



FRONTERA BIOTECNOLÓGICA



Revista Digital del IPN, CIBA Tlaxcala - No. 8 Septiembre- Diciembre 2017



**EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN
EN BIOTECNOLOGÍA APLICADA,
DEL INSTITUTO POLITÉCNICO
NACIONAL, A TRECE AÑOS DE
SU CREACIÓN**

**PROTEÍNAS EN ALIMENTOS: SU
IMPORTANCIA NUTRICIONAL Y
SUS EFECTOS TERAPÉUTICOS**

***LA VIDA SEXUAL DE UN
HONGO EXTRAORDINARIO
LLAMADO "PLEUROTUS"***

**POROUS SILICON BASED
BIOSENSOR FOR DETECTION OF
BIOGENIC AMINE (SPERMIDINE)**

Directorio Institucional

IPN

MARIO ALBERTO RODRÍGUEZ CASAS
Director General

JULIO GREGORIO MENDOZA ÁLVAREZ
Secretario General

MIGUEL ÁNGEL ÁLVAREZ GÓMEZ
Secretario Académico

JOSÉ GUADALUPE TRUJILLO FERRARA
Secretario de Investigación y Posgrado

FRANCISCO JOSÉ PLATA OLVERA
Secretario de Extensión e Integración Social

MÓNICA ROCÍO TORRES LEÓN
Secretaria de Servicios Educativos

PRIMO ALBERTO CALVA CHAVARRÍA
Secretario de Gestión Estratégica

FRANCISCO JAVIER ANAYA TORRES
Secretario de Administración

EMMANUEL ALEJANDRO MERCHÁN CRUZ
Secretario Ejecutivo de la Comisión de Operación
y Fomento de Actividades Académicas

JOSÉ LUIS AUSENCIO FLORES RUIZ
Secretario Ejecutivo del Patronato de Obras e
Instalaciones

DAVID CUEVAS GARCÍA
Abogado General

MODESTO CÁRDENAS GARCÍA
Presidente del Decanato

CIBA IPN

MYRNA SOLÍS OBA
Directora del CIBA IPN Tlaxcala

RAÚL JACOBO DELGADO MACUIL
Subdirector Académico y de Investigación del CIBA IPN
Tlaxcala

ERIK OCARANZA SÁNCHEZ
Subdirector de Vinculación del CIBA IPN Tlaxcala

ABDU ORDUÑA DIAZ
Subdirector de Innovación Tecnológica
del CIBA IPN Tlaxcala

DAVID GUILLERMO PÉREZ ISHIWARA
Miembro Fundador de Frontera Biotecnológica

MARTHA BIBBINS MARTINEZ
Editor en Jefe

GONZALO PÉREZ ARAIZA
Soporte Técnico

PEDRO RAMÍREZ CALVA
Diseño y Diagramación Frontera Biotecnológica

ISMAEL SÁNCHEZ GONZÁLEZ
Desarrollo Web

CONTENIDO

MENSAJE EDITORIAL 3

EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN
BIOTECNOLOGÍA APLICADA, DEL
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL, A
TRECE AÑOS DE SU CREACIÓN 4

PROTEÍNAS EN ALIMENTOS: SU
IMPORTANCIA NUTRICIONAL Y SUS
EFECTOS TERAPÉUTICOS 10

LA VIDA SEXUAL DE UN HONGO
EXTRAORDINARIO LLAMADO
"PLEUROTUS" 15

POROUS SILICON BASED BIOSENSOR
FOR DETECTION OF BIOGENIC AMINE
(SPERMIDINE) 21



CINTILLO LEGAL

FRONTERA BIOTECNOLÓGICA, año 5, número 8, septiembre - diciembre 2017, es una publicación cuatrimestral editada por el Instituto Politécnico Nacional a través del Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada. Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac - Tepetitla Km 1.5, Tlaxcala C.P. 90700, México. Tels.: 01-248-48707-65 y 66 Conmutador IPN: 57296000, Ext. 87816. <http://www.revistafronterabiotecnologica.cibatlaxcala.ipn.mx>, Editor responsable: Dra. Martha Dolores Bibbins Martínez. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo del Título No. 04-2015-120313501700-203, ISSN: 2448-8461, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor (INDAUTOR). Responsable de la última actualización de este número, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada. Dra. Martha Dolores Bibbins Martínez., Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac - Tepetitla Km 1.5, Tlaxcala C.P. 90700, fecha de última modificación, 8 de diciembre de 2017.

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

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

MENSAJE EDITORIAL

Diciembre del 2017

Estimados lectores,
En nuestra última edición de este año de **FRONTERA BIOTECNOLÓGICA**, encontraran cuatro interesantes artículos.

En el primer artículo **“EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA APLICADA, DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL, A TRECE AÑOS DE SU CREACIÓN”** el Dr. Raúl René Robles de la Torre, decano de este Centro de Investigación, hace una reseña de la evolución del CIBA y del impacto en la región de la labor de investigación y docencia que aquí se vienen realizando desde su establecimiento en Tlaxcala.

En el segundo artículo, **“PROTEÍNAS EN ALIMENTOS: SU IMPORTANCIA NUTRICIONAL Y SUS EFECTOS TERAPÉUTICOS”**, se presenta una revisión que aborda el panorama general sobre la importancia nutricional y terapéutica de las proteínas y los péptidos bioactivos, los cuales debido a sus propiedades funcionales y terapéuticas, son atractivos para su uso en la producción de alimentos.

Los péptidos bioactivos o péptidos con actividad biológica producidos durante la digestión gastrointestinal o la elaboración de alimentos pueden ejercer un importante papel en la regulación y la modulación metabólica, que sugiere su uso potencial como nutraceuticos e ingredientes de alimentos funcionales para promoción de la salud y la reducción del riesgo de enfermedad.

El tercer artículo titulado, **“LA VIDA SEXUAL DE UN HONGO EXTRAORDINARIO LLAMADO “PLEUROTUS”** aborda la temática del ciclo de vida de una de las setas comestibles de mayor valor nutricional e importancia económica, *Pleurotus sp.* La reproducción de estos hongos es un aspecto muy importante pues define la formación del cuerpo fructífero, que es a lo que comercialmente se le denomina seta. La vida sexual de *Pleurotus* y otros organismos, obedece a una serie de factores genéticos y químicos que determinan la compatibilidad reproductiva entre dos individuos de la misma especie. Dentro de los factores genéticos, se encuentran los genes de apareamiento o MAT, los cuales regulan el establecimiento del micelio dicariótico y la formación de cuerpos fructíferos.

Finalmente el cuarto artículo, **“POROUS SILICON BASED BIOSENSOR FOR DETECTION OF BIOGENIC AMINE (SPERMIDINE)”**, los autores nos exponen el trabajo de investigación realizado para la obtención de un biosensor de silicio poroso con nanopartículas de oro, para la detección de una amina biogénica, la espermidina. Las aminas biógenas o biogénicas son compuestos nitrogenados no proteicos, de bajo peso molecular, que pueden ser elaboradas por nuestro organismo (endógenas) o encontrarse en los alimentos que ingerimos (exógenas) Las exógenas, son sustancias que se forman en alimentos que se han sometido a un proceso de fermentación o que se han expuesto a la contaminación microbiana durante el almacenamiento.

Los invitamos a leer y a compartir con otros investigadores, estudiantes, trabajadores y público en general, esta edición tan interesante de **FRONTERA BIOTECNOLÓGICA**.

“LA TÉCNICA AL SERVICIO DE LA PATRIA”.

Dra. Martha Bibbins Martínez
Editor en jefe

EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA APLICADA, DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL, A TRECE AÑOS DE SU CREACIÓN

Dr. Raúl René Robles de la Torre
Profesor investigador y Maestro Decano del CIBA-IPN
rrenerdlt@yahoo.com

El **Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada del Instituto Politécnico Nacional**, CIBA – IPN, se encuentra en terrenos de lo que fue la Hacienda de SAN JUAN ATOYAC, hoy conocida como **Ex-hacienda de San Juan Molino**. La Hacienda de San Juan Atoyac se construyó a finales del Siglo **XVII**, ya que se encuentra censada en registros de 1712. De los edificios originales solo quedan ruinas de la Capilla, Casa Habitación, Troje menor, así como un edificio en pie correspondiente a la Troje Mayor, la cual se construyó a finales del siglo **XVIII**. En el interior de la Capilla aún se pueden observar algunos restos de Pinturas de la época. La Capilla se ha convertido en icono para los habitantes de la región, posee una fachada de aplanado color gris, los muros son de piedra y adobe de un espesor de 80 cm, en dos niveles.

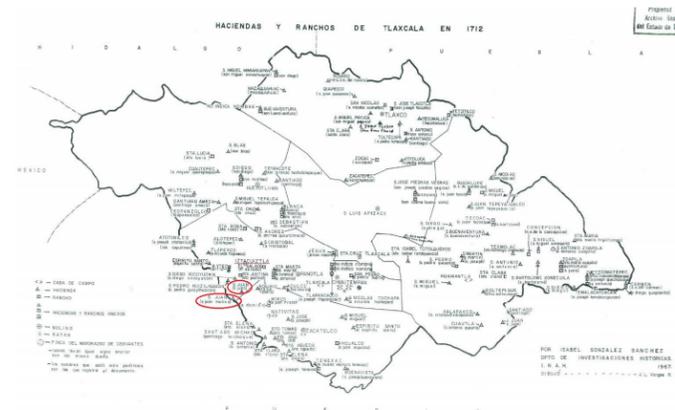


Figura 1.- Tomada de Haciendas y ranchos de Tlaxcala en 1712 por Isabel González Sánchez, Instituto Nacional de Antropología e historia 1969.

El **Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada del Instituto Politécnico Nacional**, CIBA – IPN, se ha venido consolidando como un nuevo icono de la región pero su trascendencia ha ido más allá de los límites nacionales. A continuación se resume el origen e historia del **Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada del IPN**.

Al final de los 90's el Instituto Mexicano de Investigaciones Tecnológicas (IMIT), institución que desarrollaba investigación aplicada a solicitud de la industria nacional y que pertenecía a la SHCP, quien solicitó al gobierno federal su desincorporación. El **INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL** levantó la mano y el H. Consejo General Consultivo del **IPN**, en sesión ordinaria del 30 de agosto de 1996 aprobó la creación del **Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada, (CICATA)**, con los activos del IMIT, instalado en la calzada Legaria. De esa forma, el Secretario Académico del IPN, Ing. Jorge Maciel y el Coordinador General de

Posgrado e Investigación, (CGPI), Dr. J. Enrique Villa Rivera, nombran al Dr. Feliciano Sánchez Sinencio primer director del **CICATA** Legaria, este centro inicia actividades académicas con un posgrado en Biomedicina Molecular y llevan a cabo investigación aplicada a solicitud de las empresas.

Después de algunos meses y de llevar a cabo un proyecto exitoso, se planea la creación de otros **CICATA's** al interior del país, de esa forma se eligieron: Altamira, Querétaro, Morelia y Puebla para ser sedes de nuevos **CICATA's**, señalando que la filosofía para estos centros fue que realizaran investigación **aplicada** a solicitud de la industria. Estos Centros comenzaron a laborar inicialmente en casas rentadas y adaptadas para hacer investigación, mientras se concluían los edificios de cada uno de ellos. El **CICATA-Puebla** inicia actividades y durante 1997 y 1998 se incorporan varios investigadores y llevan a cabo varios proyectos de investigación. En un principio el director del **CICATA** Legaria fue nombrado Director General de los **CICATA's**.

Sin embargo, en diciembre 2000 ante los cambios tanto en el gobierno federal como en el **IPN**, se analiza y se revisa la problemática del rápido y repentino crecimiento de los **CICATA's** y al no contar con el presupuesto para ello se decide cerrar el **CICATA** Morelia, para apoyar el fortalecimiento de los demás.

El **CICATA-Puebla** comenzó a trabajar en una casa rentada pero también había encontrado apoyo logístico en las instalaciones de la Universidad Tecnológica de Puebla. En los primeros meses del 2001 se nombran directores en cada centro, para el de Puebla designan al Dr. Sergio R. Trejo Estrada como director interino.

No obstante que en el **CICATA** Puebla se trabajaba con varios proyectos de investigación en el área de biotecnología y vinculados con empresas y gobiernos de varios estados, también se pasaba por serios problemas presupuestales. De esta forma a inicios del 2003 el **CICATA** Puebla recibe la visita del Director General quien menciona que el **IPN** no tiene presupuesto para crecer y mantener a todos los **CICATA's**; y que había que pensar en cómo atraer recursos para subsistir, en dicha reunión, afortunadamente, se encontraba una persona representante del gobierno de Tlaxcala y, una vez que se fueron las autoridades del área central menciona que dicho estado estaría muy contento si el **IPN** abriera espacios educativos en el estado de Tlaxcala, este comentario fue el detonante que culminó en la apertura de un centro en Tlaxcala.

En el **IPN** se analiza la situación anterior y en sesión del Consejo General Consultivo del **IPN** del 28 de agosto del 2003, se aprueba el acuerdo de creación del **Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada**, este acuerdo fue publicado en la Gaceta politécnica, núm. **585**, del 15 de septiembre de **2003**.



Figura 2.- Fotografías del casco y Capilla de la Ex-Hacienda de San Juan Molino y el edificio de gobierno del CIBA-IPN Unidad Tlaxcala.

En diciembre 2003 hay cambios en la administración del **IPN**, siendo el **Dr. José Enrique Villa Rivera** el nuevo Director General del **IPN**, quien continua con la formalización con el gobernador de Tlaxcala, **MVZ Alfonso Sánchez Anaya**, y el 27 de agosto del 2004, firman de manera conjunta el Convenio General de Colaboración, **Tlaxcala-IPN**, e inauguran oficialmente el laboratorio del CIBA-IPN Unidad Tlaxcala.

El **CIBA-IPN** Unidad Tlaxcala recibió en comodato por 50 años, una área ubicada en el municipio de Tepetitla de Lardizábal que incluye las ruinas de lo que fue la Casa principal y Capilla de la Hacienda de San-Juan Molino, en la troje mayor de la ex hacienda y con el apoyo importante de parte del Gobierno del Estado se adaptan los laboratorios del **CIBA** a los que se integra todo el equipo científico y personal del **CICATA** Puebla, para continuar con las actividades académicas y de investigación.

En febrero del 2006 el **IPN** recibe en donación², por parte del nuevo Gobierno del estado de Tlaxcala a través del Gobernador, Lic. Héctor Israel Ortiz Ortiz, quien firma las escrituras en favor del **IPN**, el casco de la Ex Hacienda y

terreno de más de dos hectáreas (26,345.02 m²), con ello el Instituto tendrá mayor seguridad jurídica y podrá invertir en infraestructura y propiciar el crecimiento y desarrollo del **CIBA-IPN en Tlaxcala**.

De esta forma, el **IPN** anuncia una inversión para la construcción del área de gobierno y espacios para el personal docente del Centro, el edificio se termina en enero de 2008 y se inaugura el 2 de octubre del 2009, con la visita al CIBA del Gobernador Ortiz Ortiz y el Director Villa Rivera, junto con la apertura oficial del pozo de agua que abastece al Centro.

El 30 de septiembre del 2007 se publicó en la **Gaceta politécnica** la autorización de un programa de posgrado desarrollado en el CIBA: **Maestría en Biotecnología Aplicada**, (MBA). Hay que destacar que tan solo en dos años, (octubre 2009), el Programa MBA ingresó al Padrón Nacional de Posgrado de Calidad, (PNPC) del CONACYT, actualmente este Programa se encuentra consolidado en el padrón. Asimismo, el 30 de junio de 2008 se autoriza la creación del Doctorado en Biotecnología, que se impartirá en la modalidad de RED en varios centros y/o escuelas del **IPN**, entre ellos el CIBA, en enero del 2009 este Programa en RED es aceptado en el PNPC del CONACYT.

1 "El Sol de Tlaxcala, 29 de Agosto de 2004 y 1 de Septiembre de 2004, Tlaxcala, Tlaxcala.

2 "La Jornada", 4 de Febrero de 2006, Periódico de circulación Nacional.



Figura 3.- Nuevo icono para el municipio de Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala

El crecimiento y expansión del CIBA-IPN ha sido de tal magnitud, tanto en personal adscrito como en el número de proyectos de investigación, sean institucionales o de financiamiento externo (CONACYT, industria nacional), se han incrementado notablemente y de manera importante, de tal forma, que el Consejo General Consultivo del **IPN**, en sesión ordinaria del 31 de Julio del 2012 aprobó la autorización del Plan y Programa de Estudios del Programa Institucional de Posgrado, Maestría y Doctorado en BIOTECNOLOGÍA PRODUCTIVA, cuyo rasgo distintivo es que desarrollan proyectos con la industria, este programa inicia de manera conjunta en el CIBA-Tlaxcala y la UPIBI-Cdmx, ambas instituciones del **IPN**.

Actualmente en el CIBA Tlaxcala operan cuatro programas de posgrado relacionados con la Biotecnología y tres de ellos están en el PNPC.

Para dar respuesta al crecimiento, en número de programas, proyectos y estudiantes, el personal adscrito al CIBA-Tlaxcala también ha experimentado incrementos notables, en el Cuadro I se resume la evolución del número de personas adscritas al CIBA-Tlaxcala.

Cuadro I.- Relación y Evolución del Personal del CIBA-Tlaxcala

PERSONAL DOCENTE					
	CICATA-PUEBLA	CIBA-TLAXCALA			
	DR. SERGIO R. TREJO ESTRADA 2001 a 08-2004	DR. SERGIO R. TREJO ESTRADA 08-2004 a 23082007	DRA. ALMA L. MARTINEZ AYALA 24082007 a 31072012	DR. D. GUILLERMO PEREZ ISHIWARA 01082012 a 22092015	DRA. MARIA MYRNA SOLIS OBA 23092015 a la fecha
Dr.	6	13	21	25	30
Men C.	7	20	24	24	22
Lic.	8	10	12	13	9
Téc.	4	3	3	2	1
SubT	25	46	60	64	62
PERSONAL ADMINISTRATIVO					
	CICATA-PUEBLA	CIBA-TLAXCALA			
	DR. SERGIO R. TREJO ESTRADA 2001 a 08-	DR. SERGIO R. TREJO ESTRADA 08-2004 a 23082007	DRA. ALMA L. MARTINEZ AYALA 24082007 a 31072012	DR. D. GUILLERMO PEREZ ISHIWARA 01082012 a 22092015	DRA. MARIA MYRNA SOLIS OBA 23092015 a la fecha
Men C	0	0	0	1	1
Lic.	4	5	8	8	8
Técnico	2	7	13	14	16
Sec.	0	2	2	2	5
Prim.	2	1	1	1	0
SubT	8	15	24	26	30
TOT	33	61	84	90	92

Uno de los objetivos fundamentales de los centros de investigación del IPN es la formación de profesionistas con preparación de posgrado, para ello el CICATA-Puebla adoptó el programa de Maestría en Tecnología Avanzada MTA en el mes de agosto de 1999 y la primera alumna graduada de este programa en el CICATA-Puebla fue el 22 de noviembre de 2002, desde su inicio hasta noviembre del 2017, en dieciocho años considerando CICATA Puebla y CIBA Tlaxcala, un total de 201 alumnos han egresado con un diploma de posgrado, que se componen de la siguiente forma: 60 Maestros en Tecnología Avanzada (MTA), 92 Maestros en Biotecnología Aplicada (MBA), 41 Maestros en Biotecnología Productiva, 4 Doctores en Tecnología

RESUMEN HISTÓRICO

Fecha	Nombre del Centro	Cambios de domicilio	Director(a)	Periodo
22-10-1997	CICATAS Legaria Querétaro y Puebla	Calle Acatlán 63, Col. La Paz	Feliciano Sánchez Sinencio	1997-1999
Agosto-1998	CICATAS Legaria Querétaro, Puebla Morelia	Calle Acatlán 63, Col. La Paz	Juan Manuel Figueroa Estrada	1998-2000
Julio-2001	CICATA - Puebla	Calle Acatlán 63, Col. La Paz	Sergio Rubén Trejo Estrada (director interino)	2001-2000
Agosto-2001		Instalaciones del "Ranchito", (UTP)	Sergio Rubén Trejo Estrada	2003-2000

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA APLICADA

Sept-2004	Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada (CIBA Tlaxcala)	Km 1.5, carretera Tepetitla-Santa Inés, Tecuexcomac, Tepetitla, Tlaxcala	Sergio Rubén Trejo Estrada	2004-2000
4/08/2007			Alma Leticia Martínez Ayala	2007-2010
Agosto-2012			David Guillermo Pérez Ishiwara, (director interino)	2012 - 2015
Septiembre 23, 2015			María Myrna Solís OBA	2015 - a la fecha

Avanzada (DTA) y 5 Doctores en Ciencias en Biotecnología (DCB). Así mismo, en este tiempo una egresada de la MTA ganó el premio a la mejor tesis de posgrado en el IPN (2005), y una egresada de MBA obtuvo una Mención Especial en los Onceavos Premios de AGROBIO-México en octubre 2013.

El CIBA-IPN Unidad Tlaxcala poco a poco se va consolidando como un centro líder en el ámbito de la biotecnología, así lo muestran las estadísticas de personal, egresados y proyectos, el trabajo de investigación del CICATA primero y posteriormente del CIBA-Tlaxcala han requerido siempre del trabajo de un director(a) que coordina y conduce los destinos del CIBA. Esta información se detalla en el siguiente:

Fuentes

Setenta años de historia del Instituto Politécnico Nacional, Tomo IV Volumen II, Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, 2006, México.

Gacetas Politécnicas,

Periódicos locales y nacionales,

Información proporcionada por personal de la Administración.

PROTEÍNAS EN ALIMENTOS: SU IMPORTANCIA NUTRICIONAL Y SUS EFECTOS TERAPÉUTICOS

Morales-Camacho J.I.^{1,2}, Maldonado-Torres D.A.¹, Espinosa-Hernández E.¹, Rosas-Cárdenas F.F.¹ y Luna-Suárez S.^{1*}

¹Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada del Instituto Politécnico Nacional (CIBA-IPN), Tlaxcala, 90700, México.

²Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla, Cholula, Puebla 72810, México

* E mail: silvials2004@yahoo.com.mx

RESUMEN

Las proteínas son componentes indispensables de la dieta del ser humano, ya que provee los aminoácidos necesarios para el mantenimiento de las funciones biológicas. Además, pueden ejercer efectos benéficos en el organismo. Recientemente, se han identificado secuencias cortas de aminoácidos denominadas péptidos bioactivos como los responsables de efectos benéficos. Tales péptidos bioactivos provienen de proteínas de origen animal y vegetal. Entre los distintos biopéptidos que se han descrito, se encuentran aquellos que funcionan sobre el sistema cardiovascular o el gastrointestinal, pero también existen algunos que funcionan como agentes antioxidantes o antimicrobianos. Los péptidos son atractivos, pues son una opción alterna a los medicamentos. Para la obtención de los biopéptidos se utilizan diversas técnicas, desde la hidrólisis enzimática *in vitro* hasta técnicas como la ingeniería de proteínas para potenciar su actividad biológica. En el presente artículo hablaremos de las propiedades nutricionales y terapéuticas de las proteínas, incluyendo los biopéptidos.

PALABRAS CLAVE

Biopéptidos, proteínas, propiedades terapéuticas

ABSTRACT

Proteins are indispensable components of the human diet, providing the amino acids necessary for the maintenance of biological functions. In addition, proteins can have beneficial effects on the organism. Recently, short amino acid sequences, called bioactive peptides, have been identified as responsible for beneficial effects. Such bioactive peptides derived from proteins can be of animal and vegetal origin. Among the different biopeptides that have been described, there are biopeptides acting on the cardiovascular or gastrointestinal system, but also some of them function as antioxidant or antimicrobial agents. Peptides are attractive because they can be used as an alternative to pharmacological agents. Biopeptides are obtained by using diverse techniques, from *in vitro* enzymatic hydrolysis to protein engineering to enhance their biological activity. In this article, we will discuss the nutritional and therapeutic properties of proteins, including biopeptides.

KEYWORDS

Biopeptides, proteins, therapeutic properties

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, los consumidores de alimentos exigen que dichos productos posean ciertas características y cubran distintos aspectos. Entre los más demandados está una alta aportación de nutrientes, la preservación inocua del producto a partir de la aplicación de sustancias naturales, la generación de productos mínimamente procesados y el mantenimiento de propiedades organolépticas. Justamente, las proteínas son sustancias multifuncionales que pueden contribuir en la generación o mantenimiento de los aspectos previamente mencionados. En las últimas décadas, las proteínas han adquirido gran relevancia porque, además de su importancia nutricional, pueden ejercer efectos benéficos en el cuerpo humano. Por su alto contenido de proteínas y su importancia como alimentos nutritivos, el huevo, la leche, la carne, las leguminosas, los cereales y sus derivados fueron los primeros objetos de estudio de investigaciones en las que se identificó la presencia de los péptidos con propiedades terapéuticas.

Distintas investigaciones han identificado y caracterizado a los péptidos con efectos terapéuticos, sustancias constituidas por 2 a 20 aminoácidos encriptados en la estructura primaria de las proteínas y liberados mediante hidrólisis. Este último proceso puede ocurrir mediante distintos métodos: por los tratamientos térmicos a los que son sometidos durante la preparación de los alimentos, a través de la aplicación directa de enzimas que actúan como proteasas, por el metabolismo de microorganismos usados en procesos fermentativos, o bien en el mismo proceso digestivo tras consumir un alimento. Entre las propiedades terapéuticas de los péptidos se encuentran aquellas reflejadas en el sistema cardiovascular con actividad hipotensora, actividad hipocolesterolémica, actividad antitrombótica, entre otras. También existen péptidos que actúan en el sistema digestivo con un efecto opiáceo o aquellos que se unen a minerales y facilitan la absorción de estos. Otras investigaciones han reportado la existencia de péptidos con actividad antimicrobiana, inmunomodulante y anticancerígena (Agyei y Danquah, 2011).

El objetivo de este artículo es presentar un panorama general sobre la importancia nutricional y terapéutica de las proteínas. Para ello se abordarán investigaciones científicas enfocadas en la identificación de proteínas y péptidos que, por sus propiedades funcionales y terapéuticas, son atractivos para su uso en la producción de alimentos.

II. PROPIEDADES DE LAS PROTEÍNAS

2.1 Propiedades nutricionales

Las proteínas son importantes a nivel nutricional porque funcionan como fuente de energía, aportan nitrógeno y aminoácidos esenciales, su valor nutricional depende del contenido de aminoácidos esenciales que éstas aportan. A partir de esta premisa, el huevo, la leche y sus derivados son alimentos importantes en la dieta humana porque sus proteínas contienen todos los aminoácidos esenciales en proporciones considerables que permiten la alimentación de adultos, el desarrollo de neonatos y el crecimiento de niños (Park, 2009). Los cereales poseen una buena proporción de aminoácidos esenciales, excepto por el triptófano y la lisina; en cambio, las leguminosas carecen de aminoácidos azufrados (metionina y cisteína), pero tienen un buen balance de triptófano y lisina. Debido a estas diferencias, se recomienda el consumo combinado de estos alimentos para generar una dieta balanceada y cubrir los requerimientos de aminoácidos esenciales. Una característica de las semillas de distintas especies vegetales es que tienen un contenido elevado de proteínas. Tal es el caso de la semilla de amaranto, la cual contiene cantidades adecuadas de todos los aminoácidos esenciales. También se ha demostrado que la proteína mayoritaria de esta semilla corresponde a una globulina IIS denominada amarantina, la cual contiene un buen balance de aminoácidos esenciales (Barba de la Rosa et al., 1996).

A partir del conocimiento de la composición de aminoácidos en una proteína, es posible evaluar su calidad como nutriente. El método sugerido para evaluar la calidad proteica es la calificación del cómputo químico o score de aminoácidos corregido por digestibilidad proteica (protein digestibility corrected amino acid score o PDCAAS, por sus siglas en inglés). El PDCAAS compara el perfil de aminoácidos de una proteína objeto de estudio con las necesidades nutricionales de un parámetro cuya comparación se basa en los requerimientos nutricionales de un niño mayor a un año de edad, quien representa los requerimientos más exigentes de los diferentes grupos etarios (a excepción de los lactantes que se comparan con la leche humana). La máxima puntuación PDCAAS que puede recibir una proteína es 1.0; este factor se calcula multiplicando el valor correspondiente al ESCORE por el valor correspondiente a la digestibilidad. El ESCORE se expresa como mg de aminoácidos de la proteína objeto de estudio entre mg de aminoácidos de una proteína patrón (Suárez et al., 2006). En la Figura 1 se presenta el ESCORE y el PDCAAS para algunos alimentos de origen animal y vegetal.

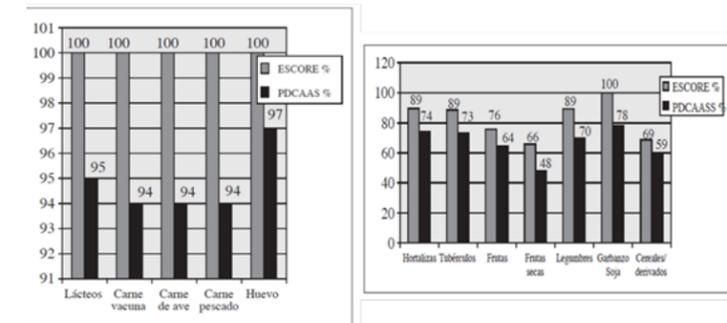


Figura 2. Score y PDCAAS para alimentos de origen animal y vegetal. Tomada de Suárez y col., 2006.

2.2 Propiedades terapéuticas

Los efectos terapéuticos que brindan las proteínas y sus péptidos han sido reportados en distintos estudios. Estas sustancias pueden ser una alternativa para la prevención o el tratamiento de diferentes padecimientos; incluso, por sus efectos benéficos, pueden ser una opción para reducir el consumo de fármacos. En los siguientes párrafos se describirán algunas de las investigaciones que muestran evidencias de estas afirmaciones.

Se sabe que las proteínas de la leche, animal o humana poseen propiedades antibacterianas conferidas por algunas proteínas tales como la lactoferrina, algunas inmunoglobulinas y ciertos péptidos que se generan al hidrolizar otras proteínas lácteas. Asimismo, se han identificado otros péptidos con actividad bactericida, específicamente aquellos hidrolizados de proteína de huevo. En términos generales, los péptidos antimicrobianos pueden actuar de muchas formas sobre las células bacterianas; por ejemplo, activan enzimas que provocan lisis celular, forman poros en la membrana, o inhiben la síntesis de ácidos nucleicos (Lohner y Blondelle, 2005; Hernández-Ledesma et al., 2008). Se ha reportado que la actividad de algunas proteasas, como la tripsina y la pepsina, sobre β -lactoglobulinas dan paso a fragmentos bacteriostáticos que actúan contra *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus* (El-Zahar et al., 2004).

Otros efectos terapéuticos de las proteínas de la leche son los reportados por Meisel (2005), quien identificó la existencia de agentes antidiarreicos (casomorfina) generados a partir de la hidrólisis de proteínas de leche bovina que actúan en la regulación de la motilidad del intestino y en la mejora de la absorción de agua y electrolitos. En cuanto a la actividad inmunomodulante que generan los péptidos y las proteínas, no se tiene claro el mecanismo de acción, pero se ha observado que existen péptidos derivados de la hidrólisis de β -caseína y α -caseína capaces de: 1) estimular la fagocitosis de eritrocitos por macrófagos del peritoneo y 2) ejercer un efecto protector frente a infecciones causadas por *Klebsiella pneumoniae*. Estos mecanismos fueron observados en estudios *in vivo*, en los que se aplicaron péptidos de forma intravenosa en ratones (Vioque y Millán, 2005).

Las proteínas también tienen efectos benéficos en el sistema cardiovascular. Nagaoka, et. al. (2001) realizaron estudios *in vivo* con modelos murinos y observaron que las proteínas de suero lácteo poseen una mayor actividad hipocolesterolémica en comparación con las proteínas de caseína o las proteínas de soya. La reducción de colesterol también ha quedado en evidencia en otras investigaciones. Se ha encontrado que los péptidos de soya reducen la absorción de colesterol; se ha concluido que este tipo de péptidos disminuyen los niveles de colesterol en la sangre de las personas hipercolesterolémicas. Además, se ha comprobado en estudios *in vivo* que reducen la absorción de colesterol en ratas. Algunos científicos atribuyen esta actividad terapéutica a la disminución de la solubilidad micelar del colesterol (Vioque y Millán, 2005). Ahora bien, los péptidos con actividad antitrombótica inhiben la agregación plaquetaria y la unión de fibrinógeno debido a que compiten por receptores específicos de la plaqueta. Se ha reportado la existencia de secuencias peptídicas que son liberadas por hidrólisis de κ -caseína por la actividad de la renina y que tienen actividad antitrombótica; por ejemplo, la secuencia MAIPPKKEDK corresponde a los aminoácidos 106 a 116 de la κ -caseína (Hartmann y Meisel, 2007; Vioque y Millán, 2005).

Los alimentos también se ven afectados por procesos oxidativos, los cuales disminuyen su calidad nutricional y funcional. Los péptidos que limitan o disminuyen el daño oxidativo han sido estudiados por distintos científicos, quienes también han reportado la utilidad de estos péptidos para prevenir la oxidación de células del cuerpo humano. Los péptidos antioxidantes se pueden ingerir en la dieta o emplearse en la industria de los alimentos con el fin de prevenir el deterioro oxidativo (Vioque y Millán, 2005). Se han identificado diferentes secuencias peptídicas derivadas de la hidrólisis de α -caseína cuya actividad antioxidante previene la oxidación enzimática provocada por distintas lipoxigenasas que actúan sobre los ácidos grasos (Fitzgerald y Murray, 2006).

Otras estrategias para la generación de péptidos terapéuticos son las aplicadas por Rao, et. al (2009), quienes diseñaron un péptido multímero recombinante que fue expresado como una proteína de fusión acoplado a glutatión S-transferasa (GST) en *E. coli* BL21. Estos científicos diseñaron un procedimiento para la obtención de proteínas con fines terapéuticos. Este multímero, al ser hidrolizado por enzimas digestivas, libera once péptidos con actividad antihipertensiva. Por su parte, Luna-Suárez et al., (2008) insertaron cuatro péptidos (VYYYYY) con actividad antihipertensiva en una globulina de amaranto con el propósito de incrementar la capacidad antihipertensiva de la proteína. Esta proteína modificada la expresaron de forma recombinante en *E. coli* y observaron que su actividad hipotensora fue ocho veces mayor que la actividad de la proteína sin modificar (Luna-Suárez et al., 2010). Asimismo,

generaron una proteína doblemente modificada, a la cual insertaron el tripéptido Isoleucina-Prolina-Prolina (IPP) que también tiene efectos antihipertensivos. Esta nueva proteína también se expresó en *E. coli* y encontraron que su actividad terapéutica hipotensora fue diez veces mayor comparada con la proteína sin modificar (Castro-Martínez et al., 2012). Estos resultados fueron confirmados gracias a estudios *in vivo* con ratas hipertensas (Medina-Godoy et al., 2013).

En la Tabla I se reportan algunas de las secuencias de péptidos terapéuticos identificados en distintas fuentes alimenticias.

Tabla I. Péptidos terapéuticos identificados en distintas fuentes alimenticias

Fuente alimenticia	Péptido	Función terapéutica
Leche bovina (κ -caseína)	FFSDK	Inmunomodulatoria
Huevo (lisozima)	IVSDQNQMNAWVAVR	Antimicrobiana
Arroz	QYPMYPLR	Opioide e inmunomodulatoria
Leche bovina (β -lactoglobulina)	IIAEK	Hipocolesterolémica
Leche humana y bovina (κ -caseína)	MAIPPKKQDK	Antitrombótica
Langosta americana	QYGNLISLLNQYR	Antimicrobiana

Adaptado de Ageyi y Danquah, 2011.

III. CONCLUSIONES

Como hemos visto, las proteínas, además de su importancia nutricional, pueden ejercer efectos terapéuticos que las vuelven atractivos para su aplicación y su uso en el desarrollo de nuevos productos alimenticios. A lo largo de este artículo se han resaltado algunos de los factores que influyen en el mantenimiento o mejora de las propiedades proteicas; dado que las proteínas son multifuncionales, es necesario continuar con la investigación para identificar sus patrones de comportamiento asociados a factores extrínsecos e intrínsecos.

REFERENCIAS

- Ageyi, D., and Danquah, M. 2011. Industrial-scale manufacturing of pharmaceutical-grade bioactive peptides. *Biotechnol Adv.* 29: 272-277.
- Barba de la Rosa, A. P., Herrera, A., Utsumi, S., and Paredes-López, O. 1996. Molecular characterization, cloning and structural analysis of a cDNA encoding an amaranth globulin. *J. Plant Physiol.* 149: 527-532.
- Castro-Martínez, C., Luna-Suárez, S., and Paredes-López, O. 2012. Overexpression of a modified protein from amaranth seed in *Escherichia coli* and effect of environmental conditions on the protein expression. *J. Biotechnol.* 158: 59-67.
- El-zahar, K., Sitohy, M., Choiset, Y., Metro, F., Haertlé, T. and Chobert, J. 2004. Antimicrobial activity of ovine whey protein and their peptic hydrolysates. *Milchwissenschaft.* 59: 653-656.
- Fitzgerald, R. J., and Murray, B. A. 2006. Bioactive peptides in lactic fermentations. *Int J Dairy Technol.* 59: 118-125.
- Hartmann, R., and Meisel, H. 2007. Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. *Curr Opin Biotechnol.* 18: 163.

Lohner, K., and Blondelle, S. 2005. Molecular mechanisms of membrane perturbation by antimicrobial peptides and the use of biophysical studies in the design of novel peptides antibiotics. *Comb Chem High Throughput Screen.* 8: 241 -256.

Hernández-Ledesma, B., Recio I., and Amigo, L. 2008. β -Lactoglobulins as source of bioactive peptides. *Amino Acids.* 35: 257-265.

Luna-Suárez, S., Medina-Godoy, S., Cruz-Hernández, A., and Paredes-López, O. 2008. Expression and characterization of the acidic subunit from IIS Amaranth seed protein. *Biotechnol J.* 3: 209-219.

Luna-Suárez, S., Medina-Godoy, S., Cruz-Hernández, A., and Paredes-López, O. 2010. Modification of the amaranth IIS globulin storage protein to produce an inhibitory peptide of the angiotensin I converting enzyme, and its expression in *Escherichia coli*. *J. Biotechnol.* 148: 240-247.

Medina-Godoy, S., Rodríguez-Yáñez, S. K., Bobadilla, N. A., Pérez-Villalva, R., Valdez-Ortiz, R., Hong, E., Luna-Suárez, S., Paredes-López, O., and Valdez-Ortiz, A. 2013. Antihypertensive activity of AMC3, an engineered IIS amaranth globulin expressed in *Escherichia coli*, in spontaneously hypertensive rats. *J Funct Foods.* 5: 1441-1449.

Meisel, H. 2005. Biochemical properties of peptides encrypted in bovine milk proteins. *Curr. Med. Chem.* 12: 1905-1919.

Nagaoka, S., Futamura, Y., Miwa, K., Awano, T., Yamauchi, K., Kanamaru, Y., Tadashi, K., and Kuwata, T. 2001. Identification of novel hypocholesterolaemic peptides derived from bovine milk β -lactoglobulin. *Biochem Biophys Res Commun.* 281: 11 -17.

Park, Y. W. 2009. Overview of bioactive components in milk and dairy products In: Park Y. W., editor. *Bioactive Components in Milk and Dairy Products.* Wiley-Blackwell Publishers; Ames, Iowa and Oxford, England. pp. 3-14.

Rao, S., Yujie, S., Junhua, L., Censen, X., and Yanjun, Y. 2009. Design and expression of recombinant antihypertensive peptide multimer gene in *Escherichia coli* BL21. *J Microbiol Biotechnol.* 19: 1620-1627.

Suárez López, M. M., Kizlansky, A., & López, L. B. 2006. Evaluación de la calidad de las proteínas en los alimentos calculando el score de aminoácidos corregido por digestibilidad. *Nutr Hosp.* 21: 47-51

Vioque, J., and Millán, F. 2005. Los péptidos bioactivos en alimentación: nuevos agentes promotores de salud. *CTC Alimentación.* 26: 103-107.



LA VIDA SEXUAL DE UN HONGO EXTRAORDINARIO LLAMADO “PLEUROTUS”

Jorge Luis Cuamatzi Flores¹, Soley Berenice Nava Galicia¹, Ulises Esquivel Naranjo², Martha Dolores Bibbins Martínez^{1*}

¹Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Instituto Politécnico Nacional (CIBA-IPN, Tlaxcala), Carretera Estatal Sta. Inés Tecuexcomac – Tepetitla km 1.5, Tlaxcala, México

²Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, Avenida de las Ciencias S/N Juriquilla, Querétaro, México

*mbibbinsm@ipn.mx, jorge_l.1@hotmail.com

RESUMEN

El género *Pleurotus* pertenece a la familia Pleurotaceae, orden Agaricales, y al filo de los basidiomicetos, además de ser clasificados como hongos de pudrición blanca por su capacidad de crecer sobre madera, degradando la lignina a través de un complejo multi-enzimático. Estos organismos constituyen un grupo de hongos cosmopolitas comestibles con un alto valor nutricional, con propiedades terapéuticas y varias aplicaciones biotecnológicas.

El hongo *Pleurotus ostreatus* conocido como la seta ostra, es la segunda especie comercial de hongos comestibles más cultivada a nivel mundial. Al igual que muchos hongos comestibles, *Pleurotus ostreatus*, posee un excelente valor nutricional y constituye una rica fuente de compuestos bioactivos cuyas propiedades funcionales han sido estudiadas.

Debido a su importancia biológica y biotecnológica, las características morfológicas, fisiológicas y genéticas de *Pleurotus* y otros hongos, han cautivado a los científicos desde hace varias décadas.

Un aspecto muy interesante de estos organismos, es su proceso reproductivo, que puede ser sexual o asexual, y se realiza a través de esporas. La reproducción sexual obedece a una serie de factores genéticos y químicos que determinan la compatibilidad reproductiva entre dos individuos de la misma especie.

Palabras clave

Hongos, *Pleurotus*, reproducción

ABSTRACT

The genus *Pleurotus* belongs to the family Pleurotaceae, order Agaricales, and the phylum of the Basidiomycota, in addition to being classified as white rot fungi for their ability to grow on wood, degrading lignin through a multi-enzymatic complex. These organisms are a group of cosmopolitan edible fungi with a high nutritional value, therapeutic and biotechnological applications.

The fungus *Pleurotus ostreatus* known as the oyster mushroom, is the second commercial species of edible fungi most widely cultivated worldwide. Like many edible mushrooms, *Pleurotus ostreatus*, has an excellent nutritional value and constitutes a rich source of bioactive compounds whose functional properties have been studied.

Because of their biological and biotechnological importance, morphological, physiological and genetic characteristics of *Pleurotus* and other fungi, have fascinated scientists for several decades. An aspect very interesting of these organisms, is their reproductive process, which may be sexual or asexual, both conducted via different kind of spores. Sexual reproduction is due to a number of genetic and chemical factors that determine the reproductive compatibility between two individuals of the same species.

Key words

Fungi, *Pleurotus*, reproduction

I INTRODUCCIÓN

Los hongos son organismos eucariontes ampliamente distribuidos en el mundo, los cuales, tienen un papel fundamental en el balance de los ecosistemas, y en el caso de los hongos de pudrición blanca, como los basidiomicetos, también impactan en el reciclado del carbono.

El género *Pleurotus* es uno de los más amplios y diversos en la clase de los *Basidiomicetos*.

De acuerdo a Zervakis & Polemis, 2013, el género comprende cerca de 30 especies y un taxo subespecífico de hongos comestibles con una amplia distribución en el mundo (Figura 1).

Varias especies son ampliamente consumidas debido a su alto valor nutricional y potencial valor medicinal (Khan & Tania, 2012). Tiene muchas propiedades terapéuticas como antimicrobiano, antiviral, antitumoral, antimutagénico, antioxidante, antilipídico, antihiper glucémico, inmunomodulatorio (Patel et al., 2012). El cultivo de *Pleurotus* es de gran importancia económica en la industria de alimentos, la cual se ha expandido en pocos años y lo ha convertido en el segundo hongo cultivable más importante, tan sólo detrás de *Agaricus bisporus* comúnmente conocido como champiñón (Chang, 1999)

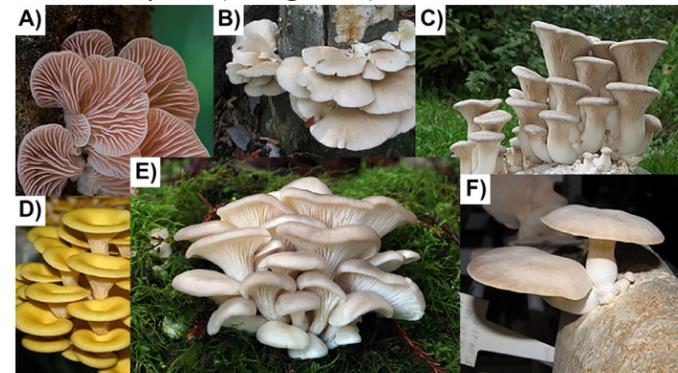


Figura 1. Especies del género *Pleurotus*, A) *Pleurotus djamar*, B) *Pleurotus pulmonaris* C) *Pleurotus eryngii*, D) *Pleurotus citrinopileatus*, E) *Pleurotus ostreatus*, F) *Pleurotus sapidus*.

2. MORFOLOGÍA Y SEXO DE PLEUROTUS

2.1 Morfología del cuerpo fructífero

Las fructificaciones de los hongos constituyen los cuerpos reproductores o fructíferos de los mismos, en estas estructuras los hongos forman las esporas, las cuales constituyen la semilla para su reproducción (Guzmán et al., 2002). El cuerpo fructífero de los basidiomicetos se forma como consecuencia de la diferenciación del micelio (un conjunto de filamentos denominadas hifas) (Herrera y

Ulloa, 1998). El micelio desempeña la función de adquirir y distribuir los nutrientes, así como de formar la estructura de soporte para el desarrollo de los cuerpos fructíferos (Klein, 1996). El crecimiento de éste se realiza solo en las puntas y se atribuye a un fenómeno complejo en el que participan vesículas (las cuales son agregados de enzimas hidrolíticas) que degradan y restauran fragmentos de la pared celular. Las vesículas se producen a lo largo del segmento subapical y se transportan por medio de un mecanismo hasta llegar al centro distribuidor de vesículas, conocido como *spitzenkörper*. Desde ahí son distribuidas en forma radial y aleatoria hacia la pared apical, dando lugar al crecimiento de las hifas.

El cuerpo fructífero de los hongos del género *Pleurotus* tienen forma de sombrilla o sombrero circular (píleo) y un eje o pie (estípite) que lo sostiene. En la cara inferior de la sombrilla abierta hay laminillas (himenio) que van desde el centro hasta el borde del sombrero; las laminillas son blancas decurrentes y espaciadas ampliamente. El píleo, donde se encuentran las laminillas, es excéntrico cuando crece en superficies verticales y es central cuando crece en camas; la superficie del píleo es lisa y brillante, un poco viscosa en tiempo húmedo. El estípite es corto y excéntrico. Las esporas que se encuentran en el basidiocarpio son de color blanco, crema o lila pálido, presenta una forma cilíndrica (raramente elipsoides) y son lisas. Los basidiocarpos pueden ser de 4-13 cm de diámetro, aunque pueden presentar tamaño mayor de acuerdo a las condiciones de fructificación (Milla, 2007) (Figura 2).

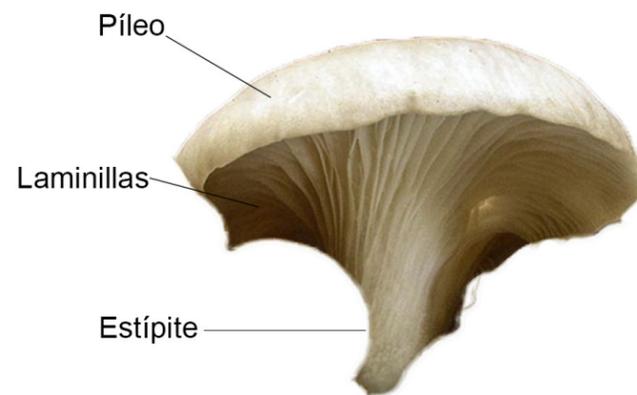


Figura 2. Morfología y estructuras del cuerpo fructífero de *Pleurotus*

2.2 Reproducción sexual

En los basidiomicetos existen dos modelos sexuales: 1) el heterotalismo, en el que son necesarios dos micelios para llevar a cabo la reproducción, con lo que se asegura que las células diploides (basidios) que son formadas en el cuerpo fructífero produzcan progenie meiotica recombinante (basidiosporas), y 2) el homotalismo, en el que los hongos son autocompatibles (es decir, la unión sexual puede efectuarse

entre elementos de un mismo micelio). Aproximadamente un 10% de los basidiomicetos pertenecen a este último modelo.

P. ostreatus se reproduce por heterotalismo, y alterna entre una fase monocariótica (haploide) y una dicariótica (diploide).

Dos hifas monocarióticas compatibles pueden fusionarse y dar origen a un micelio dicariótico (plasmogamia), en el cual permanecen dos núcleos parentales independientes (dicarion, heterocarion) durante todo el crecimiento vegetativo. Este estado puede fructificar bajo condiciones ambientales apropiadas.

El estado diploide se da en el basidio, donde la cariogamia (fusión binaria) se lleva a cabo antes de la meiosis, originando cuatro basidiosporas uninucleadas. Las basidiosporas pueden germinar y producir micelio monocariótico, reiniciando el ciclo de vida del hongo (Figura 3). La condición monocariótica y dicariótica del micelio puede ser distinguida por la presencia de fibulas (estructuras especializadas que permiten la distribución de los núcleos de las células hijas en el dicarion y su ausencia en el monocarion).

El propósito del proceso meiótico es reducir a la mitad cualquier genoma diploide, tal como el material genético de los gametos

La meiosis ha sido estudiada en hongos modelos por mucho tiempo. En efecto, el desarrollo sexual en hongos es un proceso bastante rápido, pero más importante, a diferencia de plantas y animales (Peraza & Malagnac, 2016),

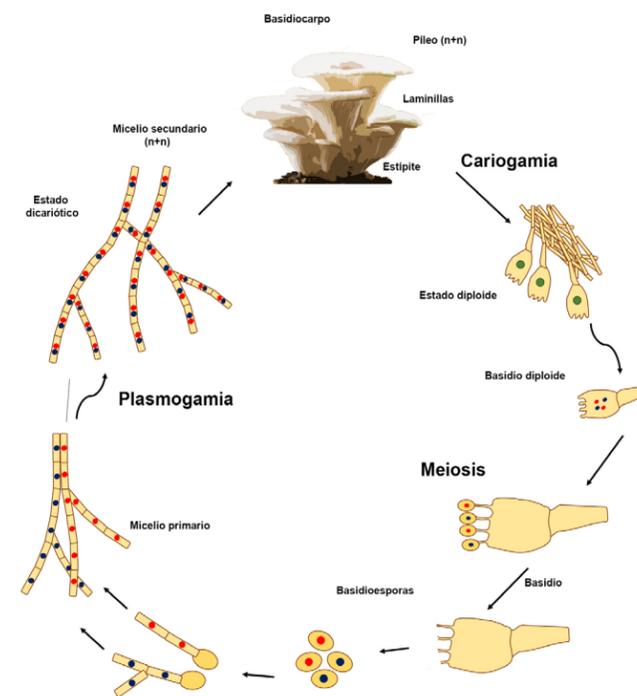


Figura 3. Ciclo sexual de *Pleurotus ostreatus* (Adaptado de Pérez-Martínez et al., 2015)

las esporas meióticas fúngicas están agrupadas en una sola estructura, los ascos de los Ascomicetos y los basidios de los basidiomicetos. La división meiótica ocurre una vez que las células diploides han sido formadas, es decir, después de la cariogamia.

El establecimiento del micelio dicariótico y la formación de cuerpos fructíferos implican programas de desarrollo altamente complejos los cuales se activan por una combinación de señales ambientales. Se asume que una gran variedad de proteínas regulen y coordinen dichos programas o lleven a cabo transformaciones enzimáticas, así como funciones estructurales.

El establecimiento del dicarionte y la aparición de cuerpos fructíferos en basidiomicetos son regulados por los genes MAT (MATING TYPE) o locus de apareamiento. Estos genes codifican para proteínas de unión a DNA y feromonas así como sus receptores. La regulación de la fructificación por los genes de apareamiento está mediada por factores de transcripción río abajo. Finalmente, circuitos de regulación, activarán genes que codifican para proteínas estructurales o para enzimas que participan en la formación del cuerpo fructífero (Figura 4) (Pelkmans, et al 2016).

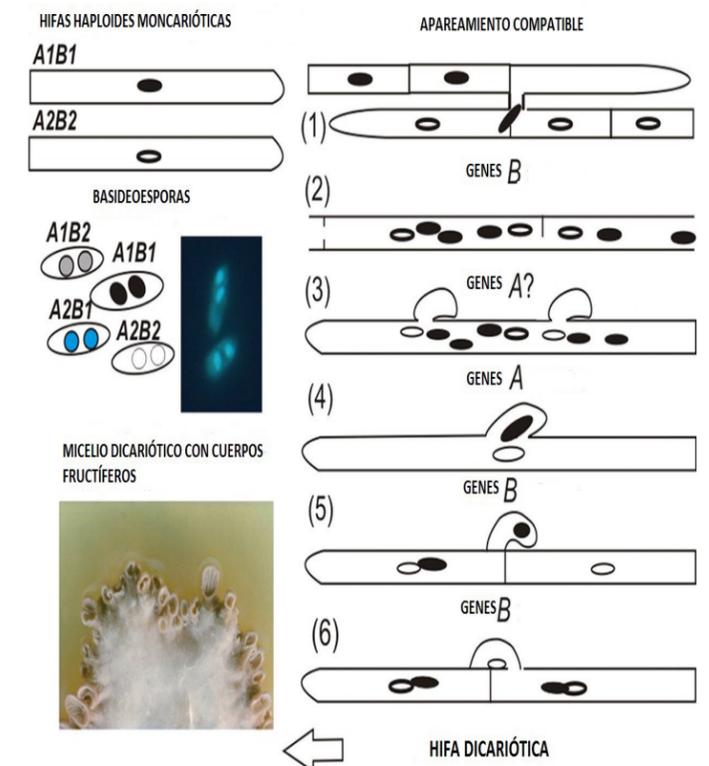


Figura 4. Los genes de apareamiento MAT y la formación de cuerpo fructífero en basidiomicetos (Adaptado de Raudaskoski y Kothe 2010)

REFERENCIAS

Chang S.T. (1999). Global impact of edible and medicinal mushroom on human welfare in the 21st century: non-green evolution. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 1: 1-7.

Guzmán G, Mata G, Salmenes D, Soto-Velazco C y Guzmán-Dávalos L. (2002). El cultivo de los hongos comestibles. 1ra reimpresión. Ed. Instituto Politécnico Nacional. México. 218 p.

Khan MA, Tania M (2012) Nutritional and medicinal importance of *Pleurotus* mushrooms: an overview. *Food Rev Int* 28:313–329.

Klein K. (1996). Pattern formation and development of the fungal mycelium. *Patterns in fungal development* (Ed. Sui-Wai Chiu y David Moore). pp 70-82. Cambridge University Press. Great Britain.

Milla A. 2007. Introducción al cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus*. Ed. Publicaciones INEA. Valladolid. España. 120p.

Patel Y, Naraián R, Singh VK (2012) Medicinal properties of *Pleurotus* species (oyster mushroom): a review. *World J Fungal Plant Biol* 3(1):01–12.

Pelkmans J.F., Lugones L.G., Wösten H.A.B. (2016) 15 Fruiting Body Formation in Basidiomycetes. In: Wendland J. (eds) *Growth, Differentiation and Sexuality. The Mycota (A Comprehensive Treatise on Fungi as Experimental Systems for Basic and Applied Research)*, vol I. Springer, Cham.

Peraza-Reyes, L., & Malagnac, F. (2016). 16 Sexual Development in Fungi. In *Growth, Differentiation and Sexuality*(pp. 407-455). Springer International Publishing.

Pérez-Martínez, A. S., Acevedo-Padilla, S. A., Bibbins-Martínez, M., Galván-Alonso, J., & Rosales-Mendoza, S. (2015). A perspective on the use of *Pleurotus* for the development of convenient fungi-made oral subunit vaccines. *Vaccine*, 33(1), 25–33.

Raudaskoski M, Kothe E (2010) Basidiomycete mating type genes and pheromone signaling. *Eukaryot Cell* 9(6):847–859.

Zervakis GI, Polemis E (2013) The genus *Pleurotus* (Fr.) P. Kumm. (Pleurotaceae) in Europe. In: Gargano ML, Zervakis GI, Venturella G (eds) *Pleurotus nebrodensis* a very special mushroom. Bentham Science Publishers, Sharjah, pp 31–56.



POROUS SILICON BASED BIOSENSOR FOR DETECTION OF BIOGENIC AMINE (SPERMIDINE)

F. Severianoa*, V. L. Gayoua, L. S. Arcila-Lozanoa, R. Delgado Macuila, M. Rojas-López, A. Orduña Díaz., (a) Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada Unidad Tlaxcala, C.P. 90700 carretera a Santa Inés Tecuexcomac, a 1.5 Km, Ex-Hacienda San Juan Molino.

*E-mail address: balarama_1@yahoo.com.mx

RESUMEN

Estructuras de silicio poroso (SP) con nanopartículas de oro (AuNPs) se obtuvieron mediante ataque electroquímico asistido con sal metálica (ácido HAuCl₄). La alta superficie de la matriz de SP y las AuNPs permitieron incrementar la sensibilidad del biosensor. Esta estructura se usó como plataforma para obtener un biosensor de aminos biogénicas (AB). La detección óptica de AB se basó en los cambios de las señales relacionadas con las reacciones entre la AB y el elemento reconocido utilizado (diamina oxidasa). En este trabajo, el SP con AuNPs se bio-funcionalizó mediante la introducción de grupos funcionales en su superficie mediante el método de adsorción. La Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y Espectroscopia de Dispersión de Energía de Rayos X (EDS) mostraron la introducción de AuNPs en la estructura del SP. Los estudios de espectrometría infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR) demostraron la correcta introducción de los elementos del biosensor. El potencial de las superficies de SP bio-funcionalizadas se estableció para ser utilizado como biosensor en la detección de AB.

ABSTRACT

Porous silicon (PS) structures with gold nanoparticles (AuNPs) were obtained by electrochemical etching assisted with metallic salt. High surface matrix of the PS and the AuNPs would allowed the increment in the sensitivity of the biosensor. This structure was used as platform to get a biogenic amine (BA) biosensor. The optical detection of BA was based on the changes of the signals related to the reactions between the BA and the recognized element used (diamine oxidase). In this work, PS with AuNPs was bio-functionalized through the introduction of functional groups on its surface by adsorption method. Scanning Electron Microscopy (SEM) and X Ray Energy Dispersive Spectroscopy (EDS) showed the introduction of AuNPs in the PS structure. Infrared spectrometry with Fourier Transform (FTIR) studies demonstrated the correct introduction of biosensor elements. The potential of the bio-functionalized PS surfaces was established to be used as a biosensor in the detection of BA.

1 INTRODUCTION

Porous silicon (PS) is a very promising material due to its chemical (Coffer, et al, 2005) and optical properties (F. Severiano, et al, 2014). These porous structures are excellent candidates for devices in the fields of electronics (Lehmann, et al, 1991), optoelectronics (F. Severiano, et al, 2014), biochemical (Coffer, et al, 2005), as well as biosensors (Chattopadhyay, et al, 2002). PS can be obtained by electrochemical etching in a solution of hydrofluoric acid (HF) and ethanol. The characteristics of the porous layer (pore diameter and thickness of the porous layer), can be easily controlled by the etching parameters (DeStefano, et al, 2004). The internal surface of PS matrix is hydrogen-terminated after the etching, which allows immobilize biomolecules on the whole porous surface (Mathew and Alocilja, 2005). Due to its characteristics, PS can be applied as a platform in the obtaining of optical or electronic biosensors. On the other hand, Au nanoparticles (AuNPs) have been used as catalyst (Lopez-Sanchez, et al, 2011), image contrast agents (Alkilany, et al, 2013), biosensor and bioanalytical element (Sassolas, et al, 2008) and meaningfully as part in electrochemical detection platform. This is due to its properties: large surface area, scattering and absorption of visible light, high density of electrons and catalytic properties (Willner, et al, 2010). With the incorporation of AuNPs in the PS structure it sought to increase the sensibility of biosensors (Lars, et al 1992). One of the areas where the application of biosensors is essential, is in the food industry, especially in the chain of quality control, since in recent years biogenic amines (BA) have been related with food intoxications, (Leuschner, et al, 1998), because of their psychoactive or vasoactive effect as well as their use as quality standard in food. Among the symptoms that the BA produce are: skin rash, epigastric pain, disturbances of the gastrointestinal tract; this kind of health problems are treated with antihistamines. For these reasons BA are used as food quality indicators. BA are produced by microbial decomposition in food with high content of proteins. Also the processing, maturation and storage of foodstuff (fish, meat, cheese, beer, wine, etc.) are important factors in the BA generation (Leuschner, et al, 1998). Diamines such as putrescine, cadaverine and histamine are decomposition products of lysine, ornithine and histidine respectively. The intake of large quantities of histamine could lead to scombrototoxicosis, while other BA are related to effects in respiratory distress, nausea, hyper or hypotension, as it was mentioned before. For these reason is important to develop BA biosensors with high sensitivity. Actually there are different methods to measure the presence of BA, for example, histamine has been sensed by derivatisation with fluorescent reagents followed by chromatographic separation (Lopez-Sabater, et al, 1993). This method might be tedious and required trained personal, besides of expensive

equipment. Other methods to measure the presence of BA are immunochemical, capillary electrophoresis and gas chromatographic methods, all these methods required long time of analysis and expensive equipment. To reduce the time of BA sensing, some enzymatic methods and enzyme biosensors have been applied (Lopez-Sabater, et al, 1993; Chemnitius, et al, 1992). This kind of biosensor show advantages such as rapid analysis and few sample preparation. Consequently the main objective of this work was the attainment of a BA biosensor based on enzymes. The objective of the enzymes was the immobilization of the BA, and the introduction of AuNPs in the PS structure was to improve the sensibility of the biosensor. For this work it was used diamine oxidase (DAO) from pig kidney to the enzymatic immobilization of BA. Finally, this biosensor based on DAO, allowed the measure of spermidine.

2. Materials and methods

2.1 PS with AuNPs

P-type silicon wafer with a resistivity of 5-10 Ω-cm were used to obtain PS with AuNPs. The method used was metal salt-assisted chemical etching (F. Severiano, et al, 2017). This process was carried out in a Teflon cell designed with the habitual setup to obtain PS. The electrolyte was composed of a mixture of hydrofluoric acid (HF, Merck 40% by volume), ethanol (Alfa-Aesar 99.98% by volume) and chloroauric acid (HAuCl₄, 99.99% trace metals basis, diluted at 30 wt. % in HCl (Aldrich)). The metal salt was prepared at ratio 1mM and then it was incorporated to the electrolyte. The volume ratios used in the electrolyte were 1/2/1, HF/ethanol/HAuCl₄ respectively, and the etching time was about 2 hours.

2.2 PS/Au nanoparticles functionalization (silanization)

The silanization of PS/AuNPs was carry out using (3-aminopropyl) trimethoxysilane (APTMS). APTMS was diluted in toluene pre-heated between 100-200 °C. The solution was prepared at 2% of APTMS in volume. The PS/AuNPs samples were then immersed in the solution for 3 hours at room temperature. The substrates were then removed from the solution, rinsed with toluene and dried in an oven at 100°C for 1 hour.

2.3 Preparation of a bio receptive surface

A covalent coupling of DAO (from pig kidney) on functionalized PS/AuNPs was performed via standard amine coupling chemistry with the first step being an activation of the surface by a mixture of 0.043g of N-hydroxysuccinimide (NHS) and 0.035g of N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydro-chloride (EDC) dissolved in 20 ml of phosphate buffered saline (PBS). This solution was agitated for 15 minutes and filtered (filter paper of 0.20 μm).

Functionalized PS/AuNPs samples substrates were immersed for 20 minutes at room temperature. The substrates were removed and rinsed with PBS.

2.4 Incorporation of DAO (Recognition Element)

Diamine oxidase (DAO) from pig kidney was used to the enzymatic immobilization of BA which was introduced by adsorption. 20 mg of DAO were dissolved in 500 μ L of PBS. Then 300 μ L were put on the surface of the bio receptive surface (PS/AuNPs/silanization/EDC and NHS) and they were left for 2 hours. After that, the substrate was rinsed with PBS.

2.5 Sensing of BA

The sensing process of the biosensor was carried out through FTIR spectroscopy: attenuated total reflectance (ATR) mode. The BA to sense were dissolved in PBS and put in contact with the biosensor. The interaction kinetics was analyzed for 30 minutes, each spectrum was taken every 30 seconds.

2.6 Scanning electron microscopy (SEM)

Superficial and cross section images of PS/AuNPs platform were obtained using a high-resolution field emission SEM Jeol, model JSM 7800F. X ray Energy Dispersive Spectrometer (EDS, model Apollo XL) was used to chemical composition analysis.

2.7 Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)

The biosensor was characterized by FTIR in ATR mode. FTIR spectra were recorded with a Vertex 70 (Bruker) spectrometer, and each spectrum was the average of 30 repetitions.

3. Results and discussion

3.1 Array of the biosensor

Figure 1 shows the graphical representation of all steps taken during the biosensor construction. From left to right: a) Formation of PS with AuNPs platform, b) silanization, c) preparation of a bio receptive surface (EDC and NHS), d) introduction of recognition element (DAO), e) process of sensing of BA.

Figure 1 shows the graphical representation of all steps

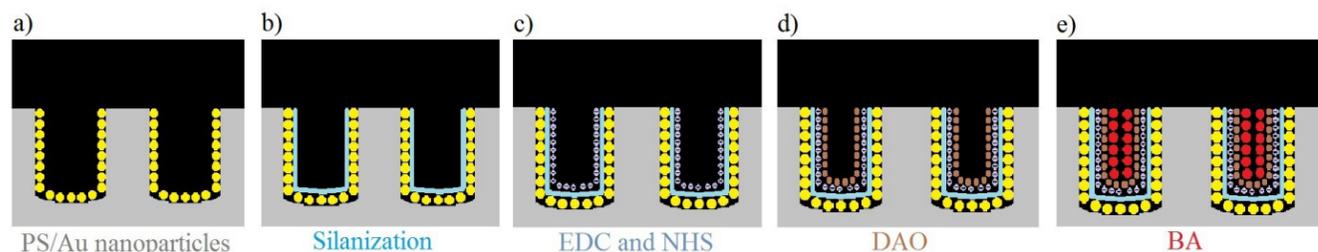


Figure 1. Array of the elements of the biosensor. a) PS with AuNPs platform, b) silanization, c) introduction of EDC and NHS, d) introduction of DAO, e) sensing of BA.

taken during the biosensor construction. From left to right: a) Formation of PS with AuNPs platform, b) silanization, c) preparation of a bio receptive surface (EDC and NHS), d) introduction of recognition element (DAO), e) process of sensing of BA.

3.2 Microstructure of PS/AuNPs from SEM and EDS analysis

The platform of the biosensor (PS/AuNPs) was characterized by electronic microscopy. Figure 2 shows SEM images of the surface of the sample obtained, 5000X and 20000X are shown in the above and below in the left side respectively. For a better analysis of the distribution and quantity of the AuNPs in the porous silicon layer (PSL), SEM images composed with secondary and backscattering electrons were obtained, right side images. This analysis demonstrated the incorporation of AuNPs over and inside the porous structure. PS/AuNPs sample presented pores and cavities, the pore diameter for this samples was around 1.5 μ m and the cavities 1.8 μ m. AuNPs were on all the PS surface. The pore size and the presence of cavities can favor the introduction of the elements of the biosensor in the PSL.

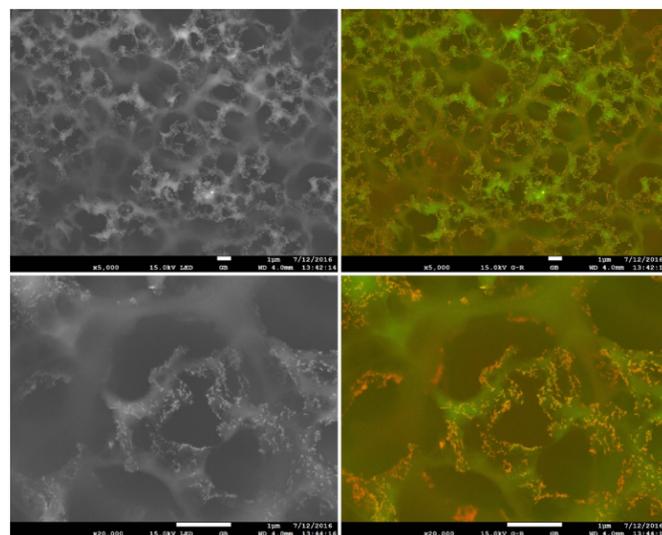


Figure 2. SEM images of PSL used as platform in biosensors. SEM images of 5000X and 20000X are shown in the left side. SEM images composed with secondary and backscattering electrons are shown in the right side.

EDS analysis was done to know the chemical composition of the samples obtained with HAuCl₄, figure 3. The EDS results showed the incorporation of Au (peak at 2.12 keV) in the PS structure. Particularly, the X ray emission lines corresponding at Au must appear between 2.16 - 3.0 keV. The more intense peaks correspond to M_{α1}, M_{α2} M_{β1} lines (between 2.12 and 2.25 keV), however it is known that there are important contributions of the M_γ family and the X-ray absorption edges that causes the typical broadening of the M peak for heavy metals.

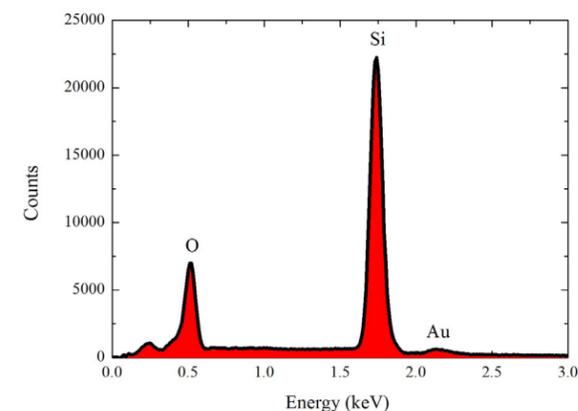


Figure 3. EDS spectrum that confirm the introduction of AuNPs in the PS.

3.3 FTIR characterization

All steps in the process of assembly of the biosensor was characterized through FTIR. Figure 4 shows the absorbance spectra of all steps conducted to obtain the platform of the biosensor. Step 1: Black line in figure 4 (black line), shows the spectra of absorbance for the platform of PS/AuNPs. The assignment of peaks was: 610 cm^{-1} was related to the bending of hydrides (SiH₂) and the vibrational modes at 1075 and 1200 cm^{-1} were due to the oxidation (Si-O-Si) in the PSL (Iler, 1979). This vibrational properties of silicon are well known. This characterization did not show peaks related to the AuNPs, but the images of SEM show the incorporation of Au in the surface of PS. Step 2: The process of silanization was realized after the obtaining of PS/AuNPs. The substrates (PS/AuNPs) was immersed in a solution at 2% of APTES in toluene. Absorbance spectra, figure 4 (red line), shown the PS/AuNPs after the process of silanization. The assignment of peaks and bands was: the band at 470 cm^{-1} was associated to vibrations of hydroxyl groups (Si-OH), the band that include the signals 1035 and 1127 cm^{-1} was due to the oxide as it was said before, since the vibrational modes of silicon oxide are included in the region from 950 to 1250 cm^{-1} (Queeney, et al, 2000; Queeney, et al, 2004).

Vibrations at 1320, 1490 and 1636 cm^{-1} correspond to the symmetric and asymmetric -NH₃₊ deformation modes, this is an indicative of amine group protonation when the samples are exposed to air (Pasternack, et al, 2008). The NH₂ scissor vibration found at 1565 cm^{-1} confirms the presence of the terminal groups of the APTMS molecules. The results showed that the process of functionalization was successful. Step 3: The introduction of the linkers (EDC and NHS) was realized by adsorption, as was mentioned above. Figure 4 (blue line), shows the absorbance spectrum obtained after the EDC and NHS introduction. The assignment of peaks and bands was: the band at 550 cm^{-1} was associated to vibrations of hydroxyl groups (Si-OH). The band that include the signals 1066, 1150 and 1228 cm^{-1} was due to the oxide as it was said before. The peak at 1548 cm^{-1} was related to the amide II and is due to the bending of N-H and stretching of C-N in the plane. The peak at 1650 cm^{-1} (amide I) was due to the stretching of C=O and bending out the plane of C-N. The peaks at 1548 and 1650 cm^{-1} are related to the primary amines and secondary amines, respectively (Barth, et al, 2007). The peaks associated to the presence of amides prove the incorporation of the linkers in the surface of the silanized surface. Step 4: The introduction of the element of recognition was realized by adsorption from a drop of DAO diluted in PBS. Figure 4 (cyan line), shows the spectra of absorbance for this step of the process, it did not show changes in comparison with the previous step. This was due to the signal of the linkers (EDS and NHS), since the response of the DAO was expected around the 1630 and 1525 cm^{-1} (signals related to the amides). Due to this it was not seen the signal attributed to the presence of DAO. But with this structure the process of sensing was realized.

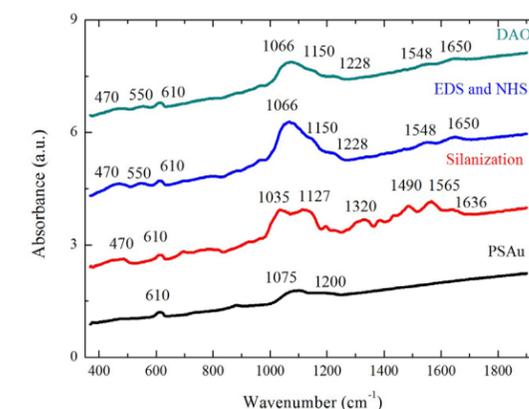


Figure 4. Spectra of absorbance of all steps applied during the construction of the biosensor.

3.4 Sensing of biogenic amines

The characterization of the biosensors was carried out using ATR. The biosensors were made on PS/AuNPs platforms, which were silanized and later they were added linkers (EDS and HNS) and recognition (DAO) elements. The spermidine used in the sensing process were dissolved in buffer solution (TRIS). This solution was put in contact with the crystal used in the technique of ATR. The spectra were taken in a sequence of 60 spectra and each spectrum was composed of 30 iterations. The aim is observe the band associated to ammonia at 1132 cm^{-1} , this is due to the decomposition of the BA when enter in contact with the DAO. The spectra showed in the next sections are composed by a small number of measurements, in order that the increase of the signal of interest was clearly appreciated. Figure 5 shows the spectra obtained from the biosensor when enter in contact with spermidine. 20000 ppm were prepared in 1 milliliter and 20 microliters were taken for measurement. The biosensor showed response around 1132 cm^{-1} , this response is associated to the ammonia,

a reaction product that took place when spermidine and DAO enter in contact, which confirm the BA presence.

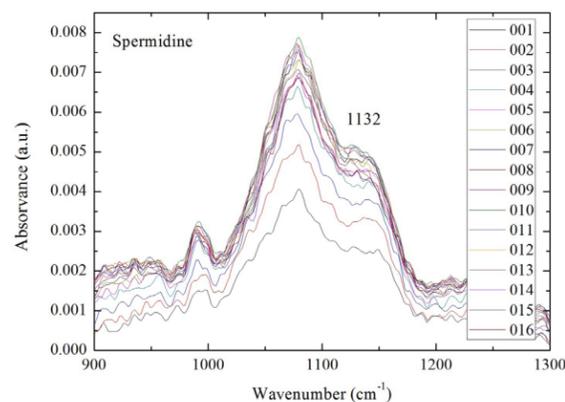


Figure 5. Infrared spectra obtained from biosensor when was put in contact with spermidine. The biosensor showed response around the region of interest (1132 cm^{-1}).

CONCLUSIONS

This study was conducted with the aimed to fabricate and effectively characterize a biosensor of BA. PS with AuNPs were obtained with electrochemical etching method using a metal salt in the electrolyte. The introduction of silanes, linkers and elements of recognition was proved and characterized with Fourier transform infrared spectroscopy. The biosensor was able of sensing Spermidine.

REFERENCES

A.M. Alkilany, S.E. Lohse, C.J. Murphy. 2013. The Gold Standard: Gold Nanoparticle Libraries To Understand the Nano-Bio Interface. *Acc. Chem. Res.* 46(3): 650-661.

A. Sassolas, B.D. Leca-Bouvier, L.J. Blum. 2008. DNA biosensors and

microarrays. *Chem. Rev.* 108 (1): 109-139;

Barth A. 2007. Infrared spectroscopy of proteins. *Biochimica et biophysica acta.* 1767(9):1073-101.

Chemnitiu GC, Suzuki M, Isobe K, Kimura J, Karube I, Schmid RD. 1992. Thinfilm polyamine biosensor: substrate specificity and application of fish freshness determination. *Anal. Chim. Acta* 263:93-100.

DeStefano, L., Rendina, I., Moretti, L., Tundo, S., Rossi, A.M. 2004. Smart optical sensors for chemical substances based on porous silicon technology. *Appl. Opt.* 43: 167-172.

F. Severiano, G. García, and L. Castañeda. 2014. Study of the electroluminescent properties of crystalline silicon wafers in devices based on junctions of indium-doped zinc oxide and porous silicon. *Mater Sci Semicond Process.* 27: 326-334.

F. Severiano, V. L. Gayou, G. García, R. Delgado Macuil, H. Martínez Gutiérrez, G. Nieto, T. Diaz. 2017. In situ inclusion of Au nanoparticles in porous silicon structure. *Appl. Phys. A* 123: 1-7.

Iler, R. K. 1979. *The Chemistry of Silica: Solubility, Polymerization, Colloid and Surface Properties and Biochemistry of Silica.* Wiley-Interscience: New York pp 740-760.

I. Willner, B. Willner, R. Tel-Vered. 2010. Electroanalytical Applications of Metallic Nanoparticles and Supramolecular Nanostructures. *Electroanalysis* 23 (1): 13-28.

J.A. Lopez-Sanchez, N. Dimitratos, C. Hammond, G.L. Brett, L. Kesavan, et al. 2011. Facile removal of stabilizer-ligands from supported gold nanoparticles. *Nat. Chem.* 3 (7): 551-556.

J.L. Coffey, M.A. Whitehead, D.K. Nagesha, P. Mukherjee, G. Akkaraju, M. Totolici, R. S. Saffie, L. T. Canham. 2005. Porous silicon-based scaffolds for tissue engineering and other biomedical applications. *Phys. Status Solidi A* 202: 1451-1455.

Lars G. Fiigerstam *, ha Frostell-Karlsson, Robert Karlsson, Björn Persson and Inger Rijnberg. 1992. Biospecific interaction analysis using surface plasmon resonance detection applied to kinetic, binding site and concentration analysis. *J. Chromatogr.* 597: 397-410.

Leuschner RG, Heidel M, Hammes WP. 1998. Histamine and tyramine degradation by food fermenting microorganisms. *Int. J. Food Microbiol.* 39(1-2):1-10.

Lopez-Sabater EI, Rodriguez-Jerez JJ, Roig-Sagues AX, Mora-Ventura MT. 1993. Determination of histamine in fish using an enzymic method. *Food Additives and Contaminants.* 10:593-602.

Mathew, F.P., Alocilja, E.C. 2005. Porous silicon-based biosensor for pathogen detection. *Biosens. Bioelectron.* 20: 1656-1661.

Pasternack, R. M.; Rivillon Amy, S.; Chabal, Y. J. 2008. Attachment of 3-(aminopropyl)triethoxysilane on silicon oxide surfaces: Dependence on solution temperature. *Langmuir* 24 (22): 12963-12971.

Queeney KT, Herbots N, Shaw JM, Atluri V, Chabal YJ. 2004. Infrared spectroscopic analysis of an ordered Si/SiO₂ interface. *Appl. Phys. Lett.* 84(4):493-495.

Queeney KT, Weldon MK, Chang JP, Chabal YJ, Gurevich aB, Sapjeta J, et al. 2000. Infrared spectroscopic analysis of the Si/SiO₂ interface structure of thermally oxidized silicon. *J. Appl. Phys.* 87(3):1322.

S. Chattopadhyay, X. Li, P.W. Bohn. 2002. In-plane control of morphology and tunable photoluminescence in porous silicon produced by metal-assisted electroless chemical etching. *J. Appl. Phys.* 91: 6134-6140.

V. Lehmann, U. Gösele. 1991. Porous silicon formation: A quantum wire effect. *Appl. Phys. Lett.* 58: 856-858.

INVESTIGACIÓN + POSGRADOS

- Maestría en Biotecnología Aplicada
- Maestría en Biotecnología Productiva
- Doctorado en Biotecnología Aplicada
- Doctorado en Biotecnología Productiva

Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada
Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal
Tecuexcomac - Tepetitla K. 1.5, Tlaxcala, C.P. 90700, México