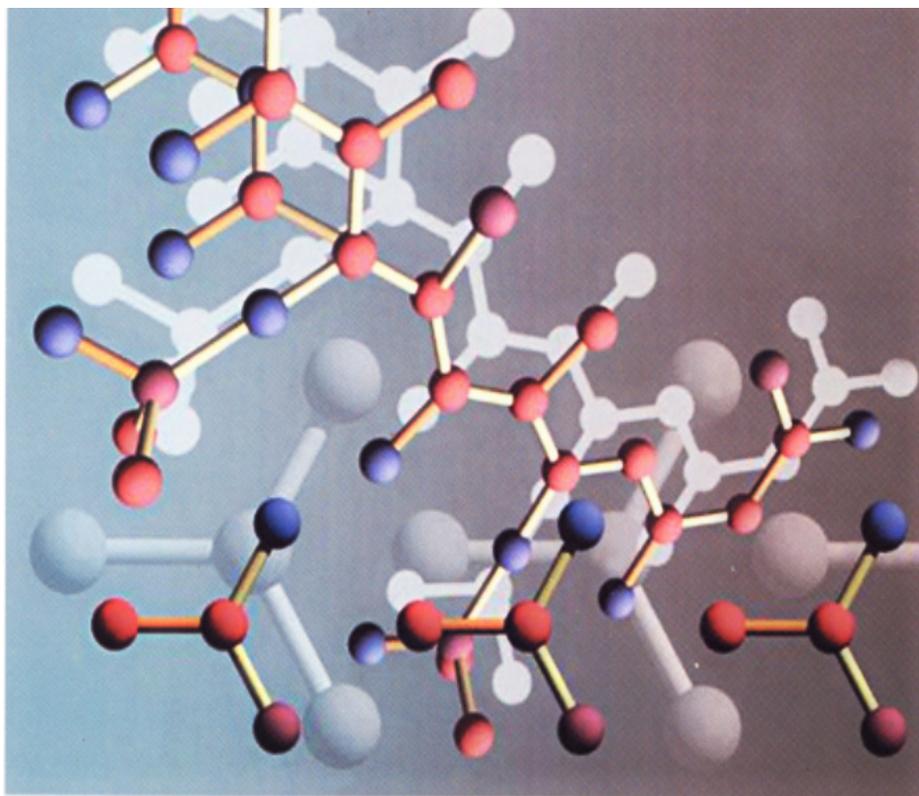




BOLETÍN *de la* SOCIEDAD
QUÍMICA
de MÉXICO

ENERO-ABRIL, 2007

Bol. Soc. Quím. Méx, 2007, V1, N1



Bol. Soc. Quím. Méx, 2007, V1, N1
ISSN 1870-1809
México, D.F.

www.bsqm.org.mx

Editorial

La difusión de las actividades que se desarrollan en los diferentes ámbitos profesionales requiere múltiples diligencias concurrentes, entre ellas, la existencia de publicaciones que proporcionen la información pertinente a las personas interesadas. En nuestro país, la *Revista de la Sociedad Química de México* (www.jmcs.org.mx) ha desempeñado una loable labor de servicio y apoyo a los estudiantes, académicos y profesionales de las ciencias químicas. Desde su primer número, publicado en 1957, se establecieron varias secciones, con la intención de brindar el mejor servicio posible a los miembros de la Sociedad. Estas secciones fueron: artículos, comunicaciones originales, noticias, revista de revistas, selección bibliográfica, libros nuevos, cartas al editor, actividades de la *Sociedad Química de México*, bolsa de trabajo, y maquinaria y equipo (ofertas y demandas) [1]. A lo largo de los años, la revista ha registrado parte de las actividades desarrolladas en el ámbito químico de nuestro país, y numerosos miembros de la *Sociedad Química de México* han colaborado en diversos aspectos para el logro de los objetivos de la revista. Así, se han publicado contribuciones científicas originales, comentarios, trabajos de docencia, informes técnicos, reseñas históricas, semblanzas, las memorias de los Congresos Nacionales de Química y de Educación Química, entre muchos otros aspectos. Durante los últimos años, en atención a diversos acuerdos del Comité Editorial de la revista, este órgano de difusión se dirigió preferentemente a la publicación de artículos científicos originales y a revisiones de temas donde los autores hayan producido una parte significativa de conocimiento. A partir del 2005, en búsqueda de mayor cobertura y difusión a nivel internacional de los trabajos científicos publicados [2], se transformó en *Journal of the Mexican Chemical Society* (www.jmcs.org.mx).

El *Boletín de la Sociedad Química de México* que inicia su publicación con este número, tiene como objetivo constituirse como un medio eficiente al servicio de las ciencias químicas mediante la publicación de material de interés general que incluye comunicaciones breves de investigación, informes técnicos, artículos de divulgación, revisiones de temas de actualidad, revisiones históricas, sociológicas y filosóficas sobre temas de la química, semblanzas, noticias, obituarios,

reseñas de eventos, comentarios de libros y de artículos, entre otros aspectos de interés.

Por otro lado, la revista *Educación Química* cubre los aspectos referentes a la búsqueda de nuevos instrumentos de enseñanza y sobre los procesos de enseñanza-aprendizaje, por lo que los autores interesados en estos temas pueden enviar sus contribuciones a este órgano de difusión. Esta revista tiene sus propias secciones de interés, las que se relatan en cada número del mes de enero de cada año, en la sección “Guía para los autores” [3].

Así, los profesionistas de las diferentes especialidades de las ciencias químicas tendrán a su disposición órganos de difusión que cubrirán adecuadamente los principales rubros de su actividad y en los cuales pueden participar.

La labor editorial del *Boletín de la Sociedad Química de México* se llevará a cabo inicialmente de manera colectiva, y se ha integrado un Comité Editorial que permitirá el trabajo colegiado. Invitamos a los profesores, profesionales y estudiantes de la química a colaborar en este nuevo órgano de difusión mediante el envío de contribuciones. Sus sugerencias y comentarios serán bienvenidos. La *Sociedad Química de México* emprendió esta tarea precisamente en el año de su cincuentenario (2006), y el Boletín aparece en el año del cincuentenario de la *Revista de la Sociedad Química de México* (2007), en atención de un mejor servicio a sus miembros, en beneficio de los estudiantes, profesores y profesionales de las ciencias químicas, y con el objetivo de servir a nuestro país.

Referencias

1. Bolívar, J. I. Editorial. *Rev. Soc. Quím. Méx.* **1957**, *1*, 3-5
2. Delgado, G. Editorial. *J. Mex. Chem. Soc.* **2004**, *49*, 1.
3. Guía para los autores **2007**, *Educ. Quím.* **2007**, *18*(1), en prensa.

Guillermo Delgado
Andoni Garritz
Jesús Valdés
Julia Verde

SOCIEDAD QUÍMICA de MÉXICO

Barranca del Muerto 26 (Esq. Hércules)

Col. Crédito Constructor

Delegación Benito Juárez. México 03940, D. F.

Tel/Fax: 5662-6823 y 5622-6837

Email: soquimex@prodigy.net.mx

La *Sociedad Química de México* fue fundada en 1956 como una agrupación sin fines de lucro para promover el desarrollo de los profesionales y estudiantes de la química en las áreas educativa, investigación, servicios e industria, y para difundir el conocimiento de la química. La *Sociedad Química de México* organiza anualmente el Congreso Mexicano de Química y el Congreso Nacional de Educación Química, en los cuales se desarrollan diversas actividades de interés para los profesionales y estudiantes de las ciencias químicas. Asimismo, otorga anualmente los Premios Nacionales de Química Andrés Manuel del Río en las áreas de investigación, docencia, industria y desarrollo tecnológico. La *Sociedad Química de México* publica el *Journal of the Mexican Chemical Society* (*J. Mex. Chem. Soc.*, antes *Revista de la Sociedad Química de México*) y el *Boletín de la Sociedad Química de México* (*Bol. Soc. Quím. Méx.*)

The *Sociedad Química de México* was founded in 1956 as a non-profit association to promote the development of the professionals and students of chemistry in education, research, services and industry, and for the diffusion of chemical knowledge. The *Sociedad Química de México* organizes annually the Mexican Congress of Chemistry and the National Congress of Chemical Education, that include activities of current interest for professionals and students of the chemical sciences. It also grants annually the Andrés Manuel del Río National Awards of Chemistry in the areas of research, education, industry and technological development. *Sociedad Química de México* publishes the *Journal of the Mexican Chemical Society* (*J. Mex. Chem. Soc.*, former *Revista de la Sociedad Química de México*) and the *Boletín de la Sociedad Química de México*.

BOLETÍN de la SOCIEDAD QUÍMICA de MÉXICO

(*Bol. Soc. Quím. Méx.*)

ISSN 1870-1809

Boletín de la Sociedad Química de México

(*Bol. Soc. Quím. Méx.*) publicación cuatrimestral.

Editores responsables:

Guillermo Delgado Lamas

Andoni Garritz Ruiz

Jesús Valdés Martínez

Julia Verde Star

D.R. © Sociedad Química de México, A.C.

Se prohíbe la reproducción o impresión parcial o total, sin la autorización por escrito del titular de los derechos.

Certificado de Reserva otorgado por el Instituto Nacional del Derecho de Autor No. 04-2006-080909281200-106.

Certificado de Licitud de Título (en trámite).

Certificado de Licitud de Contenido (en trámite).

Editado y distribuido por la Sociedad Química de México, A.C.
Barranca del Muerto 26 (esq. Hércules), Col. Crédito Constructor,
Delegación Benito Juárez. C.P. 03940, México. D.F.
Tel/Fax: 5662-6823 y 5662-6837

Impreso en S y G editores

Cuapinol 52, Pedregal de Santo Domingo,

Coyoacán, 04369 México, D.F.

Tels. 5619-5293 / 5617-5610.

Email: sygeditores@cablevision.net.mx

BOLETÍN *de la* SOCIEDAD QUÍMICA *de* MÉXICO

El *Boletín de la Sociedad Química de México (Bol. Soc. Quím. Méx.)* es una publicación cuatrimestral de la *Sociedad Química de México* que tiene como objetivo difundir temas de interés general sobre química con el fin de lograr mayor comunicación e integración entre los profesionales y estudiantes de esta ciencia. Se publicarán preferentemente contribuciones referentes a comunicaciones breves de investigación, informes sobre metodología teórica y experimental, artículos de revisión, artículos de divulgación, así como de investigaciones históricas, sociológicas y filosóficas sobre temas de la química, y son aceptables biografías, reseñas históricas, semblanzas, obituarios, comentarios de actualidad, reseñas de libros y artículos, entre otros temas. Los artículos de investigación original y las revisiones críticas, pueden enviarse al *J. Mex. Chem. Soc.*, y los referentes a docencia y procesos de enseñanza aprendizaje, pueden someterse a *Educación Química*. Las instrucciones para los autores pueden encontrarse en la versión impresa de la revista, o pueden consultarse en www.sqm.org.mx.

EDITORES

Guillermo Delgado Lamas (UNAM);
delgado@servidor.unam.mx
Andoni Garriz Ruiz (UNAM); andoni@servidor.unam.mx
Jesús Valdés Martínez (UNAM); jvaldes@servidor.unam.mx
Julia Verde Star (UANL); jverde@prodigy.net.mx

ASISTENCIA EDITORIAL

Rosa Jaime Cerón; r.jaime@prodigy.net.mx
Lidia Hernández García; lidia.hernandez@prodigy.net.mx

EDITOR TÉCNICO

Arturo Sánchez y Gándara; arturosyg@cablevision.net.mx

COMITÉ EDITORIAL

Bernardo Frontana Uribe (UNAM); bafrontu@servidor.unam.mx
Carolina Godoy Alcántar (UAEMor); cga@uaem.mx
Jorge Ibáñez Cornejo (U Iberomericana); jorge.ibanez@uia.mx
Miguel Ángel Méndez Rojas (U de las Américas);
miguela.mendez@udlap.mx
Olga Margarita Padilla Bernal (UA Zacatecas);
margapadilla@yahoo.com.mx
Kira Padilla Martínez (UNAM); kira@informatica.fquim.unam.mx
Aarón Pérez Benítez (BUAPuebla); aronper@siu.buap.mx
Catalina María Pérez Berumen (Universidad Autónoma de Coahuila);
catalina@usquim.uadec.mx
Leticia Lomas Romero (Universidad Autónoma Metropolitana);
llr@xanum.uam.mx
Ignacio Rivero Espejel (Instituto Tecnológico de Tijuana);
irivero@tectijuana.mx

ISSN 1870-1809
ISSN on line 1665-9686

Boletín de la Sociedad Química de México (Bol. Soc. Quím. Méx.), publicación cuatrimestral.
Editores responsables: Guillermo Delgado Lamas, Andoni Garriz Ruiz, Jesús Valdés Martínez, Julia Verde Star

Certificado de Reserva número 04-2006-080909281200-106 otorgado por el Instituto Nacional del Derecho de Autor.
Certificado de Licitud de Título (en trámite). Certificado de Licitud de Contenido (en trámite).

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

Editada y distribuida por la Sociedad Química de México, A.C.
Barranca del Muerto 26 (esq. Hércules). Col. Crédito Constructor,
Delegación Benito Juárez, C.P. 03940, México, D.F. Teléfono/Fax: 5662-6823 y 5662-6837. www.sqm.org.mx

Impreso en S y G editores, Cuapinol 52, Pedregal de Santo Domingo, Coyoacán,
04369 México, D.F. Tels. 5619-5293 / 5617-5610. sygeditores@cablevision.net.mx

Instrucciones para los Autores 2007

Bol. Soc. Quím. Méx.

Lineamientos editoriales

El *Boletín de la Sociedad Química de México (Bol. Soc. Quím. Méx.)* es una publicación cuatrimestral de la *Sociedad Química de México* que tiene como objetivo difundir temas de interés general sobre la química con el fin de lograr mayor comunicación e integración entre los profesionales, los profesores y los estudiantes de esta ciencia. Se publicarán en esta revista preferentemente contribuciones referentes a:

- Comunicaciones breves de investigación sobre todas las áreas de la química en su más amplio contexto, donde se informarán sucintamente los hallazgos referentes a investigaciones y estudios teóricos y/o experimentales concluidos.
- Metodología teórica y experimental. Son contribuciones referentes a la mejora de procedimientos teóricos, computacionales o prácticos que pueden incluir técnicas, montaje y diseño de equipo e instrumentos que hayan sido desarrollados por el autor.
- Informes técnicos generados por estudios específicos que apliquen técnicas y procedimientos reconocidos para tal fin.
- Artículos de revisión sobre un tema de actualidad. Estarán dirigidos principalmente a los estudiantes de posgrado, a los profesores y a los profesionales no especialistas en el tema. Es de esperarse que los autores tengan publicaciones sobre el tema de la revisión.
- Artículos originales de divulgación de la química, así como de investigaciones históricas, sociológicas y filosóficas sobre temas de la química en México y en el mundo.
- Temas generales. Son aceptables biografías, reseñas históricas, semblanzas, obituarios, comentarios de actualidad, reseñas de libros y de artículos.

Se recomienda que, con la excepción de los trabajos de revisión del inciso (d), las contribuciones se limiten a alrededor de diez cuartillas escritas a doble espacio con un tipo de 12 puntos.

Se espera que los artículos de investigación y las revisiones críticas sean enviados al *Journal of the Mexican Chemical Society (Revista de la Sociedad Química de México)* de 1957 a 2004; www.jmcs.org.mx, mientras que los artículos referentes a docencia y procesos de enseñanza-aprendizaje de las ciencias químicas, sean sometidos a la revista *Educación Química*. (www.fquim.unam.mx/sitio/edquim/index.html).

Las contribuciones sometidas al *Bol. Soc. Quím. Méx.* serán enviadas a evaluadores quienes recomendarán a los editores sobre la aceptación del escrito; éstas son sometidas bajo la premisa de que no han sido publicadas o enviadas a otra revista, y los autores aceptan la completa responsabilidad de la exactitud, contenido y selección de los datos presentados. Serán publicables contribuciones en español e inglés. Los nombres de los evaluadores no se dan a conocer y sus comentarios se envían a los autores. Los editores, evaluadores y autores llevan a cabo sus funciones conforme a los lineamientos éticos generalmente aceptados en los procedimientos de integración de las publicaciones científicas. Los derechos de reproducción en papel y electrónica de los artículos aceptados para publicación en el *Bol. Soc. Quím. Méx.* serán asignados a la *Sociedad Química de México*.

Preparación de los Manuscritos

Los autores podrán enviar sus contribuciones en forma electrónica en un archivo de Word a editorbsqm@prodigy.net.mx con copia a lidia.hernandez@prodigy.net.mx, anexando una carta de presentación donde se sugieran los nombres y correos electrónicos de tres evaluadores. Los autores recibirán un acuse a lo más después de cuatro días hábiles, de lo contrario podrán contactar directamente a los editores. Las fotos, esquemas, dibujos, fórmulas y gráficas deberán ser capturados en al menos 600 dpi de resolución. Es recomendable que el autor envíe el material gráfico en el tamaño apropiado para su reproducción final,

considerando que aparecerá en una o dos columnas en la versión final impresa. La página 1 del artículo contendrá el título del trabajo (breve e informativo), los nombres y primeros apellidos de los autores, indicando con un asterisco a quien se dirigirá la correspondencia, las instituciones de adscripción, indicando con un número en supraíndice las diferentes instituciones, y el teléfono, fax y la dirección electrónica del autor a quien se dirigirá la correspondencia. La página 2 contendrá el resumen (en inglés y en español) de la contribución y de cuatro a seis palabras clave (en inglés y en español).

La organización sugerida, en caso de tratarse de un trabajo de investigación, es: *Introducción, Resultados y Discusión, Parte Experimental, Agradecimientos y Referencias*, y es deseable que se presente con la mayor claridad y precisión posibles. Para la presentación de los datos físicos y espectroscópicos de las sustancias, se empleará el siguiente formato:

(3S)-7-Hidroxi-2',3',4',5',8-pentametoxyisoflavano (1). Polvo amorfo: mp 125-126°C; $[\alpha]_D^{25} + 3.12$ (c 0.320, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 218 (3.91); 284 (2.89) nm; DC (c 0.0136, MeOH): $[\theta]_{D210}^{25} -2.699$, $[\theta]_{D226}^{25} 0.4130$, $[\theta]_{D256}^{25} -0.8567$, $[\theta]_{D265.5}^{25} -0.6865$; IR (CHCl₃) ν_{max} 3530, 2939, 2840, 1603, 1494, 1193, 1040 cm⁻¹; RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) δ 6.72 (1H, dd, $J_{5,6} = 8.5$, $J_{4,5} = 1.0$ Hz, H-5), 6.53 (1H, dd, $J_{5,6} = 8.5$ Hz, H-6), 6.40 (1H, s, H-6'), 5.80 (1H, brs, OH), 4.39 (1H, ddd, $J_{2\beta,2\alpha} = 10.5$, $J_{2\beta,3\beta} = 3.5$, $J_{2\beta,4\beta} = 1.0$ Hz, H-2 β), 4.05 (1H, dd, $J_{2\alpha,2\beta} = J_{2\alpha,3\beta} = 10.5$ Hz, H-2 α), 3.95 (3H, s, CH₃O-C-3'), 3.92 (3H, s, CH₃O-C-8), 3.89 (3H, s, CH₃O-C-4'), 3.83 (3H, s, CH₃O-C-2'), 3.79 (3H, s, CH₃O-C-5'), 3.61 (1H, dddd, $J = 10.5$, 3.5, 5.5, 10.5 Hz, H-3), 2.96 (1H, ddd, $J_{4\alpha,4\beta} = 16.0$, $J_{4\alpha,3\beta} = 10.5$, $J_{4\beta,5} = 1.0$ Hz, H-4 α), 2.90 (1H, ddd, $J = 16.0$, $J_{3\beta,4\beta} = 5.5$, $J_{2\beta,4\beta} = 1.0$ Hz, H-4 β); RMN ¹³C (CDCl₃, 125 MHz, asignaciones por APT y HMQC) δ 149.67 (C-5'), 147.60 (C-7), 147.15 (C-3'), 147.12 (C-8a), 145.50 (C-2'), 141.95 (C-4'), 134.80 (C-8), 128.90 (C-1'), 124.20 (C-5), 115.00 (C-4a), 107.10 (C-6), 70.28 (C-2), 61.89 (OCH₃-C-4'), 61.51 (OCH₃-C-2'), 61.00 (OCH₃-C-3'), 60.90 (OCH₃-C-8), 56.25 (OCH₃-C-5'), 31.84 (C-3), 31.32 (C-4); EMIE m/z (int. rel.): 376 [M]⁺ (73), 224 (100), 209 (42), 152 (16), 151 (38), 121 (14). *Anal.* C 63.65%, H 6.68%, calcd: C₂₀H₂₄O₇, C 63.82%, H 6.43%. Las llamadas a las referencias bibliográficas se harán con números entre paréntesis rectangulares y es deseable que no se incluya bibliografía de difícil acceso, tales como reportes técnicos, memorias de eventos, tesis y resultados aún no publicados. La bibliografía deberá presentarse en el siguiente formato.

- Kingsbury, J. S.; Corey, E. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13813.
- Vanden Berghe, D. A.; Vlietinck, A. J., in: *Methods in Plant Biochemistry*, Vol. 6, Hostettmann, K., Ed., Academic Press, London, **1991**, 47-70.
- Lehn, J.-M. *Supramolecular Chemistry*. VCH, Ed. Weinheim, **1995**.
- Kadin, S.B. *US patent* 4,730,004 **1988**. (CA 110, P23729y)
- J. Mex. Chem. Soc.*, in the URL <http://www.jmcs.org.mx>, accessed in January, **2007**.
- Sheldrick, G.M. *SHELXL-93. Program for Crystal Structure Refinement*. University of Göttingen, Germany, 1993.

Se adoptarán la nomenclatura, las abreviaturas y los términos técnicos usados por *Chemical Abstracts*, y las figuras, tablas, esquemas y gráficas deberán numerarse y presentarse con la leyenda correspondiente. Los autores cuyos artículos sean aceptados recibirán electrónicamente la versión PDF de su contribución para su revisión, la cual deberá regresarse a la brevedad posible para su impresión. En caso de errores, pueden publicarse la fe de erratas correspondiente a petición escrita del autor a los editores.

El autor cubrirá a la *Sociedad Química de México* el costo por página de la edición técnica y de la impresión (aproximadamente \$ 200.00 MN por página). El autor puede solicitar la exención de pago mediante una solicitud argumentada. La *Sociedad Química de México* es una asociación sin fines de lucro para promover el desarrollo de la química.

BOLETÍN *de la* SOCIEDAD
QUÍMICA
de MÉXICO

(*Bol. Soc. Quím. Méx.*)

Contenido

Editorial	1
Las técnicas electroquímicas y los electrodos de pasta de carbono en el estudio de los mecanismos de disolución de minerales metálicos José L. Nava e Ignacio González*	2-18
New hopes from endophytic fungal secondary metabolites M. V. Tejesvi, M. S. Nalini, B. Mahesh, H. S. Prakash, K. R. Kini, H. S. Shetty and Ven Subbiah*	19-26
Guidelines for a pharmaceutical technology transfer towards a drug manufacturing plant Luis Alberto del Río,* Nuria Salazar y Carmen Trives	27-31
La utilización de la espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS) para identificar diferentes estados superficiales en el proceso de corrosión del acero al carbono en medios amargos Román Cabrera-Sierra, Jesús Marín-Cruz, Ignacio González*	32-41
Fraccionamiento Campo-Flujo aplicado al análisis de proteínas Joseantonio Godoy,* Judith Jaimez, Ana María Botana	42-53
Vigésimo Aniversario de la Fundación de la Sociedad Mexicana de Electroquímica (SMEQ) Bernardo A. Frontana-Uribe	54-58
Reflexiones sobre la historia de la creación del Posgrado en Ciencias y Biotecnología de Plantas del CICY Víctor M. Loyola Vargas	59-66
¿Cómo enseñar ciencias? Principales tendencias y propuestas Juan Miguel Campanario y Aída Moya <i>Enseñanza de las Ciencias</i> 1999, 17, 179-192. Andoni Garritz	67-72
Fernando Walls Armijo (1931-2005) Francisco Yuste López	73-74

*The asterisk indicates the name of the author to whom inquires about the paper should be addressed

Las técnicas electroquímicas y los electrodos de pasta de carbono en el estudio de los mecanismos de disolución de minerales metálicos

José L. Nava e Ignacio González*

Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Departamento de Química, Av. San Rafael Atlixco # 186, A.P. 55-534, C.P. 09340, México D.F., México. Tel: (52)-55 5804 4671, Fax: (52) 55-5804 4666
E-mail: igm@xanum.uam.mx

Resumen. Esta revisión muestra la utilidad de emplear a las técnicas electroquímicas y a los electrodos de pasta de carbono (CPE, por sus siglas en inglés), en el estudio de los mecanismos de disolución de minerales metálicos. Los mecanismos de disolución de diferentes minerales base, como galena (PbS), esfalerita (ZnS), calcopirita (CuFeS_2), y otros asociados en bajas cantidades, como la arsenopirita (FeAsS), mostraron ser dependientes del potencial aplicado. Estudios sobre minerales de plata permitieron identificar ciertas propiedades refractarias a la cianuración. Finalmente, un estudio sobre un concentrado complejo de cinc (63.4% ZnS, 20.1% pirita FeS_2 , 5% CuFeS_2 , 0.33% PbS, 0.45% tetrahedrita $\text{Cu}_{12}\text{Sb}_4\text{S}_{13}$ y 0.4% FeAsS), permitió identificar el intervalo de potencial donde cada mineral es oxidado.

Palabras clave. CPE-mineral, mecanismos de disolución, técnicas electroquímicas, mineral, hidrometalurgia.

Abstract. This review deals with the importance of the use of electrochemical techniques coupled to carbon paste electrodes-mineral (CPE-mineral), in the study of dissolution mechanisms of different base minerals. The dissolution mechanisms of Galena (PbS), sphalerite (ZnS), chalcopyrite (CuFeS_2) and other mineral associated in less proportion, such as arsenopyrite (FeAsS), showed to be potential dependent. Electrochemical studies performed on silver minerals lead to identify refractory properties to cyanadation. Finally, a study developed on a complex zinc concentrate (63.4% ZnS, 20.1% pyrite FeS_2 , 5% CuFeS_2 , 0.33% PbS, 0.45% tetrahedrite $\text{Cu}_{12}\text{Sb}_4\text{S}_{13}$ and 0.4% FeAsS), lead to identify the potential range in which each mineral is oxidized.

Key words. CPE-mineral, dissolution mechanisms, electrochemical techniques.

Introducción

Los sulfuros minerales son la principal fuente para la obtención de metales base. Estos sulfuros se encuentran en minas, donde un mineral puede estar en alta concentración respecto a otros minerales que pueden estar asociados a éstos. Durante la explotación de una mina, el proceso de flotación (proceso de beneficio) juega un papel determinante, ya que permite separar a los sulfuros metálicos (5%) de la ganga (95%).

Los procesos pirometalúrgicos han sido tradicionalmente empleados para el procesamiento de concentrados ricos en un metal, dado que estos procesos tienen eficiencias de recuperación del metal hasta de un 99%. Sin embargo, durante la combustión, estos procesos generan emisiones de SO_2 (gas) y de partículas sólidas suspendidas, haciéndolos poco amigables al medio ambiente. Una alternativa ecológica es la ruta hidrometalúrgica, donde el sulfuro es oxidado a azufre elemental o bien a especies más oxidadas; mientras que el catión metálico es disuelto en la solución acuosa para posteriormente ser recuperado.

Los procesos de disolución oxidativa de muchos minerales han presentado algunos problemas que han impedido su desarrollo con eficiencias satisfactorias. Por ejemplo, la disolución de esfalerita (ZnS) en medio ácido, empleando Fe(III) o bien O_2 (como oxidante), tiene cinéticas muy lentas, lo cual depende del contenido de hierro dentro de la estructura de esfalerita [1,2]. Para la galena (PbS), el azufre elemental y las sales insolubles de plomo, son las responsables de la pasiva-

ción [3]. Para la calcopirita (CuFeS_2), la formación de una película de sulfuro de cobre y hierro no estequiométrico, ha mostrado inhibir la disolución de este mineral [4-6].

Por lo antes mencionado, el entendimiento de las etapas iniciales de disolución de estos minerales puede ayudar a desarrollar procesos hidrometalúrgicos más eficientes. Estos estudios pueden ser conducidos a través de técnicas electroquímicas debido a que estas reacciones son de naturaleza electroquímica [1].

Las técnicas electroquímicas comúnmente empleadas para el estudio de minerales son la voltamperometría, cronoamperometría, cronopotenciometría, cronocoulombimetría, recientemente la redisolución anódica, y la combinación entre éstas. Para el estudio electroquímico de minerales, se pueden emplear cristales de mineral como electrodos de prueba. No obstante, las propiedades semiconductoras de los minerales, desfavorecen la distribución de potencial en el mineral y por lo tanto, pueden complicar su caracterización. Además, la reproducibilidad experimental sobre estos electrodos es difícil, dado que la renovación de la superficie para cada nueva experiencia es complicada. Los electrodos de pasta de carbono-mineral (CPE-mineral), como electrodos de prueba, han mostrado su conveniencia en el estudio de los mecanismos de disolución de minerales, debido a que estos electrodos compuestos permiten obtener buena reproducibilidad experimental; además de que la conductividad del CPE-mineral es favorecida respecto a los especímenes de minerales sólidos, empleados como electrodos de prueba [7-9].

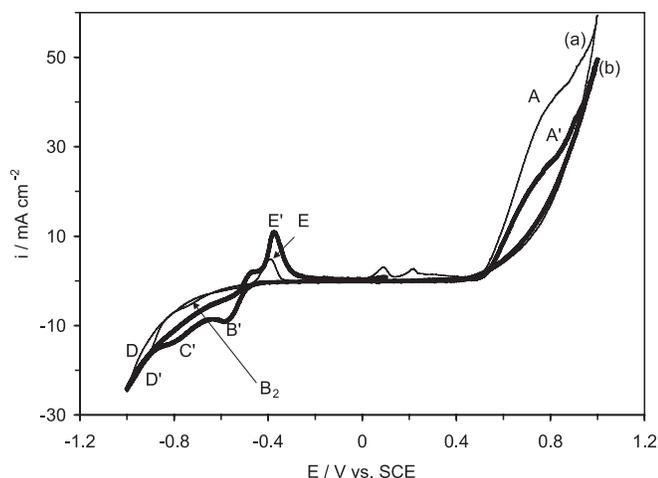


Fig. 1. Voltamperogramas típicos obtenidos sobre CPE-galena (80:20% peso) en 1.0 M HClO₄, ($v = 100 \text{ mV s}^{-1}$). El barrido de potencial fue iniciado en la dirección: (a) negativa y (b) positiva [10].

En esta revisión se muestra la conveniencia de emplear a las técnicas electroquímicas y a los CPE-mineral, como electrodos de prueba, para estudiar los mecanismos de disolución de diferentes minerales metálicos. La información presentada en este trabajo fue recopilada de las aportaciones desarrolladas por los grupos de electroquímica de la UAM-I en colaboración con el Instituto de Metalurgia de la UASLP y de la ESI-QIE (IPN). Las diferentes estrategias de estudio fueron aplicadas atendiendo la complejidad de cada mineral. En cada caso se discute la importancia de conocer el mecanismo de disolución. Los estudios que se presentan fueron sobre minerales base, altamente puros, provenientes de procesos de flotación como son galena (PbS), esfalerita (ZnS) y calcopirita (CuFeS₂). También se revisaron los mecanismos de otros minerales que generalmente se encuentran asociados, en bajas concentraciones a los minerales base, como son arsenopirita (FeAsS), rejalgar (As₂S₂), oropimente (As₂S₃), calcocita (CuS₂), bornita (Cu₃FeS₄), acantita (Ag₂S), aguilarita (Ag₄SeS). Finalmente, se revisó el mecanismo de un concentrado complejo de cinc (63.4% ZnS, 20.1% FeS₂, 5% CuFeS₂, 0.33% PbS, 0.45% tetrahedrita (Cu₁₂Sb₄S₁₃) y 0.4% FeAsS).

Los electrodos de referencia empleados para el estudio electroquímico de cada mineral en algunos casos fueron diferentes, ya que estos consideraron al electrolito y al mineral. Sin embargo, para hacer un estudio comparativo, en esta revisión, todos los potenciales son mostrados con respecto al electrodo de calomelanos (SCE, por sus siglas en inglés).

1. Estudio electroquímico de la galena

La galena (PbS) es el mineral más rico en plomo, y por lo tanto, la metalurgia extractiva se ha enfocado en este mineral,

para la extracción de plomo. Por otro lado, dentro de la estructura de la galena, también se encuentra plata y oro en muy bajas concentraciones como solución sólida, siendo la presencia de estos dos metales preciosos, quienes hacen más atractivo el procesamiento de estos concentrados. Las complicaciones en el procesamiento pirometalúrgico de galena, han llevado a la búsqueda de procesos limpios, siendo la ruta hidrometalúrgica la que ha recibido especial atención. No obstante, la disolución oxidativa de galena en medio de ácido clorhídrico, empleando Fe(III) y O₂, ha mostrado cinéticas lentas de disolución debido a la formación azufre elemental y de sales insolubles de plomo [3].

En esta revisión se muestra el mecanismo electroquímico de la galena y se presentan estudios de caracterización de las especies responsables de las cinéticas lentas de disolución de este mineral. Para discutir lo antes mencionado, se utilizó un artículo desarrollado por Nava y colaboradores [10], quienes emplearon CPE-galena en medio de ácido perclórico.

En la Figura 1a,b, se muestran dos voltamperogramas típicos obtenidos sobre un CPE-galena sin agitación de electrolito, cuyo barrido de potencial fue iniciado en dirección negativa y positiva, respectivamente, a partir del potencial de circuito abierto, OCP, (0.100 V). El intervalo de estudio se estableció de 1.0 a -1.0 V y la velocidad de barrido fue de 100 mV s⁻¹.

La comparación de los voltamperogramas mostrados en la Fig. 1(a)-(b), indicaron que los procesos (B') y (C'), están relacionados con los procesos oxidativos en (A'), mientras que (D) y (D') corresponden a la reducción de galena. Nava *et al.* [10], realizaron un amplio estudio voltamperométrico sobre CPE-galena variando los potenciales de inversión catódicos (E_{λ-}) y anódicos (E_{λ+}). A través de este estudio, asignaron las reacciones correspondientes a cada pico, que aparecen, en los voltamperogramas mostrados en la Fig. 1, de acuerdo con:

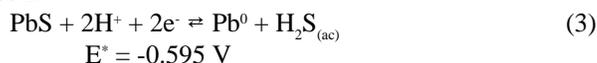
Proceso B₂:



El Pb²⁺ es originado por un proceso de disolución no oxidativa de galena:



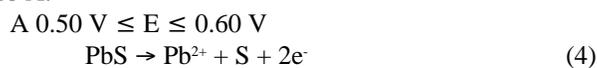
Proceso D:



Proceso E:

Inversa de ecuación (1)

Proceso A:



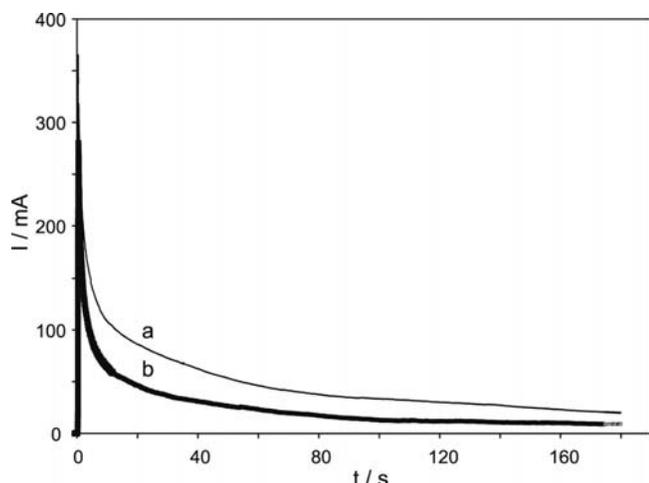
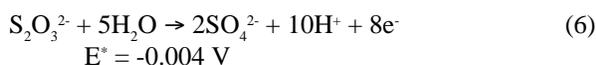
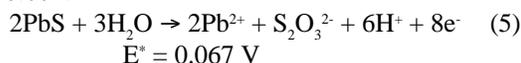


Fig. 2. Transientes típicos de corriente obtenidos sobre CPE-galena (80:20% peso) en 1.0 M HClO_4 . El potencial impuesto fue 0.58 V vs SCE: (a) sin agitación y (b) con agitación de electrolito [10].

$$E^* = -0.077 \text{ V}$$

$$A \ E > 0.60 \text{ V}$$



Proceso B':

Descrito por ecuación (1)

Proceso C':

Proceso de reducción de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ formado en (5).

Siendo E^* los potenciales de equilibrio calculados a través de la ecuación de Nernst a las condiciones experimentales propuestas [10]. Cabe mencionar que los potenciales requeridos para la oxidación de minerales son mucho mayores que los correspondientes potenciales de equilibrio [10]. Este hecho está asociado con las energías de activación muy altas de los procesos de oxidación electroquímica de los minerales.

Es importante mencionar que la electrodisolución de galena a través de la ecuación (4), aparece entre $0.50 \leq E \leq 0.60$ V, y que a $E > 0.60$ V la galena se oxida a $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, SO_4^{2-} y Pb(II). Con estas condiciones de potencial, Nava y colaboradores [10] realizaron estudios de oxidación de galena a través de pulsos de potencial (a potenciales de 0.58 y 0.62 mV) y después caracterizaron a las diferentes especies de azufre por voltamperometría cíclica.

En las Fig. 2 (a) y (b), se muestran dos cronoamperogramas realizados a potenciales de 0.58 V, sin y con agitación de electrolito, respectivamente. Estas curvas corriente-tiempo alcanzan su máximo a tiempos muy próximos al inicial; y posteriormente, presentan un decaimiento característico de la oxidación de especies sólidas en la interfase, este decaimiento es

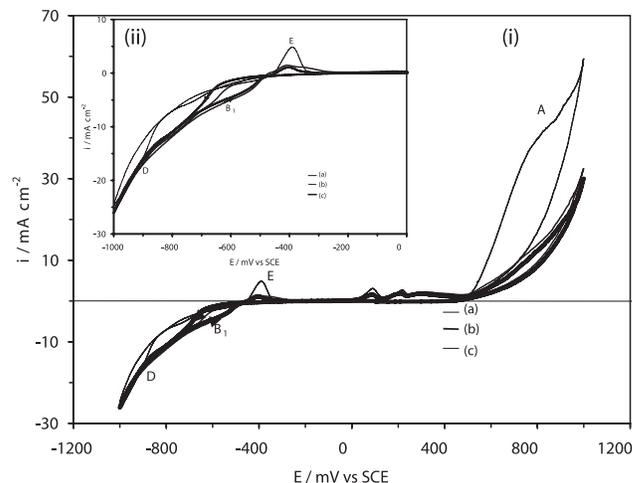
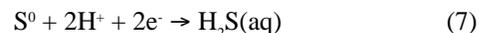


Fig. 3. Voltamperogramas típicos obtenidos sobre un CPE-galena (80:20% peso) modificado en 1.0 M HClO_4 ($v = 100 \text{ mV s}^{-1}$). El CPE-galena fue oxidado previamente a 0.58 V vs SCE a diferentes tiempos: (a) 0 s, galena fresca, (b) 60 s, (c) 180 s. Después de la electrolisis el electrodo fue enjuagado con agua desionizada y sumergido en electrolito recién preparado (1.0 M HClO_4), donde reposó 30 s antes del trazado del voltamperograma. El barrido de potencial fue iniciado en la dirección negativa. Todos los voltamperogramas fueron obtenidos sin agitación de electrolito. (ii) Es una ampliación de (i) [10].

más importante cuando electrolito es agitado, (Figura 2b). Nava *et al.* [10], discutieron que la presencia de iones plomo en la interfase, situación que se tiene en solución no agitada, hace que el azufre tenga más porosidad (favoreciendo la disolución de galena). Por otro lado, cuando se impuso un pulso de potencial de 0.62 V, (mostrados en Nava *et al.* [10]), también la corriente fue mayor sin agitación.

Además, estos mismos autores caracterizaron la superficie oxidada de CPE-galena (correspondientes a los presentados en la Figura 2). La caracterización fue llevada a cabo en electrolito fresco (1.0 M HClO_4).

En la Fig. 3, se muestran tres voltamperogramas cuyo barrido fue iniciado en la dirección negativa sin agitación de electrolito, dos de ellos trazados después de una oxidación previa a un $E = 0.58$ V (donde la reacción que ocurre es: $\text{PbS} \rightarrow \text{S} + \text{Pb}^{2+} + 2\text{e}^-$), durante 60 y 180 s, Fig. 3 (b)-(c). Estos voltamperogramas fueron comparados con uno trazado sobre galena fresca, Fig. 3 (a). En los voltamperogramas trazados a los dos diferentes tiempos de microelectrolisis, se detectó un proceso de reducción (B_1). Nava *et al.* [10] pusieron en evidencia que la reacción que ocurre en (B_1), la cual además presentó características de activación, corresponde a la reducción de azufre elemental de acuerdo con la ecuación:



Estudios similares de caracterización voltamperométrica después de la aplicación de un pulso de 0.62 V sobre el CPE-galena permitieron detectar especies de $\text{PbSO}_4(\text{s})$ sobre la superficie de galena.

De esta manera Nava et al. [10], discutieron que la presencia de azufre elemental y de $\text{PbSO}_{4(s)}$ son los responsables que la disolución de galena tenga cinéticas lentas, donde se observó que estas disminuían aún más cuando el ión plomo era removido de la interfase con la agitación.

2. Estudio electroquímico de la esfalerita

La esfalerita es el mineral más rico en cinc, y por lo tanto la metalurgia extractiva se ha enfocado en este sulfuro metálico para la extracción de cinc. Además, similar a la galena, la esfalerita también es atractiva por el oro y la plata que se encuentran como impurezas. Por otro lado, es importante mencionar que la esfalerita puede contener hierro como solución sólida (Zn, Fe)S, siendo este contenido de hierro el que determina si este mineral puede ser lixiviado. No obstante, las cinéticas de disolución oxidativa de esfalerita en medio de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, FeCl_3 , y O_2 a pH's ácidos, son muy lentas. Estas cinéticas lentas están asociadas a las propiedades semiconductoras de la esfalerita [1].

En esta revisión se muestra un estudio electroquímico realizado sobre dos muestras de esfalerita, un concentrado de flotación y una natural, con 12.3 y 0.43% peso Fe, respectivamente [12,13]. Los estudios fueron trazados en 1.0 M NaClO_4 a pH = 2, donde además, también se muestra la influencia de la adición de los iones cloruro.

2.1 Disolución anódica de esfalerita en medio de ácido perclórico

En la Fig. 4 se muestran dos voltamperogramas trazados en la dirección positiva a partir del OCP a 100 mV s^{-1} , sobre diferentes muestras de esfalerita [concentrado (Fig. 4a) y natural (Fig. 4b)].

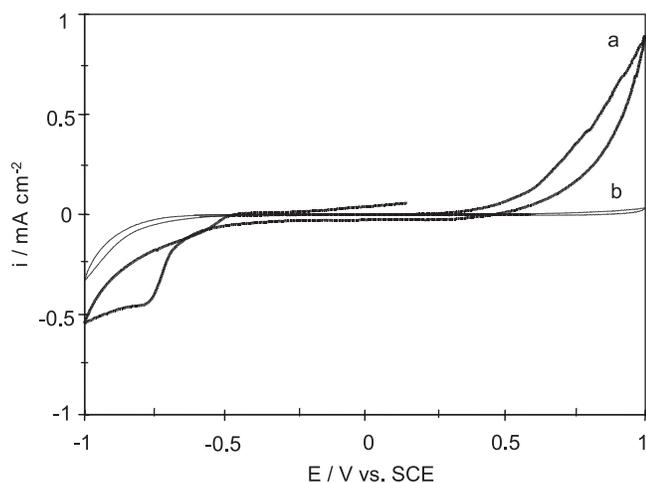


Fig. 4. Voltamperogramas cíclicos típicos obtenidos sobre CPE- con diferentes muestras de esfalerita (40:60 % peso) en 1.0 M NaClO_4 a pH= 2, ($v = 100 \text{ mV s}^{-1}$). El barrido de potencial fue iniciado en dirección positiva. (a) concentrado de esfalerita (13.8% Fe en solución sólida); (b) ZnS natural (0.43% Fe en solución sólida) [13].

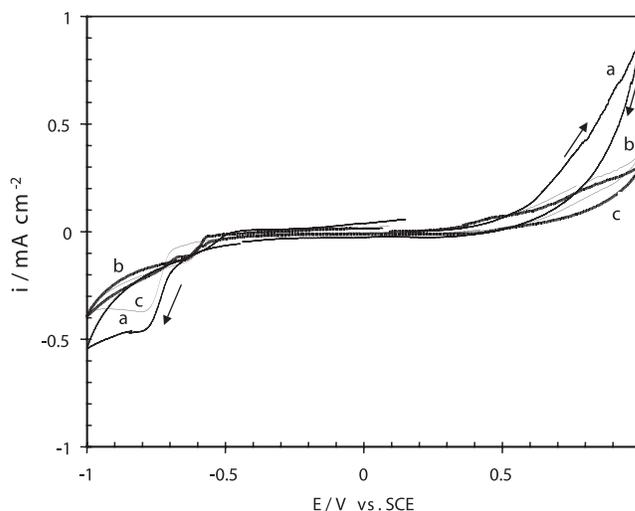
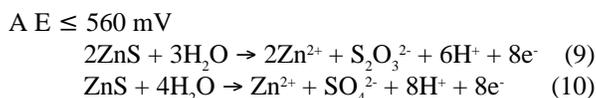


Fig. 5. Estudio voltamperométrico sobre CPE-concentrado de esfalerita (40:60 % peso) en diferentes medios: (a) 1 M NaClO_4 , (b) 1M NaCl y (c) 3 M NaCl. Barrido de potencial iniciado en la dirección positiva, a 100 mV s^{-1} [12].

Es importante mencionar que el concentrado de esfalerita presentó una mejor respuesta electroquímica respecto a la esfalerita natural (Fig. 4a-b). Esto se debe a que el contenido de Fe dentro de la estructura de esfalerita modifica la conductividad del mineral y por lo tanto, su cinética de electrodisolución. Estos resultados están de acuerdo con los reportados por Albergh y Asbjörnsson [9].

A través de un estudio voltamperométrico, cambiando los potenciales de inversión; y de un estudio cronamperométrico (mostrados en Cisneros-González [13]), este autor mostró las diferentes reacciones que toman lugar y que son dependientes del potencial:



Algunos autores han sugerido la posibilidad de llevar a cabo una disolución de esfalerita a través de una disolución oxidativa en presencia de cloruros; sin embargo, todavía existe controversia en identificar los fenómenos responsables de las cinéticas lentas de disolución. Por esta razón, a continuación se presenta un estudio electroquímico de esfalerita en presencia de cloruros.

2.2. Disolución anódica de esfalerita en medio ácido de percloratos: efecto de los iones cloruro

En la Fig. 5a-c se comparan los voltamperogramas típicos obtenidos para un CPE-esfalerita, en soluciones de 1M NaClO_4 , y en medio de 1 y 3 M NaCl, respectivamente. El

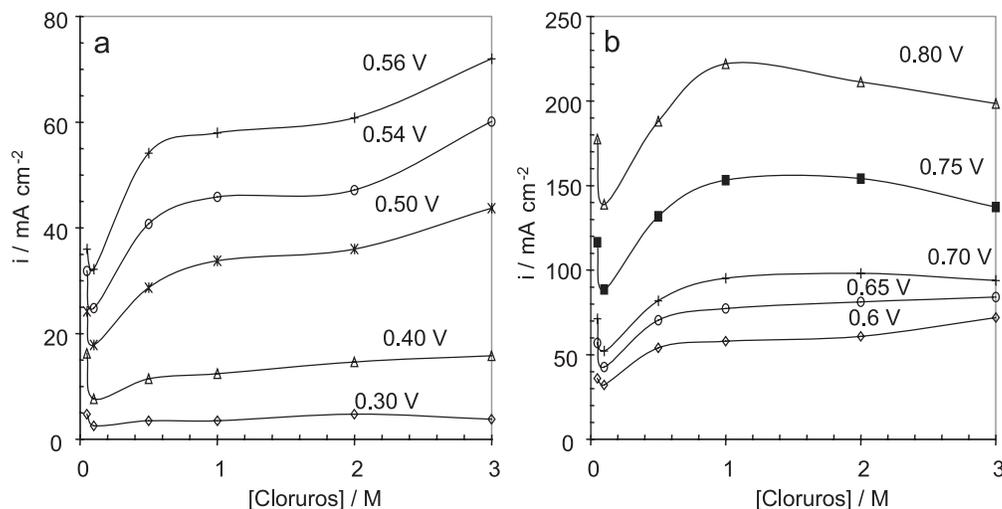


Fig. 6. Efecto de la concentración de cloruros en la corriente de disolución voltamperométrica de CPE-esfalerita (40:60% peso), a los diferentes potenciales marcados en la figura. Estos potenciales fueron seleccionados para las diferentes etapas de oxidación: a) cuando se produce azufre elemental, b) cuando se producen $S_2O_3^{2-}$ y SO_4^{2-} [13]. Las corrientes fueron evaluadas de los voltamperogramas similares a los mostrados en la figura 5.

barrido de potencial fue iniciado en la dirección positiva a 100 mV s⁻¹. En esta figura se observa que la carga asociada a la oxidación disminuye como función de la concentración de cloruros. Esta diferencia en los valores de las cargas de oxidación sugiere que durante la oxidación de la esfalerita en el medio de cloruros se modifica la interface pasivando la oxidación. Además, también se observa que el voltamperograma obtenido en soluciones de cloruros 3 M, (Fig. 5c), presenta un proceso de reducción distinto, no se observa la formación del pico C, característico de la reducción de especies químicas en solución, confirmando la modificación importante del proceso de oxidación en presencia de cloruros.

En la Fig. 6a-b se presentan las gráficas I vs. concentración de cloruros, obtenidas a partir de los valores de las densidades de corriente, evaluadas de voltamperometrías cíclicas, a un potencial fijo. En la Fig. 6a, se observa que a $E \leq 0.5$ V vs. SCE, el aumento en la concentración de cloruros, favorece la velocidad de disolución, esto coincide con lo informado en la literatura para la lixiviación química de esfalerita [2]. Sin embargo, a potenciales $E \geq 0.7$ V, Fig. 6b, la velocidad de disolución tiene otro comportamiento y aumenta hasta concentraciones ≤ 1 M y después tiende a disminuir.

De los resultados mostrados en la Fig. 6, se propone que la concentración de cloruros determina la velocidad de electro-oxidación dependiendo del potencial impuesto. A bajos potenciales ($E = 0.60$ V, donde se forma Zn(II) y S⁰, ecuación 8), el incremento de la velocidad de electro-oxidación es función de la concentración de cloruros; mientras que a $E > 0.60$ V, donde se forma Zn(II) y sulfato, este comportamiento se revierte. El hecho de que a $E = 0.60$ V, se favorezca la disolución de esfalerita pudiera estar asociado a que el ión cloruro le confiere mayor porosidad al azufre elemental. Además, en este dominio de potencial, las cinéticas lentas de electrodisolu-

ción no permiten tener altas concentraciones de cinc en la interfase, que pudieran formar sales insolubles de cinc. Por otro lado, las altas cinéticas de electrodisolución de esfalerita a $E \geq 0.60$ V, permiten la formación de precipitados de cloruro de cinc en la interfase. Estas observaciones podrían explicar las cinéticas lentas de disolución oxidativa de esfalerita informadas en la literatura [2]. Sin embargo, aún faltan estudios comparativos que permitan confirmar esta propuesta.

3. Estudio comparativo de la oxidación de galena y esfalerita

En esta sección se muestra un estudio comparativo entre la esfalerita y la galena, en medio de ácido perclórico [13].

En la Fig. 7a-b, se comparan los voltamperogramas obtenidos para galena y esfalerita en medio de percloratos a pH = 2, respectivamente. En esta figura se observa, que el proceso de oxidación de los minerales comienza en potenciales muy cercanos entre ambos minerales. No obstante, que la composición CPE-galena (80:20% peso) es menor que la de CPE-esfalerita (40:60% peso), la galena presenta una reactividad mayor que la esfalerita, dado que alcanza densidades de corrientes mayores. Al continuar el barrido de potencial, hacia la región catódica, se observa claramente, la diferencia en los procesos de reducción.

En la Fig. 8, se compara la carga asociada a los procesos de disolución anódica de la galena y la esfalerita en función del potencial, obtenidas de los voltamperogramas correspondientes, en soluciones sin agitar. En esta Fig. 8, se observa que las cargas de oxidación para los dos minerales, son muy cercanas hasta 0.6 V, es decir, que sin importar el catión metálico que se encuentre en la estructura, la oxidación del mineral a

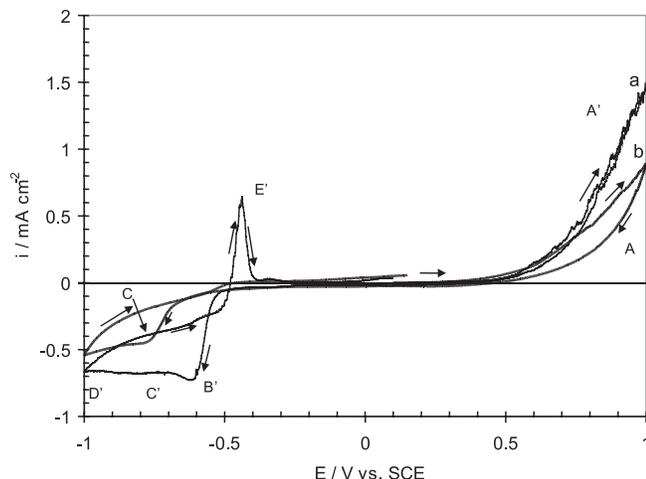


Fig. 7. Comparación de los voltamperogramas de (a) CPE-galena (80:20% peso) (línea delgada), con el voltamperograma correspondiente de (b) CPE-esfalerita (40:60% peso) (línea gruesa), en 1 M NaClO_4 , pH = 2. El barrido se inició en dirección positiva, a 100 mV s^{-1} [12].

azufre elemental, ocurre a los mismos potenciales en ambos minerales. Sin embargo, la velocidad de oxidación involucrada es mayor para la galena (Fig. 8a) que para la esfalerita (Fig. 8b).

El hecho de que las cinéticas de disolución sean mayores para la galena respecto a la esfalerita es debida a que la galena es un mineral con propiedades semiconductoras del tipo p (fácil de oxidar) [12, 13], mientras que la esfalerita es un semiconductor del tipo n, razón por la cual este mineral es considerado como un aislante [9, 12]. Esto último hace que los trabajos electroquímicos reportados para este mineral sean muy escasos. Es importante mencionar que el empleo de los CPE-esfalerita permitió hacer estudios de caracterización de este mineral, algo que en electrodos sólidos sería difícil.

4. Estudio electroquímico de la arsenopirita (FeAsS), rejalgar (As_2S_2) y oropimente (As_2S_3) en el medio ácido de cultivo empleado en sistemas de biolixiviación

La arsenopirita (FeAsS) es un mineral que contiene oro dentro de su estructura. Por lo tanto, han sido conducidos diversos estudios sobre la oxidación de este mineral. Un caso en particular es la biolixiviación de arsenopirita, empleando una bacteria acidofílica autotrófica (*Thiobacillus ferrooxidans*) [14]. Sin embargo, este tipo de procesos biológicos han mostrado ser poco eficientes. En esta revisión, se discutirá la oxidación de FeAsS , en el medio de cultivo ácido, en ausencia de *Th. ferrooxidans*, debido a que se sabe que en este medio (M2), la arsenopirita se oxida en ausencia de la bacteria [14]. Los detalles de la composición del medio (M2) están en el artículo publicado por Cruz *et al.* [14].

En algunos trabajos se ha informado que durante la oxidación de arsenopirita se forman rejalgar (As_2S_2) y oropimente (As_2S_3). Por lo tanto, en esta revisión, se hace un resumen por separado de ambos minerales, previo al estudio de la arsenopirita, con el propósito de obtener información que facilite el entendimiento de la oxidación química de la arsenopirita en el medio de cultivo (M2).

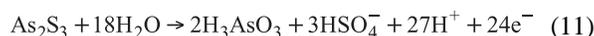
4.1 Estudio electroquímico de oropimente (As_2S_3) en el medio de cultivo (M2) en ausencia de *Thiobacillus ferrooxidans*

Considerando que el rejalgar puede oxidarse a oropimente, Lázaro *et al.* [15], decidieron estudiar primero al As_2S_3 , a fin de facilitar el análisis de los resultados obtenidos posteriormente para As_2S_2 .

En la Fig. 9, se muestran dos voltamperogramas típicos sobre CPE- As_2S_3 en (M2). El barrido de potencial se inició en dirección anódica (Fig. 9a) y catódica (Fig. 9b), a una velocidad de barrido de 20 mV s^{-1} . La comparación de ambos voltamperogramas indicaron que los procesos (C4) y (C5) corresponden a la reducción de los productos de oxidación formados en (A3). Es importante mencionar que cuando el barrido fue iniciado catódicamente, el proceso (C5) fue menos definido, y además el pico (A4) fue más amplio que (A3).

Lázaro *et al.* [15], proponen el siguiente mecanismo:

Proceso (A3)



seguido de la oxidación del ácido arsenioso (H_3AsO_3) a ácido arsénico (H_3AsO_4)

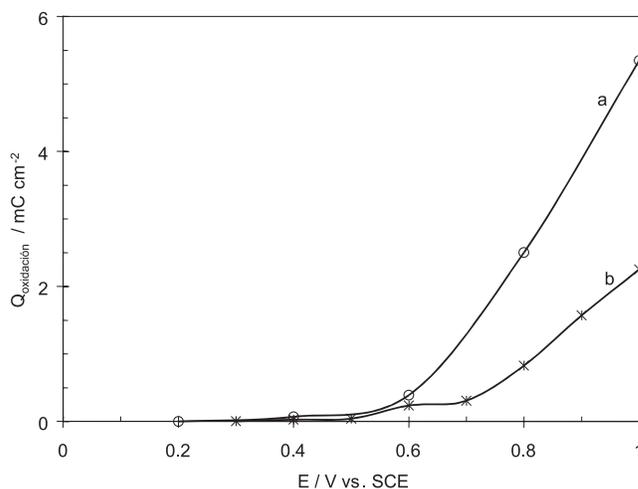


Fig. 8. Variación de la carga Q de oxidación voltamperométrica en función del potencial de anódico inversión, en 1 M NaClO_4 . (a) CPE-galena (80:20% peso) y (b) CPE-esfalerita (40:60% peso) [12].

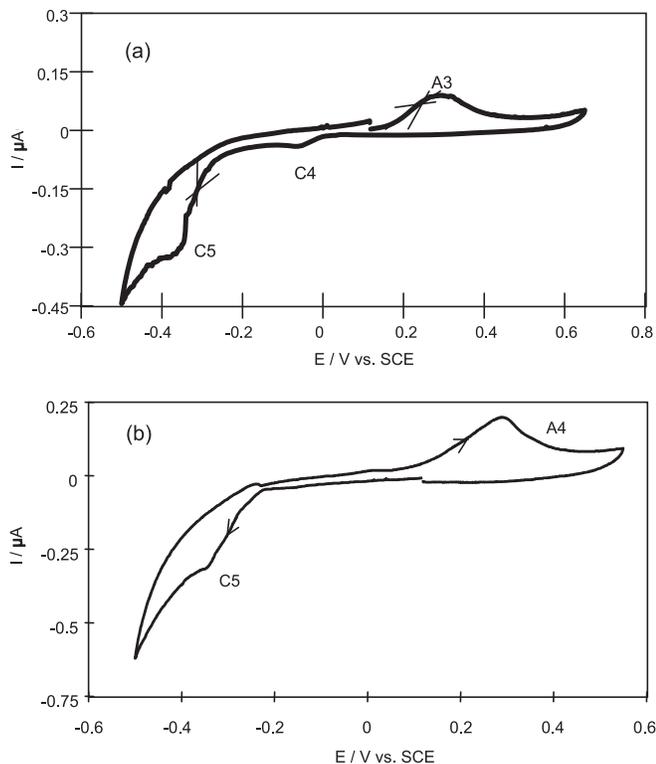


Fig. 9. Voltamperogramas típicos de CPE-As₂S₃ (50:50 % peso), en el medio de cultivo M2, ($\nu = 20 \text{ mV s}^{-1}$). Barrido de potencial iniciado en dirección: (a) anódica y (b) catódica [15].

Proceso (A4): asociado con la oxidación de rejalgar (As₂S₂) formado durante la reducción del oropimente (esta reacción es discutida en la siguiente sección).

Proceso (C4):

Reacción inversa de ecuación (12)

Proceso (C5):

Corresponde a la reducción de oropimente en dos etapas:



4.2. Estudio electroquímico de rejalgar (As₂S₂) en el medio de cultivo (M2) en ausencia de *Thiobacillus ferrooxidans*

Lázaro *et al.* [15] tomaron en consideración los resultados obtenidos para oropimente, que les permitieron abordar con mayor facilidad el estudio de rejalgar en el medio (M2).

En la Fig. 10 se presentan dos voltamperogramas similares a los mostrados en la Fig. 9, sólo que ahora sobre CPE-rejalgar. La comparación de ambos voltamperogramas permitieron observar que los procesos en (C4I) y (C5I) corresponden a la reducción de las especies formadas en el barrido

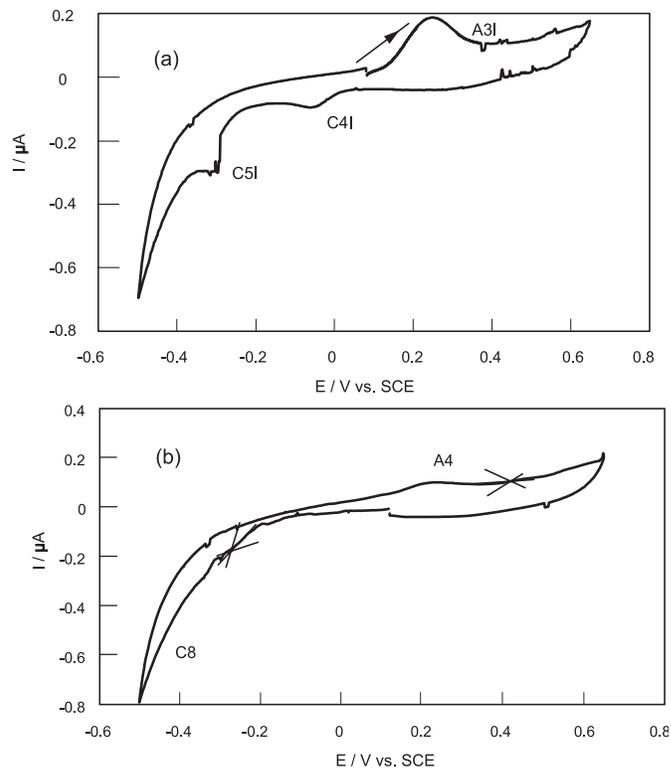
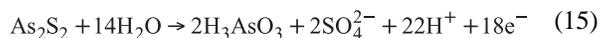


Fig. 10. Voltamperogramas típicos de CPE-As₂S₂ (50:50 % peso), en el medio de cultivo M2 a pH 1.8, ($\nu = 20 \text{ mV s}^{-1}$). Barrido de potencial iniciado en dirección: (a) anódica y (b) catódica [15].

directo (A3I). Mientras que el proceso (C8) corresponde a la reducción del rejalgar. Las reacciones asociadas con los procesos descritos, en los voltamperograma de la Fig. 10, fueron discutidos de la siguiente manera [15]:

Procesos en (A3I):

Corresponden a la oxidación del rejalgar



y a la ya discutida oxidación del ácido arsenioso (H₃AsO₃) a ácido arsénico (H₃AsO₄), ecuación (12).

Proceso (C4I):

Reducción del ácido arsénico, inversa de Ecuación (12)

Proceso (C5I):

Reducción directa de rejalgar, ecuación (14)

Los resultados obtenidos para el voltamperograma anódico de rejalgar (Fig. 10a), son muy parecidos a los obtenidos para el oropimente (Fig. 9a). Este hecho puede estar asociado a que los potenciales termodinámicos para ambos minerales, están muy cercanos.

Los resultados discutidos por Lázaro *et al.* [15], sugieren que el rejalgar se oxida en dos etapas, la primera a ácido arse-

nioso (H_3AsO_3) y la segunda, es la oxidación del ácido arsenioso, en la interfase, a ácido arsénico (H_3AsO_4). Estos productos fueron los mismos que los obtenidos en la oxidación del oropimente. Por el contrario, los productos de reducción del As_2S_2 , fueron As^0 y $\text{H}_2\text{S}_{(\text{ac})}$. Mientras que la reducción de As_2S_3 sucedió en dos etapas: la reducción de As_2S_3 a As_2S_2 seguida de la reducción de As_2S_2 a As^0 y $\text{H}_2\text{S}_{(\text{ac})}$.

El estudio electroquímico de rejalgar y oropimente en medio ácido permitió conocer el mecanismo electroquímico para ambos minerales, los cuales fueron de gran utilidad para el estudio del mecanismo de arsenopirita, en el medio de cultivo (M2) que se discute a continuación.

4.3 Estudio electroquímico de arsenopirita (FeAsS) en el medio de cultivo (M2) en ausencia de *Thiobacillus ferrooxidans*

Una vez caracterizado el comportamiento electroquímico de rejalgar y oropimente, se procedió a realizar experimentos conducentes para encontrar el mecanismo de oxidación de arsenopirita en el medio de cultivo (M2).

En la Fig. 11 son mostrados dos voltamperogramas trazados sobre CPE-FeAsS en la dirección positiva (Fig. 11a) y negativa (Fig. 11b), a una velocidad de barrido de 20 mV s^{-1} . La comparación de los voltamperogramas de la Fig. 11, no se

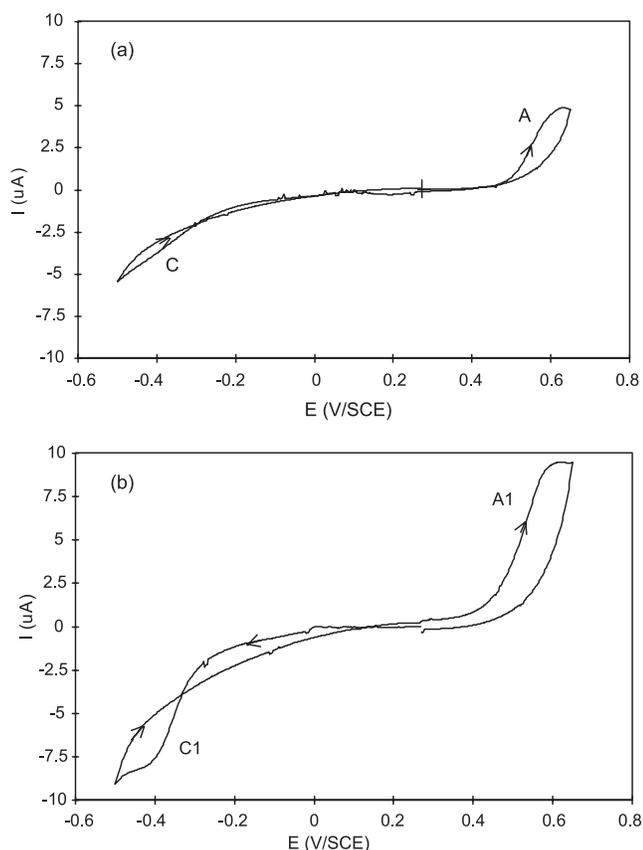


Fig. 11. Voltamperogramas típicos de CPE-FeAsS (50:50 % peso), en el medio de cultivo M2 a pH 1.8, ($\nu = 20 \text{ mV s}^{-1}$). Barrido de potencial iniciado en dirección: (a) anódica y (b) catódica [14].

parecen a los obtenidos sobre oropimente y rejalgar, (Figs. 9 y 10), respectivamente. Sin embargo, Lázaro *et al.* [16], desarrollaron un estudio voltamperométrico comparativo sobre As_2S_2 y FeAsS en el medio (M2) en presencia de Fe(II), donde encontraron respuestas electroquímicas similares. Esto puso en evidencia que la FeAsS se oxida espontáneamente en el medio (M2) a As_2S_2 y Fe(II) a las condiciones de $\text{pH} = 1.8$. Estos resultados fueron de utilidad para entender la poca eficiencia de los procesos de biolixiviación de arsenopirita; a continuación se discute esto último.

4.4. Interacción electrostática de la Arsenopirita y del *Thiobacillus ferrooxidans* en el medio de cultivo ácido (M2)

La oxidación biológica de arsenopirita, utilizando *Th. ferrooxidans*, ha sido extensivamente empleada como herramienta científica para optimizar la recuperación de oro a partir de minerales refractarios; y también, para prevenir el control de la contaminación del drenaje de roca ácido. No obstante, de la cantidad de trabajos desarrollados, el entendimiento acerca de los mecanismos que ocurren durante la oxidación biológica de este mineral es escaso. Por lo que se requiere de un estudio que permita entender la interacción bacteria/mineral/solución.

En trabajos recientes, se ha demostrado que la adhesión de la bacteria a la superficie del mineral no sólo depende de las propiedades bioquímicas del microorganismo, sino que además, depende de las propiedades fisicoquímicas de las interfases bacteria/mineral/solución [16]. Por lo tanto, una de las propiedades más importantes a ser considerada es la interacción electrostática.

En esta recopilación se discute acerca de la interacción electrostática entre las interfases bacteria/solución y mineral/solución. Lázaro *et al.* [16] y Cruz *et al.* [17], abordaron este estudio a través de la movilidad electroforética, como un indicador del estado electrostático de cada interfase.

En la Fig. 12, se discute la movilidad electroforética del *Th. ferrooxidans* y de la arsenopirita en el medio de cultivo (M2) como función del pH. Se observó que las *Th. ferrooxidans* en el medio (M2), exhibieron muy poca movilidad electroforética aún a $\text{pH} > 2.5$. Además, la superficie de la bacteria siempre tuvo una carga negativa, en el intervalo de pH estudiado. La arsenopirita y la bacteria presentaron un punto isoelectrónico a un $\text{pH} > 2.5$. Los resultados obtenidos a través de la movilidad electroforética para la arsenopirita y bacteria en el medio de cultivo (M2), sugieren que a $\text{pH} < 2.5$ existe una interacción electrostática entre ambos, bacteria-mineral. De esta manera, a las condiciones de $\text{pH} = 1.8$ (condiciones óptimas del medio (M2)), la adhesión de la bacteria a la arsenopirita debería ser favorecida, por una interacción electrostática. Sin embargo, experimentos obtenidos sobre FeAsS con *Th. ferrooxidans* en el medio (M2), presentaron cinéticas de disolución del mineral muy lentas, indicando la poca eficiencia en la adhesión de la bacteria, sobre la superficie del mineral. En otras comunicaciones, Lázaro *et al.* [18], y Cruz *et al.* [14], informaron que la oxidación espontánea de FeAsS a As_2S_2 y

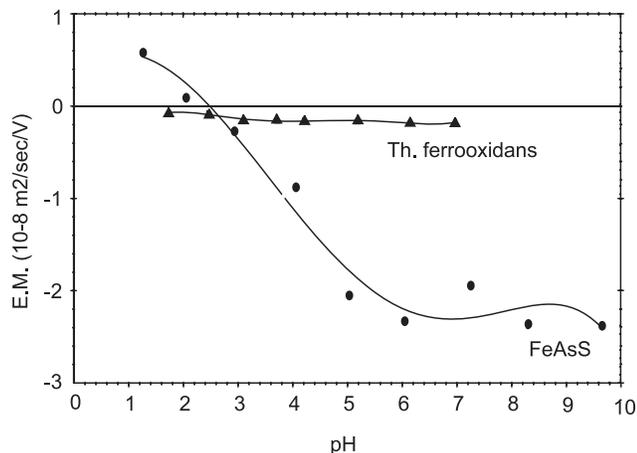


Fig. 12. Movilidad electroforética de thiobacillus ferrooxidans y arsenopirita como función del pH en el medio (M2) a pH 1.8 [16, 17].

Fe(II), en el medio de cultivo (M2), es la responsable de la poca eficiencia del proceso de biolixiviación, debido a que la adhesión de la bacteria (*Th. ferrooxidans*), es poco eficiente. Además, explicaron lo anterior por dos razones: la primera, por que no existe interacción electrostática entre el rejalgar y la bacteria; y la segunda, porque la bacteria se alimenta del Fe (II) en el seno de la solución, desfavoreciendo la adhesión del *Th. ferrooxidans*, sobre la superficie del mineral.

Considerando esto último, Lázaro *et al.* [16] desarrollaron un reactor dividido (propiedad de Servicios Industriales Peñoles S. A. de C. V.), donde en uno de los compartimentos la FeAsS (en el medio (M2) y Fe(III)/Fe(II), en ausencia de *Th. ferrooxidans*), se oxida hasta As^{III} , SO_4^{2-} y Fe(II); mientras que en el otro lado del reactor, el Fe(II) (liberado por la oxidación arsenopirita y por la reducción del oxidante), es oxidado nuevamente a Fe(III) por medio de *Th. ferrooxidans* en el medio (M2).

A través del estudio sistemático empleando técnicas electroquímicas comunes, aunado al empleo de los CPE-mineral, como electrodos de prueba, fue posible innovar un desarrollo tecnológico para la lixiviación de arsenopirita. De esta manera, se pone en evidencia la potencialidad de llevar a cabo estudios fundamentales a través de las metodologías que en esta revisión se han presentado.

5. Estudio comparativo del comportamiento electroquímico de calcopirita, calcocita y bornita en ácido sulfúrico

La calcopirita (CuFeS_2) es el mineral más abundante de cobre y por lo tanto, la fuente más importante para la extracción de este metal. Tradicionalmente, la recuperación de cobre ha sido llevada a cabo usando procesos pirometalúrgicos. Recientemente se ha buscado desarrollar procesos hidrometalúrgicos que eviten la producción de $\text{SO}_2(\text{g})$. El ácido sulfúrico

es la alternativa más simple y por lo tanto, diversos estudios de disolución oxidativa (empleando Fe(III) y O_2), han sido conducidos en este medio. Sin embargo, la formación de una película de $\text{Cu}_{1-x}\text{Fe}_y\text{S}_{2-z}$, o bien de azufre elemental, hacen que el proceso de lixiviación sea lento. Por lo tanto, algunos investigadores han buscado una ruta alternativa donde la CuFeS_2 es reducida a Cu_2S , empleando Cu(II) y Fe(II); y el Fe(III) (producido en la reducción de calcopirita), oxida a la calcocita hasta S^0 y Cu(II) [4]. Sin embargo, la discusión acerca del mecanismo de reducción de la calcopirita es escasa. Por ejemplo, Biegler y Horne [5], Warren *et al.* [19], han indicado que la reducción de calcopirita forma bornita (como intermediario), antes de la formación de calcocita. De esta manera, en esta revisión se muestra un resumen del estudio electroquímico, desarrollado por Arce y González [20], sobre calcocita y bornita en soluciones de ácido sulfúrico, con el propósito de identificar a los posibles intermediarios durante la reducción y oxidación de calcopirita.

5.1 Estudio voltamperométrico de la calcocita

En la Fig. 13, se muestran dos voltamperogramas obtenidos sobre CPE-calcocita (80:20 % peso), en 1.0 M H_2SO_4 . El barrido de potencial fue iniciado en la dirección positiva y negativa (Fig. 13a,b), respectivamente. La velocidad de barrido fue de 20 mV s^{-1} .

Las reacciones involucradas durante la oxidación de la calcocita cuando el barrido de potencial fue iniciado en la dirección positiva (procesos en **a1**), fueron dependientes del potencial [20], las cuales se resumen a continuación:

Procesos a_1 :

A $E \leq 0.200 \text{ V}$, la calcocita se oxida a djurlita ($\text{Cu}_{1.92}\text{S}$)

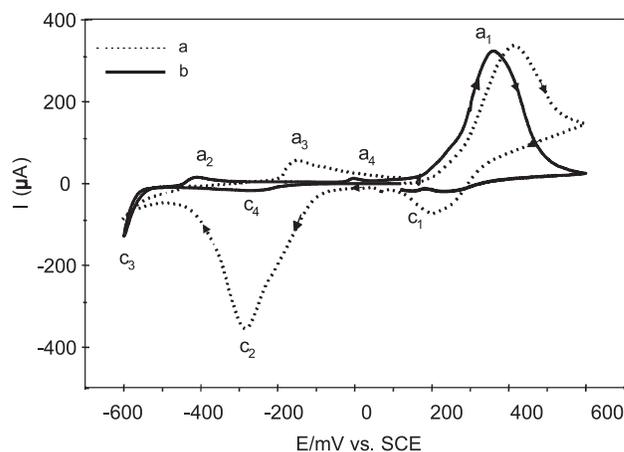
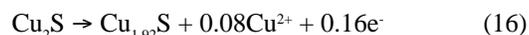


Fig. 13. Voltamperogramas típicos obtenidos sobre CPE-calcocita (80:20% peso) en 1.0 M H_2SO_4 , ($v = 20 \text{ mV s}^{-1}$). El barrido de potencial fue iniciado en dirección: (a) positiva y (b) negativa [20].

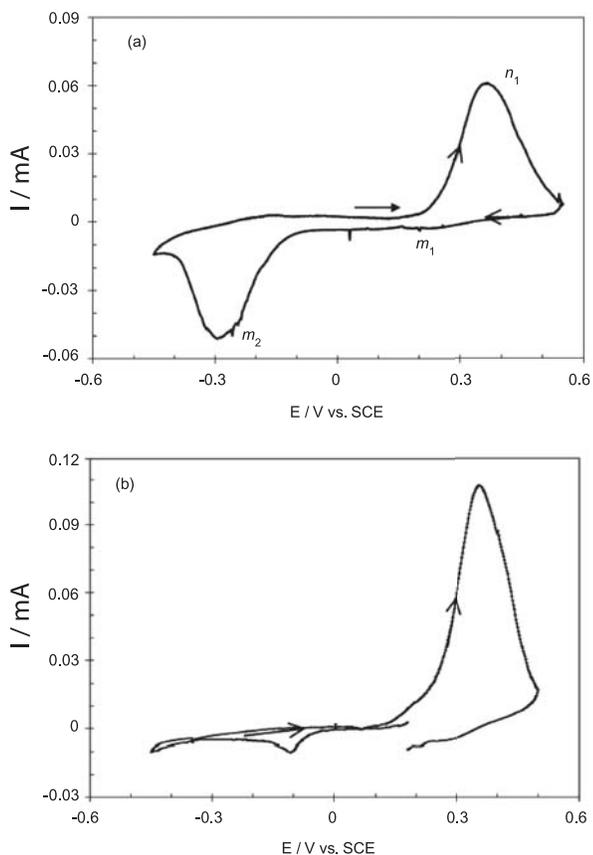
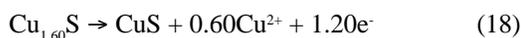


Fig. 14. Voltamperogramas típicos obtenidos sobre CPE-bornita (80:20% peso) en 1.0 M H_2SO_4 , ($\nu = 20 \text{ mV s}^{-1}$). El barrido de potencial fue iniciado en dirección: (a) positiva y (b) negativa [20].

A $0.200 \leq E \leq 0.350 \text{ V}$, la djurlita se oxida a digenita ($\text{Cu}_{1.60}\text{S}$)



A $E \geq 0.350 \text{ V}$, la digenita es oxidada a covelita (CuS)

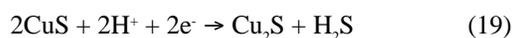


Mientras que las reacciones asociadas con la reducción de los productos formados anódicamente (cuando el barrido fue iniciado positivamente), son:

Proceso c_1 :

Inversa de ecuación (17)

Proceso c_2 : reducción de covelita a calcocita



Los procesos catódicos asociados a la reducción de calcocita (cuando el barrido de potencial fue iniciado catódicamente), son:

Proceso c_4 : la digenita formada a OCP es reducida a djurlita

Inversa de ecuación (17)

Proceso c_3 :



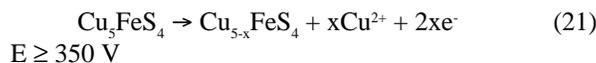
En resumen, se observó que la oxidación de calcocita forma diferentes intermediarios antes de llegar a covelita. A continuación se muestra un estudio similar al de calcocita, pero ahora sobre bornita, (Cu_5FeS_4).

5.2. Estudio voltamperométrico de la bornita (Cu_5FeS_4)

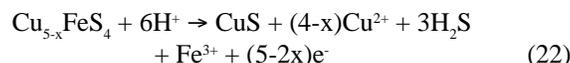
En la Fig. 14a-b se muestran dos voltamperogramas obtenidos sobre CPE-bornita (80:20% peso) en 1.0 M H_2SO_4 , cuando el barrido de potencial inició en la dirección positiva y negativa, respectivamente.

La comparación de los voltamperogramas mostrados en las Fig. 14 permitieron distinguir que los procesos asociados a, m_2 y m_1 , corresponden a los productos de oxidación formados en el barrido anódico, proceso (n_1). La identificación apropiada de los procesos mostrados en la Fig. 14, fue discutida a detalle por Arce y González [20], tomando esta discusión, a continuación se describen los procesos que toman lugar durante la oxidación de la bornita:

Proceso n_1 : $E \text{ 0.250} \leq E \leq 350 \text{ V}$



$E \geq 350 \text{ V}$

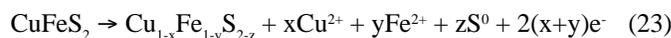


Mientras que el proceso catódico m_2 , corresponde a la reducción de covelita a calcocita, (ecuación 19).

5.3 Estudio voltamperométrico de la calcopirita

En las Figs. 15 y 16 se muestran algunos voltamperogramas trazados sobre CPE-calcopirita, cuyo barrido de potencial fue iniciado en la dirección positiva y negativa, respectivamente. La velocidad de barrido fue de 30 mV s^{-1} , en 1.0 M H_2SO_4 [7, 20].

En los voltamperogramas mostrados en la Fig. 15, se muestra el efecto del límite de potencial catódico ($E_{\lambda-}$), sobre el proceso de oxidación (y_1). Es importante mencionar que a medida que el límite catódico es incrementado, el pico (y_1) en el barrido inverso, se hace más ancho. Además, es importante hacer notar que el proceso (x_1), está desplazado aproximadamente 60 mV del proceso (y_1). Lázaro *et al.* [7] y Arce y González [20], proponen que la oxidación de calcopirita forma un sulfuro cobre y hierro no estequiométrico:



Mientras que el proceso (x_1), corresponde a la reducción de este sulfuro no estequiométrico (inversa de ecuación 23).

Por otro lado, la reducción de calcopirita ocurre a través de los procesos (x_2) y (x_3) (Fig. 16). El producto final después de haber alcanzado el proceso en (x_3), presenta un pre-pico (y_2) que antecede al proceso (y_1), (Fig. 16). Este proceso (y_2) presenta un comportamiento similar al mostrado durante la oxidación de calcocita, (Fig. 13a). De esta manera, Arce y González [20] informaron que la reducción de calcopirita forma calcocita y no bornita como ha sido reportado por otros investigadores [5, 19].

A través del estudio voltamperométrico trazado por Arce y González [20] fue posible establecer que la reducción de calcopirita, produce calcocita y no bornita. Además, estos mismos autores mostraron que la oxidación de calcopirita forma un sulfuro de cobre y hierro no estequiométrico ($\text{Cu}_{1-x}\text{Fe}_{1-y}\text{S}_{2-z}$), y no covelita como también había sido informado por otro autores.

Los resultados experimentales mostrados por Arce y González [20] corroboran el mecanismo propuesto por Hiroyoshi *et al.* [4], quienes propusieron un mecanismo para la recuperación de cobre empleando Cu (II) y Fe (II), como agentes reductores. Estos autores sugieren que la CuFeS_2 se reduce a Cu_2S , mientras que el Fe (III), producido en la reducción de calcopirita puede oxidar a la calcocita hasta S^0 y Cu (II). De esta manera, Arce y González [20] corroboran que el mecanismo propuesto Hiroyoshi *et al.* [4] es atinado. Además, es importante mencionar que la recuperación de cobre por esta ruta es muy prometedora.

6. Estudio electroquímico de diferentes minerales de plata

La extracción de plata a partir de minerales ha sido conducida (en los últimos 100 años), a través del empleo de oxígeno en presencia de cianuro a pH's alcalinos [21]. Sin embargo, existen todavía muchas dudas acerca de los mecanismos involucrados durante la lixiviación de minerales que contienen plata. La investigación de tales mecanismos ha sido desarrollada por la ruta química y electroquímica. No obstante, se ha discutido poco, a propósito de las diferencias que existen entre minerales de diferentes orígenes, donde la plata puede estar contenida en diferentes fases (diferentes soluciones sólidas). En esta revisión se resume un estudio electroquímico sobre dos muestras de minerales que contienen plata de diferentes orígenes (Las Torres y Real del Monte), y se discute por qué las diferentes fases de plata son refractarias a la lixiviación por cianuración [22].

En la Tabla I [22], se muestra el contenido de los metales presentes en 4 diferentes minerales (Las Torres, Real del Monte, Fresnillo y Echo Bay). Es importante mencionar que las dos muestras de interés en esta revisión son Las Torres y Real del Monte. El contenido de plata en Las Torres es muy similar a Real del Monte, pero el contenido de hierro en Las Torres es mucho mayor que en Real del Monte. Estudios de

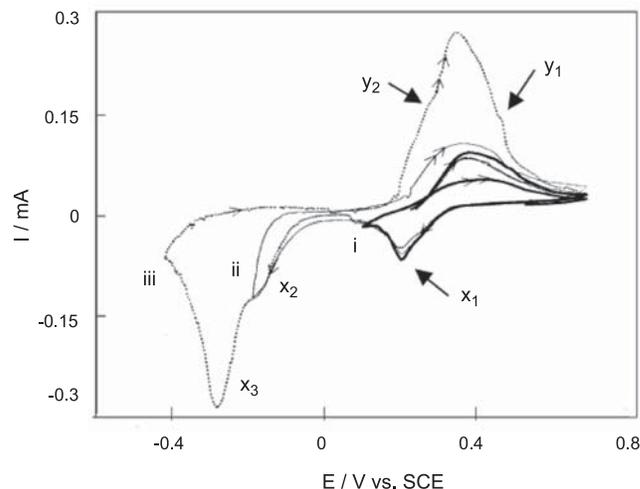


Fig. 15. Voltamperogramas típicos obtenidos sobre CPE-calcopirita (80:20% peso) en 2.0 M H_2SO_4 ($\nu = 30 \text{ mV s}^{-1}$). El barrido de potencial fue iniciado en dirección positiva a partir del potencial de circuito abierto de 0.200 V, hasta $E_{\lambda+} 0.7 \text{ V}$ vs SCE, después el barrido de potencial se invirtió hasta $E_{\lambda-}$, y el potencial fue invertido nuevamente hasta $E_{\lambda+} 0.7 \text{ V}$. En esta Figura se muestran, dos ciclos voltamperométricos: una flecha indica el primer ciclo, dos flechas el segundo. Los $E_{\lambda-}$ fueron modificados: (i) 0.1, (ii) -0.2 y (iii) -0.42 V [7, 20].

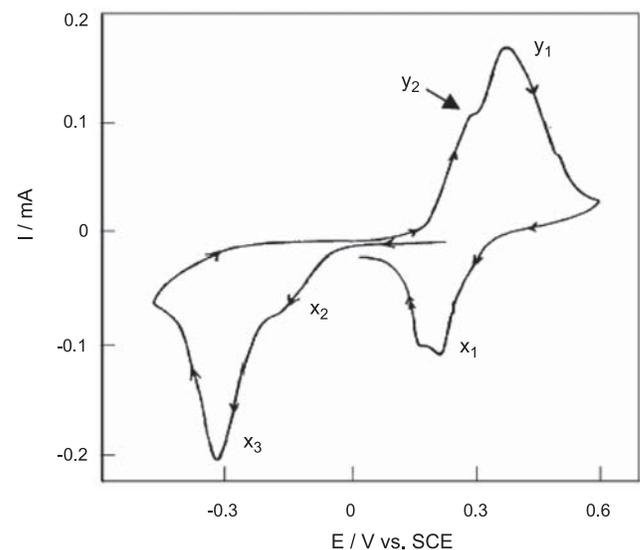


Fig. 16. Voltamperogramas típicos obtenidos sobre CPE-calcopirita (80:20% peso) en 2.0 M H_2SO_4 ($\nu = 30 \text{ mV s}^{-1}$). El barrido de potencial fue iniciado en dirección negativa [7, 20].

SEM-EDX, mostraron una gran diferencia en las fases de plata entre Real del Monte y Las Torres. Para el concentrado de Real del Monte, sólo se observó acantita (Ag_2S). En el caso de Las Torres, las fases de plata encontradas fueron cuatro (aguilarita (Ag_4SeS) 80.4%, freibergita ($\text{Cu, Ag, Zn, Fe}_{12}\text{Sb}_{13}$) 4.3%, polibasita ($9\text{Ag}_2\text{S.Sb}_2\text{S}_3$) 3.9% y hessita (Ag_2Te) 1.4% en abundancia relativa). Dado que los dos concentrados en estudio (Real del Monte y Las Torres), contienen plata en diferentes fases minerales, y pirita en diferentes canti-

Tabla I. Porcentaje de metal (%) presente en cada concentrado y mineral de plata [22].

Metal	Las Torres	Real del Monte ²⁴	Fresnillo	Echo Bay
Plata	1.23	1.20	n.a	86.27
Cobre	0.93	0.27	0.62	0.87
Plomo	0.47	0.92	n.a	0.0
Hierro**	37.95	21.40	47.80	2.54
Zinc	0.66	0.47	n.a	0.0
Oro	80.80*	7.25*	n.a	0.0

* g Au/ton mineral; n.a no analizada. ** El hierro se encuentra en forma de pirita.

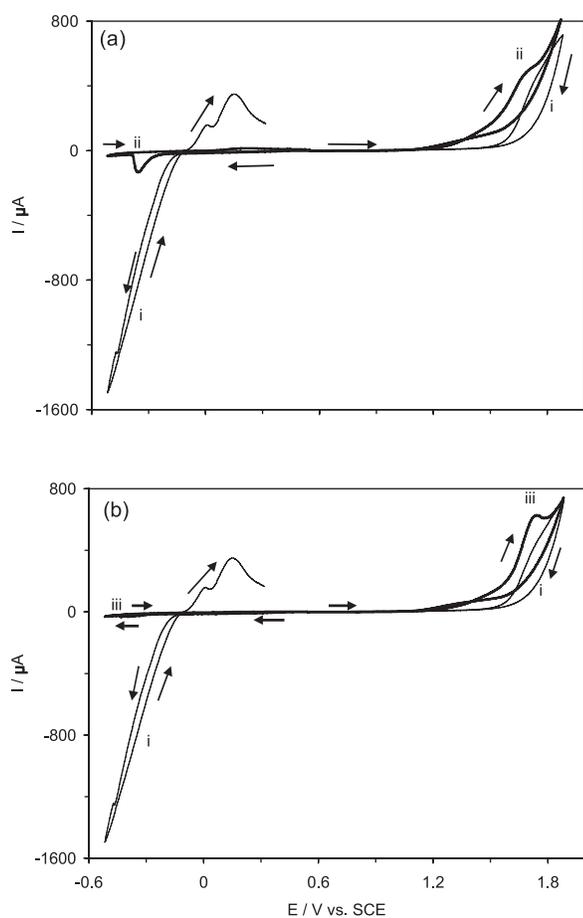


Fig. 17. Voltamperogramas típicos obtenidos sobre CPE-mineral (70:30% peso) en 0.3 M NaCN a pH = 10.60, ($\nu = 25 \text{ mV s}^{-1}$). El barrido de potencial fue iniciado en la dirección positiva a partir del potencial de circuito abierto. (a **ii**) Real del Monte, (b **iii**) Las Torres. Línea fina, Acantita (**i** en a y b) [22].

dades, la investigación electroquímica tomó como modelos de comparación dos concentrados altamente puros (Echo Bay 98% Ag_2S y Fresnillo 97% pirita). Por razones prácticas de nomenclatura, en el texto se llamará acantita al mineral de Echo Bay y pirita al mineral de Fresnillo.

En la Fig. 17, se presentan voltamperogramas obtenidos sobre la muestra de Real del Monte (Fig. 17(a) **ii**) y Las Torres (Fig. 17(b) **iii**), con respecto a acantita (Fig. 17(a) **i** y 17(b) **i**). En la Fig. 18, las mismas comparaciones fueron realizadas pero con pirita. En el barrido directo sobre ambos concentrados (Fig. 17(a) **ii** y Fig. 17(b) **iii**), la oxidación comienza a potenciales menores que 1200 mV vs SCE. Esto es similar a lo mostrado para la oxidación de pirita (Fig. 18(a) **i**) y es menor que el potencial en donde la acantita comienza a oxidarse (Fig. 17(a) **i** y Fig. 17(b) **i**). En ambos minerales de Real del Monte y Las Torres, no se alcanzó a distinguir a los procesos de oxidación de las especies de plata; este hecho es debido a que estos procesos se encuentran ocultos por la oxidación masiva de pirita contenida en ambos concentrados. No obstante en el barrido inverso (para Real del Monte) se detectó un proceso de reducción a -300 mV vs SCE (Fig. 17(a) **ii**); mientras que este mismo proceso catódico es muy difícil de distinguir para Las Torres (Fig. 17(b) **iii**). Para ambos concentrados (Real del Monte y Las Torres), los procesos de oxidación son similares a los obtenidos sobre pirita (Fig. 18), sólo que las corrientes para ambos son ligeramente menores debido a las más bajas cantidades de sulfuro de hierro contenido en ambos concentrados.

En la Fig. 19, se muestra una amplificación de la zona catódica de la Fig. 18. Cuando el barrido de potencial es aplicado, la aparición de un pequeño pico **I** (Fig. 19) fue asociado con la reducción de algún producto de oxidación de pirita en la interface. Este pico **I** es además, observado en los concentrados de Real del Monte y Las Torres (Fig. 19 **ii** y **iii**). Luna-Sánchez *et al.* [22], discutieron que el proceso **I** corresponde a la reducción de especies de hierro formadas durante el barrido directo en ambos concentrados. Sin embargo, un segundo pico **II** (Fig. 19 **ii** y **iii**) es formado a potenciales más negativos. El proceso **II**, Luna-Sánchez *et al.* [22], lo atribuyeron a la reducción de iones plata, liberados en el barrido directo. Con respecto a Las Torres (Fig. 19 **iii**), la cantidad de plata liberada, durante el barrido directo fue menor que el obtenido por Real del Monte, (Fig. 19 **ii**), significando que una cantidad menor de la plata contenida en Las Torres, ha sido electroquímicamente oxidada. Con estos resultados y con otros donde se realizaron estudios de (E_{2+}), en ambos minerales (Las Torres y Real del Monte), Luna-Sánchez *et al.* [22], concluyeron que la plata contenida en el concentrado de Las Torres (Ag_4SeS , $(\text{Cu}, \text{Ag}, \text{Zn}, \text{Fe})_{12}\text{SbS}_{13}$, $9\text{Ag}_2\text{S}\cdot\text{Sb}_2\text{S}_3$ y Ag_2Te), es poco susceptible de ser oxidada (plata refractaria); mientras que la plata contenida en Real del Monte (Ag_2S), es más activa a la oxidación electroquímica. La escasa extracción de plata en el concentrado de Las Torres, es debida a una oxidación más compleja de freibergita, polibasita y hessita [22].

Luna-Sánchez *et al.* [22], desarrollaron estudios de lixiviación (cianuración en presencia de O_2 , durante 8 horas, en ambos concentrados: Las Torres y Real del Monte), donde la oxidación es favorecida en Real del Monte que en Las Torres. Estos resultados mostraron congruencia con los obtenidos electroquímicamente sobre CPE-mineral. De esta manera estos mismos autores mostraron la conveniencia del empleo

de las técnicas electroquímicas y del uso de los CPE-mineral, para una rápida evaluación de las propiedades refractarias de diferentes minerales que contienen plata.

7. Estudio del mecanismo de disolución anódica de un concentrado complejo de cinc

En la actualidad, la explotación de algunos yacimientos mineros ricos en un solo mineral ha sido exhaustiva alrededor de todo el mundo; y por lo tanto, se tienen muchas minas complejas (no explotadas), donde los diferentes minerales se encuentran en similares concentraciones. Considerando que los procesos de flotación no son selectivos a cada mineral, sobre todo cuando los diferentes minerales se encuentran en concentraciones similares, los concentrados de flotación suelen contener a los diferentes sulfuros metálicos de la mina explotada. El procesamiento de concentrados complejos, por la ruta pirometalúrgica, no es rentable, y por lo tanto, este tipo de minas no son explotadas. Considerando lo anterior, la ruta hidrometalúrgica para el procesamiento de concentrados complejos puede ser de gran utilidad [2].

A continuación se muestra un estudio de la disolución anódica de un concentrado complejo de cinc proveniente de un proceso de flotación (63.4% ZnS, 20.1% FeS₂, 5% CuFeS₂, 0.33% PbS, 0.45% Cu₁₂Sb₄S₁₃ y 0.4% FeAsS), en H₂SO₄ 1.7 M [23]. Es importante mencionar que para encontrar el mecanismo de disolución de este concentrado complejo se empleó una estrategia electroquímica más elaborada que la presentada en los estudios mostrados anteriormente. Esta estrategia (empleando una combinación de técnicas electroquímicas comunes) permitió distinguir cómo los diferentes metales contenidos en este concentrado complejo son susceptibles de ser oxidados como función del potencial.

En la Fig. 20, se muestran dos voltamperogramas trazados sobre CPE-concentrado de cinc en 1.7 M de H₂SO₄ como electrolito. El barrido de potencial fue iniciado en la dirección negativa (Fig. 20a) y positiva (Fig. 20b), a partir del potencial de circuito abierto (-6 mV vs SCE), sin agitación de electrolito, ($\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$).

La comparación de los voltamperogramas de la Fig. 20, indicaron que los procesos (C₁'), (C₂'), (C₃') y (C₄'), están asociados con la reducción de los productos de oxidación de los diferentes minerales (A₁') presentes en el concentrado. Para obtener más información al respecto, Nava *et al.* [23], realizaron experimentos de cronoamperometría, imponiendo un pulso de potencial anódico constante, E_{ap1}, durante 180 s. El intervalo de estudio fue $375 \leq E_{ap1} \leq 975 \text{ mV}$.

En la Fig. 21, se muestra la curva Qa vs E_{ap1}, construida a partir de la integración de la carga de los cronoamperogramas a cada potencial de electrólisis, E_{ap1}. En esta Fig. 21, son mostradas cuatro zonas de potencial donde la variación de Qa presenta una tendencia similar como función de E_{ap1}. La primera zona, se encuentra comprendida en el intervalo $375 \leq E_{ap1} < 575 \text{ mV}$, la segunda a $575 \leq E_{ap1} \leq 715 \text{ mV}$, la tercera a $715 \leq E_{ap1} \leq 855 \text{ mV}$ y la cuarta a $E_{ap1} > 885 \text{ mV}$. En esta última,

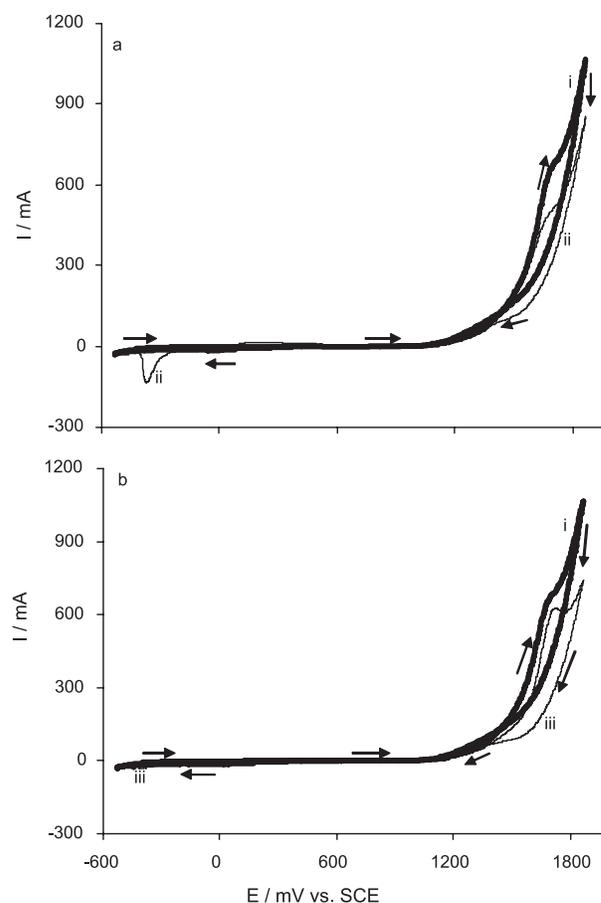


Fig. 18. Voltamperogramas típicos obtenidos sobre CPE-mineral (70:30% peso) en 0.3 M NaCN a pH = 10.60, ($\nu = 25 \text{ mV s}^{-1}$). El barrido de potencial fue iniciado en la dirección positiva a partir del potencial de circuito abierto. (a ii) Real del Monte, (b iii) Las Torres. Pirita (i en a y b). [22].

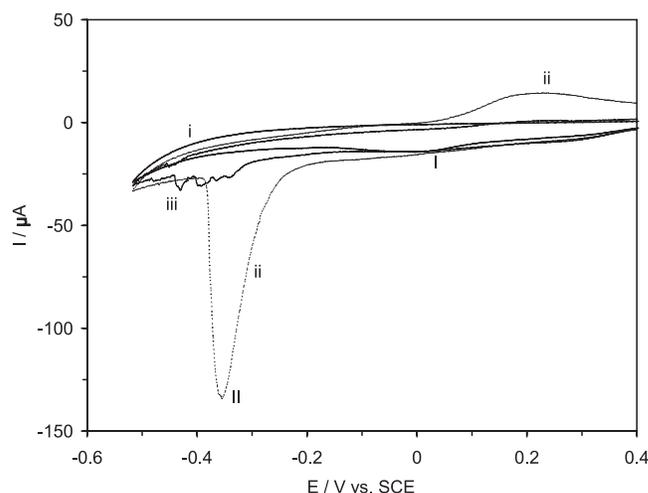


Fig. 19. Voltamperogramas típicos obtenidos sobre CPE-mineral (70:30% peso) en 0.3 M NaCN a pH = 10.60, ($\nu = 25 \text{ mV s}^{-1}$). El barrido de potencial fue iniciado en la dirección positiva a partir del potencial de circuito abierto. (i) Pirita, (ii) Real del Monte y (iii) Las Torres. Zona catódica ampliada de la Fig. 18 [22].

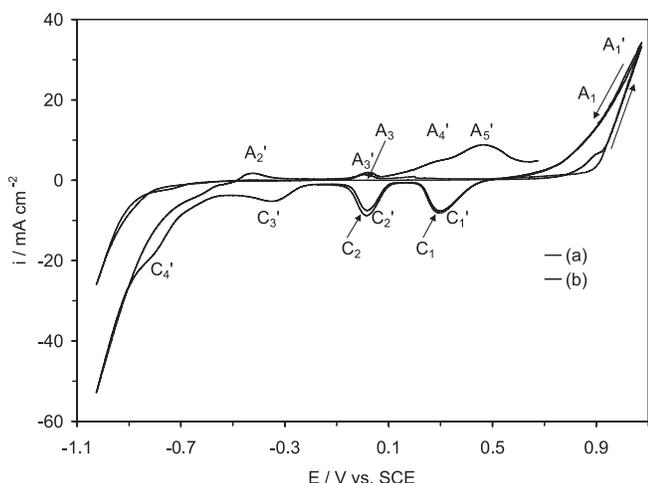


Fig. 20. Voltamperogramas típicos obtenidos sobre CPE-concentrado complejo de cinc (80:20% peso) en 1.7 M H_2SO_4 ($v = 100 \text{ mV s}^{-1}$). El barrido de potencial inició a partir del potencial de circuito abierto (-21 mV) en dirección: (a) negativa, (b) positiva [23].

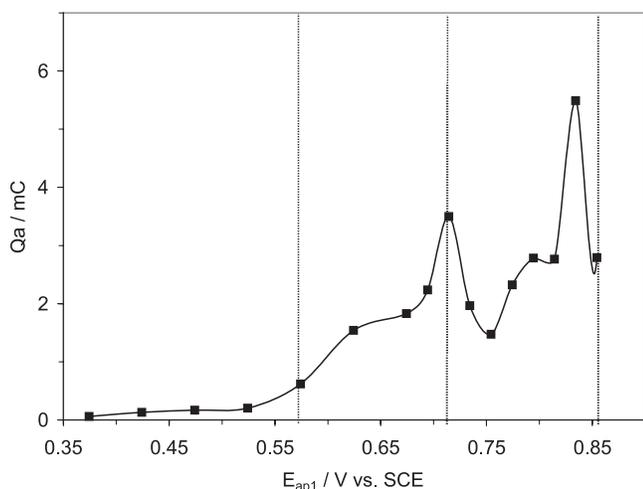


Fig. 21. Cargas anódicas (Q_a) como función del pulso de potencial anódico (E_{ap1}), evaluadas a partir de los pulsos potenciales aplicados sobre CPE-concentrado complejo de cinc (80:20% peso) en 1.7 M H_2SO_4 [23].

se presenta un cambio abrupto en la carga respecto a las otras tres zonas de potencial. Llama la atención que la electro-disolución del concentrado es progresiva y se ve favorecida como función de E_{ap1} .

Estos mismos autores discutieron que estas tendencias corresponden a la oxidación de los diferentes minerales presentes en el concentrado. Para comprobar esto, también analizaron los diferentes metales contenidos en el electrolito, y la superficie modificada del CPE-concentrado complejo de cinc, después de cada pulso de potencial, E_{ap1} , impuesto al CPE-concentrado de cinc.

Para el análisis de los diferentes metales contenidos en el licor (después de la imposición de E_{ap1} sobre el CPE-concentrado de cinc), Nava *et al.* [23], emplearon la técnica de redisolución anódica, utilizando electrodos de película fina de mercurio. Los detalles de esta técnica son descritos en Nava *et al.* [23].

De las voltamperometrías de redisolución anódica, estos autores evaluaron las corrientes de los picos asociados a Zn, Cd, Pb y Cu. La magnitud de las corrientes de los picos de redisolución anódicos (I_{pra}), para cada metal, fue graficada como función del pulso de oxidación, E_{ap1} , (Fig. 22).

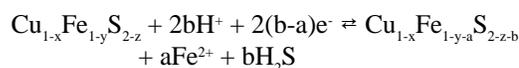
De la Fig. 22 (b), fue posible distinguir que la electrodisolución de cinc fue progresiva en todo el dominio del pulso de potencial estudiado, $375 \leq E_{ap1} \leq 925 \text{ mV vs SCE}$. El comportamiento de la disolución de plomo, fue similar a la obtenida para cinc, sólo que las I_{pra} fueron menores. Finalmente, a $E_{ap1} \geq 855 \text{ mV vs SCE}$ la redisolución anódica de Cu creció abruptamente con E_{ap1} , Fig. 22 (a). La detección de cadmio en el licor comenzó a darse a partir de $E_{ap1} > 755 \text{ mV vs SCE}$, Fig. 22 (b). Es importante mencionar que el concentrado complejo de cinc, contenía $\pm 0.01\%$ de cadmio como solución sólida (Zn, Cd)S.

De los resultados obtenidos, a través del análisis en el licor resultante, provenientes de la oxidación anódica del CPE-concentrado de cinc, Nava *et al.* [23] distinguieron a los diferentes metales que dejan el concentrado complejo, como función del potencial de oxidación E_{ap1} .

Con el propósito de complementar el estudio de la disolución anódica del concentrado de cinc, estos autores caracterizaron la superficie modificada de CPE-concentrado de cinc, después de su oxidación a cada E_{ap1} . La caracterización del estado superficial del electrodo modificado, se llevó a cabo en el electrolito fresco, libre de productos de disolución, (1.7 M H_2SO_4).

En este resumen, sólo se muestra la caracterización de los productos de oxidación formados en el intervalo de $575 \leq E_{ap1} \leq 715 \text{ mV}$. En los voltamperogramas trazados después de E_{ap1} de 675 y 715 mV vs SCE, (Fig. 23b-c), se detectó el par (C_1)/(A_5), el cual no fue observado sobre concentrado fresco, (Fig. 23a). El par (C_1)/(A_5) fue más importante conforme el pulso de potencial (E_{ap1}) fue mayor (Fig. 23c). Es importante mencionar que en los voltamperogramas obtenidos sobre la superficie modificada (Fig. 23b-c) también apareció un proceso de reducción (C_2).

Los picos (C_1)/(A_5) están separados aproximadamente 60 mV, lo que sugiere una reacción rápida (Fig. 23b-c). Nava *et al.* [23] discuten que las reacciones en (C_1)/(A_5), pueden estar asociadas con la reducción-oxidación de un polisulfuro de cobre y hierro no estequiométrico:

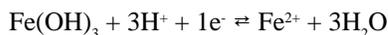


Esta reacción fue propuesta por Nava *et al.* [23], considerando que diversos investigadores [6-7, 20] han informado que la oxidación de calcopirita a $E > 575 \text{ mV vs SCE}$, forma un sulfuro de cobre y hierro no estequiométrico:



Además, la detección de cobre en el licor soporta esta discusión (Fig. 22a).

Estos mismos autores mostraron que el proceso de reducción (C_2) es la reducción de un hidróxido de hierro proveniente de la disolución anódica de la calcopirita:



Por otro lado, el análisis de los metales disueltos en el licor (Fig. 22), en el intervalo $575 \leq E_{\text{ap1}} \leq 715$ mV vs SCE, pone en evidencia que la oxidación de calcopirita, esfalerita y galena ocurre de manera simultánea, dado que además de cobre, también fue detectado cinc y plomo. De igual manera, se estudió la oxidación del concentrado complejo de cinc en todo el dominio de potencial estudiado, $375 \leq E_{\text{ap1}} \leq 925$ mV vs SCE. En la Tabla II [23] se resumen las reacciones electroquímicas que toman lugar durante la oxidación del concentrado complejo de cinc a potencial constante, E_{ap1} , en 1.7 M H_2SO_4 .

En resumen, la aplicación de una estrategia electroquímica más elaborada (empleando técnicas electroquímicas comunes y CPE-mineral como electrodos de prueba) permitió distinguir cómo los diferentes sulfuros metálicos, contenidos en el concentrado complejo de cinc, fueron oxidados como función del potencial. Los resultados obtenidos por Nava *et al.* [23], ponen en evidencia que la alternativa hidrometalúrgica para el procesamiento de estos concentrados complejos, puede ser aplicada para seleccionar agentes oxidantes químicos o biológicos que disuelvan selectivamente a los diferentes minerales contenidos en este concentrado, evitando productos que inhiban la lixiviación de estos concentrados.

El impacto de este trabajo puede representar un avance en el procesamiento de minerales, ya que muchas minas complejas (no explotadas) pudieran ser aprovechadas.

Conclusiones

En esta revisión se mostró la potencialidad de las técnicas electroquímicas y de los electrodos de pasta de carbono-mineral (CPE-mineral), en el estudio de los mecanismos de disolución de diferentes minerales (base, complejos y concentrados complejos). Los trabajos presentados en esta revisión fueron desarrollados por el grupo de electroquímica de la UAM-I en colaboración con el Instituto de Metalurgia de la UASLP y de la ESIIQIE (IPN). Además, este manuscrito incluye una discusión sobre lo mencionado en la literatura a propósito de estos procesos y los equivalentes en disolución oxidativa. Sin pretender ser exhaustivos, la información aquí descrita ha sido organizada de tal manera que permita mostrar las diferentes estrategias utilizadas para estudiar un mineral en particular, las cuales dependen de la complejidad del comportamiento electroquímico de cada mineral. De esta manera, se pudieron resu-

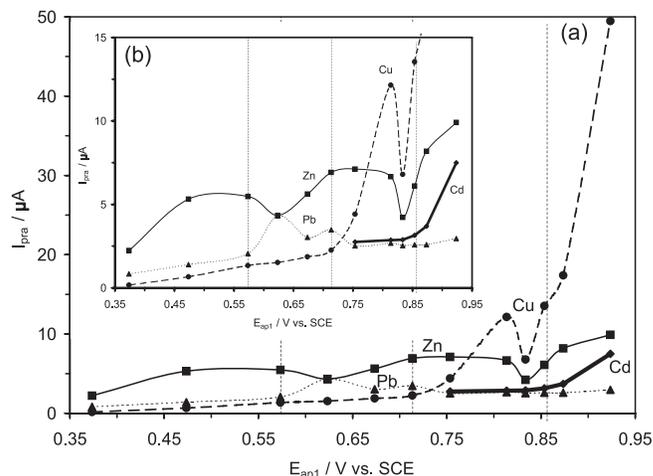


Fig. 22. (a) Corrientes de los picos de redisolución anódica (I_{pra}), obtenidas en el licor que contiene a los diferentes metales electrodisueltos (indicados en la figura) después de que el CPE-concentrado complejo de cinc (80:20% peso) fue oxidado a los diferentes potenciales, (E_{ap1}). (b) Es una ampliación de (a). Las I_{pra} fueron evaluadas de los voltamperogramas de pulso diferencial de redisolución anódica, utilizando electrodos de película fina de mercurio soportadas en disco de carbón vítreo [23].

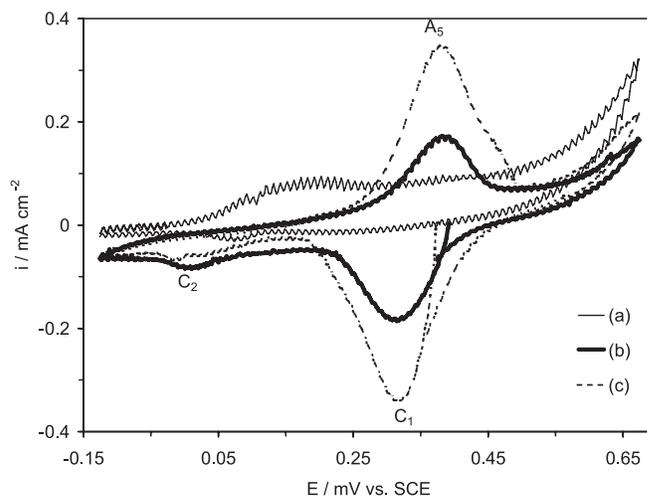


Fig. 23. Voltamperogramas típicos obtenidos sobre la superficie modificada de CPE-concentrado complejo de cinc, en electrolito recién preparado, 1.7 M H_2SO_4 , ($\nu = 100$ mV s^{-1}). El electrodo modificado fue enjuagado con agua desionizada y sumergido en electrolito recién preparado, donde reposó 30 s antes del trazado del voltamperograma. El CPE-concentrado complejo de cinc fue modificado por pulsos de potencial de oxidación, E_{ap1} , a: (b) 675, (c) 715 mV vs SCE, por 180 s en cada E_{ap1} , y estos fueron comparados con uno obtenido sobre concentrado complejo de cinc fresco, (a). Todos los voltamperogramas fueron iniciados en la dirección negativa a partir del potencial de circuito abierto [23].

Tabla II. Reacciones electroquímicas que toman lugar durante la oxidación del concentrado de cinc a potencial constante, E_{ap1} , en 1.7 M H_2SO_4 [23].

Intervalo de potencial / (mV vs. SCE)	Reacciones Electroquímicas
$375 \leq E_{ap1} < 575$	$ZnS \rightarrow Zn^{2+} + S + 2e^-$ $PbS \rightarrow Pb^{2+} + S + 2e^-$
$575 \leq E_{ap1} < 715$	
$E_{ap1} \geq 575$	$ZnS + 4H_2O \rightarrow Zn^{2+} + SO_4^{2-} + 8H^+ + 8e^-$ $PbS + 4H_2O \rightarrow Pb^{2+} + SO_4^{2-} + 8H^+ + 8e^-$
$575 < E_{ap1} \leq 715$	$CuFeS_2 \rightleftharpoons Cu_{1-x}Fe_{1-y}S_{2-z} + xCu^{2+} + yFe^{2+} + zS + 2(x+y)e^-$ $Fe^{2+} + 3H_2O \rightleftharpoons Fe(OH)_3 + 3H^+ + 1e^-$
$715 \leq E_{ap1} \leq 855$	
$715 \leq E_{ap1} \leq 815$	Oxidación de calcopirita a sulfuro de cobre y hierro no estequiométrico
$835 \leq E_{ap1} \leq 855$	$CuFeS_2 \rightleftharpoons CuS + Fe^{2+} + 2S^0 + 2e^-$ y reacciones de oxidación de galena y esfalerita a $E_{ap1} \geq 715$.
$855 < E_{ap1} \leq 975$	
$855 < E_{ap1} \leq 875$	$FeS_2 \rightleftharpoons Fe_{1-x}S_{2-y} + xFe^{3+} + yS + 3xe^-$
$500 < E_{ap1} \leq 975$	$FeS_2 + 8H_2O \rightleftharpoons Fe^{2+} + 2SO_4^{2-} + 16H^+ + 14e^-$ y reacciones de oxidación de galena, esfalerita y calcopirita a $E_{ap1} > 855$.

mir los diferentes mecanismos que se han propuesto con estas estrategias.

En el caso de la galena (PbS), se encontró que es oxidada a S^0 y Pb(II) a $0.50 \leq E \leq 0.60$ V vs SCE y que a $0.60 \leq E \leq 1.0$ V vs SCE el azufre es oxidado a $PbSO_{4(s)}$. Las especies insolubles de azufre, sobre la superficie de la galena, inhibieron la disolución de este mineral. Para la esfalerita (ZnS), se encontró que el contenido en hierro como solución sólida, dentro de la estructura de la misma, determina la cinética de

disolución química y electroquímica. Un estudio comparativo entre galena y esfalerita mostró que la oxidación hasta azufre elemental, en ambos minerales, es independiente del catión metálico, no obstante la cinética de disolución de galena es más rápida.

El estudio del mecanismo electroquímico de la calcopirita ($CuFeS_2$) mostrado por Arce y González [20] permitió identificar un polisulfuro de cobre y hierro no estequiométrico ($Cu_{1-x}Fe_{1-y}S_{2-z}$) y S^0 como productos de oxidación en ácido sulfúrico; mientras que la reducción de calcopirita forma calcocita y no bornita como había sido reportado por otros autores. Estos últimos resultados corroboraron que el mecanismo propuesto por Hiroyoshi *et al.* [4], para la recuperación de cobre por una ruta hidrometalúrgica empleando Fe (II) y Cu (II) en H_2SO_4 , es muy prometedora.

A través del estudio electroquímico de FeAsS y de sus intermediarios de oxidación (As_2S_2 y As_2S_3), se encontró que la biolixiviación de FeAsS por *Th. ferrooxidans*, en un medio de cultivo ácido (M2), es poco eficiente debido a que el medio (M2) oxida a la FeAsS a As_2S_2 y Fe(II), desfavoreciendo la adhesión de la bacteria a la superficie del mineral. A partir de estos resultados se propuso un proceso industrial (propiedad de Servicios Industriales Peñoles S.A de C.V), que permite hacer una lixiviación asistida de FeAsS formando como productos As(III), SO_4^{2-} y Fe(II).

El estudio electroquímico de diferentes minerales que contienen plata, permitió predecir sus propiedades refractarias a la cianuración (lixiviación química), de una manera rápida y efectiva respecto a las técnicas tradicionales.

Finalmente, el estudio electroquímico mostrado sobre un concentrado complejo de cinc, (63.4% ZnS, 20.1% FeS_2 , 5% $CuFeS_2$, 0.33% PbS, 0.45% $Cu_{12}Sb_4S_{13}$ y 0.4% FeAsS), mostró que los diferentes minerales son susceptibles de ser oxidados como función del potencial; siendo esto último, algo muy prometedor para el procesamiento hidrometalúrgico de minerales, ya que muchas minas complejas (no explotadas) pudieran ser aprovechadas.

Referencias

1. Crundwell, F. K. *Hydrometallurgy* **1988**, 21, 155.
2. Dutrizac, J. E. *Hydrometallurgy* **1992**, 29, 1.
3. Kobayashi, M.; Dutrizac, J. E.; Toguri J. M. *Can. Metall. Quart.* **1990**, 29, 201.
4. Hiroyoshi, N.; Masatoshi, A.; Hajime, M.; Masami, T.; Tsuyoshi, H. *Hydrometallurgy* **2002**, 63, 257.
5. Biegler, T.; Horne, M. D. *J. Electrochem. Soc.* **1985**, 132, 1363.
6. Lu, Z. Y.; Jeffrey, M. I.; Lawson, F. *Hidrometallurgy* **2000**, 56, 145.
7. Lázaro, I.; Martínez-Medina, N.; Rodríguez, I.; Arce, E.; González, I. *Hydrometallurgy* **1995**, 38, 277.
8. Cisneros-González, I.; Oropeza-Guzmán, M. T. ; González, I. *Hydrometallurgy* **1999**, 53, 133.
9. Ahlberg, E.; Asbjornsson, J. *Hydrometallurgy* **1994**, 36, 19.
10. Nava, J. L.; Oropeza, M. T.; González, I. *Electrochim. Acta* **2002**, 47, 1513.
11. Cisneros-González, I.; Oropeza-Guzmán, M. T.; González, I. *Electrochim. Acta* **2000**, 17, 2729.

12. Cisneros-González, I.; Oropeza-Guzmán, M. T.; González, I. In *Electrochemistry in Mineral and Metal Processing V*; Woods, R.; Doyle, F. M., Eds.; The Electrochemistry Society; N.J., 2000; p 249.
13. Cisneros-González, I. *Estudio electroquímico de esfalerita y Galena*; Tesis de Doctorado; UAM-I, México, 2001.
14. Cruz, R.; Lázaro, I.; Rodríguez, J. M.; Monroy, M.; González, I. *Hydrometallurgy* **1997**, *46*, 303.
15. Lázaro, I.; González, I.; Cruz, R.; Monroy, M. *J. Electrochem. Soc.* **1997**, *12*, 4128.
16. Lázaro, I.; Cruz, R.; Rodríguez, J. M.; González, I.; Monroy, M. in *International Biohydrometallurgy Symposium IBS97 BIO-MINE 97*; AMF, Ed.; Sydney, 1997; p. M2.2.1.
17. Cruz, R.; Lázaro, I.; González, I.; Monroy, M. *Miner. Eng.*, **2005**, *18*, 1024.
18. Lázaro, I.; Cruz, R.; González, I.; Monroy, M. *Int. J. Miner. Process.* **1997**, *50*, 63.
19. Warren, G. W.; Sohn, H. J.; Wadsworth, M. E.; Wang, T. G. *Hydrometallurgy* **1985**, *14*, 133.
20. Arce, E.; González, I. *Int. J. Miner. Process.* **2002**, *67*, 17.
21. Luna-Sánchez, R. M.; Lapidus, G. T. *Hydrometallurgy* **2000**, *56*, 171.
22. Luna-Sánchez, R. M.; González, I.; Lapidus, G. T. *J. Appl. Electrochem.* **2002**, *32*, 1157.
23. Nava, J. L.; Oropeza, M. T.; González, I. *J. Electrochem. Soc.* **2004**, *151*, B387.

New hopes from endophytic fungal secondary metabolites

M. V. Tejesvi,¹ M. S. Nalini,¹ B. Mahesh,¹ H. S. Prakash,¹ K. R. Kini,¹ H. S. Shetty¹ and Ven Subbiah^{2*}

¹ Department of Studies in Applied Botany and Biotechnology, University of Mysore, Manasagangotri, Mysore-570 006, Karnataka, India.

² PhytoMyco Research Private Limited, KIADB Industrial Park, Nanjangud-571 302, India and 1800 N. Greene Street, Greenville, NC 27834, U. S. A. E-mail: phytomyco@aol.com Tel: (252) 329-9200; Fax: (252) 329-9202

Abstract. The search for and exploitation of natural products and their properties has been the mainstay of biotechnology research. Natural product search and discovery from endophytes of medicinal plants represents a challenge to the biotechnologist. All the available evidence points to natural product discovery continuing strongly and accelerating as a consequence of new search strategies and innovative microbiology. In drug discovery, novel natural product chemotypes with interesting structures and biological activities continue to be reported. Without such discoveries, there would be a significant therapeutic deficit in several important clinical areas. The diverse range of biosynthetic pathways in plants, fungi and bacteria has provided an array of lead structures that have been used in drug development. This review highlights the importance of endophytes with desirable bioactivity, in a novel natural products screening programme.

Key words: Fungi, bacteria, yeasts, endophytes, natural products

Resumen. La búsqueda y la explotación de los productos naturales y de sus propiedades han sido de interés continuo en la investigación biotecnológica. El descubrimiento de nuevos productos naturales a partir de endófitos de plantas medicinales representan un reto para el biotecnólogo. Las evidencias disponibles indican que el descubrimiento de nuevos productos naturales se ha incrementado como consecuencia de la aplicación de nuevas estrategias de búsqueda y de procesos microbiológicos innovadores. Sin el descubrimiento de nuevos agentes terapéuticos, habría un severo déficit en numerosas áreas clínicas. La diversidad de rutas biosintéticas en plantas, hongos y bacterias ha proporcionado una amplia variedad de estructuras que se usan en el desarrollo de drogas. La presente revisión enfatiza la importancia de endófitos con bioactividad deseable, de utilidad práctica en el rastreo de nuevos productos naturales.

Palabras clave: Hongos, bacterias, levaduras, endófilos, productos naturales

Introduction

Drug resistance in bacteria, the appearance of life threatening viruses, breakdown of Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) and bird flu, recurring health problems in patients with organ transplants, and tremendous increase in the incidence of fungal infections in world's population only underscore our inadequacy to cope with these medical problems. Mankind is also facing difficulties in raising enough food on certain areas of the world to support local human populations. Environmental degradation, loss of biodiversity, and spoilage of land and water, also add to problems facing mankind. Endophytes, the microorganisms that reside in the tissues of living plants, are relatively unstudied and offer potential sources of novel natural products for exploitation in medicine, agriculture and the pharmaceutical industry [1]. Fungal endophytes have been found in healthy tissues of all the plants taxa studied to date [2-8] and it is their chemical diversity and not their biological diversity, that is largely responsible for the interest in these organisms. About 30% of the worldwide sales of drugs are based on natural products. In United States alone about 25% of prescribed drugs contain at least one active ingredient derived from plant material. Numerous examples from medicine demonstrate the innovative potential of natural compounds and their impact on progress in drug discovery and development.

Endophytes are microbes (fungi, bacteria and yeasts) that live within the plant tissue without causing any noticeable symptoms of disease. Endophytes have been found in all parts of plants including xylem and phloem [9]. The majority of the

endophytes have been isolated from trees, but only a few herbaceous plants and shrubs have been examined for the presence of endophytes [1]. Endophytic fungi are being increasingly recognized as an ecological assemblage of microorganisms that may provide sources for new secondary metabolites with useful biological activities. Theoretically, the likelihood of discovery of new groups of secondary metabolites will be higher than with better-known groups of fungi, e.g. common genera of soil fungi [10].

Endophytes are a poorly investigated group of microorganisms that represent an abundant and dependable source of bioactive and chemically novel compounds with potential for exploitation in a wide variety of medical, agricultural and industrial arenas. The mechanisms through which endophytes exist and respond to their surroundings must be better understood in order to be more predictive about which higher plants to seek, study, and spend time isolating microfloral components. This may facilitate the product discovery processes. Although work on the utilization of this vast resource of poorly understood microorganisms has been initiated, it has already become obvious that an enormous potential for organism, product, and utilitarian discovery in this field holds exciting promise. This is witnessed by the discovery of a wide range of products, and microorganisms (Table 1). There are other characteristics of endophytic fungi that also render them desirable for manipulation in an industrial screening program. Most screening has focused on soil dwelling fungi, little attention has been directed toward endophytes. As a consequence, they have not been subjected to intensive screening programs, which suggest the vast majority largely remain undiscovered.

Table 1. List of natural products characterized from endophytes

SL No.	Plant host	Endophyte	Place of collection	Metabolite	Nature of metabolite	Bioactivity tested	Source
1.	<i>Artemisia annua</i> L. (Chinese herb)	<i>Colletotrichum</i> spp.	Nanjing, China	6-isoprenyl indole-3-carboxylic acid, 3 β , 5 α dihydroxy-6 β -acetoxy-ergosta-7,22-diene and 3 β , 5 α dihydroxy-6 β -phenyl acetyloxy-ergosta-7, 22-diene	UK*	Antimicrobial activity against human pathogenic fungi and bacteria, Fungistatic to plant pathogenic fungi	[25]
2.	<i>Artemisia mongolica</i> Fisch. ex Bess.	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Zijin mountain, Nanjing, China	Colletotric acid	Tridepside	Antibacterial and Antifungal (<i>Helminthosporium sativum</i>)	[26]
3.	<i>Bontia daphnoides</i> L.	<i>Nodulisporium</i> spp.	UK*	Nodulisporic acids	Indole diterpenes	Anti-insecticidal	[19]
4.	<i>Cinnamomum zeylanicum</i> Nees (Cinnamom tree)	<i>Muscodora albus</i>	Lancetilla botanical garden, La Ceiba, Honduras.	Volatile antimicrobials (1-butanol, 3-methyl acetate)	Ester	Antimicrobial (<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Ustilago hordei</i> and <i>F. solani</i> (basidiomycetes) <i>Cercospora beticola</i> , <i>Candida</i> spp. and <i>A. fumigatus</i> (human fungal pathogens) <i>Pythium ultimum</i> and <i>Phytophthora cinnamomi</i> (Oomycetes) Antibacterial (<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Micrococcus luteus</i> and <i>B. subtilis</i>)	[22]
5.	<i>Erythrophelum chlorostachys</i> (Iron wood)	<i>Muscodora roseus</i>	UK*	Volatile antibiotics	UK*	Antibacterial and Antifungal	[23]
6.	<i>Grevillea pteridifolia</i> Knight (fern leaf tree)	<i>Muscodora roseus</i>	Northern Territory of Australia	Volatile antibiotics	UK*	Antibacterial and Antifungal	[24]
7.	<i>Maguireanthamnus spectiosus</i> (N. F. Brown) Steyerl	<i>Seimatoantlerium tepuiense</i>	Tepuis of Venezuelan-Guyana border in south west Venezuela	Taxol [®]	Diterpenoid	UK*	[62]
8.	<i>Paullinia paullinioides</i> (Liana)	<i>Muscodora vittigenus</i>	UK*	Naphthalene	UK*	Insect repellent against stem sawfly	[20,21]
9.	<i>Quercus suber</i> L. (cork oak)	<i>Diplodia mutila</i>	UK*	Diplopyrone	Tetrahydropyranpyran-2-one	Phytotoxic	[52]
10.	<i>Selaginella pallescens</i> (Pteridophyte)	<i>Fusarium</i> spp.	Guanacaste Conservation Area, Costa Rica.	CR377	Penaketide	Antifungal, <i>C. albicans</i>	[27]
12.	<i>Taxus baccata</i> L.	<i>Acremonium</i> spp.	UK*	Leucinoastatin A	UK*	Anti-oomycetes and anticancerous (melanoma G361, HT-144, Leukaemia cell lines HSB-2, K-562)	[15]
13.	<i>Taxus brevifolia</i> Nutt. (Pacific Yew)	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	Bozeman, Montana, USA.	Pestalotiopsins A and B	Caryophyllene sesquiterpenes, 2 α -hydroxy-dimeninol and humulane	Sesquiterpenes,	[53,54,55]

Table 1. List of natural products characterized from endophytes (Continue).

SL No.	Plant host	Endophyte	Place of collection	Metabolite	Nature of metabolite	Bioactivity tested	Source
14.	<i>Taxus brevifolia</i> Nutt. (Pacific Yew)	<i>Taxomyces andreanae</i>	UK*	Taxol [®]	Diterpenoid	Anti-carcinogenic (P-388, P-1534, α -1210 murine leukaemia, Walker 256 carcinoma, sarcoma 180)	[5]
15.	<i>Taxus mairie</i> (Chinese southern Yew)	<i>Tubercularia</i> spp.	Fujian province of South eastern main land, China	Taxol [®]	Diterpenoid	Anticancerous (P388 cells, KB cells)	[56]
16.	<i>Taxus wallachiana</i> (Nepalese Yew)	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	Foothills of Himalayas.	Taxol [®]	Diterpenoid	Anti-carcinogenic	[51]
17.	<i>Taxus wallachiana</i> (Himalayan Yew)	<i>Phoma</i> spp.	Singhe-To, Khatmandu, Nepal.	Altersolanol A, 2- hydroxy- 6- methyl benzoic acid		Antibacterial (<i>Bacillus subtilis</i>)	[29]
18.	<i>Taxus wallachiana</i> (Himalayan Yew)	<i>Sporormia minima</i> , <i>Trichothecium</i> spp. and dimorphic fungus (unidentified)	Shivapuri, Khatmandu, Nepal	Paclitaxel	Diterpenoid	UK*	[57]
19.	<i>Terminalia morobensis</i> Coode	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	Sepik river drainage system, Papua, New Guinea	Isopestacin	Isobenzofuranone	Antioxidant, antifungal (<i>Pythium ultimum</i>)	[16]
20.	<i>Terminalia morobensis</i> Coode	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	Sepik river drainage system, Papua, New Guinea	Pestacin	1, 3, dihydro isobenzofuran	Antioxidant, antifungal (<i>Pythium ultimum</i>)	[17]
21.	<i>Torreya taxifolia</i> Arn	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	UK*	Torreyanic acid	Quinone dimer	Anticancerous and antibiotic	[58]
22.	<i>Tripterygium wilfordii</i> Hook.f.	<i>Cryptosporiopsis quercina</i>	UK*	Cryptocin	Tetramic acid	Antimycotic (<i>Pyricularia oryzae</i> and other plant pathogenic fungi)	[59]
23.	<i>Tripterygium wilfordii</i> Hook.f.	<i>Cryptosporiopsis quercina</i>	UK*	Cryptocandin	Lipopeptide	Antimycotic (<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , <i>Botrytis cineria</i>) Against human pathogens (<i>Candida albicans</i> , <i>Trichophyton</i> spp.)	[30]
24.	<i>Tripterygium wilfordii</i> Hook.f.	<i>Rhinocladiella</i> spp.	UK*	22-oxa-[12]-Cytochalasin	Alkaloid	Antitumor	[60]
25.	<i>Wollemia nobilis</i> (Wollemi pine)	<i>Pestalotiopsis guepinii</i>	Wollemi National Park near Sydney, Australia.	Taxol [®]	Diterpenoid	UK*	[15]
26.	<i>Fragaria bodenii</i> (oak tree)	<i>Pestalotiopsis jesteri</i>	Southern province, New Guinea	UK*		Antioomycetes	[31]
27.	<i>Torreya grandifolia</i>	<i>Periconia</i> spp.	Huangshan National Park, China	Taxol [®]	Diterpenoid	Anticancerous	[14]
28.	<i>Taxodium distichum</i> Rich	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	Swamp forest, South California	Taxol [®]	Diterpenoid	Anticancerous	[13]
29.	<i>Tripterygium wilfordii</i> Hook.f.	<i>Fusarium Subglutinans</i>	UK*	Subglutinols A and B		Immunosuppressive	[18]

UK* – Unknown

Further, endophytic fungi colonize very specialized habitats, which means they have evolved special mechanisms for survival. This provides a likely explanation for the reason they represent a source of new secondary metabolites in biotechnology [10]. Random screening of chemically diverse molecules against a specific disease target discovers new pharmaceuticals. These molecules can either be extracted from living organisms (mainly plants and microbes) or produced synthetically. Nature provides an enormous variation of extremely complex molecules, infinitely more sophisticated than any molecule from any other source like synthetic and combinatorial chemistry [11]. It is very likely, given the extensive metabolic capabilities of microbes that fungal endophytes are the source of these drugs and that the plant is simply providing the proper environment for endophyte growth. This has been shown to be the case in the association between the Pacific yew and the endophytic fungus *Pestalotiopsis microspora* [12].

Endophytic microbes as a source of bioactive metabolites

An array of natural products has been characterized from endophytes, which includes anti-cancerous, anti-oxidants, anti-fungal, anti-bacterial, anti-viral, anti-insecticidal and immunosuppressants (Table I.). It is more common to find natural products with restricted taxonomic distributions in plants. For example, Taxol® appears to be restricted to yews (*viz.*, eleven species of the genus *Taxus*) but, interestingly, it has also been found in a number of different genera of fungal endophytes associated with yews and with endophytes from non-yew sources *viz.*, *Taxodium distichum* [13], *Torreya grandifolia* [14], *Wollemia nobilis* [15]. The genetic origin of fungal Taxol® production has been speculated to have arisen by horizontal gene transfer from *Taxus* spp. to its endophytes [16]. If this is the case and the acquisition of the ability to produce certain metabolites by some microorganisms is by horizontal gene transfer from plant to microbial endophyte, the conservation of plant hosts and their indigenous microbial flora is of vital importance in the future search for new drugs. Anti-oxidant activity has been detected in Isopestacin and Pestacin isolated from *Pestalotiopsis microspora*, the endophytic fungus of *Terminalia morobensis* [16, 17]. The endophytic fungus, *Fusarium subglutinans* produces immunosuppressive compounds Subglutinols A & B. This was isolated from *Tripterygium willfordii* [18]. Anti-insecticidal compounds like Nodulisporic acids were isolated from *Nodulisporium* species, an endophyte of *Bontia daphnoides* [19]. Another insect repellent compound, Naphthalene was isolated from *Muscodor vitigenus* colonizing a liana, *Paullina paullinioides* [11, 21]. A wide range of volatile antimicrobials produced by the endophytic fungi *Muscodor albus* and *Muscodor roseus* were isolated from *Cinnamomum zeylanicum* [22], *Erythrophelum chlorostachys* [23] and *Grevillea pteridifolia* [24]. A number of antimicrobial compounds have been isolated to date from various endophytes, which include *Colletotrichum* species [25], *C. gloeosporioides* [26],

Fusarium spp. [27], *Acremonium* spp. [28], *Phoma* spp. [29], *P. microspora* [16, 17], *Cryptosporiopsis quercina* [30], *P. jesteri* [31]. It can be concluded from Table 1, that a great deal of variation exists in the endophytic genera and the compounds isolated from indigenous plant species inhabiting the major rainforests of the world representing an undisturbed ecological niche.

Developing a productive microbial source for anti-cancerous, immunosuppressants and anti-microbials not only would lower the cost of this effective anticancer agent but it also would help to make it more widely available. From 1983-1994, over 60% of all approved and pre-NDA stage cancer drugs were of natural origin as were 78% of all newly approved antibacterial agents [32]. The endophytic organism in culture can produce secondary metabolites in relatively high yield, particularly when subjected to strain improvement program [33]. It is feasible to isolate mutants that are more readily cultivated or generate additional product, or even a modified product with a higher therapeutic index [34]. Moreover, the metabolites they produce are largely generated by enzymatic pathways that have the potential to biosynthetically link existing structures to chemical adjuncts in a reproducible manner at yields that are acceptable for industrial use [35]. In this sense, natural products generated as microbial secondary metabolites exhibit a number of properties that make them excellent candidates for industrial processes.

Results and Discussion

Approaches for selection of endophytes

Herbal medicine is one of the oldest forms of health care known. Every plant on earth is known to harbor at least one endophytic microbe. When selecting medicinal plants for studying their unique mycoflora and the bioactives produced by them it is important to take into account the following:

1. Plant species already known to produce one or more notable drugs or that are of ethnobotanical or importance in traditional medicine.
2. Plants located in ecological settings that suggest microorganisms playing a role in protection against other microorganisms.
3. Plants growing in extreme conditions, e.g., high or low temperatures, aquatic environments, or high exposure to radiation or salt concentrations [36].

Once a biotechnological target has been identified, two questions follow: first, what might be the best organism or group of organisms to investigate? Second, what screening procedures should be used in order to detect the desired activity? The following approaches can be used for organism selection: (i) play the percentage game, e.g., endophytic fungi and actinomycetes for biopharmaceutins; (ii) make reference to taxa-chemistry and taxon-property databases of known

metabolites; (iii) focus on novel and neglected taxa; (iv) highlight isolates from unusual or little-explored ecosystems; (v) match the target with members of previously unscreened but known taxa.

Endophytes are known to reside in many plant species [37]. Very few medicinal plants have been studied for their endophytic fungi. Therefore, an attempt to isolate endophytic fungi of medicinal plants was undertaken with an ultimate objective of getting bioactive molecules of pharmaceutical and agricultural importance by our group. So far 310 endophytic fungal isolates were recorded from bark and twig segments of four medicinal plants namely viz., *Terminalia arjuna* W. & A., *Crataeva magna* (Lour.) DC., *Azadirachta indica* A. Juss., and *Holarrhena antidysenterica* (L.) Wall. ex. DC. These plants were selected based on their ethnopharmacological properties with special reference to target endothelin receptor antagonists. Among the endophytes, Mitosporic fungi represented a major group (82%) followed by Ascomycetes (15%) and Zygomycetes (3%). Some of the important endophytes isolated from the medicinal plants are shown in Fig.1.

The dominant fungi include *Pestalotiopsis*, *Myrothecium* and *Trichoderma* spp. Some of the endophytes isolated in our study are reported as potential sources of useful metabolites with immense value in agriculture, industry and therapeutics. These include *Fusarium subglutinans*, *Pestalotiopsis* spp., *Tubercularia* spp. and *Acremonium* spp. [18, 13, 50, 51].

Ethnopharmacological relevance and significance of endophytic fungi as new therapeutic agents

The number of plants with medicinal properties far exceeds the number of plants used as food source. For instance, Chinese herbalists have identified more than 5,000 medicinally important indigenous plants and the Amazon, the Golden

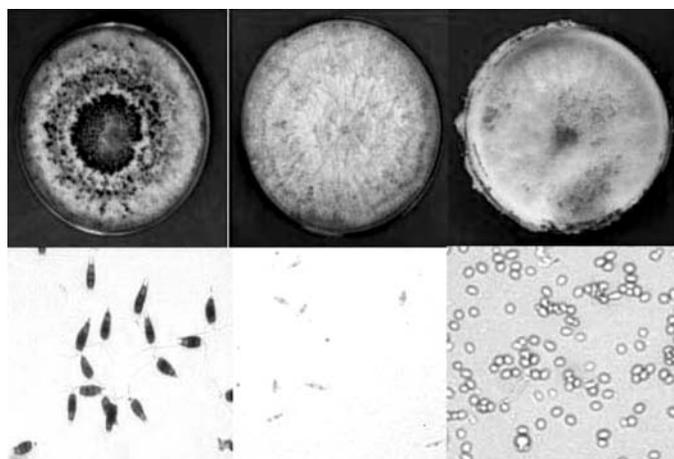


Fig. 1. Dominant endophytic fungal cultures isolated from the medicinal plants and their spores. a. *Pestalotiopsis* spp. b. *Myrothecium verrucaria*. c. *Trichoderma* spp.

triangle region of northern Thailand, the tropics of the Venezuela-Guyana border, and the teeming forests of central Africa, all have native human populations using indigenous plant resources for healing purposes. However, despite the huge biological potential of epiphytes and endophytes associated with these higher plants, these microorganisms have received little attention.

Taxol[®], also known in the literature as Paclitaxel, is a novel diterpene (Fig. 2) that was isolated from the bark of the northwest Pacific Yew, *Taxus brevifolia* Nutt. in 1971 [38]. This product demonstrated moderate *in vivo* activity against P-388, P-1534 and I-1210 murine leukemia, the Walker 256 carcinosarcoma, Sarcoma 180, and Lewis lung tumor test system [39]. Despite its promise, there is a problem with Taxol[®]. This highly functionalized diterpene is isolated primarily from the inner bark of the relatively rare and slow growing pacific yew tree, *T. brevifolia*, and a few related species, in extremely small quantities (< 0.02% dry wt.). The emergence of Taxol[®] as an effective anticancer agent created a difficulty- there were simply not enough trees to supply the growing demands [38]. A mature pacific yew (100 years old) yields approximately 10 pounds of dry bark, so each collection required the sacrifice of 500 to 1500 trees [40]. Advanced preclinical and phase I clinical development of Taxol[®] required several collections ranging in size from 5,000 to 15,000 pounds of dry bark. Even with this estimate, however, it was clear that additional sources of Taxol[®] would be necessary. Several research groups have addressed the supply problem in a variety of ways. Although several strategies have been devised the most successful methods to date have been the use of plant tissue culture for reported yields with commercialization [41]. Stierle *et al.* [42] made an attempt at easing the supply dilemma focused on the discovery of a new biological source of the drug; an endophytic microbe colonizing the yew tree. They have isolated more than 300 fungi from the bark and needles of yews grown in Montana, USA. Out of the 300 fungi examined, *Taxomyces andreanae* was capable of producing 24 to 50 ng of Taxol[®] per litre.

From a practical view point, microbial fermentation as a means of producing bioactive substances has several advantages: (i) industrial production of a bioactive substances (like pharmaceuticals drugs) requires reproducible, dependable pro-

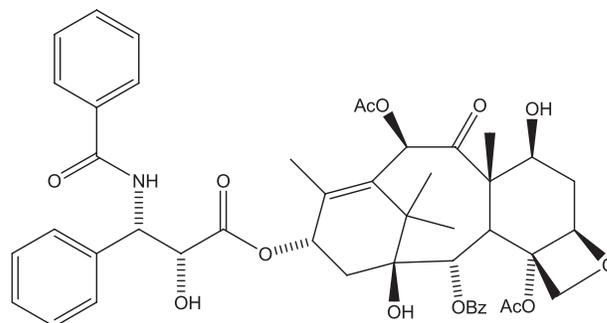


Fig. 2. Molecular Structure of Taxol.

ductivity. If the microbe is the source organism, it can be grown in tank fermentors as needed, producing a virtually inexhaustible supply; (ii) microorganisms typically respond favorably to routine culture techniques and tissue culture or growing plants requires either specialized techniques or months of growth before harvesting is feasible; (iii) product escalation is relatively easy in microorganisms. Directed changes in culture conditions can be explored indefinitely as a method of optimizing various biosynthetic pathways, which may lead to even more effective derivatives of lead compounds.

Microbes as sources of drug molecules

Considering the large and rapidly increasing awareness of economic potential of microbes, not only in the pharmaceutical and biotechnology industries, but also in relation to ecosystem function and maintenance, there is a pressing need to enhance our knowledge about them. The role of fungi was established early in history. Yeasts have been used in the making of bread and alcohol since the beginning of civilization and the discovery of Penicillin hit the press headlines in 1942 marking the beginning of a new approach to human health. Microbial metabolites have also contributed to fundamental biological science and fungi are involved in the industrial processing of more than 10 of the 20 most profitable products at the beginning of this century, e.g., three anti-cholesterol Statins, the antibiotic Penicillin and the immunosuppressant Cyclosporin A, have each a turn over in excess of \$1 billion annually.

Background and significance of endophytes

Medicinally important herbs and ethnopharmacologically used plants are wide spread in the Indian subcontinent and explain how people derive medicines from plants or other naturally occurring resources. The “discovery” that indigenous knowledge about medicinal plants may hold clues for curing diseases. Important monumental Ayurvedic works like Charakasamhita and Sushrutasamhita list nearly 700 plant drugs used in Ayurveda, Homeopathy, Siddha and Unani systems of medicine [43]. The list includes herbal remedies curing several diseases such as asthma, cardiovascular problems, diabetes, microbial infections and bronchitis. However, few plant species have been systematically studied for their endophytic microbes. All documented plant species should be evaluated from the point of their distribution and taxonomy and also for their chemical or microbial profile (Fig. 3).

Intelligent and efficient industrial screening of microorganism requires that a high diversity of organisms be maintained, while simultaneously minimizing redundancy among the taxa screened. This can only be achieved through an understanding of the floristic composition and pattern of colonization of the microorganisms within the particular ecologi-

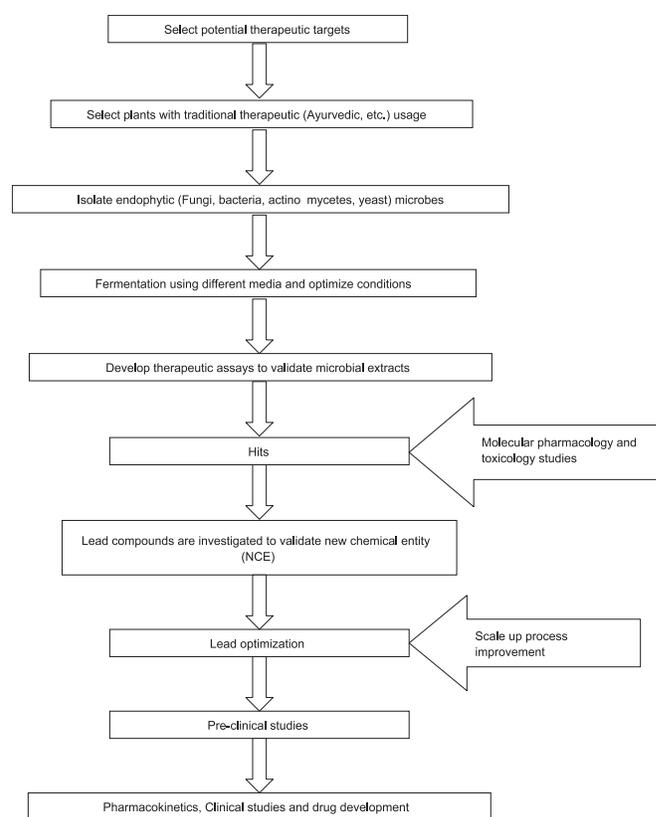


Fig. 3. The endophytes from ethnopharmacologically used plants as a source for new therapeutic leads.

cal niche being sampled, i.e., What species are likely to inhabit the particular endophytic host and what is their relative abundance? How many species are likely to be found by sampling a single plant or individual trees? Does species richness and floristic composition vary among samples throughout a landscape? Does the isolation media or sampling of a particular plant organ influence the species recovered?

Endophytes are constantly exposed to intergeneric-genetic exchange with the host. This type of exchange would probably require an intimate association between the cells of the plant and its microbial associates. The recent example of the isolation of a potent anticancer agent, Taxol® producing fungus from its host plant, the yew tree [44,] and the classical example of the phytohormone producing fungus (*Gibberella fujikuroi*) from rice plant, suggests that a search for important chemical producing microorganisms should commence in the plant tissues. Most of the plants resist invading plant pathogens in part through the production of antimicrobial compounds; in some cases these compounds may be the product of the plant’s associated microflora. Screening such plants for endophytic isolation may yield novel and interesting microbes. This provides a lead-directed approach in addition to random approach to screening.

Experimental

Isolation of endophytes from different parts of the plant

Most procedures for isolating endophytes are relatively simple and routine for anyone skilled in basic microbiological techniques. One of the critical needs for isolating endophytic fungi is obtaining fresh plant material. The need for preventing desiccation must be balanced against the need for adequate aeration; the former slows tissue death, whereas the latter minimizes the growth of secondary contaminating fungi and bacteria. Prolonged transport in sealed plastic bags should be avoided if possible. Sturdy paper bags, wax paper bags, or zip-locked, perforated bags designed for vegetable storage work well for transport and temporary storage of most types of plant tissues. If plants are to be stored for long periods of time, especially in frost-free refrigerators, tissue desiccation will occur. However, it is possible to isolate a surprising number of fungal species even from desiccated woody tissues after freezer storage for more than a year [45].

A standard method utilizes dipping the plant material in both EtOH and NaOCl (bleach) for few minutes. The EtOH acts as a surfactant and the NaOCl is the actual sterilizing agent. The dilutions and immersion times in NaOCl vary with the type of tissue and host [46, 47, 48]. In general, woody tissues and leaves with thick cuticles are subjected to more stringent sterilization than more fragile ones. Tests have demonstrated that the series of EtOH-NaOCl-EtOH effectively kill thick-walled spores occurring in many common contaminant fungi. After the plant materials are surface sterilized, they are dissected to obtain epidermis, cambium, xylem, and phloem and plated on enriched and nutrition-depleted media to isolate different microbes; the plates are then incubated in a light chamber for three to four weeks [10, 49]. Chloramphenicol and Gentamycin are employed to inhibit bacterial contamination and the plates are monitored for the growth of the hyphal tips that can be isolated in pure form by growing them in mycological media. Several enriched media such as cornmeal or Brainheart infusion ensure the growth of thermally dimorphic fungi, while moderately enriched media such as Potato dextrose or Sabouraud dextrose, and nutritionally depleted media such as dextrin and other complex carbohydrate based media can be used to isolate interesting endophytes [10]. Cycloheximide or rose bengal are incorporated into the media to inhibit the rapidly growing saprophytic fungi, which can overgrow slow-growing fungi.

Conclusion

The microbial advantage in drug discovery is profound, offering several distinct advantages. The first is the negligible impact to the environment incurred in the collection process. Each microbe can produce metabolites with desirable bioac-

tivity. If a microbial metabolite is considered as a drug candidate, the necessary additional material can be obtained by larger scale fermentation and by media manipulation to improve yields. In recent times, focus on plant research has increased all over the world and a large body of evidence has collected to show immense potential of medicinal plants used in various traditional systems. The secondary metabolites produced by endophytes associated with medicinal plants can be exploited for curing diseases. The development of drugs from endophytes with high potency and reasonable duration of action will offer much needed new remedies for acute and chronic human diseases. The naturally derived product will be nontoxic and inexpensive in the prevention of diseases. Microbes associated with plants, and other substrates merit a higher profile in future research programs related to the understanding, management, and sustainable use of biodiversity at a level appropriate both to their numbers and to their economic and environmental importance. The search for novel habitats from which isolates for screening may be derived is becoming a significant concern for the pharmaceutical and agricultural industries.

Acknowledgements

The authors wish to thank the Department of Biotechnology (DBT), Government of India, for the financial support.

References

1. Strobel, G.; Daisy, B. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2003**, *67*, 491.
2. Petrini, O.; Stone, J.; Carroll, F. E. *Can. J. Bot.* **1982**, *60*, 789.
3. Legault, D.; Dessureault, M.; Laflamme, G. *Can. J. Bot.* **1989**, *67*, 2052.
4. Schulz, B. U.; Wanke U.; Drager, S.; Aust, H. J. *Mycol. Res.* **1993**, *97*, 1447.
5. Rodrigues, K.F., in: Endophytic fungi in Grasses and Woody Plants, Redlin. S. C. and Carris, L.M., Eds., American Phytopathological Society Press, San Diego, California, **1996**, 121.
6. Fisher, P.J. *New Phytol.* **1996**, *132*, 119.
7. Lodge, D. J.; Fisher, P. J.; Sutton, B.C. *Mycologia* **1996**, *88*, 733.
8. Frohlich, J.; Hyde, K.D. *Biodiversity Conservation* **1999**, *8*, 977.
9. Petrini, O., In: Microbiology of the Phyllosphere, Fokkema, N. J., van den Heuvel, J. Eds., Cambridge University Press, Cambridge, **1986**, 175.
10. Bills, G. F.; Polishook, J.D. *Sydowia* **1992**, *44*, 1.
11. Petsko, G.A. *Nature* **1996**, *7*, 384 (suppl. 6604), 7.
12. Strobel, G. A.; Torczynski, R.; Bollon, A. *Plant Sci.* **1997**, *128*, 97.
13. Li, J.Y.; Strobel, G.; Sidhu, R.; Hess, W.M.; Ford, E.J. *Microbiol.* **1996**, *142*, 2223.
14. Li, J. Y.; Sidhu, R. S.; Ford, E.; Hess, W. M.; Strobel, G. A. *J. Ind. Microbiol.* **1998**, *20*, 259.
15. Strobel, G. A., Hess, W. M.; Li, J. Y.; Ford, E.; Sears, J.; Sidhu, R. S.; Summerell, B. *Aus. J. Bot.* **1998**, *45*, 1073.
16. Strobel, G.; Ford, E.; Worapong, J.; Harper, J.K., Arif, A.M.; Grant, D.M.; Fung, P.C.W.; Chau, R.M.W. *Phytochemistry* **2002**, *60*, 179.
17. Harper, J. K.; Barich, D. H.; Hu, J. Z.; Strobel, G. A.; Grant, D. M. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 4609.

18. Lee, J.; Lobkovsky, E.; Pliam, N. B.; Strobel, G. A.; Clardy, J. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7076.
19. Bills, G.; Dombrowski, A.; Pelaez, F.; Polishook, J.; An, Z., 2002. In: Watling, R., Frankland, J. C., Ainsworth, A. M., Issac, S., Robinson, C. H. Eds., *Tropical Mycology: Micromycetes*, Vol. 2, CABI Publishing, New York, **2002**, 165.
20. Daisy, B. H.; Strobel, G.; Ezra, D.; Castillo, U.; Baird, G.; Hess, W. M. *Mycotaxon* **2002**, *84*, 39.
21. Daisy, B. H.; Strobel, G. A.; Castillo, U.; Ezra, D.; Sears, J.; Weaver, D.; Runyon, J. B. *Microbiol.* **2002**, *148*, 3737.
22. Strobel, G. A.; Dirksie, E.; Sears, J.; Markworth, C. *Microbiol.* **2001**, *147*, 2943.
23. Strobel, G. A. *Crit. Rev. Biotechnol.* **2002**, *22*, 315.
24. Worapong, J.; Strobel, G.; Daisy, B.; Castillo, U.F.; Gaird, G.; Hess, W. M. *Mycotaxon* **2002**, *81*, 463.
25. Lu, H.; Zou, W. X.; Meng, J.C.; Hu, J.; Tan, R. X. *Plant Sci.* **2000**, *151*, 67.
26. Zou, W. X.; Meng, J. C.; Lu, H.; Chen, G. X.; Shi, G. X.; Zhang, T. Y.; Tan, R. X. *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 1529.
27. Brady, S. F.; Clardy, J. *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 1447.
28. Nisbet, L. J.; Moore, M. *Curr. Opin. Biotechnol.* **1997**, *8*, 708.
29. Yang, X.; Strobel, G. A.; Stierle, A.; Hess, W. M.; Lee, J.; Clardy, J. *Plant Sci.* **1994**, *102*, 1.
30. Strobel, G. A.; Miller, R. V.; Miller, C.; Condron, M.; Teplow, D. B.; Hess, W. M. *Microbiology* **1999**, *145*, 1919.
31. Strobel, G.A.; Li, J.Y.; Ford, E.; Worapong, J.; Baird, G.I.; Hess, W. M. *Mycotaxon* **2000**, *76*, 257.
32. Concepcion, G.P.; Lazaro, J.E.; Hyde, K.D. In: Ponting, S. B.; Hyde, K. D. Eds., *Bio-exploitation of Filamentous Fungi*, Fungal Diversity Press, Hong Kong, **2001**, 93.
33. Penalva, M.A.; Rowlands, R.T.; Turner, G. *Trends in Biotechnol.* **1998**, *16*, 483.
34. Piepersberg, W. *Crit. Rev. Biotechnol.* **1994**, *14*, 251.
35. Verdine, G. L. *Nature* **1996**, *384* (Suppl. 6604), 11.
36. Strobel, G.A.; Long, D.M. *Amer. Soc. Mycol. News* **1998**, *64*, 263.
37. Stone, J.K.; Bacon, C.W.; White, J.F. Jr. in: *Microbial Endophytes*, Bacon C.W. and White J.F. Jr. Eds., Marcel Dekker, Inc, New York, **2000**, 3.
38. Wani, M. C.; Taylor, H.C.; Wall, M.E.; Coggon, P.; McPhail, A.T. *J. Amer. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 2325.
39. Rowinsky, E. K.; Cazenave, L.A.; Donehower, R.C.; *J. Natl. Cancer Inst.* **1990**, *82*, 1247.
40. Cragg, G. M.; Snader, K. M. *Cancer Cells* **1991**, *3*, 233.
41. Fett-Nero, A.G.; DiCosmo, F.; Reynolds, W.F.; Sakata, K. *Bio/Technol.* **1992**, *10*, 1572.
42. Stierle, A.; Strobel, G.A.; Stierle D.; Grothaus, P.; Bignami, G. *J. Nat. Prod.* **1995**, *58*, 1315.
43. Yoganarasimhan, S. N. *Medicinal plants of India*. Interline Publishing Private Limited, Bangalore, **1996**, 644.
44. Stierle, A.; Strobel, G.; Stierle, D. *Science* **1993**, *260*, 214.
45. Bills, G. F., in: *Systematics, Ecology and Evolution of Endophytic Fungi in Grasses and Woody Plants*, Redlin, S. and Carris, L. M. Eds., APS Press, St. Paul, MN, **1996**, 31.
46. Carroll, G. C. and F. E. Carroll. *Can. J. Bot.* **1978**, *56*, 3034.
47. Dreyfuss, M; Petrini, O. *Botanica Helvetica* **1984**, *94*, 33.
48. Petrini, O., In: *Microbiology of the Phyllosphere*, Fokkema, N. J., van den Heuvel, J. Eds., Cambridge University Press, Cambridge, **1986**, 175.
49. Suryanarayanan, T.S. *The Mycol.* **1992**, *6*, 144.
50. Strobel, G. A.; Torczynski, R.; Bollon, A. *Plant Sci.* **1997**, *128*, 97.
51. Strobel, G.; Yang, X.; Sears, J.; Kramer, R.; Sidhu, R. S.; Hess, W. M. *Microbiology* **1996**, *142*, 435.
52. Evidente A.; Maddau L.; Spanu E.; Franceschini A.; Lazzaroni S.; Motta A. *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 313.
53. Pulici, M.; Sugawara, F.; Koshino, H.; Uzawa, J.; Yoshida, S.; Lobkovsky, E.; Clardy, J. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 2122.
54. Pulici, M.; Sugawara, F.; Koshino, H.; Uzawa, J.; Yoshida, S.; Lobkovsky, E.; Clardy, J. *J. Nat. Prod.* **1996**, *59*, 47.
55. Pulici, M.; Sugawara, F.; Koshino, H.; Uzawa, J.; Yoshida, S.; Lobkovsky, E.; Clardy, J. *J. Chem. Res.* **1996**, *N8*, 378.
56. Wang, J.; Li, G.; Lu, H.; Zheng, Z.; Huang, Y.; Su, W. *FEMS Microbiol. Lett.* **2000**, *193*, 249.
57. Shrestha, K.; Strobel, G. A.; Prakash, S.; Gewali, M. *Planta Med.* **2001**, *67*, 374.
58. Lee, J.C.; Strobel, G.A.; Labkovsky, E.; Clardy, J.C. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 3232.
59. Li, J. Y.; Strobel, G. A.; Harper, J. K.; Lobkovsky, E.; Clardy, J. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 767.
60. Wagenaar, M.; Corwin, J.; Strobel, G. A.; Clardy, J. *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 1692.
61. Strobel, G.A.; Ford, E.; Li, J.Y.; Sears, J.; Sidhu, R. S.; Hess, W. M. *Syst. Appl. Microbiol.* **1999**, *22*, 426.

Guidelines for a pharmaceutical technology transfer towards a drug manufacturing plant

Luis Alberto del Río,* Nuria Salazar, Carmen Trives

Sección de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad San Pablo CEU.
28660 Boadilla del Monte. Madrid. Spain. Phone +34 913 724 732. E-mail: delrio@ceu.es

Abstract. The establishment, every time more needed, of a technology transfer program in the area of drug development with regard to its future production is a complex process that involves two sides, the knowledge donor and the manufacturer of the finished drug as its acceptor and, particularly, some complex and huge pharmaceutical units as a typical pharmaceutical structure. Both sides' mutual, sincere and convinced acceptance of a series of guidelines described with respect to drug development, manufacturing, specifications, analytical development and regulatory affairs must meet the above mentioned aims

Key words: Pharmaceutical technology, technology transfer, guidelines

Resumen. El establecimiento, cada vez más necesario, de un programa de transferencia de tecnología en el campo del desarrollo de un medicamento para su posterior fabricación es un proceso complejo que implica dos partes, el donador de este conocimiento y el fabricante del medicamento como receptor y, en particular, a una serie compleja y numerosa de actividades, típicas de una empresa farmacéutica. La aceptación mutua, sincera y convencida por ambas partes de una serie de directrices que se describen en cuanto al desarrollo del producto, la fabricación, las especificaciones, el desarrollo analítico y el registro farmacéutico debe cumplir dichos objetivos

Palabras clave: Tecnología farmacéutica, transferencia de tecnología, lineamientos

1. Introduction

In the area of pharmaceutical industry, investments in innovation show a well-known increase as a consequence of a suitable financial situation that becomes apparent in an important economic growth and a larger willpower to seize the opportunities offered by a globalized market.

Therefore companies must be able to evolve. Evolving means continuous change that is based on innovation and the assurance of competitiveness which only can be achieved when all the company's activities are carried out in the best possible way and showing a particular interest in its daily and continuous improvement in R&D and manufacturing strategies.

By this way, the company is enabled to leadership in its business areas, dedicating itself to carry out those activities where it disposes of a high degree of excellence. It will contract out others that a purveyor can do more efficiently for them.

2. What does a technology transfer policy mean ?

A pharmaceutical technology transfer can be defined as the transfer of scientific information, a capability or a technological basis associated with a drug or a pharmaceutical procedure from a donor side (knowledge centre) to a receptor side (drug manufacturing plant) [1] implying a positive experience learned and realized by both sides and complying all the regulatory requirements in terms of Efficacy, Quality and Safety.

Thus the concept of outsourcing and externalisation comes into play as an opportunity entailing the delegation of activities out of the company as well as cessation of human resources and materials. This concept or necessity is supposed

to respond to a series of weak points concerning drug development strategies fixed in this article to be either reinforced locally or outsourced like these

- Development management structure proves insufficient. No management educational plans in executive teams
- Lack of equipments and infrastructure. Poor confidence in R&D know-how
- Lack of introduction of Good Laboratory Practices, GLP, [2] & Good Manufacturing Practices, GMP, [3] guidelines and other quality systems. Realization of uncontrolled trials and lack of pilot trials
- Dispersion of the research effort. Lack of focusing objectives and establishing merging and jointventure strategies
- Updating and universalization of the resources available for all researchers. Lack of motivation and flexibility of researchers
- Lack of communication with the regulatory authorities. Exceptional search of local and regional opportunities

On the other hand, the degree of outsourcing of development activities depends on the company's strategy [4]. Although an a priori prevision results difficult, the outsourcing degree will be rather high in the area of development due to the particularities of this activity.

In order to realize one of this kind of outsourcing, the companies observe the organizations that carry out potentially interesting research activities. In this sense, the development centres are expected to realize the activities on the same quality level and complying with the GLP and GMP guidelines, which is of fundamental importance for assuring an optimal level of operating and a strict quality assurance of the tasks established. The concept of technological surveillance proves to be an important strategic activity in the development policy of innovative companies.

For this reason it seems convenient to point out the following aspects to take into account at the moment of outsourcing development functions to one of those purveyors.

- Experience in the business sector. It has to demonstrate a reputable experience
- Cultural compatibility. It should belong to the same geographic region
- Confidentiality. It should be guaranteed by signing a secret agreement
- Relations with other institutions subcontracted in turn. Application of the same rules as in the main contract.
- Financial solvency. Accreditation by a company specialized in this kind of audits.
- Technical qualification. Follow-up of a quality plan concerning facilities, equipments, staff and procedures.

So a technology transfer policy in drug development can be realized as well in any direction development unit – production facility as well with new products, licensed ones or even already existing ones, concerning either the whole procedure or a part of it as it is shown in Figure 1

The transfer of technology from a development unit (donor side) and its subsidiary companies, licensed ones, subcontracted ones or simply clients (receptor side) aims at the supply of information and methods enabling the receptor side to start the production of a new product, bulk ware or finished drug.

Formalizing the technology transfer policy can be expected:

- The objectives of the company and business are kept

- A positive impact on the quality of the product in question is produced
- The introduction of new products in the market is facilitated
- The compliance with the regulatory requirements is assured
- The costs are reduced

By other hand, the drug production facilities are concerned by technology transfer as they are increasing their production capacities working for other companies. This implies an excellent opportunity for companies with either low used installations or equipments with a degree of exploitation of not more than 50 % of their maximum capacity or specialized companies with own procedures and technologies covering market gaps.

3. Planning a pharmaceutical technology transfer

A procedure of technology transfer from a knowledge centre to a secondary production plant is described next. It implies three phases: the beginning, the transfer and the conclusion. Each one has to be achieved in a documented manner.

3.1. Step One (Beginning)

At the beginning there has to be an agreement or a request between donor and receptor sides concerning the manufacturing of a new product, bulk ware or finished product.

The receptor side is to appoint a technology transfer director who should come preferably from the department of quality assurance having however a regulatory affairs background.

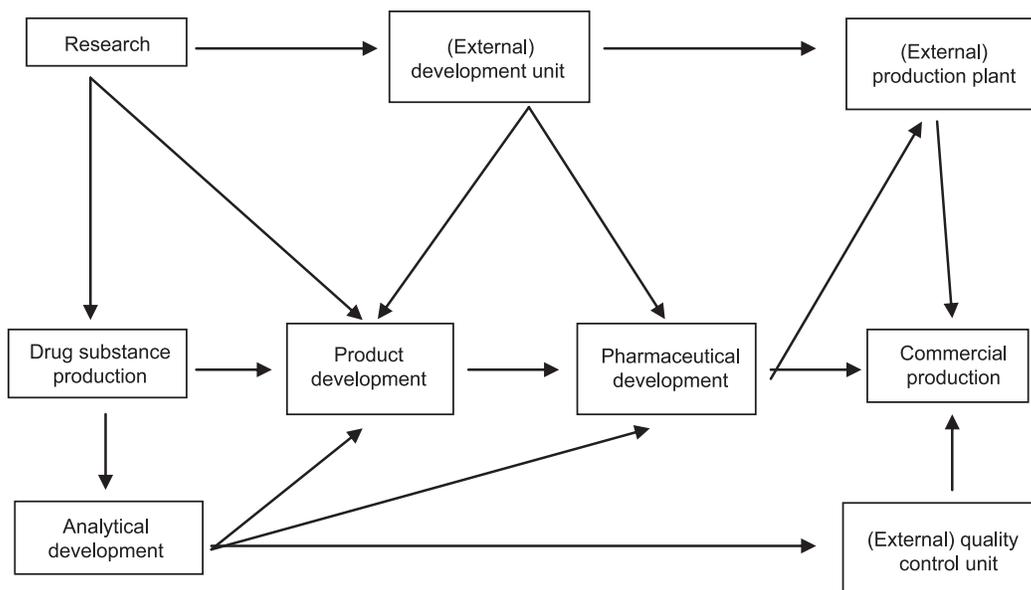


Fig. 1. Working directions in the R&D and manufacturing processes of drug in order to carry out a Pharmaceutical Technology Transfer plan.

He should call a meeting between the representatives of both the donor and the receptor sides, so those mentioned by way of example in Table I, in order to begin the technology transfer process identifying the issues in relation to the product to be transferred.

3.2. Step Two (Transfer)

The production, the packaging, the control and those are in relation to the product quality like the achievement of the process and health and environmental protection follow a defined plan agreed by both sides. The said plan is to be outlined by the technology transfer director and negotiated with the representatives of both sides. It sets up the framework in which the technology transfer process will take place. Therefore it has to be designed to measure in order to meet the requirements of each particular case. It should especially establish key events and the dates of important revisions and final reports by means of a chronogram. The actions that are to be realized in order to finish satisfactorily the technology transfer should be included in a list.

There should also be an approved production procedure, constantly audited, that takes into account the receptor side's characteristics in each phase of the technology transfer of the project.

The technology transfer director of the project may manage and documentate its progress organizing meetings and inspections.

There have to be specified persons who dispose of an appropriate level of responsibility for authorizing each important step of the whole technology transfer process.

In order to achieve an appropriate technology transfer by both the donor and receptor sides, there is offered next a series of requirements to follow and to complement concerning:

- Product development phase: covering items like
 - Active Pharmaceutical Ingredients: Synthesis, Suppliers, Pharmacopoeial and Scientific data (Table II)

Table I. Business units of donor and receptor sides implicated in a technology transfer process

Development Unit	Production Site
Research	Industrial logistics
Pharmaceutical development	Business development
Analytical development	Technical direction
Quality assurance	Marketing
Regulatory affairs	Pharmaceutical development
Operations Management	Production
	Engineering and maintenance
	Quality control
	Quality assurance
	Safety
	Regulatory affairs

Table II. Active Pharmaceutical Ingredients

Definition of synthesizing procedure for the active substance:

- Method
- Definition of critical parameters
- Apparatus used
- Validation of the procedure

Details and state of suppliers approval

Certificate of conformity with the respective pharmacopoeial monograph

Preformulation data:

- Chemical characteristics: structures, salts
- Physico-chemical characteristics: Solubility, crystal properties, particle size, hygroscopicity, incompatibility, stability, etc.
- Biopharmaceutical data
- Relevant pharmacological and clinical data of interest

- Pharmaceutical Development: Formulation, Manufacturing, Quality, Stability and Bioavailability and Bioequivalence (Table III)
- Specifications: Quality of Starting materials, Intermediate products and Finished products and Packaging materials (Table IV)
- Manufacturing procedure: Facilities, Equipment, Documentation, Quality and Production (Table V)
- Analytical development: Methods, Validation, Samples and Equipment (Table VI)

In the same way the most relevant aspects concerning safety of starting materials, intermediate and final products have to be defined and assured implying usually the following aspects:

Table II. Active Pharmaceutical Ingredients

Definition of synthesizing procedure for the active substance:

- Method
- Definition of critical parameters
- Apparatus used
- Validation of the procedure

Details and state of suppliers approval

Certificate of conformity with the respective pharmacopoeial monograph

Preformulation data:

- Chemical characteristics: structures, salts
- Physico-chemical characteristics: Solubility, crystal properties, particle size, hygroscopicity, incompatibility, stability, etc.
- Biopharmaceutical data
- Relevant pharmacological and clinical data of interest

Table IV. Specifications

Definitions and specifications (starting materials, intermediate and finished products):
— Physical parameters
— Chemical parameters
— Pharmacotechnical and functional parameters
— Microbiological parameters
— Unequivalences
— Expiry date
— Storage conditions
— Details and state of suppliers approval
Packaging (components, design and actual package)

Table V. Manufacturing procedure

Facilities (environmental conditions, liquids and gases, maintenance, cleaning procedures, water production, etc.)
Equipment (identification, qualification, cleaning, maintenance, etc.)
Flow charts
Batch records
Control of changes
Manufacturing yields
Recycling
Analytical results
Batch release
Withdrawals
Modifications in order to facilitate other industrial scaling-up
Stability studies (real time / accelerated)
Usual experience
Summary of the technology transfer reports towards other companies
Economic studies

Table VI. Analytical development

Summary and justification for the development of analytical methods
Final analytical methods (batch release and expiry date) and validation for starting materials, intermediate and finished products, known impurities and degradation products
Evaluation of the results and their statistical exploitation
Sample taking methods
Apparatus (identification, qualification and calibration)
Characterization of analytical standards
Usual experience

- Identification of risks
- Appropriate measures
- Manipulation and storage
- Exposition control and staff protection
- Stability and reactivity
- Elimination
- Transport
- Environmental toxicity

Because of the critical importance for the future commercialisation of the product, the regulatory aspects are already expounded in each section described previously. Nevertheless, the receptor side has to be informed about everything in relation to existing patents and their impact on production procedures, drug master file, types of demands for pharmaceutical commercialisation, industrial agreements as well as specific local restrictions and stability studies.

3.3. Step Three (Conclusion)

The technology transfer director of the project is to call a meeting of all the persons in charge of the previously described steps, reaching an agreement on a list of actions to undertake and establishing the respective dates for the conclusion of the technology transfer process.

After these actions being completed, a final revision will take place and the issue of a final document will confirm that the technology transfer process has been concluded agreeably. Thus it is to demonstrate that the pharmaceutical quality of the product in question is not adversely influenced.

Said document has to fulfil the requirements of the donor side. Its signing constitutes the final act and entitles the receptor side to sanction future changes concerning the procedure. The document is to be ratified by the departments of quality assurance and regulatory affairs of both sides.

During the beginning and the transfer process the responsibility for controlling changes in the procedure corresponds to both sides, but the donor side maintains all its authority to sanction them. At the end of the technology transfer, the authority to sanction changes goes over to the receptor side. The donor side commits itself to declare any modification of importance.

A bad transference will indicate analytical or manufacturing failures and an excessive effort on the donor and a lack of technical comprehension for the personnel belonging to the receptor. On the contrary, the suitable strength both of the product and the process and a high sensibility in the facilities of the receptor will denote a satisfactory transference.

Definitively, the increasingly usual not coincidence of the centres of development of drugs with those of its manufacture forces to design systems of transmission of the knowledge to avoid sensitive economic losses and of competitiveness derived from a bad management concerning, even, the quality of the pharmaceuticals.

References

1. del Río, L.A. *Ind. Farm.* **2001**, 16, 96, 64-68
2. OECD Principles of Good Laboratory Practice. OECD Environmental Health and Safety Publications. Environment Directorate. Organization for Economic Cooperation and Development. Paris, 1998
3. Commission Directive 2003/94/EC of 8 October 2003 laying down the principles and guidelines of good manufacturing practice in respect of medicinal products for human use and investigational medicinal products for human use. Official Journal European Union. 14.10.2003, p.22-26, Brussels, **2003**
4. Valazza, M.; Wada, G.G. Creating a successful partnership with a contract manufacturer. *Pharm. Techn. Eur.* **2001**, May, 26-34

La utilización de la espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS) para identificar diferentes estados superficiales en el proceso de corrosión del acero al carbono en medios amargos

Román Cabrera-Sierra,¹ Jesús Marín-Cruz,² Ignacio González^{3*}

¹ Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas del Instituto Politécnico Nacional, Edificio Z5. A.P:75-874, C.P. 077381, México, D.F.

² Instituto Mexicano del Petróleo. Coordinación de Ingeniería Molecular, Área de Materiales y Corrosión. Eje Central Lázaro Cárdenas No. 152, C. P. 07730, México, D. F.

³ Universidad Autónoma Metropolitana, Departamento de Química. Apdo. Postal 55-534, 09340 México, D. F. Tel. 5804-4671 ext 12, Fax. 5804-4666. Email: igm@xanum.uam.mx

Resumen. En este trabajo se muestra la versatilidad en la utilización de la técnica de EIS para identificar las propiedades morfológicas y eléctricas de diferentes estados superficiales, formados cuando el acero al carbono está en contacto con un medio alcalino amargo (0.1 M $(\text{NH}_4)_2\text{S}$ y 10 ppm de CN^-). Estas superficies fueron obtenidas por la inmersión del acero en el medio alcalino amargo y por el crecimiento electroquímico de películas de productos de corrosión, utilizando medios amargos altamente concentrados. Las propiedades físicas de estas superficies son confirmadas por un análisis cualitativo de SEM. Finalmente, un análisis por la técnica de EIS permite predecir las condiciones superficiales y corroborar las propiedades físicas obtenidas por SEM.

Palabras clave: Espectroscopia de impedancia electroquímica, corrosión, medios amargos

Abstract. In this work it is shown the versatility in the use of EIS technique in order to identify the morphological and electrical properties of different surface states formed when the carbon steel is in contact with alkaline sour medium (0.1 M $(\text{NH}_4)_2\text{S}$ and 10 ppm of CN^-). These surface states were obtained either spontaneously by the immersion time of carbon steel in a typical alkaline solution or by electrochemically grown of corrosion product films using highly concentrated sour solutions. The physical properties of these surfaces were described by a qualitative analysis of SEM. Finally, a quantitative analysis of the EIS diagrams, obtained in the sour medium, allows predicting the superficial conditions and corroborating the properties showed by SEM.

Key words: Electrochemical impedance spectroscopy, corrosion, sour medium

1. Introducción

La corrosión del acero al carbono en plantas de refinación de petróleo es un problema grave que ocasiona grandes pérdidas materiales, energéticas, económicas y en algunos casos, pérdidas humanas [1]. En la industria petrolera mexicana, en el año de 1999, el costo para prevenir la corrosión por el uso de inhibidores químicos fue de cincuenta y dos millones de pesos [2]. Por ello, el estudio de la corrosión del acero al carbono, en medios que simulan los ambientes de las plantas de refinación de petróleo (medios amargos), es un tema de investigación de gran interés.

El tipo de corrosión que presenta el metal expuesto en estos ambientes, depende de la calidad del crudo a procesar, así como de la etapa del proceso de refinación que se esté llevando a cabo. Es sabido, por ejemplo, que en plantas de destilación primaria (medios ácidos), las especies corrosivas como el H_2S y los cloruros provocan un tipo de corrosión generalizada; mientras que en plantas catalíticas (medios alcalinos), además del daño generalizado, se presenta el tipo de corrosión localizada debido a la presencia de especies corrosivas como: $\text{CO}_2(\text{g})$, $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$, HS^- , CN^- , las que adicionalmente provocan el problema de ampollamiento, característico de los medios amargos alcalinos. La composición particular de los medios amargos modifica el proceso de corrosión haciéndolo más complicado que en otro tipo de ambientes. Este hecho, fue

mostrado en un estudio previo [3], en el que se midieron las velocidades de corrosión de la interfase acero al carbono en medio alcalino amargo (utilizando una concentración similar a la encontrada en los condensadores de las plantas catalíticas de Tula, Hidalgo). Las técnicas tradicionales (pérdida de peso y resistencia eléctrica), proporcionaron valores más bajos en las medidas de velocidad de corrosión en comparación con los obtenidos por técnicas electroquímicas. Estas diferencias fueron asociadas, por un lado, a las diversas propiedades fisicoquímicas y eléctricas de las películas formadas; y por otro lado, a la complejidad existente en el mecanismo de corrosión [3].

En esta dirección, se realizaron diversos estudios enfocados a discernir el mecanismo de corrosión del acero al carbono en medios alcalinos amargos, y establecer las principales etapas que se llevan a cabo de manera simultánea durante su desarrollo. De esta manera, se prepararon películas de productos de corrosión sobre superficies de acero al carbono, permitiendo su evolución natural al sumergir la superficie de acero, por un tiempo determinado, en un medio amargo representativo de plantas catalíticas [4,5]; además, se indujo la formación de diversos productos de corrosión utilizando métodos electroquímicos, a partir de un medio amargo altamente concentrado [1,6,7]. Este último medio se utilizó para inducir de manera acelerada daños sobre la superficie de acero al carbono, representando un ataque severo típico de una situación de contingencia con respecto a la operación normal del proceso de refi-

nación del petróleo; esto es, cuando las concentraciones de los contaminantes, y por lo tanto el proceso de corrosión, se encuentran fuera de control. Las películas de productos de corrosión así formadas se caracterizaron *ex situ*; o bien en la misma solución de preparación, *in situ*. Esto se llevó a cabo utilizando las técnicas de microscopia electroquímica de barrido, SECM; espectroscopia fotoelectrónica de rayos X, XPS; y espectroscopia de impedancia electroquímica, EIS [1,8-14]. Los estudios anteriores, permitieron establecer que en el mecanismo de corrosión del acero en medios amargos, se encuentran involucrados los procesos que a continuación se describen: un proceso de oxidación en la interfase metal/película de productos de corrosión; un proceso de difusión de los iones hierro, desde la interfase metal/película, a través de los productos de corrosión (formados de óxidos y sulfuros de hierro); y, un proceso de difusión del hidrógeno atómico, desde la interfase medio amargo/productos de corrosión, al interior de la misma.

Los estudios anteriormente descritos y publicados en diferentes artículos internacionales, han sido enfocados a la descripción del proceso de corrosión del acero al carbono en medios amargos alcalinos. En estos estudios, se han considerado diferentes estados superficiales resultantes de condiciones diversas en las que la corrosión se lleva cabo. Un análisis global de los resultados obtenidos ha permitido establecer una relación directa entre el estado superficial de las películas de productos de corrosión, con la respuesta obtenida por EIS, en la caracterización de éstos. Hasta donde nosotros sabemos, esta relación no ha sido considerada con anterioridad. De esta manera, la contribución original de este trabajo, es hacer un estudio comparativo de los resultados experimentales previamente obtenidos para mostrar la versatilidad en la utilización de la técnica de espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS), para caracterizar, identificar y estudiar las propiedades morfológicas y eléctricas de los diferentes estados superficiales de las películas de productos de corrosión, formadas sobre el acero al carbono en medios amargos alcalinos.

Para lograr lo anterior, se discuten las modificaciones obtenidas, en los diagramas de impedancia auxiliándose de la utilización de un circuito eléctrico equivalente que representa las interfases consideradas. El análisis obtenido de los diagramas de impedancia, es comparado con el estudio morfológico, a través de SEM, de las películas. Esta comparación permite corroborar la potencialidad de la EIS, para llevar a cabo estudios de corrosión en campo.

2. Parte experimental

2.1 Descripción del diseño experimental

Se utilizó una celda electroquímica típica de 3 electrodos. La celda utilizada fue un recipiente de vidrio con una capacidad de 50 mL, que permite controlar la temperatura. Se utilizó, como electrodo de referencia, un electrodo de sulfatos saturado, SSE, con compartimiento separado (capilar de Luggin).

Como electrodo auxiliar, una barra de grafito de 6 mm de diámetro y 5 cm de largo, el cual también se encuentra colocado en un compartimiento separado (tubo de vidrio con vidrio poroso en el extremo). Estos electrodos se utilizaron en todos los experimentos.

2.2 Preparación de los especímenes de prueba

Los especímenes de acero al carbono 1018 se construyeron a partir de una barra de 5/16 pulg de diámetro con la siguiente composición: 0.14-0.20 % C, 0.60-0.90 % Mn, 0.035 % max S, 0.030 % max P y el resto de Fe. Estos dispositivos tienen una superficie expuesta de 0.5026 cm² y 4 mm de espesor. Los electrodos fueron construidos para tener contacto únicamente entre la solución y el área de sección transversal del electrodo. Los especímenes fueron montados en una base de teflón, donde se realizó un "curado" con una mezcla de resina poliéster con estireno. Antes de realizar cada experimento, los especímenes de acero al carbono se sometieron a una limpieza mecánica, por medio de un pulido con lija de carburo de silicio de grado 400 y agua, seguido de un acabado con lija de grado 600 hasta obtener una superficie homogénea. Finalmente, los electrodos se enjuagan en acetona durante 5 min en un baño de ultrasonido.

2.3. Estudio del tiempo de inmersión del acero al carbono en el medio amargo

Los electrodos de acero al carbono fueron colocados en una celda que contiene el medio alcalino amargo cuya composición es 0.1 M (NH₄)₂S y 10 ppm de CN⁻. La interfase de acero al carbono/medio amargo fue caracterizada a diferentes tiempos de inmersión utilizando la técnica de espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS). Los experimentos de impedancia se llevaron a cabo a potencial de circuito abierto (E_{corr}) aplicando una perturbación senoidal de 10 mV de amplitud, en un intervalo de frecuencias comprendido entre 10 kHz hasta 0.01 Hz. Un estudio preliminar mostró que la velocidad de rotación del electrodo no presenta un efecto significativo en los espectros de impedancia electroquímica, por lo que únicamente se muestran los espectros obtenidos sin rotación del electrodo.

2.4 Estudio de la influencia del estado superficial en el mecanismo de corrosión del acero al carbono en medio amargo

a) *Inducción del daño en la superficie del acero.
Diferentes tipos de corrosión*

Con el propósito de obtener, de manera acelerada, superficies dañadas por ampollamiento, se utilizó la técnica de cronoamperometría de pulso inverso, aplicando pulsos de potencial de ± 200 mV, respecto al potencial de corrosión (-1.1 V vs SSE).

El programa de pulsos constó de 3 s para el pulso de oxidación, seguidos de 5 s para el pulso de reducción, hasta alcanzar un tiempo de 15 min. Posteriormente, se aplicó la técnica de voltamperometría cíclica con una velocidad de barrido de 10 mV/s en una zona de potencial comprendida entre -1.150 y -1.5 mV vs SSE; el número de ciclos voltamperométricos fue ajustado con el propósito de mantener el sistema, en este tipo de perturbación por 40 min. Las pruebas se realizaron, en una solución alcalina con una concentración 1 M $(\text{NH}_4)_2\text{S}$ y 5000 ppm NaCN; debido a que, de acuerdo con la literatura, es posible observar daño por ampollamiento a partir de este medio [15].

La inducción del daño generalizado fue obtenida en un medio acuoso de 0.04 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, a temperatura ambiente. Este medio se ha propuesto, para obtener la formación de productos de corrosión similares a los obtenidos en medios de refinería [16]. En este medio, el potencial de corrosión, del acero al carbono fue de -1.240 V vs SSE. De esta manera, para preparar las superficies dañadas se utilizó un programa de 5 ciclos voltamperométricos en un intervalo de potencial comprendido entre ± 200 mV con respecto al potencial de corrosión; esto es, el barrido de potencial se llevó a cabo dentro del intervalo comprendido entre -0.840 y -1.440 V vs SSE, a una velocidad de barrido de 1 mV/s.

b) Inducción del daño en la superficie del acero.

Formación de diferentes productos de corrosión

La formación de diferentes productos de oxidación sobre la superficie del acero se llevó a cabo sobre una superficie recién pulida inmersa en un medio amargo cuya composición química es: 1 M $(\text{NH}_4)_2\text{S}$ y 500 ppm de NaCN. La inducción del daño se generó aplicando un pulso de potencial de oxidación por 5 s, seguido de un pulso de potencial de reducción por 3 s, cada uno de ellos desplazado en 200 mV, respecto al potencial de corrosión (-1 V vs SSE). Con el propósito de observar el efecto del tiempo en la formación de los productos de oxidación, el programa de pulsos se aplicó hasta alcanzar 5 diferentes tiempos de inducción: 5, 10, 15, 30 y 60 min.

Todas las soluciones utilizadas en este trabajo se prepararon con reactivos grado analítico (Merck) y agua desionizada (Mili-Q™). Una descripción detallada, en la preparación de las diferentes superficies aquí utilizadas ha sido descrita previamente en otros trabajos [1,4-14].

3. Resultados y discusión

3.1. Caracterización superficial, por microscopía electrónica de barrido (SEM), de los diferentes daños inducidos sobre acero al carbono a partir del medio alcalino amargo

En la Fig. 1, se muestran las micrografías obtenidas con las superficies preparadas de acuerdo con la metodología descrita

en la sección experimental. En esta figura, es posible observar grandes diferencias morfológicas, asociadas a los diferentes tipos de daño, generados por el tratamiento al que fue sometido el acero al carbono. Debido a que no se pretende hacer una comparación cuantitativa muy detallada, las micrografías no presentan el mismo aumento ya que fueron seleccionadas las que muestran de mejor manera modificaciones morfológicas del estado superficial del electrodo.

En la Fig. 1a se muestra la superficie recién pulida en la cual se observan algunas líneas de pulido, características del tratamiento mecánico al cual fue sometido la superficie del acero al carbono. En las Figs. 1b y 1c, es posible observar la diferencia en la morfología de las películas de productos de corrosión formadas sobre el acero al carbono, después de estar expuesto, en el medio amargo, a diferentes tiempos de inmersión. En la figura 1b, se muestra una película homogénea con propiedades pasivas (véase más abajo) [4,5,13], representativa de tiempos de inmersión cortos ($t < 1$ h). Mientras que la obtenida a tiempos de inmersión mayores a 7 h (figura 1c), se observan características de una película porosa y poco protectora (véase más abajo) [4,5,13].

La imagen correspondiente al daño por ampollamiento (Figs. 1d y 1d'), muestra la presencia de 3 diferentes zonas, claramente identificables: la zona (i) que corresponde a una película homogénea, formada durante la perturbación anódica en el tratamiento electroquímico; la zona (ii) donde es posible observar las ampollas generadas, debido a la difusión de hidrógeno atómico, producido durante la perturbación catódica en el tratamiento electroquímico, y a la formación posterior de hidrógeno molecular dentro de la estructura de la película [1,4,6,14]; y por último, la zona (iii), en donde se aprecia el rompimiento de las ampollas, lo que se asocia con la salida del hidrógeno molecular, al alcanzar una presión lo suficientemente alta como para fracturar la estructura de la película. Por otro lado en la Fig. 1e, se observa el daño por corrosión generalizada, obtenido por el tratamiento electroquímico en el medio de tiosulfato de sodio [1,6,14].

La caracterización superficial realizada por SEM, muestra que es posible inducir selectivamente, a partir de medios alcalinos amargos, diferentes daños sobre una superficie de acero al carbono: por ampollamiento y por corrosión generalizada. Además, se observó que el tipo de daño sobre la superficie de acero depende del tratamiento aplicado.

Las Figs. 1f, 1g, 1h, 1i y 1j [1,7,8,10] corresponden a las películas de productos de corrosión, formadas al aplicar el programa de pulsos de potencial descrito anteriormente (sección 2.4, apartado b) por diferentes tiempos: 5, 10, 15, 30 y 60 min, respectivamente. La superficie sometida al programa de pulsos durante 5 min (figura 1f), muestra una película homogénea y de naturaleza compacta; además, las ralladuras del tratamiento mecánico que pueden apreciarse a través de la misma indican que esta película es muy delgada. Las películas formadas aplicando el programa de pulsos de potencial durante 10 y 15 min (Figs. 1g y 1h), muestran una naturaleza policristalina, lo que es evidente por la fragmentación que se observa en ambos casos; sin embargo, en estas superficies

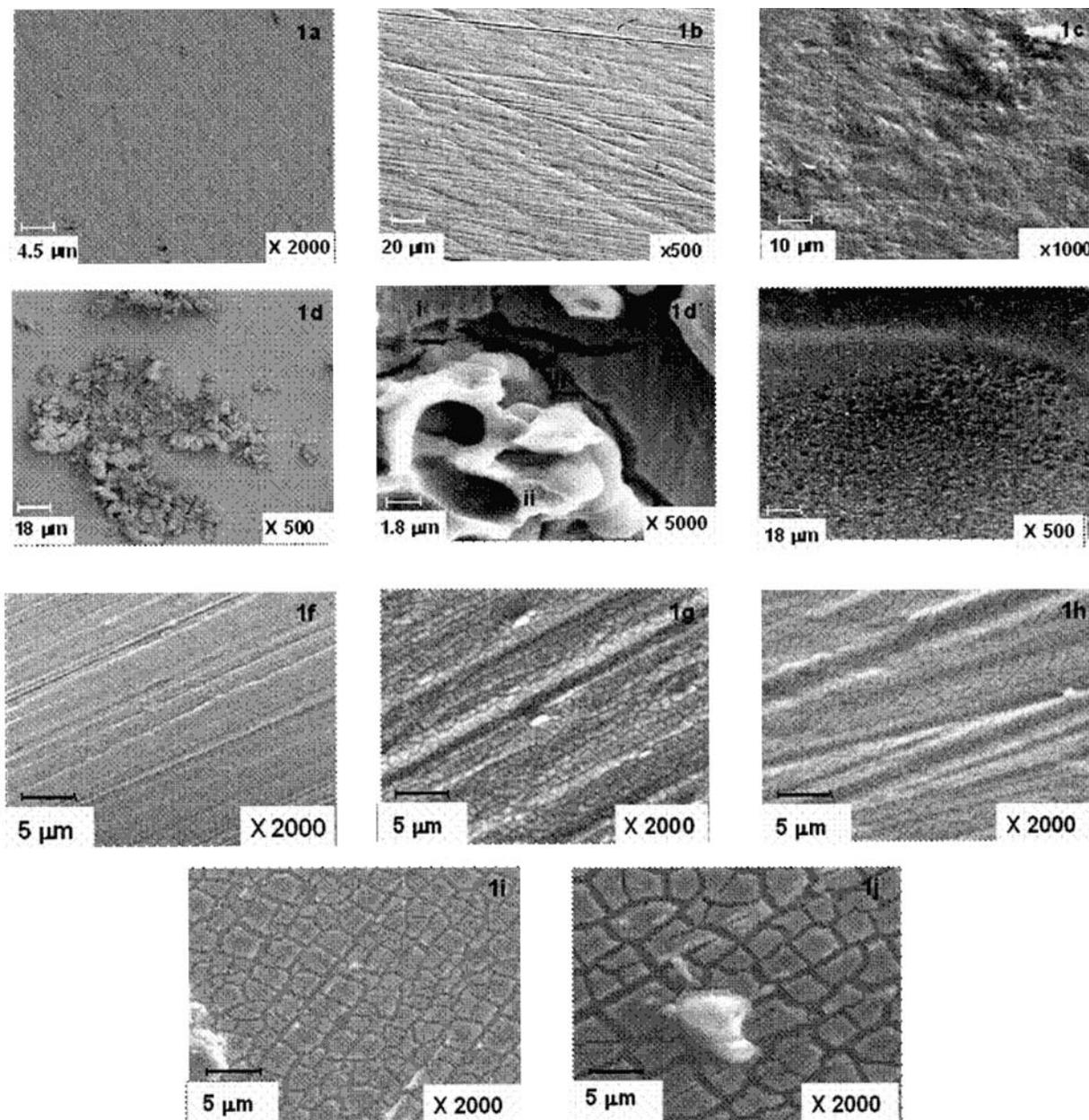


Fig. 1. Imágenes de SEM, obtenidas para superficies de acero al carbono, recién pulidas y con diferentes estados superficiales. a) Acero al carbono limpio; b) y c) películas formadas con el tiempo de inmersión; d) y e) corrosión inducida electroquímicamente por ampollamiento y generalizada, respectivamente; f), g), h), i) y j) formación electroquímica de diferentes películas de productos de corrosión, utilizando los siguientes tiempos de dañado: 5, 10, 15, 30 y 60 minutos, respectivamente.

continúan observándose las líneas del pulido. Para tiempos de formación de 30 y 60 min (Figs. 1i y 1j), se observa un crecimiento en el tamaño de las partes fragmentadas, acompañado por la desaparición de las líneas de pulido; indicando un incremento en el espesor de la película. La naturaleza eléctrica de las partes fragmentadas de las películas, es similar que las correspondientes a la parte inferior de éstas, de acuerdo a un estudio de SECM efectuado sobre estas superficies [10].

3.2. Caracterización por EIS de los estados superficiales

Para caracterizar los diferentes estados superficiales de las películas de productos de corrosión formadas sobre el acero al carbono, de acuerdo al análisis efectuado por SEM, se utilizó la técnica de espectroscopia de impedancia electroquímica. La interpretación y discusión de los resultados obtenidos con esta técnica, se iniciará con un análisis cualitativo de los espectros

de impedancia correspondientes a cada superficie caracterizada; continuando con un análisis cuantitativo, utilizando circuitos equivalentes. De esta manera, se pretende mostrar la potencialidad de esta técnica, para caracterizar las diferentes condiciones superficiales que presenta el acero al carbono, en un medio amargo alcalino.

3.2.1 Caracterización por EIS de los estados superficiales formados durante el tiempo de inmersión del acero al carbono en el medio alcalino amargo

En la Fig. 2 se muestran los diagramas típicos de impedancia, obtenidos con las superficies de acero al carbono que fueron expuestas al medio amargo (0.1 M $(\text{NH}_4)_2\text{S}$ y 10 ppm de CN^-), a los siguientes tiempos de inmersión: menores de una hora, 7, 26 y 74.5 h [4,5,13]. Los espectros de EIS de la Fig. 2, indican que la interfase acero al carbono-medio amargo alcalino, presenta un comportamiento electroquímico diferente en función del tiempo de inmersión. De esta manera, el espectro obtenido en el tiempo inicial ($t < 1$ h, Fig. 2a), muestra valores de impedancia superiores a los obtenidos con los demás tiempos de inmersión. En lo referente al espectro trazado a un tiempo de inmersión de 7 h (figura 2b), la disminución en los valores de la impedancia, hacen suponer que a

este tiempo de inmersión, el proceso de corrosión se ve favorecido, debido posiblemente a una pérdida de las propiedades de pasividad de la película formada a tiempos de inmersión menores (v.g. $t < 1$ h). Los diagramas de Nyquist de los espectros obtenidos a tiempos de inmersión mayores de 26 h (Fig. 2c), indican que se alcanza un estado estacionario a partir de este tiempo de inmersión, lo cual es evidente por la ausencia de modificaciones significativas en los espectros de impedancia, a partir de este tiempo. En un trabajo previo se presentan los diagramas de EIS para otros tiempos de inmersión que permiten soportar esta información. Este comportamiento se asocia con el establecimiento de un equilibrio dinámico entre el crecimiento de la película y su disolución [4,5]; de esta manera, el proceso de corrosión se mantiene aparentemente constante. La influencia del tiempo de inmersión en el comportamiento del diagrama de EIS, es mejor identificada en los diagramas de Bode (ángulo) correspondientes (Fig. 2d).

La utilización de ambas técnicas (EIS y SEM) permite identificar, cualitativamente, que en las etapas iniciales el proceso de corrosión del acero al carbono en medio amargo alcalino, se forma una película de productos de corrosión, con propiedades pasivas (Figs. 1b y 2a). Posteriormente, esta película pasiva es oxidada formando una película porosa con propiedades no pasivas (Figs. 1c y 2c), para tiempos de inmersión mayores de 7 h [4,5].

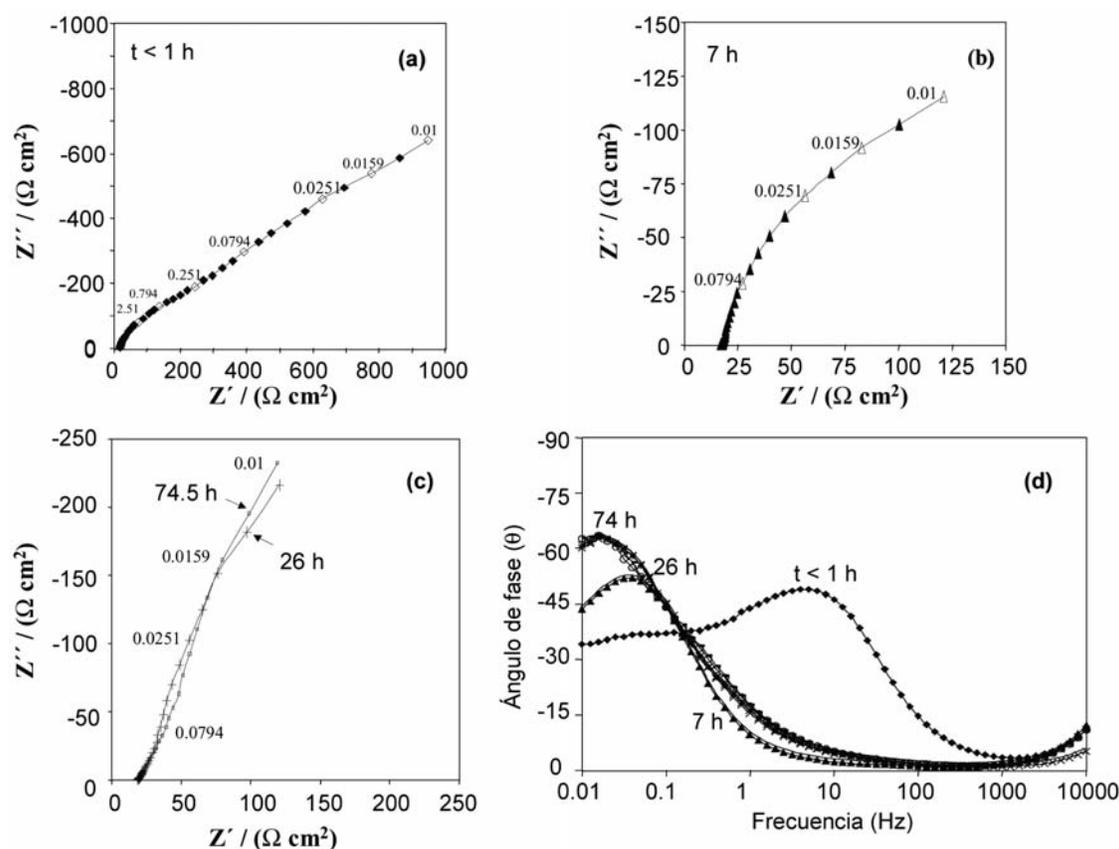


Fig. 2. Diagramas típicos de impedancia obtenidos durante la caracterización electroquímica de las películas formadas durante el tiempo de inmersión del acero al carbono en una solución 0.1M $(\text{NH}_4)_2\text{S}$, 10 ppm CN^- . Los tiempos utilizados fueron: $t < 1$, 7, 26 y 74 h. Las líneas continuas, representan el mejor ajuste obtenido, en la simulación de los diagramas experimentales por el circuito mostrado en la Fig. 5.

3.2.2 Caracterización por EIS de los estados superficiales con diferentes tipos de corrosión

Todas las superficies dañadas, siguiendo la metodología experimental ya descrita, fueron caracterizadas utilizando la técnica de espectroscopia de impedancia electroquímica, utilizando un medio amargo 0.1 M $(\text{NH}_4)_2\text{S}$ y 10 ppm de CN^- , $\text{pH}=9.2$, como medio de caracterización.

En la Fig. 3, se muestran los diagramas típicos de impedancia, obtenidos sobre superficies previamente dañadas por ampollamiento (Fig. 1d y d'); y sobre superficies a las que se les indujo una corrosión generalizada (Fig. 1e). En estos diagramas, es posible observar que las magnitudes de impedancia son mayores para la superficie dañada por ampollamiento (Fig. 3a y a'), que las obtenidas para superficies con daño generalizado (Fig. 3b y b'). Estas diferencias se deben a la morfología de las películas formadas sobre las superficies del acero (Figs. 1d y 1e).

Es importante señalar que los espectros de impedancia obtenidos con la superficie ampollada (Fig. 3a y 3a'), muestran un comportamiento electroquímico muy similar al obtenido para un tiempo de inmersión $t < 1$ h (Fig. 2a y 2d, < 1 h). Esto puede asociarse con el hecho de que ambas películas de productos de corrosión tienen morfologías similares y están

compuestas por el mismo tipo de sulfuros de hierro, a pesar de que el proceso de formación utilizado sea diferente; además, el espesor de la superficie ampollada es mayor que el obtenido por el tiempo de inmersión. Esta afirmación se basa en el hecho de que la superficie ampollada presenta magnitudes de impedancia mayores (Fig. 3a) y un ángulo de fase, en bajas frecuencias, mayor ($3 a'$), con respecto a los valores obtenidos para un tiempo de inmersión < 1 h (Fig. 2a y 2d). De esta manera, se puede observar que los diagramas de Nyquist y Bode permiten identificar de una forma rápida, las diferentes propiedades de las películas formadas sobre las superficies del acero.

Caracterización de los estados superficiales inducidos electroquímicamente (daños acelerados)

En la Fig. 4a se muestran los diagramas de impedancia obtenidos para películas previamente formadas utilizando el programa descrito en la sección 2.4 apartado b, para tiempos de pulso de 5, 10 y 15 min, cuyas imágenes se muestran en las Fig. 1f, 1g y 1h; mientras que en la Fig. 4b se muestran los espectros asociados a las películas formadas a los tiempos de 30 y 60 min, correspondientes a las imágenes de las Figs.

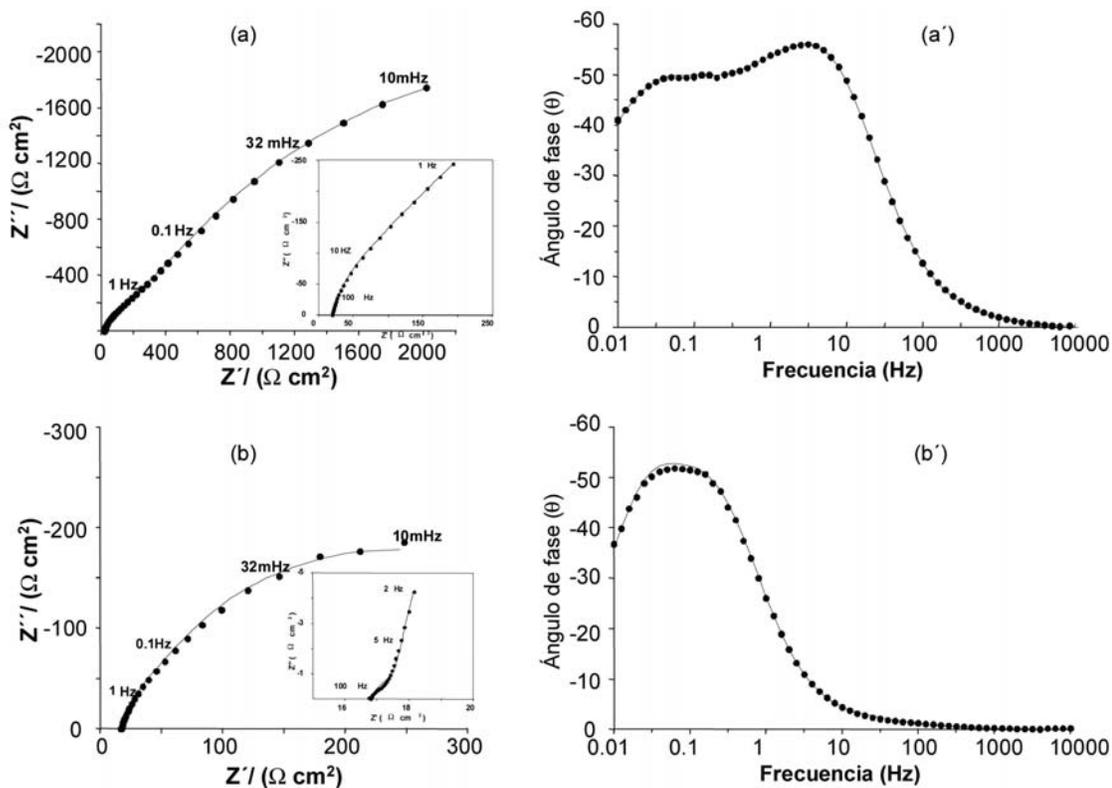


Fig. 3. Diagramas típicos de impedancia obtenidos durante la caracterización electroquímica de superficies con diferente tipo de corrosión, en una solución 0.1M $(\text{NH}_4)_2\text{S}$, 10 ppm CN^- . a) y a') respuesta obtenida para una superficie con corrosión por ampollamiento y b) y b') corrosión generalizada. Las líneas continuas representan el mejor ajuste obtenido en la simulación de los diagramas experimentales por el circuito mostrado en la Fig. 5.

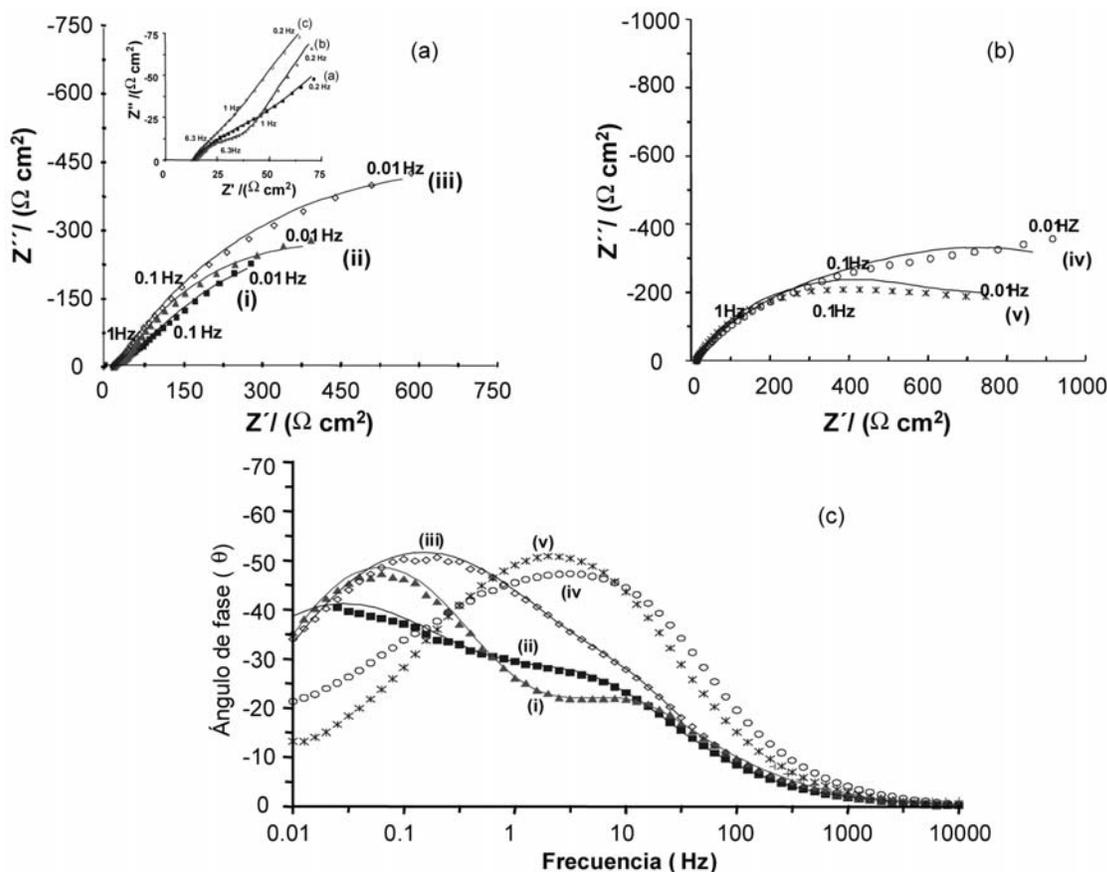


Fig. 4. Diagramas típicos de impedancia obtenidos para películas de productos de corrosión formadas electroquímicamente (a diferentes tiempos de oxidación/reducción) y caracterizadas en una solución 0.1M $(\text{NH}_4)_2\text{S}$, 10 ppm CN⁻. Películas formadas a i) 5, ii) 10, iii) 15, iv) 30 y v) 60 minutos. Las líneas continuas representan el mejor ajuste obtenido en la simulación de los diagramas experimentales por el circuito mostrado en la Fig. 5.

li y lj. La respuesta electroquímica de estas películas muestra un comportamiento muy similar en todas ellas excepto en la región de bajas frecuencias. Para tiempos de formación de 5 a 15 min (Fig. 4a), se observa un ligero incremento en las magnitudes de impedancia con el incremento del tiempo de formación. Para tiempos de 30 y 60 min (Fig. 4b), en la zona de bajas frecuencias se observa el comportamiento inverso, una disminución en las magnitudes de impedancia con el incremento en el tiempo de formación de la película; haciendo difícil la interpretación del mecanismo de corrosión estudiado. Mientras que los diagramas de Bode correspondientes (Fig. 4c) muestran claramente la presencia de tres constantes de tiempo, que se modifican en las zonas de frecuencia intermedias (100 a 1 Hz) y bajas (menores a 1 Hz), y estas modificaciones dependen del tiempo de formación de las películas (estado superficial).

Las magnitudes de impedancia observadas para las superficies así preparadas podrían indicar que las películas formadas sobre el electrodo son de naturaleza porosa; o bien que la composición química de los productos de corrosión formados es diferente. El análisis de las micrografías de SEM, obtenidas

para estas superficies (Figs. 1f, 1g, 1h, 1i y 1j), permite descartar la primera hipótesis, ya que es posible apreciar que para todos los casos, las películas formadas muestran una naturaleza homogénea y compacta. De esta manera, las propiedades fisicoquímicas de estas películas, asociadas con su reactividad, son las responsables de dicho comportamiento. Una caracterización *ex situ* permitió corroborar esta hipótesis utilizando la técnica de XPS informada en trabajos previos [1,10]. En esta caracterización, el estudio del perfil de composición química en películas formadas empleando la misma metodología permitió establecer que cerca de la interfase metal-película, la película se compone principalmente por sulfuros de hierro. Mientras que en la parte externa de ésta, su composición consta de óxidos, hidróxidos, y azufre elemental, entre otros [9,10]. Es importante señalar que esta variación en la composición química en función del espesor de la película, se obtiene cuando se incrementa el tiempo de formación (vía electroquímica); mientras que las películas formadas en función del tiempo de inmersión (evolución natural), están constituidas primordialmente por sulfuros de hierro. La diferente composición de las películas de productos de corrosión, explica las

variaciones en la forma y magnitud de los espectros de impedancia obtenidos para cada película. El análisis anterior, permite resaltar la sensibilidad de la técnica de espectroscopia de impedancia electroquímica, para identificar y diferenciar las propiedades fisicoquímicas y eléctricas, de las películas formadas sobre la superficie del acero.

3.3 Análisis cuantitativo de los diagramas de impedancia obtenidos para los diferentes estados superficiales a través de circuitos equivalentes

Con el fin de establecer una relación cuantitativa entre los espectros de EIS y los estados superficiales, se lleva a cabo un análisis por circuitos equivalentes de los diagramas de impedancia experimentales. El circuito equivalente propuesto considera inicialmente el número de constantes de tiempo involucradas en el proceso de corrosión. Debido a su sensibilidad, la identificación de estas etapas se lleva a cabo en los diagramas de Bode, de cada uno de los espectros experimentales (figuras 2d, 3a', 3b', 4c). El proceso de corrosión de las diferentes interfases, en contacto con el medio amargo, presenta la contribución de 3 diferentes etapas, que se llevan a cabo simultáneamente; a excepción del caso obtenido, para la superficie con un tiempo de inmersión de 7 h (Fig. 2d), en la cual únicamente se definen 2 constantes de tiempo. En la Fig. 5, se muestra el circuito eléctrico equivalente, utilizado para llevar a cabo la simulación de los datos experimentales de las Figs. 2 a 4.

La interpretación física de este circuito ha sido ampliamente discutida y defendida en la literatura, en la que dependiendo de la interfase en estudio, sus elementos eléctricos pueden tomar diferentes significados. Una descripción detallada de este circuito, cuando es utilizado en estudios del proceso de corrosión del acero en medios amargos, se encuentra descrita en trabajos previos [1,4-7,10, 11-14]. Este circuito, considera una R_s , asociada a la resistencia de solución; una capacitancia asociada a la película de productos de corrosión, la que es evaluada a través de un elemento de fase constante (Q_1), y su respectiva resistencia de transferencia de carga del proceso de oxidación (R_1); además, dos procesos

difusionales son considerados con la inclusión de los arreglos eléctricos R_2-Q_2 y R_3-Q_3 . Estos procesos están asociados, respectivamente, con la difusión de iones hierro, de la superficie del electrodo hacia el seno de la solución; y con la difusión del hidrógeno atómico, de la superficie de la película hacia el interior de la misma. De esta manera, ambos procesos difusivos, se llevan a cabo a través de la película de productos de corrosión analizada.

En las Figs. 2 a 4, la línea continua representa el ajuste obtenido utilizando el circuito equivalente de la Fig. 5. En la tabla 1, se presentan los valores de los parámetros obtenidos con el mejor ajuste de los datos experimentales, usando el circuito propuesto y el programa ajuste de regresión no lineal por mínimos cuadrados creado por Boukamp [17]. Por otro lado, partiendo del elemento de fase constante 1 (Q_1) y la resistencia 1 (R_1), es posible obtener un valor de pseudocapacitancia, por medio de la siguiente expresión: $C = (Y_0 \times R_1)^{1/n} / R_1$. Cabe señalar que cuando el valor de n es 1, el valor de Y_0 , corresponde directamente a la capacitancia de la película. Una desviación de este valor considera aspectos de rugosidad de las superficies estudiadas [17,18]. En este trabajo, la relación cuantitativa entre los diagramas de EIS y los estados superficiales se lleva a cabo únicamente discutiendo las variaciones obtenidas en los siguientes parámetros: C , R_1 , R_2 , R_3 .

Variación del parámetro C

Las medidas de capacitancia son un término eléctrico, que contiene información tanto de la composición química, como de las propiedades conductoras de los materiales. La variación en los valores de capacitancia (tabla 1), confirma la formación de diferentes productos de corrosión, o bien un cambio en la morfología de la película. Para los estados superficiales formados en el acero en medio amargo, se observa un incremento, en dos órdenes de magnitud, en los valores de capacitancia con el incremento del tiempo de inmersión; esta variación indica la formación de una película pasiva y homogénea para un tiempo de $t < 1$ h, mientras que a tiempos mayores, existe la formación de una película porosa y con propiedades conductoras. Estas modificaciones en valores de capacitancia, están de acuerdo a lo informado en la literatura, debido a que se ha propuesto, que conforme aumenta la porosidad de las películas, el valor de capacitancia es mayor (del orden de milifaradios, mF) [18]. Mientras, que los valores de capacitancia para películas pasivas, son del orden de 20 a 200 mF [19-20]. Esta diferencia en propiedades morfológicas de los diversos productos de corrosión formados, es confirmada por las micrografías de SEM, mostradas en la Fig. 1b y 1c.

Para la superficie ampollada, el valor de capacitancia es ligeramente mayor que el obtenido para un tiempo de inmersión de $t < 1$ h. Esta diferencia está asociada a una modificación de la composición química de las películas. Como se ha mencionado más arriba, durante la descripción de los diagramas de impedancia, la relación de sulfuros - óxidos de hierro, en la película formada en función del tiempo de inmersión, es

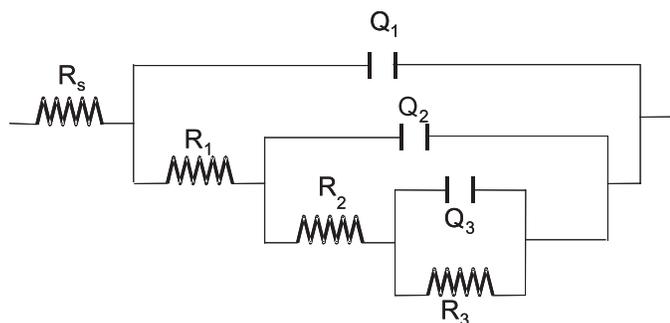


Fig. 5. Circuito eléctrico equivalente, utilizado para simular los diagramas de impedancia experimentales, obtenidos durante la caracterización electroquímica de diferentes superficies de acero al carbono, en contacto con una solución 0.1M $(NH_4)_2S$, 10 ppm CN^- .

diferente, que cuando se forma utilizando perturbaciones electroquímicas, como es el caso de las superficie con ampollamiento. La magnitud de la capacitancia obtenida para una superficie de acero con un daño generalizado, confirma la naturaleza conductora y porosa de los productos de corrosión formados (Fig. 1e).

Por otro lado, los valores bajos de capacitancia (120 – 210 mF) obtenidos para las películas formadas a diferentes tiempos de pulso potencioestático, son representativos de películas pasivas y homogéneas. Este último argumento, es confirmado por el estudio de SEM mostrado inicialmente (Figs. 1f, 1g, 1h, 1i y 1j). Sin embargo, las magnitudes de impedancia obtenidas (figura 4), indican la alta conductividad eléctrica de estas películas; lo que sugiere la presencia de otros productos de corrosión, con propiedades conductoras, además de los sulfuros de hierro ya mencionados anteriormente.

Variación del término R_1

En la Tabla 1, es posible observar que el término R_1 , asociado al proceso de oxidación del acero en la interfase metal – película, es muy pequeño; indicando que el proceso de oxidación ocurre de forma rápida. Sin embargo, este valor de resistencia, no interviene de manera significativa en el proceso de corrosión; lo anterior se debe a que los procesos difusionales a través de la película, son los que controlan la disolución del acero en estos medios [1,3-14]. Este hecho puede ser el responsable de que la evaluación de la velocidad de corrosión del acero al carbono en este medio, se considere poco confiable, de acuerdo a lo reportado en la literatura [3].

Variación de los términos asociados a los procesos difusionales

El arreglo eléctrico R_2 y Q_2 , asociado al proceso de difusión de los iones Fe^{2+} de la interfase metal – película a la interfase película - solución, se ve modificado dependiendo de las características de las películas formadas. Cuando las películas son porosas, por ejemplo, las obtenidas para tiempos de inmersión mayores de 26 h (Fig. 1c), o la obtenida por un daño generalizado (Fig. 1e), este fenómeno difusional es favorecido (obteniéndose valores de resistencia asociados al término R_2 , menores, ver tabla 1). Por otro lado, este comportamiento, también es obtenido cuando existe la adsorción de especies químicas en la interfase película – solución, que aceleran su proceso de difusión, como son los iones HS^- o bien OH^- . Ejemplo de ello, son las películas formadas a tiempos de 5, 10, 15, 30 y 60 min, justificando la similitud en los valores de R_2 , para estos casos (ver tabla 1). Esta adsorción, es promovida, por la diferencia en composición química que presentan las películas formadas electroquímicamente, en función de su espesor [1,10]. Finalmente, la homogeneidad de las películas formadas con un tiempo de inmersión de $t < 1$ h, o bien por la inducción de un daño por ampollamiento, provoca que el pro-

Tabla 1. Valores de los elementos eléctricos, obtenidos del mejor ajuste de los diagramas de impedancia para los diferentes estados superficiales considerados, y que fueron obtenidos, en el medio amargo, utilizando el circuito eléctrico equivalente de la Fig. 5.

Estados superficiales formados durante el tiempo de inmersión						
		Q_1				
	C (mF)	R_1 (Ω)	R_2 (W)	R_3 (W)	$Y_0 \times 10^3$	n
0 h	90	4	384	9611	0.09	1
26 h	3340	12	74	2125	7	0.77
74 h	5754	29	238	6568	9.5	0.72
Estados superficiales con diferente tipo de corrosión						
Ampollada	203	67	623	13243	0.37	0.86
Generalizada	4440	2	50	443	4.88	0.98
Estados superficiales de películas formadas electroquímicamente a diferentes tiempos						
5 min	210	7	110	2142	0.21	1
10 min	120	5	64	1516	0.12	1
15 min	150	4	74	2640	0.15	1
30 min	161	2	102	1301	0.36	0.9
60 min	210	6	128	668	0.41	0.9

ceso de difusión de los iones Fe^{2+} , se vea más impedido, lo que es evidente al observar los valores de R_2 en la Tabla 1.

En lo que respecta al arreglo eléctrico R_3 y Q_3 , asociado al proceso difusional del hidrógeno atómico a través de los productos de corrosión, al igual que en el caso anterior, es favorecido cuando existe la formación de películas porosas, o bien la presencia de superficies heterogéneas. Por ejemplo, la superficie con daño generalizado (Fig. 1e), donde R_3 tiene el valor más bajo (ver Tabla 1); así como, en las películas obtenidas por la aplicación de pulsos potencioestáticos por 30 y 60 minutos. Por el contrario, en las películas formadas en $t < 1$ h; y las crecidas con ampollamiento, muestran que este proceso de difusión es retardado (valores de R_3 de 9.6 K Ω y 13.2 K Ω , respectivamente). Cabe señalar que la difusión de hidrógeno atómico hacia la estructura metálica, es la responsable de un tipo de corrosión localizada (conocida como ampollamiento), que se presenta típicamente en plantas de refinación de petróleo, donde se generan medios amargos alcalinos, como es el caso de las plantas catalíticas, FCC y de hidrodesulfuración, HDS.

De esta manera, las modificaciones observadas cualitativa y cuantitativamente, en las constantes de tiempo de los diagramas de impedancia, permiten justificar y validar la asignación de las etapas que intervienen en el proceso de corrosión del acero al carbono en medios amargos. La comparación de estas modificaciones, con la morfología de las películas detectada a través de SEM, permite proponer la viabilidad en la utiliza-

ción de la técnica de EIS, para evaluar el estado superficial de las películas de productos de corrosión que podrían ser formadas sobre superficies de acero en ambientes amargos.

4. Conclusiones

En este trabajo se muestra la versatilidad en la utilización de la técnica de espectroscopia de impedancia electroquímica para estudiar, identificar y caracterizar las propiedades morfológicas y eléctricas, de diferentes estados superficiales presentes en el acero al carbono, cuando es expuesto a un medio amargo representativo de los condensados de plantas catalíticas de refinación del petróleo ($\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$, HS^- , CN^-). Las superficies dañadas fueron preparadas por un lado, permitiendo la generación espontánea y natural de productos de corrosión con el tiempo de inmersión del acero en medio amargo; y por otro, se llevó a cabo la inducción electroquímica de forma acelerada, de diferentes superficies, utilizando un medio amargo altamente concentrado. La caracterización morfológica, de estos estados superficiales, fue corroborada utilizando la técnica de SEM. Finalmente, las modificaciones obtenidas en los diagramas de impedancia y un análisis por circuitos equivalentes, permiten soportar las características morfológicas observadas en las diferentes superficies por SEM.

Agradecimientos

R. Cabrera-Sierra, agradece al CONACYT la beca otorgada para estudios de Doctorado. Así mismo, se agradece el permiso de COTEPABE – IPN, para continuar estudios de Doctorado. I. González agradece a Conacyt (Proyecto SEP-2004-CO1-47162) por el apoyo financiero.

Referencias

1. Sosa Hernández, E. Tesis de Doctorado. «Caracterización por técnicas electroquímicas y espectroscópicas de productos de corrosión (FexSy) formados sobre el acero al carbono en medios amargos alcalinos». Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. **2002**.
2. Marín-Cruz, J. Tesis de Maestría. «Formación y caracterización electroquímica de incrustaciones de carbonato de calcio, sobre acero al carbono en sistemas de enfriamiento». Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. **2001**.
3. Cabrera-Sierra, R. Tesis de Licenciatura. «Evaluación de la resistencia de polarización y de la velocidad de corrosión del acero al carbono 1018 en ambientes de refinería. Instituto Politécnico Nacional - ESIQIE (1999).
4. Cabrera-Sierra, R. Tesis de Maestría. «Estudio Electroquímico del Proceso de corrosión del acero al carbono 1018 en ambientes de refinería». Instituto Politécnico Nacional - ESIQIE (2001).
5. Cabrera-Sierra, R.; García-Maldonado, I.; Sosa, E.; Oropeza, T.; González, I. *Electrochim. Acta.* **2000**, *46*, 487.
6. Sosa, E.; Cabrera-Sierra, R.; García, I.; Oropeza, M.T.; González, I. *Corros. Sci.* **2002**, *44*, 1515.
7. Sosa, E.; Cabrera-Sierra, R.; Rincón, M.E.; Oropeza, M.T.; González, I. *Electrochim. Acta.* **2002**, *47*, 1197.
8. Sosa, E.; Hernández, F.; Casillas, N.; Cabrera-Sierra, R.; Oropeza, T.; González, I. *J. Electrochem. Soc.* **2003**, *150*, E237.
9. Sosa, E.; Cabrera-Sierra, R.; Oropeza, M. T.; Hernández, F.; Casillas, N.; Tremont, R., Cabrera, C.; González, I. *Electrochim. Acta.* **2003**, *48*, 1665.
10. Sosa, E.; Cabrera-Sierra, R.; Oropeza, M.T.; Hernández, F.; Casillas, N.; Tremont, R.; Cabrera, C.; González, I. *J. Electrochem. Soc.* **2003**, *150*, B530.
11. Cabrera-Sierra, R.; Miranda-Hernández, M.; Sosa, E.; Oropeza, M.T.; González, I. *Corros. Sci.* **2001**, *43*, 2305.
12. Sosa, E.; Cabrera-Sierra, R.; Oropeza, M.T.; González, I. *Corrosion* (NACE). **2002**, *58*, 659.
13. Cabrera-Sierra, R.; Sosa, E.; Oropeza, M.T.; González, I. *Electrochim. Acta.* **2002**, *47*, 2149.
14. Sosa, E.; Cabrera-Sierra, R.; Oropeza, M.T.; González, I. *J. Appl. Electrochem.* **2002**, *32*, 905.
15. Wilhem, S.M.; Abayarathna, D. *Corrosion* (NACE). **1994**, *50*, 152.
16. Tsujukawa, S.; Miyasaka, A.; Ueda, M.; Ando, S.; Shibata, T.; Haruna, T.; Katahira, M.; Yamane, Y.; Aoki, T.; Yamada, T. *Corrosion* (NACE). **1993**, *49*, 409.
17. Boukamp, B.A., in: Users manual equivalent circuit, ver. 4.51, Faculty of Chem. Tech., University of Twente, The Netherlands, **1993**.
18. Bonnel, A.; Dabosi, F.; Deslouis, C.; Duprat, M.; Keddad, M.; Tribollet, B. *J. Electrochem. Soc.* **1983**, *130*, 753.
19. Macdonald, D.D.; Smedley, S.I. *Electrochim. Acta.* **1990**, *35*, 1949.
20. Macdonald, D.D.; Ismail, K.M.; Sikora, E. *J. Electrochem. Soc.* **1998**, *145*, 3141.

Fraccionamiento Campo-Flujo aplicado al análisis de proteínas

Joseantonio Godoy,^{*,1} Judith Jaimez,¹ Ana María Botana²

¹ Centro de Investigaciones Químicas. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Carr. Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, Pachuca, Hgo. México. Tel. 771-7172000 ext. 6501. jgodoy@uaeh.reduaeh.mx

² Universidad de Santiago de Compostela. Campus Lugo. Lugo, España.

Resumen. La técnica de Fraccionamiento Campo-Flujo (FFF) ha experimentado un gran crecimiento en los últimos años aplicándose a diversas áreas analíticas. La detección mediante Luz Láser Dispersada (MALLS) se muestra como uno de los pocos métodos absolutos de caracterización que acoplado a un sistema de separación constituyen una poderosa herramienta para el análisis. Se presenta un panorama general de las bases teóricas y experimentales de la FFF. Se exponen los resultados obtenidos en el análisis de muestras de suero de queso y requesón.

Palabras clave: Fraccionamiento Campo-Flujo, proteínas, suero de queso

Abstract. The Field Flow-Fractionation (FFF) technique has experienced a great development in the last years and has been applied to diverse analytical areas. The detection system by Light Scattering (MALLS) is one of the few absolute methods of characterization, which coupled to a separation system constitutes a powerful tool in the analytical area. In this work, a general panorama of the theoretical and experimental basis of the FFF technique are given. We present the results obtained in the analysis of cheese whey samples.

Key words: Field Flow Fractionation, proteins, cheese whey

Introducción

La idea básica de la técnica de Fraccionamiento Campo-Flujo (Field-Flow Fractionation, FFF) surgió en 1966 con la comunicación hecha por Giddings [1], en la cual describe un nuevo concepto de fraccionamiento. La aplicación de este concepto a macromoléculas es de especial interés puesto que estos materiales son difíciles de separar cromatográficamente, lo anterior es debido a que muestran una precaria distribución y un equilibrio lento entre las dos fases en la separación cromatográfica. Las técnicas basadas en la cromatografía por exclusión de tamaños (SEC) son las que se han utilizado más ampliamente para la caracterización de materiales poliméricos, dado que esencialmente proporcionan información acerca del tamaño molecular y la distribución de la muestra en el disolvente elegido para el análisis. No obstante la amplia variedad de aplicaciones de estas técnicas, tienen algunos inconvenientes como la limitación en cuanto al rango de masas moleculares que se pueden resolver mediante una columna SEC determinada. Otro inconveniente encontrado son las altas presiones a las que son sometidas las moléculas a su paso a través de estas columnas, lo que origina cierta degradación de los polímeros, estudios realizados en un canal de FFF utilizando muestras de 2×10^7 gmol⁻¹ mostraron que el proceso es esencialmente no destructivo [2].

Desde que la técnica de Fraccionamiento Campo-Flujo fue desarrollada [1], se han investigado una variedad de sub-técnicas las cuales difieren entre ellas en la naturaleza del campo aplicado para fraccionar los solutos (macromoléculas) [3-5]. La sub-técnica Flow FFF (FFFF) es la más universal de todas las técnicas de FFF y puede ser aplicada a partículas dispersas o solubles dentro de las que se encuentran las proteínas [6-10]. La separación por FFFF está basada en el coeficiente

de difusión D de las muestras [11], la separación obtenida por FFFF abarca un amplio rango en masas moleculares desde $\sim 10^4$ hasta $\sim 10^{12}$ (gmol⁻¹) y solamente requiere que la muestra sea soluble o esté dispersa en la fase móvil [12].

Para el fraccionamiento y análisis de proteínas en la leche se han empleado una variedad de técnicas de las cuales las más comunes han sido electroforesis [13-18] y HPLC [18-21]. Para el análisis de productos lácteos por medio de FFF se han empleado principalmente las sub-técnicas de flujo [22-24] y sedimentación [23-27], de los trabajos referidos se han estudiado principalmente las micelas de las caseínas en diferentes tipos de muestra como son leche desnatada, crema, leche en polvo, helado, y extractos proteicos de caseína, en este trabajo se realiza un análisis de diferentes muestras de suero de queso y requesón liofilizadas, obtenidas después de una serie de filtrados y con las cuales se estudiará el fraccionamiento obtenido con la columna de FFFF y la detección con un sistema multiangular de luz láser (MALLS), con la finalidad de caracterizar las muestras eluyentes.

Un método absoluto para determinar pesos moleculares es aquel que no requiere el uso de polímeros estándares para realizar una recta de calibrado. Uno de los pocos métodos absolutos para cuantificar masas molares es la técnica de Dispersión Multiangular de Luz Láser (Multiangle Laser Light Scattering, MALLS), la cual abarca un amplio rango de detección en masas molares [28]. Sin embargo, esta técnica requiere la separación de las especies a analizar, si existe una mezcla de moléculas, el resultado será el promedio del peso molecular M_w de las especies presentes [29].

Entonces, con el acoplamiento de una técnica de separación como la FFFF con un detector MALLS se obtiene una herramienta poderosa para la separación e identificación de una gran variedad de compuestos.

Teoría

El mecanismo de separación de la técnica FFF es fundamentalmente cromatográfico, sin embargo, técnicamente hablando no pertenece a este tipo de separaciones [30] debido a que el efecto de partición ocurre en una sola fase, no en dos como en la cromatografía.

La técnica FFF es un método de separación donde los solutos son fraccionados al pasar por un canal; sin embargo, no existe una fase estacionaria que cause la retención y separación de las moléculas. Dicha separación se lleva a cabo en un canal sin relleno mediante una fuerza externa aplicada [31], que es la única responsable de dicho fraccionamiento. El término “columna” empleado en cromatografía, se sustituye aquí por el de “canal”, debido a la geometría característica del mismo [32].

La Fig. 1 muestra una vista lateral del canal empleado, en el cual se mueve un flujo laminar con un perfil de tipo parabólico.

Si se inyectan diferentes tipos de moléculas o partículas en un canal abierto y solamente se aplica un flujo unidireccional a lo largo del mismo, se puede esperar una separación pequeña o nula de las especies debido a la ausencia de fuerzas que induzcan la migración diferencial de las moléculas. Sin embargo, todo esto cambia si se aplica una fuerza que provoque el fraccionamiento de las especies. El objetivo de aplicar dicha fuerza, denominada aquí *campo*, es dirigir a las diferentes partículas o macromoléculas a diferentes posiciones en el flujo parabólico, de forma que sean eluidas a diferentes velocidades y salgan así a diferentes tiempos del canal.

La mayoría de los canales en FFF son estructuras estrechas en forma de cinta como lo muestra la Fig. 2. El flujo parabólico necesario se encuentra situado entre las paredes superior e inferior del canal; la pared inferior se denomina *pared de acumulación* puesto que es ahí donde se depositan las partículas que posteriormente serán separadas.

Tan pronto como la muestra entra al canal de FFF queda expuesta al campo y es forzada a moverse hacia la pared de acumulación para minimizar su energía potencial. Adquiere así un estado estable de velocidad U , proporcional a la fuerza

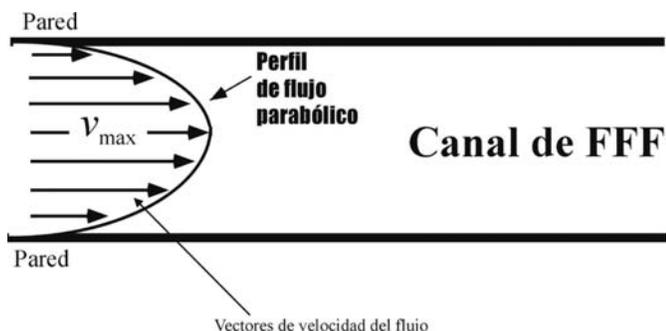


Fig. 1. Vista transversal de un canal de Fraccionamiento Campo-Flujo.

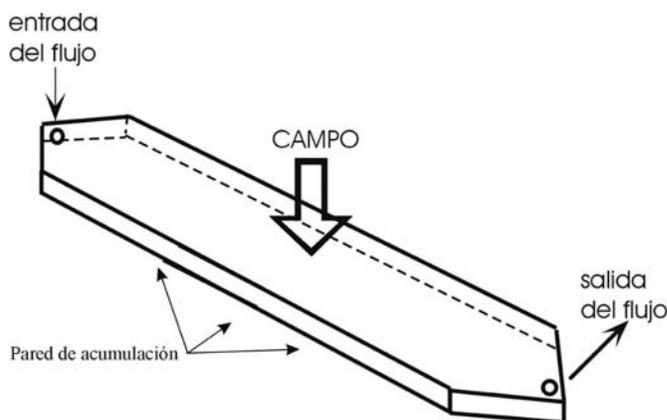


Fig 2. Vista de un canal típico empleado en FFF.

de interacción con el campo aplicado. Puesto que la muestra es incapaz de atravesar la pared de acumulación, comienza a concentrarse sobre la misma hasta alcanzar un equilibrio de distribución. La capa formada tiene una distribución de concentración de tipo exponencial, cuyo grosor viene determinado por la fuerza del campo y por el coeficiente de difusión D de la muestra.

La siguiente ecuación muestra la citada distribución de concentración:

$$c = c_0 e^{-x/l} \tag{1}$$

donde c representa la concentración a una distancia x de la pared de acumulación; c_0 es la concentración en la pared cuando $x=0$ y l es el grosor promedio de la capa formada [2]. La Fig. 3 es una representación esquemática de la formación exponencial de la capa de soluto. El grosor de la capa representado por el parámetro l viene definido por:

$$l = \frac{D}{U} \tag{2}$$

Esta ecuación muestra cómo l se establece como un balance entre dos influencias que se neutralizan mutuamente: el proceso de difusión ($D =$ coeficiente de difusión), el cual tiende a incrementar l y el movimiento de la partícula hacia la pared. Puesto que las diferentes especies tienen diferentes valores de U y D , cada una tendrá un valor dado de l , lo que origina que estén situadas en distintas secciones del flujo y sean eluidas a diferentes velocidades como ya se ha mencionado anteriormente.

Para relacionar matemáticamente la teoría y la experimentación [33], se introdujo el parámetro de retención λ el cual es esencialmente una forma adimensional de l :

$$\lambda = \frac{l}{w} = \frac{D}{Uw} \tag{3}$$

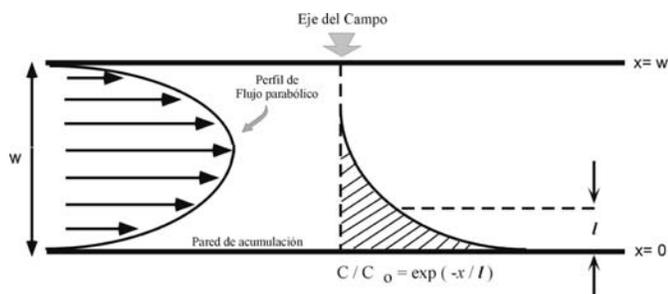


Fig. 3. Formación exponencial de la capa.

donde w es el grosor del canal. Puesto que l está relacionada con el grosor de la capa, y dicho grosor determina la separación, l es el parámetro fundamental más importante en FFF.

Si se utiliza la relación existente entre U y la fuerza del campo F como muestra la siguiente ecuación:

$$U = \frac{F}{f} \tag{4}$$

donde f es el coeficiente de fricción molar, y la ecuación de Stokes-Einstein para el coeficiente de difusión D :

$$D = \frac{kT}{f} \tag{5}$$

donde k es la constante de Boltzman, y T es la temperatura absoluta, al sustituir las Ecs. 4 y 5 en la Ec. 3 se obtiene la siguiente expresión para el parámetro de retención:

$$\lambda = \frac{kT}{Fw} \tag{6}$$

Esta ecuación muestra que l es la relación adimensional entre dos energías: la energía térmica kT y la energía utilizada en mover una partícula a través del grosor del canal w .

Combinando la Ec. 3 y la Ec. 6 se obtiene que el grosor promedio de la capa l viene representado por:

$$l = \frac{kT}{F} \tag{7}$$

Esta ecuación muestra que el valor de l perteneciente a cualquier especie, es inversamente proporcional a la fuerza de interacción de dichas especies con el campo aplicado: por lo tanto, diferentes fuerzas actuantes darán como resultado diferentes grosores de capa para las distintas especies (Fig. 4).

El movimiento de las especies a lo largo del canal está caracterizado por la relación de retención R , la cual podemos expresar mediante [34]:

$$R = \frac{6l}{w} \left[\coth(w/2l) - (2l/w) \right] \tag{8}$$

Por consiguiente, la retención está controlada exclusivamente por la relación existente entre el grosor de la capa l y el del canal w . La Ec. 8 puede expresarse en términos de l :

$$R = 6\lambda \left[\coth\left(\frac{l}{2\lambda}\right) - 2\lambda \right] \tag{9}$$

El término que aparece dentro de los corchetes se aproxima rápidamente a la unidad cuando el valor de l decrece, por lo tanto para muchas aplicaciones donde se tienen campos altamente interactivos, la retención se reduce a la sencilla ecuación:

$$R = 6\lambda \tag{10}$$

Experimentalmente el valor de R se obtiene mediante la medición de los volúmenes de retención V_r , o mediante los tiempos de retención t_r de las especies:

$$R = \frac{t^0}{t_r} = \frac{V^0}{V_r} \tag{11}$$

V^0 (volumen muerto) y t^0 (tiempo muerto) son calculados a partir de compuestos no retenidos mediante la siguiente ecuación:

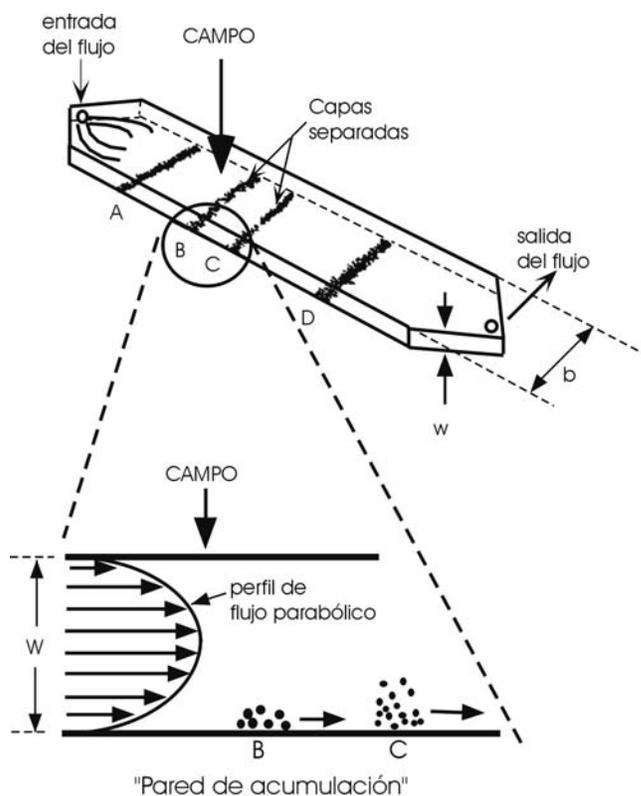


Fig. 4. Esquema de la separación llevada a cabo en un canal de FFF.

$$t^0 = \frac{V^0}{V} \quad (12)$$

donde V es el flujo a lo largo del canal.

En la subtécnica FFFF se puede relacionar el valor del tiempo de retención obtenido experimentalmente con el coeficiente de difusión mediante:

$$t_r = \frac{w^2}{6D} \cdot \frac{V_c}{V} \quad (13)$$

Esta igualdad muestra que el tiempo de retención bajo condiciones normales es inversamente proporcional al coeficiente de difusión D , y también que puede ser modificado mediante cambios en las relaciones del flujo V y del campo V_c .

Si se utiliza la ecuación de Stokes-Einstein (Ec. 5), la Ec. 13 permite observar la relación entre el tiempo de retención t_r y el coeficiente de fricción f mediante:

$$t_r = \frac{w^2 f}{6kT} \cdot \frac{V_c}{V} \quad (14)$$

Se sabe además que la ley de Stokes relaciona f con el diámetro de Stokes (o diámetro hidrodinámico) d de la molécula o partícula mediante:

$$f = 3\pi\eta d \quad (15)$$

donde η es la viscosidad de la fase móvil; a partir de aquí se puede obtener la relación existente entre el tiempo de retención t_r y el diámetro d de la partícula por medio de:

$$t_r = \frac{\pi\eta w^2}{2kT} \cdot \frac{V_c}{V} \cdot d \quad (16)$$

Esta expresión demuestra que t_r es directamente proporcional a d bajo prácticamente la mayoría de las condiciones de operación.

Se han obtenido así las relaciones existentes entre el tiempo de retención y las propiedades fundamentales de transporte, es decir: el coeficiente de difusión D (Ec. 13), el coeficiente de fricción f (Ec. 14) y el diámetro hidrodinámico d (Ec. 16), lo que permitirá conocer dichas propiedades a partir de valores experimentales de t_r .

Parte Experimental

Reactivos utilizados para las fases móviles, patrones y tensioactivos.

- *Fases móviles:*
 - Agua ultra pura calidad Milli-Q (Millipore)
 - Na_2HPO_4 (Panreac, P. A.)
 - NaH_2PO_4 (Panreac, P. A.)
 - NaCl (Panreac, P. A.)
 - Azida sódica (Sigma)
- *Proteínas:*
 - α -quimotripsinógeno A (Sigma)
 - Albúmina de suero bovino, BSA (Sigma)
 - Aldolasa (Sigma)
 - Ferritina (Sigma)
 - Proteína de suero de queso y requesón liofilizadas.

Preparación de disoluciones.

- *Disolución tampón de fosfato*

La disolución tampón de fosfato se preparó con los siguientes reactivos en la concentración indicada:

- Na_2HPO_4 0.01M
- NaH_2PO_4 0.01 M
- NaCl 0.13 M

Se ajustó el pH a los niveles deseados utilizando HCl o NaOH 0.1 M. También se le añadió azida sódica a una concentración de 0.20 g/L, que actúa como bactericida. Una vez preparado el tampón, se filtró utilizando un filtro de poro 0.1 mm (Whatman Anodisc 47).

Equipo utilizado.

- *Acoplamiento FFFF-MALLS*

La separación por FFFF se realizó con un equipo de las siguientes características:

- Fraccionador universal, FFFractionation, LLC., modelo FO-1000.
- Membrana de celulosa regenerada Schleicher & Schuell, tamaño de poro 10 000 Dalton.
- Dimensiones del canal:
 - largo 29.40 cm (punta a punta)
 - ancho 2.00 cm
 - grosor 0.22 mm
- Válvula de inyección Rheodyne, con un asa de 20 ml.
- 2 válvulas de paso eléctricas de dos posiciones, Valco Instr., modelo E.36220.
- Programa utilizado para el control de las válvulas eléctricas: Flow 160, FFFractionation, LLC.
- Sistema de bombeo: dos bombas Shimadzu, modelo LC-10 AD
- Desgasificador en línea Gastorr, modelo 154.
- Sistema de detección principal: fotómetro multiangular de dispersión de luz de rayo láser, Wyatt Technology, modelo DAWN DSP.

- Programa utilizado para el detector de dispersión de luz (adquisición y procesamiento de datos): ASTRA versión 4.50, Wyatt Technology.
- Sistema de detección auxiliar 1: detector de índice de refracción diferencial, Beckman, modelo 156.
- Sistema de detección auxiliar 2: detector ultravioleta, Kontron Instruments, modelo 430.
- Programa utilizado para el procesamiento de datos (áreas de los picos): FFF Analysis versión 1.01, FFFractionation, LLC.
- Bomba de jeringa Harvard Apparatus, Cat. No. 55-1111.

Una configuración esquemática del sistema se muestra en la Fig. 5.

Como se puede observar en la Fig. 5, después del canal de fraccionamiento se coloca el detector ultravioleta (UV), a continuación el detector de dispersión de luz láser (MALLS), y al final el detector de índice de refracción (RI). Este orden de conexiones minimiza el ensanchamiento de los picos, y protege la frágil celda del detector RI de posibles daños debidos a altas presiones. El canal de fraccionamiento se utilizó con la opción de "frit-outlet" para regular los flujos, prevenir una presión elevada en la membrana y concentrar la muestra para conseguir una mejor detección.

La opción de "frit-outlet" está diseñada para que una parte del flujo se desvíe y salga por una porción porosa colocada al final del mismo. De esta forma éste se divide en dos porciones: una que lleva los componentes eluidos, y otra que constituye lo que sale a través de dicha porción porosa. En este trabajo el caudal del "frit-outlet" (V_{fo}) se estableció en el 50% del flujo longitudinal, y para ello se tomó como criterio, además de la obtención de una buena resolución e intensidad de los picos, el manejo de unos niveles de presión dentro del canal menores de 70 psi, que es lo recomendado por el fabri-

cante de la membrana para un buen funcionamiento de la misma.

Resultados y discusión

a) Utilizando patrones de proteínas

La metodología seguida en este trabajo comenzó por la selección de la fase móvil adecuada para la separación de un conjunto de proteínas, así como la optimización de dicha separación. Para todo esto inicialmente se dispuso solamente del detector MALLS y no se realizaron por tanto cálculos de pesos moleculares, ya que no era el objetivo de esta primera etapa.

Se trabajó con un patrón de BSA, dado que esta proteína sirve como modelo para llevar a cabo algunas optimizaciones en la consecución de resultados que deben ser obtenidos, según el fabricante del detector de dispersión de luz.

Se comenzó empleando una fase móvil a base de una disolución tampón de fosfato (PBS), con un pH de 7.4 y utilizando SDS al 0.01% como tensioactivo. La razón de comenzar con esta fase está basada en resultados anteriores que fueron encontrados en la bibliografía [35-37].

Para el flujo del canal se ensayaron valores desde 0.5 mL/min hasta 2.5 mL/min, y para el campo desde 0.5 mL/min hasta 5.0 mL/min. Los mejores resultados se obtuvieron con la combinación: $V = 2.0$ mL/min y $V_c = 4.0$ mL/min. Se inyectó BSA en una concentración de 10.00 g/L y el resultado se muestra en la Fig. 6. El pico tiene una baja intensidad, además de observarse una línea base con un valor alto de voltaje (el fabricante recomienda un valor menor a 0.2V).

Debido a ello se probaron otras concentraciones del tensioactivo añadido: 0.02%, 0.08% y 0.17%. También se ensa-

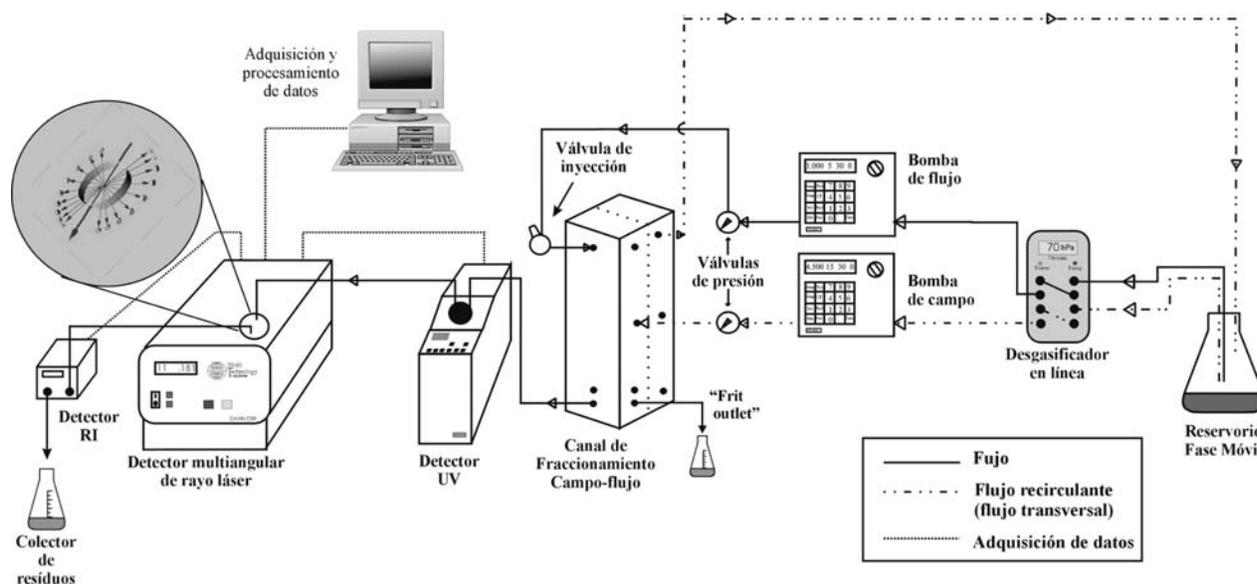


Fig. 5. Diagrama del equipo FFFF-MALLS.

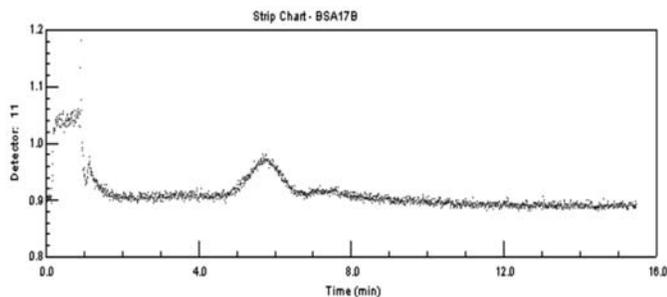


Fig. 6. Inyección de BSA. $V = 2.0$ mL/min, $V_c = 4.0$ mL/min. Fase móvil: PBS, pH= 7.4; SDS 0.01%.

yaron diversas combinaciones del flujo y del campo con cada concentración, pero los resultados fueron infructuosos. Buscando una mejoría en la señal se intentó modificar la composición de la fase móvil, así como su concentración y pH.

Se regresó a la fase móvil de PBS sin adición de tensioactivos, con la que se obtuvieron mejores resultados variando el pH de la misma. Los valores de pH ensayados fueron: 4.5, 5.5, 6.7, 7.4, 8.5, 10.3. Al igual que en los casos anteriores, en cada valor de pH se ensayaron diferentes flujos. El mejor resultado se obtuvo con un pH de 6.7. La intensidad del pico para el monómero de BSA es buena y también se ve su agregado. La Fig. 7 muestra el resultado de la inyección.

En cuanto al uso de una disolución reguladora, es sabido que éstas se utilizan en el análisis de proteínas con la finalidad de proporcionar un medio adecuado para evitar su desnaturización. En el caso concreto del PBS, tiene la particularidad de ofrecer un amplio rango de pH dentro del cual puede ser utilizada (pH = 2-12), además de ser transparente a la radiación ultravioleta [38] lo que la hace adecuada para un elevado número de proteínas.

Esta disolución tiene una elevada concentración de NaCl, con la finalidad de proporcionar la fuerza iónica necesaria para tratar de disminuir las interacciones electrostáticas [39] entre las proteínas y la membrana y así evitar su adsorción. Por una parte la elevada concentración de compuestos catiónicos del medio, como los iones sodio, compiten con las proteínas por los lugares de adsorción [40] sobre la membrana. Por otro lado, la presencia de sales cumple la importante función

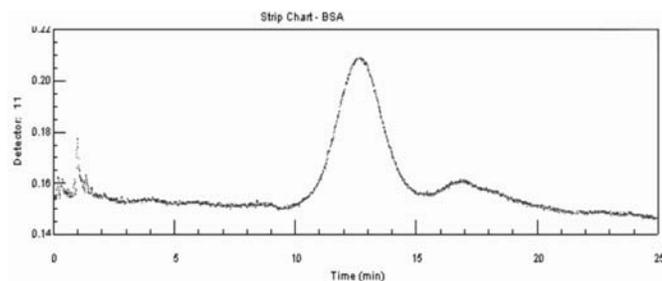


Fig. 7. Inyección de BSA. $V = 1.0$ mL/min, $V_c = 5.0$ mL/min. Fase móvil: PBS, pH= 6.7.

de evitar las interacciones proteína-proteína, que pueden dar lugar a un ensanchamiento de los picos [41].

En el caso de la proteína BSA, con la que se han hecho los ensayos, debido a que tiene carga negativa tiende a ser repelida electrostáticamente de la membrana de celulosa, por la presencia en la misma de grupos hidroxilo. Cuando este factor se añade a la fuerza iónica del medio, el efecto se ve potenciado.

En cuanto a la utilización de SDS, entra dentro de las estrategias empleadas en el análisis de estos compuestos para evitar su adsorción. En las inyecciones realizadas adicionando el tensioactivo a diferentes concentraciones, no se obtuvieron resultados aceptables puesto que se observó inestabilidad en la línea base al aumentar su concentración. Al tratarse de un tensioactivo aniónico, impartirá una fuerte carga a la proteína (en este caso BSA) llegando a desnaturizarla, lo que representa una dificultad adicional para su posterior caracterización.

Finalmente, la fase móvil de PBS escogida y el pH seleccionados (6.7) permiten trabajar en condiciones casi neutrales y con una fuerza iónica elevada, condiciones adecuadas para una amplia variedad de proteínas si atendemos a sus puntos isoeléctricos.

Se escogieron como compuestos de trabajo los siguientes patrones: α -quimotripsinógeno A (Mw 25000), BSA (Mw 67000), aldolasa (Mw 158000) y ferritina (Mw 453000), tratando de abarcar un amplio intervalo de pesos moleculares.

Los flujos empleados fueron: $V = 1.0$ mL/min y $V_c = 4.5$ mL/min. Se hicieron inyecciones utilizando un $V_c = 5.0$ mL/min, pero no se observó mejoría notable en la resolución. La Fig. 8 muestra el resultado del fraccionamiento de la mezcla utilizada.

La concentración de las tres primeras proteínas mencionadas fue de 3.08 g/L, mientras que la ferritina se inyectó a 0.77 g/L debido a su gran tamaño, dado que al elevar la concentración comienza a solapar con los picos adyacentes.

La mezcla de proteínas que se ha conseguido separar aquí es bastante heterogénea y se propone para estudiar y desarrollar una metodología adecuada con la instrumentación de que se dispone, para aplicarla por supuesto a compuestos proteicos de naturaleza variada y no necesariamente cuando se encuentren única y exclusivamente estas especies. En el conjunto de proteínas que se proponen como modelo de estudio hay una

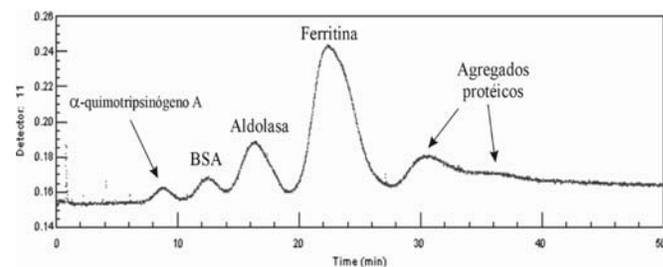


Fig. 8. Fractograma de la mezcla de proteínas. $V = 1.0$ mL/min, $V_c = 4.5$ mL/min

variedad grande en cuanto a sus pI , desde valores altos ($pI = 9.6$) hasta valores bastante bajos ($pI = 4.0$), por lo que se puede observar su comportamiento y la facilidad para su caracterización al utilizar una fase móvil con un pH prácticamente neutro.

b) Aplicación a muestras de suero de queso y requesón

Las muestras analizadas en este trabajo comprenden suero de leche, suero liofilizado de queso y suero liofilizado de requesón.

A continuación se presenta una breve descripción de la preparación y filtrados que se hicieron a las muestras de suero de queso y requesón, así como de la nomenclatura utilizada para este trabajo.

Las muestras de suero de queso y requesón, después de precipitación térmica de las proteínas, se desnataron y se ajustó el contenido en calcio a 1.2 g/L, el pH se ajustó a 7.3-7.5 y la temperatura se elevó rápidamente a 50° C y se mantuvo por espacio de 8 minutos como lo describió Maubois y col. [42]; finalmente, se enfrió hasta 4-6° C y se mantuvo así durante la noche antes de proceder al microfiltrado.

Aproximadamente 100 L del producto se dividió en dos partes, una para ultrafiltración convencional (UF) y el resto para microfiltración (MF), seguido de UF y diafiltración (DF). Las muestras de requesón incluyen el prefijo "Dep" para distinguirlas de las provenientes de suero sin desproteinizar.

El procedimiento de ultrafiltración se realizó con una membrana cuyo tamaño de poro era de 35000 g/mol. El retenido de la UF se liofilizó y este liofilizado se denominará RUF; el RUF proveniente del requesón será llamado Dep-RUF para distinguirlo del proveniente de suero de queso (RUF).

El procedimiento de microfiltración se realizó con dos tipos de membrana que se diferencian en el tamaño de poro: una se realizó a 0.20 μm y la otra a 0.65 μm . El retenido de la microfiltración se liofilizó y esta muestra se denominará RMF (RMF 0.20 y RMF 0.65 dependiendo del tamaño de poro utilizado); los RMF provenientes del requesón se denominarán Dep-RMF 0.20 y Dep-RMF 0.65 respectivamente, dependiendo del tamaño de poro utilizado para la microfiltración.

Los filtrados provenientes del paso anterior (MF) fueron sometidos a una ultrafiltración. El retenido de este procedimiento fue liofilizado y estas muestras se denominarán FMFDF 0.20 y FMFDF 0.65; asimismo las muestras de requesón se denominarán Dep-FMFDF 0.20 y Dep-FMFDF 0.65.

Para llevar a cabo la separación de las proteínas mediante FFFF, los flujos aplicados fueron seleccionados a partir de inyecciones previas para las proteínas en suero de leche.

Manteniendo V constante (1 mL/min) y variando el campo entre $V_c = 2.5$ mL/min y $V_c = 3.5$ mL/min se obtienen los fractogramas que muestra la Fig. 9. Como puede observarse, utilizando un campo de $V_c = 2.5$ mL/min, hay un ligero solapamiento entre los dos primeros picos (Fig. 9 a). El fractograma en el que $V_c = 3.0$ mL/min muestra una mejor resolución de los picos eluyentes (Fig. 9 b) y con el campo $V_c = 3.5$

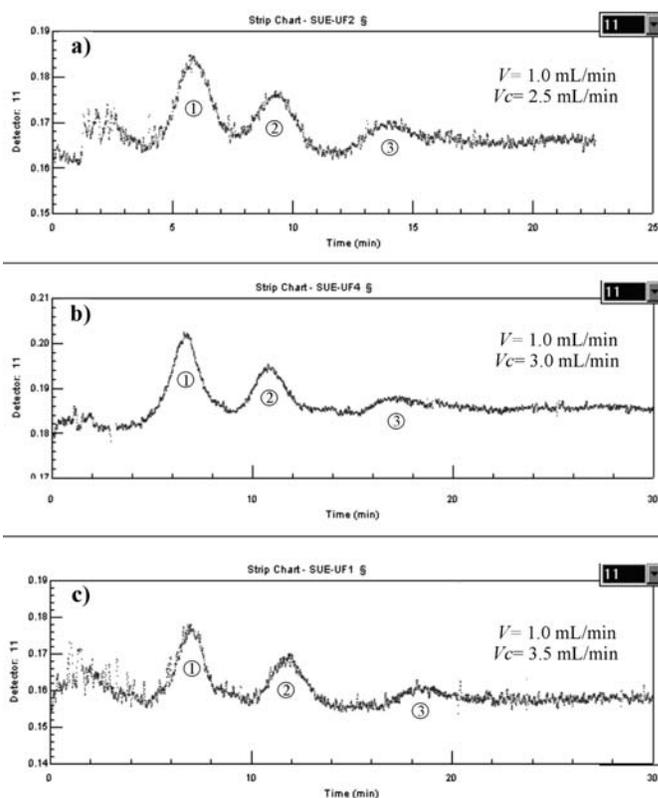


Fig. 9. Fractogramas de proteínas lácteas, obtenidos utilizando diferentes campos.

mL/min la separación mejora pero hay una disminución en la intensidad de los mismos (Fig. 9 c). Se decidió realizar las inyecciones utilizando un $V = 1.0$ mL/min y un $V_c = 3.0$ mL/min, para tener una buena resolución sin sacrificar la intensidad obtenida.

Se ensayaron diferentes concentraciones de las muestras con el fin de establecer cuál es la más adecuada, desde el punto de vista tanto de la intensidad de la señal como de evitar una saturación de la membrana y del detector. Para ello se probaron 10, 20 y 40 mg/mL del liofilizado.

La concentración de 10 mg/mL proporciona una señal débil, que se incrementa considerablemente cuando es de 20 mg/mL. Al aumentar la concentración hasta 40 mg/mL la señal solamente mejora en unos cuantos milivoltios, no siendo este aumento significativo respecto a la concentración anterior. Se decide por consiguiente inyectar las muestras a concentraciones de 20 mg/mL, tratando asimismo de prevenir una sobrecarga del canal y por tanto un ensanchamiento de los picos. Los resultados obtenidos para las muestras de suero de queso y requesón se presentan a continuación.

Los fractogramas varían de acuerdo con el tratamiento y tipo de filtrado al que se sometieron las diferentes muestras, debido a la mayor o menor presencia de proteínas. Las Figs. 10 a 13 muestran los resultados de los diferentes tipos de muestras inyectadas:

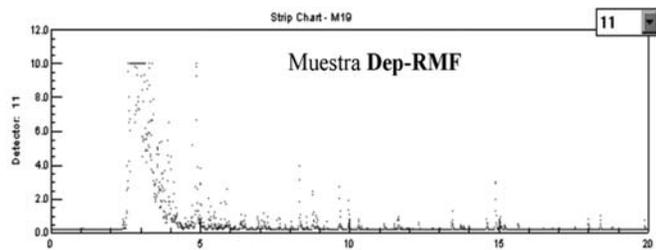


Fig. 10. Perfil de elución de una muestra de suero de requesón desnaturalizada.

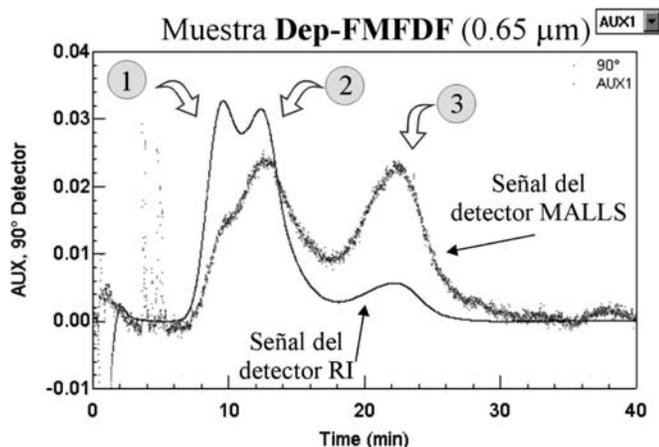


Fig. 11. Fractograma de una muestra de suero de requesón.

Tabla I. Resultados de la separación protéica en muestras de requesón.

Muestra	Observaciones
Dep-RUF	Señal muy débil para un solo pico. Probable desnaturalización.
Dep-RMF 0.20	Saturación del detector. Probable desnaturalización.
Dep-RMF 0.65	Saturación del detector. Probable desnaturalización.
Dep-FMFDF 0.20	Señal muy débil para un solo pico. Probable desnaturalización.
Dep-FMFDF 0.65	Fractograma con los dos primeros picos solapados. Existe también un tercer pico, resuelto con respecto a los dos anteriores.

Suero de requesón. Dentro de este grupo se encuentran las siguientes: Dep-RUF, Dep-RMF 0.20 y 0.65, Dep-FMFDF 0.20 y 0.65.

Las muestras Dep-RMF 0.20 y 0.65 muestran un comportamiento similar entre sí. La desnaturalización de las proteínas es evidente debido a la saturación observada en la señal

del detector y a la suciedad existente a lo largo de la elución (Fig. 10).

Las muestras provenientes de Dep-FMFDF 0.20 y Dep-RUF muestran una señal muy débil para un solo pico y también se observa a lo largo de la inyección la presencia de mucha suciedad (no se muestran los fractogramas).

Los resultados obtenidos para las muestras Dep-FMFDF 0.65 presentan un solapamiento de los dos primeros picos. Para tratar de resolver este solapamiento se ensayaron diferentes valores en los flujos (V y V_c). Los mejores resultados se obtuvieron con $V = 0.7$ mL/min y $V_c = 3.5$ mL/min como lo muestra la Fig. 11; sin embargo los picos no están completamente separados y aplicando un mayor V_c la señal decrece en intensidad rápidamente y no se logra mejorar la resolución.

La Tabla I resume los resultados obtenidos para la separación de muestras de requesón: a la vista de ellos parece que debido al tratamiento térmico recibido para precipitar las proteínas antes de la filtración, éstas han sufrido desnaturalización excepto en el caso de Dep-FMFDF 0.65 la cual presenta picos a diferencia de Dep-FMFDF 0.20 probablemente por el mayor tamaño de poro utilizado durante la filtración que deja pasar mayor contenido proteico.

Suero de queso. Dentro de este grupo tenemos a las siguientes: RUF, RMF 0.20 y 0.65, FMFDF 0.20 y 0.65.

Las muestras RUF presentan fractogramas con una buena señal para los dos primeros picos y también se observa un tercer pico aunque más débil que los anteriores. La Fig. 12 muestra un fractograma correspondiente a este tipo de muestras.

Las inyecciones de los preparados FMFDF 0.20 (no se muestra el fractograma) dan como resultado la elución de dos picos bastante débiles. Estas inyecciones se repitieron empleando una concentración de 40 mg/mL, pero sólo aumenta en algunos milivoltios la señal siendo el segundo pico eluyente el menor de los dos. La Fig. 13 muestra una inyección de FMFDF 0.65 (a una concentración de 40 mg/mL) y se obtiene una mejoría en la señal, debida al mayor tamaño de poro, que aquella correspondiente a FMFDF 0.20. Se observa la elución de dos picos y un tercer pico muy débil que apenas se aprecia.

Analizando las muestras RMF 0.65 y RMF 0.20 e inyectando a una concentración de 20 mg/mL la señal obtenida es muy débil, por lo tanto para estas muestras se incrementó la concentración a 40 mg/mL aunque la señal continuó siendo débil (fractograma no mostrado). Se obtuvieron 3 picos eluyentes de los cuales el tercero apenas logró distinguirse.

La Tabla II esquematiza los resultados obtenidos para la separación de muestras de suero de queso.

La identificación de los picos en todas las muestras de suero de queso se realizó mediante el tiempo de retención, obteniéndose los mismos valores en todos los casos para los picos numerados como 1, 2 y 3. Así, en la Tabla III se recogen los resultados de calcular el coeficiente de difusión y diámetro mediante las ecuaciones 13 y 16, respectivamente. Se recogen

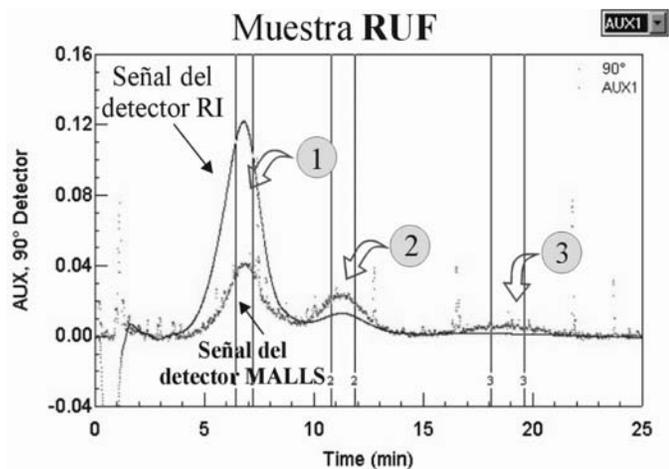


Fig. 12. Fractograma de una muestra de suero de queso ultrafiltrada.

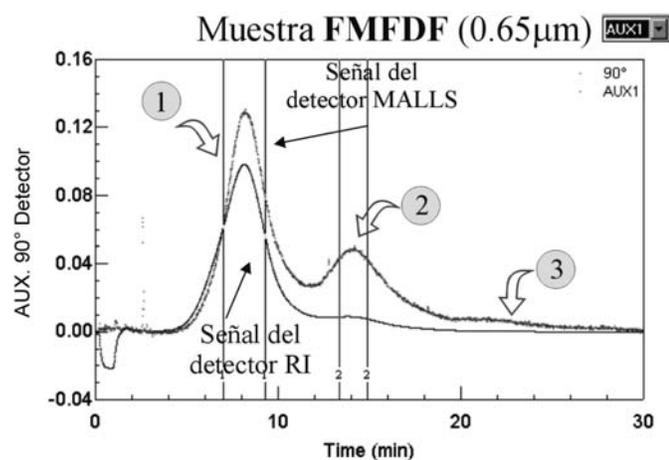


Fig. 13. Perfil de elución de una muestra de suero de queso proveniente de la microfiltración

Tabla II. Resultados de la separación proteica de suero de queso.

Muestra	Observaciones
RUF	Fractograma con tres picos: los dos primeros más intensos.
RMF 0.20	Elución de tres picos poco intensos, especialmente el tercero.
RMF 0.65	Elución de tres picos poco intensos, especialmente el tercero.
FMFDF 0.20	Fractograma con dos picos de poca intensidad.
FMFDF 0.65	Presencia de tres picos: el tercero poco intenso.

también los resultados correspondientes a la muestra de suero de quesosón.

La presencia de las proteínas varía de acuerdo con el tipo de muestra. Se observa que la utilización de diferentes membranas de filtrado condiciona la aparición de una mayor o menor cantidad de proteína.

Tabla III. Resultados para las muestras de suero de queso y quesosón.

Muestra		t_r (min)	$D \cdot 10^5$ (cm ² seg ⁻¹)	d (nm)
RUF, RMF ^a ,	Pico 1	6.5	3.99	5.8
FMFDF ^a	Pico 2	11.1	2.24	10.4
	Pico 3	17.2	1.42	16.5
Dep-FMFDF 0.65	Pico 1	9.5	4.41	5.3
	Pico 2	12.0	3.44	6.8
	Pico 3	22.6	1.78	13.1

^a Se incluyen ambos tipos de muestras: 0.20 y 0.65.

Tabla IV. Resultados de los pesos moleculares para las muestras de suero de queso y quesosón.

Tipo de muestra	Peso molecular		
	Pico 1	Pico 2	Pico 3
RUF	27 000	130 000	*
RMF 0.20 y 0.65	23 000	130 000	*
FMFDF 0.20 y 0.65	30 000	*	*
Dep-FMFDF 0.65	14 375	24 010	128 000

* Señal muy débil del detector RI

Utilizando un Detector Muliangular de Luz Láser, se obtiene el peso molecular de los compuestos que eluyen de acuerdo con la Tabla IV:

Pico 1: A la vista de los resultados obtenidos, se puede pensar que para el primer pico de las muestras RUF, RMF y FMFDF existe un solapamiento de dos proteínas: α -lactoalbúmina, de peso molecular 14180, y β -lactoglobulina cuyo dímero tiene un peso molecular de 36000. Para llegar a este resultado se realiza lo siguiente:

Si se representa gráficamente el peso molecular calculado frente al tiempo de retención (Fig. 14), se obtiene una línea con pendiente positiva que indica la inexistencia de compuestos monoméricos para el pico en cuestión. Existe sin embargo una mezcla de compuestos cuyos pesos moleculares varían desde aproximadamente 14000 hasta 39000. Esto confirma lo ya dicho y también se observa que mediante esta técnica de FFF de flujo, no es posible separar estas dos proteínas debido al tamaño que presentan, pero sí es posible identificarlas gracias a la información suministrada por el detector de dispersión de luz. Las variaciones que se muestran en los pesos moleculares obtenidos entre las muestras RUF, RMF y FMFDF para el primer pico, se pueden deber a la diferente concentración de ambas especies de acuerdo con el tipo de filtración al que fueron sometidos en cada caso.

Por otra parte, el peso molecular obtenido para las muestras Dep-FMFDF 0.65 indica la presencia de α -lactoalbúmina.

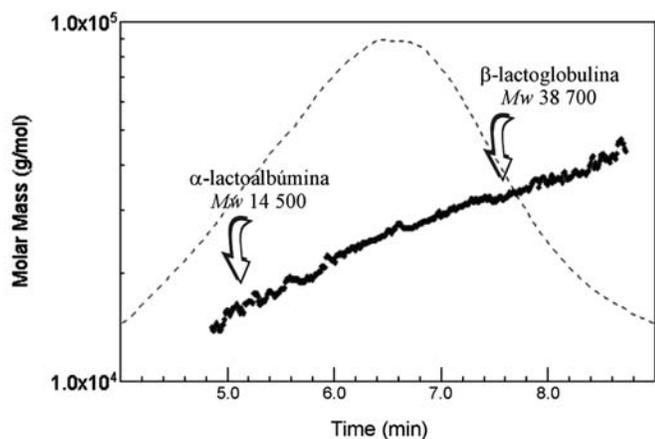


Fig. 14. Perfil de elución de masas moleculares en pico 1, se observa la variación en el peso molecular a lo largo del pico.

Pico 2: El peso molecular correspondiente al segundo pico, para las muestras RUF y RMF, es el resultado de la formación del dímero para las proteínas séricas. Esto es así dado que el valor numérico obtenido es el doble del peso correspondiente para el monómero y además no hay otras proteínas conocidas que se acerquen a dicho peso molecular.

En el caso de las muestra FMFDF 0.20 y 0.65, dado que la señal obtenida en el detector auxiliar es baja, no es posible cuantificar el peso molecular. Esto ocurre así porque es necesario disponer del valor de la concentración de la proteína y en este caso es muy pequeña, por lo que este cálculo se hace inviable.

Pico 3: La señal obtenida en el detector auxiliar de índice de refracción diferencial es muy débil, tanto para las muestras RUF, como RMF y FMFDF, por lo que no es posible el cálculo del peso molecular. Con el detector MALLS se observa una señal que, aunque pequeña, puede indicar la presencia de proteínas de masa alta. En el caso de la muestra Dep-FMFDF 0.65, se trata del dímero de las proteínas séricas siguiendo el mismo razonamiento que se hizo para el pico 2.

Por lo tanto, las proteínas encontradas en las muestras son las siguientes:

- Muestras RUF: en el pico 1, α -lactoalbúmina y β -lactoglobulina; en el pico 2, dímero de BSA; en el pico 3, es posible que existan inmunoglobulinas o fosfolipoproteínas dado que en este tipo de muestras suelen encontrarse estos compuestos de elevado peso molecular.
- Muestras RMF: las proteínas encontradas son las mismas que las de las muestras RUF. La diferencia es que la señal observada es menos intensa.
- Muestras FMFDF: α -lactoalbúmina y β -lactoglobulina, ambas en el pico 1.
- Muestras Dep-FMFDF: α -lactoalbúmina en el pico 1, β -lactoglobulina en pico 2 y dímero de BSA en el pico 3.

Tabla V. Inyecciones para intentar cuantificar el peso molecular del tercer pico en una muestra RUF.

Inyección	V, mL/min	V _c , mL/min	V _c /V	M _w pico 3
1	1.0	3.0	3.0	238 100
2	1.0	2.0	2.0	773 400
3	1.0	1.5	1.5	522 600
4	1.0	1.7	1.7	249 900
5	0.5	1.0	2.0	671 700
6	0.5	1.5	3.0	485 400

Se intentó incrementar la intensidad de la señal para aquellas muestras en las que aparecía el tercer pico para poder caracterizarlo. La muestra elegida para ello fue del tipo RUF, debido a que se observa mejor este tercer pico que en los otros preparados. La concentración para las inyecciones fue de 40 mg/mL y se ensayaron diferentes combinaciones de V y V_c para tratar de lograr una mayor señal. La tabla V muestra las modificaciones de los flujos y los pesos moleculares obtenidos en cada caso. Las inyecciones se realizaron por triplicado.

A pesar de las pruebas realizadas, no se logró obtener una mejora en los resultados. Con un campo de 1.0 mL/min (inyección número 5) la señal del láser se incrementa ligeramente, pero la señal correspondiente al detector de índice de refracción es comparable al ruido en la línea base, por lo que presenta mucha variabilidad en los resultados. La situación anterior provoca las variaciones observadas en el peso molecular entre las distintas inyecciones, por lo que no fue posible llegar finalmente a un resultado válido.

Sin embargo, cuando se llevó a cabo este estudio se observó la elución de un cuarto pico utilizando un V= 0.5 mL/min y V_c = 1.0 mL/min. A pesar de que tampoco fue posible caracterizarlo debido a la baja intensidad de la señal (Fig. 15), esto confirma la presencia de proteínas de alto peso molecular, presentes en muy baja concentración.

Se puede observar en la tabla anterior, que de acuerdo con el tamaño del filtro empleado, se encuentra presente una mayor o menor cantidad de proteína y se puede resumir como sigue:

1. En los retenidos, el correspondiente a RUF tiene una mayor cantidad de materia que las otras muestras de suero de queso debido a que el tamaño de poro del filtro utilizado es menor.
2. Comparando los compuestos RMF, se observa que el correspondiente a 0.20 mm retiene una mayor cantidad de proteína que el de 0.65 mm, tanto para el pico 1 como para el 2, lo que nuevamente es debido al menor tamaño de poro que impide el paso de mayor contenido proteico.
3. El pico 1 en FMFDF 0.65 tiene la mayor cantidad presente comparándolo con cualquier otra muestra, dado que es el filtrado resultante de utilizar el mayor tamaño de poro. Por otra parte, en estos filtrados no se pudo cuantificar el pico 2, lo cual puede deberse a que la proteína BSA quedó retenida en los RMF debido a su mayor tamaño.

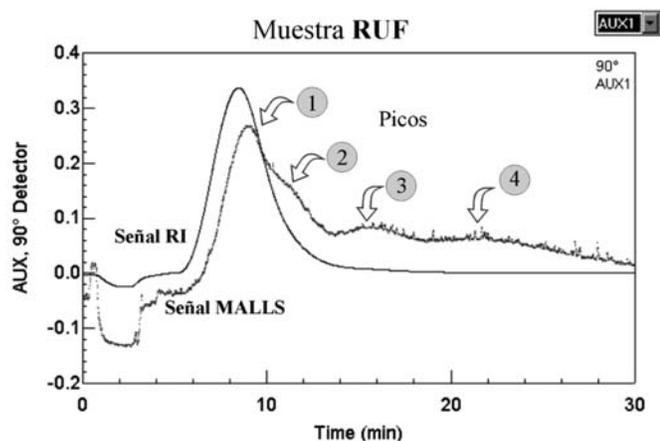


Fig. 15. Aparición de un cuarto pico modificando los flujos, $V = 0.5$ mL/min y $V_c = 1.0$ mL/min.

4. En el caso del Dep-FMFDF 0.65, la cantidad de β -lactoglobulina es mayor (pico 2) que la de α -lactoalbúmina (pico 1), lo cual puede ser debido a que en la leche naturalmente la cantidad de la primera es mayor que la de la segunda. Por tanto, este factor prevalece sobre el hecho de que la β -lactoglobulina sea una proteína de mayor tamaño y tenga menos facilidad para pasar a través de la membrana.

Mediante el acoplamiento FFFF-MALLS, se caracterizaron de manera exitosa las muestras estudiadas, a pesar de que las proteínas α -lactoalbúmina y β -lactoglobulina no fueron separadas eluyendo ambas en un solo pico. En este caso, la gráfica de *masa molar vs. tiempo de elución* se utilizó para evaluar la presencia de más de un solo compuesto en el pico eluyente con resultados altamente satisfactorios. Esta es una de las ventajas que se tienen al realizar el análisis empleando un detector MALLS. Cabe mencionar además que todos los resultados se obtuvieron de manera absoluta, sin el empleo de rectas de calibrado con patrones puros. También fue posible confirmar la presencia de las proteínas séricas en forma de agregado, puesto que se muestra la elución de un solo tipo de compuestos en el pico observado, correspondiente al dímero de BSA. En este trabajo, se presenta también una muestra de la versatilidad de la técnica FFFF en cuanto a la capacidad de poder modificar la elución de los compuestos.

Conclusiones

La técnica FIFFF permite obtener separaciones de una mezcla de proteínas, que presentan diferentes características en cuanto a su peso molecular y punto isoeléctrico.

Mediante el acoplamiento FIFFF-UV-MALLS-RI es posible caracterizar las muestras estudiadas, a pesar de la adsorción que experimentan sobre la membrana. Se obtienen valores absolutos de pesos moleculares e información sobre su polidispersidad.

Se demuestra la versatilidad de la metodología empleada para aplicaciones a diversos campos como es el análisis de proteínas lácteas.

Referencias

- Giddings, J. C. *Sep. Sci.*, **1966**, *1*, 123.
- Caldwell, K. D. *Polymer analysis by Field-flow fractionation*, en Barth H. G. and Mays J. W. (editores), *Modern Methods of Polymer Characterization*, John Wiley & Sons, New York, **1991**.
- Giddings, J. C. *Chem. Eng. News* **1988**, *66*, 34.
- Giddings, J. C. *Unified Separation Science*, Wiley, New York, **1991**, *9*, 203.
- Giddings, J. C. *Science*, **1993**, *260*, 1455.
- Giddings, J. C.; Yang F.; Myers, M. N. *Anal. Biochem.* **1977**, *81*, 395.
- Liu, M-K and Li, P.; Giddings, J. C. *Protein Science* **1993**, *2*, 1520.
- Stevenson S. G.; Preston, K. R. *J. of Cereal Science* **1996**, *23*, 121.
- Stevenson S. G.; Preston, K. R. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.*, **1997**, *20*, 2835.
- Song, J. H.; Kim, W-S.; Park, Y. H.; Yu, E. K.; Lee, D. W. Woon, D. *Bull. Korean Chem. Soc.* **1999**, *20*, 1159.
- Giddings, J. C. *C & EN*, Special Report, **1988**, *34*.
- Kirkland, J. J. Dilks C. H. and Rementer, S. W. *Anal. Chem.* **1992**, *64*, 1295.
- Miralles, B.; Rothbauer, V.; Manso, M. A.; Amigo, L.; Krause, I.; Ramos, M. *J. Chromatogr.* **2001**, *A 915*, 225.
- Galvani, M.; Hamdan, M.; Righetti, P. G.; *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2001**, *15*, 258.
- Miralles, B.; Bartolome, B.; Amigo, L.; Ramos, M. *J. Dairy Sci.* **2000**, *83*, 2759.
- Izco, J. M.; Torre, P.; Barcina, Y. *Alimentaria (Madrid)*, **1999**, *303*, 117.
- Valkonen, K. H.; Martinen, N.; Alatosava, T. *Milchwissenschaft* **2000**, *55*, 126.
- Norris, C. S.; Tsao, M.; Haggarty, N. W.; Otter, D. E. *Int. Dairy Fed. [Spec. Issue] S.I.* **1998**, *9804*, 123.
- Ferreira, I.; Mendes, E.; Ferreira, M. A. *Anal. Sci.* **2001**, *17*, 499.
- Bramanti, E.; Ferri, F.; Raspi, G.; Lampugnani, L.; Carla Spinetti, M.; Miller, K. E.; Synovec, R. E. *Talanta*, **2001**, *54*, 343.
- Trujillo, A.-J.; Casals, I.; Guamis, B. *J. Chromatogr.* **2000**, *A 870*, 371.
- Jussila, M. A.; Yohannes, G.; Riekkola, M.; *J. Microcolumn Sep.* **1997**, *9*, 601.
- Udabage, P.; Sharma, R.; Murphy, D.; Mckinnon, I.; Beckett, R. *J. Microcolumn Sep.* **1997**, *9*, 557.
- Granger, J.; Dodds, J.; *Sep. Sci. Technol.* **1992**, *27*, 1691.
- Caldwell, K. D.; Li, J.; Li, J. T.; Dalgleish, D. G.; *J. Chromatogr.* **1992**, *604*, 63.
- Mozerky, S. M.; Farrell, H. M., Jr.; Barford, R. A. *Sep. Sci. Technol.* **1991**, *26*, 1467.
- Mozerky, S. M.; Farrell, H. M.; Barford, R. A. *J. Dairy Sci.* **1991**, *74*, 2382.
- Wyatt, P. J. *Anal. Chim. Acta* **1993**, *272*, 1.
- Astra for Windows User's Guide for the DAWN DSP & mini DAWN Light Scattering Instruments*, Ver. 4.50, Wyatt Tech. Corp., 1997.
- Giddings, J. C. *J. of Chrom.*, **1976**, *125(1)*, 3.
- Giddings, J. C.; Myers, M. N.; Caldwell K. D.; Fisher, S. R. *Methods Biochem. Anal.* **1980**, *26*, 79.

32. Giddings, J. C. *The Field-Flow Fractionation Family: Underlying Principles*, en M. E. Schimpf, K. D. Caldwell, J. C. Giddings (editores), *Field-Flow Fractionation Handbook*, John Wiley & Sons, New York, **2000**.
33. Giddings, J. C. *Sep. Sci. Technol.*, **1985**, *19*, 831.
34. Hoving, M. E.; Thompson, G. H.; Giddings, J. C. *Anal. Chem.*, **1970**, *42*, 195.
35. Thielking, H.; Kulicke, W-M *Anal. Chem.* **1996**, *68*, 1169.
36. Wihnhoven, J. E.; Koorn, J. P.; Poppe, H.; Kok, W. *J. of Chrom. A*, **1995**, *699*, 119.
37. Kim, W-S.; Park, Y. H.; Lee, D. W. *J. Liq. Chrom. relat. Technol.* **2001**, *24*, 1935.
38. Strege, M. A.; Lagu, A. L. *Anal. Biochem.* **1993**, *210*, 402.
39. Teichberg, V. I. *J. Chrom.* **1990**, *510*, 49.
40. Ratanathanawongs, S. K. *Flow Field-Flow Fractionation*, en Schimpf, M. E.; Caldwell K. D.; Giddings J. C. (edit.), *Field Flow Fractionation Handbook*, John Wiley & Sons, New York, **2000**, 257.
41. Chen, F-T. A. *J. Chrom.* **1991**, *559*, 445.
42. Fauquant, J.; Vieco, E.; Brule, G.; Maubois, J. L. *Lait* **1985**, *65* 647.

Vigésimo aniversario de la fundación de la Sociedad Mexicana de Electroquímica (SMEQ)

Bernardo A. Frontana-Uribe¹

Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, Coyoacán C.P. 04510, México D.F. bafrontu@servidor.unam.mx, Fax: +52 55 56162217

Resumen. Se reseña brevemente la historia de la *Sociedad Mexicana de Electroquímica (SMEQ)*, que en 2003 cumplió veinte años de su fundación. Esta sociedad pasó de tener una veintena de socios en su fundación, a más de 120 en el congreso 2002 de la SMEQ. Entrevistas con los miembros fundadores y ex presidentes de esta asociación, permiten recuperar los recuerdos de aquellos tiempos y comentar sobre el futuro de la electroquímica en México.

Abstract. The history of the *Mexican Electrochemical Society (SMEQ)*, which on year 2003 celebrated its 20th anniversary of its constitution, is briefly recounted. This society passed from about twenty members in the first years to more than 120 in the 2002 congress of the SMEQ. Interviews with the founder members and ex-presidents of this association allowed to recover old memories and to comment about the future of electrochemistry in Mexico.

1. Génesis de la sociedad

Para finales de los años setenta, los académicos que realizaban investigación sobre temas relacionados con la electroquímica en México eran realmente pocos. Sólo algunos laboratorios dispersos en el país conformaban la masa crítica de esta rama de la química y trabajaban de manera aislada, prácticamente sin conocerse ni interactuar [2]. Uno de los laboratorios que en estas fechas comenzó a generar investigación en electroquímica fue el del doctor Miguel Saloma Terrazas en la Facultad de Química de la UNAM, quien recientemente había obtenido su doctorado en la Universidad de Trondheim, Noruega. Una de las principales metas del doctor Saloma fue difundir y promover su especialidad, por lo que se avocó a buscar financiamiento para invitar a reconocidas personalidades científicas que pudieran incrementar el interés y el desarrollo de la electroquímica en México. Sus esfuerzos se vieron coronados en 1979 con un apoyo por parte de la DGAPA-UNAM que le permitió organizar el primer evento científico en el área de electroquímica en la UNAM, el “Simposio de Electroquímica Moderna y sus Aplicaciones” [3].

Los ponentes del simposio se pudieron contactar con ayuda del profesor Arthur Díaz [4], investigador en electroquímica de la compañía IBM en California. Personalidades internacionales de la talla de Albert Fry, Dennis Evans, Marcel Pourbaix, Alejandro Arvía, Theodore Kuwana, y el mismo Arthur Díaz, quienes representaban lo mejor académicamente de aquellos años, participaron activamente en las actividades académicas. El simposio abarcó temas de punta en la investigación científica electroquímica como: uso de semiconductores, bioelectroquímica, electrosíntesis de compuestos orgánicos, métodos electroanalíticos, cinética y mecanismos en electroquímica, electroquímica de la corrosión y fuentes electroquímicas de corriente [5]. En este simposio participaron no sólo personal de la UNAM e invitados, sino también investigadores de los diversos grupos de investigación del país (ESI-

QUIE, IIE), quienes presentaron ponencias y asistieron a las pláticas y talleres que se ofrecieron. Ésta fue la primera vez que la comunidad electroquímica del país se reunía con un objetivo científico, lo que permitió que los participantes se conocieran, intercambiaran experiencias e identificaran las posibles áreas de trabajo conjunto.

Con esta primera experiencia académica, la comunidad electroquímica comenzó a reunirse anualmente en lo que se denominó “Reuniones Académicas de Electroquímica”, teniendo lugar la primera en el año de 1979 en el CINVESTAV. A finales de los años setenta en este centro de investigaciones del IPN, habían comenzado las investigaciones de electroquímica con la llegada de los cooperantes científicos franceses [6] Roger Conan, Gerard Poillerat y Yunny Meas [7]. Estas reuniones eran informales con un carácter de minisimposio y se llevaban a cabo en salones de la institución, con la asistencia de una veintena de personas de diversas instituciones que hacían trabajos en electroquímica, incluyendo los alumnos de los académicos participantes.

Gracias al interés que despertaron estas reuniones en la comunidad electroquímica, se propuso en 1980 la creación de la Sociedad Mexicana de Electroquímica, con el fin de agrupar a los participantes de las reuniones y cursos. La Sociedad no fue registrada legalmente y operó dos años de manera informal. La primera mesa directiva de esta sociedad tuvo como presidente al doctor Miguel Saloma (1980-1982), y la segunda al doctor Gerard Poillerat (1982-1983), quien se caracterizaba por su gran capacidad como organizador e impulsó los trabajos académicos de la naciente sociedad [8]. Ambas mesas directivas continuaron con las reuniones académicas que se celebraban en el CINVESTAV y que se denominaron “Congresos de la Sociedad Mexicana de Electroquímica”. En estos años se organizaron diversos cursos con reconocidos científicos en áreas como: electrocatálisis (1981), electroquímica orgánica (1982), cinética electrodica (1982) y un taller de técnicas electroquímicas en la UAM-Iztapalapa (1983).

IGNACIO R. MORALES L.
NOTARIA No. 116

VOLUMEN MIL CIENTO VEINTIUNO, D.F. -----
CUARENTA MIL SEISCIENTOS SESENTA Y OCHO. -----
----- MEXICO, DISTRITO FEDERAL, a doce -----
de abril de mil novecientos ochenta y tres. -----
ANTONIO VELARDE VIOLANTE, Notario Número Ciento Sesenta y Cuatro del
Distrito Federal, actuando como suplente y en el protocolo del
Licenciado Ignacio R. Morales Lechuga, Notario Número Ciento
Dieciséis del Distrito Federal, en virtud del convenio con él
celebrado, hago constar: EL CONTRATO DE ASOCIACION CIVIL, en que
intervienen los señores don Yunny Meas Vong, Miguel Saloma Terrazas, don
Omar Solorza Feria y doña Guadalupe Alonso Viveros de Martínez, al
tenor de los Estatutos que siguen a la inserción del
permiso otorgado por la Secretaría de Relaciones Exteriores, que
en unión de su anexo y Orden de Cobro, agrego al apéndice de
esta escritura con la letra "A"; siendo el Permiso y la Orden
de Cobro del tenor literal siguiente: -----
Al margen superior izquierdo sellos que dicen: -----
"ESTADOS UNIDOS MEXICANOS".- El Escudo Nacional.- "SECRETARIA DE
RELACIONES.- MEXICO.- ESTADOS UNIDOS MEXICANOS.- El Escudo Na-
cional.- SECRETARIA DE RELACIONES EXTERIORES.- ARR-5-1983.-----
DIRECCION GENERAL DE ASUNTOS JURIDICOS.- Al margen superior de-
recho dice: DIRECC. GRAL. DE ASUNTOS JURIDICOS.- DEPTO. PERMISOS-
ART. 27.- PERMISO No. 0014988.- EXP. No. 826161.- FOLIO No. 23-
641.- Al centro dice: -----
EN ATENCION a que el C. MIGUEL SALOMA TERRAZAS, solicitó permiso
de esta Secretaría para que se constituya una: ASOCIACION CIVIL.
bajo la denominación de SOCIEDAD MEXICANA DE ELECTROQUIMICA, ---
A.C., con duración de 99 años, domicilio en México, D.F. y capi-
tal de (así), objeto social: El que se detalla en la copia ane-
xa la cual debidamente sellada y firmada forma parte de esta au-
torización. -----
La Asociación en sus diversas actividades no podrá perseguir

Fig. 1. Primera página del acta constitutiva de la SMEQ.

Por otro lado, desde años antes en Sudamérica, se realiza-
ban las Reuniones Latinoamericanas de Electroquímica y
Corrosión (RELEC), cuyos principales países participantes
eran Argentina, Chile, Venezuela y Brasil. En la V RELEC el
doctor Alejandro Arví, presidente de la entonces *Sociedad
Latinoamericana de Electroquímica*, le propuso a los partici-
pantes de instituciones mexicanas que la VI RELEC tuviera
como sede México. Los participantes, entre ellos el doctor
Poillerart y su grupo, aceptaron la invitación, regresando a
México con la tarea de organizar este congreso internacional.
Los asiduos participantes en aquellas Reuniones Académicas
de Electroquímica de finales de los setentas y principios de los
ochentas, entre los que se encontraban los ahora reconocidos
académicos Omar Solorza, Joan Genescá, Alvaro García,
Yunny Meas, Guadalupe Alonso y Miguel Saloma, Mauricio
Castro, Elsa Arce, Javier Ávila, Silvia Tejada, etc. [9], se
organizaron para afrontar el reto. A lo largo de la búsqueda de
posibles apoyos y financiamientos para organizar el congreso,

los organizadores se encontraron con la necesidad de emitir
recibos oficiales o facturas de la Sociedad Mexicana de
Electroquímica, ya que ninguna institución o entidad gubernamental
iba a darle dinero directamente a un organizador. Fue
en gran parte esta necesidad administrativa la que orilla a los
organizadores del congreso, fuertemente apoyados por los
grupos del doctor Yunny Meas y del doctor Miguel Saloma, a
constituir legalmente la Sociedad.

En el acta notarial No. 40,668 del Distrito Federal, con
fecha del 12 de abril de 1983, se crea la *Sociedad Mexicana
de Electroquímica A.C. (SMEQ)* [10] siendo los miembros
fundadores Yunny Meas Vong (Presidente), Miguel Saloma
Terrazas (Vicepresidente), Omar Solorza Feria (Secretario) y
Guadalupe Alonso Viveros (Tesorero) (Figura 1) [11]. Los
estatutos de esta nueva sociedad fueron basados en gran parte
en los de aquellas asociaciones profesionales sin fines de lucro
que ya en aquellos tiempos se encontraban sólidamente conso-
lidadas, como la *Sociedad Química de México (SQM)* y la
Sociedad Mexicana de Física, entre otras.

La sociedad fue constituida por aquella veintena de perso-
nas que asistían a los Congresos de Electroquímica. A pesar
de la escasa experiencia en el manejo de una sociedad, los
miembros de la SMEQ, lograron realizar con éxito en mayo
de 1983 en Oaxtepec, Morelos, la VI Reunión Latinoame-
ricana de Electroquímica y Corrosión [12]. Lo anterior exigió
un nivel de comunicación dentro de la Sociedad que no se
tenía hasta ese entonces y que permitió que ésta continuara
trabajando posteriormente en otros proyectos. Durante este
congreso, además del gran número de participantes latino-
americanos, se logró reunir una gran cantidad de científicos
del otro lado del Atlántico, en particular de Portugal, España
y Francia, lo cual llamó la atención de los directivos de la
Sociedad Latinoamericana de Electroquímica a tal grado, que
años después esta sociedad se convirtió en la actual *Sociedad
Iberoamericana de Electroquímica (SIBAE)*.

2. Los ochentas y noventas: la lucha por sobrevivir

Después de la euforia provocada por el éxito de la VI RELEC
realizada en México, los integrantes de la sociedad entraron
en un proceso de reflexión para saber que rumbo tendría que
llevar la naciente SMEQ. Los años ochentas fueron años de
búsqueda de una identidad propia como sociedad y un modelo
de organización que permitiera cumplir sus objetivos. Así, se
propuso ser una sección de la entonces consolidada *Sociedad
Química de México (SQM)* y, dentro del congreso anual de
ésta última, realizar el congreso de la SMEQ. Sin embargo,
esta idea no tuvo eco dentro de los miembros de la SMEQ
quienes decidieron permanecer como una sociedad indepen-
diente, cuyos fines estaban claramente definidos en el acta
constitutiva de la misma. La organización interna fue un punto
especialmente difícil para esta sociedad; en un principio se
trabajó en una mesa directiva compuesta por diversas institu-
ciones, pero la comunicación no fue la ideal, al carecer de

medios dinámicos de intercambio de ideas y discusión de resultados entre los miembros de la mesa directiva. Posteriormente se decidió que la mesa directiva estuviera compuesta por académicos de una sola institución; el modelo se mantuvo durante al menos 15 años [13].

Una decisión tomada por la primera mesa directiva fue la organización de un magno evento académico que reuniera a los miembros de la sociedad, naciendo así los Congresos de la Sociedad Mexicana de Electroquímica. El primero de ellos tuvo lugar en las instalaciones del CINVESTAV-IPN en el año 1979. A partir de entonces, la SMEQ convoca anualmente a sus miembros de todas las ramas de la electroquímica que se desarrollan en México a presentar sus resultados, avances y proyectos. Como ejemplo de la estructura y participación en estos primeros congresos, el II Congreso Nacional de la SMEQ llevado a cabo en el CINVESTAV-IPN en noviembre de 1980, se realizó en día y medio (jueves y viernes) y el programa científico constó de tres conferencias plenarios y la presentación de 12 trabajos de tres instituciones académicas (solo una no era del área metropolitana [14]); no había memorias y el programa de trabajo era una fotocopia realizada el día anterior, una vez que los participantes habían confirmado de última hora su asistencia, quienes por cierto sumaban a lo más una veintena. La invitación a estas reuniones no era algo oficial ya que no había convocatoria, y se hacía telefónicamente, forzando gentilmente algunas veces a los amigos a que presentaran un trabajo en esta reunión [15]. La mesa directiva en funciones proponía una fecha, y era la encargada de organizar y realizar los congresos, situación mantenida durante los primeros quince años de vida de la Sociedad. Además, con el fin de mantener la comunicación con los miembros, se lograron editar los cuatro primeros números del Boletín de la SMEQ siendo los editores del mismo los doctores Yunny Meas y Joan Genescá, desafortunadamente este esfuerzo no fue continuado por otros miembros y el boletín desapareció.

En los primeros años de la SMEQ, y considerando que los avances de las investigaciones se presentaban de manera indistinta, tanto en el congreso de la SMEQ como en la sección de electroquímica del Congreso de la SQM (con sólo seis meses de diferencia entre ambos), la mesa directiva presidida por el doctor Javier Ávila decidió que en lugar de congresos se organizaran foros de discusión sobre temas selectos de electroquímica. Destacan entre ellos el foro temático electroquímica realizado en el año 1987 en La Trinidad, Tlaxcala, donde se revisaron los conceptos fundamentales de la electroquímica en un ambiente familiar [16]. En el siguiente foro se discutieron algunas de las técnicas electroanalíticas, el cual se llevó a cabo en el Instituto de Investigaciones Científicas en Guanajuato en 1988. Estos eventos organizados por el entonces secretario de la SMEQ, doctor Ignacio González, fueron muy importantes para la comunidad, ya que al igual que el seminario organizado por el doctor Saloma en el año 1979, la reunión fue provechosa académicamente para muchos de los investigadores y profesores que se encontraban dispersos en el país. En la discusión generada en esos foros se planteó la necesidad de establecer una disciplina para comunicar por escrito los resultados

obtenidos de las investigaciones que se realizaban. Así, se instauró la tradición de publicar como memorias en extenso, los trabajos presentados en el congreso anual de la SMEQ. Esto es una actividad que hace diferente y distintiva a los congresos de la SMEQ, con respecto a otros congresos organizados por otras asociaciones nacionales.

A mediados de los años ochentas los grupos de electroquímica comenzaron a llegar a una etapa de madurez científica, caracterizada por las publicaciones en revistas internacionales y la preparación de recursos humanos especializados en electroquímica. Los primeros doctores egresados de instituciones mexicanas en el área de electroquímica fueron Omar Solorza, en el CINVESTAV-México, en 1984 y Marco Antonio Quiroz en la UAM-Iztapalapa en el año 1986.

A principios de los años noventa, se generó una fuerte ruptura dentro de la SMEQ debido a que el grupo de estudio de la corrosión, que representaba una parte importante de los miembros en activo de la sociedad, y el grupo del área de electroquímica analítica tenían visiones encontradas sobre la manera de abordar el estudio de dichos fenómenos. Después de algunas discusiones dentro y fuera de los congresos de la SMEQ, los primeros decidieron que un foro mejor para presentar sus trabajos eran el congreso de la AMIC [17] patrocinado por PEMEX y en la NACE-USA [18]. Esta situación duró casi diez años reintegrándose el grupo del estudio de la corrosión a los congresos de la SMEQ en el XVI congreso realizado en Santiago de Querétaro, Querétaro en 2001 [19].

3. Consolidando la SMEQ, de 1999

Con la mesa directiva 1999-2001 donde el doctor Yunny Meas, miembro fundador, vuelve al cargo de presidente de la sociedad (Tabla 1), se inicia un lento proceso de consolidación de la SMEQ. En abril de 1999 se organiza en Jurica, Querétaro, el evento denominado "Visión de la electroquímica para el siglo XXI". En este ejercicio de planeación estratégica se analizaron las debilidades y fortalezas de la sociedad. Se logró la participación de 10 instituciones representados por 21 académicos, quienes discutieron la situación de esta rama de la química y se plantearon objetivos y metas a cumplir [20].

Se cambió la manera de constituir la mesa directiva y en las últimas, se ha adoptado un modelo donde el presidente se elige y es él quien organiza y compone su grupo de trabajo [21]. Esta última forma de trabajar aunado a la rápida comunicación que se puede tener hoy con el Internet, sin importar donde se encuentren los miembros, ha permitido tener avances más importantes en la SMEQ. Además, a partir del XIV Congreso de la SMEQ realizado en Mérida, las memorias en extenso del congreso contaron con un registro IBSN, hecho que continúa hasta el día de hoy, dándole un mayor impacto a los trabajos ahí publicados.

En el 2000, la SMEQ organiza junto con la Sociedad Iberoamericana de Electroquímica el XIV Congreso Iberoamericano de Electroquímica, segundo congreso internacional donde la SMEQ participó como co-organizador. Este

Tabla 1. Presidentes de la SMEQ del periodo 1983-2003^a

Periodo	Presidente de la SMEQ (Institución)
1980-1982	Dr. Miguel Saloma (FQ-UNAM)
1982-1983	Dr. Gerard Poillerat (CINVESTAV-IPN)
1983-1986	Dr. Yunny Meas (UAM-Izt)
1986-1988	Dr. Javier Ávila (FQ-UNAM)
1988-1990	Dr. Jorge Uruchurtu (IIE)
1990-1992	Dr. Omar Solorza (CINVESTAV-IPN)
1992-1994	Dra. Elsa Arce (ESIQUE-IPN)
1994-1996	Dr. Ignacio González (UAM-Izt)
1996-1999	Dr. Jorge Ibáñez (U. Iberoamericana)
1999-2001	Dr. Yunny Meas (CIDETEQ)
2001-2003	Dra. Silvia Gutiérrez (IIC-Gto.)
2003-2005	Dra. Teresita Oropeza (UAM-Izt)
2005-2007	Dr. Luis A. Godínez Tovar Mora (CIDETEQ)

^a Por cuestiones de espacio no se mencionan todos los integrantes de las mesas directivas, sin embargo, no se puede olvidar su importante labor en apoyo de las actividades propuestas por el presidente en turno.

congreso tuvo gran éxito en la parte de organización y de participación académica, más de doscientos participantes de más de diez países entre ellos España, Portugal y Francia y 345 contribuciones científicas formaron parte de este congreso internacional [22]. En el congreso de la SMEQ en 2001 se crea la primera base de datos electrónica de los miembros y se hace un seguimiento de las áreas en que trabajan. En el congreso de la SMEQ realizado en Monterrey en el año 2002 se logró la presentación de más de 113 trabajos y 120 participantes [23]. Además de estos eventos académicos, se ha tratado de que la sociedad organice y apoye en actividades como cursos, talleres, etc. En este orden de ideas en los últimos años, han sido auspiciados junto con otras instituciones académicas del país varios cursos de actualización (Lab View, Reactores electroquímicos y Electroquímica básica, Electrocatálisis, Electroquímica y Electrosíntesis Orgánica).

En la parte de organización se ha modificado la manera de constituir la mesa directiva, haciéndola interinstitucional y fomentando la retroalimentación de conocimientos entre miembros con experiencia y jóvenes [21]. Además y desde 1999, se ha constituido el comité de organización del congreso, grupo de trabajo que, independientemente de la mesa directiva, se dedica a la organización del congreso de la sociedad. En el 2002 se creó el comité editorial del boletín de la SMEQ "Dipolo", que busca rescatar la idea de sus fundadores de tener un órgano de difusión y comunicación con los miembros de la sociedad. Este boletín es electrónico y es enviado a sus miembros cuatrimestralmente [24]. Con estos dos comités en marcha, la mesa directiva puede enfocarse en otro tipo de actividades académicas o de organización. Actualmente, se está trabajando en inscribir a la sociedad en el padrón de instituciones científicas del CONACYT, en la modificación de algunos puntos de los estatutos que son necesarios para mejo-

rar el funcionamiento de la misma y organización de cursos y talleres.

En lo que respecta a la presencia nacional de la SMEQ, los objetivos que busca son: la consolidación nacional del área, la propuesta de un programa básico de electroquímica para licenciatura, el fomento del buen posicionamiento de sus miembros y un fortalecimiento de los grupos de posgrado en electroquímica. Es importante mencionar que hasta 1999 estaban registrados por la SMEQ 91 investigadores y 177 estudiantes en el país. En el ámbito internacional, se ha buscado un acercamiento con las sociedades internacionales para realizar intercambios y organización de eventos conjuntos. En este tenor, la Electrochemical Society (ECS-USA), la Sociedad Iberoamericana de Electroquímica (SIBAE) y la SMEQ organizarán una reunión anual conjunta de electroquímica en el 2006 en Cancún, Quintana Roo.

Hoy en día la SMEQ [25] es una asociación multidisciplinaria en el campo de la electroquímica, con estrechas relaciones con industriales y académicos. Cuenta además con un patrimonio económico y académico que soportado en los veinte años de experiencia que ha acumulado, le permite realizar con mayor éxito las labores para las que fue fundada. Así, la difusión de esta ciencia se apoya con la elaboración de textos de conceptos fundamentales por parte de sus miembros, apoyo a cursos extracurriculares, organización de seminarios temáticos en distintas universidades, etc. Además, el Congreso de la SMEQ ha evolucionado de tal manera que es uno de los más completos que se realizan en México. En él se incluyen ponencias magistrales por parte de invitados extranjeros, presentaciones del trabajo doctoral de los nuevos doctores en una conferencia plenaria, presentación de trabajos orales o en carteles por parte de sus miembros y un evento social que fomenta la convivencia entre sus miembros. En la biblioteca del CIDETEQ-CONACYT [26], se encuentra el archivo histórico de la SMEQ incluidas las memoria *in extenso* de todos los congresos así como los documentos importantes de la sociedad.

Mirando atrás se puede ver el largo camino recorrido por la SMEQ y con satisfacción se puede decir, que aquella primera sociedad informal de finales de los setentas ha evolucionado en una sociedad consolidada que está trabajando para cumplir las funciones y objetivos para la cual fue creada. Esto se ha logrado gracias al entusiasmo y participación de los destacados científicos que se han mencionado a lo largo de esta reseña, comprometidos con su gremio y que sembraron la semilla de la electroquímica en México, semilla que ha germinado y crecido bajo su atinada visión y cuidado.

Agradecimientos: Esta reseña de la historia de la SMEQ fue posible gracias a los valiosos comentarios del doctor Miguel Saloma (FQ-UNAM), Dr. Yunny Meas (CIDETEQ), doctor Ignacio González (UAM-I) y Dr. Juan Genescá (FQ-UNAM) a quienes les agradezco el tiempo para platicar conmigo y para leer el manuscrito dándome sus comentarios y sugerencias para mejorarlo.

Referencias

1. El doctor Bernardo A. Frontana-Uribe fue Tesorero de la SMEQ de la mesa directiva 2001-2005.
2. A manera de ejemplo, el doctor Miguel Saloma tuvo que salir del país para realizar su doctorado ya que en ese entonces no había ningún doctor trabajando el área de electroquímica en la Ciudad de México.
3. El apoyo de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA-UNAM) cuya Secretaria Académica era la doctora Madelaine Rius de la Pola, consistió en el pago de lo equivalente a un profesor visitante en los EUA. La estancia de los profesores fue de una semana cada uno (Comunicación personal del doctor Miguel Saloma).
4. El profesor mexicano-norteamericano Arthur Díaz gustaba de ir a dar conferencias a la Universidad de Guanajuato. Él fue pionero en la síntesis electroquímica de polímeros conductores a base de polipirrol y era un reconocido investigador en esos años. Invitó, a solicitud del doctor Saloma, a reconocidos miembros de la Electrochemical Society (ECS-USA) para impartir los seminarios de este simposio en México.
5. Trópicos del Simposio "Electroquímica moderna y sus aplicaciones" FQ-UNAM 1979, Archivo Histórico de la SMEQ.
6. El estatus de cooperante en actividades científicas de la Republica Francesa existió hasta finales de los noventas, ya que era una manera de cubrir el servicio militar en Francia, este último hoy en día ya no existe. Es importante mencionar que en los años ochentas la influencia de la escuela Francesa de electroquímica fue muy marcada e influyó en diversas áreas de la electroquímica. En aquellas épocas, alumnos de los destacados profesores de electroquímica analítica B. Tremillón y G. Charlot vinieron a México dentro de los programas de cooperación entre ambos países, dejando marcada huella en esta área en las instituciones donde permanecieron.
7. Entre los miembros de la SMEQ entrevistados, las opiniones sobre la repercusión académica de estos cooperantes en el desarrollo de la Electroquímica en México son diversas y encontradas, lo que es indudable es que ellos permitieron en esos años darle una nueva visión a esta ciencia.
8. Comunicación personal del doctor Miguel Saloma y doctor Yunny Meas.
9. La doctora Silvia Tejada falleció en la Ciudad de México el 5 de diciembre de 2001, véase *Dipolo* 2003, 1-1, 6-9. en <http://www.sm-electroquimica.org/boletin.html>
10. Acta constitutiva No. 40,668 del Distrito Federal. Notaría 116. Desde su fundación las siglas aceptadas para la sociedad fueron SME, pero en la asamblea de la sociedad en el XVII Congreso Nacional en Monterrey N. L. en mayo del 2003, se acordó cambiar las siglas a SMEQ para evitar confusiones con el Sindicato Mexicano de Electricistas.
11. El doctor Yunny Meas comenta que en un principio estaba propuesta como la mesa directiva de la SMEQ, el comité organizador de la VI RELEC, sin embargo, por problemas legales con los participantes extranjeros se tuvo que proponer una nueva mesa directiva y es la que aparece en el acta constitutiva.
12. Cabe mencionar que se había planeado el congreso para finales de 1982, sin embargo, debido a la fuerte devaluación que sufrió el peso en ese año, el comité organizador tuvo que posponer la fecha. Fue de particular importancia para el financiamiento del evento, un préstamo que le hizo la Facultad de Química-UNAM a la SMEQ por 300,000.00, única institución académica que apoyó financieramente el evento (Comunicación personal del doctor Miguel Saloma y recibo oficial de la FQ-UNAM cancelado, Archivo Histórico de la SMEQ).
13. Las reuniones de trabajo de la mesa directiva se hacían normalmente en algún café y eran esporádicas, incrementando su frecuencia a medida que se acercaba la fecha del congreso de la SMEQ (Comentario de los doctores Yunny Meas e Ignacio González).
14. Lista de los trabajos presentados en el II Congreso de la SMEQ, CINVSTAV-DF, 1982, Archivo Histórico de la SMEQ.
15. Realmente algunas veces el organizador convenía telefónicamente a los académicos para que asistieran a presentar sus trabajos en el congreso de la SMEQ. Esta baja asistencia a los congresos nacionales es una situación que aún hoy sigue siendo un problema para las sociedades científicas nacionales (Comunicación personal del doctor Ignacio González ver comentario al respecto en *Dipolo* 2003, 1-2, p 4-6. en <http://www.sm-electroquimica.org/boletin.html>).
16. Tríptico de la convocatoria al Foro Nacional de Electroquímica, Archivo Histórico de la SMEQ.
17. Asociación Mexicana de Ingenieros en Corrosión.
18. National Association of Corrosion Engineers of USA.
19. Esta reintegración se llevó a cabo gracias al esfuerzo de reconciliación entre los líderes del estudio de la corrosión y el presidente de la mesa directiva de ese entonces el doctor Yunny Meas.
20. Documento generado del Taller "Visión de la electroquímica para el siglo XXI" por la SMEQ abril de 1999, Archivo Histórico de la SMEQ.
21. Cabe mencionar que en la asamblea de la sociedad celebrada en el XVII Congreso Nacional en Monterrey N. L. en mayo del 2003, se acordó cambiar la manera de elegir presidente. A partir de la mesa directiva 2003-2005, el vicepresidente de la mesa anterior ocupará el cargo de presidente de la mesa directiva que tome posesión y la elección será por el vicepresidente.
22. CD-ROM de memorias de los trabajos presentados en el XV congreso de la SMEQ, XIV Congreso de la SIBAE, Oaxaca, México, 2000. Archivo Histórico de la SMEQ.
23. CD-ROM de memorias de los trabajos presentados en el XVII congreso de la SMEQ, SMEQ, Monterrey, México, 2003. Archivo Histórico de la SMEQ.
24. La dirección electrónica del boletín es: <http://www.sm-electroquimica.org/boletin.html>.
25. La dirección electrónica de la SMEQ es: <http://www.sm-electroquimica.org>.
26. <http://www.cideteq.mx>.

Reflexiones sobre la historia de la creación del Posgrado en Ciencias y Biotecnología de Plantas del CICY¹

Víctor M. Loyola Vargas

Unidad de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas, Centro de Investigación Científica de Yucatán. Mérida, Yucatán, México. Email: vmloyola@cicy.mx.

Introducción

La Historia, con mayúscula, es una fuente inagotable de conocimiento y experiencias para el desarrollo de las comunidades. En el ámbito científico no es diferente. Cómo un problema fue resuelto en el pasado, sin las facilidades técnicas actuales, suele ser una fuente muy importante de enseñanza para estudiantes y profesores. Preservar y analizar los hechos y las acciones de cómo hemos creado y desarrollado nuestras instituciones y sus programas, es una tarea que debemos cumplir con esmero, y dejarla como legado para los colegas y estudiantes que llegaron después o no participaron en ello. Esta es la tarea que me propongo desarrollar en las presentes reflexiones, antes de que el tiempo y las acciones borren la memoria de los que participamos en la creación del Postgrado en Ciencias y Biotecnología de Plantas. Es mi visión, como uno de sus protagonistas, y desde luego, está narrada desde mi perspectiva.

La creación de un programa de posgrado, de la naturaleza del nuestro, es una empresa que sobrepasa las capacidades de una sola persona. No importa que la idea original haya sido de uno solo; no tendríamos programas de posgrado sin el concurso de profesores-investigadores, estudiantes y autoridades.

El posgrado en el área biológica del CICY

En el pasado, la universidad se inició con el reconocimiento de la clase estudiantil por el emperador Federico Barbarroja en el año 1158 en Boloña, y la creación de la Universidad por los eclesiásticos del medioevo en París. Con la promulgación por el Papa, de la Carta de la Sorbona en el año 1210, se inició una nueva forma de enseñanza.

En la universidad medieval eran tres los grados que se otorgaban: bachiller, licenciado y doctor. El de bachiller habilitaba para el ejercicio profesional; el de licenciado abría las puertas de la docencia universitaria, y el de doctor suponía un complemento honorífico y pomposo del anterior.

Hoy en día, la mayoría de los centros de investigación del país se han quedado sólo con el otorgamiento del grado de doctor, en tanto que las universidades participan activamente en el otorgamiento de los tres grados. Si bien este documento no es el lugar pertinente para discutir si dicha división es adecuada, sí se debe señalar de forma explícita, ya que separa, en algunos casos de forma irreconciliable a la investigación de la formación de los nuevos profesionistas.



Fig. 1. Primer cuerpo directivo del CICY. De izquierda a derecha: doctores Manuel Robert Díaz (Genética), Luis del Castillo Mora (Director General), Carlos Huitrón Vargas (Biotecnología), Roger Orellana Lanza (Regionalización) y Carlos Cruz Ramos (Química Aplicada). La foto fue tomada en la primera sede del CICY en la calle 66 No. 497, en el centro de la ciudad de Mérida, a finales del año 1980 o principios de 1981.

Si bien en el acta constitutiva del CICY del 16 de noviembre del año 1999 ya se establece la posibilidad de otorgar grados académicos, y se establece el mandato para formar recursos humanos, pasaron casi siete años para que el Centro iniciara un posgrado. No es de extrañar. Para establecer un posgrado de excelencia se requiere de un cuerpo académico establecido y de líneas de investigación productivas, lo cual lleva tiempo. En esa época ya se tenía la experiencia de que algunos de los investigadores del Centro dirigían tesis de posgrado de estudiantes provenientes de otras universidades.

Además, por la falta de un posgrado, el Centro estaba teniendo problemas para atraer investigadores que terminaran de fortalecer sus líneas de investigación, ya que no se contaba con estudiantes de nivel superior para la investigación, y por otro lado los investigadores no podían aspirar a alcanzar las categorías más altas por la falta de dirección de tesis de posgrado. Ante esta situación los doctores Luis del Castillo Mora y Mario Dondé Castro, así como el ingeniero José Canto Quintal, director en ese momento del Instituto Tecnológico de Mérida decidieron que ambas instituciones deberían ofrecer un



Fig. 2. Estudiantes de la primera generación del posgrado de Procesos Biotecnológicos. Línea del frente de izquierda a derecha Ingrid Rodríguez Buenfil, Elizabeth Ortiz Vázquez, Elsy Tamayo Canal, Elvia Suárez Monterroso, Lizbeth Castro Concha, Miriam Monforte González, Adriana Cauich Suaste. En línea posterior: Ligia Soberanis Tejero, Francisco Espadas y Gil, Luis Aldana Burgos, Carlos Talavera May, Jorge Tamayo Cortés, Carlos Castillo Pompeyo, Gregorio Godoy Hernández e Irma Trejo Canché. La estudiante Ligia Soberanis es una invitada.

programa de posgrado en forma conjunta, de tal forma que las bases del posgrado en Ciencias y Biotecnología de Plantas del Centro se sentaron el 29 de julio de 1985, cuando el CICY y el Instituto Tecnológico de Mérida formalizaron con la firma de un convenio la colaboración entre ambas instituciones, mediante el cual el CICY participaría en el nuevo posgrado de Ciencias Biotecnológicas en el Instituto Tecnológico de Mérida, impartiendo la orientación de Procesos Vegetales.

La Maestría del nuevo posgrado fue aprobada en septiembre de 1985 por la Dirección de Estudios de Posgrado e Investigación del Sistema de Institutos Tecnológicos. La dirección de la colaboración y el postgrado quedó a cargo del doctor Mario Dondé Castro el primer Director Académico del CICY, quien se encontraba laborando en el Centro desde febrero de 1983. Este posgrado se inició el 14 de febrero de 1986. La primera generación estuvo compuesta de 14 estudiantes: ocho de biotecnología vegetal y seis de biotecnología microbiana (Fig. 2). Los miembros de la primera generación del Programa de Procesos Vegetales fueron: Miriam Monforte González, Gregorio Godoy Hernández, Lizbeth Castro Concha, Carlos Talavera May, Francisco Espadas y Gil, Carlos Castillo Pompeyo, Irma Trejo Canché y Luis Aldana Burgos.

La admisión al posgrado en Procesos Biotecnológicos se realizaba cada dos años. Durante la existencia de este posgrado, 25 de los estudiantes que ingresaron a la opción vegetal terminaron los créditos y 24 de ellos obtuvieron el grado. De estos estudiantes, 13 continuaron estudios de doctorado, unos en México y otros en el extranjero; ahora son investigadores

en diversas instituciones del país. Entre ellos se encuentran los doctores Felipe Vázquez Flota, Gregorio Godoy Hernández, Luis Sáenz Carbonell, Ignacio Islas Flores, Oscar Moreno Valenzuela, Teresa del Rosario Ayora Talavera, Rolando Cardeña López, Melina López Meyer, Ignacio Maldonado Mendoza, Rosa María Escobedo Gracia-Medrano, Romualdo Ciau Uitz, Emeterio Payro de la Cruz (candidato a doctor) y Javier Mijangos Cortés.

Los primeros graduados de este programa fueron los maestros en ciencias Lizbeth Arianelly Castro Concha y el doctor Gregorio Godoy Hernández en mayo de 1989 con las tesis: Estudio del metabolismo nitrogenado durante la vitrificación en plantas micropropagadas de agave, y Obtención y cultivo de protoplastos de *Catharanthus roseus* L. (G.) Don y escalamiento de cultivos celulares a nivel de fermentador, respectivamente, dirigidas por el doctor Víctor M. Loyola Vargas. En los años 1990 y 1991 se publicaron los primeros artículos realizados por los estudiantes de este posgrado [2,3].

Siete años después, la División de Biología Vegetal había alcanzado una importante madurez en sus cuadros de investigadores y en sus líneas de investigación. Esta solidez permitió, en 1993, que le propusiera al entonces director de nuestro Centro, el doctor Manuel Robert Díaz, el que el Centro ofreciera un doctorado directo en el área de la Biotecnología.

No fue una tarea sencilla convencer a todos los profesores-investigadores de participar. Al igual que hoy en día, algunos pensaban que no era nuestra tarea dar clases y adquirir todas las obligaciones que conlleva la responsabilidad de un posgrado. Sin embargo, después de varios meses de reuniones

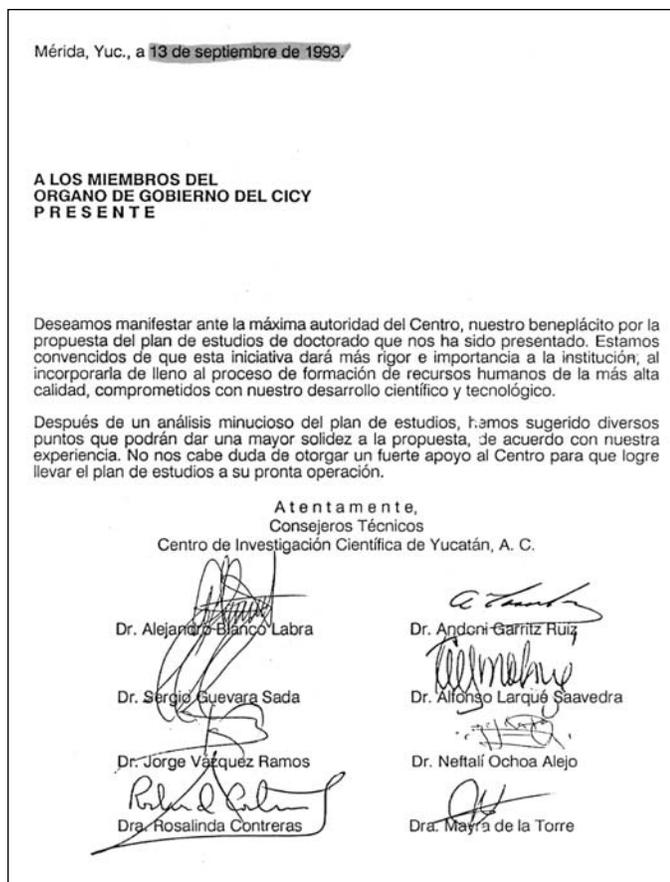


Fig. 3. Facsímile del acta firmada por el Consejo Técnico aprobando la creación del posgrado en Ciencias y Biotecnología de Plantas.

y análisis con los investigadores de la División de Biología Vegetal, en septiembre 13 de 1993, el Consejo Técnico y algunos invitados especiales, entre los que se encontraban los doctores Alejandro Blanco Labra, Andoni Garritz Ruiz, Alfonso Larqué Saavedra, Sergio Guevara Sada, Jorge Vázquez Ramos, Neftalí Ochoa Alejo, Rosalinda Contreras y Mayra de la Torre, y después de una serie de sugerencias, entre ellas el cambio del nombre propuesto inicialmente de Doctorado en Biotecnología Vegetal, aprobaron el Programa en Ciencias y Biotecnología de Plantas. Este programa cuenta con la posibilidad de ingresar al doctorado después de la maestría o directamente después de la licenciatura (Fig. 3).

Se propuso el cambio de nombre para hacerlo más atractivo, ya que se pensó que el de Biotecnología Vegetal era limitativo. El otro aspecto que se discutió de forma importante fue el hecho de que se proponía un posgrado sin maestría y además con ingreso directo de la licenciatura, sin necesidad de cursar la maestría. En el año 1994 casi no había ningún doctorado directo en México. El nuestro fue de los primeros en ofrecer dicha alternativa.

Días más tarde, el 11 de octubre de 1993, el Consejo Directivo del Centro aprobó el primer programa de posgrado del CICY con el nombre de Postgrado en Ciencias y Biotecnología de Plantas y fui nombrado su primer coordinador. Inmediatamente me di a la tarea de someterlo a evaluación en la convocatoria del Padrón de Excelencia del CONACYT. El Programa fue aprobado como programa emergente por el CONACYT y recibió su primer apoyo económico. Para entonces, la División de Biología Vegetal tenía 13 investigadores con doctorado: Manuel Robert Díaz, Roger Orella Lanza, Carlos Oropeza Salín, Víctor M. Loyola Vargas,



Fig. 4. Investigadores, ingenieros y directivos del CICY en diciembre del año 1993. El Centro contaba con 14 doctores en la División de Biología y 3 en la de Materiales, así como con 8 maestros en ciencias y 4 ingenieros.

María de Lourdes Miranda Ham, Luis M. Peña Rodríguez, Jorge Santamaría Fernández, Rafael Durán García, Ingrid Olmsted, Jesús Quiroz Mora, Ana María Baíza Martínez, Isidro Castorena Sánchez y Teresa Hernández Sotomayor (Fig. 4).

También se iniciaron de inmediato los trámites para registrar el Programa en la Secretaría de Educación Pública. Si bien el Centro estaba autorizado a otorgar grados académicos, se decidió que tener la supervisión de la SEP le daría un mejor respaldo a nuestro programa de posgrado. Este registro se obtuvo el 28 de octubre de 1997 tanto para el doctorado como para la maestría.

El 10 de febrero de 1994 se constituyó formalmente el Colegio de Profesores del Doctorado en Ciencias y Biotecnología de Plantas, a esta reunión asistieron 10 de los investigadores con doctorado de la División de Biología Vegetal (Fig. 5). Los días 14 y 15 de marzo del mismo año, se llevó a cabo el primer examen de admisión; en él participaron los doctores Marcelino Cerejido (CINVESTAV-México), Antonio Peña Díaz (Instituto de Fisiología Celular, UNAM), Teresa Hernández Sotomayor, Manuel Robert Díaz y el autor. De los 13 estudiantes que presentaron el examen de admisión, fueron admitidos once: Blondy Canto Canché, Rolando Cardeña López, Mauricio De la Puente Martínez de Castro, César De los Santos Briones, José Luis Giorgana Figueroa, Oscar Moreno Valenzuela, Sara Luz Nahúat Dzib, Luis Carlos Rodríguez Zapata, Luis Alfonso Sáenz Carbonell y Víctor Suárez Solís (Fig. 6). La estudiante Patricia Sánchez Iturbe inició sus estudios en el siguiente semestre.

La inauguración y el inicio de cursos del nuevo posgrado se llevaron a cabo el lunes 4 de abril. Para dicha ocasión se invitó al doctor Rodolfo Quintero Ramírez para impartir la plática inaugural (Fig. 7).

Nuestro programa de posgrado se inició con varias características, algunas de las cuales se están perdiendo desafortunadamente: una de las más importantes es el carácter tutorial de la enseñanza. También se cuenta con un comité tutorial integrado por tres investigadores, uno de los cuales debe ser externo al CICY, y otra característica muy importante es que más del 70% de los créditos se obtienen por el trabajo de investigación. En 1994 muy pocos posgrados contaban con la participación de un comité tutorial.

En el año 1995, al cierre de la opción en Procesos Vegetales en la maestría de Procesos Biotecnológicos del Instituto Tecnológico de Mérida, y con base en la demanda por estudios de maestría en el área de la Biotecnología, se decidió incorporar la opción de maestría al programa de posgrado en la sesión XII del Consejo Académico del día uno de agosto de 1995; la decisión se tomó por votación de 7 a 6. A pesar de que habíamos estado colaborando con el Instituto Tecnológico de Mérida en la maestría, casi la mitad de los investigadores de la División de Biología no estaban convencidos de que debíamos tener una propia.

Al mismo tiempo y ante la consolidación del grupo de investigadores del área de Recursos Naturales, el programa de doctorado se dividió en tres opciones: Biología Experimental,



Fig. 5. Facsímil de la portada y última página de la primera acta del Consejo Académico llevada a cabo el 10 de febrero de 1994.



Fig. 6. Primera generación de estudiantes del Posgrado en Ciencias y Biotecnología de Plantas. De izquierda a derecha al frente: Rolando Cardeña López, Blondy Canto Canché, Víctor Suárez Solís, Mauricio De la Puente Martínez de Castro. En la parte de atrás Oscar Moreno Valenzuela, Luis Alfonso Sáenz Carbonell, César De los Santos Briones y Luis Carlos Rodríguez Zapata. No están presentes en la fotografía José Luis Giorgana Figueroa y Sara Luz Nahúat Dzib.

Biotecnología Vegetal y Ecología. Estas modificaciones fueron aprobadas por nuestro Consejo Técnico el 5 de septiembre de 1995, y el 28 del mismo mes las aprobó el Consejo Directivo de la Institución.

La primera generación de estudiantes que escogieron la opción de Recursos Naturales fueron: Luis Manuel Arias Reyes, Celene Marisol Espadas Manrique, José Antonio González Iturbe-Ahumada, Martha Méndez González y Demetria Mondragón Chaparro (Fig. 8).

La primera generación de la maestría en Ciencia y Biotecnología de Plantas estuvo formada por 7 estudiantes e inició sus estudios en abril del año 1996, ellos fueron: Margarita Aguilar Espinosa, Iván Isidro Córdova Lara,

Manuel Jesús Chan Bacab, Mauro Gómez Juárez, Elizabeth Juárez Hernández, Sergio Martínez Aguirre y Mario Puch Ceh (Fig. 9).

El 24 de abril de 1998 el doctor Luis Carlos Rodríguez Zapata fue el primer estudiante que obtuvo el título de doctor con la tesis: Fosforilación de proteínas en residuos de tirosina en raíces transformadas de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don., dirigida por la doctora Teresa Hernández Sotomayor (Fig. 10). En el año 1998 también se publicaron los primeros artículos firmados por estudiantes del Programa de Posgrado en Ciencias y Biotecnología de Plantas (Fig. 11) [4].

El primer estudiante que obtuvo el título de maestro en ciencias fue Iván Córdova Lara, el 11 de abril del año 2000, con la tesis: Estudio sobre la distribución intraplanta y dispersión del amarillamiento letal en el cocotero mediante el uso de la reacción en cadena de la polimerasa, dirigida por el doctor Carlos Oropeza Salín (Fig. 12).

Hasta la fecha (noviembre del año 2004) han ingresado a nuestro programa de doctorado 16 generaciones para un total de 96 estudiantes; se han producido 19 bajas. En el caso de la maestría han ingresado 12 generaciones para un total de 70 estudiantes; se han producido sólo ocho bajas. En el caso del doctorado las bajas han sido más frecuentes en el programa de doctorado directo. Los estudiantes que han ingresado al Posgrado de Ciencia y Biotecnología de Plantas provienen de por lo menos de 19 instituciones de 12 estados de la república y cinco países.

Actualmente se han graduado 20 doctores y 24 maestros en ciencia. En promedio los estudiantes de doctorado han publicado cerca de dos artículos en revistas internacionales con arbitraje. Los estudiantes del programa han publicado varias decenas de artículos y realizado más de 200 presentaciones en congresos tanto nacionales como internacionales. Algunos de sus egresados han obtenido premios por los trabajos de investigación realizados durante sus estudios en el Centro [5].

Ante la consolidación de los programas de posgrado y la presencia de un importante número de estudiantes de posgrados de otras instituciones, el Centro solicitó su ingreso a la Asociación Nacional de Universidades e Instituciones de Educación Superior (ANUIES). Esta asociación aprobó el ingreso del CICY a su seno en el año 2001.

En febrero del año 1997 el doctor Rafael Durán García, investigador de la Unidad de Recursos Naturales fue nombrado coordinador del posgrado. En febrero del año 2000 el doctor Armando Escamilla Bencomo sustituyó al Dr. Durán como coordinador. En febrero del año 2002 el doctor Escamilla renunció a su puesto como coordinador del posgrado y en su lugar fue nombrado el doctor Felipe Vázquez Flota.

Nuestro posgrado se ha caracterizado y diferenciado de otros en diversos aspectos, entre los que cabe destacar el número y calidad de los profesores invitados a los comités tutorales y exámenes de grado, así como en la calidad de las tesis, no sólo en su contenido, sino también en su impresión. Los profesores invitados provienen de prácticamente todas las instituciones en las que se realizan tareas afines a las de nuestro posgrado.



Fig. 7. Presidium de la inauguración del posgrado el 4 de abril de 1994. De izquierda a derecha: Víctor M. Loyola Vargas (coordinador del posgrado), el representante del gobierno estatal, Manuel Robert Díaz (director del CICY), Felipe Ahumada Vasconcelos (delegado regional del CONACYT) y Rodolfo Quintero Ramírez (conferencista invitado).



Fig. 8. Primera generación de estudiantes del Doctorado en Ciencias y Biotecnología de Plantas, opción de Ecología. De izquierda a derecha Luis Manuel Arias Reyes, Martha Méndez González, Celene Marisol Espadas Manrique, Demetria Mondragón Chaparro y José Antonio González Iturbe-Ahumada.



Fig. 9. Primera generación de estudiantes de la Maestría en Ciencias y Biotecnología de Plantas. De izquierda a derecha Manuel Jesús Chan Bacab, Mario Puch Ceh, Margarita Aguilar Espinosa, Iván Isidro Córdova Lara, Mauro Gómez Juárez, Elizabeth Juárez Hernández y Sergio Martínez Aguirre.

Otra importante actividad que realizan los estudiantes de posgrado es la de reunirse cada año en un congreso en el que presentan el avance de sus trabajos de investigación. Esta actividad que se inició al interior del Centro ha ido creciendo, actualmente también participan en ella estudiantes de los Institutos Tecnológicos de Mérida y Agropecuario de Conkal. Durante dicho evento se premia al mejor trabajo de maestría y al mejor trabajo de doctorado. El jurado lo forman investigadores de estas tres instituciones.

Hasta recientemente se premiaban a los mejores estudiantes del posgrado. Se otorgaba un premio al mejor promedio de la generación y como ya se mencionó al estudiante que presentara el mejor cartel. Esta práctica es una actividad que deberíamos mantener y estimular.

El 5 de noviembre del año 1999, durante la celebración del XX aniversario de la fundación del CICY, y a cinco años de que se iniciaron los cursos del posgrado, se efectuó la primera ceremonia de graduación de los egresados de los programas de posgrado del Centro (Fig. 13). El 24 de junio del año 2002 se llevó a cabo una segunda ceremonia de graduación (Fig. 14). Estas ceremonias están llenas de simbolismo y tiene su origen en la universidad del medioevo. En la Universidad de Salamanca, por ejemplo, la ceremonia de graduación se celebraba en el crucero de la iglesia, tras argumentos y discursos del pretendiente, padrino, rector y maestrescuela, se le otorgaban las insignias (birrete, anillo, libro, etc.).

Nuestros posgrados, desde la maestría en colaboración con el Instituto Tecnológico de Mérida y la maestría y el doctorado en Ciencia y Biotecnología de plantas han estado siempre en el padrón de posgrados de excelencia del CONACYT. En el año 2002 nuestro posgrado fue admitido en el Programa Institucional de Fomento al Posgrado (PIFOP) con el compromiso de que la maestría alcanzaría los parámetros de excelencia necesarios para aspirar a pertenecer al Programa Nacional de Posgrado en el año 2005 y el doctorado en el año 2006.

A la fecha el programa cuenta con 91 estudiantes, 55 de doctorado y 36 de maestría y el área de biología vegetal del Centro cuenta con 44 doctores y sus graduados trabajan en diversas instituciones como las Universidades del Mar, de Campeche y Autónoma de Yucatán, Centro de Investigación y Asistencia Técnica del Estado de Jalisco, Colegio de Bachilleres de Quintana Roo, la Facultad de Química de la UNAM, el Seguro Social de Veracruz, entre otras.

Balance final

Diez años es un buen tiempo para hacer un balance de lo logrado y de lo que falta por hacer. Casi 50 estudiantes graduados son también un buen número para realizar una encuesta sobre la formación que recibieron. Saber que tan útil les está siendo en su trabajo actual, cómo ven a su posgrado después de que lo concluyeron, en qué medida llenó sus expectativas; éstas serían sólo algunas de las preguntas que permitirían llevar a cabo un análisis para seguir mejorando el programa que se ofrece.

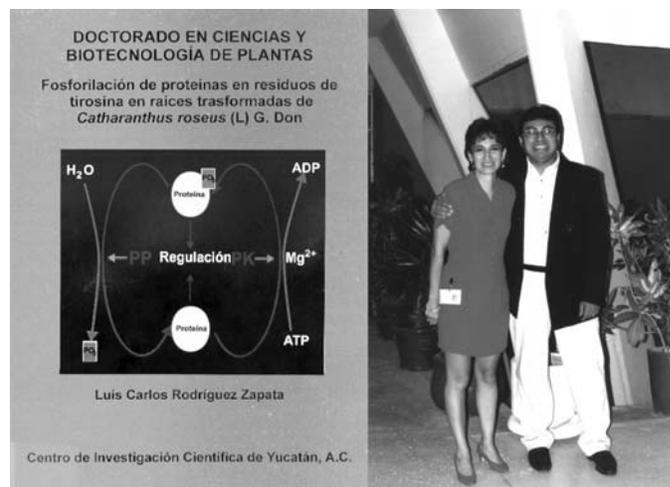


Fig. 10. Del lado izquierdo facsímil de la portada de la primera tesis de doctorado presentada en el Centro. A la derecha la Dra. Teresa Hernández y el Dr. Luis Carlos Rodríguez.

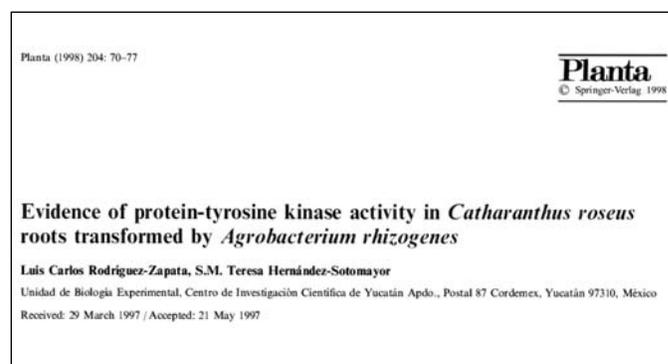


Fig. 11. Facsímil de la porta del primer artículo publicado por un estudiante del Posgrado en Ciencias y Biotecnología de Plantas.



Fig. 12. Del lado izquierdo facsímil de la portada de la primera tesis de maestría presentada en el Centro. Del lado derecho el MC Iván Córdova Lara con su jurado examinador.

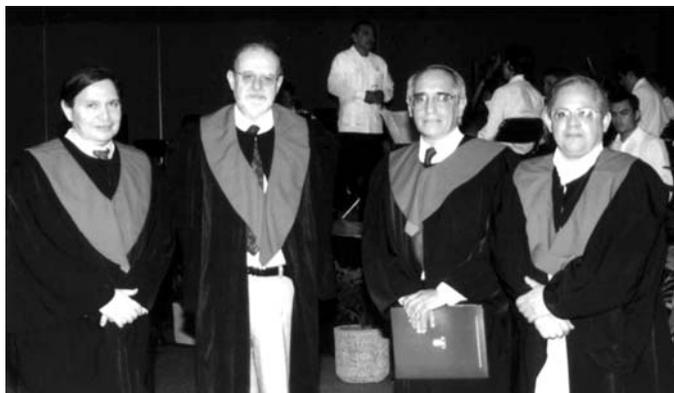


Fig. 13. Ceremonia de graduación durante la celebración del XX aniversario del Centro. De izquierda a derecha: Dr. Manuel Robert, Lic. Carlos Bazdresch Parada, doctores Alfonso Larqué y Luis del Castillo.



Fig. 14. Segunda ceremonia de graduación del programa en Ciencias y Biotecnología de Plantas en junio del año 2002.

Hoy en día aún participan en el programa de posgrado del Centro 5 de los investigadores que firmaron la primera acta del Consejo Académico, ellos también podrían ser una fuente de información y retroalimentación muy importante. Pero también, desde luego, la experiencia de los casi 40 doctores que se han incorporado al programa.

La mera existencia de un posgrado de calidad indica que se han hecho bien las cosas. Sin embargo, es importante seguir

mejorando. En este rubro existen diversos aspectos que debemos corregir. Los más importantes son: el excesivo tiempo que tardamos en que los estudiantes se gradúen, este parámetro es uno de los criterios más rigurosos con los que son evaluados los programas de posgrado por diversas instancias, los egresados de las generaciones más recientes ya están más cerca de los tiempos que nosotros mismos hemos fijado, pero aún falta trabajo por hacer en este rubro; el seminario de estudiantes ha mejorado notablemente bajo la coordinación de sus diferentes coordinadores, sin embargo, aún no se puede contrarrestar la apatía con la que toman la mayoría de los investigadores su participación en él, se requiere que todos los actores del programa participemos activamente.

Recientemente, y con el pretexto de la falta de presupuesto hemos limitado la participación de los profesores invitados. Las autoridades del Centro han tomado exactamente el mismo camino del que nos quejamos de las autoridades federales: el más fácil. No se plantearon la pregunta correcta. En realidad deberíamos preguntarnos si la presencia de profesores invitados hace mejor a nuestro posgrado. Si la respuesta es no, se suprime su participación, pero si la respuesta es sí, entonces deberíamos buscar la forma de obtener los medios económicos para su participación. En este caso deberíamos también propiciar que los profesores invitados participen más activamente en la formación de nuestros estudiantes. Otra alternativa sería el uso de los sistemas actuales de comunicación como, por ejemplo, el uso de la técnica de videoconferencia.

Otro rubro de la formación de nuestros estudiantes que deberemos fomentar es su participación en congresos, cursos y estancias de investigación fuera del Centro. Algunos de nuestros egresados lo han hecho activamente, y seguramente es una experiencia que deberíamos extender a todos los estudiantes del programa.

En relación con el futuro de nuestros egresados hay dos preguntas fundamentales que debemos hacernos, particularmente a la luz del escenario actual de contrataciones en los sectores público y privado: ¿Cuál es el perfil de los investigadores que se requerirán en los próximos 10 años? ¿Dónde van a trabajar estos nuevos investigadores? Hasta ahora nuestros posgrados forman nuevos investigadores para la academia, pero no lo están haciendo para la industria; a esta última le pedimos que participe en la investigación y que se relacione con los Centros de investigación y las Universidades, pero no le hemos ayudado a formar a los interlocutores que se requieren.

Será fundamental que nuestros posgrados consideren en sus programas la formación de investigadores o maestros que se orienten a trabajar para la industria, así como la presencia en las currícula de materias como bioética, bioseguridad, legislación y propiedad intelectual. Para ello será crucial que involucremos a todos los actores en la construcción de los nuevos programas de posgrado.

Por otro lado, los posgrados de corte académico que miren hacia el futuro deberán ser mucho más flexibles de lo que son ahora. Por ejemplo, el alumno deberá poder escoger las materias, que junto con su investigación le permitirán una formación más integral y no tan rígida como la que tiene

actualmente. Debemos inculcar en nuestros estudiantes el criterio de que la generación del conocimiento y el desarrollo de tecnología, son los aspectos centrales de su desarrollo, y no el número de publicaciones. Para ello deberemos hacer una profunda reflexión sobre nuestros sistemas de evaluación. Se están dando algunos pasos en esa dirección, y deberemos ahondar en ella.

En suma, durante los pasados 10 años una pequeña idea se ha convertido, hoy en día, en parte fundamental del desarrollo de nuestra Institución. Debemos desarrollarla a plenitud. Expandir nuestra oferta de formación de investigadores, convenir con la industria y llevar a cabo la formación de sus cuadros de investigadores. Aprovechar la naturaleza única de la investigación que se realiza en el CICY. Pero sobre todo refrendar el compromiso que un pequeño grupo de profesores-investigadores hizo hace 10 años: lograr que nuestros estudiantes sean mejores profesores-investigadores que lo que somos nosotros. Ellos harán del CICY un mejor centro de investigación e impulsarán el desarrollo científico que tanto necesita el país.

Agradecimientos

El autor agradece los datos que le proporcionó el Departamento de Servicios Docentes sobre alumnos graduados, así como el apoyo del ingeniero Carlos Chuc, la revisión del manuscrito por el licenciado Francisco López y los recuerdos del doctor Mario Dondé Castro. Algunas de las fotografías fueron tomadas por el autor y otras son del archivo del Departamento de Difusión del Centro.

Referencias

1. Este artículo esta dedicado a los profesores-investigadores y estudiantes fundadores del Programa de Posgrado en Ciencia y Biotecnología de Plantas. CICY. Mérida. Yucatán. México.
2. Castro-Concha, L.; Loyola-Vargas, V. M.; Chan, J. L.; Robert, M. L. Glutamate dehydrogenase activity in normal and vitrified plants of *Agave tequilana* Weber propagated *in vitro*. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* **1990**, *22*, 147-151.
3. Godoy-Hernández, G.; Loyola-Vargas, V. M. Effect of fungal homogenate, enzyme inhibitors and osmotic stress on alkaloid content of *Catharanthus roseus* cell suspension cultures. *Plant Cell Rep.* **1991**, *10*, 537-540.
4. (a) Rodríguez-Zapata, L. C.; Hernández-Sotomayor, S. M. T. Evidence of protein-tyrosine kinase activity in *Catharanthus roseus* roots transformed by *Agrobacterium rhizogenes*. *Planta* **1998**, *204*, 70-77. (b) Islas-Flores, I.; Oropeza, C.; Hernández-Sotomayor, S. M. T. Protein phosphorylation during coconut zygotic embryo development. *Plant Physiol.* **1998**, *118*, 257-263. (c) Rodríguez-Zapata, L. C.; Hernández-Sotomayor, S. M. T. Detection of tyrosine phosphatase activity in *Catharanthus roseus* hairy roots. *Plant Physiol. Biochem.* **1980**, *36*, 731-735. (d) Cardeña, R.; Oropeza, C.; Zizumbo-Villarreal, D. Leaf proteins as markers useful in the genetic improvement of coconut palms. *Euphytica* **1998**, *102*, 81-86. (e) Chan-Rodríguez, J.; Sáenz, L. A.; Talavera, C.; Hornung, R.; Robert, M. L.; Oropeza, C. Regeneration of coconut (*Cocos nucifera* L.) from plumule explants through somatic embryogenesis. *Plant Cell Rep.* **1998**, *17*, 515-521. (f) Moreno-Valenzuela, O. A.; Galaz-Avalos, R. M.; Minero-García, Y.; Loyola-Vargas, V. M. Effect of differentiation on the regulation of indole alkaloid production in *Catharanthus roseus* hairy roots. *Plant Cell Rep.* **1998**, *18*, 99-104.
5. Chan-Bacab, Manuel J. Mención Honorífica a su Tesis de Maestría. XIII Premio Lola e Igo Flisser PUIS **2000**. Echavarría-Machado, Ileana. Premio al mejor cartel. Congreso de la Phytochemical Society of North America. **2002**.

¿Cómo enseñar ciencias? Principales tendencias y propuestas

Juan Miguel Campanario y Aída Moya
Enseñanza de las Ciencias 1999, 17, 179-192.

Andoni Garritz

Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito Escolar. Ciudad Universitaria. Coyoacán 04510. México, D.F. andoni@servidor.unam.mx

Resumen

Este artículo recopila las principales tendencias y las propuestas más recientes para enseñar ciencias naturales. Poco a poco van pasando por el análisis:

- El aprendizaje por descubrimiento.
- La resolución de problemas, como base de la enseñanza y el aprendizaje.
- El cambio conceptual como punto de partida de las ideas constructivistas.
- El aprendizaje como un proceso de investigación dirigida.
- El desarrollo de las capacidades metacognitivas.
- El diseño de unidades didácticas.

Introducción

En su introducción, el artículo menciona las dificultades ya “clásicas” en los procesos de aprendizaje de las ciencias, tales como: la estructura lógica de los contenidos conceptuales, el nivel de exigencia formal de los mismos y la influencia de los conocimientos previos del alumno. Dice que en tiempos más recientes el interés de la investigación se ha movido a prestar atención a factores tales como las concepciones epistemológicas de los alumnos, sus estrategias de razonamiento o a la metacognición. Aclara a continuación a qué se refieren más específicamente estos últimos factores.

Por ejemplo, dice que “las concepciones epistemológicas” se refieren a las ideas del conocimiento, en general, en nuestro caso del conocimiento científico: cómo se estructura, cómo evoluciona y cómo se produce, tema que se ha dado en llamar “la naturaleza de la ciencia”. Las concepciones epistemológicas sobre la ciencia guardan relación con las concepciones sobre cómo se aprende el conocimiento científico.

Con relación a “las estrategias de razonamiento” dicen que existe amplia evidencia de que cuando los alumnos abor-

dan el análisis de problemas científicos utilizan metodologías superficiales o aplican heurísticos importados del contexto cotidiano, pero de dudosa utilidad cuando se trabaja con contenidos científicos.

Nos dicen, finalmente que “las estrategias metacognitivas” de los alumnos son realmente pobres. Los estudiantes aplican criterios de comprensión limitados, de manera que no siempre son capaces de formular sus dificultades como problemas de comprensión; es decir, no saben que no saben.

Como resultado de investigaciones en estos aspectos, parece claro que las estrategias tradicionales de enseñanza de las ciencias son poco eficaces para promover el aprendizaje significativo. Resultan, por lo tanto, ser suposiciones inadecuadas las siguientes relativas a concepciones tradicionales acerca de la enseñanza y el aprendizaje:

- a) Enseñar es una tarea fácil que no requiere de una preparación especial.
- b) El proceso de enseñanza-aprendizaje se reduce a una simple transmisión de conocimientos ya elaborados.
- c) El fracaso de muchos alumnos se debe a sus propias deficiencias: falta de nivel, falta de capacidad, etc.

Dicen los autores que cómo enseñar más eficazmente es un problema abierto hoy. Mencionan que es conveniente abandonar la noción de *método de enseñanza* y cambiarla por *estrategia de enseñanza*. Sin embargo, dicen que la organización de las actividades de enseñanza que conduzcan al aprendizaje significativo está lejos de ser evidente o unívoca, y lo que pretende este artículo es revisar y analizar críticamente los enfoques más influyentes que se han propuesto para intentar vencer con mayor o menor éxito los muy diversos elementos que configuran las dificultades del proceso de aprendizaje de las ciencias.

¿Tiene vigencia el aprendizaje por descubrimiento?

Se dice que los defensores del aprendizaje por descubrimiento fundamentaban su propuesta en la teoría de Piaget. En consonancia con los postulados piagetianos, en el aprendizaje por descubrimiento se presta escasa atención a los contenidos concretos que el alumno debe aprender, frente a los métodos. Lo

importante es aplicar a toda costa las estrategias del pensamiento formal. La enseñanza debería basarse, de acuerdo con este enfoque, en el planteamiento y resolución de situaciones abiertas en las que el alumno pueda *construir* los principios y leyes científicos.

Piaget tenía predilección por esta estrategia. Decía “cada vez que se enseña prematuramente a un niño algo que hubiera podido descubrir solo, se le impide inventarlo y, en consecuencia, entenderlo completamente”.

El aprendizaje por descubrimiento, con su énfasis en la participación activa de los alumnos en el aprendizaje a aplicación de los procesos de la ciencia, se postulaba en las décadas de los años sesenta y setenta como una alternativa a los métodos pasivos basados en la memorización y en la rutina. Sin embargo, si alguna estrategia de la enseñanza experimental ha recibido críticas recientes, ésta es la del aprendizaje por descubrimiento.

Nos dice Hodson [1] la siguiente frase que descalifica sobradamente al aprendizaje por descubrimiento: “Existe una fuerte corriente de opinión cuyo mensaje es que el aprendizaje por descubrimiento es epistemológicamente equivocado, psicológicamente erróneo y pedagógicamente impracticable.”

Campanario y Moyá nos dicen que “tanto las evidencias experimentales como los análisis críticos pusieron de manifiesto inconsistencias y deficiencias en el aprendizaje por descubrimiento.” Nos mencionan igualmente que “está basado en unas concepciones epistemológicas hoy día superadas. Con su énfasis en la observación y en la formulación de hipótesis, este enfoque tiene mucho que ver con las concepciones excesivamente inductivistas sobre la ciencia y el trabajo científico.” Campanario y Moyá citan la siguiente frase de Hodson: “una de las características del aprendizaje por descubrimiento que más facilitó su extensión es que la visión de la ciencia que lo sustenta es más ‘sencilla’ que la de otros modelos de la ciencia y los alumnos pueden comprenderla con más facilidad.” Agregan el argumento de Hodson: “La preferencia de los procedimientos frente a los contenidos es muy discutible: lo demuestran las investigaciones sobre las ideas previas de los alumnos, y en contra de la supuesta independencia del pensamiento formal, los contenidos concretos sí son importantes a la hora de aprender ciencias.”

Una de las críticas más certeras al aprendizaje por descubrimiento es la de Ausubel [2] quienes distinguen entre *aprendizaje memorístico* y *aprendizaje significativo*. Ni todo el aprendizaje receptivo es forzosamente memorístico, ni todo el aprendizaje por descubrimiento es necesariamente significativo. Estas categorías formarían unos ejes “ortogonales”, en palabras de Ausubel, que permitirían clasificar las situaciones de aprendizaje en el aula. Lo importante no es que el aprendizaje sea receptivo o por descubrimiento, sino que sea memorístico o significativo.

A pesar de las muchas limitaciones que hemos mencionado, Campanario y Moyá concluyen con algunos aspectos positivos que el aprendizaje por descubrimiento tiene en la enseñanza de las ciencias:

- Los alumnos se hacen responsables de su propio aprendizaje.
- El aprender a descubrir implica toda una prueba con relación al trabajo científico, por lo que está presente en este enfoque el aprendizaje de la naturaleza de la ciencia.
- Aprender a detectar anomalías puede ser muy provechoso para los alumnos, pues es otra característica de la serendipia en la observación científica.
- No cabe duda de que enseñar a los alumnos a observar con ojos críticos es una de las aportaciones más dignas de consideración de una teoría del aprendizaje y la enseñanza.

La enseñanza de las ciencias basada en el uso de problemas

Esta propuesta consiste en organizar unidades didácticas articuladas esencialmente como colecciones de problemas. Cuando este enfoque se complementa con una organización cooperativa del trabajo en el aula, los problemas pueden hacerse más complejos y pueden prolongarse durante más tiempo. Es evidente que en esta formulación gran parte de la responsabilidad del aprendizaje recae en el propio alumno [*].

La resolución de problemas en cualquier área implica un comportamiento humano muy complejo. Dice Herron [3] que “la resolución de problemas es el proceso de sobreponerse a algún impedimento real o aparente para proceder a alcanzar una meta”. Dicho de otra forma, “la resolución de problemas es lo que haces cuando no sabes qué hacer”. Al analizar esta metodología de enseñanza y aprendizaje, la palabra problema debe ser entendida ampliamente, ya que puede incluir pequeños experimentos, grandes temas de investigación, conjuntos de observaciones y tareas de clasificación, entre otras.

Es importante anotar que esta metodología tiene como objetivo que el alumno aprenda por el análisis de casos, más que por discurrir alrededor de los conocimientos científicos en sí. La selección y sucesión de problemas le orienta para que aprenda, a partir de fuentes diversas, los contenidos que se estiman relevantes en una disciplina dada. El uso sistemático de los problemas está encaminado a dar relevancia a tales contenidos, no a provocar su descubrimiento.

La investigación sobre este tópico refleja un renovado interés por saber cómo los estudiantes resuelven problemas. Gabel y Bunce [4] nos indican que son tres los factores primordiales a estudiar a este respecto:

- a) La naturaleza del problema y los conceptos subyacentes en los cuales se basa el problema (así como el entendimiento estudiantil de estos conceptos).
- b) Las características del aprendiz, esto es, cómo las aptitudes y actitudes se relacionan con el éxito en la resolución del problema. Dentro de este aspecto se analiza el proceder de expertos y novatos.

* Se recomienda un libro no citado en el artículo de Campanario y Moyá, el de Ramírez, J. L.; Gil, D.; Martínez-Torregrosa, J. *La resolución de problemas de física y química, como investigación*. Madrid. Ministerio de Educación y Ciencia. 1994.

- c) El ambiente de aprendizaje, o sea, los factores contextuales o ambientales hallados por quien resuelve el problema que son externos al problema y al aprendiz.

Con relación a la naturaleza del problema, el primer paso requerido para tener éxito es entender el significado del mismo. Quien resuelve un problema debe mostrar tanto un entendimiento conceptual científico como un conocimiento procedimental. Debe decodificar o traducir las palabras dadas en el enunciado del problema en una comprensión significativa del mismo. Por ello se argumenta que el conocimiento científico forma parte de lo que se desarrolla con la resolución de problemas. Varios investigadores han examinado la resolución de problemas y la relación que tiene con el entendimiento conceptual por parte de los estudiantes [5,6].

Esta estrategia, nos dicen Campanario y Moyá, hace explícita la aplicación de los conocimientos teóricos a situaciones problemáticas, fomenta la percepción de la utilidad de los mismos y contribuye, por tanto, a incrementar la motivación intrínseca. Dado que el alumno debe movilizar constantemente sus conocimientos y que existe una interrelación continua entre teoría y aplicación práctica, el aprendizaje basado en problemas puede conseguir una mejor integración de los conocimientos declarativos y procedimentales.

Respecto a las características del aprendiz, Silberman [7] menciona entre los factores que afectan la habilidad de resolución de problemas: la capacidad de razonamiento proporcional, la visualización espacial y la capacidad de memoria.

El cambio conceptual como punto de partida de las ideas constructivistas

En esta sección Campanario y Moyá parten de las cuatro condiciones necesarias para el cambio conceptual, según la teoría de Posner *et al.* [8], inspiradas en las concepciones de Lakatos [9] y Kuhn [10] sobre el avance del conocimiento científico: 1) la insatisfacción de sus concepciones previas, 2) la inteligibilidad, 3) la plausibilidad y 4) el provecho de las nuevas concepciones.

Nos recomiendan las siguientes cuatro estrategias para conseguir montar un aprendizaje constructivista en el salón de clases:

- Las ideas de los alumnos deben formar parte *explícita* del debate en el aula.
- El estatus de las ideas debe ser *discutido* y *negociado* con los estudiantes.
- La *justificación* de las ideas debe ser un componente explícito del programa de estudios.
- El debate en el aula debe tener en cuenta la *metacognición* que desempeña un papel central en el cambio conceptual.

En cuanto a las críticas a estas ideas, plantean que posiblemente es una extensión no debida la que se hace de las

ideas de Kuhn y Lakatos, aplicables al desarrollo de la ciencia, para llevarlas al dominio de la estructuración de conocimientos en los individuos. Luego indican que el conflicto cognitivo no ha demostrado sus virtudes explícitamente y que los contraejemplos o los conflictos no siempre son útiles para provocar el cambio conceptual. Los profesores se quejan de que no tienen a la mano materiales hechos con este enfoque educativo, los cuales son evidentemente escasos [por ejemplo, para la enseñanza de la estructura corpuscular de la materia se cuenta con las propuestas de Nussbaum [11], CLIS [12] y MAM [13], así como la de Martínez-Torregrosa [14] y la de Gomez Crespo y Pozo [15,16], pero son unos pocos maestros los que las conocen a fondo].

Añaden a las críticas de la teoría del cambio conceptual su carácter *frío*, al no considerar los aspectos afectivos y estéticos, así como de los compromisos epistemológicos.

El aprendizaje de las ciencias como un proceso de investigación dirigida

A este respecto, en el artículo Campanario y Moyá se centran en las contribuciones de Gil y colaboradores, en la década de los años noventa. Gil parte de la metáfora del *científico novel*, que puede alcanzar un grado de competencia relativamente elevado si se integra en un grupo de investigación y empieza a desarrollar pequeñas investigaciones en las que replica los trabajos previos de un área determinada y aborda problemas en los que sus supervisores son expertos.

Gil y colaboradores proponen una serie de estrategias:

- Se plantean *situaciones problemáticas* que generen interés en los alumnos y proporcionan una concepción preliminar de la tarea.
- Los alumnos trabajan en grupo y *estudian cualitativamente* las situaciones problemáticas planteadas. Con apoyo bibliográfico, empiezan a delimitar el problema y a explicitar ideas.
- Los problemas se tratan siguiendo una *orientación científica* con emisión de hipótesis, elaboración de estrategias posibles de resolución y análisis, y comparación con los resultados obtenidos por otros grupos de alumnos. Ésta, se dice, es una ocasión para plantear el conflicto cognitivo.
- Los nuevos conocimientos se manejan y aplican a *nuevas situaciones* para profundizar en los mismos y afianzarlos.

Menciona Gil que el cambio conceptual adquiere ahora un carácter *instrumental* y deja de ser un objetivo en sí mismo: “la investigación no se plantea para conseguir el cambio conceptual, sino para resolver un problema de interés. Insiste en que es preciso descargar a los programas de ciencia de contenidos puramente conceptuales y prestar más atención a los aspectos metodológicos, al estudio de la naturaleza del conocimiento científico, a los procesos de construcción del mismo y a la relación ciencia-tecnología-sociedad.

Dicho proceso de investigación dirigida se corresponde, poco más o menos, con el término "Inquiry" o indagación, mencionado en los Estándares Nacionales de la Educación Científica de los Estados Unidos (National Research Council, [17]). Allí se mencionan los siguientes párrafos sobre la indagación:

"La indagación es una actividad multifacética que involucra hacer observaciones, plantear preguntas, examinar libros y otras fuentes de información para ver qué es ya conocido, planear investigaciones, revisar lo que ya se conoce a la luz de la evidencia experimental, usar herramientas para reunir, analizar e interpretar datos, proponer respuestas, explicaciones y predicciones y comunicar los resultados. La indagación requiere la identificación de suposiciones, el uso del pensamiento crítico y lógico, así como la consideración de explicaciones alternativas" (pág. 23)

"La indagación científica se refiere a las diversas formas en las cuales los científicos estudian el mundo natural y proponen explicaciones basadas en la evidencia derivada de su trabajo. La indagación también se refiere a las actividades de los estudiantes en las cuales ellos desarrollan conocimiento y entendimiento de las ideas científicas, al igual que la comprensión de cómo los científicos estudian el mundo natural." (pág. 23)

"Los estudiantes que usan la indagación para aprender ciencia se involucran en muchas de las mismas actividades y procesos de pensamiento que los científicos usan para ampliar el conocimiento humano del mundo natural." (pág. 24)

Sin embargo, como lo mencionan Campanario y Moyá, este enfoque educativo se encuentra ya en muchos clásicos, como Locke, Rousseau, Ferrer y Guardia, y Dewey. El educador Joseph Schwab [18] fue una voz influyente en la década de los sesenta en establecer esta visión de la educación científica, basada en la indagación. Schwab arguyó que la ciencia debería verse como estructuras conceptuales que eran frecuentemente revisadas como resultado de nuevas evidencias.

Schwab también sugirió que los profesores de ciencias consideraran tres aproximaciones en sus laboratorios.

- Primero, los manuales de laboratorio o los materiales de los libros de texto podrían emplearse para plantear preguntas y describir los métodos para investigar esas cuestiones, permitiendo a los alumnos descubrir relaciones que no conocían.
- Segundo, los materiales de instrucción podrían usarse para plantear problemas, pero los métodos y las respuestas se dejarían abiertas para que los alumnos las determinaran por sí mismos.
- Tercero, en la aproximación más abierta, los estudiantes podrían confrontar fenómenos sin el uso del libro de texto, mediante preguntas basadas en el trabajo experimental. Los estudiantes podrían hacer preguntas, reunir evidencias y proponer explicaciones científicas con base en sus propias investigaciones.

Hay que recordar que Diana Cruz, José Antonio Chamizo y Hugo Torrens [19] publicaron en el *Journal of Chemical Education* un artículo donde aplican esta estrategia de formación de investigadores en la licenciatura en química.

La enseñanza de las ciencias y el desarrollo de las capacidades metacognitivas

Vale la pena traer a colación alguna definición plausible de metacognición, como aquella de Flavell [20], que dice, "La metacognición se refiere al conocimiento que uno tiene sobre los propios procesos o productos cognitivos o sobre cualquier cosa relacionada con ellos, es decir, las propiedades de la información o los datos relevantes para el aprendizaje. Por ejemplo, estoy implicado en metacognición (metamemoria, metaaprendizaje, metaatención, metalenguaje, etc.) si me doy cuenta de que tengo más problemas al aprender A que al aprender B, si me ocurre que debo comprobar C antes de aceptarlo como un hecho... La metacognición se refiere, entre otras cosas, al control y la orquestación y regulación subsiguiente de estos procesos". Flavell argumenta que la metacognición tiene que ver con el monitoreo activo y la regulación del proceso cognitivo. Representa el sistema "de control ejecutivo" que muchos científicos cognitivos han incluido en sus teorías (por ejemplo Millar, Newel y Simon, o Schoenfeld). El proceso metacognitivo es central a la planeación, a la resolución de problemas, a la evaluación y a muchos aspectos del aprendizaje de lenguaje. La metacognición es relevante en los trabajos sobre los estilos cognitivos y las estrategias de enseñanza, en tanto que el individuo deba tener conciencia de sus razonamientos o de su proceso de aprendizaje [**].

En dos artículos, uno de ellos ulterior a éste que está bajo análisis (Campanario, Cuerva, Moya y Otero, [21]; Campanario, [22]), el mismo Campanario ha desarrollado mucho más a fondo sus ideas sobre la metacognición. Nos dice, por ejemplo, que "cuando un alumno se da cuenta de que le resulta más sencillo resolver problemas de física que contestar preguntas abiertas, o se da cuenta de que sus ideas sobre la validez de un determinado enfoque para la resolución de problemas no son adecuadas, está aplicando estrategias metacognitivas". En otro ejemplo, nos dice que "cuando un alumno intenta formular las ideas principales de un texto con sus propias palabras para comprobar que ha entendido la lección, está también aplicando estrategias metacognitivas".

Señala el mismo autor (Campanario, Cuerva, Moya y Otero, [21]) que en las formulaciones más recientes del cambio conceptual destaca su carácter metacognitivo, puesto que la reflexión sobre el propio conocimiento y el control de los procesos cognitivos por parte del alumno son una componente necesaria del cambio conceptual, ya que el alumno debe per-

** Este párrafo se extrajo del escrito llamado "Metacognición", Livingstone, J. A. consultado el 21 de enero de 2004 de la siguiente URL: <http://tip.psychology.org/meta.html>

catarse de la insatisfacción de sus concepciones previas, así como de la inteligibilidad, plausibilidad y provecho de las nuevas concepciones. Mencionan los autores que una forma posible de desarrollar la metacognición en el marco del cambio conceptual consiste en el empleo de actividades que sigan el esquema de *predecir-observar-explicar*. En este tipo de actividades se hace que los alumnos formulen alguna predicción sobre determinada experiencia o demostración de cátedra, y que expliciten sus razones para tales predicciones (el objetivo es que los alumnos sean conscientes del papel de las ideas previas en la interpretación de los fenómenos). Inmediatamente se observa la experiencia para que los alumnos contrasten el desarrollo y los resultados de la misma con sus predicciones. Por último, los alumnos deben intentar explicar las observaciones realizadas, que en ocasiones serán diferentes a sus predicciones.

En un artículo más reciente (Campanario, 2000) se encarga de desarrollar las estrategias para el profesor y las actividades orientadas para el cultivo de la metacognición por parte de los alumnos. Entre las estrategias básicas que se espera que desarrollen los estudiantes de ciencias destacan: la capacidad de observación, clasificación, comparación, medición, descripción, organización coherente de la información, predicción, formulación de inferencias e hipótesis, interpretación de datos, elaboración de modelos y obtención de conclusiones.

Otra estrategia consiste en hacer que los alumnos lleven un diario de campo en el que registren las experiencias realizadas en clase, sus concepciones iniciales y los procesos de cambio conceptual. Marca igualmente los mapas conceptuales y la V de Gowin como recursos útiles no sólo para el aprendizaje de los contenidos, sino también para el desarrollo de las capacidades metacognitivas.

El diseño de unidades didácticas para la enseñanza de las ciencias

Campanario y Moyá empiezan por presentar la serie de recomendaciones de Sánchez y Valcárcel para el diseño de unidades didácticas. Estos autores proponen cinco componentes a desarrollar en estas unidades:

- Análisis científico. El objetivo del análisis científico es doble: la estructuración de los contenidos de enseñanza y la actualización científica del profesor.
- Análisis didáctico. Aquí habría que indicar los dos elementos de la capacidad cognitiva del alumno, que es algo crucial para determinar lo que es capaz de hacer y aprender: sus conocimientos previos y el nivel de desarrollo operativo donde se encuentran los alumnos en relación con las habilidades intelectuales necesarias para la comprensión cabal del tema.
- Selección de objetivos. Por ejemplo lograr, en una buena proporción de las alumnas y los alumnos, discutir sus concepciones sobre el tema y reexaminarlas, hasta llevarlos a la conclusión de que algunas de sus representaciones

resultan incompletas para explicar otras aplicaciones más específicas.

- Selección de estrategias didácticas. Por ejemplo, si se trata de una estrategia constructivista, esta sección podría comenzar con explicitar las ideas de los estudiantes sobre el tema que se va a tratar, después se desarrollarían algunas actividades que ayudarían a los estudiantes a reestructurar sus ideas y finalmente, se proveerá de oportunidades para que los estudiantes revisen y consideren cualquier cambio que resulte en sus concepciones.
- Selección de estrategias de evaluación. La mención de los instrumentos utilizados para evaluar el aprendizaje estudiantil.

Luego, Campanario y Moyá pasan a los programas-guía de actividades de Gil, y al uso de experimentos cualitativos de Villani y Orquiza.

Conclusiones

Se revisan en este artículo toda una gama amplia de posibilidades para el profesor de ciencias que desee salir de su enfoque tradicional de enseñanza. Estos enfoques alternos hacen al alumno más responsable de su aprendizaje, el cual se logra con mayor involucramiento del estudiante sea en la resolución de problemas, en incorporación al trabajo de indagación, en la discusión de sus ideas en el salón de clases, en el desarrollo de mecanismos procedimentales para aprender, es decir, cualquier elaboración o aplicación de los conocimientos que constituya una alternativa a la simple memorización de los mismos.

Mencionan que quizás estas propuestas requieren de un mayor tiempo para ser desarrolladas en el salón de clases, por lo que recomiendan reducir los programas de estudios. Finalizan diciendo lo importante que es transmitir estas nuevas alternativas a los docentes en formación. Un profesor, dicen, “debe conocer, además de su disciplina, los puntos de vista vigentes sobre la enseñanza de las ciencias para, tras un análisis crítico, adaptar aquello que encuentre valioso, corregir lo que sea deficitario y aportar, en un proceso de experimentación continuado, nuevas ideas y puntos de vista”.

Bibliografía

- Hodson, D. Hacia un enfoque más crítico del trabajo de laboratorio. *Enseñanza de las Ciencias* **1994**, 12, 299.
- Ausubel, D. P., Novak, J. D. y Hanesian, H. *Psicología educativa. Un punto de vista cognoscitivo*, México, Trillas, Segunda edición, **1983**.
- Herron, J. D. *The Chemistry Classroom. Formulas for Successful Teaching*. Washington. American Chemical Society, **1996**.
- Gabel, D. L. y Bunce, D. M. “Research on problem solving: Chemistry” En D. Gabel (Edit.), *Handbook of Research on Science Teaching and Learning*. New York. Macmillan. **1994**, 301.
- Pines, A.L. y West, L.H.T Conceptual understanding and science learning: An interpretation of research within a source of knowledge framework. *Science Education* **1986**, 70, 583.

6. Nurrenbern, S.C. y Pickering, M. Concept Learning versus Problem Solving: Is There a Difference? *J. Chem. Educ.* **1987**, 64(6), 508.
7. Silberman, R. G. Problems with Chemistry Problems: Student Perception and Suggestions. *J. Chem. Educ.* **1981**, 58, 1036.
8. Posner, G. J., Strike, K. A., Hewson, P. W. and Gertzog, W. A., Accomodation of a Scientific Conception: Toward a Theory of Conceptual Change, *Science Education*, **1982**, 66, 211.
9. Lakatos, I., Falsification and the Methodology of Scientific Research Programs, en: *Criticism and the Growth of Knowledge*, I. Lakatos and A. Musgrave, editors, Cambridge, Cambridge University Press, **1970**.
10. Kuhn, T.S., *The Structure of Scientific Revolutions*, Chicago, University of Chicago Press, **1970**. En español, *La estructura de las revoluciones científicas*, Fondo de Cultura Económica, México, **1971**.
11. Nussbaum, J. The Particulate Nature of Matter in the Gaseous Phase. In R. Driver, E. Guesne y A. Tiberghien (Eds.), *Children's Ideas in Science*, Open University Press: Philadelphia, **1985**, 125-144. Traducido como 'La constitución de la materia como conjunto de partículas en la fase gaseosa', en *Ideas científicas en la infancia y la adolescencia*, Madrid: Morata, **1989**.
12. CLIS. Children's Learning in Science Project, Approaches to teaching the particulate theory of matter, Center for Studies in Science and Mathematics Education: University of Leeds, **1987**.
13. MAM, Berkheimer, G. D., Anderson, C. W. and Blakeslee, T. D. with the assistance of Lee, O. Eichinger, D. and Sands, K. *Matter and Molecules*, Science Book and Activity Book, University of Michigan, **1988**. Puede obtenerse de la URL: <http://edweb3.educ.msu.edu/reports/matter-molecules/>
14. Martínez-Torregrosa, J., Alonso-Sánchez, M., Carbonell-Gispert, F., Carrascosa-Alís, J., Domenech-Blanco, J.L., Domenech-Pastor, A., Domínguez-Blay, A., Osuna-García, I. Verdú-Carbonell, R. *La estructura de todas las cosas*, capítulo Estructura corpuscular de la materia, **1997**, 73-100. Editorial Aguacilar. Alicante. Puede obtenerse en la siguiente URL: <http://www.curiedigital.net/>
15. Gómez-Crespo, M. A. y Pozo, J. I. Las teorías sobre la estructura de la materia: discontinuidad y vacío. En M. Rodríguez Moneo (compiladora), "Cambio conceptual y educación", *Revista Tarbiya* **2000**, 26, 117.
16. Gómez-Crespo, M. A., Pozo, J. I. y Gutiérrez-Julián, M. S. Enseñando a comprender la naturaleza de la materia: el diálogo entre la química y nuestros sentidos, *Educación Química* **2004**, 15, 198.
17. National Research Council. *The National Science Education Standards*. Washington DC: National Academy Press, **1996**.
18. Schwab, J. *The Teaching of Science*. Cambridge, MA: Harvard University Press, **1966**.
19. Cruz-Garritz, D.; Chamizo, J. A.; Torrens, H. Early research: An alternative for scientific formation, *Journal of Chemical Education* **1989**, 66, 320.
20. Flavell, J.H. Metacognitive aspects of problem solving. En Resnick L.B. (ed.), *The nature of intelligence*, Lawrence Erlbaum: Hillsdale, N.J. **1976**.
21. Campanario, J.M., Cuerva, J., Moya, A. y Otero, J.C. La metacognición y el aprendizaje de las ciencias, en Banet, E. y de Pro, A. (coords.) *Investigación e innovación en la enseñanza de las ciencias. Volumen I*, Ponencias presentadas en el V Congreso Internacional sobre Enseñanza de las Ciencias, en Murcia, **1998**, 36-44. Este artículo, puede obtenerse en la siguiente URL: <http://www2.uah.es/giac/ln1.pdf> (último acceso el 12 de abril de 2005).
22. Campanario, J.M. El desarrollo de la metacognición en el aprendizaje de las ciencias: estrategias para el profesor y actividades orientadas al alumno, *Enseñanza de las Ciencias* **2000**, 18(3), 369-380. Este artículo, puede obtenerse en la siguiente URL: <http://www2.uah.es/jmc/an5.pdf> (último acceso el 12 de abril de 2005).

Fernando Walls Armijo (1931-2005)

Francisco Yuste López

Instituto de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito Exterior, Ciudad Universitaria.

Coyoacán 04510. México

El doctor Fernando Walls Armijo fue uno de los más distinguidos investigadores del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México (IQUNAM). Dentro de sus grandes cualidades destacaron su honradez, su capacidad intelectual, su habilidad manual y su gran dedicación al trabajo, siempre al servicio de nuestra Universidad. Fernando Walls Armijo nació el 6 de febrero de 1931 en la ciudad de México. Cursó la carrera de Química en el Centro Universitario México de 1948 a 1949 y de 1950 a 1951 en la Escuela Nacional de Ciencias Químicas de la UNAM recibiendo el título en 1952, a la temprana edad de 21 años, mismo año en el que ingresó al IQUNAM. En ese tiempo inició su carrera de investigador al lado del doctor Alberto Sandoval Landázuri y a partir de 1953 comenzó los estudios de doctorado en la Escuela de Graduados. Su distinguida labor como joven investigador le valió el apoyo para realizar, durante un año, una estancia de investigación en el Departamento de Química de la Universidad de Harvard con una beca de la Fundación Rockefeller. De regreso a México concluyó sus estudios de posgrado, recibiendo el grado de Doctor en Ciencias especializado en Química en octubre de 1957.

Su carrera académica en la Universidad se inició en mayo de 1952 como auxiliar de investigación logrando el nombramiento de investigador de carrera de tiempo completo de la máxima categoría en 1958. De sus cargos académico-administrativos destacan el de secretario académico de 1966 a 1970 y director de 1981 a 1991, todos en el IQUNAM. Como docente, participó como profesor de química y de análisis instrumental en la ahora Facultad de Química de 1958 a 1969. De julio de 1979 a abril de 1981 fue comisionado en el Centro de Investigación y Estudios Avanzados de Instituto Politécnico Nacional como profesor titular y jefe del Departamento de Química.

Su extensa producción científica quedó plasmada en 114 artículos de investigación que cuentan con casi un millar de citas, contribuyendo de manera destacada al desarrollo y consolidación de la química orgánica tanto en la UNAM como en México. En sus investigaciones, abordó temas relacionados con la extracción y la síntesis de productos naturales, con la aplicación de técnicas espectroscópicas para la elucidación estructural de moléculas orgánicas complejas y con la transformación de productos de origen natural o sintético mediante métodos químicos, fotoquímicos o pirolíticos. En la realización de estos trabajos, el doctor Walls introdujo innovaciones metodológicas en la modificación y optimización de reacciones químicas y principalmente en el diseño de equipo especializado para destilación, cromatografía, espectroscopía etc., que

se reflejan en sus numerosas publicaciones en *Chemistry & Industry* y en *Microchemical Journal*, revistas especializadas en este campo.

Cabe hacer notar su importante labor en la formación de recursos humanos. Desde el inicio de su carrera académica, el doctor Walls se distinguió por la forma generosa de tratar y relacionarse con sus numerosos alumnos. Sus discípulos reconocemos estas grandes cualidades que perduran y se consolidan a través del tiempo. Así, en esta parte de su trabajo académico se cuentan 30 tesis de licenciatura, 4 de maestría y 9 de doctorado. De los profesionales formados por el doctor Fernando Walls Armijo, son 10 los que han continuado su carrera de investigadores dentro del IQUNAM y que constituyen un grupo de alta productividad y nivel académico de excelencia. En la Facultad de Química de la UNAM se encuentra un grupo sustancial de académicos formados por él en posiciones de alta responsabilidad. Además, otro grupo de sus discípulos han pasado a laborar exitosamente dentro del sector público y privado.

Otra parte importante de su labor académica fue la edición del *Boletín del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México*, colaborando con el doctor Alberto Sandoval, desde 1962 hasta 1970. Esta revista constituye un importante registro bibliográfico de la investigación química, realizada principalmente en el IQUNAM, de aquella época.

Por otro lado, resulta importante consignar la dedicación y entrega del doctor Fernando Walls al Instituto de Química. Desde 1952 en el pequeño local que ocupaba el Instituto en la vieja Escuela Nacional de Ciencias Químicas en Tacuba, después en los pisos 11, 12 y 13 que lo albergó en la Torre de Ciencias hasta el edificio que actualmente ocupa, el doctor Walls tuvo una preocupación constante por mantener un acervo relativamente completo de libros y revistas, por la obtención y suministro de reactivos y materiales de consumo general, por la adquisición, funcionamiento y mantenimiento de los equipos e instrumentos científicos que proporcionan el servicio analítico; del mismo modo que manifestó su interés porque los talleres mecánico, de carpintería y de soplado de vidrio dispongan de todo lo necesario y operen en condiciones óptimas. Es precisamente en la construcción del edificio que actualmente alberga al Instituto en donde se reflejó su entrañable cariño por el mismo. El doctor Walls, encabezando a un grupo de distinguidos investigadores, se encargó del diseño, la planeación y la supervisión de las obras, lo que dio por resultado un edificio moderno y adecuado con las instalaciones necesarias para su buen funcionamiento.

Su relevante trayectoria académica le hizo merecedor de varias distinciones y premios. Fue distinguido con el Premio de Ciencias que otorga la ahora Academia Mexicana de Ciencias en 1968, con el Premio Nacional de Química “Andrés Manuel del Río” que otorga la Sociedad Química de México en 1979 y con el Premio Nacional de Química y Ciencias Farmacéuticas que otorga la Asociación Farmacéutica Mexicana en 1983. Fue miembro del Sistema Nacional de Investigadores con el Nivel III a partir de 1984 y desde 1995, Investigador Nacional Emérito. Fue miembro numerario del Premio Nacional de Ciencias y Artes: Campo IV Ciencias Físico-Matemáticas y Naturales de 1986 a 1989, miembro de la Comisión Dictaminadora de los Laboratorios Nacionales de Fomento Industrial de 1989 a 1992 y miembro de la Comisión Dictaminadora del área 2 del SNI de 1986 a 1989. En 1993 fue nombrado Investigador Emérito de la Universidad Nacional Autónoma de México.

A manera de reconocimiento por los miembros de la Sociedad Química de México, se integró un número de la *Revista de la Sociedad Química de México* (ahora *Journal of the Mexican Chemical Society*) con trabajos dedicados al distinguido investigador, como homenaje a su admirable trayec-

toria académica (*Rev. Soc. Quím. Méx. 2001, 45, 145-255; www.jmcs.org.mx*).

Otro aspecto importante de su personalidad fue su extraordinaria habilidad manual. Se destacó siempre como un gran soplador de vidrio y fue conocido por su destreza para fabricar y/o reparar desde artículos domésticos hasta armas de fuego.

No solo la química fue una de las grandes pasiones del doctor Walls. Fue un gran aficionado a la lectura, al billar, pero sobretodo uno de sus mayores pasatiempos fue el tiro. Desde pequeño e impulsado por su padre, Fernando Walls fue un gran tirador de escopeta. Participó representando a México en 4 Mundiales de tiro, en 2 Juegos Panamericanos y en las Olimpiadas de Munich (1972) y de Montreal (1976) en la especialidad de fosa olímpica.

Tanto los discípulos como los colegas del doctor Fernando Walls Armijo reconocemos en él, como atributo que se añade a su excelencia académica, una encomiable vocación universitaria que siempre se hizo patente en su disposición de colaboración y de apoyo. Esto, aunado a su sólida convicción ética, lo hacen ejemplo para los científicos de generaciones presentes y futuras.



Dr. Fernando Walls Armijo (1931-2005)