espacial.⁴ Además, existen estudios que demuestran que las

antocianinas representadas en la figura 2; tienen actividad anticancerígena positiva al atacar la inflamación, el estrés oxidativo y las vías de señalización apoptótica.⁵

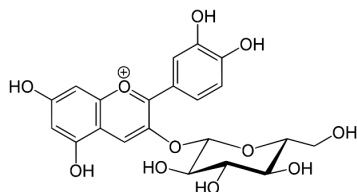


Figura 2 Estructura química de cianidina-3-O-glucósido.

Por lo tanto, la adición de antocianinas permite el desarrollo de alimentos funcionales; además, aumentan la vida útil y aceptabilidad de alimentos como; yogurt⁶, jarabes⁶ y caramelos duros,⁶ totillas de maíz.⁷ También se ha añadido antocianinas estabilizadas por copigmentación; a matrices alimenticias como; por ejemplo, néctares de fresa.⁸

Por otra parte, el tratamiento térmico empleado durante la elaboración de mermeladas provoca la pérdida de sustancias bioactivas, provocando cambios en su coloración; por ejemplo, la elaboración de mermeladas de fresa a 85°C disminuyó en 20,57% las antocianinas monoméricas totales en comparación con la fruta; además, el producto es más oscuro ya que disminuyó en 25.49% el parámetro L* con respecto a la fruta.⁹ Por lo tanto, la adición de antocianinas permite recuperar el color y las sustancias bioactivas perdidas en la manufactura de mermeladas.

El análisis sensorial es el método óptimo para determinar la calidad de los alimentos; sin embargo, se requiere mucho tiempo y dinero para formar y capacitar jueces expertos que solamente

son capaces de analizar de 6 a 8 muestras diarias debido a la fatiga del panelista.¹⁰ Por el contrario, la reología permite determinar cómo los alimentos fluyen o se deforman en función de parámetros medibles como viscosidad instantánea inicial, área de histéresis, módulo elástico, módulo viscoso, tixotropía y reopexia.¹¹

2. Parte experimental

2.1. Materiales y reactivos

Las materias primas para la formulación de la mermelada fueron grado alimenticio (USP): Pectina (Ceanpectin®), ácido cítrico anhidro, sorbato de potasio, benzoato de sodio, fructosa, rojo 40. Etanol al 96% grado técnico y hexano grado analítico. El estándar ácido rosmarínico al 96% (Sigma-Aldrich).

Con respecto a los equipos se utilizó una balanza analítica y de precisión con marcas Denver y Ohaus respectivamente. El Rotavapor marca J.P. Selecta, una tamizadora marca Gilson, fluidos supercríticos marca SCF GREEN TECHNOLOGY y estufas de convección forzada y natural marca Brinder; permitieron estandarizar la muestra de mortiño *Vaccinium floribundum* Kunt y extracción del colorante antocianínico. Los equipos que permitieron determinar las propiedades fisicoquímicas de las formulaciones de mermelada fueron: un potenciómetro marca Horiba, reómetro marca Malvern Instru, Calorímetro diferencial de barrido marca TA, espectrofotómetro marca Cary 50 y finalmente los refractómetros de 0-32° Brix y 50-80° Brix, marca BOECO.

2.2. Métodos

2.2.1 Estandarización de la muestra de mortiño.

Para la estandarización de la muestra de mortiño *Vaccinium floribundum* Kunt, que consiste en la selección, lavado, desinfección, secado, molienda

y desengrasado; se utilizó la metodología planteada en la investigación de Suárez & Narváez (2016)¹²; se hizo una modificación en cuanto al desengrasado que se realizó con CO₂ supercrítico en el equipo SCF GREEN TECHNOLOGY Speed SFE con los parámetros que se detallan en la tabla 1.

Tabla 1. Condiciones para el desengrasado con CO₂ supercrítico

Parámetro	Control de análisis
Fluido supercrítico CO ₂	350,6 bar y 40°C
Velocidad de entrada CO ₂	5L/min
Tanque de almacenamiento de la materia prima	42 °C
Vial de recepción del material apolar	89°C

2.2.2 Extracción de antocianinas.

La muestra de mortiño *Vaccinium floribundum* Kunt estandarizada; se sometió a percolación con etanol al 96% a 23 gotas por minuto. Concluida la percolación; al extracto etanólico de antocianinas se le realizó 3 extracciones líquido-líquido con 50 mL de hexano. Se concentraron los extractos en rotavapor J.P. Selecta RS 3000V; los residuos se secaron a 40°C ± 1°C en la estufa con aire circulante BINDER BF53 y se controló hasta peso constante en balanza analítica Denver Pt 214. Con este extracto se prepararon disoluciones de concentración de 10g/L y 5g/L de antocianinas.

2.2.3 Preparación de copigmentos.

Se prepararon en etanol al 96%. 5 mL de soluciones de 10g de antocianinas/L y 960 mg de ácido rosmarínico/L. Se mezclaron y la solución resultante se secó en una caja Petri prepesada hasta la evaporación total del etanol en una estufa con

aire circulante BINDER BF53 a 40°C ± 1°C. La evaporación total del etanol fue verificada por el peso constante.

2.2.4 Caracterización espectrofotométrica del extracto total de antocianinas y copigmentos

Se realizó un barrido en un rango entre 400-700nm de las soluciones etanólicas de 5g/L de antocianinas y copigmentos. Posteriormente se calculó el desplazamiento batocrómico e hiperocrómico.

2.2.5 Caracterización térmica del extracto total de antocianinas y copigmentos.

Se utilizó el calorímetro diferencial de barrido TA Instruments Q2000 para obtener termogramas de extractos secos de antocianinas y copigmentos. Se utilizaron cápsulas de aluminio Standar Pan TA T1G1122 y T1G1122. Se pesó en balanza Meter Toledo GWP® B451386191 de apreciación 0,001mg la cápsula de referencia; la cápsula vacía

y aproximadamente 0,8mg de la sustancia a analizar. El análisis se realizó en un intervalo de temperatura de 15 - 200°C a una velocidad de calentamiento de 10°C/min.

2.2.6 *Formulación de la mermelada y base de mermelada.*

Las fresas comerciales se lavaron con abundante agua potable, se cortaron los pedúnculos de las fresas y se licuaron para obtener la pulpa.

Se pesó en balanza analítica Denver Pt 214 los reactivos de la fórmula unitaria que se especifica en la tabla 2. Se trituroó en un mortero el sorbato de sodio y el benzoato de sodio (mezcla 1) y se molió en mortero el ácido cítrico.

Tabla 2. Fórmula unitaria de la mermelada.

INGREDIENTE	PORCENTAJE
Fructosa	28,0
Pulpa	70.9
Estabilizante para preparaciones de fruta	0,1
Ceanpectin ®	0,5
Sorbato de potasio	0,04
Benzoato de sodio	0,04
Ácido cítrico	0,42
TOTAL	100

En la figura 3 se observa el montaje del sistema para la preparación de la mermelada. Se colocó el agua, fructosa y la mezcla 1 en un vaso de precipitación de 250 mL. El sistema se sometió por 5 minutos a 300 rpm de agitación y la plancha de calentamiento a 50 °C. Manteniendo las mismas condiciones se añadió el ácido cítrico previamente molido. Se añadieron los gelificantes -Estabilizante para preparaciones de fruta- y - Ceanpectin® -se subió la agitación a 500 rpm durante 1 minuto y se sometió al sistema por 27 minutos a 300 rpm de velocidad de agitación con la plancha de calentamiento a 300°C.



Figura 3. Montaje del sistema para la preparación de mermelada

Se pesó la mermelada en una balanza de precisión Ohaus PA 1502 y se determinó el rendimiento del proceso; considerando la fórmula unitaria como el 100%. Al producto final también se midió el pH en el potenciómetro Horiba F12, los grados Brix (°Bx) en el refractómetro de 50-80 °Bx BOECO 224159CB y finalmente se determinó la humedad.

Para la preparación de la base de la mermelada, se consideró que la fresa posee 90% de agua¹³. Por lo tanto, se sustituyó la pulpa por 63,81% de agua tipo III; utilizando la metodología de la preparación de la mermelada mostrada en la tabla 2.

2.2.7 Adición de colorantes.

A la mermelada y la base de mermelada se añadieron los diferentes colorantes que se detalla en la tabla 3.

Tabla 3. Formulaciones con los respectivos colorantes

Codificación	Descripción
200BA	Base de mermelada con 200 ppm de extracto total de antocianinas
200BAC	Base de mermelada con 200 ppm de copigmento
200BR40	Base de mermelada con 200 ppm de colorante sintético rojo 40
800BA	Base de mermelada con 800 ppm de extracto total de antocianinas
800BAC	Base de mermelada con 800 ppm de copigmento
200MA	Mermelada de fresa con 200 ppm de extracto total de antocianinas
200MAC	Mermelada de fresa con 200 ppm de copigmento
200MR40	Mermelada de fresa con 200 ppm de colorante sintético rojo 40
800MA	Mermelada de fresa con 800 ppm de extracto total de antocianinas
800MAC	Mermelada de fresa con 800 ppm de copigmento
800MR40	Mermelada de fresa con 800 ppm de colorante sintético rojo 40

2.2.8 Estudio espectrofotométrico

Se pesó en balanza analítica Denver Pt 214 0,1g de 200MA y se maceró en metanol por 1 hora. El macerado se filtró en membrana con tamaño de poro de 0,22 μ m. Al filtrado se añadió 1,5mL de estándar de antocianinas a 25 mg/mL, se aforó a 10mL y se realizó un barrido en el rango del visible

(400-700nm) en el espectrofotómetro UV-Vis Cary 50 ELOG103519.

El mismo procedimiento se desarrolló para 800MA, 200MAC, 800MAC, con la adición de su respectivo estándar.

2.2.9 Evaluación de propiedades reológicas.

A la base de mermelada, y a las formulaciones 200BA, 200BAC, 800BA, 800BAC detalladas en la tabla 5, se les realizaron tres diferentes análisis

en el reómetro Bohlin 2004305 a un GAP de 2000 micra.

2.2.9.1 Barrido de amplitud.

Los parámetros de análisis se detallan en la tabla 4.

Tabla 4. Parámetros para el barrido de amplitud

Parámetro	Condición de análisis
Frecuencia (Hz)	0,1
Mínimo estrés aplicado (Pa)	0,2387
Máximo estrés aplicado (Pa)	50
Aplicación de esfuerzos	Logarítmico
Sentido	Ida y vuelta
Tiempo de espera para el descenso de esfuerzos (s)	2
Tiempo de integración (s)	10
Periodos	1
Número de puntos	20
Tiempo por punto (s)	12

Se graficó la curva G'' y G' en función de los esfuerzos.

2.2.9.2 Barridos de frecuencia simple oscilatoria.

Los parámetros de análisis que se detallan en la tabla 5.

Tabla 5. Parámetros para el barrido de frecuencia simple oscilatoria

Parámetro	Condición de análisis
Esfuerzo (Pa)	10
Mínima frecuencia (Hz)	0,1
Máxima frecuencia (Hz)	10
Aplicación frecuencias	Logarítmico
Sentido	Ida y vuelta
Tiempo de espera para el descenso de frecuencias (s)	2
Periodos	1
Número de puntos	100

Se graficó la curva G'' y G' en función de la frecuencia.

2.2.9.3 Viscosidad.

Los parámetros de análisis que se detallan en la tabla 6.

Tabla 6. Parámetros para la viscosidad

Parámetro	Condición de análisis
Mínimo estrés aplicado (Pa)	0,2387
Máximo estrés aplicado (Pa)	10
Aplicación de esfuerzos	Lineal con análisis de Tixotropía
Sentido	Ida y vuelta
Tiempo de análisis (s)	10
Periodos	1
Número de puntos	50
Velocidad máxima (rad/s)	10

Se graficó la curva de viscosidad instantánea (Π_i) en función de la velocidad de deformación (s^{-1}). Además, de la curva de flujo que es: Esfuerzo (Pa) en función de la velocidad de deformación (s^{-1}).

2.3. Diseño experimental

La tabla 7 detalla y codifica a los factores de estudio: Tipo de colorante (T_C) con dos niveles

(+1,-1) y la concentración de colorante (C_C) con dos niveles (+1,-1); por lo tanto, se obtiene un diseño factorial completo 2^2 a un intervalo del 95% de confianza y las variables respuesta fueron el área de histéresis (AH) y el color medio espectrofotométricamente

Tabla 7. Diseño experimental

Factor	Codificación	
	-	+
Tipo de colorante (T_C)	Extracto total de antocianinas	Copigmentos
Concentración (C)	200 ppm	800 ppm

2.4. Análisis estadístico

Para el diseño factorial completo se aleatorizaron las dos corridas experimentales en el programa

estadístico JMP©. Con los resultados de la primera réplica del diseño mediante Algoritmo de Yates se calculó para cada variable respuesta la magnitud y

signo de los efectos primarios y del efecto de interacción.

Para la determinación de la significancia estadística de los efectos se registraron los resultados de las dos réplicas de diseño. Para cada tratamiento se obtuvo la diferencia (d) y se calculó la variancia estimada de acuerdo con la ecuación 1.

$$S_i^2 = \frac{d^2}{2} \quad (1)$$

Cálculo de la variancia estimada para cada tratamiento.¹⁴

La raíz cuadrada de la variancia estimada para cada tratamiento corresponde a la desviación estándar de la respuesta S_{resp} que permitió calcular la desviación estándar de los efectos de acuerdo con la ecuación 2.

$$S_{efecto} = \frac{2S_{resp}}{\sqrt{\text{número de corridas efectivas}}} \quad (2)$$

Cálculo de S_{efecto} ¹⁴

Se consideró si el efecto es estadísticamente significativo; mediante el criterio que se muestra en la ecuación 3 en donde K proviene de la distribución t de Student a un intervalo del 95% de confianza. Procedimiento que permitió sugerir el uso de colorantes naturales en alimentos procesados.

$$|\text{efecto}| > k S_{efecto} \quad (3)$$

Criterio para la significancia estadística del efecto.¹⁴

3. Resultados y discusión

3.1. Extracción de la fase apolar

Las condiciones de extracción de la fase apolar con CO₂ supercrítico de una muestra estandarizada de

mortiño *Vaccinium floribundum* Kunt permitieron extraer 1,01% de la fase apolar; que representa el 93,52%, este cálculo se realizó en base al $1,00 \pm 0,8\%$ de fase apolar reportado en la investigación desarrollada por Suárez & Narváez (2016).¹² Es decir, no se pudo extraer la totalidad de la fase apolar; esto podría deberse a que el tanque de almacenamiento de la materia prima se mantuvo a 40 °C para conservar los compuestos sensibles al calor; debido a que, en la investigación realizada por Carlotta Campalani, se determinó que el desengrasado óptimo del orujo de frutas con CO₂ supercrítico es a una presión de 300 bar; un flujo de entrada del CO₂ de 5mL/min y una temperatura de almacenamiento de la materia prima de 70°C; pero, al disminuir la temperatura a 40°C, disminuye la eficiencia de extracción en un 35%¹⁵. Por lo tanto, se debe optimizar las condiciones para que mediante el uso de fluidos supercríticos se pueda extraer la totalidad de la fase apolar.

3.2. Extracción de antocianinas

Se determinó espectrofotométricamente que el extracto etanólico tiene un máximo de absorción de 538 nm que corresponde a la longitud de onda de absorción de las antocianinas.

Por otra parte; en la investigación de Catalina Vasco y colaboradores; se determinó por HPLC que el extracto de mortiño ecuatoriano *Vaccinium floribundum* Kunt contiene 345 mg cianidina-3-O-glucósido/100 g de muestra seca; además, proantocianidinas como (+) catequina y (-) epicatequina en una concentración de 10 ± 0.3 y 8 ± 4.1 mg/100 g de muestra seca respectivamente¹⁶.

3.3. Caracterización espectrofotométrica y calorimétrica del extracto total de antocianinas y copigmentos

El análisis espectrofotométrico de las soluciones etanólicas de 5mg/mL de extracto total de antocianinas y copigmentos representados en la tabla 8, indican que existe un porcentaje de desplazamiento batocrómico del 0,17% y un porcentaje de desplazamiento hipercrómico de 2,25%; es decir un aumento en la coloración

Adicionalmente, por calorimetría diferencial de barrido se demostró un desplazamiento de la

temperatura inicial de degradación de 26,68°C de los copigmentos con respecto a las antocianinas; este cambio importante podría deberse a las interacciones π - π intermoleculares entre las antocianinas y el copigmento (ácido rosmarínico)¹⁷. Este resultado podría estar relacionado con la investigación de Nattapong Kanha y colaboradores; que compararon la cinética de degradación térmica de las antocianinas y sus respectivos copigmentos; se determinó que la copigmentación tiene un efecto positivo con respecto a las antocianinas; ya que, sube el tiempo de vida media¹⁸

Tabla 8. Caracterización espectrofotométrica y calorimétrica del extracto total de antocianinas y copigmentos

Tipo de colorante	Espectrofotometría		Calorimetría diferencial de barrido
	Máximo de absorción (nm)	Absorbancia	Temperatura inicial de degradación (°C)
Extracto total de antocianinas	538	0,710	84,04
Copigmentos	538,9	0,726	110,72

3.4. Elaboración de la mermelada y base de mermelada

Es importante el orden de adición de las materias primas en el proceso de preparación de la mermelada y base de mermelada. La adición del ácido cítrico se hizo vez solubilizados el benzoato de sodio y el sorbato de potasio para asegurar la formación los ácidos sórbico y benzoico que tienen actividad antimicrobiana.¹⁹

La adición de los gelificantes –Ceanpectin®- y –Estabilizante para preparaciones de fruta- debe hacerse una vez desarrollado el procedimiento anterior para evitar que en el sistema exista una

competencia entre la precipitación y la gelificación.¹⁹

Otros aspectos considerados fueron el tiempo del tratamiento térmico y la velocidad de agitación. Un exceso del tratamiento térmico provocaría un daño irreversible al producto por la caramelización del azúcar. Por lo tanto, se incrementó la velocidad de agitación de 300 rpm a 500 rpm durante 1 minuto en la adición del -Ceampectin®- y el -Estabilizante para preparaciones de fruta- para evitar la formación de grumos en la solución y en la hélice del agitador.

La estandarización del procedimiento en la preparación de mermeladas es importante porque permite la reproducibilidad de los resultados de la investigación; además, en la industria permite la correcta determinación de los costos de la carga fabril.

3.5. Caracterización de la mermelada y base de mermelada

Las características fisicoquímicas que posee la mermelada y la base de mermelada se representan en la tabla 9 y se puede observar que se encuentran en un pH óptimo de acuerdo con el (CODEX STAN 296-2009, MOD) para las confituras, jaleas y mermeladas. Las mermeladas se encuentran en un pH bajo debido a que el ácido evita la formación de ácidos pectínicos, con lo cual disminuyen las partículas cargadas y aumenta la tendencia de las moléculas a asociarse.²⁰

Tabla 9. Propiedades fisicoquímicas de la mermelada y base de mermelada.

Parámetro	Base de mermelada	Mermelada
pH	3,219	3,322
° Brix	55	55
Humedad	46,75% ± 0,34%	48,22% ± 0,30%
Rendimiento	60,98% ± 2,22%	68,80% ± 3,19%

El rendimiento del proceso presentado en la tabla 9; corresponde a todas las etapas del proceso, excepto a la adición del colorante. Este valor permite calcular la cantidad de colorante adecuada para la formulación final y estimar los costos de producción a escala industrial.

Además, las formulaciones tradicionales son elaboradas con 50% de sacarosa y tienen 65°Brix; en cambio la mermelada desarrollada en esta investigación tiene como edulcorante fructosa en un 28% obteniéndose un producto con 10°Brix menos. Esta característica proporciona una ventaja comparativa a la formulación elaborada y aporta a disminuir el consumo de azúcares en un producto que mantiene sus características sensoriales.

La base de mermelada y la mermelada tienen 55°Brix, esto podría justificarse analizando que la

mermelada supera en un 7.82% el rendimiento del proceso con respecto a la base de mermelada, es decir, en la preparación de la base de mermelada, aumentó la evaporación del agua, provocando un aumento en la concentración de sólidos totales y un menor rendimiento; posiblemente este aumento de la evaporación del agua no ocurrió en la preparación de la mermelada, por los componentes de la fruta.

3.6. Estudio espectrofotométrico

Los copigmentos tienen un desplazamiento hipercrómico del 2,25% con respecto de las antocianinas; es decir, un aumento de coloración. Sin embargo, como se representa en la tabla 10, la adición de 800ppm de antocianinas a la mermelada aportan una absorbancia de 0.033; y los

copigmentos a la misma concentración; aportan una absorbancia de 0.034, es decir un desplazamiento hipercrómico del 3,03%. Por lo tanto, la adición de copigmentos a la mermelada aumenta el desplazamiento hipercrómico, esto podría estar relacionado con el pH 3.219 de la

mermelada; ya que, en la investigación de Nattapong Kanha se determinó que para los copigmentos de cianidina-3-O-glucósido con ácido ferúlico; el porcentaje de desplazamiento hipercrómico aumenta en 27,11%, al subir de un pH 3 a un pH 4¹⁸.

Tabla 10. Estudio espectrofotométrico de las formulaciones

Código	Absorbancia en pico a 538nm	Variación de absorbancia
MERMELADA CON ANTOCIANINAS		
Estándar	0,184	0,000
000MA	0,192	0,008
200MA	0,196	0,012
800MA	0,217	0,033
MERMELADAS CON COPIGMENTOS		
Estándar	0,217	0,000
000MAC	0,219	0,002
200MAC	0,231	0,014
800MAC	0,251	0,034

3.7. Estudio reológico

El estudio reológico se realizó con la base de mermelada sin la adición de colorantes. No se realizó el estudio reológico con la mermelada para evitar la introducción de variables que no se puedan controlar al añadir la fruta; ya que existen diferentes tipos de fresas. Estudios similares se desarrollan en la industria farmacéutica para evaluar la interacción de los excipientes con los principios activos de la formulación²¹

3.7.1 Barrido de amplitud

El barrido de amplitud de la base de mermelada representado en la figura 4 demuestra que en la base de mermelada no existe viscoelasticidad lineal porque no hay una tendencia constante del módulo

elástico y viscoso en función del esfuerzo.²² Por el contrario, se observa una caída drástica del módulo viscoso en el intervalo de 0 a 10 Pa, por lo tanto, este rango fue utilizado como intervalo de esfuerzos para los ensayos de viscosidad.

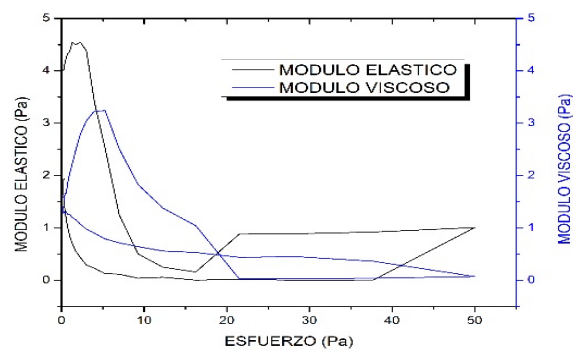


Figura 4. Barrido de amplitud de la base de mermelada

3.7.2 Barrido de frecuencia

En el barrido de frecuencias de la base de mermelada representado en la figura 5, se observa un aumento del módulo elástico a bajas frecuencias; es decir a largo plazo primará el módulo elástico sobre el viscoso en la base de mermelada.

Otro aspecto importante es que; la adición de los diferentes colorantes no modifica el barrido de amplitud y de frecuencias.

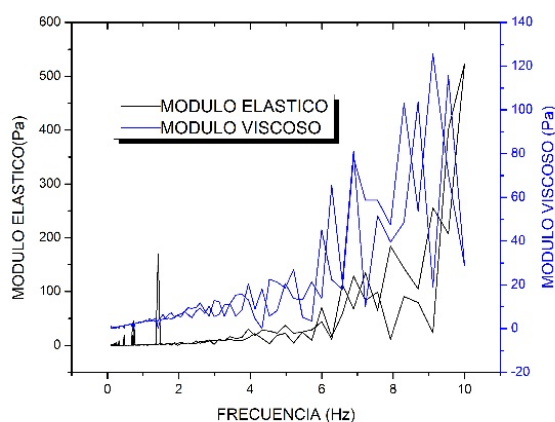


Figura 5. Barrido de frecuencias de la base de mermelada

3.7.3 Curvas de flujo

En las curvas de flujo de la base de mermelada con los diferentes colorantes a 200 ppm y 800 ppm representadas en la figura 6, se observa que la base de mermelada sin colorantes regresa al punto inicial del reograma; es decir, se reconstruye la estructura del sistema en la aplicación del descenso de los esfuerzos (10,094 s).

El fenómeno anterior puede deberse a que; la base de mermelada al ser sometida al ascenso de esfuerzos cortantes se va gradualmente rompiendo hasta que todas las partículas están dispersadas – sol–, dando una viscosidad mínima. En el descenso de los esfuerzos las partículas comienzan a formar racimos, flóculos delgados y nuevamente el gel.²³

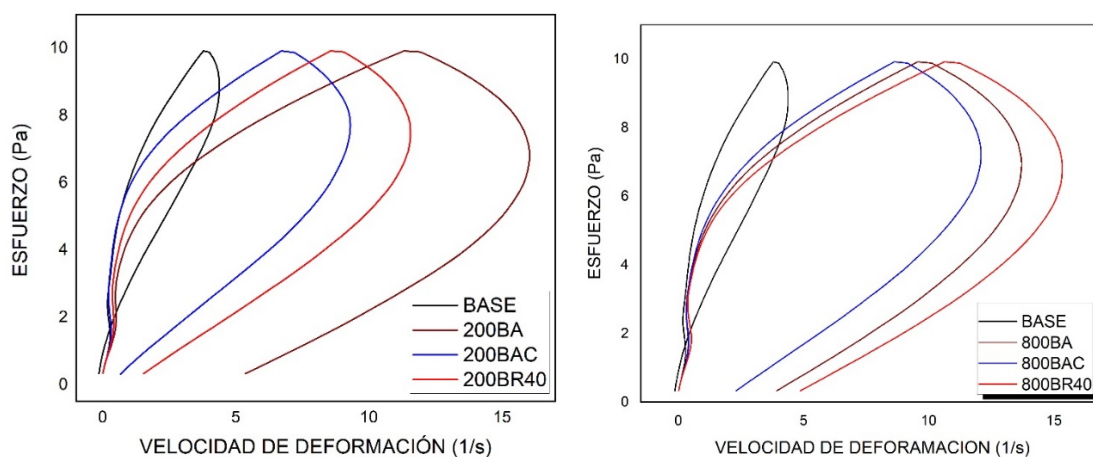


Figura 6. Curvas de flujo de la base de mermelada con los diferentes colorantes: a 200 ppm (izquierda), 800 ppm (derecha)

Por el contrario, las bases de mermelada con diferente concentración de colorantes no llegan al punto inicial del reograma; por lo tanto, necesitan más tiempo para reconstruir su estructura; sin embargo, no ocurrirán fenómenos de sedimentación y daños en el producto ya que en las curvas de flujo no se observan lazos de histéresis

que son indicativos de la destrucción irreversible.²³ El tiempo extra que necesitan las demás formulaciones para reconstruir su estructura en comparación con la base mermelada sin colorantes, se ve reflejado en las áreas de histéresis que se representan en la tabla 11, y son indicativos del grado de destrucción del sistema²³.

Tabla 11. Áreas de histéresis de las formulaciones

Tratamiento	Área de histéresis (Pa/s)
BASE	11,772
200BR40	59,986
200BA	94,504
200BAC	46,509
800BR40	91,315
800BA	80,342
800BAC	65,992

La formulación 200BA aumenta el área de histéresis en 82,732 Pa/s en comparación con la base de mermelada sin colorantes; esto podría deberse a que las antocianinas presentes en la base de mermelada provocan un cambio en la conformación de la pectina; es decir modifican su posición relativa y aumentan el grado de destrucción.²⁴ Por el contrario, la formulación 200BAC aumenta el área de histéresis en 34,737 Pa/s en comparación con la base de mermelada sin colorantes; es decir, las antocianinas favorecen el grado de destrucción con respecto a los copigmentos; esto podría deberse a que en los copigmentos las antocianinas forman enlaces de hidrógenos con el ácido rosmarínico; por lo tanto, ya no existe antocianina libre para provocar un cambio conformacional en la pectina.

Además, la formulación 800BR40 aumenta el área de histéresis en 79,543 Pa/s en comparación con la

base de mermelada; esto podría suceder debido a que, como afirma Fereyra Susana (2015);²⁰ la disminución de partículas cargadas en la mermelada aumenta la tendencia de las moléculas a asociarse. El rojo 40 representado en la figura 1; es una sal arildiazonio que aporta con cargas y disminuye la tendencia de las moléculas asociadas a formar el gel; por lo tanto; 800BR40 tiene un mayor grado de destrucción.

La formulación 800BAC aumenta el área de histéresis en 54,22 Pa/s en comparación con la base de mermelada sin colorantes; esto podría deberse a que el ácido rosmarínico presente en la base de mermelada, no ayuda a disminuir el grado de destrucción; de igual manera la formulación 200BAC aumenta el área de histéresis en 34,737 Pa/s en comparación con la base de mermelada.

Por lo tanto, la adición de antocianinas y copigmentos aumenta el área de histéresis; es decir

el grado de destrucción del sistema. Sin embargo, podrían ser aplicados a nivel industrial porque no se observan lazos de histéresis que son indicativos del grado de destrucción del sistema coloidal²³. De igual manera, en la investigación de Vernon-Carter; se determinó una disminución de la dureza de tortillas de maíz por la adición de antocianinas.⁷

3.7.4 Curvas de viscosidad

En la curva de viscosidad de la base de mermelada sin colorantes representada en la figura 8, se observa un descenso de la viscosidad instantánea

desde 24,13 Pas a 2,036 Pas cuando fluyen hasta una velocidad de desplazamiento de $4,377 \text{ s}^{-1}$, es decir corresponde a un fluido pseudoplástico. Esta propiedad es importante porque la mermelada podrá formar pequeñas películas al ser untada en el pan o en el producto que el consumidor desee.

Además, se observa un efecto reopéxico al aplicar el descenso de los esfuerzos que corresponde a un aumento de la viscosidad instantánea de 17,33 Pas a 306 Pas al descender los esfuerzos de 1,107 Pa a 0,9128 Pa respectivamente.

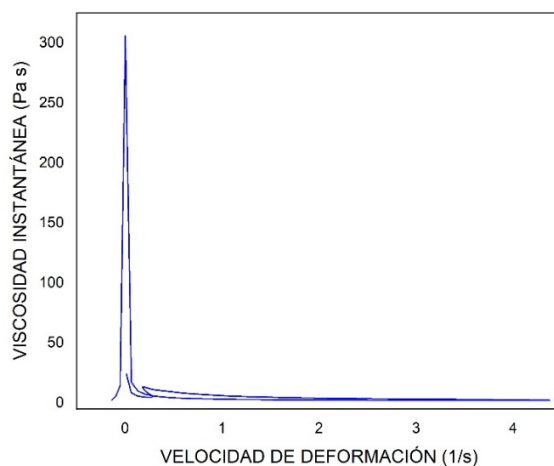


Figura 7. curva de viscosidad de la base de mermelada

Todos estos efectos, se comprenden mediante la teoría del entrecruzamiento de cadenas (Chain Entanglement), que explica el espesamiento de polímeros de alto peso molecular solubles en agua. Las cadenas son solvatadas por el agua formando enlaces de hidrógeno lo que les permite estirarse; el desorden así generado provoca un entrecruzamiento entre las cadenas atrapando componentes de la matriz.²⁵ En el caso de la base de mermelada este efecto podría deberse a que los gelificantes -Ceampectin®- y - Estabilizante para preparados de frutas- son polímeros de alto peso molecular y solubles en agua.

Por el contrario, como se observa en la figura 6, la adición de los colorantes en la base de mermelada a 200 ppm y 800 ppm baja el efecto reopéxico de la base de mermelada sin colorantes, esto podría justificarse asumiendo que la formación de enlaces de hidrógeno entre el agua y los polímeros disminuyen; debido a que los colorantes también forman enlaces de hidrógeno con los polímeros y/o las moléculas de agua. Por lo tanto, esta disminución representaría que las cadenas de polímero no se estiren y que no disminuya notablemente entrecruzamiento de estas.

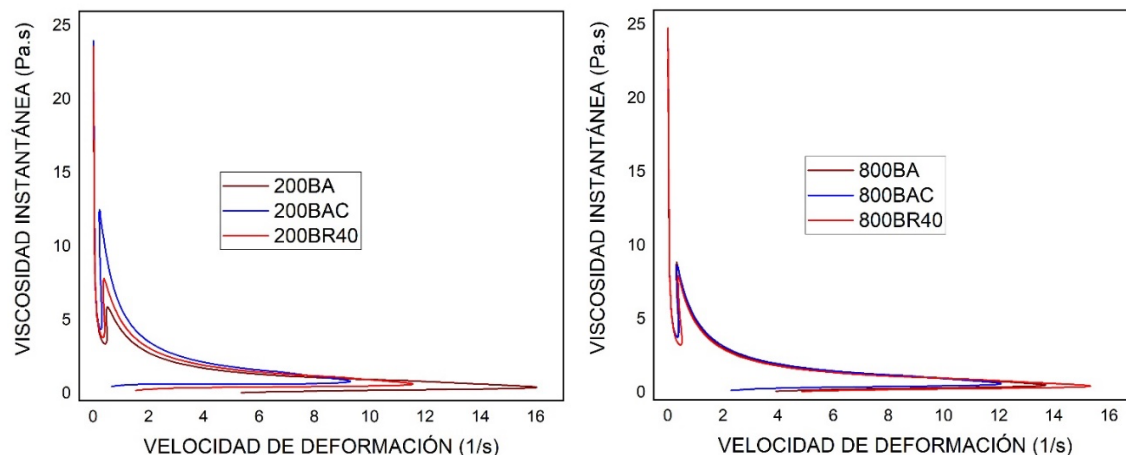


Figura 8. Curvas de viscosidad de la base de mermelada con los diferentes colorantes: a 200 ppm (izquierda), 800 ppm (derecha)

Las curvas de viscosidad permitieron determinar la viscosidad instantánea inicial; que es un parámetro indicativo de la presentación del producto.²⁵ El análisis de la tabla 12 muestra que en las bases de mermeladas con los tipos de colorantes a 200 ppm

y 800ppm, no hay variaciones en la viscosidad instantánea inicial. Por lo tanto, las mermeladas con los diferentes colorantes a dichas concentraciones almacenadas en los envases presentarán la misma viscosidad

Tabla 12. Parámetros reológicos de las formulaciones

Tratamiento	Velocidad de deslizamiento final (s ⁻¹)	Esfuerzo (Pa)	Viscosidad Instantánea Inicial (Pas)	Viscosidad Instantánea mínima (Pas)
200BR40	11,56	7,359	23,6	0,6365
200BA	16,04	6,744	22,22	0,4205
200BAC	9,3	7,734	23,98	0,8316
800BR40	15,33	6,939	24,78	0,4527
	15,33	6,744		0,4398
800BA	13,71	6,938	22,67	0,5062
800BAC	12,08	7,327	24,54	0,6067
	12,08	7,132		0,5902

Si la viscosidad instantánea de la mermelada es demasiado baja, se caerá de la rodaja de pan.²² Sin embargo; no se pudieron realizar comparaciones con datos teóricos ya que en la bibliografía consultada no existen valores de la viscosidad de mermeladas en la cual ocurra este fenómeno.

Tomando como referencia el análisis anterior y la tabla 12; se concluye que las mejores formulaciones son 200BAC y 800BAC ya que

tienen la mayor viscosidad instantánea mínima en comparación con las demás formulaciones.

3.8 Análisis estadístico del color

El diseño experimental para el color se desarrolló en la base de mermelada y la significancia estadística de los efectos representados en la tabla 13; fueron determinados por el método estadístico Algoritmo de Yates.

Tabla 13. Significancia estadística de los efectos para el área de histéresis

Tipo de efecto	Variables	Valor del efecto ± error estándar	Significancia estadística
Primarios	T _c	-0,0014± 0,0067	No Significativo
	C _c	0,0694± 0,0064	Significativo
Secundario	T _c . C _c	-0,0034± 0,0099	No Significativo

Tal como se esperaba la concentración del colorante tiene un efecto significativo en el color. Sin embargo, no existe significancia estadística entre los tipos de colorantes; por lo tanto, la adición de los copigmentos a la mermelada no generará una mayor coloración en comparación con las antocianinas. Esta determinación es importante ya que la producción de copigmentos implica el tratamiento de antocianinas con fenoles libres, lo que incrementa los costos del colorante; en consecuencia, el costo del producto final.

La ecuación 4 establece que la absorbancia –color-, únicamente depende de la concentración de colorante en la zona experimental analizada.

$$A=0.0879 - 0,0347C_c \quad (4)$$

Ecuación matemática que describe la absorbancia en función del efecto significativo

3.9. Análisis estadístico de las propiedades reológicas

En la tabla 14 se representa la significancia estadística de los efectos para el área de histéresis, determinado por el método estadístico Algoritmo de Yates.

Tabla 14. Significancia estadística de los efectos para el área de histéresis

Tipo de efecto	Variables	Valor del efecto ± error estándar	Significancia estadística
Primarios	T _c	-31,1725± 4,9362	Significativo
	C _c	2,6605± 6,6124	No Significativo
Secundario	T _c . C _c	16,8225± 3,5048	Significativo

Por lo tanto, el área de histéresis depende del tipo de colorante y de la interacción con la concentración de colorante en la zona experimental analizada, como se representa en la ecuación 5.

$$AH=71,8368-15,5863 T_c+8,4113T_c \cdot C_c \quad (5)$$

Ecuación matemática que describe el área de histéresis en función del efecto significativo

Cuando la interacción de los efectos es significativa, las conclusiones que se obtienen a partir de los efectos primarios no siempre son correctas. Por lo tanto, sólo se interpretan los efectos primarios de aquellos factores que no interactúan con ningún otro.²¹

En base análisis anterior y la tabla 14, se concluye que la interacción del tipo de colorante con la concentración tiene significancia estadística en el área de histéresis. Esto podría deberse a los cambios conformacionales, formación de enlaces de hidrógeno que se detallan en la sección 3.7. El enlace de hidrógeno es una atracción electrostática débil (20 kJ/mol o 4.7 kcal/mol), en comparación con el enlace covalente (400 kJ/mol o 95 kcal/mol); sin embargo, como todas las antocianinas y copigmentos tienen la capacidad de formar enlaces de hidrógeno, en conjunto representan una gran fuerza.²⁷

4. Conclusión

La adición del colorante sintético rojo 40, antocianinas y copigmentos, influyeron en las propiedades reológicas de una formulación base de mermelada; esto se ve reflejado en el aumento del área de histéresis, sin embargo, los colorantes estudiados podrían ser aplicados a nivel industrial, ya que no se observan lazos de histéresis que son indicativos de la destrucción irreversible del sistema al someterse a esfuerzos. Con respecto al color, la adición de copigmentos a la mermelada, aumenta el efecto hipercrómico; pero no es estadísticamente significativo con respecto al color que proporcionan las antocianinas sin copigmentar. De tal manera las antocianinas corresponden a un colorante natural efectivo para reemplazar el colorante rojo 40; es decir el desarrollo de alimentos funcionales.

Agradecimientos.

Al Ministerio de Ambiente del Ecuador, contrato marco de acceso a recursos genéticos MAE-DNB-CM-2017-0078

Referencias

1. Lee, S. M., Lee, K. T., Lee, S. H., & Song, J. K. (2013). Origin of human colour preference for food. *Journal of Food Engineering*, 119(3), 508–515.

- <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.06.021>
2. McCann, D., Barrett, A., Cooper, A., Crumpler, D., Dalen, L., Grimshaw, K., Kitchin, E., Lok, K., Porteous, L., Prince, E., Sonuga-Barke, E., Warner, J. O., & Stevenson, J. (2007). Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. *Lancet*, *370*(9598), 1560–1567. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61306-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61306-3)
 3. Chavez-Bravo, E., Alonso-Calderon, A. I. A., Sanchez-Calvario, L., Castaneda-Roldan, E., Vidal Robles, E., & Salazar-Robles, G. (2016). Characterization of the degradation products from the red dye 40 by enterobacteria. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, *10*(4), 2569–2575. <https://doi.org/10.22207/JPAM.10.4.12>
 4. Krikorian, R., Kalt, W., McDonald, J. E., Shidler, M. D., Summer, S. S., & Stein, A. L. (2020). Cognitive performance in relation to urinary anthocyanins and their flavonoid-based products following blueberry supplementation in older adults at risk for dementia. *Journal of Functional Foods*, *64*(July), 103667. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103667>
 5. Fakhri, S., Khodamorady, M., Naseri, M., Farzaei, M. H., & Khan, H. (2020). The ameliorating effects of anthocyanins on the cross-linked signaling pathways of cancer dysregulated metabolism. *Pharmacological Research*, 104895. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.104895>
 6. Swer, T. L., Chauhan, K., Mukhim, C., Bashir, K., & Kumar, A. (2019). Application of anthocyanins extracted from Sohiong (*Prunus nepalensis* L.) in food processing. *Lwt*, *114*(July), 108360. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108360>
 7. Vernon-Carter, E. J., Alvarez-Ramirez, J., Bello-Perez, L. A., Gonzalez, M., Reyes, I., & Alvarez-Poblano, L. (2020). Supplementing white maize masa with anthocyanins: Effects on masa rheology and on the in vitro digestibility and hardness of tortillas. *Journal of Cereal Science*, *91*(September 2019), 102883. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.102883>
 8. Ertan, K., Türkyılmaz, M., & Özkan, M. (2020). Color and stability of anthocyanins in strawberry nectars containing various co-pigment sources and sweeteners. *Food Chemistry*, *310*, 125856. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125856>
 9. Martinsen, B. K., Aaby, K., & Skrede, G. (2020). Effect of temperature on stability of anthocyanins, ascorbic acid and color in strawberry and raspberry jams. *Food Chemistry*, *316*, 126297. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126297>
 10. Joyner, H. S. (2018). Explaining food texture through rheology. *Current Opinion in Food Science*, *21*, 7–14. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.04.003>
 11. Upadhyay, R., & Chen, J. (2020). Rheology and tribology assessment of foods. In *Biopolymer-Based Formulations*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816897-4.00028-x>
 12. Suárez, M., & Narváez, G. (2016). *Copigmentación intermolecular de antocianinas glicosiladas*. Quito: editorial académica española.
 13. P. Alvarado and D. Espinoza. (2013).

- Estudio investigativo de la frutilla y su aplicacion en la gastronomía.*
14. Vega, R. (2016). Curso de diseño experimental y análisis estadístico. Quito, Escuela Politécnica Nacional.
 15. C. Campalani *et al.* (2020), “Supercritical CO₂ as a green solvent for the circular economy: Extraction of fatty acids from fruit pomace,” *J. CO₂ Util.*, vol. 41, no. July, p. 101259, doi: 10.1016/j.jcou.2020.101259.
 16. C. Vasco, K. Riihinen, J. Ruales, and A. Kamal-Eldin. (2009). “Chemical composition and phenolic compound profile of mortiño (*vaccinium floribundum* kunth),” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 57, no. 18, pp. 8274–8281, doi: 10.1021/jf9013586.
 17. Zhao, X., Ding, B. W., Qin, J. W., He, F., & Duan, C. Q. (2020). Intermolecular copigmentation between five common 3-O-monoglucosidic anthocyanins and three phenolics in red wine model solutions: The influence of substituent pattern of anthocyanin B ring. *Food Chemistry*, 326(17), 126960. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126960>
 18. Kanha, N., Surawang, S., Pitchakarn, P., Regenstein, J. M., & Laokuldilok, T. (2019). Copigmentation of cyanidin 3-O-glucoside with phenolics: Thermodynamic data and thermal stability. *Food Bioscience*, 30(November 2018), 100419. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100419>
 19. López, G. (21 de noviembre de 2017). Criterios para la formulación de productos alimenticios. (D. Almachi, Entrevistador) Quito, Pichincha, Ecuador.
 20. Fereyra, S. (2015). *Estudio de prefactibilidad. Producción de confituras con integración sociolaboral*. San Rael - Mendoza: Universidad Nacional del Cuyo.
 21. Ramírez, R. (2013). *Estudios de interacción fármaco-excipientes de antiinflamatorios no esteroideos formulados en matrices sol-gel por calorimetría diferencial de barrido*. México D.F: Universidad Nacional Autónoma de México.
 22. World of Rehology. (2017). Obtenido de Anton Pear GmbH.
 23. Remington, A. (2003). *Farmacia* (Vol. 20). Bueno Aires: PANAMERICANA.
 24. Sui, Xiaonan. Zhang, Yan. Jiang, Lianzhou. Zhou, W. (2018). Anthocyanins in foods. In *Anthocyanins in food* (Vol. 7, Issue 3). Elsevier. <https://doi.org/10.1080/10408397609527207>
 25. Maestro, A. (2002). *Reología de espesantes celulósicos para pinturas al agua*. Barcelona: Universidad de Barcelona.
 26. Gutiérrez, H., & Salazar, R. d. (2008). *Análisis y diseño de experimentos* (Segunda edición ed.). México D.F: McGRAW HILL/INTERAMERICANA.
 27. Badui, S. (2006). *Química de Alimentos* (Cuarta ed.). México D.F: Pearson.

Revisión sistemática de inmunopatogenia molecular y vacunas Covid-19 (SARS-COV-2)

Systematic review molecular immune pathogenesis and vaccine Covid-19 (SARS-COV-2)

Solís Sánchez M.¹

¹Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Químicas. Carrera de Bioquímica y Farmacia
email: misoliss@uce.edu.ec

Artículo de Revisión

Recibido: febrero 2021

Publicado: abril 2021

DOI: <https://doi.org/10.29166/quimica.v7i1.2914>

Resumen: Ante la pandemia mundial conocida como COVID-19, causada por SARS-COV-2, se han generado importantes cambios a nivel mundial, debido al alto índice de morbilidad. En enero del 2020, la OMS estableció lineamientos para frenar la propagación, y algunos laboratorios de investigación han emprendido la ardua labor de elucidar aspectos genéticos y moleculares de relevancia para encontrar blancos de acción. Entre las principales metodologías de diagnóstico se encuentra la PCR, donde se realiza el levantamiento de genes específicos del virus. En esta revisión se compila información respecto a aspectos inmunológicos y vacunas, cabe resaltar que aún hay mucho lo que estudiar del proceso post-vacunación y considerar las respectivas precauciones con la población vulnerable como es el caso de pacientes geriátricos, ya que en la actualidad no existen tratamientos seguros y eficaces, se espera resultados de estudios a largo plazo de las vacunas que han sido aprobadas por la Organización Mundial de la Salud, las que en su mayoría utilizan ácidos nucleicos de ARNm de la proteína de pico del virus.

Palabras clave: COVID-19, SARS-COV-2, Inmunología, Bases Moleculares, Vacuna

Abstract: Faced with the global pandemic known as COVID-19, caused by SARS-COV-2, important changes have been generated worldwide, due to the high morbidity rate. In January 2020, the WHO established guidelines to curb the spread, and some research laboratories have undertaken the arduous work of elucidating relevant genetic and molecular aspects to find targets for action. Among the main diagnostic methodologies is PCR, where virus-specific genes are raised. In this review, information regarding immunological aspects and vaccines is compiled, it should be noted that there is still much to study in the post-vaccination process and consider the respective precautions with the vulnerable population, such as geriatric patients, since there are currently no safe and effective treatments, results are expected from long-term studies of vaccines that have been

approved by the World Health Organization, which mostly use nucleic acids from mRNA of the virus spike protein.

Key Words: COVID-19, SARS-COV-2 Immunology, Molecular Basis, V

CONTENIDO

1. Introducción
 - 1.1.- Hipótesis
 - 1.2.- Objetivos
2. Antecedentes
 - 2.1. Etiopatogenia
3. Materiales y Métodos
4. Marco Teórico
 - 4.1. Bases Moleculares
 - 4.1.1. PCR
 - 4.1.2. Filogenética
 - 4.1.3. Morfología y estructura molecular
 - 4.1.4. Mutaciones
 - 4.2. Inmunología
 - 4.2.1. Respuesta inmunológica y vacunas SARS-COV-2
 - 4.2.2. Respuesta inmunitaria innata
 - 4.2.3. Respuesta inmunitaria humoral
 - 4.3. Vacunas contra el COVID-19
 - 4.3.1. Antecedentes de la vacuna COVID-19
 - 4.3.2. Tipos de vacuna
 - 4.3.3. Vacunas vivas atenuadas
 - 4.3.4. Vacunas inactivadas
 - 4.3.5. Vacunas de subunidades recombinantes, polisacáridos y combinados
 - 4.3.6. Vacunas con toxoides
 - 4.3.7. Vacunas denominadas de vector viral
 - 4.3.8. Panorama del desarrollo de vacunas COVID-19
 - 4.3.9. Vacuna propuesta por Sinovac Biotech
 - 4.3.10. Vacuna propuesta por moderna
 - 4.3.11. Vacuna propuesta por Pfizer (COMIRNATY)
 - 4.3.12. Vacuna propuesta por Can Sino Biologicals
 - 4.3.13. Vacuna propuesta por Inovio Pharmaceuticals
 - 4.3.14. Vacuna propuesta por Oxford Astra Zeneca
 - 4.3.15. Vacuna propuesta por Rusia
 - 4.3.16. Vacuna de suero equino
5. Resultados
 - 5.1.1. Resultados del proceso de selección de información
 - 5.1.2. Resumen vacunas
6. Discusiones
7. Conclusiones
8. Sesgo de investigación
9. Referencias

1. Introducción

Esta revisión es de carácter descriptivo, recopila información de los últimos 10 años, de diferentes bases de datos como: PubMed, BioCell, Scielo, Elsevier, Redalyc, MDPI (Instituto Multidisciplinario de Publicaciones Digitales), PLOS (Public Library of Science), JAFC (Journal

of Health Sciences). BJPS (Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences),) y Medicinal Chemistry Research, las publicaciones recopiladas fueron seleccionadas de acuerdo con la información proporcionada respecto al SARS-COV-2, responsable de la enfermedad COVID-19, inmunología y datos de biología molecular de relevancia, para identificar dianas terapéuticas. Los resultados obtenidos han permitido armar un documento que compila información fundamental base para el desarrollo de las vacunas, que han sido propuestas por algunos laboratorios, quienes actualmente terminan la fase tres de investigación clínica. Dada la premura en el requerimiento de vacunas como estrategia para el control de la pandemia COVID-19, algunos laboratorios tales como Pfizer, Moderna, Astra Zeneca ya cuentan con autorización de la Organización Mundial de la Salud para su comercialización. Esta revisión presenta un enfoque molecular e inmunológico del SARS-COV-2, también información respecto al desarrollo de vacunas. Esta revisión ayudará a comprender las tecnologías y etapas de investigación de algunos laboratorios que ya están produciendo la vacuna COVID-19.

1.1. Hipótesis

Los antecedentes inmunopatogénicos y moleculares del SARS-COV-2 (COVID-19), son la base para el diagnóstico, tratamiento y desarrollo de vacunas.

1.2. Objetivos

- Dilucidar a través de una revisión sistemática la Inmunopatogenia molecular del SARS-COV-2 (COVID-19)

- Conocer los principales antecedentes, tipos y características de las vacunas que han sido aprobadas por la OMS.

2. Antecedentes

Durante los últimos años se ha generado conmoción mundial debido a la pandemia COVID-19, según la información de la Organización Panamericana de la Salud: “Los coronavirus (CoV) son una gran familia de virus que causan enfermedades que van desde el resfriado común hasta enfermedades más graves. La epidemia de COVID-19 fue declarada por la OMS una emergencia de salud pública de preocupación internacional el 30 de enero de 2020. (1)

La pandemia por COVID-19 golpeó a todos los países de las Américas en 2020, infectando a más de 35 millones de personas y causando unas 850.000 muertes, a nivel mundial, la enfermedad causada por el virus SARS-CoV-2, afectó a 216 países y territorios, causando más de 80 millones de casos y 1,7 millones de fallecimientos. Las Américas fueron el continente más afectado, en el contexto de una región con grandes desigualdades (2). El sistema de Salud de Ecuador trabaja en coordinación con entidades internacionales actores fundamentales del Sistema de Salud en las Naciones Unidas, se trabaja en estrecha coordinación con la Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud (OPS-OMS), y la Oficina del Alto Comisionado para Asuntos Humanitarios (OCHA), el Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD), afín de establecer medidas sanitarias que eviten la proliferación del virus, estrategias terapéuticas y la gestión de vacunas, desde la adquisición hasta la

distribución y establecer los programas de vacunación. (3) (2)

La pandemia de COVID-19 es un claro recordatorio de que las enfermedades infecciosas no conocen fronteras. Todos los países son vulnerables, independientemente de los niveles de ingresos o de la solidez de sus sistemas de salud. En toda la Región de Europa, donde decenas de millones de personas han estado viviendo encerradas durante semanas y más de 100 000 personas han muerto, la velocidad y la devastación del nuevo coronavirus ha trastornado por completo las vidas. (3) Dijo la Sra. Afshan Khan, Directora Regional de UNICEF para Europa y Asia Central. “Es fundamental que los programas de inmunización de rutina continúen durante esta crisis, al mismo tiempo que se protege adecuadamente a los trabajadores de la salud y a las personas que reciben las vacunas, se debe dar prioridad a llegar a los niños más vulnerables”.(4)

Se debe prestar la debida atención a minimizar el riesgo excesivo de morbilidad y mortalidad por enfermedades prevenibles por vacunación (EPV) que se produciría si se interrumpieran los servicios de inmunización. Cualquier interrupción de los servicios de inmunización, incluso por períodos cortos, resultará en una acumulación de personas susceptibles y una mayor probabilidad de brotes de VPD. Dichos brotes pueden resultar en muertes relacionadas con VPD y una mayor carga sobre los sistemas de salud ya presionados por la respuesta al brote de COVID-19. (5) (6)

Además del SARS-CoV-2, existen más especies de coronavirus: NL63, 229E, OC43, HKU1, SARS-CoV y MERS-CoV y los más patogénicos para el ser humano son el SARS-CoV, que brotó en China

(2002 y 2003), y el MERS, que brotó en Arabia Saudita (2012). Con estas especies, el SARS-CoV-2 guarda una homología de genoma del 76-79% y 50%, respectivamente (7)

2.1. Etiopatogenia

Los coronavirus (CoV) son virus de ARN de cadena positiva envueltos en el orden de Nidovirales, los viriones tienen una apariencia de corona bajo el microscopio electrónico, razón por la cual los virus reciben su nombre de la palabra latina corona, que significa 'halo'. La mayoría de los coronavirus infectan a los animales (murciélagos, aves y mamíferos), que actúan como un reservorio del huésped intermedio. (8) (1)

Actualmente, se sabe que siete coronavirus infectan a los seres humanos, cuatro de ellos causan una enfermedad leve a moderada. El, HCoV-OC43, HCoV-HKU1 y HCoV-229E causan resfriados comunes e infecciones graves del tracto respiratorio inferior en los grupos de edad más jóvenes y mayores, mientras que HCoV-NL63 es una causa importante de (pseudo) crup y bronquiolitis en niños (8). SARS-CoV responsable del síndrome respiratorio agudo severo (SARS) en 2002, MERS-CoV el síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS) en 2012 y SARS-CoV-2, identificado con un grupo de casos de neumonía en Wuhan, China a fines de 2019. (5) (9)

Se trata de virus esféricos (de 100-160 nm de diámetro) y con envoltura, cuyo genoma está formado por una única cadena de ARN con polaridad positiva (+ssRNA, del inglés singlestranded positive-sense RNA) y de aproximadamente 30.000 pares de bases (entre 26 y 32 kilobases); presenta una capucha metilada en el extremo 5' y una cola poliadenilada (poli-A) en

el extremo 3' que le aporta un gran parecido al ARN mensajero del hospedador. En líneas generales, los coronavirus inician su replicación con la entrada de los viriones – forma infecciosa del virus– cuando pierden su envoltura y depositan su ARN viral en el citoplasma de la célula eucariota, donde el parecido con el ARNm del hospedador le permite adherirse directamente a los ribosomas para su traducción. Allí, se emplea como plantilla para traducirse directamente en la poliproteína 1a/1ab, en la cual están unidas todas las proteínas que formarán el complejo de replicación-transcripción en vesículas de doble membrana. A partir de dicho complejo, se sintetizan diversos ARN subgenómicos codificantes para los polipéptidos y proteínas (estructurales y no estructurales) que determinan la biología del virus y la simetría helicoidal de su nucleocápsida. Por microscopía electrónica, los viriones se reconocen por una pequeña “corona” que presentan a su alrededor situación que justifica su nombre (1) (10)

3. Materiales y métodos

Se realizó búsqueda bibliográfica en las bases de datos de PubMed, BioCell, Scielo, Elsevier, Redalyc, MDPI (Instituto Multidisciplinario de Publicaciones Digitales), PLOS (Public Library of Science), JAFC (Journal of Health Sciences), BJPS (Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences,) y Medicinal Chemistry Research, con los términos “Pathogenesis COVID-19”, “Molecular Biology COVID-19”, “COVID-19 Vaccine”. Los criterios de inclusión fueron: Ensayos clínicos en humanos y revisiones acordes a las palabras claves de investigación (COVID-19, SARS-COV-2, Inmunología, Bases Moleculares, Vacuna). Se

hallaron un total de 84.900 resultados de los cuales se seleccionaron los artículos más centrados los protocolos de desarrollo de vacunas e información molecular de SARS-COV-2.

Se utilizaron fuentes primarias, las cuales están conformadas por las publicaciones de algunos investigadores de diferentes países, cuyo aporte en lo inmunización molecular del SARS-COV2 (COVID-19), es relevante, como fuentes secundarias se han revisado revistas especializadas, páginas web en especial las de laboratorios farmacéuticos, quienes han emprendido la ardua labor de investigación y desarrollo de la vacuna contra el SARS-COV2 (COVID-19). La búsqueda se realizó de forma independiente, en base de datos, en español e inglés.

El diseño de estudio es prospectivo observacional, en las técnicas de selección de información se ha procurado minimizar el sesgo de selección utilizando información de revistas indexadas, categorizando la información encontrada como de bajo riesgo de sesgo.

4. Marco teórico

4.1. Bases Moleculares

Las técnicas de biología molecular han jugado un papel ponderal para el diagnóstico a través de técnicas de PCR (reacción en cadena de la polimerasa), así como para la determinación de la constitución del genoma del virus, determinación de parentescos a través de árboles filogenéticos, elucidación de mutaciones o variantes del virus.

4.1.1. PCR (Reacción en cadena de la polimerasa)

La prueba de la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa en (RT-PCR o qRT-PCR si es cuantificada en tiempo real) es una técnica molecular de detección y amplificación de ácidos nucleicos, es decir de material genético, ARN, del SARS-CoV-2 en distintas muestras biológicas clínicas. En la actualidad es la técnica de referencia y de elección para el diagnóstico de COVID-19. (11) (12)

Los genes diana más usados para la detección de SARS-CoV-2 son el gen E (recomendado por la OMS como screening de primera línea), el gen RdRp, para estudio de confirmación y el gen N para estudio adicional de confirmación. Otro gen usado es el Orflab. Para el diagnóstico de confirmación en zonas sin circulación del virus COVID19 se necesita que los resultados sean positivos, frente a dos genes distintos de COVID-19, uno de ellos específico del mismo, o resultado positivo frente a un betacoronavirus más una identificación al menos parcial del genoma del virus COVID-19. En zonas de transmisión comunitaria como nuestro país en la actualidad, se considera suficiente el resultado positivo de la rRT-PCR para un único gen que sea discriminatorio de COVID-19. (13)

4.1.2. Filogenética

De acuerdo con los estudios filogenéticos realizados en China a pacientes de Wuhan, provincia de Hubei, sitio originario de la pandemia COVID-19, se tiene la siguiente información: El genoma del virus consta de seis marcos principales de lectura abierta (ORF) que son comunes a los coronavirus y a varios otros genes accesorios. Una

región corta de ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp) de un coronavirus de murciélago (BatCoV RaTG13), que se detectó previamente en *Rhinolophus affinis* de la provincia de Yunnan, mostró una alta identidad de secuencia con 2019-nCoV. (14) El análisis filogenético del genoma de longitud completa y las secuencias de genes de RdRp y spike (S) mostró que, para todas las secuencias, RaTG13 es el pariente más cercano de 2019-nCoV y forman un linaje distinto de otros SARSr-CoV. (15) (16) Los genes S de 2019-nCoV y RaTG13 son más largos que otros SARSr-CoV. Las principales diferencias en la secuencia S del gen de 2019-nCoV son las tres inserciones cortas en el dominio N-terminal, así como los cambios en cuatro de cada cinco de los residuos clave, en el motivo de unión al receptor en comparación con la secuencia de SARS-CoV. Debe estudiarse más a fondo si las inserciones en el dominio N-terminal de la proteína S de 2019-nCoV confieren actividad de unión al ácido siálico como lo hace en MERS-CoV. La estrecha relación filogenética con RaTG13 proporciona evidencia de que 2019-nCoV puede haberse originado en murciélagos. (14) (16)

4.1.3. Morfología y estructura molecular

El genoma del SARS-CoV-2 es similar al de los CoV típicos y contiene al menos diez marcos de lectura abiertos (ORF). Los primeros ORF (ORF1a / b), aproximadamente dos tercios del ARN viral, se traducen en dos poliproteínas grandes. En SARS-CoV y MERS-CoV, dos poliproteínas, pp1a y pp1ab, se procesan en 16 proteínas no estructurales (nsp1-nsp16), que forman el complejo de replicasa transcriptasa viral. (16) Esas nsps reorganizan las membranas que se originan en el retículo endoplásmico rugoso (RER) en

vesículas de doble membrana donde se produce la replicación viral y la transcripción. Los otros ORF de SARS-CoV-2 en un tercio del genoma codifican cuatro proteínas estructurales principales: proteínas de pico (S), envoltura (E), nucleocápside (N) y de membrana (M), así como varias proteínas accesorias con funciones desconocidas que no participan en la replicación viral. (16), (17)

Varios grupos de científicos en China han descubierto que el SARS-CoV-2, al igual que el SARS-CoV, requiere la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) como receptor para entrar en las células. La unión del virus con los receptores de la célula huésped es un determinante significativo para la patogénesis de la infección. (17), (18), (19)

Entre las funciones de las proteínas estructurales principales están: La proteína (S) facilita la unión del virus al receptor de la célula huésped, la proteína (M) ayuda a mantener la curvatura de la membrana y la unión con la nucleocápside, la proteína (E) juega un papel importante en el ensamblaje y liberación del virus y la proteína (N) forma parte de la nucleocápside al unirse al material genético viral. La proteína accesorio (HE) se halla solo en algunos Betacoronavirus y su actividad esterasa facilita la entrada del virus en la célula huésped, además, de ayudar en la su propagación. (20) (21)

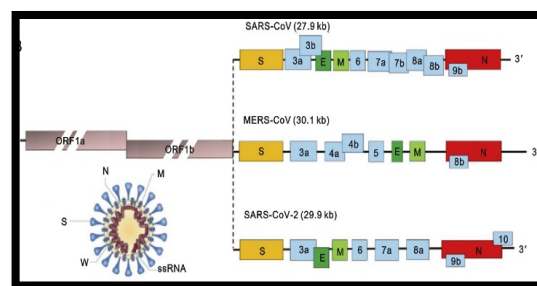


Fig. 1. Forma y estructura del virión de SARS-CoV-2. Partícula vírica de SARS-CoV-2 que posee una nucleocápside compuesta por RNA genómico asociado a la proteína (N), cubierto por una envoltura externa de proteínas estructurales principales (S), (M) y (E) y proteínas accesorias como (HE). (Adaptado de Li (17)).

4.1.4. Mutaciones

La variante más nueva del coronavirus responsable de la circulación de COVID-19 en Europa, presenta una mutación A222V en la glicoproteína de pico y se designa como clado GV, parte del clado G. La mutación no está en el sitio de unión del receptor, sino que está afuera y, podría, afectar la estabilidad del complejo proteico con un efecto menos pronunciado que el D614G basado en su posición estructural y tampoco se espera que cambie mucho la unión del anticuerpo, dependiendo del sitio donde se une el anticuerpo. (20) (15)

Actualmente, no hay evidencia que respalde que las mutaciones acumuladas, desde la introducción del virus SARS-CoV-2 en la población humana, hayan causado un aumento de la gravedad de la enfermedad. Por el contrario, una variante con una delección de 382 nucleótidos que circula en Singapur de enero a marzo de 2020 se asoció con una menor gravedad de la enfermedad (8), (22), pero esta variante no se ha encontrado en Singapur ni en ningún otro lugar desde entonces. Sin

embargo, existe alguna evidencia que indica que la variante del virus que lleva una mutación (sustitución de aspartato a glicina en la posición 614), en la glicoproteína de pico, pero no ubicada en el dominio de unión al receptor de la proteína, podría afectar la transmisibilidad del virus. Los investigadores todavía están debatiendo el efecto de esta mutación (8). Los estudios de entrada de células virales con variantes de la posición 614 de la glicoproteína de pico mostraron que la sustitución de glicina se asocia con una mayor tasa de entrada de células de 2,2 a 7,7 veces, dependiendo del entorno experimental (8).

Las mutaciones en el dominio de unión al receptor de la glicoproteína de pico son de particular interés, ya que pueden afectar la infectividad y la especificidad del huésped. (8) Se han informado algunas mutaciones en este dominio, pero hasta ahora son raras y no están presentes en ninguno de los principales clados del SARS-CoV-2. (23)

Las mutaciones en los sitios de unión de los cebadores utilizados para los ensayos de detección de la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR) tienen implicaciones significativas para las pruebas precisas, pero hasta ahora han sido raras. (8)

4.1.5. Pruebas de diagnóstico COVID-19

Hay tres tipos principales de ensayos de detección relevantes para las pruebas de diagnóstico y la detección de COVID-19, según el objetivo que se está detectando: (24)

- Las pruebas de ácido nucleico detectan la presencia de ARN viral, normalmente estos utilizan un paso de amplificación basado en RT-PCR.

- Las pruebas de antígeno detectan la presencia de un antígeno viral, generalmente parte de una proteína de superficie.

- Las pruebas de anticuerpos detectan la presencia de anticuerpos generados contra el SARS-CoV-2. Los tres ensayos más utilizados son los ensayos de inmunoabsorción ligados a enzimas (ELISA), los ensayos de quimioluminiscencia (CLIA) y los ensayos de flujo lateral (LFA). Además, se utilizan pruebas de neutralización de virus, que pueden detectar específicamente anticuerpos neutralizantes, pero esto se utiliza principalmente para la validación de ensayos y la investigación. Los informes preliminares sobre los ensayos ELISA han mostrado una buena correlación de los resultados de la titulación de anticuerpos con los anticuerpos neutralizantes del virus. (8) (25)

Aparte de estos principales ensayos de detección, también se puede realizar la secuenciación del genoma completo para determinar la secuencia del virus SARS-CoV-2 en una muestra, con posibles variantes de cuasiespecies. (8)

4.2. Inmunología

Cuando el virus ingresa a las células, su antígeno se presentará en las células de presentación de antígeno (APC), que es una parte central de la inmunidad antiviral del cuerpo. Los péptidos antigénicos se presentan mediante un complejo principal de histocompatibilidad (MHC; o antígeno leucocitario humano (HLA) en seres humanos) y luego se reconocen por linfocitos T citotóxicos (CTL) específicos del virus. Por lo tanto, la comprensión de la presentación de antígenos de SARS-CoV-2, ayudará a nuestra comprensión de

la patogénesis de COVID-19. Desafortunadamente, todavía falta información al respecto, y solo tenemos antecedentes de investigaciones anteriores sobre el SARS-CoV y el MERS-CoV. La presentación del antígeno del SARS-CoV depende principalmente de las moléculas del MHC I, pero el MHC II también contribuye a su presentación. (17)

Además, los polimorfismos de genes de MBL (lectina de unión a manosa) asociados con la presentación de antígenos están relacionados con el riesgo de infección por SARS-CoV. Estas investigaciones proporcionarán pistas valiosas para la prevención, el tratamiento y el mecanismo de COVID-19. (26)

Existen antecedentes de que las proteínas estructurales del SARS-CoV, como la espiga, la membrana y la nucleocápside (N), son factores de la antigenicidad del virus, en comparación con las proteínas no estructurales. La proteína de la nucleocápsida (N) del coronavirus es una proteína altamente fosforilada que no solo es responsable de la construcción del complejo de ribonucleoproteína al interactuar con el genoma viral y regular la síntesis de ARN y proteínas virales, sino que también sirve como un potente inmunógeno que induce reacciones humorales y celulares. El CD8+, los epítomos de células T derivados de la proteína N del SARS-CoV definida hasta ahora, se agrupan principalmente en dos regiones inmunogénicas principales. Uno de ellos, los residuos 219 a 235, comprende la mayoría de los epítomos CTL mínimos derivados de la proteína N identificados hasta ahora (N220-228, N223-231, N227-235, etc.). La otra región, los residuos 331 a 365, también incluye péptidos de alta inmunogenicidad que pueden inducir respuestas de linfocitos T de

memoria contra SARS-CoV. Sin embargo, hasta ahora, no se ha investigado en esta región ningún epítomo CTL mínimo con una restricción de alelo HLA dada. (27)

La presentación de antígenos estimula la inmunidad humoral y celular del cuerpo, que están mediadas por células B y T específicas del virus. Hay estudios que sugieren que el anticuerpo IgG específico del SARS persiste durante mucho tiempo, pero el IgM específico del SARS se mantiene medible durante un período mucho más corto, lo que sugiere que el anticuerpo IgG contra el SARS-CoV puede representar la respuesta inmune humoral primaria que protege a los pacientes contra el SARS. El perfil de anticuerpos anti-SARS puede ser útil en el diagnóstico y en las encuestas epidemiológicas. La presencia de títulos altos de anticuerpos IgG contra el SARS-CoV en los pacientes en la etapa de convalecencia también sugiere que se podría desarrollar una vacuna viva atenuada o inactivada para la inmunización activa y un anticuerpo IgG específico del SARS humano concentrado para la inmunización pasiva para el tratamiento de SARS. (17)

El informe de Lancet muestra que el SDRA es la principal causa de muerte por COVID-19. De los 41 pacientes infectados con SARS-CoV-2 admitidos en las primeras etapas del brote, seis murieron de SDRA. Uno de los principales mecanismos del SDRA es la tormenta de citocinas, la respuesta inflamatoria sistémica mortal incontrolada que resulta de la liberación de grandes cantidades de citocinas proinflamatorias (IFN- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18, IL-33, TNF- α , TGF β , etc.) y quimiocinas (CCL2, CCL3, CCL5, CXCL8, CXCL9, CXCL10, etc.) por células efectoras inmunes en la infección por SARS-CoV.

La tormenta de citocinas desencadenará un ataque violento del sistema inmunológico al cuerpo, causará SDRA y falla orgánica múltiple, y finalmente conducirá a la muerte. (17)

4.2.1. Respuesta inmunológica a vacunas SARS-CoV-2

Según Kamradt (28), En ausencia de datos experimentales o clínicos sólidos sobre las respuestas inmunitarias inducidas por el SARS-CoV-2, podemos hacer algunas suposiciones fundamentadas en experiencias previas con coronavirus endémicos (por ejemplo, 229E u OC43), el virus SARS-CoV y el MERS-CoV. Los estudios experimentales, serológicos y seroepidemiológicos sugieren que los coronavirus, incluido el SARS-CoV-2, inducen anticuerpos neutralizantes y protectores. Estos estudios también parecen indicar que la protección mediada por anticuerpos es de corta duración.

Se sabe menos sobre las respuestas inmune celular, es decir, la respuesta de las células T contra los coronavirus. (28) La evidencia experimental de estudios en ratones sugiere que las células T que residen en la mucosa del tracto respiratorio podrían ser un correlato importante de protección. Sin embargo, aunque los ratones pueden infectarse con coronavirus, incluido el SARS-CoV, no desarrollan los síntomas pulmonares graves característicos del SARS y COVID-19. Por lo tanto, estos resultados deben interpretarse con precaución. Las células T humanas de la mucosa respiratoria de humanos enfermos y convalecientes serían necesarias para aclarar el problema, pero son difíciles de encontrar. (29)

4.2.2. Respuesta inmunitaria innata

Según Soto (20), Para montar una respuesta antiviral, el sistema inmune innato detecta una infección mediante receptores de reconocimiento de patrones (PRRs), es decir, receptores que identifican moléculas intrínsecas presentes en los patógenos. Estas moléculas intrínsecas corresponden a los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) (17) (7). Entre los receptores PRR conocidos en la actualidad, se incluyen principalmente los receptores tipo toll (TLR). Estos receptores corresponden a proteínas transmembrana que presentan dos dominios, un dominio exterior que se une a PAMP y un dominio interior que inicia las vías o cascadas de señalización, induciendo diferentes respuestas biológicas.(17). Entre los PAMPs que son reconocidos por los receptores TRL se incluyen lípidos, lipoproteínas, proteínas y ácidos nucleicos de virus, bacterias, parásitos y hongos (17), (18), (30), (31). En el caso de los CoV, se sabe que sus PAMPs están asociados su RNA (30), (31). Cuando la proteína (S) de los CoV se une al receptor ACE2 de la célula huésped y se fusiona con membrana celular, se forma un endosoma donde el virus ingresa junto con su RNA. Los PAMPs asociados a este RNA son reconocidos por receptores tipo toll presentes en endosomas como TLR3, TLR7, TLR8 y TLR9 (7), (30), (31), (32).

Este evento de reconocimiento lleva a la activación de varias vías de señalización y de factores de transcripción, como el factor nuclear kappa B (NFkB), proteína activadora (AP-1), factor de regulador del interferón 3 (IRF3) y factor regulador del interferón 7 (IRF7) con su consecuente translocación nuclear. NFkB y AP-1 estimulan la expresión de genes que codifican muchas de las

proteínas necesarias para la inflamación, tales como, factor de necrosis tumoral (TNF), citoquinas (IL-1, IL-6 e IL-12) y quimioquinas (CCL2 y CXCL8) (Rokni et al.) IRF3 e IRF7 promueven la producción de interferón tipo I (INF-a e INF-b) los que son importantes frente a las respuestas antivirales, ya que, son capaces de suprimir la replicación y diseminación viral en etapas tempranas y, además, inducir una respuesta inmune adaptativa efectiva. (7)

4.2.3. Respuesta inmunitaria humoral

La respuesta inmune humoral juega un importante papel protector en las fases posteriores a la infección, especialmente con la producción de anticuerpos, evitando así una reinfección futura (7) (20). La respuesta inmune mediada por linfocitos T es esencial en la inmunidad adaptativa frente a las infecciones virales. (7) (17). El microambiente de citoquinas generado por las células presentadoras de antígenos, como las células dendríticas, dicta la dirección del tipo de respuesta de los linfocitos T. Los tipos de respuestas generadas por los linfocitos T son: Linfocitos T helper (CD4+), que organizan la respuesta adaptativa activando a los linfocitos B en la producción de anticuerpos y linfocitos T citotóxicos (CD8+) que son esenciales para matar a las células infectadas por el virus (17), (33). En el caso de la epidemia de SARS-CoV del año 2002, los epítomos o determinantes antigénicos para los linfocitos T y B se establecieron para las proteínas estructurales del virus, es decir, las proteínas (S), (N), (M) y (E). (34) (30). Aunque aún es muy limitado el conocimiento sobre respuesta humoral en SARS-CoV-2, la evidencia muestra que las respuestas específicas de los linfocitos T son importantes para el reconocimiento de SARS-CoV-2 y a su vez, en la destrucción de las células

infectadas, particularmente, en los pulmones de los individuos infectados. (20)

4.3. Vacunas contra el COVID-19

La pandemia COVID-19, para este tiempo enero del 2021, no ha sido controlada en ningún país, siendo un riesgo para la salud dado los altos índices de morbilidad en la población, además del requerimiento de infraestructura y equipos en hospitales para satisfacer la demanda de oxígeno de pacientes con cuadro clínico grave. Cabe mencionar las posibles mutaciones del virus situación que ha sido informada en Reino Unido: “el primer ministro británico, Boris Johnson, explicó que la propagación del virus en muchas partes de esta región está impulsada por la nueva variante del virus”. (35) (36)

Algunos laboratorios han gestionado arduo trabajo para desarrollar la vacuna, aquello es un punto importante que abordamos a continuación.

4.3.1. Antecedentes de la vacuna COVID-19

Según el informe del grupo de Análisis Científico sobre Coronavirus del ISCIII, las vacunas tienen el objetivo de prevenir el desarrollo de una infección, se basan en la introducción en el organismo de un microorganismo modificado para que el sistema inmunitario se defienda de él y genere memoria inmunitaria, es una forma de provocar al sistema inmunitario para que se active frente a un microorganismo determinado. Se basa en la capacidad del sistema inmunológico de generar memoria. (37) Cuando sufre una infección se generan linfocitos de memoria que guardan el ‘recuerdo’ frente a esa infección concreta. Este proceso requiere semanas, pero la ventaja es que, si el organismo se enfrenta de nuevo al mismo

microorganismo, el sistema inmunitario reacciona en pocos días con una potente respuesta. (38)

La Organización Mundial de la Salud (OMS), informó que hasta mediados de junio del 2021, había 11 vacunas candidatas, en la última actualización del 31 de julio, se recensó 26 "vacunas candidatas", las que estaban siendo probadas en ensayos clínicos humanos. La mayoría de estos ensayos se encuentran en "fase 1" (evaluación de la seguridad del producto), o en "fase 2" (prueba de eficacia). Solo cinco vacunas se encuentran en fase 3, donde se comprueba su eficacia con miles de voluntarios. Se trata de la vacuna que están desarrollando los laboratorios: alemán BioNTech y estadounidense Pfizer, la que desarrolla la biotecnológica estadounidense Moderna, los dos proyectos de los laboratorios chinos Sinopharm y Sinovac, y el que realiza la Universidad de Oxford, con la farmacéutica británica AstraZeneca, la vacuna rusa, desarrollada por el Centro de Investigación Epidemiológica y Microbiología Nikolai Gamaleya, con el ministerio ruso de Defensa, está en fase 1, según las bases de datos de la OMS. (3)

El 11 de agosto de 2020, Rusia se convirtió en el primer país del mundo en aprobar una vacuna contra el síndrome respiratorio agudo severo coronavirus 2 (SARS-CoV-2). La vacuna, que se basa en dos vectores de adenovirus, fue desarrollada por el Centro Nacional de Epidemiología y Microbiología de Gamaleya (Moscú, Rusia). Su aprobación fue anunciada por el presidente Vladimir Putin. (4)

Cabe mencionar un comentario del Dr. Peter Openshaw, profesor de medicina experimental en el Imperial College London (Londres, Reino

Unido): "La respuesta inmune puede no ser directamente proporcional al grado de protección; esto solo se puede averiguar en ensayos a gran escala". (35) (39)

La distancia con las primeras inmunizaciones en el hombre solo es de unos meses/semanas, advierte a la AFP (Agencia de Noticias Francesa) la viróloga francesa Marie-Paule Kieny, antigua directora general adjunta de la OMS. En general, hasta ahora, solo se han publicado los resultados preliminares (fase 1 y 2). (40) Países de todo el mundo han pedido por adelantado millones de dosis de otras vacunas COVID-19 prospectivas, y el lanzamiento depende de los resultados de los estudios de fase 3. Por ejemplo, EE. UU. Ha comprado 100 millones de dosis de la vacuna candidata a ARNm de Moderna y 300 millones de dosis de la vacuna de vector de adenovirus de Astrazeneca. Otros países pueden optar por hacer arreglos similares con el Centro Gamaleya. Los informes de prensa han citado al ministro de Relaciones Exteriores de Azerbaiyán diciendo que el país estaba "listo para considerar la posibilidad de comprar una vacuna rusa contra el coronavirus una vez que se hayan completado los procedimientos para su reconocimiento por parte de la OMS". (4)

Los últimos, son los de la vacuna candidata de la Universidad de Oxford y el de una empresa china, CanSino, publicados el 20 de julio del 2020, que han mostrado que son bien tolerados por los pacientes y provocan "una fuerte respuesta inmunitaria". (4) Comentó Jonathan Ball, profesor de virología Molecular de la Universidad de Nottingham (Reino Unido): "no sabemos si estos niveles de inmunidad pueden proteger contra la infección, ni si esta vacuna puede proteger a los

más frágiles de las formas graves del covid-19". (40)

4.3.2. Tipos de vacunas

Todas las vacunas tienen como objetivo exponer el cuerpo a un antígeno que no causará enfermedad, pero provocará una respuesta inmunitaria que puede bloquear o matar el virus si una persona se infecta. Hay al menos ocho tipos que se están probando contra el coronavirus y se basan en diferentes virus o partes virales. (41), (39)

4.3.3. Vacunas vivas atenuadas

Según el Instituto de Salud Carlos III: este tipo de vacunas presenta son virus vivos modificados para no ser peligrosos. Para generar estas vacunas se requiere un conocimiento en profundidad del virus para conocer cuáles de sus genes son los que causan más daño, lo que llamamos 'genes de virulencia'. (37) Una vez identificados se generan virus delecionados o mutados en estos genes, un proceso complejo que requiere técnicas avanzadas de genética reversa. La ventaja de este abordaje es que las vacunas resultantes son muy potentes porque se reproduce la replicación viral, mientras que el inconveniente es que se requieren estudios de seguridad exhaustivos para garantizar la atenuación viral perseguida. (42)

Sin embargo, las vacunas vivas tienen limitaciones. Por ejemplo, dado que contienen una pequeña cantidad de un virus vivo debilitado, las personas que presentan un sistema inmunitario debilitado pueden tener problemas de salud a largo plazo, como es el caso de pacientes geriátricos, oncológicos, quienes han tenido un trasplante de órganos. (37) (39)

Además, este tipo de vacunas deben mantenerse en frío, situación que limita su almacenamiento en lugares que tengan refrigeradores habilitados. Estas vacunas se han utilizado para inmunizar a las personas en caso: sarampión, paperas, rubéola, rotavirus, viruela, varicela, fiebre amarilla. (39)

4.3.4. Vacunas inactivadas

Según el Instituto de Salud Carlos III, respecto a las vacunas inactivadas de virus del SARS-CoV-2, son preparaciones que se crece en cultivos celulares y que se destruye mediante calor o fijación por productos químicos. Este virus una vez inyectado inducirá una respuesta inmune frente a distintos componentes de su estructura. La ventaja de esta vacuna es que es muy segura y es relativamente fácil de fabricar. El principal inconveniente es que son vacunas poco potentes y que tienen que estar adecuadamente purificadas para su uso en humanos. Este abordaje está en desarrollo y se han realizado ya ensayos en animales a los que esta vacuna parece proteger frente a la infección. (43), (37)

4.3.5. Vacunas de subunidades, recombinantes, polisacáridos y combinadas

Las vacunas de subunidades, recombinantes, polisacáridas y combinadas utilizan partes específicas del germen, como su proteína, azúcar o cápsula. Utilizan partes específicas del patógeno, ofrecen una respuesta inmunitaria muy fuerte dirigida a partes claves del microorganismo. También se pueden utilizar en prácticamente cualquier persona que las necesite, incluso en personas con sistemas inmunitarios debilitados o problemas de salud a largo plazo. La única limitación de estas vacunas es que posiblemente necesite vacunas de refuerzo para tener protección continua contra las enfermedades. Estas vacunas se

utilizan para proteger contra: Enfermedad Haemophilus influenzae tipo b, Hepatitis B, HPV (virus del papiloma humano), Tos ferina, Enfermedad neumocócica, culebrilla. (21)

Según el Instituto de Salud Carlos III: En el caso de SARS-CoV-2, la proteína diana es la de su superficie, la proteína “S”. Numerosos prototipos de vacunas se basan en la síntesis y expresión de esta proteína que sintetizan y expresan la proteína bajo distintas formas. La ventaja es que es una vacuna muy segura, pero su potencia puede ser baja o insuficiente cuando se suministra en forma de proteína soluble. Para potenciar su acción una estrategia es incorporarla anclada en una ‘plataforma’, como las ‘viral like particles’ o nanopartículas que le confieren una estabilidad mayor y una mayor potencia en la presentación antigénica. En este tipo de vacunas es importante conocer muy bien la estructura de la proteína para inducir anticuerpos neutralizantes frente a la misma. Muchas proteínas virales tienen diferentes conformaciones -nativa, intermedia, pre-fusión- y se debe inmunizar con la estructura del “Spike”, más inmunogénica y que genera anticuerpos neutralizantes. (37)

4.3.6. Vacunas con toxoides

Las vacunas con toxoides utilizan una toxina, fabricada a partir del germen que causa una enfermedad. Crean inmunidad a las partes del microorganismo causante de la enfermedad, pero no al microorganismo en sí. La respuesta inmunitaria va dirigida a la toxina, es posible que necesite vacunas de refuerzo para tener protección continua contra las enfermedades. Las vacunas con toxoides se utilizan para proteger contra: Difteria, tétanos. (37)

4.3.7. Vacunas denominadas “de vector viral”

Utilizan como soporte otro virus al que se transforma y adapta para combatir el covid-19. Es la técnica elegida por los rusos, así como por la Universidad de Oxford que utiliza un adenovirus de chimpancé. Asimismo, otros proyectos se basan en vacunas de "ADN" o de "ARN", productos experimentales que utilizan material genético modificado. (44)

4.3.8. Panorama del desarrollo de vacunas COVID-19

En febrero de 2020, la Organización Mundial de la Salud (OMS) convocó a investigadores a nivel mundial para definir la agenda de investigación de medicamentos y vacunas contra el SARS-CoV2, a través de la Iniciativa Global para Investigación y Desarrollo. Las prioridades de la Agenda de R&D Blueprint para desarrollo de vacunas incluyen el desarrollo de:

- Modelos animales en los cuales evaluar la efectividad de la vacuna
- Pruebas estandarizadas para apoyar el desarrollo de vacunas, particularmente la
- evaluación de respuesta inmune
- Protocolo multi-país para los ensayos clínicos de fase 2b/3 con la intención de facilitar la
- coordinación y eficiencia
- Estudios de potencia y procesos de producción para que se puedan producir grandes
- cantidades de vacunas (45)

La Alianza Mundial para la Preparación contra Epidemias e Innovaciones, (CEPI por sus siglas en inglés), está movilizando recursos para el

desarrollo de vacunas, para incrementar, las posibilidades de éxito y financiar los ensayos clínicos de algunas vacunas candidatas contra el SARS-CoV-2. La intención es lograr que haya algunas vacunas candidatas que puedan someterse a las autoridades regulatorias para su aprobación para uso general o para uso en situaciones de brotes (45).

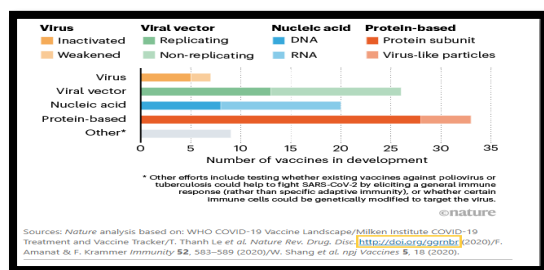


Fig. 2 Matrices del desarrollo de vacunas (Adaptado de Callaway (41))

4.3.9. Vacuna propuesta por Sinovac Biotech

Según Calleway et al., 2020 Sinovac Biotech en Beijing ha comenzado a probar una versión inactivada de SARS-CoV-2 en humanos, Muchas vacunas existentes se fabrican de esta manera, como las usadas contra el sarampión y la poliomielitis, pero requieren extensas pruebas de seguridad.

En la ciudad china de Jiaying se ofrece la vacuna experimental frente a la COVID-19 de la farmacéutica Sinovac Biotech, CoronaVac, para los grupos de alto riesgo, entre los que se incluyen el personal sanitario. (46)

Funciona mediante el uso de partículas virales muertas para exponer el sistema inmunológico del cuerpo al virus sin riesgo de una respuesta de enfermedad grave. CoronaVac se ha sometido a ensayos de fase tres en varios países. Los datos provisionales de los ensayos de última etapa en

Turquía e Indonesia mostraron que la vacuna tenía una eficacia del 91,25% y el 65,3%, respectivamente. Los investigadores en Brasil dijeron inicialmente que tenía un 78% de efectividad en sus ensayos clínicos, pero en enero de 2021 revisaron esa cifra al 50,4% después de incluir más datos en sus cálculos. A principios de noviembre, sus ensayos se detuvieron brevemente después de la muerte informada de un voluntario, pero se reanudaron después de que se descubrió que la muerte no tenía vínculos con la vacuna. (40)

4.3.10. Vacuna propuesta por Moderna

Desarrollada por: Moderna & NIH, Cambridge, Massachusetts, EE. UU. Socios biotecnológicos: Lonza, Suiza. Vacuna basada en ARNm que codifica la proteína S del SARS-CoV-2 en su conformación prefusión (variedad S-2P, con dos sustituciones sucesivas de prolina en las posiciones de aminoácidos 986 y 987), en una nanopartícula lipídica. (47) (48).

Con fecha 30 de noviembre y con 30.000 participantes, la farmacéutica norteamericana Moderna Inc., ha actualizado los resultados provisionales de eficacia de su vacuna frente a la COVID-19, mRNA1273 (49), mediante una nota de prensa. En la misma se detalla que se han registrado 196 casos de COVID-19 de los que 185 ocurrieron en el grupo placebo y 11 en vacunados, lo que supone una eficacia del 94.1% para COVID-19 sintomático. 30 casos se etiquetaron como graves y todos ellos se dieron en el grupo placebo, lo que representa una eficacia frente a COVID-19 grave del 100%. 33 casos se constataron en personas de 65 o más años y 42 en voluntarios de “comunidades diversas” (47) (50). Se registró un fallecimiento relacionado con COVID-19 en el grupo placebo. El perfil de seguridad es similar al previamente descrito en comunicados de prensa.

Los efectos más comunes fueron dolor local, mialgia, artralgia y cefalea. Los efectos adversos aumentaron en frecuencia y gravedad con la segunda dosis. (47) (48)

4.3.11. Vacuna propuesta por Pfizer (COMIRNATY)

Desarrollada por: BioNTech (Mainz, Alemania) y Pfizer (EE. UU.). Comirnaty, la vacuna de ARNm de COVID-19 (nucleósido modificado) es una vacuna para prevenir la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) en personas de 16 años o más. (51), (52)

La vacuna contiene una molécula llamada ARN mensajero (ARNm) con instrucciones para producir una proteína del SARS-CoV-2, el virus que causa COVID-19. La nueva vacuna de ARNm de Covid-19 no contiene el virus en sí y no puede causar COVID-19. El uso de Comirnaty, vacuna de ARNm COVID-19 (nucleósido modificado) en una situación de emergencia también ha sido respaldado por la Agencia Europea de Medicamentos (EMA), la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos de América y Health Canada y otras autoridades reguladoras (incluidos Bahrein, Israel, Kuwait, México, Omán, Qatar, Arabia Saudita, Singapur y el Reino Unido). (9)

La fabricación de la vacuna Pfizer COVID-19 (BNT162b2) consiste en la producción del ARNm que codifica la proteína Spike para el virus SARS-CoV-2 seguido de la encapsulación del ARNm en nanopartículas lipídicas. Se proporcionó evidencia para demostrar que la vacuna se fabrica bajo Buenas Prácticas de Fabricación (GMP) en todos los sitios de fabricación que proporcionan suministro a Canadá y que se han establecido controles en el proceso, parámetros de proceso y

pruebas de liberación de control de calidad para monitorear la calidad del producto durante todo el proceso. Las especificaciones utilizadas para evaluar los atributos de calidad y la consistencia de la producción se consideraron aceptables. Esta información respalda la autorización bajo la Orden Provisional. (53), (54)

4.3.12. Vacuna propuesta por Can Sino Biologicals

CanSino Biologicals Inc. ("CanSinoBIO", HK6185), anuncia que su candidata a vacuna recombinante de coronavirus nuevo (vector de adenovirus tipo 5) ("Ad5 -nCoV"), desarrollado juntamente con el Instituto de Biotecnología de Beijing es la primera nueva vacuna contra el coronavirus para COVID-19 que llega a estudios clínicos en fase 1 en China. La vacuna candidata se basa en la plataforma de tecnología de vacuna de vectores virales basada en adenovirus, que también se ha aplicado con éxito para desarrollar la vacuna innovadora a nivel mundial contra la infección por el virus del Ébola. Los resultados de los estudios preclínicos en animales de "Ad5-nCoV" muestran que la vacuna candidata puede inducir una fuerte respuesta inmune en modelos animales. Los estudios preclínicos de seguridad en animales demostraron un buen perfil de seguridad. (55)

4.3.13. Vacuna propuesta por Inovio Pharmaceuticals

Inovio diseña la vacuna de ADN INO-4800 en tres horas después de recibir la secuencia genética utilizando su tecnología patentada de plataforma de medicamentos de ADN, INO-4800 fue diseñado para coincidir con precisión con la secuencia de ADN del virus. Las ventajas de la plataforma de medicamentos de ADN de Inovio son la rapidez con la que se pueden crear y fabricar los

medicamentos de ADN, la estabilidad de los productos que no requieren congelación durante el almacenamiento y el transporte, y su sólida respuesta inmunitaria, así como la seguridad y la tolerabilidad. (56) Los medicamentos de ADN de Inovio administran plásmidos optimizados directamente en las células por vía intramuscular o intradérmica utilizando el dispositivo inteligente de mano patentado por Inovio llamado CELLECTRA®. CELLECTRA utiliza un breve pulso eléctrico para abrir pequeños poros en la célula de forma reversible para permitir que entren los plásmidos. Una vez dentro de la célula, los plásmidos comienzan a replicarse, fortaleciendo así los propios mecanismos de respuesta naturales del cuerpo. La administración con el dispositivo CELLECTRA asegura que el medicamento de ADN se administre directamente a las células del cuerpo, donde puede comenzar a funcionar de inmediato y generar una respuesta inmune. Los medicamentos de ADN de Inovio no interfieren ni cambian de ninguna manera el ADN de un individuo. (56)

4.3.14. Vacuna propuesta por Oxford, Astra Zeneca

Una vacuna que utiliza como vector un adenovirus de chimpancé, ChAdOx1 nCoV-19 que vehiculiza el gen que codifica la proteína espicular de la cubierta del virus. Una dosis de esta vacuna ya demostró que protegía a primates no humanos frente a la enfermedad inducida por el MERS-CoV. (57)

Ya en un ensayo previo realizado en ratones en los que se estudiaron las respuestas inmunes humoral y celular, se observaron respuestas IgG, predominantemente del tipo Th1, junto a anticuerpos neutralizantes en todos los vacunados.

Respecto al ensayo en macacos Rhesus, seis recibieron la vacuna a investigar. Se detectaron en todos ellos anticuerpos específicos frente a la proteína S a los catorce días y anticuerpos neutralizantes, aunque a bajas concentraciones. Adicionalmente, también se detectaron respuestas celulares T específicas frente a esa proteína. A los veintiocho días tras la vacunación se practicó un challenge con virus salvaje y se comprobó cómo el score medio de la clínica en el tracto respiratorio fue mayor en los animales del grupo control, detectándose tanto el genoma vírico como su subgenoma (sgARN), esto último indicativo de replicación vírica. (57)

4.3.15. Vacuna propuesta por Rusia

Sputnik V es la primera vacuna registrada en el mundo a base de una plataforma probada basada en vectores adenovirales humanos. Actualmente se encuentra en la lista de la Organización Mundial de la Salud (OMS) entre las 10 principales vacunas candidatas que se acercan al final de los ensayos clínicos y al inicio de la producción en masa. (58)

Los “vectores” son vehículos que pueden introducir material genético de otro virus en una célula. El gen del adenovirus, que es el causante de la infección, se sustrae y en su lugar se inserta un gen con el código de la proteína de otro virus. El elemento insertado es seguro para el organismo y ayuda al sistema inmunológico a reaccionar y producir anticuerpos que nos protegen de la infección. La plataforma tecnológica basada en vectores adenovirales permite la creación de nuevas vacunas de forma rápida y eficaz a través de la modificación del vector original de transmisión con material genético de nuevos virus, lo que permite obtener nuevas vacunas en poco tiempo. Dichas vacunas provocan una fuerte

reacción por parte del cuerpo humano con el objetivo de generar inmunidad. Los adenovirus humanos están considerados entre los más sencillos de modificar con estos fines. Por eso se han convertido en vectores muy populares. (58)

4.3.16. Vacunas de suero equino

Debido a la emergencia sanitaria, existe una necesidad urgente de encontrar soluciones rápidas y efectivas para el tratamiento de la enfermedad. Hasta la fecha, el uso de plasma de convalecientes es la única inmunoterapia disponible para pacientes hospitalizados con COVID-19. El uso de anticuerpos policlonales equinos (EpAbs) es otra alternativa terapéutica interesante. La nueva generación de EpAbs incluyen el procesamiento y purificación de estos y la obtención de fragmentos F(ab')₂ con alta pureza y un excelente perfil de seguridad en humanos. Los EpAbs son fáciles de producir, lo cual permite el desarrollo rápido y la elaboración a gran escala de un producto terapéutico. (59) Ante la actual emergencia epidemiológica y sanitaria se necesitan soluciones rápidas y eficaces. Los anticuerpos policlonales equinos (EpAbs) pueden ser una de estas soluciones provisionales. Los EpAb reconocen una amplia gama de epítomos (lo que limita el riesgo de mutaciones de escape virales) y tienden a desarrollar una mayor avidéz que los anticuerpos monoclonales (mAb) por sus antígenos afines. Además, los EpAbs son fáciles de fabricar, lo que permite un rápido desarrollo y ampliación para uso humano. Si bien en el pasado el riesgo de enfermedad del suero, principalmente debido a la presencia de fragmentos Fc, desfavoreció el uso de EpAbs, la nueva generación de EpAbs procesados y purificados que contienen fragmentos F(ab')₂

altamente purificados demostró ser segura y bien tolerada. (Zilberman et al., 2020), (60)

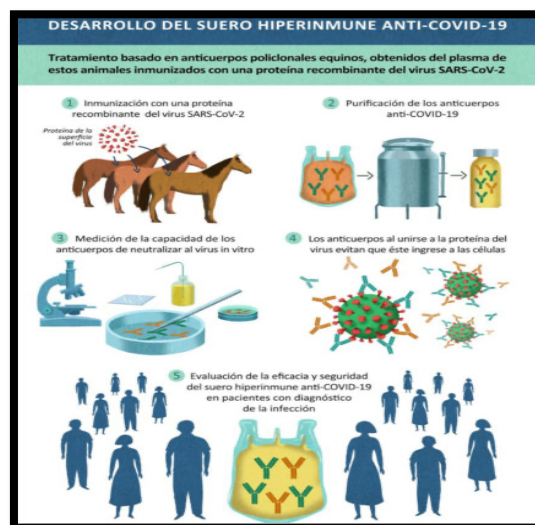


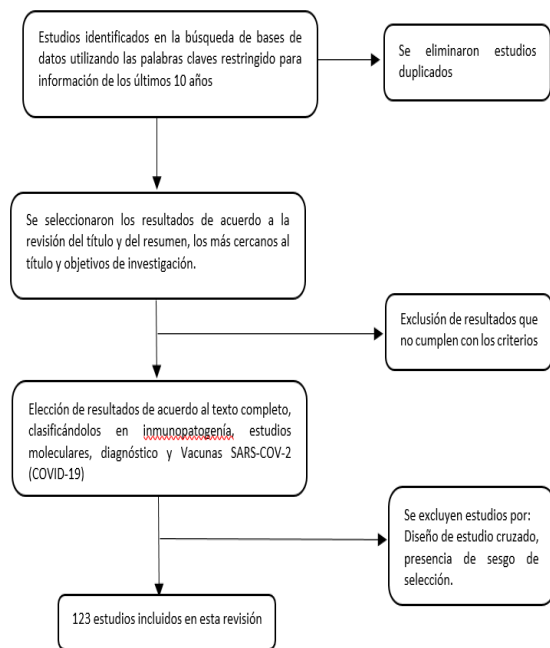
Fig. 6 Desarrollo del suero Hiperinmune anti-COVID-19 “Tratamiento basado en anticuerpos policlonales equinos”, Crédito de la imagen: Cortesía de Inmunova para SciDev.Net, adaptado SciDevNet, “Argentina aprueba suero equino como tratamiento para COVID-19”, 11-01-2021.

5. Resultados

5.1. Resultados de la selección de información

Por cada enunciado específico, se evaluó el nivel de evidencia (muy alto, alto, moderado o bajo contemplando las limitaciones en el diseño y riesgo de sesgo de los estudios, inconsistencia de los resultados basada en la heterogeneidad de los estudios; desenlaces evaluados en los estudios, sesgo de publicación.

En el siguiente diagrama de flujo se detalla el proceso de búsqueda y selección de resultados:



Esquema 1. Selección de información

5.2. Resumen vacunas

En la siguiente tabla se resume de forma comparativa parámetros importantes de las vacunas aprobadas por OPS & WHO:

Tabla 1. Comparación de algunas vacunas aprobadas para COVID-19, adaptado de OPS & WHO (45) Vacuna contra la COVID-19:

PARÁMETRO	BNT162b2 Pfizer/BioNTech	Moderna mRNA- 1273	AztraZeneca /U. de Oxford
Componente	mNRA modificado con nucleósidos	Basada en mRNA encapsulada en nanopartículas lipídicas (LNP)	Adenovirus de chimpancé defectuoso en la replicación recombinante que expresa la glicoproteína de superficie del SARS-CoV-2

Uso previsto	Personas de 16 años o más.	Personas mayores de 18 años.	Personas mayores de 18 años.
Administración	2 dosis (30 µg, 0,3 ml cada una I.M). intervalo de 21 a 28 días) entre las dosis	2 dosis (100 µg, 0,5 ml cada una I.M). intervalo 28 hasta 42 días entre las dosis	2 dosis (0,5 ml cada una I.M). intervalo 4 hasta 12 semanas entre las dosis.
Contraindicaciones	Reacción alergia al polietilenglicol	Reacción alergia a polietilenglicol	Reacción anafiláctica después de la primera dosis.
Logística de vacunación	La vacuna requiere condiciones de almacenamiento y distribución de cadena de frío ultrarrápida, a -70 °C. El tiempo máximo de almacenamiento es de 30 días. Después de eso, los viales se pueden descongelar y almacenar en refrigeradores de 2 a 8 °C hasta por cinco días.	La vacuna se suministra como una suspensión congelada a -25 °C a -15 °C La vacuna debe descongelarse antes de su administración. Después de descongelar, se pueden extraer 10 dosis. Los viales se pueden almacenar refrigerados a 2-8 °C hasta 30 días antes de retirar la primera dosis.	La vacuna se presenta como un vial de 10 dosis con tapón. Las viales multidosis sin abrir deben conservarse en nevera (entre 2 °C y 8 °C) y no deben congelarse. Una vez que se ha abierto un vial, el producto puede conservarse y utilizarse a temperaturas de hasta 30°C
Precio	14.0-17.0	37.0	3,0-7,0
Eficacia	95%	94.5%	63.1%

En la tabla número 2 se detalla de forma comparativa la información recopilada en estudios de fase 2 y 3 de diferentes grupos estratificados en la población de estudio.

Tabla 2. Recomendaciones provisionales y más información de algunas vacunas aprobadas para COVID-19, adaptado de OPS & WHO (45)
Vacuna contra la COVID-19:

POBLACIÓN DE LA FASE 2 Y 3	BNT162b2 Pfizer/BioNTech	Moderna mRNA-1273	AztraZeneca /U. de Oxford
Adultos	Indican que la eficacia y la seguridad de la vacuna son comparables en todos los grupos de edad (mayores de 16 años).	Indican que la eficacia y la seguridad de la vacuna son comparables en todos los grupos de edad (mayores de 18 años).	Si es aconsejable
Personas con comorbilidades	Se estudió: hipertensión; diabetes; asma; y enfermedad pulmonar, (VIH), (VHC), (VHB). Se recomienda la vacunación para personas con comorbilidades que se han identificado como un aumento del riesgo de COVID-19 grave.	Se recomienda la vacunación para personas con comorbilidades que se han identificado como un aumento del riesgo de COVID-19 grave.	Las comorbilidades estudiadas en los ensayos clínicos incluyeron obesidad, enfermedades cardiovasculares, enfermedades respiratorias y diabetes. Se recomienda la vacunación
Personas mayores de 85 años	Los datos de seguridad e inmunogenicidad sugieren vacunar si los beneficios	Se recomienda la vacunación para personas mayores sin límite de edad superior.	Las respuestas inmunitarias inducidas por la vacuna en personas mayores están bien documentadas y son similares a las

	de la vacunación superan los riesgos potenciales		de otros grupos de edad. Se recomienda su uso
Personas menores	Hasta que no se disponga de estos datos, las personas menores de 16 años no deben vacunarse	Hasta que se disponga de estos datos, las personas menores de 18 años no deben vacunarse con esta vacuna.	Hasta que se disponga de estos datos, las personas menores de 18 años no deben vacunarse con esta vacuna.
Embarazadas	COVID19 se ha asociado con un mayor riesgo de parto prematuro. No usar durante el embarazo.	Mientras tanto, la OMS recomienda no utilizar ARNm-1273 durante el embarazo, a menos que el beneficio supere los riesgos potenciales	Las mujeres embarazadas deben recibir AZD 1222 solo si el beneficio de la vacunación para la mujer embarazada supera los riesgos potenciales de la vacuna
Lactancia	Como la vacuna no es de un virus vivo y el ARNm no ingresa al núcleo de la célula. Recomendado	Como la vacuna mRNA-1273 no es una vacuna de virus vivo y el mRNA no ingresa al núcleo de la célula. Recomendada	Como la vacuna AZD1222 es una vacuna que no se replica, es poco probable que represente un riesgo para el niño que amamanta. Por lo que se recomienda.
Personas con VIH	Las personas que viven con el VIH y que forman parte	Las personas que viven con el VIH y que forman	Las personas que viven con el VIH y que forman parte de un grupo recomendado

	de un grupo recomendada o para la vacunación pueden ser vacunadas.	parte de un grupo recomendada o para la vacunación pueden ser vacunadas	para la vacunación pueden ser vacunadas
Infección previa	Por lo tanto, las personas con infección por SARS-CoV-2 confirmada por PCR en los 6 meses anteriores pueden retrasar la vacunación.	Los datos disponibles de los ensayos de fase 3 indican que el ARNm-1273 es seguro en personas con evidencia de infección previa por SARS-CoV-2.	Los datos disponibles de los ensayos de fase 3 indican que el ARNm-1273 es seguro en personas con evidencia de infección previa por SARS-CoV-2.
Infección actual	Hasta que se haya recuperado de la infección actual	Hasta que se haya recuperado de la infección actual	Hasta que se haya recuperado de la infección actual

6. Discusiones

Como autora declaro de manera explícita, no tener conflictos de intereses que pudieren haber sesgado los resultados incluidos en el manuscrito.

Las restricciones generalizadas de movimiento, a menudo denominadas "encierros", se han utilizado para reprimir la propagación de COVID-19 a través de comunidades, una situación que ha generado conmoción mundial, siendo un proceso de adaptación a la nueva realidad que se presenta frente al COVID-19.

Al garantizar que se cumplan estos criterios, los países deberían mantener un estado estable de transición de bajo nivel o nula al mismo tiempo que

se reanudan algunas actividades sociales y económicas. Sin embargo, sin una planificación cuidadosa y en ausencia de capacidades de atención clínica y de salud pública ampliadas, es probable que el levantamiento prematuro de las medidas de distanciamiento físico conduzca a un resurgimiento incontrolado de la transmisión del COVID-19 y una segunda o tercera ola de casos amplificada.

Se sabe que el Sars-Cov-2 muta, siendo la tasa de mutación viral aproximadamente de 1 a 2 por mes, es decir, el Sars-Cov-2 de hoy difiere del virus secuenciado en China en enero del 2020, al respecto lo importante es que las mutaciones no afecten el diagnóstico ni la eficacia de la vacuna.

Hay que considerar la experiencia científica con otros virus previos al Sars-Cov-2, en especial respecto a la gripe, ya que en otros países han emprendido investigaciones de alrededor de 15 años o más para obtener una vacuna, sin embargo, el inconveniente de las mutaciones en el virus ha jugado ponderalmente hacia la resistencia e ineffectividad de la vacuna, y ese es un riesgo que se puede extrapolar al futuro del COVID-19.

La situación del COVID-19, tomo a la gran mayoría de países por sorpresa, por no contar con las condiciones adecuadas para tratar a muchos pacientes, considerando además las limitantes de espacio en los hospitales, así como los requerimientos de implementar nuevas medidas de bioseguridad y zonas aisladas, para evitar la propagación del virus en ambientes hospitalarios; se plantea la necesidad de promover el desarrollo en salud tanto para la comunidad como en investigación a fin de emprender proyectos internos en beneficio para la población, generar laboratorios de investigación en vacunas, algo que

no es nuevo, ya que en el antiguo INH se desarrollaron vacunas, en convenio con Japón.

Finalmente, la actualización establece el cambio requerido en el sistema internacional para ayudar a los países a planificar, financiar e implementar gestiones de salud importantes frente al COVID-19. El mundo nunca se había enfrentado a esta escala de desafíos. COVID-19 ha generado una crisis global, y la única manera de superarla es aunando fuerzas con solidaridad.

7. Conclusiones

De acuerdo al nivel de evidencia alto a moderado y tomando en cuenta los beneficios y riesgos establecemos las siguientes conclusiones:

- Actualmente, puede haber muchos objetivos prometedores para el SARS-CoV-2, pero aún se deben contar con más pruebas de laboratorio y clínicas que avalen tanto las tecnologías innovadoras que están utilizando algunos laboratorios en el desarrollo de la vacuna, así como un seguimiento de los efectos post vacunación en especial pacientes geriátricos que son vulnerables dada las condiciones del sistema inmune por la edad.

- Dada la premura del tiempo y el requerimiento de contar con una vacuna que frene la propagación del covid-19, el desarrollo de vacunas representa desafíos científicos y técnicos para garantizar la calidad, seguridad, eficacia, lo cual requiere además tiempo e inversión de recursos.

- Desde que la OMS declaró la pandemia COVID-19, algunas universidades e instituciones de investigación han aunado esfuerzos para

desarrollar una vacuna que permita enfrentar la pandemia de COVID-19.

- Una vez desarrollada la vacuna es importante contar con un plan de vacunación que garantice el acceso equitativo a toda la población, motivo por el cual los Ministerios de salud deben, gestionar las prioridades para empezar con la vacunación siendo conscientes del inminente riesgo que conlleva el no contar con estudios a largo plazo y post vacunación, considerando que puede haber pacientes vulnerables que decaigan ante la vacuna.

- Los programas de inmunización deben dar prioridad a la elaboración de los planes nacionales de vacunación, así como contar con la infraestructura necesaria, incluyendo cadena de frío y sistemas de información y ayuda en caso de reacciones alérgicas o efectos a la vacuna.

- Las lecciones que han dejado los planes de vacunación en pandemias anteriores, como es el caso de ebola, zika, forjan la necesidad de contar con sitios de vigilancia activa ante efectos adversos, así como prestar atención inmediata a pacientes geriátricos, enfermos crónicos y grupos vulnerables.

- De acuerdo con el nivel de evidencia observado y tomando en cuenta los datos de la revisión respecto a riesgos y beneficios de la vacuna sugerimos que no hay una vacuna que garantice la seguridad y eficacia, motivo por el cual se están realizando estudios al respecto en etapas post-vacunación, sin embargo con respecto a la aplicación es necesario evaluar el riesgo versus el beneficio, siendo que el virus SARS-COV-2, es parte de la vida diaria y habrá que aprender a convivir con esta realidad.

Sesgo de investigación

Al ser este trabajo una revisión bibliográfica, hay posibilidad de sesgo de observación: de lo que se observa y con lo que se observa, las diferentes publicaciones revisados portan como común información estudios de SARS-COV-2 (COVID-19), desde diferentes enfoques inmunopatogénicos, moleculares, tomando como antecedente información microbiológica publicada en el 2015 por investigadores de China, con la pandemia declarada en el 2020, se ha acelerado la investigación tanto clínica como biotecnológica respecto al SARS-COV-2, así como información del desarrollo de vacunas, motivo de ello con los avances e investigación esta revisión puede presentar sesgo de publicación ulterior. Se ha procurado minimizar el sesgo observacional a través de comparaciones de publicaciones y resultados, sin embargo, se debe considerar que avanzan las investigaciones en el área del COVID-19 y con ello diariamente habrá conocimientos más actualizados y puede haber sesgo de publicación.

También se debe considerar el sesgo de empleo de información relacionada a la investigación obtenida a partir de clínicos, epidemiólogos, e investigadores en cuyas actividades se debe contemplar: la asignación aleatoria de los grupos en estudio, enmascaramiento de las mediciones, utilización de instrumentos de medición válidos y confiables, el entrenamiento de los investigadores, detección de incoherencias en las mediciones, considerando además que no ha sido un criterio de selección la corrección estadística de los sesgos, puede haber interpretación de resultados en función de los sesgos cometidos, sin embargo se ha tratado de minimizar este sesgo buscando información científica de revistas indexadas.

Referencias

1. Consejo General de Colegios Farmacéuticos. Informe Técnico corona-virus covid 19. Portalfarma [Internet]. 2020;1–37. Available from: <https://www.portalfarma.com/Profesionales/campanaspf/Asesoramiento-salud-publica/infeccion-coronavirus-2019-nCoV/Documents/Informe-tecnico-Coronavirus.pdf>
2. Organización Panamericana de la Salud. La pandemia por COVID-19 golpeó las Américas en 2020 [Internet]. sitio web. 2020. Available from: <https://www.paho.org/es/noticias/30-12-2020-pandemia-por-covid-19-golpeo-americas-2020>
3. World Health Organization. TEMAS DE SALUD, CORONAVIRUS [Internet]. sitio web. 2020. p. 1. Available from: https://www.who.int/health-topics/coronavirus#tab=tab_1
4. Burki TK. The Russian vaccine for COVID-19. *Lancet Respir Med* [Internet]. 2020;8(11):e85–6. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30402-1](http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30402-1)
5. World Health Organization, Mission China Joint. Report of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). WHO-China Jt Mission Coronavirus Dis 2019 [Internet]. 2020;2019(February):16–24. Available from: <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/who-china-joint-mission-on-covid-19-final-report.pdf>
6. Abellán García A, Aceituno P, Allende A, De Andrés A. Una Visión Global De La Pandemia Covid-19: Qué Sabemos Y Qué Estamos Investigando Desde El Csic. *Glob*

- Heal del CSIC [Internet]. 2020;258. Available from: https://www.csic.es/sites/default/files/informe_cov19_pti_salud_global_csic_v2_1.pdf
7. Lozada-Requena I, Núñez Ponce C. COVID-19: respuesta inmune y perspectivas terapéuticas. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* [Internet]. 2020;37(2):312–9. Available from: <https://scielosp.org/pdf/rpmesp/2020.v37n2/312-319/es>
 8. ECDC C europeo para la prevención y el control de enfermedades. Pruebas de diagnóstico y detección de SARS-CoV-2 [Internet]. sitio web. 2020. p. 1–4. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latest-evidence/diagnostic-testing>
 9. World Health Organization. WHO issues its first emergency use validation for a COVID-19 vaccine and emphasizes need for equitable global access [Internet]. sitio web. 2020. Available from: <https://www.who.int/news/item/31-12-2020-who-issues-its-first-emergency-use-validation-for-a-covid-19-vaccine-and-emphasizes-need-for-equitable-global-access>
 10. Chen LL, Wu WL, Chan WM, Fong CHY, Ng ACK, Ip JD, et al. Assessment of population susceptibility to upcoming seasonal influenza epidemic strain using interepidemic emerging influenza virus strains. *Epidemiol Infect* [Internet]. 2019;147. Available from: <https://www.cambridge.org/core/journals/epidemiology-and-infection/article/assessment-of-population-susceptibility-to-upcoming-seasonal-influenza-epidemic-strain-using-interepidemic-emerging-influenza-virus-strains/3697DD4D280AB1218F2448D258928000>
 11. ARBOR ASSAYS. Acerca del virus SARS-CoV-2 [Internet]. 2020. p. 1–4. Available from: <https://www.arborassays.com/sars-cov-2-elisa-kits/>
 12. World Health Organization. Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases. WHO - Interim Guid [Internet]. 2020;2019(January):1–7. Available from: [https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-testing-of-2019-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)-in-suspected-human-cases-interim-guidance-17-january-2020](https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-testing-of-2019-novel-coronavirus-(2019-ncov)-in-suspected-human-cases-interim-guidance-17-january-2020)
 13. Onoda M, Chamorro Martínez MJ. PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DE LABORATORIO DE COVID-19. *Asoc Española Pediatría* [Internet]. 2020;1–15. Available from: https://www.aepap.org/sites/default/files/documento/archivos-adjuntos/pruebas_diagnosticas_de_laboratorio_de_covid_vfinal.pdf
 14. Zhou P, Yang X Lou, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* [Internet]. 2020;579(7798):270–3. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>
 15. Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC, Garry RF. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nat Med* [Internet]. 2020;26(4):450–2. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41591-020-0820-9.pdf>
 16. Chan JFW, Lau SKP, To KKW, Cheng VCC, Woo PCY, Yue KY. Middle East Respiratory syndrome coronavirus: Another zoonotic betacoronavirus causing SARS-like disease. *Clin Microbiol Rev* [Internet].

- 2015;28(2):465–522. Available from: <https://cmr.asm.org/content/cmr/28/2/465.full.pdf>
17. Li X, Geng M, Peng Y, Meng L, Lu S. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *J Pharm Anal* [Internet]. 2020;10(2):102–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2020.03.001>
 18. Li G, De Clercq E. Therapeutic options for the 2019 novel coronavirus (2019-nCoV). *Nat Rev Drug Discov* [Internet]. 2020;19(3):149–50. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/d41573-020-00016-0>
 19. Cheng VCC, Lau SKP, Woo PCY, Kwok YY. Severe acute respiratory syndrome coronavirus as an agent of emerging and reemerging infection. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20(4):660–94.
 20. Soto GP. Bases Genéticas y Moleculares del COVID-19 (SARS-CoV-2). Mecanismos de Patogénesis y de Respuesta Inmune. *Int J Odontostomatol* [Internet]. 2020;14(3):331–7. Available from: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/ijodontos/v14n3/0718-381X-ijodontos-14-03-331.pdf>
 21. Barrett JR, Belij-Rammerstorfer S, Dold C, Ewer KJ, Folegatti PM, Gilbride C, et al. Phase 1/2 trial of SARS-CoV-2 vaccine ChAdOx1 nCoV-19 with a booster dose induces multifunctional antibody responses. *Nat Med* [Internet]. 2021;27(2):279–88. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41591-020-01179-4.pdf>
 22. Young BE, Fong SW, Chan YH, Mak TM, Ang LW, Anderson DE, et al. Effects of a major deletion in the SARS-CoV-2 genome on the severity of infection and the inflammatory response: an observational cohort study. *Lancet* [Internet]. 2020;396(10251):603–11. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31757-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31757-8)
 23. Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Velesler D. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell* [Internet]. 2020;181(2):281-292.e6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.058>
 24. Ministerio de sanidad igualdad y asuntos sociales. Información Científica-Técnica Coronavirus. Cent Coord Alertas y Emergencias Sanit [Internet]. 2021;1:73. Available from: <https://www.msbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/ITCoronavirus.pdf>
 25. European Commission. Guidelines on COVID-19 in vitro diagnostic tests and their performance. 2020;9. Available from: https://ec.europa.eu/info/sites/info/files/testing_kits_communication.pdf
 26. Tu X, Po Wai C, Zhai Y, Zhang H, Zhang F, Wang S, et al. Los polimorfismos funcionales de los genes CCL2 y MBL aumentan de forma acumulativa la susceptibilidad a la infección por coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave. *Elsevier* [Internet]. 2015;71(1):101–9. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0163445315000900>
 27. Liu J, Wu P, Gao F, Qi J, Kawana-Tachikawa A, Xie J, et al. Novel Immunodominant Peptide Presentation Strategy: a Featured HLA-A*2402-Restricted Cytotoxic T-Lymphocyte Epitope Stabilized by Intrachain Hydrogen Bonds from Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus

- Nucleocapsid Protein. *J Virol* [Internet]. 2010;84(22):11849–57. Available from: <https://jvi.asm.org/content/jvi/84/22/11849.full.pdf>
28. Kamradt T. El futuro de las vacunas contra el SARS-CoV-2 [Internet]. sitio web. 2020. Available from: https://covidreference.com/vaccines_es
29. Chan KH, Cheng VCC, Woo PCY, Lau SKP, Poon LLM, Guan Y, et al. Serological responses in patients with severe acute respiratory syndrome coronavirus infection and cross-reactivity with human coronaviruses 229E, OC43, and NL63. *Clin Diagn Lab Immunol* [Internet]. 2005;12(11):1317–21. Available from: <https://cvi.asm.org/content/cdli/12/11/1317.full.pdf>
30. Su S, Wong G, Shi W, Liu J, Lai ACK, Zhou J, et al. Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses. *Trends Microbiol* [Internet]. 2016;24(6):490–502. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2016.03.003>
31. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet* [Internet]. 2020;395(10224):565–74. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8)
32. Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J Med Virol* [Internet]. 2020;92(4):418–23. Available from: https://www.researchgate.net/publication/338754550_Coronaviruses_genome_structure_replication_and_pathogenesis/link/5e41141692851c7f7f2bcd18/download
33. Braun J, Loyal L, Frentsch M, Wendisch D, Georg P, Kurth F, et al. Presence of SARS-CoV-2-reactive T cells in COVID-19 patients and healthy donors. *medRxiv* [Internet]. 2020; Available from: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.04.17.20061440v1.full.pdf>
34. Ewer KJ, Barrett JR, Belij-Rammerstorfer S, Sharpe H, Makinson R, Morter R, et al. T cell and antibody responses induced by a single dose of ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222) vaccine in a phase 1/2 clinical trial. *Nat Med* [Internet]. 2021;27(2):270–8. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41591-020-01194-5.pdf>
35. BBC News. Mutación del coronavirus: qué se sabe de la nueva variante del virus detectada en Reino Unido que llevó a la imposición de una dura cuarentena en Londres y otras regiones del país. 2020;1. Available from: <https://www.bbc.com/mundo/noticias-55318705>
36. Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, Mateus J, Dan JM, Moderbacher CR, et al. Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. *Cell* [Internet]. 2020;181(7):1489-1501.e15. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.05.015>
37. Mayte Coiras, Francisco Diez, Elena Primo, Cristina Bojo B, Pérez-Gómez, Francisco David Rodríguez, Esther García-Carpintero, Luis María Sánchez JA, Plaza, Débora Álvarez JA. INFORME DEL GRUPO DE ANALISIS CIENTÍFICO DE CORONAVIRUS DEL ISCIII (GACC-ISCIII). LA RESPUESTA INMUNITARIA

- FRENTE AL CORONAVIRUS SARS-COV-2 * Este informe está realizado con la evidencia científica disponible en la fecha de su elaboración y podrá ser actu. 2020;10. Available from: <https://www.conprueba.es/sites/default/files/informes/2020-05/Desarrollo-vacunas-frente-sars-cov-2.pdf>
38. Centro Nacional de Epidemiología Prevención y Control de Enfermedades - MINSA. Sala situacional COVID-19 Perú [Internet]. 2020. Available from: <https://www.dge.gob.pe/salasituacional/>
39. El universo. Coronavirus: ¿Qué riesgos conlleva aplicarse una vacuna que aún no completa todas sus fases? Agence France-Press [Internet]. 2020; Available from: <https://www.eluniverso.com/larevista/2020/08/11/nota/7938142/riesgos-vacuna-rapida-rusia-diferencias-vacunas/>
40. BBC News. Covid: What do we know about China's coronavirus vaccines? 2020;3. Available from: <https://www.bbc.com/news/world-asia-china-55212787>
41. Collaway E, Nik S. The race for a coronavirus vaccine. Rev Bionatura [Internet]. 2020;5(4):1290–2. Available from: <https://media.nature.com/original/magazine-assets/d41586-020-01221-y/d41586-020-01221-y.pdf>
42. Enjuanes S L, C. Z, Castaño-Rodríguez G-A, J C, I. S. Capítulo ocho - Bases moleculares de la virulencia del coronavirus y el desarrollo de vacunas. Elsevier [Internet]. 2016;96:245–86. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065352716300422?via%3Dihub>
43. Jon C. La vacuna COVID-19 protege a los monos. Science [Internet]. 2020;1. Available from: <https://science.sciencemag.org/content/368/6490/456/tab-pdf>
44. Comité Asesor de Vacunas. VACUNAS CONTRA LA COVID DE VECTORES VIRALES: CHADOX1 DE LA UNIVERSIDAD DE OXFORD Y ASTRAZENECA [Internet]. 2020. p. 1–10. Available from: <https://vacunasaep.org/profesionales/noticias/covid-vacunas-vector-viral-ChAdOx1-Oxford-AstraZeneca>
45. Organización Panamericana de la Salud, Salud OM de la. Vacunas contra la COVID-19 [Internet]. 2020. Available from: <https://www.paho.org/es/vacunas-contra-covid-19>
46. Vacunología A española de. La vacuna frente a la COVID-19 de Sinovac Biotech y su precio para personal de alto riesgo [Internet]. 2020. p. 1. Available from: <https://www.vacunas.org/la-vacuna-frente-a-la-covid-19-de-sinovac-biotech-y-su-precio-para-personal-de-alto-riesgo/>
47. Vacunas C asesor de. VACUNAS CONTRA LA COVID DE ARN: MRNA-1273 DE MODERNA [Internet]. Asociación Española de Pediatría. 2020. Available from: <https://vacunasaep.org/profesionales/noticias/covid-vacunas-ARN-mRNA-1273-Moderna>
48. Vacunología A española de. La farmacéutica Moderna actualiza los datos provisionales de su vacuna mRNA-1273 [Internet]. 2020. p. 1. Available from: <https://www.vacunas.org/la-farmacautica-moderna-actualiza-los-datos-provisionales-de-su-vacuna-mrna-1273/>
49. Moderna. El trabajo de moderna en la VACUNA COVID-19 [Internet]. sitio web. 2020. Available from: <https://www.modernatx.com/modernas->

- work-potential-vaccine-against-covid-19
50. Fundación FENEBA. Durabilidad de la respuesta tras la aplicación de la vacuna mRNA-1273 (Moderna) contra el SARS-CoV-2 [Internet]. web site. 2020. Available from: <https://www.fundacionfemeba.org.ar/blog/farmacologia-7/post/durabilidad-de-la-respuesta-tras-la-aplicacion-de-la-vacuna-mrna-1273-moderna-contra-el-sars-cov-2-48648>
 51. World Health Organization. Formación sobre Tozinameran, vacuna de ARNm frente a la COVID-19 (con nucleósidos modificados) – COMIRNATY® (Pfizer–BioNTech). sitio web. 2020.
 52. GK City. La vacuna de Pfizer y BioNTech fue autorizada para uso de emergencia en el Reino Unido. 2020; Available from: <https://gk.city/2020/12/02/uso-emergencia-vacuna-pfizer/>
 53. BIONTECH. Pfizer Y Biontech Celebran Histórica Primera. 2021;1–8. Available from: https://www.pfizer.com.ec/sites/pfizer.com.ec/files/g10060256/f/202012/PFIZER_Y_BIONTECH_Comunicado_EUA_PP-PFE-ECU-0354_disclaimer.pdf
 54. Vacunología A española de. Inovio y BionTech/Pfizer anuncian resultados esperanzadores de las fases I/II de sus vacunas de ADN y de mRNA, respectivamente [Internet]. 2020. p. 1. Available from: <https://www.vacunas.org/inovio-y-biontechpfizer-anuncian-resultados-esperanzadores-de-las-fases-iii-de-sus-vacunas-de-adn-y-de-marn-respectivamente/>
 55. CanSinoBIO. La vacuna en investigación de CanSinoBIO contra COVID-19 aprobada para un ensayo clínico de fase 1 en China [Internet]. 2020. p. 1. Available from: <http://www.cansinotech.com/html/1///179/180/408.html>
 56. INOVIO. Inovio acelera el plazo para la vacuna de ADN COVID-19 INO-4800 Marzo 03, 2020 [Internet]. sitio web. 2020. Available from: <https://ir.inovio.com/news-releases/news-releases-details/2020/Inovio-Accelerates-Timeline-for-COVID-19-DNA-Vaccine-INO-4800/default.aspx>
 57. Vacunología A española de. Primeros resultados de las vacunas en desarrollo: Oxford Vaccine Group y Moderna, INC [Internet]. 2020. p. 1. Available from: <https://www.vacunas.org/primeros-resultados-de-las-vacunas-en-desarrollo-oxford-vaccine-group-y-moderna-inc/>
 58. V S. SPUTNIK V [Internet]. sitio web. 2020. Available from: <https://sputnikvaccine.com/esp/about-vaccine/>, consultado el 19 de enero del 2021
 59. Zylberman V, Sanguineti S, Pontoriero A V., Higa S V., Cerutti ML, Seijo SMM, et al. Development of a hyperimmune equine serum therapy for covid-19 in Argentina. Medicina (B Aires) [Internet]. 2020;80:1–6. Available from: <https://www.medicinabuenosaires.com/revistas/vol80-20/s3/1.pdf>
 60. CIME C de I de M. COVID-19: ANMAT aprobó el suero equino hiperinmune y la primera vacuna en Argentina [Internet]. 2020. p. 1. Available from: <http://cime.fcq.unc.edu.ar/covid-19-anmat-aprobo-el-suero-equino-hiperinmune-y-la-primera-vacuna-en-argentina/>

INTRODUCCIÓN

El género *Picramnia* ha sido reportado a lo largo de América tropical (Jacobs, 2003). Este ha evidenciado la presencia de antraquinonas, derivados antracénicos, ácidos grasos y terpenoides (Alves et al., 2014; Jacobs, 2003). La especie *Picramnia magnifolia* J.F. Macbr no ha sido caracterizada fitoquímicamente, sin embargo ha demostrado actividad antimicrobiana en los extractos etanólicos y acuosos de sus hojas. Adicionalmente, se sabe que las hojas de esta planta han sido usadas tradicionalmente para el tratamiento de afecciones cutáneas (Andoque-Andoque et al., 2009) y como colorante (Tapuy, 2017).



Don Gabriel Tapuy. Guía

OBJETIVO

Caracterizar los metabolitos secundarios y estudiar la inhibición de células cancerígenas de los extractos de una especie de planta perteneciente al género *Picramnia* ubicada en la provincia de Napo.

METODOLOGÍA

Recolección partes aéreas: Reserva Biológica Jatun Sacha, Napo, Ecuador 18M 0208827.



Pre-tratamiento de muestra: descarte de raquis, secado a 40°C por 120 h y molienda.

Análisis para determinar presencia de antraquinonas y taninos.

Maceración consecutiva de 70 g de muestra con 500 mL de éter etílico, diclorometano y metanol.

Maceración consecutiva de 70 g de muestra con 3 porciones de 500 mL de metanol.

Partición en éter de petróleo y éter etílico

Tercera maceración

Estudio de inhibición en líneas celulares cancerígenas RKO y SW613-B3

Segunda maceración

Análisis por GC-MS, ¹HMRN y ¹³CRMN.

Partición en éter de petróleo y éter etílico y purificación por columna cromatográfica

Primera maceración

A todos los extractos se les realizó TLC y pruebas cualitativas para determinar la presencia de fenoles, flavonoides y terpenoides.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización cualitativa de metabolitos

Se comprobó la presencia de antraquinonas (Figura 1) y taninos en las hojas secas.

En 7 de los extractos se demostró la existencia de metabolitos de interés según lo mostrado en la Tabla 1.



Figura 1.- Coloración rojiza que evidencia la presencia de antraquinonas.

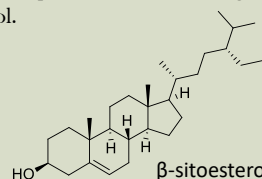
Tabla 1.- Presencia de flavonoides, terpenoides y fenoles en los extractos.

Descripción extracto	Presencia	Descripción extracto	Presencia
Maceración Éter en petróleo ^a	Flavonoides	Residuo Acuoso Partición-MeOH-1 ^b	Fenoles
Maceración en MeOH ^a	Terpenoides	Partición EE del macerado MeOH-3 ^b	Fenoles
Partición EP del macerado MeOH-1 ^b	Terpenoides	Residuo Acuoso Partición-MeOH-3 ^b	Fenoles
Partición EE del macerado MeOH-1 ^b	Fenoles		

^a Maceración consecutiva muestra 1.
^b Maceración consecutiva muestra 2.

Caracterización espectroscópica de metabolitos

Los análisis de ¹HMRN, ¹³CRMN y GC-MS de dos fracciones obtenidas de la purificación por columna cromatográfica revelaron la presencia de β-sitosterol y crisofanol.



Actividad Biológica

Tabla 2.- Porcentaje de Viabilidad de células de cáncer de colon expuestas a extractos de *Picramnia* spp. durante 48 horas

Línea Celular	Macerado en éter de petróleo	Macerado en diclorometano	Macerado en MeOH	Segundo macerado Consecutivo en MeOH	Doxorubicina 0,5µM
RKO	86 ± 0,7	87 ± 0,7	18 ± 2,3	68 ± 11,0	67 ± 13,6
SW613-B3	S.A.	S.A.	68 ± 10,4	S.A.	76 ± 0,7

S.A. = Sin actividad

CONCLUSIÓN

La especie de *Picramnia* analizada muestra metabolitos presentes en otras especies del mismo género. Además, evidencia actividad biológica contra células RKO. Por lo tanto, el aislamiento y la elucidación estructural de la molécula responsable de esta actividad son necesarias. Se puede especular que la actividad biológica se debe a la presencia de la antraquinona Crisofanol.

REFERENCIAS

- Alves, I. A. B. S., Miranda, H. M., Soares, L. A. L., & Randau, K. P. (2014). Simaroubaceae family: Botany, chemical composition and biological activities. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2014.07.021>
- Andoque-Andoque, H., Andoque-Andoque, D., Andoque-Andoque, M., Andoque-Andoque, H., & Andoque-Andoque, R. (2009). *Plantas medicinales de la gente Hacha*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
- Jacobs, H. (2003). Comparative phytochemistry of *Picramnia* and *Alvaradoa*, genera of the newly established family *Picramniaceae*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31(7), 773-783. [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(02\)00268-5](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(02)00268-5)
- Tapuy, Gabriel. Comunicación personal.

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

La revista **QUÍMICA CENTRAL Ciencia y Naturaleza** publica artículos originales en todos los campos de la química que contengan resultados de investigaciones experimentales, teóricas o aplicadas, que no hayan sido publicados anteriormente ni que estén bajo consideración en otras revistas.

Recepción de manuscritos

Los manuscritos se recibirán solamente por vía electrónica, en formato de Microsoft Office Word u Open Office Writer para Windows, al correo del Consejo Editorial (revista.fcq@uce.edu.ec) con un máximo de 5 MB por archivo. Los manuscritos para ser evaluados no deben haber sido anteriormente publicados en ningún medio físico o electrónico. El manuscrito debe ir acompañado de una carta o un texto de correo electrónico solicitando al Consejo Editorial su publicación

e indicando que el mismo no ha sido publicado previamente, ni está siendo evaluado para su publicación en otra revista y que todos los autores que aparecen en el manuscrito conocen y aceptan el contenido del mismo.

Revisión y publicación

Cada manuscrito recibido será sometido a un proceso de evaluación por revisores calificados. La identidad de los revisores es confidencial y sus nombres no serán revelados al autor. La decisión sobre la publicación del manuscrito se notificará por correo electrónico a la persona de contacto junto con el informe de los revisores.

Formato del manuscrito

El manuscrito debe ser redactado en tamaño de papel A4 (21.0 x 29.7 cm), márgenes derecho, izquierdo, superior e inferior de 2.0 cm. Todo el texto debe estar escrito usando fuente Times New Roman según la plantilla, usar cursiva para los nombres en latín de organismos vivos. No sangrar la primera línea de cada párrafo luego de punto aparte o de un título. No van espacios en blanco entre los párrafos. Deberá emplearse el Sistema Internacional de Unidades (SI). No utilizar división automática de palabras para separar sílabas. No emplear notas al pie de página. Después del número va punto y espacio, la primera letra con mayúscula. El límite del manuscrito es de 5000 palabras.

Organización del manuscrito

Las secciones del manuscrito son:

Título

Autores

Filiación

Resumen y palabras claves

Title

Abstract y key words

1. Introducción
2. Parte experimental.
3. Resultados y Discusión
4. Conclusiones
5. Agradecimientos (opcional)
6. Referencias
7. Información de soporte

Título

El título debe ser claro, conciso y escogido cuidadosamente para reflejar el contenido del trabajo reportado. No utilizar abreviaturas.

Autores

Nombre del autor y apellido, en caso de utilizar los dos apellidos unirlos por un guión. Listar los autores del trabajo que han hecho una sustancial contribución al trabajo, seguido de número que indique la filiación. El nombre del líder académico a quien va dirigida la correspondencia se marcará con un asterisco (*). Deben omitirse todos los títulos, ocupaciones y grados académicos como: Prof., Coord., Dr., Lcdo., MSc, PhD.

Filiación

Lugar donde se realizó la investigación seguido de la adscripción, departamento o centro, Universidad o Institución, Ciudad, País

Autor de correspondencia

El correo electrónico institucional del autor de correspondencia. Si el autor a quien va dirigida la correspondencia ya no está en la institución donde el trabajo fue realizado, colocar la dirección actual como una nota al pie de página marcada con doble asterisco (**).

Resumen

Todos los manuscritos deben tener un resumen del trabajo realizado. Contiene una clara indicación del objetivo, los resultados más importantes y las conclusiones para que los lectores puedan determinar si el texto completo será de su interés. Debe estructurarse en un solo párrafo, no debe exceder las 200 palabras y no debe incluir ecuaciones ni referencias.

Palabras Claves: Colocar de tres a cinco palabras clave que faciliten la difusión del manuscrito.

Title, Abstract and Key Words.

Poner el título, el resumen y las palabras clave del manuscrito en inglés,

Introducción

En la introducción debe indicarse claramente el propósito y los objetivos de la investigación. No debe incluirse una revisión extensa de trabajos previos, solamente una revisión bibliográfica relevante. La introducción no debe extenderse a más una página.

Parte Experimental

Esta sección debe presentar una descripción clara y sin ambigüedades de los materiales, métodos y equipos utilizados con suficiente detalle que permita la reproducción del trabajo por otros investigadores. Debe evitarse descripciones repetitivas de un procedimiento general. La sección debe estar dividida en subsecciones. Debe indicarse explícitamente las precauciones de manejo de material peligroso o de procedimientos peligrosos y, en caso de uso de animales, la aprobación correspondiente por el comité ético local.

Resultados y discusión

La función de esta sección es presentar objetivamente los principales resultados y su interpretación en una secuencia lógica. No debe incluir detalles experimentales y debe redactarse en tiempo pasado. Se recomienda utilizar tablas, esquemas y figuras para mostrar los resultados. No debe presentarse el mismo resultado en tablas y en figuras. De ser necesario indicar el procedimiento estadístico empleado para analizar los resultados y reportar el nivel de significancia utilizado. Debe relacionarse los resultados del artículo con lo encontrado en otros estudios similares.

Conclusiones

Esta sección resume brevemente las principales conclusiones del trabajo y no debe ser un duplicado de la información del resumen (abstract) ni repetir puntos de la discusión. La conclusión debe estar basada en la evidencia presentada.

Agradecimientos (opcional)

Esta sección puede usarse para agradecer discusiones de otros investigadores o asistencia técnica de personas que no son coautores del trabajo. También, puede agradecerse la asistencia económica o donación de reactivos.

Referencias

Deben listarse y enumerarse todas las referencias bibliográficas en el orden que aparecen en el manuscrito. En el texto del manuscrito, la referencia se cita usando números arábigos como superíndices, después de un punto o una coma. No deberá incluirse en la referencia material bibliográfico que no haya sido señalado explícitamente con un número en el texto. Los nombres de revistas deben ir abreviados. Para el formato de las referencias utilizar las guías de la *American Chemical Society*.

Ecuaciones

Las ecuaciones deben estar enumeradas consecutivamente, con el número entre paréntesis (1) y alineado a la derecha. Se puede utilizar el editor de Ecuaciones de Word o MathType

Estructuras Químicas

Las estructuras químicas deben dibujarse usando cualquier programa para el efecto como: ChemDraw formato ACS 1996, ISIS/Draw, ChemSketch u otros.

Caracterización de compuestos

Para todos los compuestos nuevos, debe proveerse evidencia que permita establecer su identidad y grado de pureza. La evidencia de la identidad de compuestos nuevos debe incluir espectros de ¹H-RMN, ¹³C-RMN, HRMS o datos de análisis elemental. Para compuestos sintetizados y que han sido previamente reportados en la literatura, debe citarse el método de preparación y los datos de la bibliografía las técnicas empleadas para determinar su pureza.

Figuras, esquemas y tablas

Todas las figuras, esquemas y tablas deben mencionarse en el texto en orden consecutivo y numeradas independientemente con números arábigos. Los esquemas y las figuras llevarán la descripción al final del gráfico, Pie de figura. Esta descripción debe ser clara y permitirá entender la figura sin necesidad leer el cuerpo del manuscrito. Las imágenes deben directamente en el cuerpo del manuscrito en formato TIFF o JPGE.

Las Tablas estarán en formato de Word o similar y no insertadas como imagen, el título de cada tabla debe ir en la parte superior de la tabla. Comprobar que las leyendas sean legibles.

Información de soporte

De requerirse en esta sección se puede añadir información extra que ayuda a entender o evidenciar o resaltar un hecho o discusión abordado en la parte de discusiones.

Bibliografía Recomendada:

- Anderson, G. (2004). How to write a paper in scientific journal style and format. Recuperado el 15 de enero de 2010, de sitio Web de Bates College: <http://abacus.bates.edu/~ganderso/biology/resources/writing/HTWtoc.html>
- Coghill, A. M., & Garson, L. R. (Edits.). (2006). The ACS Style ed.). The ACS Style Guide: Effective Communication of Scientific Information (Third ed.). New York: Oxford University Press.
- Day, R. A (2005). Como escribir y publicar trabajos científicos (Tercera ed., Vol. 598). (M. Sáenz, Trad.) Washington, DC: Organización Panamericana de la Salud.

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

La revista **QUÍMICA CENTRAL Ciencia y Naturaleza** publica artículos originales en todos los campos de la química que contengan resultados de investigaciones experimentales, teóricas o aplicadas, que no hayan sido publicados anteriormente ni que estén bajo consideración en otras revistas.

Recepción de manuscritos

Los manuscritos se recibirán solamente por vía electrónica, en formato de Microsoft Office Word u Open Office Writer para Windows, al correo del Consejo Editorial (revista.fcq@uce.edu.ec) con un máximo de 5 MB por archivo. Los manuscritos para ser evaluados no deben haber sido anteriormente publicados en ningún medio físico o electrónico. El manuscrito debe ir acompañado de una carta o un texto de correo electrónico solicitando al Consejo Editorial su publicación

e indicando que el mismo no ha sido publicado previamente, ni está siendo evaluado para su publicación en otra revista y que todos los autores que aparecen en el manuscrito conocen y aceptan el contenido del mismo.

Revisión y publicación

Cada manuscrito recibido será sometido a un proceso de evaluación por revisores calificados. La identidad de los revisores es confidencial y sus nombres no serán revelados al autor. La decisión sobre la publicación del manuscrito se notificará por correo electrónico a la persona de contacto junto con el informe de los revisores.

Formato del manuscrito

El manuscrito debe ser redactado en tamaño de papel A4 (21.0 x 29.7 cm), márgenes derecho, izquierdo, superior e inferior de 2.0 cm. Todo el texto debe estar escrito usando fuente Times New Roman según la plantilla, usar cursiva para los nombres en latín de organismos vivos. No sangrar la primera línea de cada párrafo luego de punto aparte o de un título. No van espacios en blanco entre los párrafos. Deberá emplearse el Sistema Internacional de Unidades (SI). No utilizar división automática de palabras para separar sílabas. No emplear notas al pie de página. Después del número va punto y espacio, la primera letra con mayúscula. El límite del manuscrito es de 5000 palabras.

Organización del manuscrito

Las secciones del manuscrito son:

Título

Autores

Filiación

Resumen y palabras claves

Title

Abstract y key words

1. Introducción
2. Parte experimental.
3. Resultados y Discusión
4. Conclusiones
5. Agradecimientos (opcional)
6. Referencias
7. Información de soporte

Título

El título debe ser claro, conciso y escogido cuidadosamente para reflejar el contenido del trabajo reportado. No utilizar abreviaturas.

Autores

Nombre del autor y apellido, en caso de utilizar los dos apellidos unirlos por un guión. Listar los autores del trabajo que han hecho una sustancial contribución al trabajo, seguido de número que indique la filiación. El nombre del líder académico a quien va dirigida la correspondencia se marcará con un asterisco (*). Deben omitirse todos los títulos, ocupaciones y grados académicos como: Prof., Coord., Dr., Lcdo., MSc, PhD.

Filiación

Lugar donde se realizó la investigación seguido de la adscripción, departamento o centro, Universidad o Institución, Ciudad, País

Autor de correspondencia

El correo electrónico institucional del autor de correspondencia. Si el autor a quien va dirigida la correspondencia ya no está en la institución donde el trabajo fue realizado, colocar la dirección actual como una nota al pie de página marcada con doble asterisco (**).

Resumen

Todos los manuscritos deben tener un resumen del trabajo realizado. Contiene una clara indicación del objetivo, los resultados más importantes y las conclusiones para que los lectores puedan determinar si el texto completo será de su interés. Debe estructurarse en un solo párrafo, no debe exceder las 200 palabras y no debe incluir ecuaciones ni referencias.

Palabras Claves: Colocar de tres a cinco palabras clave que faciliten la difusión del manuscrito.

Title, Abstract and Key Words.

Poner el título, el resumen y las palabras clave del manuscrito en inglés,

Introducción

En la introducción debe indicarse claramente el propósito y los objetivos de la investigación. No debe incluirse una revisión extensa de trabajos previos, solamente una revisión bibliográfica relevante. La introducción no debe extenderse a más una página.

Parte Experimental

Esta sección debe presentar una descripción clara y sin ambigüedades de los materiales, métodos y equipos utilizados con suficiente detalle que permita la reproducción del trabajo por otros investigadores. Debe evitarse descripciones repetitivas de un procedimiento general. La sección debe estar dividida en subsecciones. Debe indicarse explícitamente las precauciones de manejo de material peligroso o de procedimientos peligrosos y, en caso de uso de animales, la aprobación correspondiente por el comité ético local.

Resultados y discusión

La función de esta sección es presentar objetivamente los principales resultados y su interpretación en una secuencia lógica. No debe incluir detalles experimentales y debe redactarse en tiempo pasado. Se recomienda utilizar tablas, esquemas y figuras para mostrar los resultados. No debe presentarse el mismo resultado en tablas y en figuras. De ser necesario indicar el procedimiento estadístico empleado para analizar los resultados y reportar el nivel de significancia utilizado. Debe relacionarse los resultados del artículo con lo encontrado en otros estudios similares.

Conclusiones

Esta sección resume brevemente las principales conclusiones del trabajo y no debe ser un duplicado de la información del resumen (abstract) ni repetir puntos de la discusión. La conclusión debe estar basada en la evidencia presentada.

Agradecimientos (opcional)

Esta sección puede usarse para agradecer discusiones de otros investigadores o asistencia técnica de personas que no son coautores del trabajo. También, puede agradecerse la asistencia económica o donación de reactivos.

Referencias

Deben listarse y enumerarse todas las referencias bibliográficas en el orden que aparecen en el manuscrito. En el texto del manuscrito, la referencia se cita usando números arábigos como superíndices, después de un punto o una coma. No deberá incluirse en la referencia material bibliográfico que no haya sido señalado explícitamente con un número en el texto. Los nombres de revistas deben ir abreviados. Para el formato de las referencias utilizar las guías de la *American Chemical Society*.

Ecuaciones

Las ecuaciones deben estar enumeradas consecutivamente, con el número entre paréntesis (1) y alineado a la derecha. Se puede utilizar el editor de Ecuaciones de Word o MathType

Estructuras Químicas

Las estructuras químicas deben dibujarse usando cualquier programa para el efecto como: ChemDraw formato ACS 1996, ISIS/Draw, ChemSketch u otros.