

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

"AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DEL BIOPOLÍMERO
PRESENTE EN LA CUTÍCULA DE *Ficus elastica* DE GUATEMALA Y SU
COMPARACIÓN CON *Turba Canadiense*"

EMILIO JOSÉ REYES ALEMÁN

QUÍMICO

GUATEMALA, JUNIO DE 2,007

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

"AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DEL BIOPOLÍMERO
PRESENTE EN LA CUTÍCULA DE *Ficus elastica* DE GUATEMALA Y SU
COMPARACIÓN CON *Turba Canadiense*"

EMILIO JOSÉ REYES ALEMÁN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE
QUÍMICO

GUATEMALA, JUNIO DE 2,007

JUNTA DIRECTIVA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

DECANO: Oscar Manuel Cobar Pinto, Ph.D.

SECRETARIO: Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto

VOCAL I: Licda. Gloria Elizabeth Navas Escobedo

VOCAL II: Lic. Juan Francisco Pérez Sabino

VOCAL III: Licda. Beatriz Eugenia Batres de Jiménez

VOCAL IV: Br. Roberto José Garnica Marroquín

VOCAL V: Br. Rodrigo José Vargas Rosales

AGRADECIMIENTOS

A DIOS:

Por su amor y todas las bendiciones que me regala cada día.

A mis Papás:

Serapio Cruz Reyes y Mildred Verónica Alemán de Reyes
Por su amor, su cuidado, el apoyo, el ejemplo y todo lo bueno que significan para mí.

A mis Hermanos:

Verónica José, José Pablo y Flora Alejandra.
Por estar conmigo y hacer la vida tan alegre.

A Cynthia:

Por su amor, apoyo, cariño y comprensión.

A mis Amigos:

Rosa Patricia Navas Nájera
María Gabriela Paniagua
Edgar Alfredo Gómez
Sofía Salazar
Por su apoyo, ánimo, alegría y comprensión.

A mis Compañeros:

Claudia, German, Bagda, Mirza, Carmela, Marta, Pedro, Walter Bran, Héctor...por los buenos y malos momentos que compartimos en el transcurso de la carrera.

A mis Catedráticos:

M.Sc. Adolfo León Gross
Lic. Igor Slowin
Ph.D. Alfredo Gálvez
Lic. Pablo Oliva
Por todas sus enseñanzas y el apoyo brindado.

DEDICATORIA

**A DIOS, a mis Papás, Hermanos, Amigos y a todos los Angelitos Especiales
de DIOS, en especial a mi angelito lindo... Verónica.**

Índice de Contenido

1. Resumen	1
2. Introducción	3
3. Antecedentes	6
3.1 Descripción botánica de la <i>Ficus elastica</i>	6
3.2 Descripción de la Turba	6
3.3 Investigaciones previas	8
3.4 Proceso químico degradativo	16
3.5 Técnicas analíticas	16
4. Justificación	18
5. Objetivos	19
6. Materiales y Métodos	20
7. Resultados	25
8. Discusión de Resultados	32
9. Conclusiones	34
10. Recomendaciones	36
11. Referencias Bibliográficas	37
12. Índice de Cuadros	40
13. Índice de Figuras	41

1. RESUMEN

El siguiente trabajo de investigación presenta los resultados del aislamiento del material (biopolímero) altamente resistente a los ataques químicos degradativos presente en las plantas.

A través de esta investigación, se logró separar un residuo de cada una de las especies que fueron sometidas a estudio, siendo éstas la *Ficus elastica* y la *Turba canadiense*, luego de realizar en ellas varios procesos de degradación química.

Se analizaron las hojas de *Ficus elastica* debido a las características físicas que muestran (como su consistencia dura y resistencia que presentan a las condiciones ambientales en las que se desarrolla la planta), mientras que la *Turba canadiense*, fue analizada para obtener un medio de comparación con los resultados obtenidos de las hojas de *Ficus elastica*.

El residuo obtenido luego del proceso de separación, fue sometido a un análisis estructural por medio de la técnica de Espectrometría de Masas con Analizador de Tiempo de Vuelo con Desorción/Ionización de una Matriz asistida por Láser (MALDI-TOF-MS, Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry). La primera parte del análisis se realizó por medio de una una unidad de Pirólisis acoplada a un Cromatógrafo de Gases (Py-CG), para determinar los principales grupos

funcionales que se pudieran detectar en los análisis posteriores con MALDI. Como resultado de estos análisis, se obtuvieron datos con los cuales se llegaron a determinar los componentes estructurales del biopolímero altamente resistente. Además, se presentan los principales grupos funcionales que se lograron identificar mediante la técnica mencionada, siendo éstos los grupos hidroxilo (-OH), carbonilo (-C=O) e hidrocarburos alifáticos de cadena larga.

2. INTRODUCCIÓN

El estudio de la materia orgánica sedimentaria y de sus constituyentes principales ha llevado al descubrimiento de un grupo de materiales de origen biológico que son resistentes a los procesos químicos de degradación no oxidativos tales como acetólisis, hidrólisis básica e hidrólisis ácida. Estos compuestos han sido descritos y que éstas presentan en varios tipos de algas aplicándoles el término general de *algenanos*, a esporas de polen en donde se denominan *esporopoleninas* y en la cutícula de las plantas superiores llamados *cutanos* y *suberanos*. (1, 2, 3)

El estudio realizado en esta investigación se hace basándose en que las plantas superiores presentan una capa denominada *cutícula*, que recubre la epidermis de las mismas (principalmente en las hojas), en donde se ha visto anteriormente que se concentra la mayoría del biopolímero estudiado debido a que esta parte impide una pérdida considerable de agua, lo que le confiere a la planta una mayor resistencia a las condiciones climáticas extremas. La cutina de las plantas (componente principal de la cutícula) está formada principalmente de compuestos carbonados, esterificados de cadena larga de C₁₉ a C₂₆ similares a las ceras, lo cual le confiere su alta resistencia, y le brinda protección a la hoja que es en donde se encuentra la mayor cantidad de cutícula que la planta puede producir. (1, 2, 3)

El *Palo de Hule*, una planta ornamental originaria de la India y que se encuentra ampliamente diseminada en Guatemala, presenta hojas grandes cuyos restos secos pueden encontrarse en el horizonte O del suelo (parte más superficial del suelo en donde se encuentran las hojas y restos de material vegetal) de las regiones en donde crece. El hecho que presente una apariencia y textura dura, hace suponer la presencia de un tipo de material que le proporciona resistencia al ataque de microorganismos y agentes químicos que pueden estar presentes en el suelo. (1, 2, 3,4)

De la misma manera, debido a que la *Turba* presenta en su composición química distintos materiales orgánicos provenientes de una previa degradación natural de restos vegetales, la hace motivo de análisis fisicoquímico para realizar comparaciones estructurales del polímero que pueda estar presente. (1, 2, 3, 4)

En estudios científicos realizados anteriormente, se han descubierto estructuras químicas de hidrocarburos, principalmente alifáticos de cadena larga, observando generalmente una estabilidad alta, al ser sometidos al ataque químico y microbiológico. Los estudios de la estructura química de este tipo de polímeros resistentes, proponen una naturaleza altamente alifática con presencia de grupos funcionales que contienen oxígeno como los grupos hidroxilo, éter, así como carbonilo pudiéndose presentar como cetonas, ésteres y/o ácidos carboxílicos. (1, 2, 3, 4)

Los métodos químicos utilizados en esta investigación involucran técnicas de degradación. La degradación química promueve principalmente, la descomposición estructural de la cutícula de las hojas por medio de la extracción de hidrocarburos (material bituminoso) por medio de una saponificación y por último una hidrólisis ácida, que al final permite aislar el material resistente. (4, 5, 6, 7)

La mayoría de los análisis instrumentales con los que se han identificado los grupos funcionales presentes en el biopolímero involucran la Pirólisis acoplada a Cromatografía de Gases y a Espectrometría de Masas (Py-GC/ Py-GC-MS). La pirólisis permite un mejor análisis de las muestras, al degradar el polímero en sus principales componentes estructurales. Otra técnica utilizada es la de Espectrometría de Masas Moleculares de Ionización/ Desorción Asistida por Matriz con Tiempo de Vuelo (MALDI-TOF MS), que es un importante método de ionización de compuestos no volátiles, y de alto peso molecular. (9, 10, 12, 14, 15)

3. ANTECEDENTES

3.1 Descripción botánica de la *Ficus elastica*

La *Ficus elastica* es una planta ornamental nativa de la India traída a Guatemala, es utilizada como planta ornamental que crece principalmente en parques y jardines. Es un árbol que tiene una altura promedio de 30 m, con hojas verdes que presentan un borde amarillo y que por lo regular la raíz al crecer sobresale del suelo. (1, 2)

Es conocida con el nombre común de Palo de hule, crece por lo regular en ambientes en donde el aire se mantiene cálido y seco, como las regiones comprendidas en los departamentos de Zacapa, Jalapa, Jutiapa y El Progreso. Debido a las condiciones ambientales que presentan dichos departamentos y por el tiempo prolongado que requiere para que las hojas se degraden, se espera que en las hojas de esta planta se pueda llegar a desarrollar una buena concentración de *cutícula*, la cual le brinda resistencia y regula la pérdida del agua dentro de ella. (1, 2)

3.2 Descripción de la *Turba*

La Turba es la primera fase de descomposición que sufre la materia orgánica constituida principalmente por restos de musgos y helechos los cuales al ser depositados en el suelo son atacados primeramente por los microorganismos que habitan el lugar para luego ser afectados por las

condiciones ambientales a las cuales se ve sometida. Es un material orgánico de color pardo oscuro y rico en carbono. Está formado por una masa esponjosa y ligera en la que aún se aprecian los componentes vegetales que la originaron. Tiene propiedades físicas y químicas variables en función de su origen. Se emplea como combustible en la obtención de abonos orgánicos. (1, 2, 3)

La formación de Turba constituye la primera etapa del proceso por el que la vegetación se transforma en carbón mineral. Se forma como resultado de la putrefacción y carbonización parciales de la vegetación en el agua ácida de las turberas. La formación de una turbera es relativamente lenta como consecuencia de una escasa actividad microbiana, debida a la acidez del agua o la baja concentración de oxígeno. El paso de los años va produciendo una acumulación de Turba que puede alcanzar varios metros de espesor, a un ritmo de crecimiento que se calcula de entre medio y diez centímetros cada cien años. (1, 2, 3)

La *Turba* se utiliza como abono orgánico en jardinería y en el mejoramiento de suelos debido a su capacidad de retención de agua, la cual es luego aprovechada al liberar iones hidronio, los cuales mantienen un pH ácido en el suelo, lo cual va a ser requerido dependiendo del cultivo o tipo de suelo a modificar. En estado fresco puede alcanzar un 98% de humedad, pero una vez desecada puede ser utilizada como combustible. Se produce principalmente en Canadá, Estados Unidos, Irlanda, Nueva Zelanda y Australia (3).

3.3 Investigaciones previas

Entre los años comprendidos entre 1982 y 1989 Brunner and Honegger, descubrieron que ciertos organismos vivos presentan en su estructura biológica, algunos compuestos químicos que permanecen intactos a los procesos de degradación no oxidativos, a los cuales son sometidos durante las transformaciones sedimentarias. Estos procesos pueden ser simulados en el laboratorio por medio de degradaciones enzimáticas y químicas con las cuales se ha podido determinar su alta resistencia a dichos ataques. Estas investigaciones dieron como resultado el aislamiento e identificación en diferentes organismos de un material que es altamente resistente a ataques químicos, bioquímicos y microbiológicos, el cual es dejado luego de darse la descomposición de restos vegetales, principalmente de la celulosa y proteínas presentes en dichos restos. Esto hace de este material una especie interesante de polímero orgánico que presenta características muy distintas a polímeros naturales encontrados como la celulosa, los cuales no muestran la alta resistencia a la degradación como lo hace éste nuevo material polimérico. (4)

Se han logrado separar biopolímeros resistentes de diferentes especies de organismos, como la *Botryococcus braunii* que es una alga en la cual la cutícula se encuentra en una concentración considerable baja en comparación con la que se presenta en las plantas superiores, debido a que las algas se mantienen por lo regular en el agua y no tienen tanta necesidad de crear cutícula que les regule la cantidad de agua en su sistema. También, se ha observado en cianobacterias como la *Schizothrix sp.* la cual presenta la mayoría del biopolímero

en la pared celular al igual que los grupos de algas en los que se ha logrado separar el biopolímero. El *Citrus limon* y el *Lycopersicon esculentum* también han sido objeto de estudio en la determinación y caracterización estructural de este tipo de biopolímeros. (4, 5)

Entre las similitudes que se presentan en mayor proporción, al hacer comparaciones estructurales de las diferentes especies que han sido estudiadas, están las que se refieren a la presencia de hidrocarburos alifáticos de cadena larga derivados de las ceras presentes en las plantas superiores, que pueden presentar estructuras de entre 15 y 35 átomos de Carbono, así como insaturaciones dentro de estas mismas cadenas, las que le confieren una mayor resistencia a los ataques a los que son sometidos, principalmente de tipo microbiano. (4, 5)

Se descubrió que la membrana cuticular es la encargada de cubrir la pared celular más externa de las células epidérmicas. Su composición química es variada, aunque dos son los componentes más importantes: *la cutina* y *las ceras*. El componente básico es *la cutina*, biopoliéster insoluble de elevado grado de entrecruzamiento entre los ácidos grasos hidroxilados de cadena larga que lo componen, mientras *las ceras*, aparecen absorbidas dentro de dicho polímero (intracuticulares) o depositadas en el exterior de la cutícula (epicuticulares). Debido a su composición química, que se refleja en su grado de cristalinidad, y a la posibilidad de constituir sobre la superficie de la membrana cuticular una película que actuará como interfase entre la célula vegetal y el medio, las ceras

se destacan como la principal barrera protectora frente a pérdidas de agua por transpiración excesiva, acción de patógenos, radiaciones solares y frente a contaminantes. (6, 7)

La composición química de las ceras cuticulares varía entre los distintos grupos filogenéticos, e incluso dentro de los mismos grupos, especies, individuos o entre los distintos estadios de crecimiento de un mismo individuo. Los principales componentes químicos de las ceras epicuticulares son los n-alcenos, ésteres, alcoholes y ácidos grasos de cadena larga (en las epicuticulares) o corta (intracuticulares). La importancia de la composición química de las ceras epicuticulares radica en la estrecha relación que existe con la morfología y ultraestructura de las mismas. De este modo, la presencia de unos u otros componentes va a determinar la aparición de estructuras de muy distintas morfologías (hélices, túbulos, cintas, varillas o placas) ya sean de tipo cristalino o amorfo. Así, los hidrocarburos y alcoholes primarios cristalizan en forma de placas, los alcoholes secundarios, cetonas y beta-dicetonas lo hacen como túbulos, los aldehídos cristalizan en forma de varillas y los dioles como cintas. Por el contrario, los triterpenoides, acil ésteres y estóidos dan lugar a estructuras mayoritariamente amorfas. (6, 7)

La cristalinidad de las ceras epicuticulares puede verse fuertemente alterada por el efecto directo o indirecto de los contaminantes ambientales tales como el ozono, lluvia ácida, o partículas de polvo ambientales. Estos efectos se manifiestan en el denominado "envejecimiento", ya que se produce un paso de

estructuras más o menos cristalinas, presentes en las hojas más jóvenes, a estructuras predominantemente amorfas. El envejecimiento prematuro que se produce afecta a la permeabilidad de la cutícula vegetal y por tanto a la fisiología normal de la planta. (6, 7)

La composición química de las ceras epicuticulares es la típica de plantas superiores, conteniendo n-alcanos, n-aldehídos, alcoholes primarios, ácidos alcanóicos y n-alquil ésteres, destacando como principal compuesto 10-nonacosanol con una media del 95% de los alcoholes secundarios (compuestos mayoritarios en este grupo). Las diferencias en composición química de las ceras epicuticulares de los diferentes grupos vegetales, es un reflejo de las rutas biosintéticas utilizadas por sus células epidérmicas. El inicio de la ruta de síntesis de los compuestos es el mismo para todos los grupos, reacciones de elongación a partir de un conjunto de moléculas aciladas que dan lugar a ácidos grasos homólogos. Es a partir de aquí, donde se produce la bifurcación entre las rutas oxidativa y reductora. La primera es utilizada por coníferas y la ruta reductora por la familia Ginkgoatae y las Angiospermas. De estas rutas depende la composición que puedan presentar los distintos tipos de plantas. Las plantas que se prefieren para el estudio son las que se encuentran en regiones en donde la temperatura ambiente es elevada, debido a que la cutícula se ve más desarrollada o se presenta en mayor cantidad al estar expuesta la planta a condiciones ambientales drásticas, principalmente relacionadas con la temperatura. (6, 7)

Adicionalmente, en algunas de las especies químicas separadas se encuentran cadenas de hidrocarburos de tipo isoprenoide, derivadas posiblemente del β -Caroteno, que es el compuesto que se ha observado como fuente principal en la formación del material resistente, partiendo de una polimerización de tipo oxidativa. (6, 7)

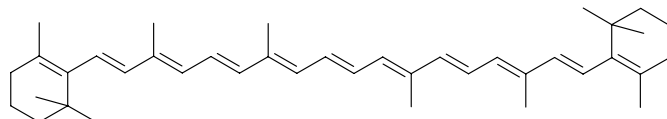


Figura 3-1: β -Caroteno

Estas configuraciones estructurales permiten tener un ordenamiento espacial que le brindan resistencia al polímero luego de ser atacado por agentes degradativos. Los hidrocarburos de cadena larga identificados en los estudios realizados previamente (Berkaloff, *et al*, 1982; Brunner y Honegger, 1985; Nip, 1988; Glikson, *et al*, 1989) indican que en algunos casos pueden encontrarse entrecruzamientos de tipo intermolecular por medio de enlaces éter, brindándole rigidez a las moléculas. Además, se han detectado otros constituyentes similares en los estudios realizados como la presencia de ácidos grasos poliénicos e hidrocarburos insaturados no isoprenoides. La característica principal es la formación de dienos dentro de las cadenas carbonadas. (8, 9, 10)

Se ha descubierto que algunas de las cadenas carbonadas presentan además, de insaturaciones en posición *cis* (alquenos dentro de la cadena o alquenos terminales), otros grupos funcionales como el grupo hidroxilo y el

grupo éster. Estos grupos son protegidos estéricamente de los ataques degradativos debido a la posición que adoptan las cadenas de hidrocarburos, ayudadas por el efecto que le confiere la posición *cis* de los dobles enlaces presentes, de manera que la molécula forma un tipo de barrera tridimensional con las cadenas largas de hidrocarburos que son inertes a la mayoría de los procesos a los que son sometidos. Las principales diferencias estructurales que se han observado en los biopolímeros aislados, son las posiciones en que se encuentran los grupos funcionales, principalmente las insaturaciones, los grupos éter, éster e hidroxilo y más importante que la posición, el tamaño de la cadena de hidrocarburo alifática que puede presentar el biopolímero. (8, 9, 10, 11)

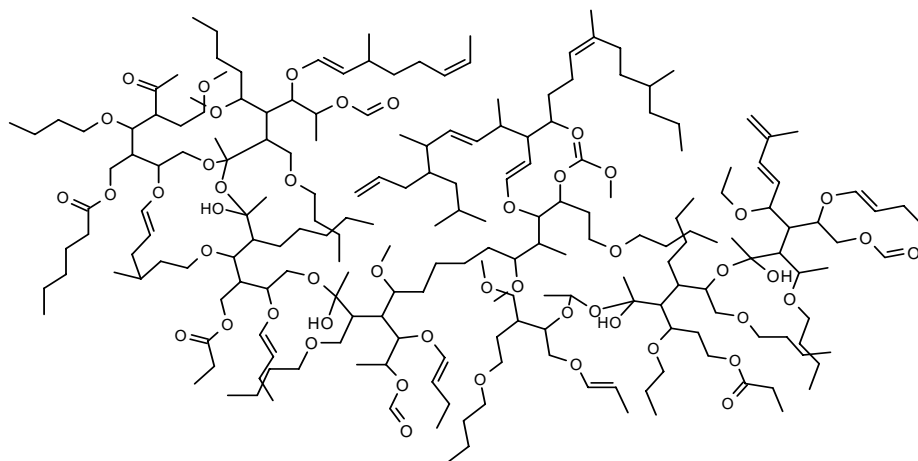


Figura 3-2: Posible estructura obtenida a partir de los grupos funcionales determinados en los estudios realizados por Berkaloff, *et al*, 1982; Brunner y Honegger, 1985; Nip, 1988 y Glikson, *et al*, 1989

En lo que respecta a la *Turba*, existen algunos trabajos en los que se identifican los compuestos principales de ésta y su transformación con el tiempo (Almendros et al. 1982). A través del análisis térmico de turberas mediterráneas españolas, se detectaron niveles de carbohidratos entre 5.8 y 1.4% y una proporción de ácidos húmicos entre 73.6 y 35.5%. Son niveles extremadamente bajos si se comparan con los establecidos por Bergner et al. (1990), quienes propusieron un valor próximo al 21% de carbohidratos para turbas suecas. Los trabajos de Göttlich et al. (1993) y Wieder y Starr (1998) indican contenidos medios de bitumen (grasas, ceras y aceites solubles) del 5,2 al 9,5%, de celulosa y hemicelulosa del 54 al 58%, ambos grupos con tendencia a disminuir con la profundidad, y del 30 al 37% de ligninas que aumentan con la humificación. (12)

En cuanto a los compuestos orgánicos minoritarios en la *Turba*, se han identificado aminoácidos (derivados de albúminas y aminoazúcares), hexosas y pentosas, ácidos carbónicos, ácidos dicarbónicos e hidroxycarbónicos (Ekman, 1981), fenoles y ácidos fenolcarbónicos, derivados furanos de pentosas, diversos compuestos heterocíclicos con Nitrógeno, Hidrógeno o Azufre como átomo anular, ceras (compuestos neutros o ligeramente polares, entre ellos n-alcoholes con 10 a 30 átomos de Carbono $C_{22}H_{45}OH$ y $C_{30}H_{61}OH$) y resinas fuertemente polares (Luomala y Ketola, 1984). (12)

La degradación de los restos vegetales que alcanzan la superficie del suelo es uno de los procesos importantes en la evolución y en el ciclo global del

Carbono. Los tejidos vegetales necróticos están compuestos fundamentalmente por celulosa, hemicelulosa, lignina y concentraciones relativamente altas de lípidos, proteínas, taninos y biopolímeros alifáticos. (12)

Dentro de los compuestos poliméricos importantes que se pueden presentar en las muestras de la *Turba* están las *Ligninas*, que son un constituyente importante de la madera en las plantas superiores. Esto puede darse, debido a que la *Turba* está compuesta de restos orgánicos en donde se puede encontrar la madera, dependiendo del lugar en donde fue elaborada. Dichos compuestos están formados principalmente por tres alcoholes precursores del polímero que son el alcohol p-cumarílico, el alcohol sinapílico y el alcohol coniferílico. (13)

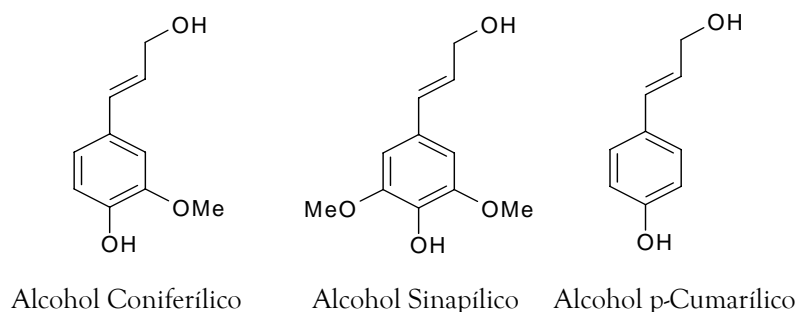


Figura 3-3: Estructuras de los alcoholes que forman la base estructural de las ligninas.

3.4 Proceso químico degradativo

El proceso químico de extracción de hidrocarburos está relacionado con la separación de éstos por medio de disolventes orgánicos para asegurar su completa eliminación, así como también, la eliminación de polisacáridos presentes en las muestras. Esta parte ayuda a la fragmentación de la paredes celulares dejando expuesta la mayoría de los componentes que van a determinar la composición estructural del biopolímero, de tal manera que son separados los compuestos bituminosos, el cual contiene el material lipídico (ácidos grasos, ceras, etc.) (13)

La saponificación de las muestras provoca una disminución en el nivel de nitrógeno, debido a la hidrólisis y eliminación de proteínas presentes en las paredes celulares, con lo cual se permite una mejor separación. (13)

Por último, la hidrólisis ácida permite separar a los hidrocarburos que sean componentes estructurales importantes de las paredes celulares, luego de llevar a cabo la hidrólisis básica. (13)

3.5 Técnicas Analíticas

La Espectrometría de Masas con Analizador de Tiempo de Vuelo con Desorción/Ionización de una Matriz asistida por Láser (MALDI-TOF-MS, Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry)

es la principal técnica analítica utilizada para el análisis espectrométrico de biomoléculas grandes no volátiles, en particular, péptidos, proteínas, oligosacáridos y oligonucleótidos. Los polímeros sintéticos de alto peso molecular pueden ser estudiados con respecto a su espacio oligomérico, distribución del grupo terminal, distribución del peso molecular y la polidispersión en el espacio. (14, 15)

Los fragmentos de las moléculas analizadas se mezclan con una matriz de naturaleza orgánica, permitiendo que la luz del láser sea absorbida de forma más eficiente y mostrando espectros con una mayor intensidad con una pequeña fragmentación. La muestra se mezcla con la matriz en exceso sobre una superficie de metal de tal forma que ambas co-cristalizan cuando se evapora el disolvente. Esta preparación es sometida a pulsos cortos de láser en alto vacío lo que provoca que la absorción de energía por parte de la matriz sea convertida en energía de excitación y en transferencia de H^+ a la muestra (ionización) dando lugar, a especies monocargadas. El área irradiada, de unas pocas micras, se calienta dando lugar a la desorción de los iones de fase sólida a fase gaseosa. El Tiempo de Vuelo (TOF, Time of Flight) es el analizador que más comúnmente se asocia con experimentos de MALDI-TOF-MS. La determinación de la masa en una región de alto vacío se realiza mediante una medida muy precisa del período de tiempo desde la aceleración de los iones en la fuente hasta que impactan con el detector. Con esta técnica se pueden determinar las principales características estructurales de las que está formado el biopolímero aislado. (14, 15)

4. JUSTIFICACIÓN

Guatemala es un país muy rico en recursos naturales que no son explotados por desconocer la importancia de cada uno de ellos, esta investigación es importante debido a que no existe ningún registro de *Ficus elastica* como una planta que contiene un biopolímero de alta resistencia. La *Ficus elastica* tiene las características necesarias para llevar a cabo este tipo de investigación debido a que se desarrolla en regiones cálidas, que durante la mayor parte del año presentan características desérticas o áridas con lo cual se espera que la cantidad de cutícula contenida en las hojas sea lo suficientemente grande para poder llegar a separar el biopolímero esperado.

La investigación proporciona resultados, acerca de la presencia, estructura y tipo de biopolímero de interés industrial presente en las plantas del territorio guatemalteco. Cabe mencionar que se determina la composición estructural y la comparación con estudios realizados anteriormente en otros países, que incluye las similitudes que pudieran presentarse en su estructura, la cual va a depender, de las condiciones ambientales en las que se desarrolló la planta estudiada. Esta investigación es una fuente de información y base para estudios posteriores, que se puedan realizar con otros tipos de plantas, algas y/o bacterias del territorio guatemalteco. También es importante recalcar que el biopolímero con su alta resistencia puede dársele usos industriales muy variados que se deberán estudiar posteriormente.

5. OBJETIVOS

5.1 General

Aislar, caracterizar e identificar el biopolímero principal que se encuentra presente en *Ficus elastica* y en *Turba* canadiense.

5.2 Específicos

5.2.1 Determinar la presencia del principal biopolímero en la cutícula de *Ficus elastica* (Palo de Hule) guatemalteca y en la *Turba* canadiense.

5.2.2 Realizar un análisis comparativo de la estructura química que presenta el polímero orgánico obtenido en la *Ficus elastica* y en la *Turba* canadiense.

5.2.3 Identificar el biopolímero por técnicas analíticas instrumentales como la Cromatografía de Gases con Pirólisis acoplada y la Espectrometría de Masas con Analizador de Tiempo de Vuelo con Desorción/Ionización de una Matriz asistida por Láser (MALDI-TOF-MS).

5.2.4 Utilizando la información de la estructura del biopolímero, identificar los principales componentes monoméricos que le dieron origen al mismo.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Universo:

6.1.1 *Ficus elastica* (palo de hule) propia del territorio guatemalteco

6.1.2 *Turba* canadiense, material orgánico en su primera fase de descomposición

6.2 Muestras:

6.2.1 La hoja de *Ficus elastica*, recolectada a la orilla de la carretera de Teculután, departamento de Zacapa, durante el verano del 2001.

6.2.2 La *Turba*, proveniente de Canadá, obtenida localmente como abono orgánico.

6.3 Recursos:

6.3.1 Humanos:

6.3.1.1 **Investigador:** Br. Emilio José Reyes Alemán.

6.3.1.2 **Asesor:** Dr. Alfredo Salvador Gálvez Sinibaldi.

6.3.1.3 **Co-asesor:** M.Sc. Mario Estuardo Gómez Hernández.

6.3.2 Materiales:

6.3.2.1 Equipo:

6.3.2.1.1. Espectrómetro de Masas Moleculares de Ionización/Desorción Asistida por Matriz con Tiempo de Vuelo (MALDI-

TOF-MS, Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry). Biosistemas aplicados en la Estación de trabajo de Bioespectrometría Voyager-DE™ STR.

6.3.2.1.2 Cromatógrafo de Gases con Pirolicado acoplado (CG-Py), Pyram-System, Ruska Labs Inc.

6.3.2.1.3 Balanza analítica Sartorius analytic A200S.

6.3.2.1.4 Balanza semi-analítica Sartorius BL-3.

6.3.2.1.5 Desecadora

6.3.2.1.6 Horno convencional

6.3.2.1.7 Estufa eléctrica con agitación

6.3.2.1.8 Limpiador Ultrasónico marca VWR Modelo 150D

6.3.2.2 Cristalería:

6.3.2.2.1 Balón aforado de 250 ml

6.3.2.2.2 Probeta de 10, 25 y 100 ml

6.3.2.2.3 Vasos de precipitar de 250 ml

6.3.2.2.4 Kitazato de 250 y 500 ml

6.3.2.2.5 Matraz erlenmeyer de 250 ml

6.3.2.2.6 Balón de fondo redondo de 250 y 500 ml

6.3.2.2.7 Refrigerante corning

6.3.2.2.7 Tubo de ensayo de 1*10

6.3.2.2.7 Vidrio de reloj pequeño

6.3.2.3 Reactivos:

6.3.2.3.1 Ácido clorhídrico 1.0 N

6.3.2.3.2 Hidróxido de sodio 1.0 N

6.3.2.3.3 Diclorometano GR

6.3.2.3.4 Metanol 95%

6.3.2.3.5 Agua desmineralizada

6.3.2.3.6 Acetonitrilo

6.3.2.3.7 Ácido trifluoroacético

6.3.3 Metodología:

6.3.3.1 Resumen

Se analizaron las hojas de *Ficus elastica* debido a las características físicas que muestran (como su consistencia dura y resistencia que presentan a las condiciones ambientales en las que se desarrolla la planta), mientras que la *Turba*, será analizada para obtener un medio de comparación con los resultados obtenidos de las hojas de *Ficus elastica*. El análisis de las muestras comienza con un tratamiento preliminar de secado. Luego se realizó una extracción de los residuos bituminosos utilizando diclorometano (DCM) y metanol (MeOH). Además, se llevó a cabo una descomposición por hidrólisis en medio básico y en medio ácido con reflujo. Por último, se caracterizó e identificó el residuo por medio de Cromatografía de Gases (GC-Py) y de la Espectrometría de Masas Moleculares de Ionización/ Desorción Asistida por Matriz con Tiempo de Vuelo (MALDI-TOF-MS)

6.3.3.2 Tratamiento preliminar:

Veinte gramos por separado de cada una de las muestras fueron sometidos primeramente a un proceso de secado para eliminar el agua contenida, facilitando así la extracción del material bituminoso con los disolventes orgánicos DCM/MeOH, en proporciones iguales. Las muestras fueron secadas en un horno convencional a una temperatura de 55 ± 2 °C por tres días continuos.

6.3.3.3. Aislamiento de los residuos:

- Se extrajo el material lipofílico, macerando la muestra con diclorometano y metanol en proporciones iguales, para obtener el *primer residuo*¹ (R1) del cual se esperaba separar todo el material bituminoso. La muestra se mantuvo por dos días en reposo, para asegurarse la total extracción del material mencionado.
- La muestra fue filtrada al vacío para obtener el primer Residuo (R1) y se continuó el trabajo con la parte sólida. Se descartó el filtrado, el cual contenía el material bituminoso de la muestra.
- Se pasó a realizar un proceso de hidrolizado del Residuo (R1) por un periodo continuo de 24 horas con reflujo en medio básico, utilizando una solución alcohólica de Hidróxido de Sodio (NaOH) a una concentración 1.0 N. Luego de la hidrólisis, se logró la separación de un segundo Residuo (R2) con el que se continuó el proceso de extracción. Se separó el sólido por medio de filtración

¹ Al hablar de Residuo se hace referencia al sólido que quedó luego del proceso de separación con los disolventes (DCM/MeOH, NaOH y HCl)

al vacío, haciendo lavados con agua destilada para lograr neutralizar el Residuo.

- Se procedió con el hidrolizado del R2 en medio ácido, utilizando una solución de Ácido Clorhídrico (HCl) a una concentración de 1.0 N, con lo cual se termina de descomponer el material vegetal. Esto se llevó a cabo con un reflujo de 24 horas continuas. La obtención del Residuo tres (R3) es un indicativo de la presencia del biopolímero que se desea estudiar.²

6.3.3.4 Análisis y caracterización de los residuos:

El análisis de caracterización (determinación estructural) se realizó únicamente al *residuo tres* (R3) por medio de la Cromatografía de Gases acoplado a pirólisis y por Espectrometría de Masas Moleculares de Ionización/ Desorción Asistida por Matriz con Tiempo de Vuelo (MALDI-TOF-MS), para lograr determinar los principales grupos funcionales que le brindan estabilidad y resistencia al biopolímero en estudio.

Para esto se utilizaron las siguientes condiciones en el Cromatógrafo: Temperatura de horno 30 - 310°C a 40°C/min. Corrida de 120 minutos; Temperatura de inyector 310°C; muestra pirolizada a 600°C.

² La metodología utilizada en esta investigación se basa en los trabajos realizados por Berkaloff, *et al*, 1982; Brunner y Honegger, 1985; Nip, 1988 y Glikson, *et al*, 1989, pero principalmente en los trabajos de Margaret Nip, en su investigación realizada en 1985.

7. RESULTADOS

Se lograron separar tres residuos de *Ficus elastica*, con lo cual se pudo llegar a determinar las estructuras principales (monómeros) basándose en los datos obtenidos por medio de la Espectrometría de Masas con Analizador de Tiempo de Vuelo con Desorción/Ionización de una Matriz asistida por Láser (MALDI-TOF-MS). Para el caso de la Turba, solamente se logró separar una pequeña cantidad del residuo esperado, por lo que no se pudieron realizar los análisis correspondientes.

Se inició el análisis con 20.0 g., de cada una de las muestras, con lo cual se logró extraer 9.3 g., del residuo R3 de *Ficus elastica*, y 0.3 g., de R3 de la *Turba*. Las muestras fueron sometidas a un proceso de secado artificial, el cual fue realizado por medio de un horno convencional. Seguidamente se realizó el proceso principal, el cual consistió en la degradación del material vegetal (separación de material bituminoso y la hidrólisis básica y ácida) para lograr aislar el residuo esperado. La apariencia final del residuo R3 obtenido de ambas muestras tuvo una coloración café oscuro con una consistencia suave, parecida a un polvo fino.

De acuerdo a la masa obtenida del residuo R3 de *Ficus elastica* (9.3 g.) se logró determinar que un 46.5 % de la muestra estaba compuesta de dicho residuo (biopolímero).

Mediante el uso de un Cromatógrafo de Gases, se realizó un análisis cualitativo de los grupos de fracciones separadas en el residuo obtenido, pudiéndose observar que dichas fracciones representan principalmente hidrocarburos alifáticos de cadena larga. Dichos grupos se pueden observar en la Figura 7-1, en donde se muestra el cromatograma obtenido a partir del análisis con el Cromatógrafo de Gases acoplado a una unidad de pirólisis. Se puede observar que en el tiempo de retención, en la región comprendida entre los 65 y 100 min., se muestran los picos de separación de los hidrocarburos alifáticos de cadena larga. Esto se realizó con el fin de obtener una determinación cualitativa previa de la presencia de los grupos funcionales en estudio.

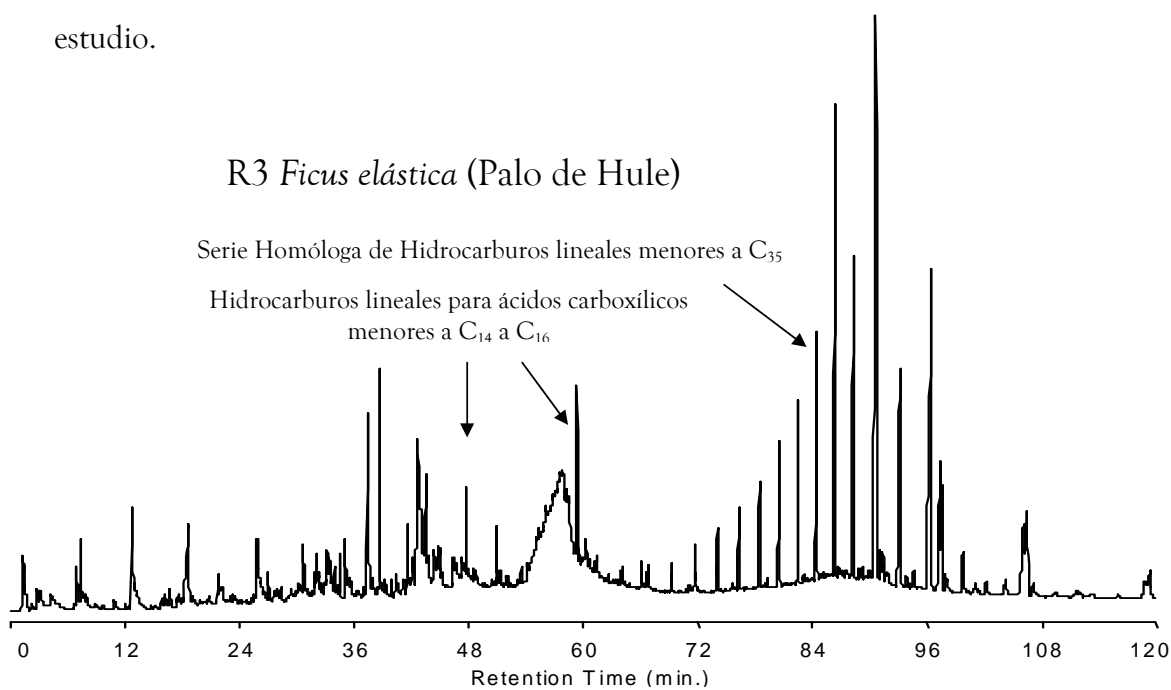


Figura 7-1: Cromatograma de R3 de *Ficus elastica*, para determinar las principales fracciones monoméricas en base a los grupos funcionales presentes en el residuo aislado.

El último paso fue la caracterización química estructural luego de utilizar un Espectrómetro de Masas Moleculares de Ionización/ Desorción Asistida por Matriz con Tiempo de Vuelo (MALDI-TOF-MS).

Para el análisis se utilizó un sistema de disolventes de Acetonitrilo-Agua (agregando al agua 0.1% de Ácido Trifluoro Acético, TFA) en proporción de 1:1. Se utilizó un Sistema de Matriz Orgánica de 0.1 g de Ácido 2,5 Dihidroxi Benzoico (2,5-DHB) disuelto en 1 mL del sistema de solvente.

Para el análisis, se utilizó 0.15 g de la muestra (*Ficus elastica*) procediendo de la siguiente manera: en un contenedor Ependorf de 1.0 mL, se agregó 0.5 mL del sistema de solventes, inmediatamente se agregó 0.15 g del extracto, y se procedió a someter la muestra a sonificación de 45 W (Baño Ultrasónico de marca VWR Modelo 150D) durante 45 minutos para inducir una mejor disolución de la materia en el solvente. En dicha muestra se observó una disolución parcial, con lo cual se generó una solución de color amarillo y partículas de color café en suspensión abundante. Luego se agregaron 0.25 mL de la solución obtenida luego de la sonificación, mezclándolos con 0.5 mL del sistema de Matriz (2,5-DHB) en un contenedor.

Para el análisis en el espectrómetro MALDI, se utilizó el método de secado de minigota, con una gota de un volumen de 2 microlitros (2×10^{-6} L) depositada sobre una placa de muestreo de acero. Se indujo la evaporación del solvente usando una cámara de vacío obteniendo la cristalización total de la

muestra sobre la superficie de la placa. Se depositaron 4 gotas de cada una de las muestras en la placa, en línea recta, para la repetición de resultados. Con esto se logró determinar la existencia de varias especies químicas, de las cuales las principales se presentan en el [Cuadro 7-1111](#) ~~Cuadro 7-11~~.

Cuadro 7-1111; Características principales de las especies químicas obtenidas por medio de MALDI-TOF-MS para *Ficus elastica*

No.	Peso Molecular (g/mol)	Fórmula Molecular	Nombre
1	537.00	C ₃₇ H ₇₆ O	2,6,10,14,16,20,28-octametilnonacosa-1-ol
2	424.79	C ₂₉ H ₆₀ O	10-nonacosanol
3	412.73	C ₂₇ H ₅₆ O ₂	Heptacosano-1,8-diol
4	331.47	C ₁₈ H ₃₅ O ₅	9,10,18-trihidroxiestearato
5	272.42	C ₁₆ H ₃₂ O ₃	16-hidroxipalmitato

En la Figura 7-2 se muestra el espectro en donde se presentan los diferentes compuestos monoméricos detectados por el espectrómetro en la muestra trabajada, las cuales son descritos en el Cuadro 7-1. Cada grupo de los picos mayores denotan la presencia de la sustancia, mas la masa de pérdida de un Hidrógeno, y la composición y distribución isotópica típica de los iones observables en MALDI-TOF-MS que son producto del ¹²C y ¹³C generando entonces picos múltiples correspondientes a la misma sustancia.

Con formato: Fuente: Sin Negrita

Eliminado: Cuadro 7-1

Con formato: Fuente: Sin Negrita, Revisar la ortografía y la gramática

Con formato: Fuente: Sin Negrita, Revisar la ortografía y la gramática

Con formato: Fuente: Sin Negrita

Eliminado: 1

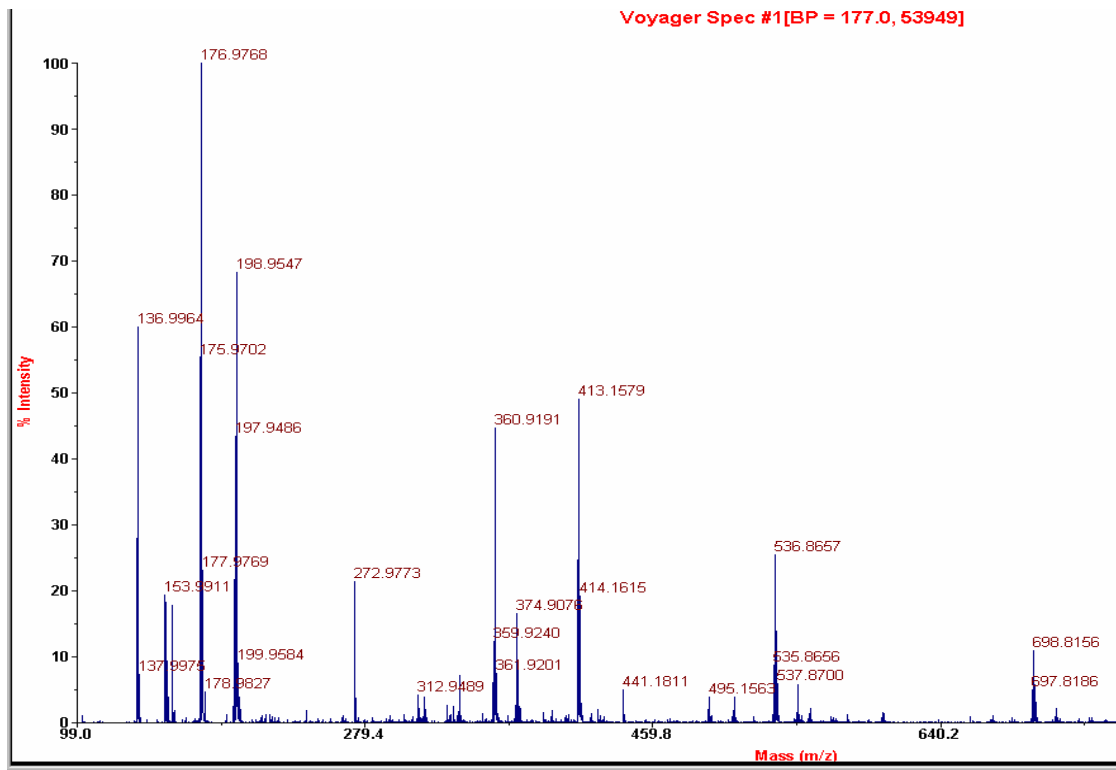


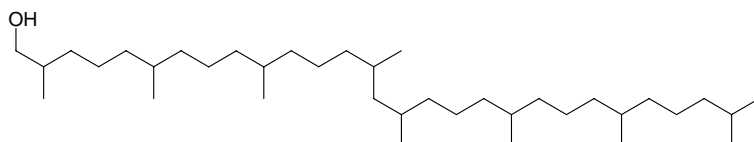
Figura 7-2: Espectro de Masas obtenidos a partir de MALDI-TOF-MS para *Ficus elastica*

Los espectros son la suma total de varios cientos de muestreos para una mejor definición de los picos. Es importante mencionar que la masa molecular de la matriz utilizada (ácido 2,5-dihidroxibenzoico³) fue de 154.12 g/mol, con los respectivos picos observables en los espectros obtenidos⁴.

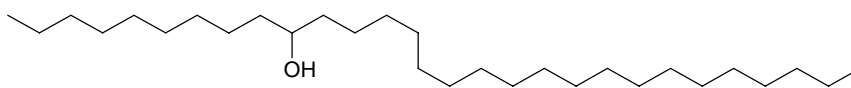
³ Dicha matriz es utilizada comúnmente en el análisis de moléculas de mediano tamaño.

⁴ Este modelo no cuenta con una librería como la de MS-CG, porque se hace en línea con una base de datos MASCOT, la cual se utiliza para la identificación de sustancias poliméricas mediante datos de espectrometría de masas.

En la Figura 7-3, se pueden observar las estructuras de los principales monómeros (fracciones monoméricas) obtenidas del análisis de R3, para *Ficus elastica*. Se puede observar la similitud de los grupos funcionales obtenidos en el estudio, con las investigaciones realizadas previamente⁵, en donde se determinaron grupos funcionales importantes como los hidroxilos, carbonilos y principalmente, las cadenas de hidrocarburos alifáticos de cadena larga, de entre 16 y 37 carbonos, los cuales le brindan la estabilidad a los ataques químicos a los que fue sometido.

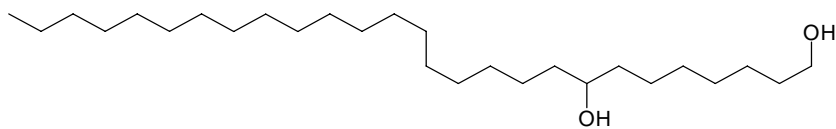


2,6,10,14,16,20,28-Octametilnonocosa-1-ol

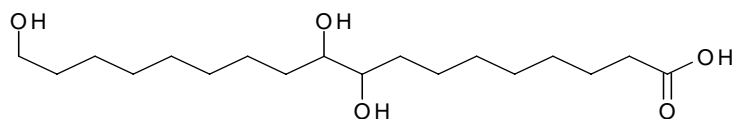


10-Nonacosanol

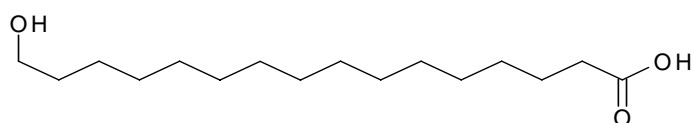
⁵ En el trabajo realizado por Margaret Nip en 1985, se puede encontrar la mayor concordancia con los monómeros determinados en dicha investigación y los determinados en ésta, teniendo como principal característica los hidrocarburos alifáticos de cadena larga.



Heptacosano-1,8-diol



9,10,18-Trihidroxiestearato



16-Hidroxipalmitato

Figura 7-3: Estructura de las principales fracciones monoméricas del biopolímero aislado

8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Al observar el espectro de masas mostrado en la Figura 7-3, se pensó que el grupo de picos en la región de los 640-750 Daltons (Da) pertenecía al polímero de interés, pero al hacer una magnificación de la región mencionada, el patrón de fragmentación y la abundancia isotópica no concordaron con los patrones de fragmentación típicos, ni con las distribuciones de isótopos propias de un polímero.

Aún cuando se aumentó el rango de detección a regiones cercanas a los 10,000 Da, no se detectó ninguna otra región o grupo de picos generados por alguna otra sustancia. Pero es el grupo de picos en la región de los 530-540 Da, más precisamente a 536.86 Da, concuerda con estructuras antes reportadas en la investigación realizada por Margaret Nip (7) y sus colaboradores quienes describen la aparición de hidrocarburos alifáticos de cadena larga. Además, se detectó la presencia de grupos hidroxilo que no fueron observables previamente con la técnica de pirólisis debido a la descomposición pre-análisis.

El pico con masa de 413.15 Da puede ser producto de la descomposición del Nonacosanol, o también puede ser un isómero con fórmula $C_{27}H_{56}O_2$. Los picos menores son fragmentos derivados de los mayores y por eso no ameritan atención, excepto cuando el Nonacosanol es el pico primario y la subsiguiente descomposición que generó el sistema en 413.15 Da, en el caso de que este fuese la causa de la formación del resto de fragmentos.

Es importante observar que la abundancia relativa del pico a 331.25 Da es menor que los demás, pero su presencia es importante en la asignación de las masas moleculares. Como se puede observar en las estructuras incluidas en la Figura 7-2, las masas moleculares concuerdan muy cercanamente con los picos del espectro solamente siendo diferentes debido a la calibración del instrumento.

Además, se pueden observar que los grupos funcionales que forman parte de los monómeros determinados, concuerdan con los estudios realizados anteriormente, pudiendo formar enlaces de tipo éter o éster, a partir de los *grupos hidroxilos* que se encuentran en las moléculas con lo cual logran una alta rigidez (presentados principalmente dentro de la molécula del polímero, permitiendo una mejor adhesión de los monómeros); los *grupos carbonilos*, que pueden llegar a formar enlaces de tipo éster y principalmente, los *hidrocarburos alifáticos de cadena larga*, que le brindan aún mayor resistencia al biopolímero estudiado, por el ordenamiento espacial que pueden lograr, brindando protección a los enlaces éter y éster formados. Esto debido a que pueden formar una especie de celda protectora que se forma en la superficie del polímero por el ordenamiento espacial que permite el enlace simple Carbono-Carbono y por la fuerza del enlace que presenta dicho enlace.

9. CONCLUSIONES

1. La metodología utilizada durante el aislamiento del biopolímero, permitió obtener un residuo con el cual se llegó a determinar el esqueleto base (base monomérica) que permite conformar una posible macro estructura del material altamente resistente (biopolímero).
2. Los métodos analíticos utilizados, tanto la Py-CG como el MALDI-TOF-MS, permitieron determinar que la base principal del biopolímero son los hidrocarburos alifáticos de cadena larga.
3. Los grupos funcionales determinados en las moléculas de los monómeros encontrados y por consiguiente en el biopolímero, son principalmente *hidrocarburos alifáticos* de cadena abierta teniendo como base al *nonacosanol*, *grupos hidroxilo* y *carbonilo*, los cuales concuerdan con los estudios que se han realizado anteriormente en especies de otros países.
4. El principal isómero que se presenta dentro de la estructura del monómero es la que se relaciona a la cadena lineal larga (*Nonacosanol*), ya que brinda una mayor protección al biopolímero, por el tipo de ordenamiento espacial que logra.
5. Los restantes picos encontrados de la Figura 7.2, pertenecen a sustancias orgánicas propias de la muestra de *Ficus elastica* que se encuentran presentes en el extracto utilizado para el análisis. La identidad de estas sustancias se puede entonces determinar a través de la correlación del radio de masa vs. carga (m/z) de las sustancias conocidas o reportadas

antes en la literatura científica comparándoseles a sus masas moleculares con las posibles estructuras reportadas con anterioridad.

6. Las diferencias entre las masas obtenidas por el instrumento y los pesos moleculares de las estructuras generadas son consecuencia de la calibración del instrumento, la cual se realiza al comparar la masa de un pico conocido (ej. la matriz) y el valor reportado, debiéndose tomar en cuenta que el espectrómetro obtiene las masas de los iones en estado activado, por consiguiente, algunas masas pueden diferir hasta por la masa perteneciente a un átomo de Hidrógeno. Aún así, los pesos moleculares obtenidos son altamente cercanos a los valores teóricos de las estructuras.

10. RECOMENDACIONES

1. Luego de determinar los monómeros que componen la base del biopolímero, se recomienda hacer un estudio más profundo acerca de las posibles aplicaciones que dicho polímero pueda tener por su resistencia a condiciones climáticas.
2. Realizar estudios de biopolímeros en otras especies naturales de diferentes áreas del territorio guatemalteco, que se encuentren dentro de las características ambientales en las que se desarrolla la *Ficus elastica*.
3. Darle seguimiento al estudio de identificación y caracterización del biopolímero encontrado, por medio de técnicas analíticas (MALDI-TOF-TOF) con las cuales se puede llegar a determinar la estructura exacta del mismo.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Stanley, Paul C., Julian A. Steyermark. Flora de Guatemala. Vol. 24 parte IV. Published by Chicago Natural History Museum. 1946 Pp 489.
- 2) Valverde, Flor de María. Plantas Útiles del Litoral Ecuatoriano. Guayaquil, Ecuador. 1998. Pp 312.
- 3) <http://www2.cbm.uam.es> Fecha de Revisión 10/01/2,007; Fecha de Actualización 15/01/2,007.
- 4) Brunner, Ueli. Rosmarie Honegger. Chemical and ultrastructural studies on the distribution of Sporopolleninlike biopolymers in six genera of lichen phycobionts. Journal of Botanic. Vol. 63. 1985. Pp 2221-2229.
- 5) Derenne S., C Largeau, E. Casadevall. Mechanism of formation and chemical structure of Coorongite-ii. structure and origin of the labile fraction. fate of Botryococenes during early diagenesis. Advances in Organic Geochemistry. Analytical Geochemistry. Vol. 13. Venice, Italy. 1987. Pp 965-971.
- 6) Swain, T. Chemical Plant Taxonomy. Low temperature research station. Cambridge, England; Academic Press Inc. Second printing. 1965.
- 7) Richter, Gerhard. Dr. Fisiología del Metabolismo de las Plantas. Una introducción a la fisiología y bioquímica del metabolismo primario.

- Primera edición. México, DF; Compañía Editorial Continental SA. 1972.
- 8) Berkaloff, C. E. Casadeval, C. Largeau, P. Metzger, S. Peracca and J. Virlet. The Resistant Polymer of the Walls of the Hydrocarbon Rich Alga *Botryococcus braunii*. Phytochemistry, vol 22, No. 2. Pp 389-397, 1983.
 - 9) Tegelar, Erik. Resistant biomacromolecules in morphologically characterized constituents of kerogen: a key to the relationship between biomass and fossil fuels. Thesis of Chemistry. 1990.
 - 10) Nip, Margaret. A new non-saponifiable highly aliphatic and resistant biopolymer in plant cuticles: evidence from pyrolysis and ¹³C-NMR analysis of present day and fossil plants. Tesis Doctoral en Química. 1988. Pp 79-86.
 - 11) Connan, J. Cyanobacterial resistant biopolymers. geochemical implications of the properties of *Schizothrix sp* resistant material. Advances in Organic Geochemistry. Analytical Geochemistry. Vol. 13. Venice, Italy. 1987. Pp 1003-1010.
 - 12) Pontevedra-Pombal, X; Martínez-Cortizas, A; García-Rodeja, E; Buurman, P. y van Lagen, B. Composición y transformación de la materia orgánica en un histosol de la Sierra de Xistral (norte de Galicia) mediante CPMAS ¹³C-NMR. Departamento de Edafología y Química Agrícola. Facultad de Biología. Universidad de Santiago de Compostela, 15706 Santiago de Compostela. Galicia. España.

Publicada por la Sociedad Española de la Ciencia del Suelo Volumen 8-2. Agosto 2001. pág 67-79.

- 13) Gálvez Sinibaldi, Alfredo. Dr. Biogeochemistry of selected member of the gorgonacea order (cnidaria) and their symbiotic zooxanthellae. Tesis Doctoral de Química. Norman, Oklahoma. 1993.
- 14) <http://es.wikipedia.org> Fecha de Revisión 10/01/2007; Fecha de Modificación 08/01/2,007.
- 15) Zenobi, Renato and R. Knochenmuss. Ion Formation in Maldi Mass Spectrometry. Department of Chemistry, Swiss Federal Institute of Technology (ETH) Zürich, Switzerland. November 1998.

12. ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 7-~~1111~~; Características principales de las especies químicas obtenidas por medio de la MALDI-TOF-MS para la *Ficus elastica*

Eliminado: 1

28

13. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3-1: β -Caroteno	12
Figura 3-2: Posible estructura obtenida a partir de los grupos funcionales determinados en los estudios realizados por Berkaloff, et, 1982; Brunner and Honegger, 1985; Nip, 1988 y Glikson, 1989	13
Figura 3-3: Estructuras de los alcoholes que forman la base estructural de las ligninas	15
Figura 7-1: Cromatograma de R3 de <i>Ficus elastica</i> , para determinar las principales fracciones monoméricas en base a los grupos funcionales presentes en el residuo aislado.	26
Figura 7-2: Espectro de Masas obtenidos del MALDI-TOF-MS para <i>Ficus elastica</i>	29
Figura 7-3: Estructura de las principales fracciones monómeras del biopolímero aislado	31

Br. Emilio José Reyes Alemán
Tesisista

Ph.D., Alfredo Salvador Gálvez Sinibaldi
Asesor de Tesis

Lic Jhoni Álvarez Castañeda
Director de la Escuela de Química

Oscar Manuel Cobar Pinto, Ph.D.
Decano de la Facultad de C.C.Q.Q y Farmacia