

A quienes leen QuímicaViva (QV)

Beatriz S. Méndez

Departamento de Química Biológica. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires Buenos Aires. Argentina

bea@qb.fcen.uba.ar

[Versión para imprimir](#) 

Ha llegado el momento de despedirse. No culpo a la pandemia. Es una decisión personal.

Tal vez sea también el momento para recordar la rica historia de esta revista, más bien debida a la convicción y al trabajo de la Dra. Celia Coto que a sugerencias de mi parte. QV vio la luz en 2002, que no se caracterizó por ser uno de los mejores años de nuestro país. Sin embargo allí estaba el contenido de la revista dándole voz a científicos entusiastas que presentaban sus logros.

Con el tiempo llamó también la atención de distintos países como Venezuela, Méjico y España y así también de residentes en Estados Unidos, Brasil y Suiza para dar algunos ejemplos. Convertida de esta manera en una revista internacional cumplió la función de dar a conocer la Química de los seres vivos y de su ambiente como así también trabajos de educación, dentro del amplio mundo de los hispano hablantes, cualquiera fuese su nacionalidad.

Sus páginas albergan desde entonces contribuciones científicas y educativas enriquecidas con la particularidad de distintas vivencias y de un idioma en común, el que se habla en la casa, y en muchos casos en el laboratorio y en el dictado de clases.

Y esto realmente resultó, ya que desde 2002 hasta hoy, los tres números de QV han aparecido anualmente. Estoy segura que se puede seguir por este camino ya que los autores siguen presentes, se incorporaran como siempre muchos más y en nuestro Departamento de Química Biológica no faltan quienes se dedican con entusiasmo a QV, como ser la nueva directora la Dra. Erina Petrerá.

Al partir, vaya para mis colegas en la publicación de esta revista el agradecimiento a la comprensión y a la ayuda que me brindaron.

Beatriz

 **QuímicaViva**

SSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 20, Diciembre 2021

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

I proyecto micro ioma humano

Beatriz S. Méndez

Departamento de Química Biológica. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires Buenos Aires. Argentina

bea@qb.fcen.uba.ar

[Versión para imprimir](#) 

El proyecto del Microbioma humano (HMP human Microbiome Project) es una iniciativa del Instituto Nacional de Salud de Estados Unidos (NIH) cuyos objetivos son la identificación y caracterización de los microorganismos que se encuentran asociados a humanos, tanto en la salud como en la enfermedad.

Los microorganismos sabemos que son importantes porque fueron detectados como responsables de enfermedades, productores de bio sustancias y nos dieron una mano para entender la biología molecular. Desde su descubrimiento en 1670 por Anton van Leeuwenhoek hasta la histórica secuenciación del genoma de *Haemophilus influenzae* en 1995 [1,2], permitieron el desarrollo de la vacunación, la pasteurización, síntesis de antibióticos y de generosos biofilms [3-6].

Estas superpobladas comunidades microbianas tienen un amplio rango de actividades como así también son múltiples los espacios que ocupan, por lo cual considerarlas como un conjunto de organismos compartiendo hábitat no reflejaba su verdadera naturaleza. Fue entonces que se generó el término microbioma para nombrar una comunidad con propiedades físico químicas diferentes en un hábitat claramente definido como su “teatro de actividades” [7]. Se define como microbiota la comunidad de microorganismos presentes en un determinado ambiente. Dado que a los fagos, virus, plásmidos, priones, viroides y al DNA libre en el ambiente no se los considera como microorganismo de vida libre, no están incluidos en la microbiota [8]. El teatro de actividades si los incluye como así también a sus elementos estructurales es decir proteínas, lípidos, polisacáridos y los ácidos nucleicos.

El proyecto Microbioma se ha estado desarrollando mediante el estudio de distintos aspectos de la interacción de los humanos y los microbios. Dentro de este marco han recibido especial atención las relacionadas con el embarazo y los nacimientos prematuros como así también las enfermedades intestinales.

Los nacimiento prematuros se dan fundamentalmente en países con altos niveles de pobreza y afectan principalmente a las mujeres africanas [9]. Si bien en este caso la mortalidad infantil se ha reducido no sucede lo mismo con los nacimientos prematuros. Estudios llevados a cabo para aclarar dichos casos comprobaron que la microbiota vaginal difería de la que está presente en otras poblaciones [10] principalmente por bajos niveles de vitamina D [11]. Los resultados pusieron de manifiesto la necesidad de encarar el estudio de la contribución racial y demográfica del microbioma vaginal a las características especiales presentadas durante el embarazo en grupos de mujeres africanas [12].

Desde hace 50 años las enfermedades inflamatorias del Intestino, en especial la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa han aumentado su propagación mundial, asociadas a la urbanización, cambios en la dieta e infecciones microbianas. El microbioma ha sido un factor de peso en estas enfermedades ya sea como causante o como condición de riesgo [13]. Sin embargo, a pesar de los múltiples estudios realizados durante el curso de las enfermedades intestinales, no se ha podido obtener un modelo basado en las interacciones de carácter microbiano, molecular e inmunológico, que explique el inicio y la progresión de dichas enfermedades.

Es adecuado traer a consideración otras actividades, por ejemplo las desarrolladas en industrias, que ocasionan alteraciones de distinta índole en humanos y que conducen en algunos casos a enfermedades autoinmunes y obesidad. Un enfoque para detectar las causas que las producen es comparar los microbiomas ancestrales con los de origen actual. Un estudio reciente recurrió al ensamblado de microbiomas a partir de muestras de heces humanas provenientes de Méjico y del sur de Estados Unidos, cuyo origen se remonta a 1000 - 2000 años atrás. La comparación con las actuales, originarias de ocho países, mostraron mayor similitud con las pertenecientes a ambientes no industrializados. Fundamentalmente por la menor presencia de genes de resistencia a antibióticos y a la vez mayor cantidad de elementos genéticos móviles en comparación a las de origen industrial [14].

En conclusión los estudios de embarazo revelaron la inesperada noticia de la alta incidencia de parto prematuro en las mujeres de origen africano. Esto hace evidente y digno de analizar la influencia del carácter tanto racial como ambiental en estos eventos, como así también el rol de los microorganismos en las enfermedades intestinales y las que se presentan en ambientes industriales.

Si bien los resultados se han obtenido en Estados Unidos, también sucede que otros países se ven afectados por enfermedades, incluido el nuestro, por lo que sería importante difundir el conocimiento que se ha alcanzado con estas investigaciones y encarar los estudios necesarios en nuestra población.

Referencias:

- [1] Life and work of Antoni van Leeuwenhoek of Delft in Holland; 1632-1723 (1980). Publicado por los Archivos Municipales de Delft, p. 3.
- [2] **Fleischmann RD, Adams MD, White O, Clayton RA, Kirkness EF, Kerlavage AR, Bult CJ, Tomb JF, Dougherty BA, Merrick JM, et al.** (1995) Whole-genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenzae* Rd. *Science* 496-512.
- [3] **Jenner E** (1798) An inquiry Into the causes and effects of the Variole Vaccinae, a disease discovered in some of the Western Counties of England, particularly Gloucestershire and known by the name of the cow-pox. London: Sampson Low
- [4] **Pasteur V-R** (1922) Oeuvres de Pasteur (reunites) Tome II Fermentations et générations dites spontanées. Paris: Masson et Cie éditeurs
- [5] **Diggins FW** (1999) The true history of the discovery of penicillin, with refutation of the misinformation in the literature. *British Journal of Biomedical Science* 56 (2):83-93.
- [6] **Flemming H-C, Wingender J, Szewzyk U, Steinberg P, et al.** (2016) Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology* 14: 563–575
- [7] **Marchesi JR, Ravel J** (2015) The vocabulary of microbiome research: a proposal. *Microbiome* 3:31.
- [8] Nature.com: Microbiome .<https://www.nature.com/subjects/microbiome>. Accessed 15 Oct. 2019.
- [9] **York TP, Eaves LJ, Neale M C , Strauss J F III** (2014) The contribution of genetic and environmental factors to the duration of pregnancy. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 210: 398–405 .
- [10] **Di Giulio DB. et al.** (2015) Temporal and spatial variation of the human microbiota during pregnancy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112:11060–11065.
- [11] **Jefferson KK et al.** (2019) Relationship between vitamin D status and the vaginal microbiome during pregnancy. *Journal of Perinatology* . <https://doi.org/10.1038/s41372-019-0343-8>.
- [12] **Fettweis JM et al.** (2019) The vaginal microbiome and preterm birth. *Nature Medicine*. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0450-2>.
- [13] **Frank DN et al.** (2007) Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104: 13780–13785.
- [14] **Wibowo MC et al.** (2021) Reconstruction of ancient microbial genomes from the human gut. *Nature* 594: 234-239 .

 **Química Viva**

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **Química Viva**

Número 3, año 20, Diciembre 2021

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

Efecto de la melaza sobre parámetros de calidad del agua usada en la cría del camarón blanco (*Litopenaeusvannamei*).

Yudelquis Aldana Calderón¹, Eugenio Torres Rodríguez², Yans Guardia Puebla², Jesús Armando Álvarez Hidalgo¹, Yuneikis Fonseca Turruella³

¹ Camaronera del Litoral Sur (Calisur). Rio Cauto, Granma, ²Centro de Estudios de Química Aplicada.

Universidad de Granma. ³Centro Universitario Municipal. Yara. Cuba.

etorresrodriguez@udg.co.cu

Recibido: 09/03/2021 - Aceptado: 25/08/2021

[Versión para imprimir](#) 

Resumen

El presente trabajo fue realizado en la Camaronera del Litoral Sur (Calisur), localizada en la costa sur oriental de Cuba, donde la precría intensiva de poslarvas es una etapa crucial en el ciclo productivo de la camaronera. Se realizó un diseño Multi-factor categórico con el empleo del software StatgraphicsCenturion, con la estimación del efecto de tres factores (densidad de siembra, método de adición de melaza y relación C:N). Se midieron parámetros físico-químicos y microbiológicos de calidad del agua. Se llevaron a cabo ciclos de 15 días de cultivo intensivo de poslarvas, en recipientes de 20 L con aireación constante. La alimentación fue realizada en 8 dosis diarias, utilizando para ello alimento con 45 % de proteína, y la melaza fue añadida diariamente en las siguientes cantidades: 1,58g, 2,36g y 3,15g, por cada gramo de alimento. Para las relaciones C: N: 10:1; 15:1 y 20:1 se añadieron directamente al agua 62,5 mg, 93,75 mg y 125 mg respectivamente, por cada 0,1 mg/L de nitrógeno amoniacal total (NAT). La aplicación de la melaza resultó ser una alternativa para el control de los niveles de amonio. Los mejores resultados se obtuvieron con la adición de melaza en el alimento, siendo la mejor corrida experimental la que utilizó una densidad de 15 poslarvas por litro y la relación C:N 15:1.

Palabras clave: *Litopenaeusvannamei*, poslarvas, melaza, calidad de agua.

Effect of molasses on quality parameters of the water used in the breeding of white shrimp (*Litopenaeusvannamei*)

Summary

The present work was carried out in the Camaronera (Shrimp farming station) from Litoral Sur (Calisur), located on the south-eastern coast of Cuba, where intensive post-larval breeding is a crucial stage in the shrimp production cycle. A categorical Multi-factor design was made using the Statgraphics Centurion software, with the estimation of the effect of three factors (stocking density, molasses addition method and C:N ratio). Physicochemical and microbiological parameters of water quality were measured. Cycles of 15 days of intensive culture of postlarvae were carried out in 20 L containers with constant aeration. The feeding was carried out in 8 daily doses, using for it food with 45% of protein, and the molasses was added daily in the following amounts: 1.58 g, 2.36 g and 3.15 g, for each gram of food. For the C:N: 10: 1 ratios; 15: 1 and 20: 1 62.5 mg, 93.75 mg and 125 mg respectively were added directly to the water, for each 0.1 mg / L of total ammoniacal nitrogen (NAT). The application of molasses turned out to be an alternative for controlling ammonium levels. The best results were obtained with the addition of molasses in the feed, the best experimental run being that which used a density of 15 postlarvae per liter and the C:N ratio 15: 1.

Keywords: *Litopenaeusvannamei*, poslarvae, molasses, water quality

Introducción

El camarón blanco del Pacífico *Litopenaeusvannamei* es la especie de crustáceo más ampliamente cultivada a nivel mundial [1]. Se introdujo en Cuba en el 2003 y constituye una actividad priorizada, debido a su alta demanda en el mercado y por ser un rubro de exportación importante [2]. La Camaronera del Litoral Sur (Calisur) con 957,9 hectáreas es la de mayor extensión de Cuba, en los últimos años ha incrementado el rendimiento productivo, aunque la sobrevivencia en la precría intensiva no ha mostrado los mejores resultados [3].

El cultivo intensivo se caracteriza por la alta densidad de animales por unidad de área, por lo que una gran cantidad de alimento, con alto contenido proteico, debe ser añadido al sistema de cultivo. En el alimento del camarón las proteínas constituyen el principal nutriente, no solo por su rol importante en el crecimiento y la sobrevivencia, sino además por su impacto en la calidad del agua como la principal fuente de nitrógeno. Solo del 10–20% del nitrógeno contenido en el alimento es retenido por el camarón, el restante quedará en el agua como resultado del metabolismo de las proteínas y de la descomposición por microorganismos, en la forma ionizada o como amoníaco, este último tóxico [4,5], afectando la salud de los animales cultivados e impactando negativamente el crecimiento y la sobrevivencia [6].

La toxicidad del amonio sobre el camarón ha sido reportada por numerosos investigadores [6,7], por lo que la conversión del amonio tóxico a la forma no tóxica de nitrógeno es una de las cuestiones más importantes en el manejo de calidad de agua en sistemas de cultivo intensivo [8].

Numerosos estudios han reportado que fuentes de carbono añadidas a los sistemas acuícolas estimulan el crecimiento de microorganismos heterótrofos y el nitrógeno es utilizado para generar proteínas microbianas [4,8,9,10]. El incremento de la comunidad microbiana puede mejorar la calidad del agua mediante remoción de compuestos de nitrógeno tóxicos, mientras que las proteínas microbianas pueden ser usadas como alimento [11].

Esta investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de la aplicación de la melaza de caña de azúcar en la precría de poslarvas de camarón *Litopenaeusvannamei*, sobre los parámetros físico-químicos y microbiológicos de calidad de agua.

Materiales y métodos

El presente trabajo se realizó a escala de laboratorio de la Camaronera Calisur, localizada en la costa sur oriental de Cuba, en el Golfo de Guacanayabo, coordenadas geográficas 10° latitud N y 83° longitud W.

Se llevaron a cabo ciclos de 15 días de cultivo intensivo de poslarvas, en recipientes de 20 L con aireación constante mediante el empleo de aireadores y piedras difusoras. La disminución del volumen por evaporación se controló, añadiendo una cantidad de agua equivalente al volumen perdido. Las poslarvas se adquirieron del Centro de Desove de *Litopenaeusvannamei* en Manzanillo, perteneciente a la empresa para el cultivo del camarón (ECCAM). La alimentación se realizó en 8 dosis diarias, con un alimento cuyo contenido de proteína es 45 %. Para las dosis del alimento se tuvo en cuenta la biomasa estimada (25 % inicialmente con disminución gradual) y la melaza se añadió una sola vez al día (10 de dos formas: directamente en el agua y mezclada en el alimento).

Se realizó un diseño Multi-factor categórico con el empleo del software Statgraphics Centurion, con la estimación del efecto de tres factores: densidad de siembra, método de adición de melaza y relación C:N (10:1; 15:1 y 20:1) sobre siete variables de respuesta relacionados con la calidad de agua y el crecimiento). La densidad de siembra fue de 15 y 30 poslarvas por litro.

Determinación de los parámetros de calidad del agua

Los parámetros físico-químicos del agua se midieron diariamente. El oxígeno disuelto y la temperatura se midieron con un oxímetro YSI Pro2030. Las mediciones de pH se realizaron con un pH-chimetro HM-25R. El amonio no ionizado se determinó con el espectrofotómetro SpectroDirect marca Lovibond con su respectivo kit de materiales y reactivos, según las recomendaciones del fabricante. El método que se empleó fue el de salicilato, con silicato de amonio a 655 nm. El período de reacción fue de 15 minutos y el resultado se expresó en mg/L.

La determinación de bacterias heterótrofas se realizó cada tres días. La siembra microbiológica se realizó por inundación de superficie del medio de cultivo Agar triptona soya (BIOCEN Cuba) con la inoculación de 100 µL en cada caso e incubando a 30 °C durante 24 horas. Finalmente las colonias se contaron con ayuda del contador de colonia (Suntex) y se reportó en unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL).

Cálculo de la melaza

La cantidad de melaza que se añadió mezclada en el alimento (CM_{alimento}) se calculó con la fórmula de Avnimelech, 1999: $CM_{\text{alimento}} = (A*B*C*D*E)/F$, el significado de cada letra en la ecuación se muestra a continuación A: cantidad de balanceado, B: % de proteína del balanceado, C Rango C:N (10-15-20:1), D % de la tasa de excreción- asimilación, E: cantidad denitrógeno en proteína (16 %) y F: % de carbono en la melaza [9]. La cantidad de melaza requerida por cada gramo de alimento fue 1,58 g, 2,36 g y 3,15 g, para la relación C:N 10:1, 15:1 y 20:1 respectivamente.

Para el cálculo de la cantidad de melaza añadida directamente en el agua (CM_{agua}), se utilizó la fórmula: $CM_{\text{agua}} = [NAT*V*R(C:N)]/C\%$, donde NAT, nitrógeno amoniacal total (NH_4^+ , NH_3), V volumen experimental (20 L), y R (C:N)(10-15-20:1). (12) La cantidad de melaza requerida por cada 0,1 mg/L de NAT fue 62,5 mg, 93,75 mg y 125 mg, para la relación C:N 10:1, 15:1 y 20:1 respectivamente.

El porcentaje de carbono en la melaza se determinó mediante el análisis elemental de la melaza en los equipos de las firmas CARLO ERBA CHNS-O EA-1108 y Leco CHNS-932, de Laboratorios de la Universidad de Rostock Alemania.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados con el empleo del software Statgraphics Centurion. La normalidad fue evaluada usando la prueba de Shapiro Wilk, seguido del Anova multifactorial. Cuando se encontraron diferencias significativas, se usó la prueba de rangos múltiples LSD de Fisher para identificar diferencias entre los tratamientos.

Resultados

Análisis elemental de la melaza de caña de azúcar

La melaza de caña de azúcar tiene una composición muy compleja, además de carbono aporta nitrógeno, fósforo y minerales. La cantidad de carbono en la melaza depende del proceso productivo y de la materia prima (caña de azúcar). Para suministrar melaza en los estanques de camarón, es necesario conocer la cantidad real de este elemento y así incluir este valor en el cálculo de la cantidad necesaria para lograr una determinada relación C:N

El contenido de carbono (% C) en la melaza fue de 32,2 % (Tabla 1).

Tabla 1: Resultados del análisis elemental de la melaza.

Contenido/ %	Valor teórico	Valor experimental
C	32,205	32,203

H	7,297	7,286
---	-------	-------

Parámetros de calidad del agua

Contenido de amonio.

El principal objetivo de la adición de fuentes de carbono en los estanques de cría de camarón es el control de la cantidad de amonio en el ambiente acuícola. La relación óptima C:N puede mejorar la producción y el reciclado de nutrientes, así como la disminución de los niveles de amonio. Según Pérez-Fuentes et al., la relación C:N debe ser superior a 10:1, [15]. Sin embargo, Schneider et al., aseveran que la mejor relación C:N es aproximadamente 15:1 [16]. Los resultados de este experimento se muestran en la Tabla II.

Tabla II: Variación de la concentración de amonio y NAT, según el método de adición, relación C:N y la densidad de siembra (valores de las medias y desviación estándar).

Método de adición	Relación (C:N)	Densidad de siembra	NH ₃ (mg/L)	NAT (mg/L)
En el agua	20:1	30xL	0,31 ± 0,08	0,65 ± 0,16
En el alimento	20:1	30xL	0,12 ± 0,05	0,26 ± 0,10
En el agua	20:1	15xL	0,25 ± 0,07	0,53 ± 0,14
En el alimento	20:1	15xL	0,08 ± 0,04	0,18 ± 0,11
En el agua	15:1	30xL	0,37 ± 0,13	0,77 ± 0,27
En el alimento	15:1	30xL	0,14 ± 0,07	0,29 ± 0,12
En el agua	15:1	15xL	0,31 ± 0,10	0,65 ± 0,2
En el alimento	15:1	15xL	0,14 ± 0,06	0,31 ± 0,13
En el agua	10:1	30xL	0,38 ± 0,15	0,79 ± 0,30
En el alimento	10:1	30xL	0,24 ± 0,07	0,5 ± 0,15
En el agua	10:1	15xL	0,34 ± 0,08	0,70 ± 0,16
En el alimento	10:1	15xL	0,25 ± 0,08	0,52 ± 0,17
Grupo de Control		15xL	1,83 ± 1,52	3,78 ± 3,11
Grupo de Control		30xL	2,25 ± 1,82	4,63 ± 3,72

pH del agua

Los valores de pH del agua disminuyeron al añadir la melaza. (Tabla 3).

Tabla III: Influencia del método de adición de melaza, relación C:N y densidad de siembra sobre el pH del agua (valores de las medias y desviación estándar)

Método de adición	Relación (C:N)	Densidad de siembra	pH
En el agua	20:1	30xL	8,09 ± 0,11
En el alimento	20:1	30xL	7,66 ± 0,18
En el agua	20:1	15xL	8,15 ± 0,11
En el alimento	20:1	15xL	7,76 ± 0,20

En el agua	15:1	30xL	8,17 ± 0,09
En el alimento	15:1	30xL	7,93 ± 0,13
En el agua	15:1	15xL	8,01 ± 0,13
En el alimento	15:1	15xL	7,90 ± 0,12
En el agua	10:1	30xL	8,10 ± 0,09
En el alimento	10:1	30xL	8,00 ± 0,15
En el agua	10:1	15xL	8,01 ± 0,11
En el alimento	10:1	15xL	8,04 ± 0,16
Grupo de Control		15xL	8,24 ± 0,12
Grupo de Control		30xL	8,18 ± 0,13

Cantidad de oxígeno disuelto

Los factores estudiados relación C:N, método de adición y densidad de siembra no tuvieron efecto significativo sobre el oxígeno disuelto ($p < 0.05$) (Tabla IV).

Tabla IV: Variación del oxígeno disuelto según el método de adición, relación C:N y densidad de siembra.

Método de adición	Relación (C:N)	Densidad de siembra	Oxígeno (mg/L)
En el agua	20:1	30xL	5,85 ± 0,59
En el alimento	20:1	30xL	4,65 ± 1,03
En el agua	20:1	15xL	5,92 ± 0,57
En el alimento	20:1	15xL	5,96 ± 0,57
En el agua	15:1	30xL	6,16 ± 0,46
En el alimento	15:1	30xL	5,63 ± 0,63
En el agua	15:1	15xL	6,21 ± 0,51
En el alimento	15:1	15xL	5,57 ± 0,67
En el agua	10:1	30xL	6,03 ± 0,47
En el alimento	10:1	30xL	5,69 ± 0,63
En el agua	10:1	15xL	6,03 ± 0,44
En el alimento	10:1	15xL	5,58 ± 0,74
Grupo de Control		15xL	6,39 ± 0,41
Grupo de Control		30xL	6,20 ± 0,45

Conteo de bacterias heterótrofas

Los niveles de bacterias heterótrofas estuvieron en el orden entre 10⁴ y 10⁵ UFC/mL mostrando un incremento con los días de cultivo. Los niveles más bajos fueron observados en los grupos controles, mientras que en las corridas donde la melaza fue añadida en el alimento, los niveles de bacterias

heterótrofas fueron superiores con respecto a las corridas donde la melaza fue añadida en el agua (Figura 1).

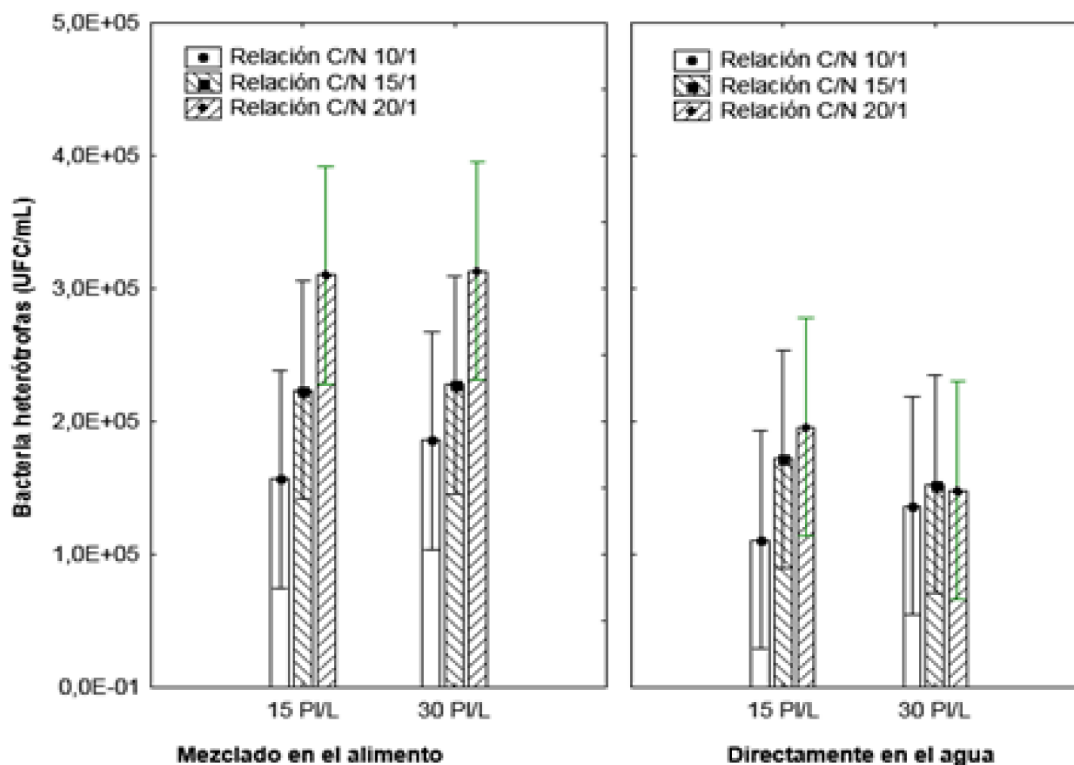


Figura 1: Niveles de bacterias heterótrofas teniendo en cuenta la relación C:N y el método de adición.

Discusión de los resultados

Contenido de carbono en la melaza

Varios autores plantean que el porcentaje de carbono que tienen las diferentes fuentes se aproxima al 50 %, siendo la más utilizada la melaza de caña de azúcar. Sin embargo, estudios realizados han mostrado diferencias en la eficiencia de la remoción del NAT respecto al contenido de carbono en la melaza [12]. Hanif *et al.*, reportaron 36,3 % de carbono en la melaza, con la más alta reducción del NAT en comparación con otras fuentes de mayor % de C [4]. Por otro lado, por otra Ray y Lotz, reportan 24 % C en la melaza, 41 % en sacarosa y 35 % en glicerol [13], por lo que se hace necesario el análisis del porcentaje de carbono para conocer la cantidad real de este elemento que se añade al estanque y garantizar la relación C:N requerida. En el análisis elemental realizado a la melaza no se detectó la presencia de nitrógeno, lo que puede considerarse una ventaja teniendo en cuenta que el objetivo es reducir los niveles de amonio, el contenido de carbono fue de 32,20 %. Por otra parte no se detectó la presencia de cloro, lo que demuestra la ausencia de compuestos organoclorados que pudieran ser tóxicos para el camarón o influir en su calidad [14].

Contenido de amonio en el agua de cultivo

Los niveles de amonio más bajos se alcanzaron cuando la melaza fue añadida al alimento. Por otra parte, cuando se evaluó la interacción que ejercen la densidad de siembra y la relación C:N sobre la concentración de amonio, los mejores resultados se lograron para una densidad de 15 postlarvas/L y una relación C: N 20:1 (Figura 2).

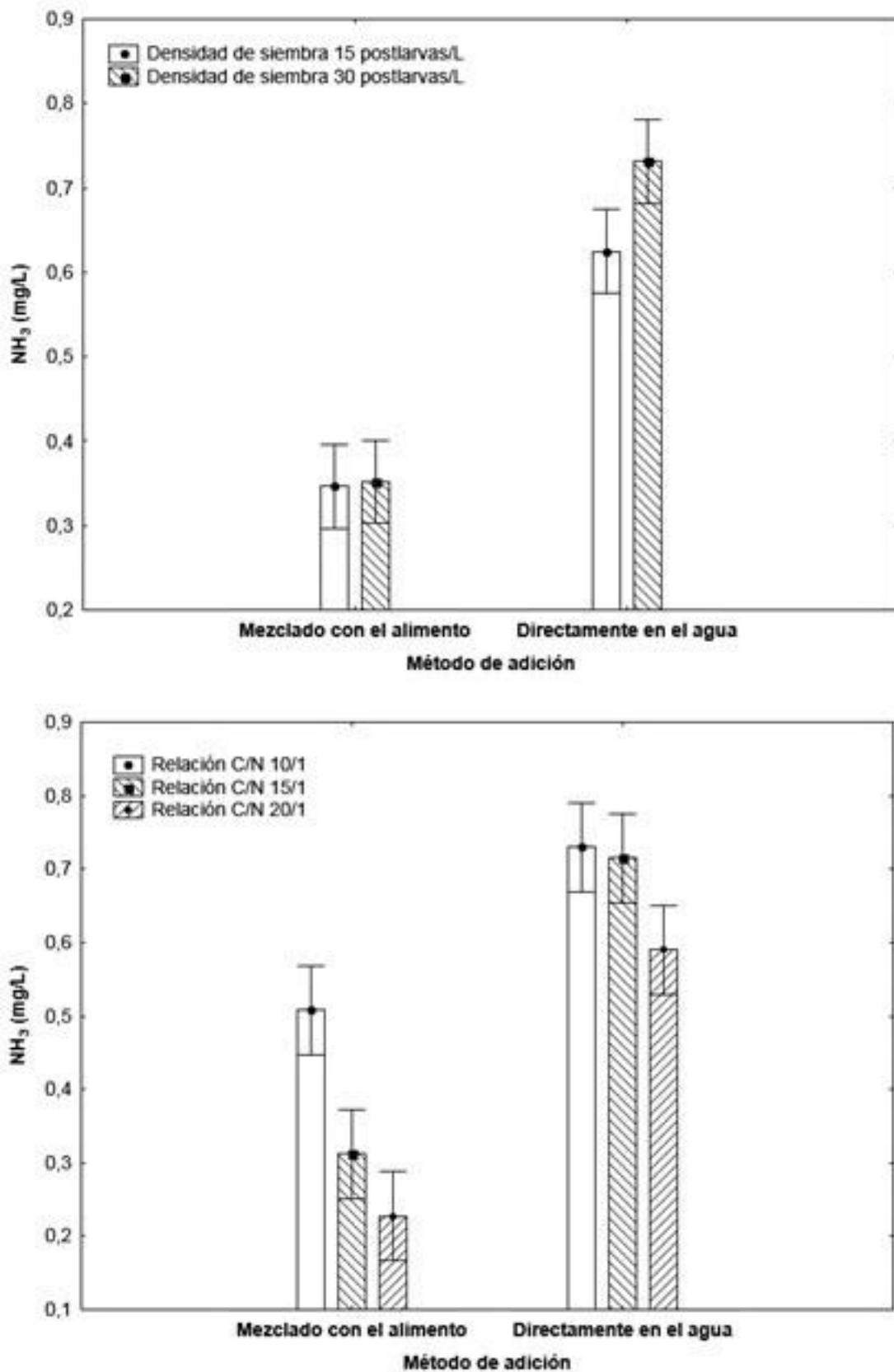


Figura 2: Influencia de la densidad de siembra (superior) y la relación C:N (inferior) y en la concentración de amonio. Los factores: método de adición, relación C:N y densidad de siembra, así como la interacción entre estos, tuvieron efecto significativo sobre los niveles de amonio ($P < 0,05$). Los mejores resultados en este sentido, se obtuvieron cuando la melaza fue añadida mezclada en el alimento, mostrando mayor reducción de los niveles de amonio con el incremento de la relación C:N. Estos resultados pudieran deberse a la alta concentración de carbono en el momento en el que se añade el alimento, estimulando así, el desarrollo de bacterias heterótrofas que consumen en su metabolismo parte del nitrógeno formado. La disminución de los niveles de amonio cuando la densidad de siembra es menor, podría estar relacionada con la menor cantidad alimento necesario, por lo tanto, se genera menor cantidad de amonio.

pH del agua de cultivo

Se observó una considerable disminución del pH cuando la melaza se añadió en el alimento, para las relaciones C:N 15:1 y 20:1 se obtuvieron los valores más bajos. Diferencias significativas fueron encontradas entre los tratamientos donde se tuvieron en cuenta los factores: método de adición y relación C:N. La interacción entre estos los dos factores tuvo un efecto significativo sobre el pH, sin embargo, no hubo diferencias significativas entre las densidades de siembra estudiadas, siendo similar su influencia sobre el pH para $p < 0,05$. (Figura 3).

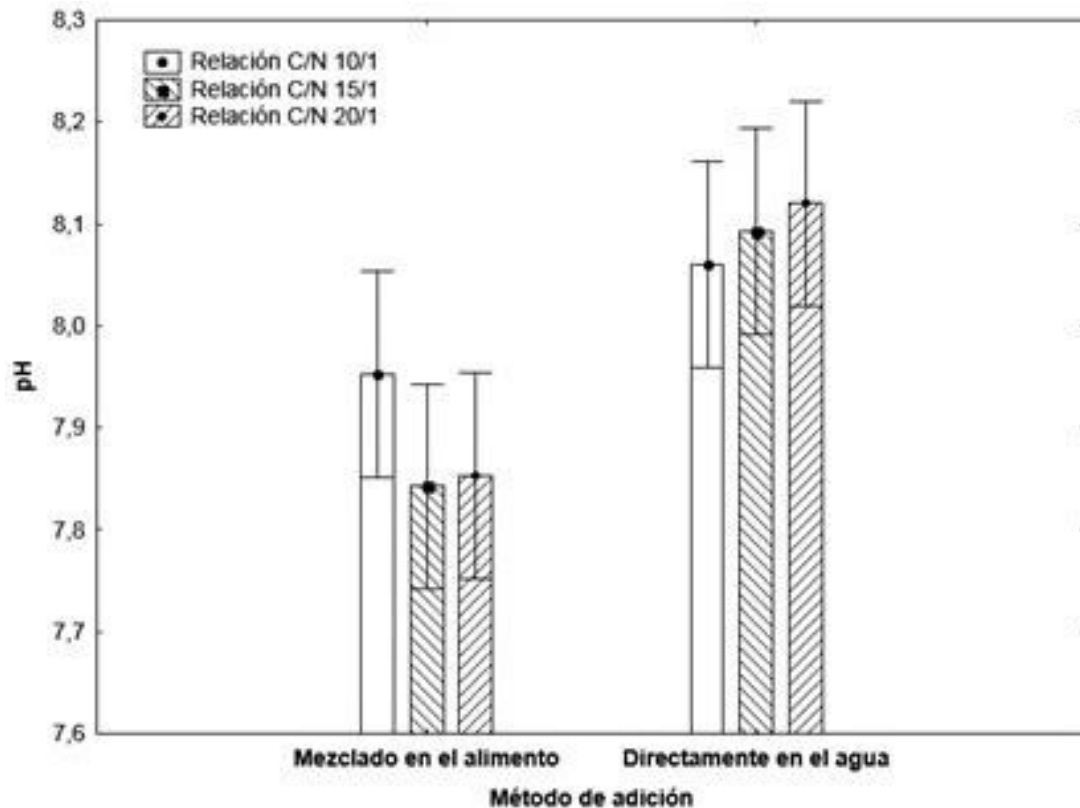


Figura 3: Influencia de la relación C:N sobre el pH del agua. La disminución en el pH al añadir melaza puede deberse al incremento de los niveles de carbono inorgánico (CO₂) en el agua debido al aumento de la cantidad de bacterias heterótrofas que causa la adición de melaza, haciendo el medio más ácido debido a la formación de ácido carbónico [17]. El agua con un valor de pH entre 7.5 y hasta 8.5 es considerada como buena para el cultivo de camarón [18], aunque en la Tecnología Biofloc (BFT) valores menores que 7.0 son considerados normales, pero pueden afectar el proceso de nitrificación [12].

Cantidad de oxígeno disuelto en el agua de cultivo

Se observó una considerable disminución del pH cuando la melaza se añadió en el alimento, para las relaciones C:N 15:1 y 20:1 se obtuvieron los valores más bajos. Diferencias significativas fueron encontradas entre los tratamientos donde se tuvieron en cuenta los factores: método de adición y relación C:N. La interacción entre estos los dos factores tuvo un efecto significativo sobre el pH, sin embargo, no hubo diferencias significativas entre las densidades de siembra estudiadas, siendo similar su influencia sobre el pH para $p < 0,05$. (Figura 2).

Los resultados obtenidos son alentadores pues demuestran que la adición de melaza no afecta significativamente la cantidad de oxígeno disuelto en el agua. El rango óptimo reportado para el cultivo del camarón es de 3 a 8 mg/L [19], aunque los niveles de oxígeno disuelto deben ser superiores a 4 mg/L para el óptimo crecimiento y respiración de la microbiota [12].

Conteo de bacterias heterótrofas

El método de adición de la melaza y la relación C:N tuvieron efecto significativo sobre los niveles de bacterias heterótrofas ($p < 0,05$) (Figura 1). Estos resultados pueden explicarse si consideramos la capacidad de las bacterias heterótrofas de utilizar una fuente de carbono orgánico está determinada por la complejidad de los compuestos carbonados, considerándose la glucosa y la sacarosa las fuentes

de carbono más fácilmente asimilables [4], siendo estos de los principales componentes de la melaza. Panjaitan reportó los mejores resultados en cuanto a la calidad del agua cuando emplea C:N 20:1 [20]. Coincidentemente, Hanif *et al.* observaron la más alta reducción del NAT cuando usaron melaza como fuente de carbono y la relación 20:1 [4].

De Lorenzo *et. al.*, evaluaron el efecto de las fuentes de carbono melaza y dextrosa en el rendimiento del cultivo de larvas sobre parámetros de calidad del agua, zootécnica y microbiológica, igualmente con resultados satisfactorios, demostrando el control eficiente de los niveles de amonio y la estimulación del crecimiento de bacterias heterótrofas [21].

Conclusiones

La aplicación de la melaza resultó ser una alternativa para el control de los niveles de amonio, sin que afectara significativamente la cantidad de oxígeno disuelto en el agua y manteniendo los valores de pH dentro del rango permisible.

Los niveles de amonio fueron más bajos en el experimento en el que la melaza fue añadida con alimento, a una densidad de siembra de 15 poslarvas por litro y con una relación C:N 15:1.

Referencias:

- [1] Tang Y, Tao P, Tan J, Mu H, Peng L, Yang D, et al. (2014) Identification of Bacterial Community Composition in Freshwater Aquaculture System Farming of *Litopenaeus vannamei* Reveals Distinct Temperature-Driven Patterns. *International Journal of Molecular Sciences* 15:13663–13680. DOI: 10.3390/ijms150813663.
- [2] Espinosa López G, Borrel Pichs Y, Bécquer Zúñiga U, Hernández Martínez D, Pérez Beloborodova A, Artiles Valor A, et al. (2014) La genética en el cultivo de camarones en Cuba. *Anales de la Academia de Ciencias de Cuba*. 4(2):1–6.
- [3] ECCAM. Balance Anual de Indicadores de Eficiencia Productiva. La Habana. 2018.
- [4] Hanif Azhar M, Eddy Supriyono, Kuku Nirmala, Julie Ekasari (2016) Organic carbon source and C/N ratio affect inorganic nitrogen profile in the biofloc-based culture media of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *ILMU KELAUTAN* 21(1):23-28. DOI: 10.14710/ik.ijms.21.1.23-28
- [5] Luna-González A, Ávila-Leal J, Fierro-Coronado J A, Álvarez-Ruiz P, Esparza-Leal H, Escamilla-Montes R, Flores-Miranda MC, Montiel-Montoya J, López-Álvarez E S (2017) Effects of bacilli, molasses, and reducing feeding rate on biofloc formation, growth, and gene expression in *Litopenaeus vannamei* cultured with zero water exchange. *Latin American Journal of Aquatic Research* 45(5): 900-907. DOI: 10.3856/vol45-issue-ful-text-4
- [6] Valencia-Castañeda G, Frías-Espéricueta M G, Vanegas-Pérez R C, Chávez-Sánchez MC, Páez-Osuna F (2019) Toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to *Litopenaeus vannamei* juveniles in low-salinity water in single and ternary exposure experiments and their environmental implications. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 70: 103-193. DOI: 10.1016/j.etap.2019.05.002
- [7] Lourdes Cobo M, Sonnenholzner S, Wille M, Sorgeloos P (2012) Ammonia tolerance of *Litopenaeus vannamei* (Boone) larvae. *Aquaculture Research* 1–6. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2012.03248.x
- [8] Wenjing Ren, Li Li, Shuanglin Dong, Xiangli Tian, Yiming Xue (2019) Effects of C/N ratio and light on ammonia nitrogen uptake in *Litopenaeus vannamei* culture tanks. *Aquaculture* 498: 123–131. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2018.08.043
- [9] Avnimelech Y (1999) Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture* 176:227–235. DOI: 10.1016/S0044-8486(99)00085-X
- [10] Panjaitan P (2011) Effect of C: N Ratio Levels on Water Quality and Shrimp Production Parameters in *Penaeus monodon* Shrimp Culture with Limited Water Exchange Using Molasses as a Carbon Source. *ILMU KELAUTAN Maret* 16 (1): 1–8. DOI:10.14710/IK.IJMS.16.1.1-8
- [11] Cardona E, Gueguen Y, Magré K, Lorgeoux B, Piquemal D, Pierrat F, Noguier F, et al. (2016) Bacterial community characterization of water and intestine of the shrimp *Litopenaeus stylirostris* in a biofloc system. *BMC Microbiology*, 16(157). DOI: 10.1186/s12866-016-0770-z
- [12] Coelho Emerencino M G, Martínez Córdova L R, Martínez Porchas M, Miranda Baeza A (2017) A Tool for Water Quality Management in Aquaculture. *Biofloc Technology (BFT): Chapter 5: 91-103*. DOI: 10.5772/66416
- [13] Ray JA, Lotz JM. (2014) Comparing a chemoautotrophic-based biofloc system and three heterotrophic-based systems receiving different carbohydrate sources. *Aquacultural Engineering* 63: 54–61 .DOI: 10.1016/j.aquaeng.2014.10.001
- [14] Sharon E. Hooka, Hai Doanb, Debra Gonzagob, Dean Mussonc, Jun Dub, Rai Kookanab, Melony J. Sellarsc, Anu Kumar (2018) The impacts of modern-use pesticides on shrimp aquaculture: An assessment for north eastern Australia. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 148: 770–780. DOI:10.1016/j.ecoenv.2017.11.028
- [15] Pérez-Fuentes, J. A., Hernández- Vergara, M. P., Pérez-Rostro, C. I., Fogel, I (2016) C: N ratios affect nitrogen removal and production of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised in a biofloc system under high density cultivation. *Aquaculture* 452: 247–251. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2015.11.010
- [16] Schneider, O. et al. (2005) Analysis of nutrient flows in integrated intensive aquaculture systems. *Aquacultural Engineering* 32(3-4): 379-401. DOI: 10.1016/j.aquaeng.2004.09.001

[17] **Ugo L S, Dario R F, Maurício N P, Eudes DSC** (2017) Carbon sources and C:N ratios on water quality for Nile tilapia farming in biofloc system. *Rev. Caatinga, Mossoró*, 30 (4): 1017 – 1027. DOI: 10.1590/1983-21252017v30n423rc

[18] **Xu, Wu-Jie, Morris, Timothy C, Samocho, Tzachi M.**(2016) Effects of C/N ratio on biofloc development, water quality, and performance of *Litopenaeus vannamei* juveniles in a biofloc-based, high-density, zero-exchange, outdoor tank system. *Aquaculture* 453: 169–175. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2015.11.021

[19] **Boyd CE** (1990) Water quality in ponds for Aquaculture. Agricultural Experiment Station Series. 2nd Ed. California Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University: Birmingham Publishing Co. .

[20] **Panjaitan P** (2010) Shrimp culture of *Penaeus monodon* with zero water exchange model (zwem) using molasses. *Journal of Coastal Development* 14(1): 35–44.

[21] **De Lorenzo M A, Schweitzer R, Espírito Santo C M, Souza Candia E W, Pedreira Mouri J L, Chamorro Legarda E, Quadros Seiffert W, Do Nascimento Vieira F** (2015) Intensive hatchery performance of the Pacific white shrimp in Biofloc system. *Aquacultural Engineering*, 67: 53–58. DOI.10.1016/j.aquaeng.2016.04.001

 **Química Viva**

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **Química Viva**

Número 3, año 20, Diciembre 2021

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

La Espectroscopía Infrarroja (FT-IR-ATR) como herramienta para identificar la degradación del polímero Polietilentereftalato - Bagazo de Caña

Márquez-Riquel María, Zara Joelmy

Laboratorio de Química Orgánica, Universidad Nacional Experimental Politécnica de la Fuerza Armada
(UNEFA - Falcón)

ma.marquezz04@gmail.com

Recibido: 22/03/2021 - Aceptado: 14/09/2021

[Versión para imprimir](#) 

Resumen

El presente trabajo dará a conocer como la espectroscopia infrarroja (FT-IR-ATR) es útil para determinar cuantitativamente la degradación del polímero Polietilentereftalato-bagazo de caña, utilizando las lecturas de los espectros infrarrojos en la determinación del índice de carbonilo (%IC), vinilo (C=C) y el porcentaje de reducción del índice carbonilo (%Red IC) y vinilo (%Red C=C), obteniéndose resultados entre el control (T0) y los tratamientos a 60 días de exposición fúngica de 100 a 51,20% en %IC, el %C=C paso a 61,77%, mientras 48,80% en %Red IC y 38,23% para %Red C=C. Finalmente se concluye que el uso de la herramienta para identificar y cuantificar la degradación del polímero es sencilla y confiable.

Palabras clave: Degradación del polímero; espectroscopia infrarroja, herramienta, índice carbonilo, índice vinilo.

Infrared Spectroscopy (FT-IR-ATR) as a tool to identify the degradation of polyethylentereftalate polymer - Bagazo de Caña

Summary

The present work will show how the infrared spectroscopy (FT-IR-ATR) is useful to quantitatively determine the degradation of Polyethylentereftalate polymer-bagazo de caña, using the readings of the infrared spectra in determining the carbonyl index (% CI), vinyl (C = C) and the percentage reduction of the carbonyl index (% Red IC) and vinyl (% Red C = C), obtaining results between the control (T0) and the treatments at 60 days of fungal exposure from 100 to 51.20% in% CI, while in% C = C it went to 61.77%, 48.80% in% Network IC and 38.23% for% Network C = C. Finally, it is concluded that the use of the tool to identify and quantify polymer degradation is simple and reliable.

Keywords: Polymer degradation; infrared spectroscopy, tool, carbonyl index, vinyl index.

Introducción

Los polímeros son compuestos orgánicos sintéticos derivados del petróleo y dependen en su totalidad de este recurso fósil no renovable, por lo que su degradación tarda muchos años aproximadamente entre 100 a 500 años al ser desechados en los vertederos de basura [1]. Uno de los polímeros más usados por su versatilidad, propiedades físicas, químicas, mecánicas y biológicas es el polietilentereftalato (PET) ya que es muy difícil la degradación en el medio ambiente por microorganismos o procesos químicos como la oxidación [2]. La producción anual mundial para el 2020 se estima en más de 500 millones de toneladas, entre las principales industrias de consumo se encuentran las bebidas gaseosas, cosméticos por nombrar algunas que producen más de 500 mil millones de botellas de

plástico de un solo uso cada año [3]. En Venezuela el consumo de plásticos está situado en torno a 65 Kg/habitante/año, lo que representa el 11% del total de la bolsa de basura, siendo el destino final de estos envases el basurero [4].

De esta forma, los materiales biodegradables se están haciendo cada vez una alternativa como sustituto de los polímeros sintéticos [5]. Sin embargo hoy en día, la combinación entre los polímeros sintéticos y los naturales ha sido un alternativa para la producción de polímeros biodegradables como es el caso del almidón termoplástico (TPS) por su bajo costo, abundancia de materia prima y facilidad de procesamiento [5]. Otra combinación es la mezcla del PoliEtilenTereftalato y el bagazo de caña de azúcar que le provee al material sintético la propiedad de ser degradado por los microorganismos (hongos, bacterias, levaduras, algas), siendo el bagazo de caña de azúcar un residuo rico en celulosa polímero natural que está constituido principalmente por glucosa, por lo que, el bagazo de caña de azúcar se ha empleado principalmente en la producción de papel [6]. No obstante se está incorporando el uso de este residuo agroindustrial en la producción de polímeros degradables siendo esta una alternativa para disminuir la contaminación por residuos sólidos.

La biodegradabilidad de los polímeros sintéticos se puede controlar mediante la incorporación de polímeros biodegradables del tipo éster [7], los cuales se diseñan con el objetivo de obtener una mayor degradación que la de los convencionales manteniendo las propiedades y funcionalidad de un polímero convencional [1], entre estos polímeros se encuentra el Polietilentereftalato ya que presenta en su composición el grupo éster. Los procesos biológicos son los más efectivos y menos costosos, aunque no los más rápidos en solucionar el problema [8]. La biodegradabilidad describe el proceso de mineralización de las estructuras orgánicas por microorganismos [9], lo que favorece la incorporación de CO₂ orgánico al ecosistema y no como fuente de gases invernaderos que se acumulan en la atmósfera.

Debido a que la biorremediación utiliza la capacidad enzimática de los organismos y microorganismos para degradar y transformar contaminantes [8]. Por su parte, los hongos son organismos que pueden presentarse en forma levaduriforme y filamentosa, capaces de producir enzimas intra y extracelulares, que tienen la capacidad de transformar cualquier tipo de sustrato orgánico [4]. Los hongos basidiomicetos, también conocidos como champiñones, se destacan por participar principalmente en el ciclo del carbono, una vez que son excelentes degradadores de la lignina y celulosa [10]. Uno de estos hongos es la especie *Aspergillus*, quien es un hongo ambiental capaz de transformar cualquier sustrato orgánico de forma inespecífica debido a la cantidad de enzimas que produce esta variedad de microorganismo. De este modo Acuña [11] cita en su trabajo a muchos autores "... que han demostrado que los hongos liberan proteínas hidrófobas que se ligan a la superficie del polímero produciendo mayor biomasa, sobreviviendo a condiciones de baja disponibilidad de nutrientes, bajo pH y humedad".

En otro orden de ideas, la espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR), es una técnica de análisis químico cualitativo que permite identificar los grupos funcionales de los compuestos orgánicos donde la muestra es sometida a irradiación infrarroja (longitud de onda 4000 – 400cm⁻¹) con la herramienta de Reflectancia Total Atenuada (ATR) que permite analizar la muestra sin ser sometida a tratamientos previos para su análisis [12]. Por lo que favorece el análisis de las muestras ya que no se incorpora ninguna sustancia que pueda interferir en los resultados.

Para Araque [13], esta técnica puede ser utilizada para identificar compuestos orgánicos, polímeros, determinar composición de copolímero, determinar posibles vías de degradación de polímeros entre otras. Para esta investigación se trata de una técnica sencilla y de bajo costo por lo que el uso del FT-IR-ATR como herramienta para identificar la degradación del polímero y facilitar la cuantificación de la degradación o transformación de los grupos carbonilos presentes en el material a través del índice de carbonilo es objeto de este estudio [14–16]. Por lo que el presente estudio persigue como objetivo evaluar la espectroscopia infrarroja (FT-IR-ATR) para determinar cuantitativamente la degradación del polímero PoliEtilenTereftalato – Bagazo de caña mediante el análisis de los espectros obtenidos.

Materiales y Métodos

1. Toma de muestra después del proceso degradativo con hongos filamentosos ambientales como *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* y *Rhizopus spp.* a partir de la micoteca LIADSA-UNEFM 2015.

2. Se realizó análisis FTIRATR a las muestras de PoliEtilenTereftalato sin tratar (T0), mezcla de polímeros (PET-Bagazo de caña) T0 y polímeros biotratados en el tiempo de 60 días (T60) con el objetivo de identificar las bandas y/o los grupos funcionales sensibles al ataque fúngico. Se utilizó un equipo Nicolet Is10 modelo Thermo Fisher Scientific, la toma de los datos se realizó con una escala de absorbancia desde 4000 hasta 600 cm^{-1} con 4 cm^{-1} , con una resolución de 64 scans, y una ganancia de 8 y velocidad óptica de 0,4747. Utilizando el accesorio Thermo ITR ZnSe. Antes de las lecturas de las muestras se acondicionó el equipo tomando el aire como referencia antes de la recolección de cada espectro de la muestra (background).

Las muestras se colocaron directamente sobre el cristal de ZnSe. Cada muestra de las mezclas del polímero y su control fueron medidos por duplicado y colocados en la celda de ATR sin ninguna preparación ni dilución, se utilizó para procesar los espectros el programa OMNIC. Se analizaron las diferentes concentraciones del polímero.

3.- Se utilizó la metodología propuesta por Valea *et al.*, [15] y Uribe *et al.*, [16] modificada, en la determinación del porcentaje de índice de carbonilo (%IC) en función a la absorbancia del pico a 1713 cm^{-1} correspondiente al enlace carbonilo (C=O) presente en el PET sin tratamiento (control) y la mezcla PET-Bagazo de caña, con respecto a la absorbancia de la banda del enlace CH₂ a 1455 cm^{-1} presente sin variación en el PET sin tratamiento (control) y la mezcla PET-Bagazo de caña. Asimismo se siguió la metodología propuesta por Uribe *et al.*, [16] modificada en la normalización de la zona C=C correspondiente a las longitudes de onda 1614, 1578 y 1504 cm^{-1} , con la banda del enlace CH₂ a la longitud de onda 1455 cm^{-1} que fue invariable para el polímero PoliEtilenTereftalato (control), Bagazo de caña y la mezcla PoliEtilenTereftalato -Bagazo de caña.

4.- Análisis estadístico de los datos se realizó mediante el uso del paquete estadístico Minitab 17® para Windows® realizando pruebas de homogeneidad seguido de un análisis de varianza con ajuste lineal por ANOVA y un post hoc de comparación múltiple de Tukey siendo la significancia del p-valor ($p \leq 0,05$), expresadas en letras en las imágenes y tablas, donde letras iguales no hay diferencia significativa.

Resultados y Discusión

Se muestra el espectro infrarrojo separando dos zonas, una que va de 4000 a 1200 cm^{-1} que es la región de los grupos funcionales y otra que va de 1200 a 400 cm^{-1} que es la correspondiente a la huella digital, esta última es una zona invariante a menos que el compuesto haya sufrido algún efecto químico, físico o biológico [17]. En la figura 1 se observan las bandas vibracionales del PET en el infrarrojo medio donde se señalan las principales bandas a estudiar como son la del carbonilo presente en 1713 cm^{-1} [16,18], en 1455 cm^{-1} se presenta la banda del metileno [16,18,19] y otras regiones vibracionales características del compuesto que para la degradación en el presente estudio no se consideran.

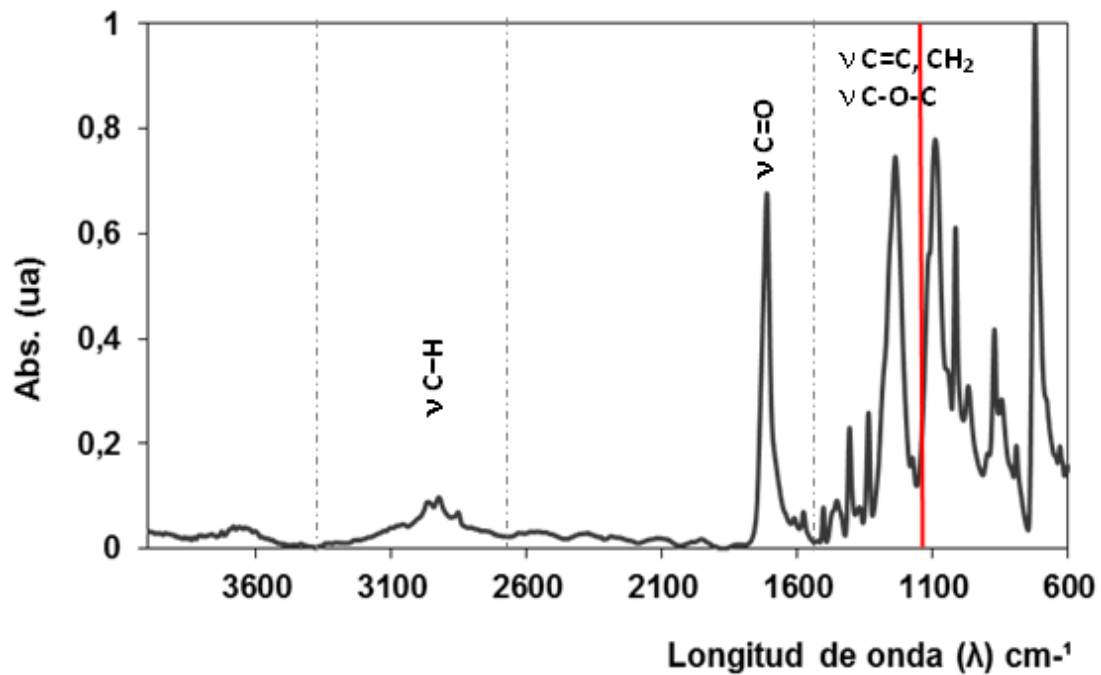


Figura 1: Espectro FT-IR-ATR del PolietilenoTereftalato reciclado se muestran las zonas vibracionales C=O, C-O-C, -CH₂, -CH, C=C [20].

En la figura 2 se muestran los espectros FT-IR-ATR del polímero sin tratar y biotratados en 60 días de exposición frente a especies fúngicas ambientales como son los hongos *A. niger*, *A. fumigatus* y *Rhizopus spp.* donde se observan las bandas vibraciones características para este estudio como son la región del carbonilo (C=O) a 1713 cm⁻¹ [16,18] y la del metileno (CH₂) en 1458 cm⁻¹ y las bandas de los enlaces C=C Ar y C-CAr en 1614, 1578 y 1504 cm⁻¹ respectivamente las cuales son representativas de los poliésteres [16,18,19], en la superposición de los espectros se puede ver como el tamaño de la banda del carbonilo se ve disminuida y/o aumentada en las mezclas A, B y C con respecto al control sin tratamiento fúngico.

Es de hacer notar que la banda del carbonilo es capaz de absorber energía lumínica que permite que estos materiales sean fotodegradable [1], lo que permite la acción de los microorganismos en la degradación del material, otro factor que coadyuva a la transformación son las características del polímero como: la presencia de enlace susceptibles a hidrólisis, hidrofiliidad, estereoquímica, peso molecular, superficie específica, entre otras [1]. Por todo esto se puede inferir que el polímero PoliEtilenoTereftalato -Bagazo de caña de azúcar sufrió transformación o degradación frente a las especies fúngicas utilizadas, así como también el efecto fotodegradante que pudo contribuir al proceso de conversión.

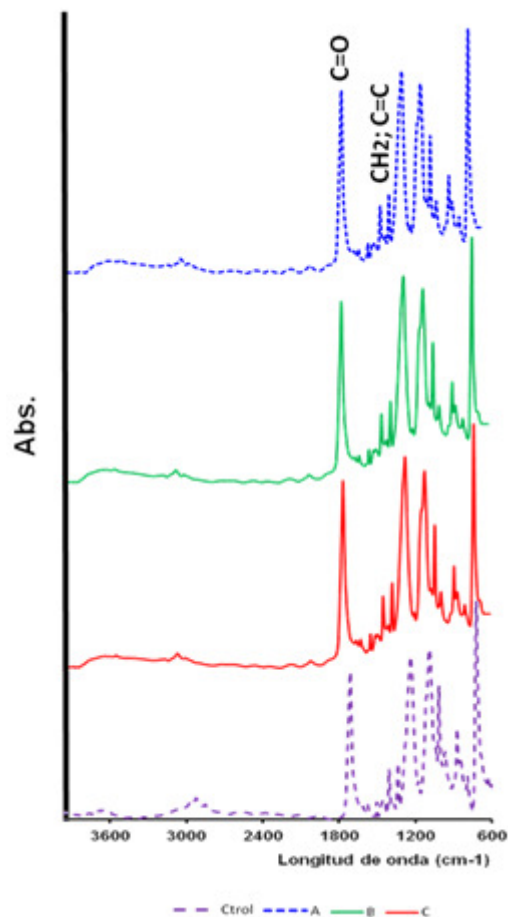


Figura 2: Espectro FT-IR-ATR del polímero PoliEtilenTereftalato T0 y los Biotratados T60, se muestran las bandas vibracionales correspondientes a los grupos funcionales presentes en los materiales C=O, C=C, CH₂.

En la tabla I se observan los resultados obtenidos de los análisis espectrales de los infrarrojos, donde se aprecia lo siguiente en función al control PoliEtilenTereftalato-Bagazo de caña T0 y los tratamientos con las especies fúngicas a los 60 días de exposición. Ahora bien a través de la herramienta del FT-IR-ATR se puede evaluar o demostrar la degradación o transformación por acción de algún agente sobre los materiales complejos sintéticos en función al índice de carbonilo y metileno [16], ya que un aumento o disminución de estos grupos funcionales es indicativo de los cambios de los compuestos orgánicos mediante la acción de un organismo vivo.

Se pueden observar cuatro grupos estadísticamente significativos ($p \geq 0,05$) entre las mezclas en el tiempo, y el control formando este el grupo (b), de igual forma se percibe que las tres especies (*A. fumigatus*, *A. niger* y *Rhizopus spp.*) forman el grupo (a) quienes logran disminuir el índice carbonilo (%IC) desde 90,83 a 51,20% y el porcentaje de vinilo (%C=C) que disminuyó desde 97,97 a 61,77 % con respecto al control que presenta 100%. Por lo que Uribe *et al.*, [16] y Aradilla-Zapata *et al.*, [1], afirman que durante el proceso de degradación, el grupo funcional carbonilo es liberado por acción de la luz UV y rápidamente asimilado como fuente de energía por los microorganismos, que a su vez podría permitir la mayor degradación de la estructura principal de la molécula en este caso del PoliEtilenTereftalato-Bagazo de Caña.

Del mismo modo se observa la formación de dos grupos (c,d) entre Red %IC y Red %C=C donde los valores oscilan entre 48,80 y 2,03% respectivamente, por esta razón la reducción del índice carbonilo guarda relación con la disminución del índice de terminaciones vinílicas (C=C), siendo otro factor importante el tipo y características de los microorganismos empleados para el estudio [1,16] por lo que se demuestra que la técnica de FT-IR-ATR se puede emplear para la cuantificación de la degradación microbiana de los materiales complejos (polímeros).

Tabla I: Evaluación del polímero PoliEtilenTereftalato-Bagazo de caña en función al Índice de carbonilo y reducción del %C=C después del biotratamiento con las especies fúngicas *A. fumigatus*, *A. niger* y *Rhizopus spp.* y sus controles. Se muestran el promedio n=3, la desviación estándar y la significancia del p-valor en letras iguales entre columnas no hay diferencia significativa ($p \leq 0,05$). Fuente: Espectros infrarrojos de cada especie, mezcla A: 95:5; B: 90:10, C: 85:15 control T0 y biotratamientos a T60.

Especies	Mezclas/Tiempo (días) (b)	%IC (a)	Red %IC (c)	%C=C (a)	Red %C=C (d)
Control (b)	A- T0	100	---	100	---
	B- T0	100	---	100	---
	C- T0	100	---	100	---
<i>A. fumigates</i> (a)	A- T60	82,36±7,82	17,64	95,96±0,35	4,04
	B- T60	90,83±3,61	10,45	77,69±0,38	22,31
	C- T60	86,84±13,89	13,16	81,38±0,10	18,62
<i>A. niger</i> (a)	A- T60	61,83±8,19	38,17	97,97±0,38	2,03
	B- T60	86,87±12,32	13,13	84,04±3,30	15,96
	C- T60	51,20±8,42	48,80	82,64±1,22	17,36
<i>Rhizopus spp.</i> (a)	A- T60	80,85±13,37	19,15	97,35±0,82	2,65
	B- T60	70,95±4,76	29,05	79,27±0,36	20,73
	C- T60	87,57±9,91	12,43	61,77±0,53	38,23

Conclusiones

La identificación de los grupos funcionales en el espectro infrarrojo del polímero PoliEtilenTereftalato – Bagazo de caña susceptibles a degradación se logro satisfactoriamente ubicando los grupos carbonilo (C=O), metileno (CH₂) y la vibración del enlace C=C, en el PoliEtilenTereftalato y los polímeros PoliEtilenTereftalato-Bagazo de caña de azúcar control y biotratados en las mezclas estudiadas, identificándose las bandas sin cambios en los polímeros estudiados.

La Cuantificación de la degradación del polímero PoliEtilenTereftalato – Bagazo de caña por espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR-ATR) se alcanzo a través del %IC y Reducción del %IC, %C=C y la Reducción %C=C por lo que el uso de esta herramienta es sencilla y confiable para demostrar la degradación o transformación del polímero PoliEtilenTereftalato – Bagazo de caña.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo a la investigación a la Licda. Liz Cubillan del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) de la unidad de servicios de infrarrojo centro de química (PAS), y a la Ing. Patricia Navas del Laboratorio de Investigación y Apoyo Docente Santa Ana (LIADSA-UNEFM).

Referencias:

- [1] Aradilla Zapata D, Oliver R, and Estrany F. (2012) Polímeros biodegradables: una alternativa de futuro a la sostenibilidad del medio ambiente. *Técnica Ind.* marzo: 76–80.
- [2] Muñoz L. (2012) Estudio del uso del polietilen tereftalato (PET) como material de restauracion en suelos de baja capacidad de carga. Accesado en: 2018.
- [4] Márquez-Riquel M, Salazar-Cordero J, Yegres F, Nuñez Y, and Navas P. (2016) Degradacion parcial del copolimero polipropileno de alta densidad y bagazo agave cocuy mediada por hongos filamentosos. *Agora Cient. UNEFM* 740–746.
- [5] Mendoza Quiroga R, and Díaz Velilla W. (2011) Metodología para la caracterización termo-mecánica de películas plásticas biodegradables Methodology for the thermo-mechanical characterization. *Prospectiva* 9: 46–51.
- [6] Zara J, Yegres F, Vargas N, Morales S, Cubillan L, and Márquez-Riquel M. (2017) Empleo de la Espectroscopia Infrarroja (FT-IR-ATR) como herramienta para la Caracterización del bagazo de caña proveniente de la Sierra Falconiana. *QuimicaViva* 16: 17–24. Accesado en: 2011.

- [8] **Márquez-Riquel M, Navas-Yamarte P, Yegres F, and Vivas-Espejo C.** (2015) Biodegradación parcial de aceites residuales usados utilizando *Aspergillus niger*, *Rhizopus sp.* y *Saccharomyces cerevisiae*. *Rev. Química Viva* 14: 90–102.
- [9] **Rodríguez A.** (2012) Ecnología de Alimentos Biodegradabilidad. *Cienc. y Tecnol. Aliment.* 22: 69–72.
- [10] **Ferri GN, Hermann KL, Wisbeck E, and Tavares LBB.** (2014) Evaluación de la influencia de los factores físicos y nutricionales para la propagación del micelio de *Pleurotus sajor-caju* CCB-019 en biomasa. .
- [11] **Acuña N.** (2017) Revisión bibliográfica sobre los microorganismos Biodegradadores de Polietileno de Baja densidad y sus efectos en el material. .
- [12] **Ramirez A, Benítez JL, Rojas de-Astudillo L, and Rojas B.** (2016) Materiales Polímeros de tipo Hidrogeles: Revisión sobre su caracterización mediante FTIR, DSC, MEB y MET. *Rev. Lat. Met. Mat.* 36: 108–130.
- [13] **Araque Nohemi.** (2008) Estudio y caracterización de la degradación hidrolítica y en compostaje de PET virgen y reciclado.
- [14] **Gallego K, López B, and Gartner C.** (2006) Estudio de mezclas de polímeros reciclados para el mejoramiento de sus propiedades. *Rev. Fac. Ing.* Julio: 59–70.
- [15] **Valea A, Juanes F, Miguez J, and Gonzales M.** (2008) Aleaciones de polipropileno (PP) y Polietilentereftalato (PET) reciclados y estudio de sus propiedades. *An. Mecánica la Fract.* 2: 5.
- [16] **Uribe D, Giraldo D, Gutierrez S, and Merino F.** (2010) Biodegradación de polietileno de baja densidad por acción de un consorcio microbiano aislado de un relleno sanitario. *Rev Perú Biol* 17: 133–136.
- [17] **Gulmine J.V., P.R. Janissek, H.M. Heise et al.** (2002) Polyethylene characterization by FTIR. *Polym. Test.* 557–563.
- [18] **Palma D.** (2012) Producción de polímeros biodegradables mediante la modificación del PET con APL y Quitosano. .
- [19] **San Andres M, Gomez M, and De la Roja J.** (2009) Materiales sintéticos utilizados en la manipulación, exposición y almacenamiento de obras de arte y bienes culturales. Caracterización por espectroscopia FTIR-ATR. .
- [20] **Márquez-Riquel M, Zara J, Cordoba Y, and Cubillan L.** (2019) Copolymer got from PET-BC as a technological alternative in the reuse a solid waste. *IJLEMR* 4: 51–57.

 **Química Viva**

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **Química Viva**

Número 3, año 20, Diciembre 2021

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

De átomos y sus orbitales a moléculas y estructuras biológicas, en realidad aumentada adaptada a teléfonos, tablets y computadoras sin instalar programas ni hardware especial

Fabio Cortés Rodríguez¹, Celeste Aguirre-Pranzoni², Analía Príncipe³ y Luciano A. Abriata^{1,4}

¹Laboratory for Biomolecular Modeling, École Polytechnique Fédérale de Lausanne and Swiss Institute of Bioinformatics, Suiza. ²Área de Química Orgánica, Departamento de Química, Facultad de Química Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional de San Luis, Argentina. ³Departamento de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina. ⁴Protein Production and Structure Core Facility, École Polytechnique Fédérale de Lausanne, Suiza

luciano.abriata@epfl.ch

Recibido: 15/09/2021 - Aceptado: 23/11/2021

[Versión para imprimir](#) 

Resumen

Introducimos a la comunidad de habla hispana una actualización del sitio MolecuLARweb (<https://molecularweb.epfl.ch>) y las nuevas herramientas webXR de Google, que juntos permiten abordar estructuras y mecanismos químicos y biológicos en realidad aumentada accesible sin instalar programas ni hardware especiales, directo en navegadores web de teléfonos, tablets y computadoras, en forma gratuita y abierta. Con MolecuLARweb, estudiantes y educadores pueden manipular representaciones virtuales de átomos, moléculas, orbitales, biomacromoléculas y estructuras biológicas, para enseñar y aprender sobre la estructura atómica, los orbitales atómicos y moleculares y la teoría TRPEV; la estereoquímica y las posibles distintas conformaciones de las moléculas; los ácidos, las bases, los equilibrios de protonación y los puentes de hidrógeno; la estructura de las proteínas, los ácidos nucleicos y sus interacciones; e incluso visualizar estructuras experimentales de ensamblados biológicos tan grandes como los virus. Por sobre esto, los modelos de realidad aumentada de organelas, células y tejidos disponibles en Google extienden la cobertura temática de MolecuLARweb hacia la biología celular y de sistemas. Aquí explicamos brevemente cómo usar estas herramientas, ahora accesibles directamente desde la página principal de la revista Química Viva de la Universidad Nacional de Buenos Aires (<http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar>). Además, ejemplificamos cómo integrarlos en una experiencia completa que comienza en la relación entre estados de protonación y cargas, siguiendo con interacciones electrostáticas que estabilizan complejos ADN-proteína para luego visualizar como éstos se ensamblan en nucleosomas, los cromosomas dentro del núcleo celular dentro de una célula, luego el sistema circulatorio como ejemplo de nivel de tejidos, y finalmente volviendo a hacer zoom en una célula, una mitocondria, el grupo hemo de una proteína, y finalmente los orbitales 3d de un átomo.

Palabras clave:

Summary

We introduce the Spanish-speaking community to an update of MolecuLARweb (<https://molecularweb.epfl.ch>, available in 6 languages including English and Spanish) and to the new WebXR resources from Google, that together enable the inspection of chemical and biological structures and mechanisms at various levels of resolution using augmented reality that runs on standard devices without special hardware and right inside web browsers without software installations, for free. Using MolecuLARweb on smartphones, tablets, laptops or desktop computers, students and educators can manipulate virtual representations of atoms, molecules, their orbitals, and even complex biomolecules and biological structures, to teach and learn about molecular structure, atomic and molecular orbitals, and VSEPR theory; stereochemistry and conformations; acids, bases and hydrogen-bonding; the structures of proteins, nucleic acids and their complexes; and the structures of large biological structures like nucleosomes and viral particles. In turn, the commodity augmented reality models of subcellular organelles, cells and tissues available at Google extend MolecuLARweb's focus on chemistry and molecular structure towards a more complete coverage of biology. Thus, together the two resources provide new pedagogic material of highly immersive nature, and easily available worldwide, spanning all the way from chemistry to cell biology. Here we explain how to use these resources, now linked to the

home page of the *Química Viva* journal at the National University of Buenos Aires (<http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar>), and exemplify their integration into a full experience that spans from molecular protonation states and the resulting charges to protein-DNA interaction, their packing into nucleosomes, the chromosomes inside cells, and the human circulatory system, then zooming back out to cells, the mitochondrion, a heme group, and the 3d orbitals.

1. Introducción

Los modelos de entidades de naturaleza abstracta, o imperceptibles por sus pequeños tamaños, o de difícil disponibilidad/adquisición, son extremadamente útiles para la enseñanza y el autoaprendizaje, al hacer más inteligibles los conceptos y entidades en cuestión. Esto es especialmente importante en el abordaje de la química, donde profesores y alumnos se enfrentan a conceptos complejos y sobre todo difíciles de visualizar. Ejemplos concretos abarcan desde las formas y energías de los orbitales atómicos puros y sus combinaciones en orbitales híbridos y moleculares, hasta la organización de átomos en el espacio especialmente en sistemas quirales; incluyendo también el hecho de que las moléculas son entidades flexibles que exploran variadas conformaciones, pasando por el carácter dinámico de los equilibrios, los cambios de estados de protonación, la distribución de propiedades moleculares como la carga o la aromaticidad. Sumado además a la interacción de todos estos y otros elementos en moléculas complejas como aquellas que forman los bloques de la biología. En estos y tantos otros ejemplos, la visualización de las entidades y los mecanismos implicados contribuyen a la enseñanza didáctica, facilitando así la comprensión y la construcción de sus propios conocimientos por parte de los estudiantes. Para eso, los materiales didácticos y las presentaciones en clases incorporan variados modelos, ilustraciones y gráficos. Pero estos mismos presentan dos inconvenientes: por un lado, muchos son representaciones bidimensionales de entidades intrínsecamente tridimensionales; por otro lado, este material suele ser estático o en los mejores casos, animado, pero rara vez interactivo, es decir que ni profesores ni alumnos pueden actuar sobre las entidades químicas o biológicas en cuestión. Muchos cursos hoy en día suplen parcialmente esa deficiencia recurriendo a programas de gráficos moleculares en computadora, los cuales permiten rápidamente visualizar prácticamente cualquier molécula en pseudo 3D ("pseudo" haciendo referencia a que la representación es normalmente en una pantalla plana). Incluso existen varias librerías de programación web que permiten insertar gráficos moleculares directo en páginas web, con lo cual se han creado variados recursos educativos en distintas ramas de la química y la biología molecular. El principal inconveniente de estos programas gráficos es que se limitan al manejo de objetos intrínsecamente tridimensionales mediante el empleo de un mouse sobre una superficie plana, lo cual dificulta operaciones de rotación y traslación simultáneas sobre dos moléculas; por lo que es prácticamente imposible comparar pares de moléculas o hacerlas interaccionar. Por el contrario, los modelos tangibles diseñados en plástico u otros materiales permiten una gran accesibilidad y capacidad de manipulación, donde el educador o el estudiante puede físicamente mover moléculas para entender su geometría, estereoquímica y quiralidad, e incluso forzar rotaciones alrededor de enlaces simples, todos estos más difíciles de lograr con programas de gráficos en computadora. Existen incluso modelos físicos diseñados en materiales como el plástico que representan ácidos nucleicos y proteínas, y hasta modelos físicos de células. Incluso, las impresoras 3D, abrieron la posibilidad de imprimir modelos en plástico para generar modelos físicos de cualquier objeto con volumen, lo cual se ha explotado por ejemplo para producir modelos tangibles de orbitales atómicos.[1] Asimismo, estos modelos físicos poseen también sus desventajas en comparación a los gráficos: su –relativamente- elevado costo, la falta de resolución en los detalles, la dificultad de modificar la visualización y de anotar información, entre otras. En particular, los modelos moleculares son limitados en el número y tipo de átomos disponibles, además de que el usuario debe armar los modelos lo cual supone posibilidades de error para moléculas grandes, y obviamente disponer de un kit molecular o un medio alternativo de construcción.

En los últimos años, las tecnologías llamadas de realidad virtual y realidad aumentada se han vuelto progresivamente más accesibles, con lo cual numerosos grupos han comenzado a elaborar distintos tipos de programas y aplicaciones que permitan integrar lo mejor del mundo virtual con lo mejor del mundo físico en lo que respecta a la manipulación y visualización de moléculas. Hoy en día hay una oferta variada de tales aplicaciones, en las cuales se identifican algunas limitaciones en relación a su uso: por un lado, los programas más completos suelen requerir equipamiento especial que al conectarse a una computadora proveen realidad virtual o aumentada muy inmersiva pero con un costo de cientos a miles de dólares, con lo cual es impensable lograr un buen alcance a estudiantes y educadores, incluso en países desarrollados. Por otro lado, la posibilidad de lograr realidad aumentada en teléfonos modernos, tablets y computadoras usando simplemente la webcam de estos dispositivos, permite a cualquier usuario lograr esa experiencia, que es menos inmersiva pero en principio más que los gráficos de computadora estándar; y más importante aún, permiten un mejor control espacial de la visualización y de los objetos de estudio. Pero aún aquí la mayoría de los programas disponibles tienen problemas: por un lado, casi todos presentan solo visualizaciones estáticas, con poca o ninguna interactividad con el usuario; además, casi todos estos programas y aplicaciones deben

ser instaladas, lo cual puede no ser posible en sistemas compartidos donde los usuarios no tienen privilegios de administrador -o simplemente el usuario puede no querer o confiar en la instalación de aplicaciones.

Teniendo en cuenta estos antecedentes, y tratando de unir lo mejor del mundo virtual y real en una forma accesible y fácil de usar, los autores FCR y LAA recientemente introdujimos un sitio web llamado MoleculARweb (<https://molecularweb.epfl.ch>) que propone una serie de actividades de realidad aumentada útiles para enseñar y estudiar varios conceptos de química y biología molecular.[2,3] Las actividades cubren desde la química general e inorgánica hasta la biología estructural, pasando por la química orgánica y la fisicoquímica. El sitio no consiste en actividades puntuales sino en herramientas con las cuales los educadores pueden hacer demostraciones y armar ejercicios para sus alumnos. Cada actividad en MoleculARweb utiliza un set de marcadores (Figura 1A) que se imprimen con impresoras comunes, y se arman de acuerdo a los videos de instrucciones disponibles en la página de inicio del sitio. Al entrar a la página web de cada actividad el usuario debe permitir al navegador web el uso de la webcam, para mostrar a esta los marcadores impresos. De esta manera, el sistema mostrará en la pantalla los objetos virtuales relevantes para la actividad de acuerdo al marcador utilizado, que luego el usuario podrá mover para manipularlos en el espacio (Figura 1B).

Como mostramos en la sección 2, las actividades en MoleculARweb abarcan desde la química más fundamental (átomos, moléculas, sus orbitales, mecánica e interacciones) hasta la estructura de ensamblado moleculares biológicos complejos (ribosomas, nucleosomas, partículas virales). Y tal como ejemplificamos en la sección 3, el portal Google pone al alcance de cualquier usuario con un teléfono o tablet modernos, modelos que comienzan justo un nivel arriba de los ensamblados macromoleculares en la escala de complejidad biológica: desde organelas (mitocondrias, aparato de Golgi) hasta células, tejidos y sistemas (linfático, nervioso, etc.) e incluso varios seres vivos completos con gran resolución de detalles. Aunque estos modelos son mucho menos interactivos que los de MoleculARweb, permiten extender su contenido para poner juntas la química y la biología como actividades sin fronteras claras, donde la segunda está muy apoyada en la primera, tal como ejemplificamos en la sección 4 con un recorrido que conecta desde conceptos a nivel atómico hasta modelos de sistemas biológicos complejos. Esto último inspirado en una actividad real propuesta a los visitantes de un evento de ciencia abierta, llevada a cabo en EPFL en el año 2019. Aparte, durante 2021 utilizamos estas herramientas en talleres y actividades especiales con alumnos y con docentes, en modalidad mixta presencial y en línea. Más específicamente, en talleres de la materia Química Orgánica en la Universidad Nacional de San Luis, Argentina, y en actividades de conexión entre la Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina, y estudiantes y profesores de nivel secundario. Esto se detalla en la sección 5 de este artículo.

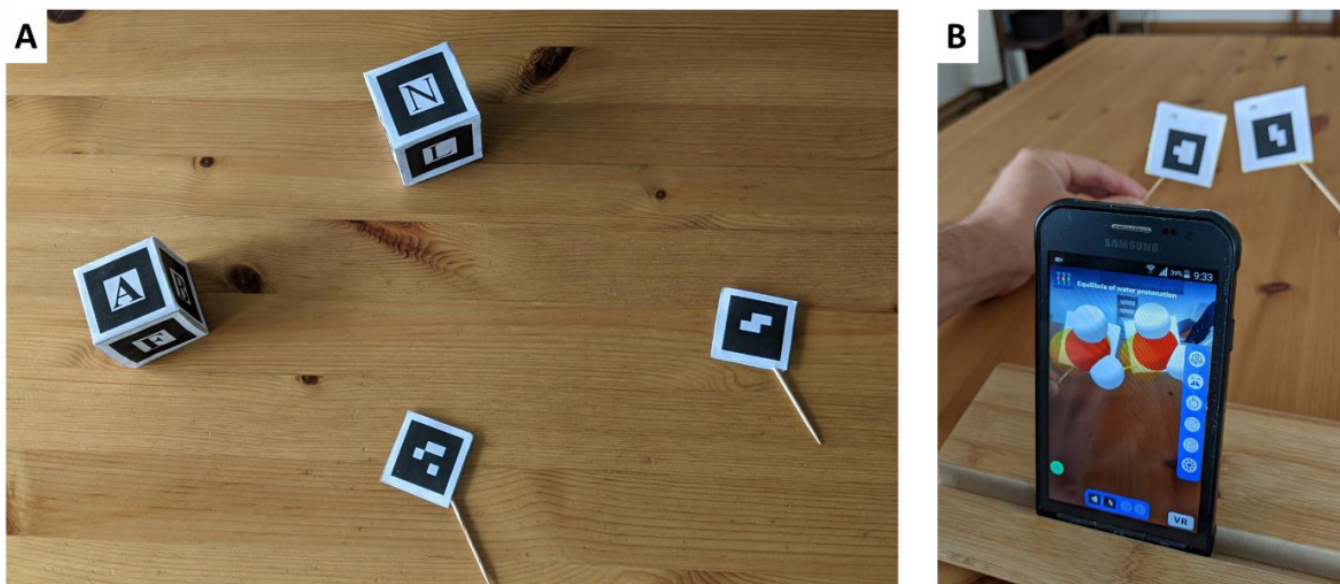


Figura 1: *Cómo usar MoleculARweb con marcadores.* (A) Marcadores cúbicos para los kits de modelado virtual o planos para las otras actividades de MoleculARweb. El sitio está disponible gratuitamente, sin registración en 7 idiomas incluyendo el español en <https://molecularweb.epfl.ch>. Los marcadores se pueden imprimir desde <https://molecularweb.epfl.ch/assets/markers/allmarkers.pdf>. (B) Ejemplo de actividad corriendo en un teléfono, aquí mostrando cómo dos moléculas de agua interaccionan e intercambian protones mediante puentes de hidrógeno. Esta es la actividad 1 del módulo "Puentes hidrógeno, ácidos y bases": <https://molecularweb.epfl.ch/modules/acids-and-bases/waterwater/water.html>

2. Actividades disponibles en MoleculARweb, y cómo utilizarlas

El contenido de MoleculARweb se reparte en 4 módulos temáticos que presentamos aquí con algunas actualizaciones respecto a la versión liberada en 2020, además del llamado “Kit de Modelado Molecular Virtual” del cual presentamos aquí el prototipo de una nueva versión. Los módulos temáticos son “Formas de orbitales y moléculas”, “Puentes hidrógeno, ácidos y bases”, “Estructura atómica de moléculas biológicas”, y “Complejos macromoleculares biológicos”. Cada módulo incluye varias actividades que hemos descrito en un artículo reciente en inglés 2 y algunas de las cuales presentamos en videos en español en el canal de YouTube Moléculas en Realidad Aumentada [4]. Las actividades de estos módulos (sección 2.1) funcionan con los marcadores de doble lado que se pueden imprimir en el link dado en la Figura 1A. Algunas de estas actividades también tienen un modo sin marcadores, menos interactivo pero más inmersivo (sección 2.3). Por otro lado el kit de modelado molecular virtual (sección 2.2) utiliza marcadores tipo cubo que también pueden descargarse como se indica en la Figura 1A. Estos marcadores cúbicos permiten cargar cualquier par de moléculas desde sus coordenadas atómicas para visualizarlas en realidad aumentada, incluso simular sus movimientos, y ver cómo chocan e interaccionan.

2.1 Actividades con marcadores planos, en teléfonos, tablets y computadoras con webcam

Todas las actividades soportan un modo de uso basado en marcadores que los usuarios pueden imprimir con una impresora normal, y mostrar a la webcam. Esta detectará los patrones de los marcadores y superpondrá los objetos virtuales correspondientes sobre el video del entorno en tiempo real. La primera vez que el usuario accede a una actividad el navegador pregunta si se permite el uso de la webcam; el usuario debe aceptar

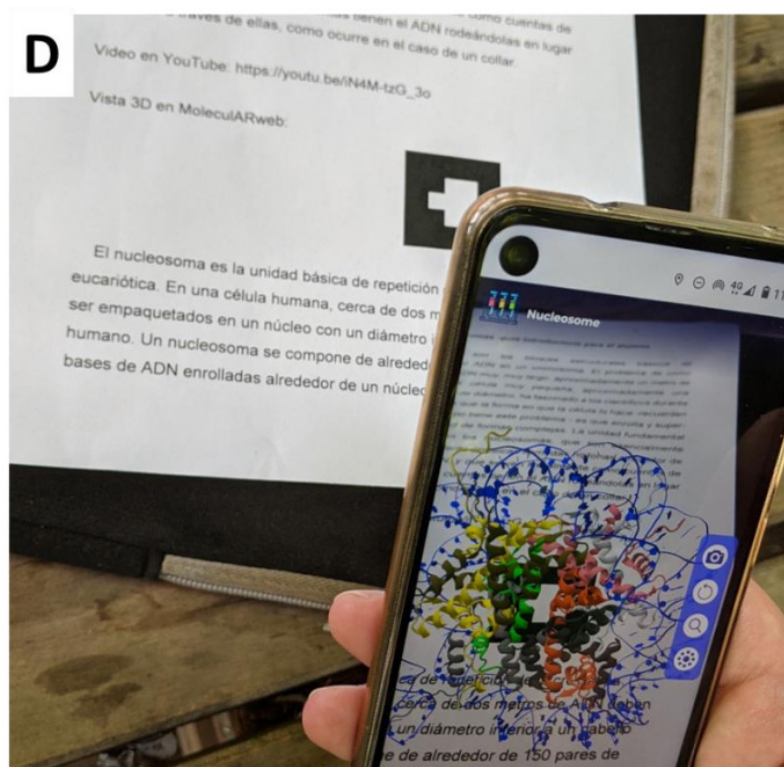
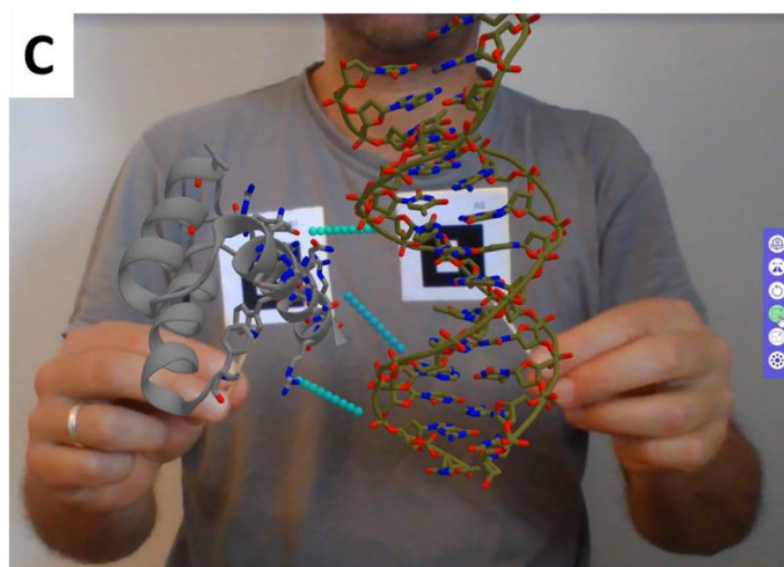
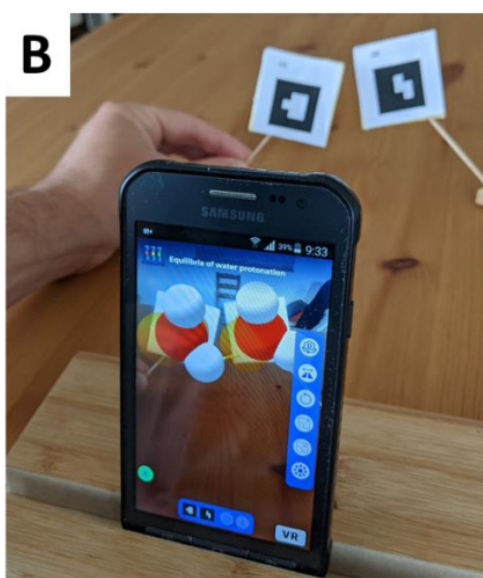
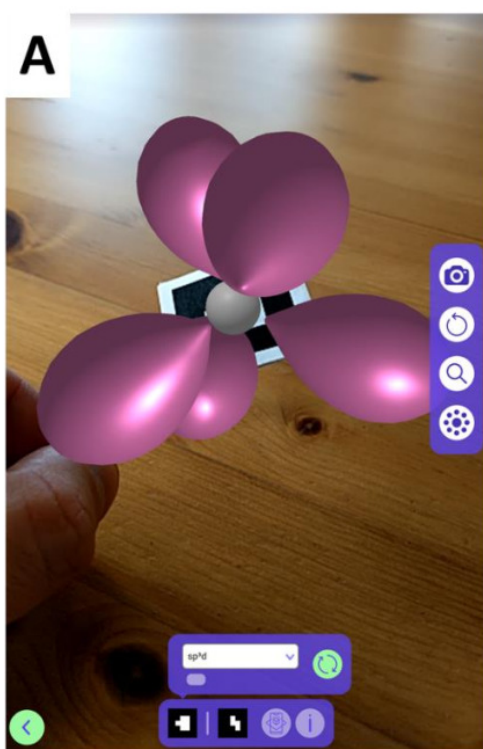


Figura 2: Ejemplificando una actividad de cada módulo y distintos modos de uso en computadoras y teléfonos. (A) Orbital híbrido sp^{3d} capturado en la pantalla del teléfono móvil. Esta actividad está en <https://molecularweb.epfl.ch/modules/orbitals-and-molecular-shapes/atomic-orbitals/atomic-orbitals.html> (B) Dos moléculas de agua interaccionando e intercambiando protones mediante puentes hidrógeno, foto externa. Actividad en <https://molecularweb.epfl.ch/modules/acids-and-bases/water-water/water.html> (C) Educador acercando una proteína a una molécula de ADN doble hebra, capturado de la pantalla de una computadora. Actividad en <https://molecularweb.epfl.ch/modules/atomic-structures/protein-dna/protein-dna.html> (D) Un marcador dentro de una guía de lectura permite incorporar un modelo 3D al material didáctico. Actividad en <https://molecularweb.epfl.ch/modules/biological-assemblies/nucleosome/nucleosome.html>

Ejemplos de actividades. La Figura 2 muestra un ejemplo de una actividad de cada módulo, ilustrando además distintos modos de uso. La Figura 2A muestra un orbital híbrido sp^{3d} (actividad “Orbitales atómicos y teoría TRPEV” del módulo “Formas de orbitales y moléculas”) manipulado en un teléfono, tomando la foto directamente como captura de pantalla. La Figura 2B muestra cómo se manipulan dos moléculas de agua viéndolas a través del teléfono (actividad “Equilibrios de protonación del agua” del módulo “Puentes hidrógeno, ácidos y bases”); en este caso con una foto externa pero que bien podría tomarse directamente desde el propio teléfono también. La Figura 2C muestra un usuario acomplejando una molécula de ADN a una molécula de proteína (actividad “Complejo ADN-proteína” del módulo “Estructura atómica de moléculas biológicas”) en una computadora que solo tiene una cámara frontal por lo cual sólo funciona como espejo. La Figura 2D muestra la incorporación de un marcador a una guía de estudio acerca de los nucleosomas para que el alumno pueda visualizarlo directamente allí con su teléfono directamente sobre la guía (actividad “Nucleosoma” del módulo “Complejos macromoleculares biológicos”).

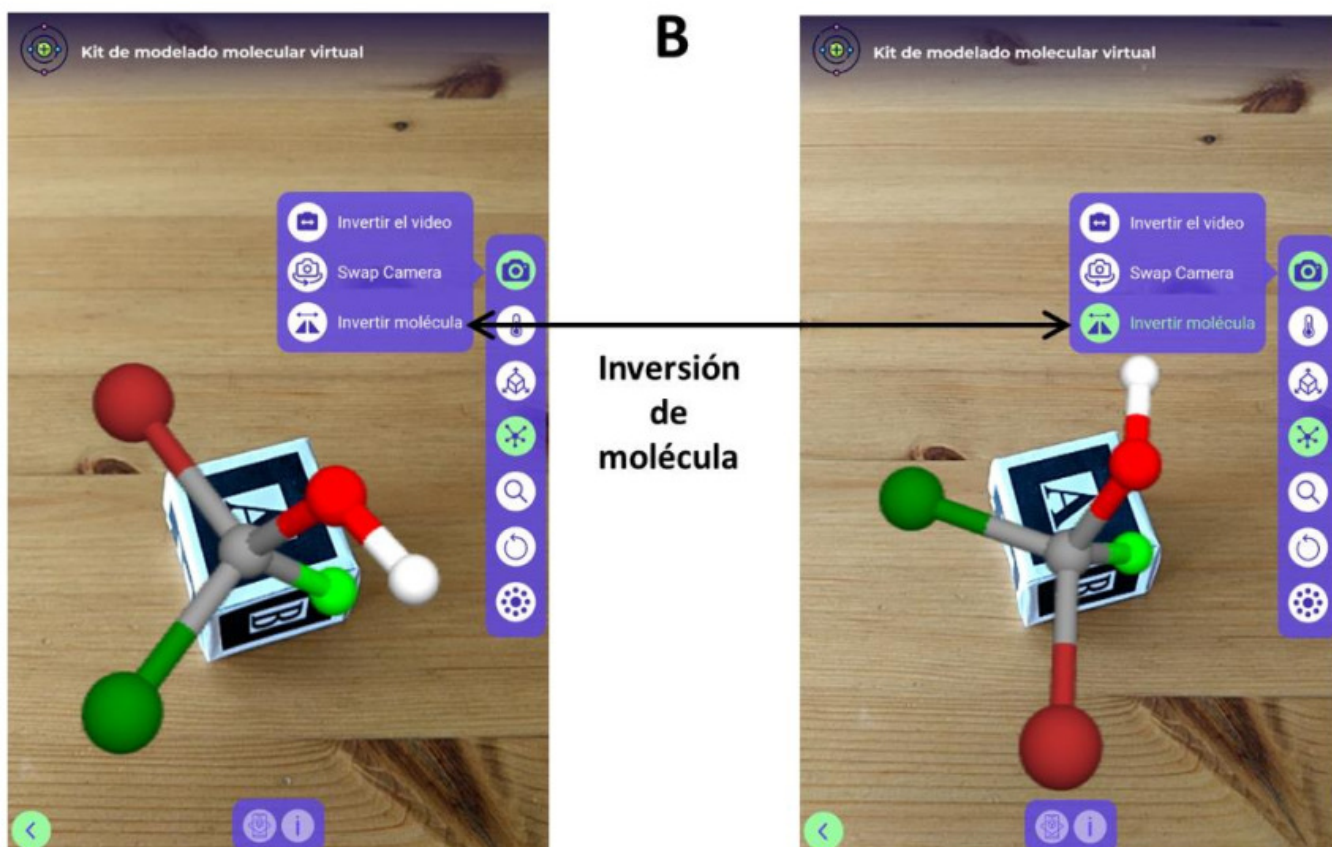
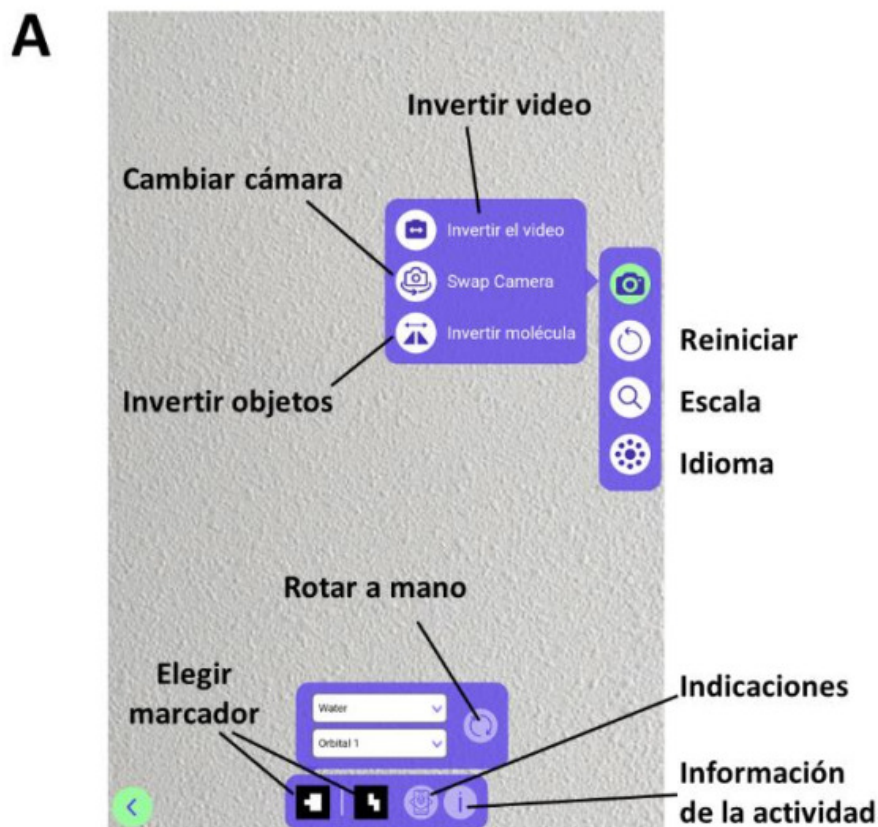


Figura 3: *Controles más generales.* (A) Controles generales comunes a todas las actividades. (B) Ejemplo de aplicación del botón de invertir molécula en el kit de modelado molecular virtual, aquí para intercambiar entre los enantiómeros R y S de una molécula de CFCIBrOH (elegida sólo con fines demostrativos para tener átomos de distintos colores alrededor del carbono).

Controles. La Figura 3A muestra los controles más comunes a todas las actividades (se ejemplifica en teléfono móvil donde hay mayor variedad de controles). Algunos de estos controles se destacan aquí con sus posibles utilidades. Primero, en caso de haber más de una webcam, por ejemplo en teléfonos con cámara delantera y trasera, el usuario puede cambiarlas en tiempo real mientras trabaja. Otro control permite invertir sólo la imagen, lo cual puede ser útil

por ejemplo al estudiar enantiomería (Figura 3B, ejemplo tomado del kit de modelado molecular). Por su parte, los controles de rotación permiten lograr un ajuste fino de la orientación del objeto sin mover el marcador, lo cual puede ser útil por ejemplo cuando el marcador está integrado en un documento preparado por el educador como en la Figura 2D.

Cada actividad tiene algunos controles específicos, generalmente en la parte inferior y con el fin de permitir al usuario elegir entre opciones. Por ejemplo, la Figura 3A muestra una vista en la pantalla del teléfono donde se aprecia en la parte inferior opciones para elegir qué orbital de cuál molécula se desea visualizar, junto con un control que activa la rotación a mano e indicaciones sobre la actividad. Aparte, las actividades con visualizaciones estáticas poseen un botón con el texto "3D" abajo a la derecha, que activa el modo sin marcadores descrito en la sección 2.3. Por último, el kit de modelado virtual tiene varios controles especiales, descritos en la sección 2.2.

2.2 El kit de modelado virtual con marcadores tipo cubo, también en teléfonos, tablets y computadoras con webcam

El kit de modelado virtual permite cargar cualquier molécula a partir de sus coordenadas atómicas, para mostrarla en 3D sobre un cubo de papel o cartón que el usuario puede mover y rotar libremente. Gracias a sus 6 caras, se logra un mejor manejo y estabilidad visual que con los marcadores planos. Aparte de mostrar las moléculas, el kit de modelado incluye un campo de fuerzas muy simple que permite visualizar los cambios conformacionales originados por el acople de los movimientos de los átomos. La versión original del kit de modelado virtual usa el cubo formado por las letras A, B, C, D, F y un símbolo como se observa en la Figura 1A. La versión de prueba 2.0 funciona con uno o dos de los marcadores tipo cubo de la Figura 1A (el segundo marcador cúbico se compone de las letras J, K, M, N, L y P), permitiendo controlar dos moléculas independientemente. En este último caso, el usuario puede cargar una molécula cualquiera en cada cubo, desde sus coordenadas atómicas, tomada de la lista preestablecida o construida externamente (en la versión 1) o incluso adentro mismo de la actividad (esto posible desde la versión 2). Algunos controles fueron reordenados en la versión 2; por ejemplo, la inversión de coordenadas puede ejecutarse específicamente en cada marcador, lo cual permite cargar en ambos la misma molécula quiral pero invertir sólo una para facilitar comparaciones.

Además, la versión 2 del kit de modelado incorpora un campo de fuerzas muy sencillo que calcula y muestra interacciones entre moléculas, tanto choques como atracciones. La Figura 4 muestra un prototipo de la versión 2, donde cada cubo muestra una molécula distinta ambas interaccionando mediante dos puentes hidrógeno detectados en tiempo real. Los lectores ya pueden acceder a esta versión directamente desde la página principal de MoleculARweb.

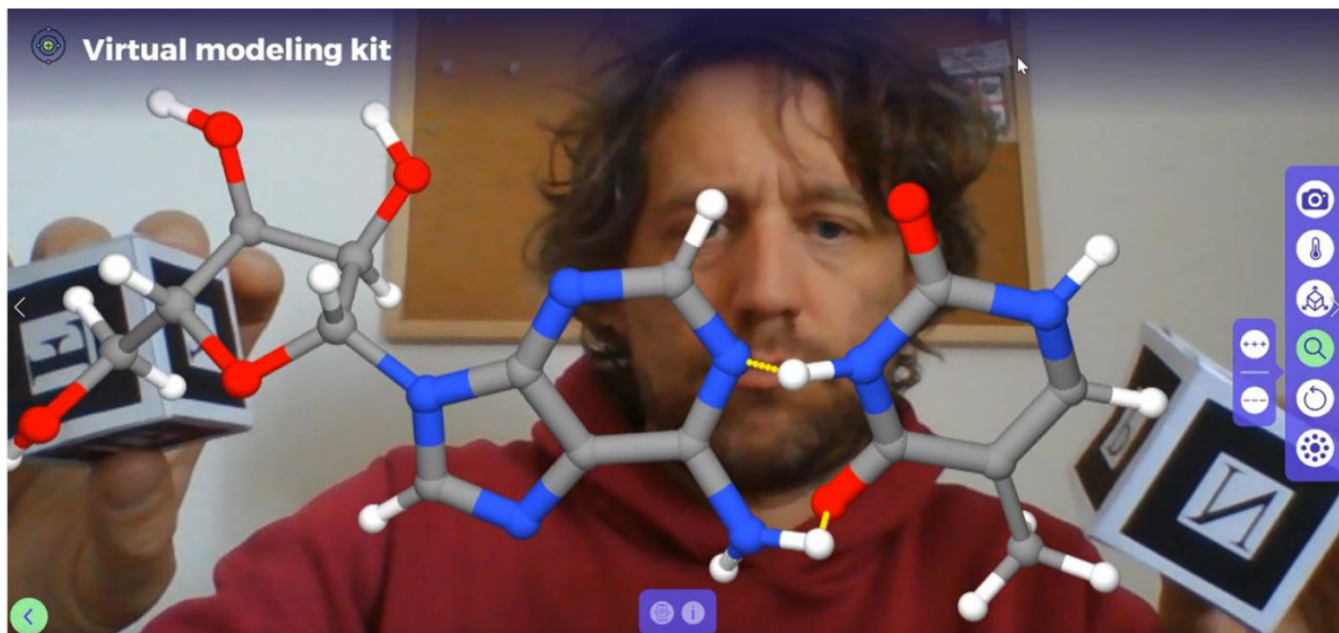


Figura 4: Prototipo de versión 2 del kit de modelado molecular virtual. Cada cubo puede cargar una molécula, y las moléculas de ambos cubos pueden interaccionar entre ellas. En este caso se ven dos bases nitrogenadas sobre las que el usuario investiga posibles patrones de interacciones por puente de hidrógeno. Las líneas punteadas amarillas representan los posibles puentes detectados en tiempo real. Esta actividad (aún en desarrollo pero ya utilizable) está disponible en <https://moleculARweb.epfl.ch/modules/virtual-modeling-kit-2> mientras que la versión previa (que funciona con un solo cubo y posee menos opciones y una mecánica más simple) está en <https://moleculARweb.epfl.ch/modules/virtual-modeling-kit>.

2.3 Viendo modelos en el entorno, sin marcadores, usando teléfonos que soportan WebXR

En la Figura 5 se muestra cómo activar el modo de realidad aumentada sin marcadores para el modelo de un ribosoma construido a partir de una estructura experimental donde se lo capturó con un segmento de ARN mensajero y dos de ARN de transferencia. Desde cierta distancia el usuario puede apreciar la forma general del ribosoma, las subunidades principales y sus componentes proteicos y nucleicos. Además el usuario también puede adentrarse para analizar detalles, como aquí por ejemplo un codón del ARNm interaccionando con un codón de uno de los ARNt (en cada molécula de ARN cada base está representada con un palo).

Este tipo de actividades que no tienen contenido interactivo pueden también ejecutarse en un modo sin marcadores en MoleculARweb. Para ello se requiere el uso de teléfonos modernos que soporten WebXR (la mayoría de los teléfonos disponibles desde 2018). En los casos donde este modo está disponible, el usuario verá un ícono “3D” en la parte inferior derecha de la pantalla. Al clicar el ícono “3D” se muestra una pantalla intermedia con el objeto en cuestión donde se visualiza además un botón que activa el modo de realidad aumentada sin marcadores (en teléfonos y tablets configurados en español este botón dice “Ver en mi entorno”). Al entrar en ese modo el usuario debe escanear el piso, una mesa, o cualquier otra superficie plana horizontal; entonces el programa colocará una representación virtual del objeto y lo dejará estático en un lugar, incluso si el usuario se mueve. Esto permite al usuario explorar el objeto desde cualquier ángulo e incluso “entrar” en los objetos para ver detalles. Todo esto acompañado de la posibilidad de tomar capturas de pantalla y grabar videos desde un programa externo instalado en el teléfono como el AZ Screen Recorder.

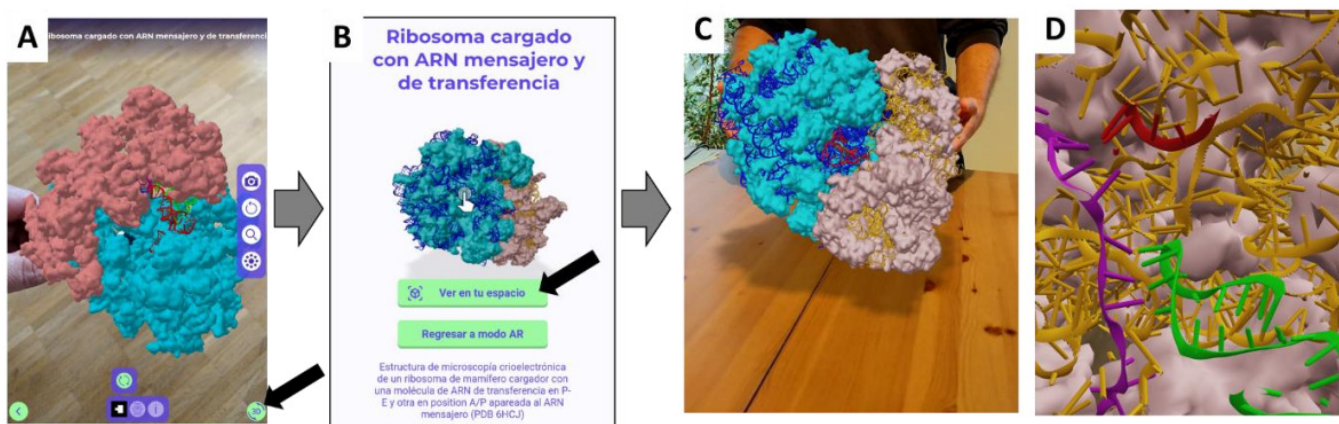


Figura 5: Activación de realidad aumentada web sin marcadores en MoleculARweb. (A) Si la actividad presenta el ícono 3D en la parte inferior derecha (marcado con flecha negra), al clicar la se abre una ventana intermedia (B) donde el usuario puede mover el objeto tocando la pantalla o pasar al modo de realidad aumentada sin marcadores cliqueando en “Ver en tu espacio”. (C) Una vez en el modo de realidad aumentada web, la visualización se ancla a la superficie detectada y el usuario puede moverse inspeccionarla libremente por su alrededor e incluso por dentro (D). El ejemplo es una estructura resuelta mediante microscopía crioelectrónica de un ribosoma de mamífero cargador con una molécula de ARN de transferencia en P/E y otra en posición A/P apareada al ARN mensajero (PDB 6HCJ)[5]. En tonos azules/celestes la subunidad mayor y en tonos rosados/naranja la subunidad menor, las proteínas se muestran como superficies y las moléculas de ARN como tiras. El ARNm se ve extendido en color magenta y los ARNt en verde y rojo. La actividad mostrada corresponde a <https://moleculARweb.epfl.ch/modules/biological-assemblies/ribosome/ribosome.html>.

3. Ejemplos de objetos 3D disponibles en Google para explorarlos en realidad aumentada

La misma tecnología de realidad aumentada sin marcadores descrita arriba es explotada por Google para ofrecer una gran variedad de contenido educativo en realidad aumentada, provista por terceras partes en forma abierta. Buscando en un teléfono que soporte WebXR, Google devolverá links directos a objetos 3D predefinidos (notará que las búsquedas funcionan sólo en inglés; lo mismo ocurre con las anotaciones en los modelos). La Figura 6 muestra ejemplos donde se han buscado las palabras clave “muscular system” (Figura 6A) o conceptos relacionados a la estructura de las plantas vasculares (Figura 6B). Al igual que en los modelos de realidad aumentada sin marcadores de MoleculARweb, en los modelos de Google el usuario puede moverse con total libertad alrededor del objeto una vez que éste está anclado a la superficie detectada. Esto permite explorar en detalle ciertas estructuras como se ejemplifica en ambos paneles de la Figura 6 (detalle de la inserción de los tendones en 6A, y detalles del cloroplasto en 6B).

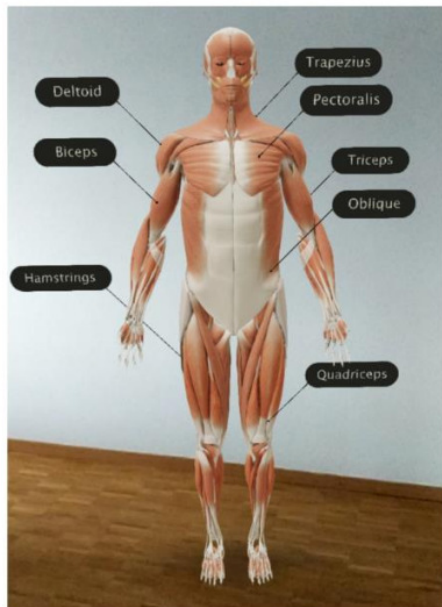
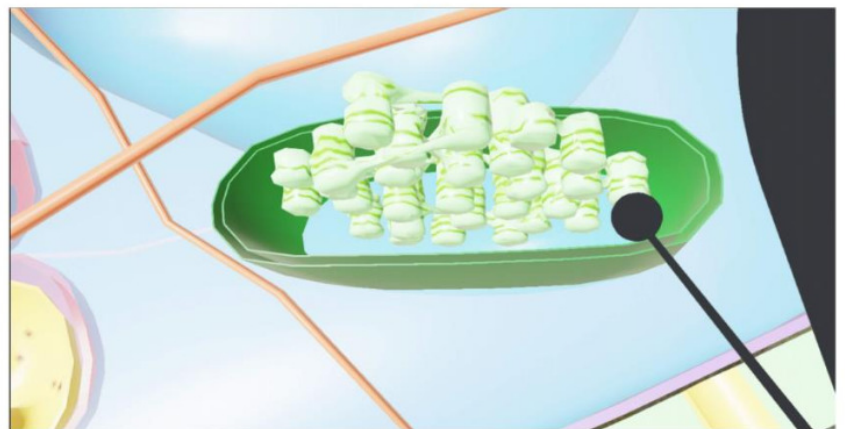
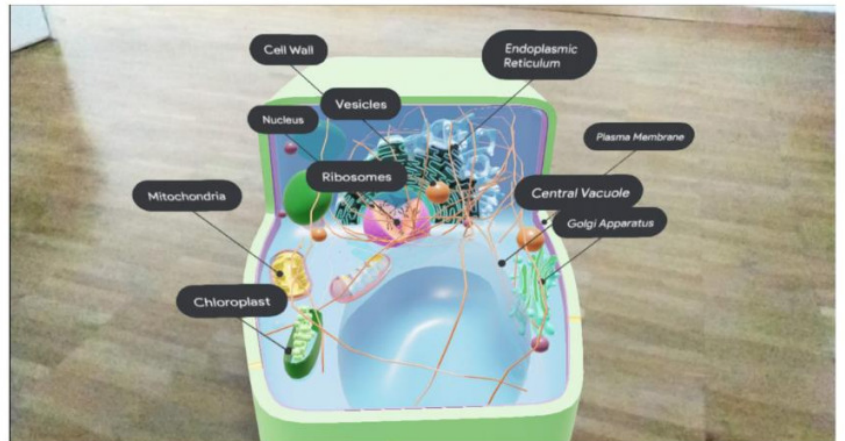
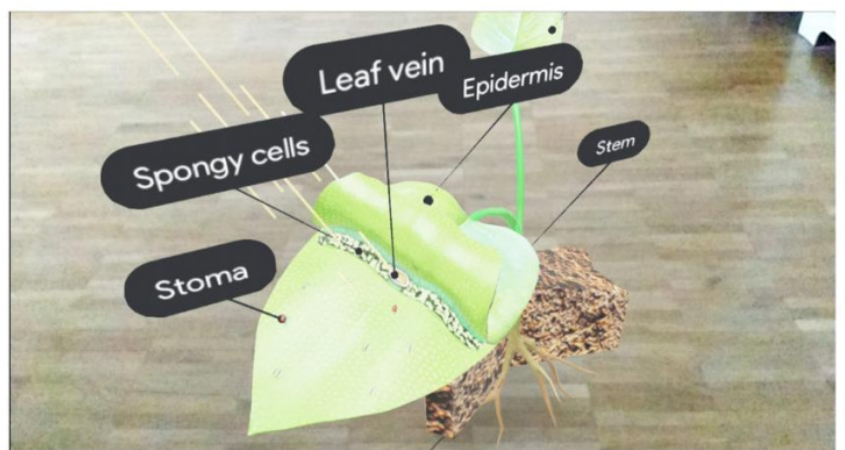
A**B**

Figura 6: Ejemplos de modelos de realidad aumentada en sitios web propuestos por Google, útiles en el área de la biología. (A) Tejido muscular humano, con algunas anotaciones predefinidas. Notar la facilidad con la cual esta tecnología permite explorar las distintas partes. Google provee gratuitamente modelos similares para varios otros sistemas del cuerpo humano. (B) Esquemas 3D del interior de una hoja de una planta, de una célula vegetal y de la ultraestructura de un cloroplasto, respectivamente.

4. Ejemplo de uso en comunicación de la ciencia: recorrido de átomos a tejidos y de regreso a átomos

Finalmente, en la Figura 7 ejemplificamos cómo integrar algunas de las actividades de realidad aumentada presentadas arriba en una experiencia completa que permite entender la estructura de la materia viva a distintos niveles de complejidad. Este ejemplo en concreto comienza explorando la relación entre estados de protonación y cargas, siguiendo con la visualización de interacciones electrostáticas que estabilizan complejos ADN-proteína para luego visualizar cómo éstos se ensamblan en nucleosomas; para posteriormente ver los cromosomas dentro del núcleo celular, y alejarse lentamente hasta ver una célula entera, luego el sistema circulatorio como ejemplo del nivel de organización de tejidos, y finalmente volver a hacer zoom en una célula, una mitocondria, el grupo hemo de una proteína, y finalmente los orbitales 3d de un átomo.

Un recorrido similar pero más abreviado fue utilizado durante un evento de comunicación de ciencias en la institución de los autores FCR y LAA. En ese caso los participantes comenzaban con una actividad similar a la de los paneles A y B de la Figura 7, divergiendo luego hacia una actividad de realidad aumentada para explorar la estructura de un

virus obtenida mediante tomografía electrónica, y finalmente una actividad que emulaba la resolución de una estructura molecular mediante datos de difracción de rayos X. Todos estos ejemplos son actividades disponibles en MolecularWeb. Por último, los participantes realizaban ensayos de cristalización de lisozima, verificaban la obtención de estos cristales y luego se les explicaba mediante un póster cómo se obtienen los datos utilizados para resolver estructuras mediante difracción de rayos X.

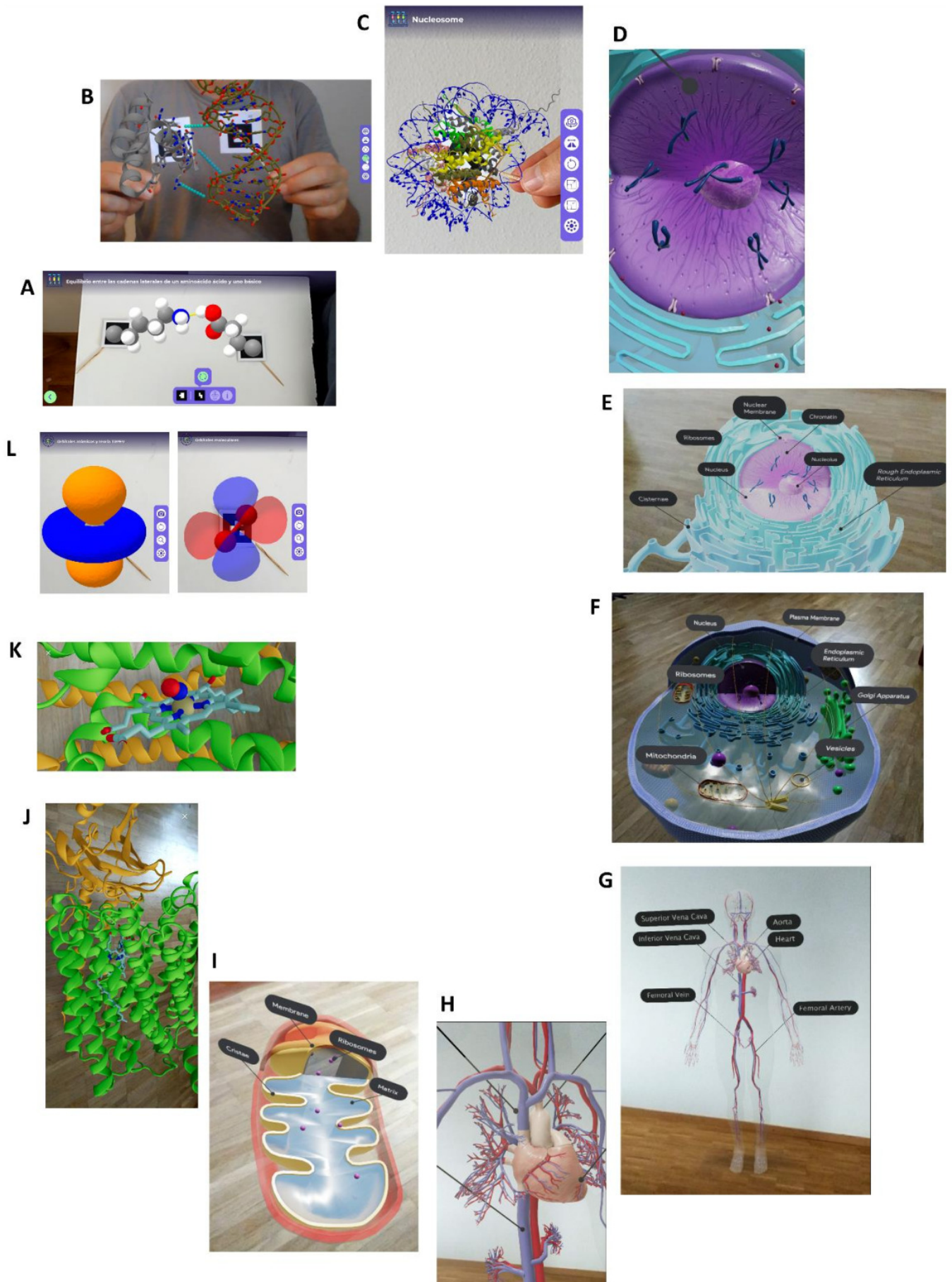


Figura 7: Ejemplo de un recorrido desde átomos hasta tejidos y nuevamente a átomos. (A) Un residuo de lisina y uno de glutamato, estableciendo un puente de hidrógeno e intercambiando un protón lo cual resulta en cambios de cargas (video mostrando el proceso dinámico en https://www.youtube.com/watch?v=J_idZmyDTUE). (B) Los residuos cargados positivamente confieren a las proteínas de unión al ADN una interacción fuerte y de baja especificidad con los grupos fosfato del ADN (actividad preparada desde el PDB 1FJL). (C) Las proteínas tipo histona y el ADN se empaquetan en estructuras más grandes llamadas nucleosomas. Aquí se explora la estructura de un nucleosoma cristalizado con dos vueltas de ADN de doble hebra (PDB 1AOI). (D-E) Modelo de un núcleo celular rodeado del sistema de Golgi, en una vista cercana a los cromosomas (D) y otra alejándose para lograr ver toda la red de Golgi (E). (F) Modelo de una célula eucariota animal, mostrando las principales organelas y subestructuras con sus nombres (solo disponibles en inglés). (G-H) Modelo del sistema circulatorio humano en una vista global (G) y cerca del corazón (H). (I) Modelo de una mitocondria con nombres en algunas de sus subestructuras. (J-K) Subunidades I y II de la enzima citocromo oxidasa (J) y zoom en el sitio de reducción de oxígeno (K) que en este caso posee una molécula de óxido nítrico unida (PDB 3AG3, las esferas azul y roja son respectivamente los átomos de N y O de la molécula de NO unida directo al ión hierro). (L) Ejemplos de orbitales involucrados en la unión del oxígeno molecular a Fe^{+2} en proteínas: π^* en la molécula de oxígeno (derecha) y d^2 en el ión Fe^{+2} de la proteína (izquierda). Los paneles A-C y J-L son capturas de pantalla de MolecuLARweb, mientras que D-I son capturas de pantalla de modelos 3D de Google. Todas las capturas fueron obtenidas en el mismo teléfono pero fueron ajustadas y recortadas al componer la figura.

5. Experiencias áulicas en la enseñanza de química a nivel secundario y universitario

Aparte del uso que ya documentamos al presentar la primera versión de molecuLARweb [3], durante 2021 utilizamos estas herramientas en talleres y actividades especiales con alumnos y con docentes, en modalidad mixta presencial y en línea. Más específicamente, en talleres de la materia Química Orgánica en la Universidad Nacional de San Luis, Argentina, y en actividades de conexión entre la Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina, y estudiantes y profesores de nivel secundario.

5.1 Experiencia áulica en la enseñanza de química orgánica complementada con realidad aumentada en la Universidad Nacional de San Luis, Argentina

El aprendizaje de estructuras químicas y orgánicas siempre implicó dificultades de comprensión y visualización de las diferentes geometrías, disposición espacial y cambios conformacionales en 3D. Dado que el desarrollo del pensamiento abstracto, necesario para visualizar la química no es una habilidad aprendida homogéneamente en el aula, los docentes nos vemos obligados a complementar la enseñanza con herramientas didácticas y accesibles al alumnado. Con el advenimiento de la pandemia COVID-19, la enseñanza áulica debió ser repensada y adaptada a la enseñanza virtual, dejando de este modo obsoleto el uso de modelos moleculares plásticos que el profesor normalmente llevaba a las aulas. En este contexto, en la asignatura de química orgánica de las carreras de Lic. En Biotecnología, Lic. En Bioquímica, Lic. En Biología Molecular, Lic. En Cs. Biológicas y Prof. Univ. de Biología de la Universidad Nacional de San Luis (UNSL) aplicamos el kit de modelado molecular virtual descrito arriba (evento documentado en la Figura 8).

Dado que jamás se había trabajado con realidad aumentada, evaluamos su adaptación a través de test de uso y encuestas de satisfacción (resultados reservados para próxima publicación). El estudio abarcó alumnos de primer y segundo año de la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia. Todos los alumnos incluidos en el test de evaluación lograron satisfactoriamente adaptar el uso del sitio web a sus herramientas de trabajo para comprender de una manera más didáctica y divertida la estereoisomería y análisis conformacional de las moléculas orgánicas estudiadas en las guías de trabajo práctico. Dado el éxito logrado, esperamos confeccionar nuevas guías de trabajos prácticos que complementen el uso del kit de modelado virtual incorporando también su nueva versión. La adaptación de nuevas herramientas virtuales que faciliten el aprendizaje y sobre todo que genere entusiasmo en el alumnado son vitales para el aprendizaje. En futuros estudios intentaremos medir el efecto pedagógico real más allá del estímulo que pueda provocar la tecnología en sí misma.



Figura 8: Test de evaluación presencial en las aulas de la Universidad Nacional de San Luis, utilizando MoleculARweb con alumnos del ciclo lectivo 2021 junto con el equipo docente a cargo de la Prof. Celeste Aguirre Pranzoni.

5.2 Exactas en línea con la Escuela: Empleo de la realidad aumentada en la escuela secundaria

Otro ejemplo del uso de MoleculARweb fue a través de la propuesta: **¡Las Moléculas y estructuras biológicas se vuelven gigantes!** ¿Las vemos en realidad aumentada? En esta actividad docentes y estudiantes de los últimos años de escuelas secundarias se familiarizaron con el sitio web, vivenciando, en formato virtual, el uso y aplicación práctica de la realidad aumentada al estudio de moléculas y estructuras biológicas en una nueva dimensión.

Esta actividad fue desarrollada a través del proyecto **Exactas en línea con la escuela**, que impulsa la Facultad de Ciencias Exactas, de la Universidad Nacional del Río Cuarto con la intención de sostener y potenciar el vínculo de la Universidad con las escuelas secundarias (Resolución N° 038/2021). Las actividades consistieron en un recorrido virtual con ejemplos sobre los diferentes módulos temáticos del sitio. Posteriormente se llevaron a cabo diferentes actividades prácticas diseñadas de acuerdo a los contenidos de los programas curriculares del nivel medio, incorporando el uso de la realidad aumentada a través de MoleculARweb. Entre las moléculas elegidas para la secuencia utilizada, se trabajó con los modelos en 3D del ATP, glucosa, dióxido de carbono; se analizaron interacciones moleculares entre moléculas de agua, entre el ADN y proteínas; la estabilidad de las moléculas y los cambios de temperatura; como así también se observaron estructuras biológicas complejas: poros nucleares, bacteriófagos, ribosomas, entre otras; las observaciones realizadas fueron integradas a conceptos teóricos de ambas disciplinas (química y biología). De esta manera fue posible presentar nuevas formas de aprendizajes, que resultan más atractivas e innovadoras.

El uso y aplicación del sitio web al estudio de conceptos de Biología y Química fue valorada de manera positiva por los estudiantes y docentes que participaron de la propuesta, manifestando lo siguiente:

“...Tuvo un impacto positivo ya que me parece muy interesante poder ver los átomos de cada molécula con realidad aumentada...”

“...Facilita la enseñanza y comprensión de lo invisible a los ojos...”

“...Pude comprender de una mejor manera aquellos conceptos que en general me resultaban abstractos...”

“...Tuvo un impacto muy positivo. Un excelente aporte para explicar contenidos relacionados a ambas asignaturas que son muy difíciles de comprender porque requieren mucha imaginación. Además, considero que este tipo de programas motivan a los alumnos por llegar de otro modo a aprendizajes complejos...”

De esta manera, a través de la propuesta presentada, consideramos que la implementación de MoleculARweb a los diseños curriculares de Biología y Química es una de las opciones de mayor proyección educativa tanto en la enseñanza secundaria como en los primeros años de las carreras de grado afines, además de ser una valiosa herramienta para motivar hacia el estudio y un aprendizaje más activo.

Comentarios finales

Con más de 28.000 accesos desde su estreno, MoleculARweb permea escuelas y hogares de todo el mundo (Figura 9) gracias a su disponibilidad en varios idiomas, su funcionamiento en dispositivos móviles y computadoras normales, y su fácil acceso directo a través simplemente de internet como cualquier otro sitio web gracias a que se basa exclusivamente en programación web [6-8]. Los tests publicados [9], estadísticas automatizadas online, nuestras propias evaluaciones en persona, y los comentarios recibidos de profesores de colegios secundarios y de cursos de nivel universitario demuestran la facilidad en el uso de la plataforma de MoleculARweb y el alcance del mismo desde el punto de vista pedagógico. En este sentido, muchos docentes manifestaron la importancia de contar con esta herramienta dado que se logra una mayor percepción, interacción y sobre todo motivación por parte de los alumnos, lo cual podría facilitar la comprensión y aprendizaje de conceptos que resultan difíciles de visualizar, tanto en química como en biología.

Estamos actualmente completando el kit de modelado molecular virtual para liberar formalmente su versión 2.0 y creando un sistema con el cual los educadores podrán crear su propio contenido de realidad aumentada web para objetos más complejos. Por su parte Google y empresas como las mencionadas continuamente agregan nuevos modelos, incluyendo ahora también modelos animados de procesos biológicos y seres vivos completos. Estas

tecnologías permiten más que nunca un aprendizaje didáctico e inmersivo, al alcance de cualquier persona que disponga de un teléfono y acceso a internet.



Figura 9: Accesos a MolecularARweb tal como registrado en <https://clustrmaps.com/site/1ar2f> al 30 de agosto de 2021

Referencias:

- [1] de Cataldo R, Griffith KM, Fogarty KH (2018) Hands-On Hybridization: 3D-Printed Models of Hybrid Orbitals. *J. Chem. Educ.* 95 (9), 1601–1606. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.8b00078>.
- [2] Cortes Rodriguez F, Frattini G, Krapp L, Martinez-Huang H, Moreno D, Salomon J, Stemkoski L, Traeger S, Dal Peraro M, Abriata L (2020) MolecularARweb: A Website for Chemistry and Structural Biology Education Through Interactive Augmented Reality out of the Box in Commodity Devices. *ChemRxiv* 2020.
- [3] Cortés Rodríguez F, Frattini G, Krapp LF, Martínez-Hung H, Moreno DM, Roldán M, Salomón J, Stemkoski L, Traeger S, Dal Peraro M (2021) MolecularARweb: A Web Site for Chemistry and Structural Biology Education through Interactive Augmented Reality out of the Box in Commodity Devices. *J Chem Educ* 2021.
- [4] Abriata LA. Moléculas en realidad aumentada <https://www.youtube.com/channel/UCdhOVimtNZmri967KdTEAKg> .
- [5] Juskiewicz S, Chandrasekaran V, Lin Z, Kraatz S, Ramakrishnan V, Hegde RS (2018) ZNF598 Is a Quality Control Sensor of Collided Ribosomes. *Mol Cell* 2018 72(3), 469–481. e7.
- [6] Abriata LA (2020) Building Blocks for Commodity Augmented Reality-Based Molecular Visualization and Modeling in Web Browsers. *PeerJ Comput Sci* 6, e260.
- [7] Abriata LA (2017) Web Apps Come of Age for Molecular Sciences. *Informatics* 4(3), 28.
- [8] Abriata LA, Rodrigues JPGLM, Salathé M, Patiny L (2018). Augmenting Research, Education, and Outreach with Client-Side Web Programming. *Trends Biotechnol* 36 (5), 473–476. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2017.11.009>.
- [9] Martínez-Hung H, García-López A, Escalona-Arranz JC (2017) Modelos de Realidad Aumentada Aplicados a La Enseñanza de La Química En El Nivel Universitario. *Rev Cuba Quím* 29(1), 13–25.

QuímicaViva

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 20, Diciembre 2021

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar