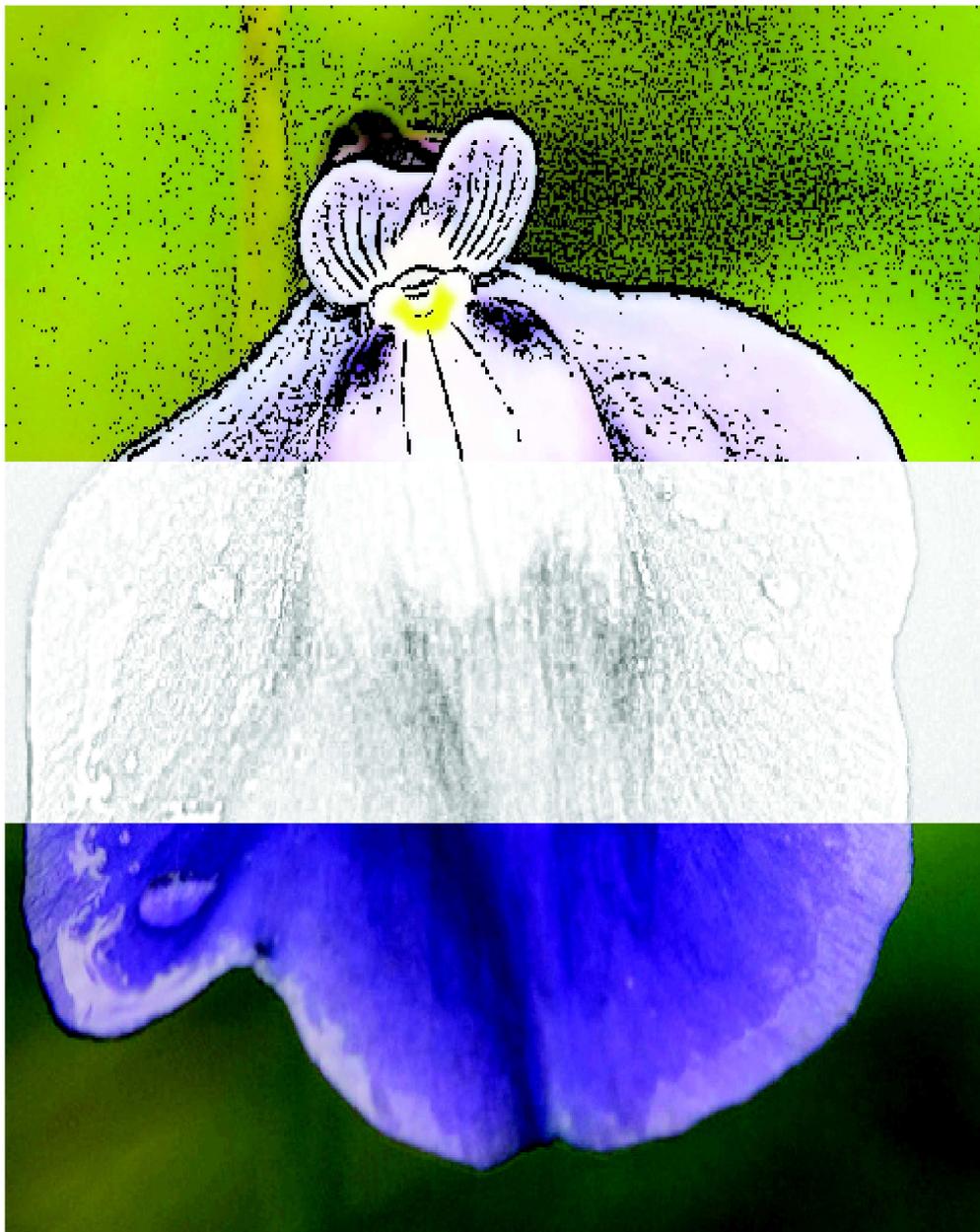


Volumen 6

Número 4

Diciembre 2015

Revista **Tlalmati** Sabiduría



**UAGro**

Dirección General de  
Posgrado e Investigación

ISSN: 2007-2066

<http://www.posgradoeinvestigacion.uagro.mx>

## Comité Editorial

### Consejo Editorial

Dr. Javier Saldaña Almazán (Presidente)  
Dra. Berenice Illades Aguiar (Secretaria)  
Dr. Justiniano González González (Vocal)  
M. C. José Luis Aparicio López (Vocal)  
Dr. Crisólogo Dolores Flores (Vocal)  
Dr. Oscar Talavera Mendoza

### Editores responsables

Dr. Oscar Talavera Mendoza  
Dr. Juan Baltazar Cruz Ramírez

### Editores por áreas del conocimiento

Dr. Elías Hernández Castro  
Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. José Legorreta Soberanis  
Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. José Francisco Muñoz Valle  
Universidad de Guadalajara

Dr. José María Sigarreta Almira  
Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. Rodrigo Carramiñana  
Southern Illinois University

Dra. Laura Sampedro Rosas  
Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. Ricardo Sánchez García  
Universidad Autónoma de Guerrero

Dra. Luisa Concepción Ballester  
Southern Illinois University

### Responsable de la Edición

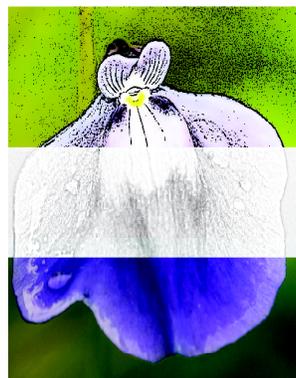
Dr. Juan Baltazar Cruz Ramírez

### Coordinación Editorial

Lic. Isabel Rivero Cors

### Corrección de estilo

M. C. Magdalena Martínez Durán



Fotografía de la portada: *Natural born killer*. Composición digital de *Pinguicula moranensis*. Juan Baltazar Cruz Ramírez (2015)

Ciencias Agropecuarias

Ciencias Biomédicas y de la Salud

Ciencias Biomédicas y de la Salud

Ciencias Exactas y Matemáticas

Ciencias Exactas y Matemáticas

Ciencias Ambientales y Desarrollo Regional

Ciencias Sociales, Filosofía y Sociología

Ciencias Sociales, Filosofía y Sociología

*Tlamati Sabiduría*; Volumen 6, Número 4, Octubre – Diciembre 2015 es una publicación trimestral editada por la Universidad Autónoma de Guerrero, a través de la Dirección General de Posgrado e Investigación. Domicilio: Javier Méndez Aponte No. 1, Col. Servidor Agrario, C.P. 39070. Tel: (01 747) 471 93 10 ext. 3091. Chilpancingo, Guerrero, México. Site de la revista: <http://tlamati.uagro.mx>  
E-mail: [tlamatisabiduria@outlook.com](mailto:tlamatisabiduria@outlook.com)  
Reservas de Derechos al Uso Exclusivo No. 04-2009-040817000000-102. ISSN 2007-2066. Este número se publicó el 30 de Diciembre del 2015. Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación. Se autoriza la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación para fines didácticos.

## Comité Editorial de Revisores por Área de la Ciencia

### BIOLOGÍA Y QUÍMICA

Dr. Eneas Alejandro Chavelas Adame

Dr. Oscar Del Moral Hernández

### BIOTECNOLOGÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

Dr. Francisco Palemón Alberto

Dr. Gerardo Huerta Beristaín

Dr. Jaime Olivares Pérez

Dr. Luis Miguel Camacho Díaz

### CIENCIAS SOCIALES

Dr. Ángel Ascencio Romero

Dra. América Libertad Rodríguez Herrera

Dra. Columba Rodríguez Alviso

Dra. Cristina Barroso Calderón

Dra. Dulce María Quintero Romero

Dra. Margarita Jiménez Badillo

Dra. Rocío López Velasco

### FÍSICO MATEMÁTICAS Y CIENCIAS DE LA TIERRA

Dr. Francisco Julián Ariza Hernández

Dr. Jorge Sánchez Ortiz

Dr. Juan Carlos Hernández Gómez

Dr. Marco Antonio Taneco Hernández

Dr. Martín Patricio Árciga Alejandre

Dra. Ernestina Felicia Castells Gil

### HUMANIDADES Y CIENCIAS DE LA CONDUCTA

Dr. Camilo Valqui Cachi

Dr. Osvaldo Ascencio López

Dra. Flor M. Rodríguez Vásquez

Dra. Ma. Gloria Toledo Espino

### MEDICINA Y CIENCIAS DE LA SALUD

Dr. Sergio Paredes Solís

Dra. María Eugenia Flores Alfaro

Dra. Iris Paola Guzmán Guzmán

Dra. Mónica Espinoza Rojo



<b>Contenido</b>	Pag.
<b>Editorial</b>	4
<b>C</b> iencias de la Salud	
<b>Distribución territorial del dengue en Iguala, Guerrero, México</b>	5
<i>Adrián Urióstegui Flores</i>	
<b>Prevalencia y patrones de anticuerpos anti-nucleares en jóvenes universitarios aparentemente sanos con y sin obesidad</b>	16
<i>Nadia Flores Rueda, Iris Paola Guzmán Guzmán, Isela Parra Rojas, Beatriz Peralta Elizondo, Adakatia Armenta Solís</i>	
<b>Polifenoles y actividad antioxidante de extractos de <i>Phyllonoma laticuspis</i> (Turcz.) Engl.</b>	20
<i>Jorge Bello-Martínez, Jonatan Jabin Morales Ramírez, Andres Najera Hernández, José Luis Rosas Acevedo</i>	
<hr/>	
<b>C</b> iencias Agropecuarias	
<b>Aceptabilidad de ensilados de frutos de Cirián (<i>Crescentia alata</i>) en caprinos</b>	24
<i>Saúl Rojas Hernández, Jaime Olivares Pérez, Valente López González, Erick Hernández Yáñez, Ma. Trinidad Valencia Almazán, Isidro Gutiérrez Segura, Fredy Quiroz Cardoso</i>	
<hr/>	
<b>C</b> iencias Ambientales	
<b>Presencia, distribución y abundancia relativa de los felinos silvestres de la Sierra del Municipio de Petatlán, Guerrero, México</b>	28
<i>Fernando Ruiz Gutiérrez, Cuauhtémoc Chávez Tovar, Enrique Vázquez Arroyo, Elizabeth Beltrán Sánchez</i>	
<b>Lentibulariaceae y los servicios ecoturísticos en Ixtlán de Juárez, Oaxaca, México</b>	37
<i>Alma Delia González Morales, Gisela V. Campos Ángeles, Ernesto Hernández Santiago, Vicente A. Velasco Velasco, José Raymundo Enríquez del Valle</i>	
<hr/>	
<b>F</b> ísico Matemáticas y Ciencias de la Tierra	
<b>Diseño y construcción de dispositivos electrónicos para la detección de pesticidas <i>in situ</i> y en tiempo real.</b>	44
<i>Gustavo Adolfo Alonso Silverio, Antonio Alarcón-Paredes</i>	
<hr/>	
<b>C</b> iencias Sociales	
<b>Culturas adaptativas en la cuenca del río Tlapaneco, Guerrero, México</b>	51
<i>América Libertad Rodríguez Herrera, Rocío López Velasco, Severino Bautista de Jesús</i>	
<hr/>	
<b>R</b> eseñas Científicas	
<b>Pueblos Mágicos. Estudios de los imaginarios y rediseño de ciudades turísticas. Caso Taxco de Alarcón, Guerrero, México</b>	55
<i>Osbelia Alcaraz Morales, Agustín Carlos Salgado Galarza, Andrea Babini Baan, Jesús Hernández Torres</i>	
<b>Participación ciudadana y desarrollo sustentable en la recuperación de la Cuenca del Río Atoyac: Proyecto Pro-Regiones UNAM-UAGro</b>	59
<i>Raúl Fernández Gómez, Martín Fierro Leyva</i>	
<hr/>	

## Editorial

A dos años de publicar Tlamti-Sabiduría en un formato electrónico, se hace necesario hacer un análisis del cumplimiento de los objetivos planteados en el rescate de esta revista científica. Una de las principales cualidades que pueden separar las revistas científicas de mayor calidad académica de las revistas de vanidad (*vanity-press journals*), es el proceso editorial al que los artículos enviados a Tlamati deben seguir para su publicación.

Siendo el estado de Guerrero y los estudios que en este estado se desarrollan, el tema principal de Tlamati-Sabiduría, nos hemos visto gratamente sorprendidos de la participación de autores y lectores de otras instituciones, tanto nacionales como internacionales, quienes han sido publicados en esta revista.

Tlamati-Sabiduría tiene ahora las condiciones para ser indexada en una primera instancia, en los índices académicos formales, mismos que servirán para que en un futuro cercano, Tlamati pueda ser indexada en los índices internacionales de calidad, que es el objetivo a conseguir en los años subsecuentes. Para esto, se hace necesario continuar con un trabajo editorial competente, sustentado por una política editorial que tenga al comité científico como principal soporte a esta tarea, así como la incansable ayuda de todos los involucrados en este proyecto. Esto no permitirá seguir divulgando la ciencia mediante el producto final de los proyectos de investigación, que son los artículos publicados en esta instancia.

Se ha tratado de evitar al máximo el caer en prácticas editoriales depredatorias, tales como la falta de supervisión editorial, artículos mal editados, el cobro a los autores por publicar los artículos o que estos no sean revisados por pares académicos. Es necesario recalcar que la aceptación de la publicación de los artículos está condicionada por el proceso de revisión, tanto de contenido como de estilo y este proceso no está centrado en satisfacer a los autores, sino en tratar de respetar el resultado del proceso investigativo, sin importar las credenciales del autor. Importa que el contenido publicado no sea resultado de la piratería en forma de plagio ni de publicar resultados previamente reportados en otras instancias. Importa el compromiso con el proceso editorial académico.

Dr. Juan Baltazar Cruz Ramírez





Título del artículo.

**Diseño y construcción de dispositivos electrónicos para la detección de pesticidas in situ y en tiempo real**

Título del artículo en idioma Inglés.

**Design and construction of electronic devices for detecting pesticides in situ and in real time**

Autores.

Gustavo Adolfo Alonso Silverio  
Antonio Alarcón-Paredes

Referencia bibliográfica:

MLA

Alonso Silverio, Gustavo Adolfo y Antonio Alarcón-Paredes. "Diseño y construcción de dispositivos electrónicos para la detección de pesticidas in situ y en tiempo real". *Tlamati* 6.4 (2015): 44-50. Print.

APA

Alonso Silverio, G. A. y Alarcón-Paredes, A. (2015). Diseño y construcción de dispositivos electrónicos para la detección de pesticidas in situ y en tiempo real. *Tlamati*, 6(4), 44-50

---

ISSN: 2007-2066.

Publicado el 30 de Diciembre del 2015

© 2015 Universidad Autónoma de Guerrero

Dirección General de Posgrado e Investigación

Dirección de Investigación

*TLAMATI*, es una publicación trimestral de la Dirección de Investigación de la Universidad Autónoma de Guerrero. El contenido de los artículos es responsabilidad exclusiva de los autores y no refleja de manera alguna el punto de vista de la Dirección de Investigación de la UAGro. Se autoriza la reproducción total o parcial de los artículos previa cita de nuestra publicación.



## Diseño y construcción de dispositivos electrónicos para la detección de pesticidas *in situ* y en tiempo real

Gustavo Adolfo Alonso Silverio<sup>1\*</sup>  
 Antonio Alarcón-Paredes<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad Autónoma de Guerrero. Unidad Académica de Ingeniería. Av. Lázaro Cárdenas s/n C.U. Zona Sur. CP. 39087 Chilpancingo, Guerrero, México. Tel: +(52) 747 472 7943

\*Autor de correspondencia  
 gsilverio@uagro.mx

### Resumen

La tarea de monitorear los pesticidas que son liberados en el medio ambiente, así como la cuantificación de sus posibles efectos nocivos en la salud de los seres humanos, tales como en los efectos en la biota, ha sido llevada a cabo desde hace más de una década en el estado de Guerrero, México. Los principales pesticidas con los que se ha trabajado en el estado de Guerrero son los organoclorados y los carbamatos y en menor medida los organofosforados. El uso intensivo de los organoclorados se debe a que son eficaces contra el paludismo, la malaria y el dengue. Los trabajos desarrollados para la medición de la persistencia de estos pesticidas en algunas matrices como lo son: extractos de vegetales, residuos en suelos y residuos en el agua de ríos y lagos se han desarrollado en base a toma de muestras en el lugar, acondicionamiento de dichas muestras y transporte hasta un laboratorio con el equipo necesario, cromatografos, espectrofotómetros, AutoLabs, centrifugadoras etc. Por lo que el análisis de pesticidas depende de muchos factores y procesos antes de llegar a un análisis final. También dicho análisis está determinado por el personal especializado y su destreza para manejar el equipo, que en muchas ocasiones se trata de equipo complejo y lento. Por tal motivo, hay un rezago tecnológico en el área de monitoreo ambiental en tiempo real, ya que hay muy poca tecnología dedicada a esta tarea. Esto se debe principalmente a que los instrumentos están diseñados para trabajar en condiciones de laboratorio y no en condiciones atmosféricas reales. En este trabajo se presenta el diseño y desarrollo de instrumentación electrónica que aunada a una metodología de detección rápida de pesticidas, hace posible la detección de compuestos organofosforados en el sitio y en un tiempo de análisis corto conocido como análisis en tiempo real.

**Palabras clave:** pesticidas, medio ambiente

### Abstract

Monitoring pesticides released into the environment as well as quantification of their possible harmful effects on human health, and effects on the biota has been carried out for decades at the state of Guerrero, Mexico. Main types of pesticides with which has worked in the state of Guerrero are, as follows: organochlorines, carbamates, and organophosphates in a lesser extent. Intensive use of organochlorine is because they are effective against paludismo, malaria and dengue. This study aims to measure persistence of these pesticides in some elements such as: extracts of plant residues in soil and waste water from rivers and lakes. Collecting samples of these elements at the site, conditioning and transport these samples to a laboratory with the necessary equipment, such as chromatographs, spectrophotometers, AutoLabs, centrifuges etc. affect actions related with analysis of pesticides, because it is required too many factors

### Como citar el artículo:

Alonso Silverio, G. A. y Alarcón-Paredes, A. (2015). Diseño y construcción de dispositivos electrónicos para la detección de pesticidas *in situ* y en tiempo real. *Tlamati*, 6(4), 44-50.

and processes before reaching a final result. Specialist personnel and their ability to operate the equipment also affect this analysis. Often, this equipment is complex and not ready to this task. Therefore, there is a technological gap in the area of environmental monitoring in real time, as there is very little technology dedicated to this objective. This is mainly because tools are designed to work under laboratory conditions and not on actual weather conditions. This study presents the design and development of electronic instrumentation coupled with a methodology for rapid detection of pesticides, enabling detection of organophosphorus compounds on site and in a short time analysis, known as real-time analysis.

**Keywords:** Pesticides, environment

## Introducción

Los pesticidas juegan un importante rol en la alta producción alcanzada en la agricultura a través del control de plagas. Sin embargo, los pesticidas son tóxicos también para algunos organismos que no son el objetivo principal de los pesticidas. Cuando estos pesticidas son liberados en el medio ambiente, sus consecuencias muchas veces son graves, afectando el ecosistema. La persistencia de los pesticidas en el medio ambiente es de décadas y por el transporte global, pueden alcanzar varios ecosistemas. Un ejemplo es el DDT (Dicloro Difenil Tricloroetano) o más exactamente 1,1,1-tricloro-2,2-bis(4-clorofenil)-etano que ha sido encontrado en aéreas remotas como la Antártida y en el Ártico. La contaminación por pesticidas es considerada un problema global (Ongley, 1996).

En México se emplean 260 marcas diferentes de plaguicidas, de las cuales 24 están prohibidas y 13 restringidas. Las principales causas de intoxicación por estos plaguicidas son las deficientes medidas de control y prevención. Desde 1995 se dio un decremento significativo en los casos de intoxicación, de más de 10 mil a poco más de 2 mil toneladas, pero aún así existe un sub-registro no cuantificable por el uso de agroquímicos. El empleo indiscriminado y exhaustivo de plaguicidas ha creado serios problemas, tanto para el ambiente como para el hombre. Los estados con mayor uso de plaguicidas son: Sinaloa, Veracruz, Jalisco-Nayarit, Sonora, Baja California, Michoacán, estado de México, Tamaulipas Tabasco y Guerrero (Martínez-Valenzuela y Gómez-Arroyo, 2007).

Existen algunas investigaciones acerca de que pesticidas se han usado en México así como su distribución por uso (Wong, Alegria, Bidleman, Alvarado, Angeles, Ávila Galarza, Bandala... 2008). En dicho trabajo se estudió la variación temporal de pesticidas organoclorados a través del territorio Mexicano resultando que en las regiones donde se presentan casos de malaria y dengue, el pesticida DDT fue más intensamente usado y con una permanencia

mayor del pesticida en dichas zonas. Así mismo, se investigó la persistencia de compuestos organofosforados para el control de plagas en la agricultura y en enfermedades en la bahía de Petacalco, Guerrero, México, encontrándose niveles bajos de plaguicidas. Dichos niveles estuvieron presentes durante las cuatro estaciones del año. Dichos estudios se llevaron a cabo por medio de análisis por cromatografía de gases y líquida.

Basados en la inhibición enzimática, se desarrollaron los biosensores dispositivos integrados para la parte sensora. Normalmente la enzima acetilcolinesterasa, es usada como un transductor que convierte la reacción química, (la enzima *in vitro* y su inhibición es la señal de interés) en una señal eléctrica medible. Los biosensores han traído consigo diversas ventajas, como lo son la rápida detección de pesticidas en soluciones acuosas con el mínimo pretratamiento de la muestra. Desde hace más de dos décadas, los biosensores han sido desarrollados para diferentes aplicaciones como el monitoreo ambiental, aún así hay ciertos aspectos en los que se sigue trabajando. Siendo la selectividad y la resolución de pesticidas en mezclas complejas factores importantes en este análisis, se les considera actualmente como elementos para el desarrollo de una herramienta de detección rápida, que tiene que ser complementaria a los métodos tradicionales.

Aunque es cierto que el uso de los biosensores trae algunas ventajas en el análisis *in situ*, sigue existiendo una falta de integración de los biosensores con la instrumentación electroquímica (que la mayoría de las investigaciones no aborda), y esto se debe principalmente a que los fabricantes no suelen hacer instrumentación a la medida. Cuando existe algún equipo con características deseables para el monitoreo ambiental, dichos equipos suelen ser caros o con una pobre respuesta en aplicaciones reales. Aunque la mayoría de los trabajos antes mencionados hablan de los biosensores en aplicaciones reales, el equipo electroquímico con los cuales los biosensores fueron probados se en-

Tabla 1. Límites de detección

Enzimas	Carbofuran		Malaoxon	Paraoxon		
	LOD	LOD <sub>Obtained</sub>	LOD(Campàs, Prieto-Simón et al. 2009)	LOD <sub>Obtained</sub>	LOD(Ben Oujji, Bakas et al. 2012)	LOD <sub>Obtained</sub>
EE	3.8*10 <sup>-8</sup>	7.81*10 <sup>-9</sup>	----	2.5*10 <sup>-8</sup>	----	1.56*10 <sup>-7</sup>
DM	4.5*10 <sup>-9</sup>	6.25*10 <sup>-9</sup>	----	7.81*10 <sup>-10</sup>	----	3.13*10 <sup>-8</sup>
DM-GM	5*10 <sup>-8</sup>	3.13*10 <sup>-8</sup>	1*10 <sup>-10</sup>	1.56*10 <sup>-9</sup>	1*10 <sup>-8</sup>	7.80*10 <sup>-9</sup>

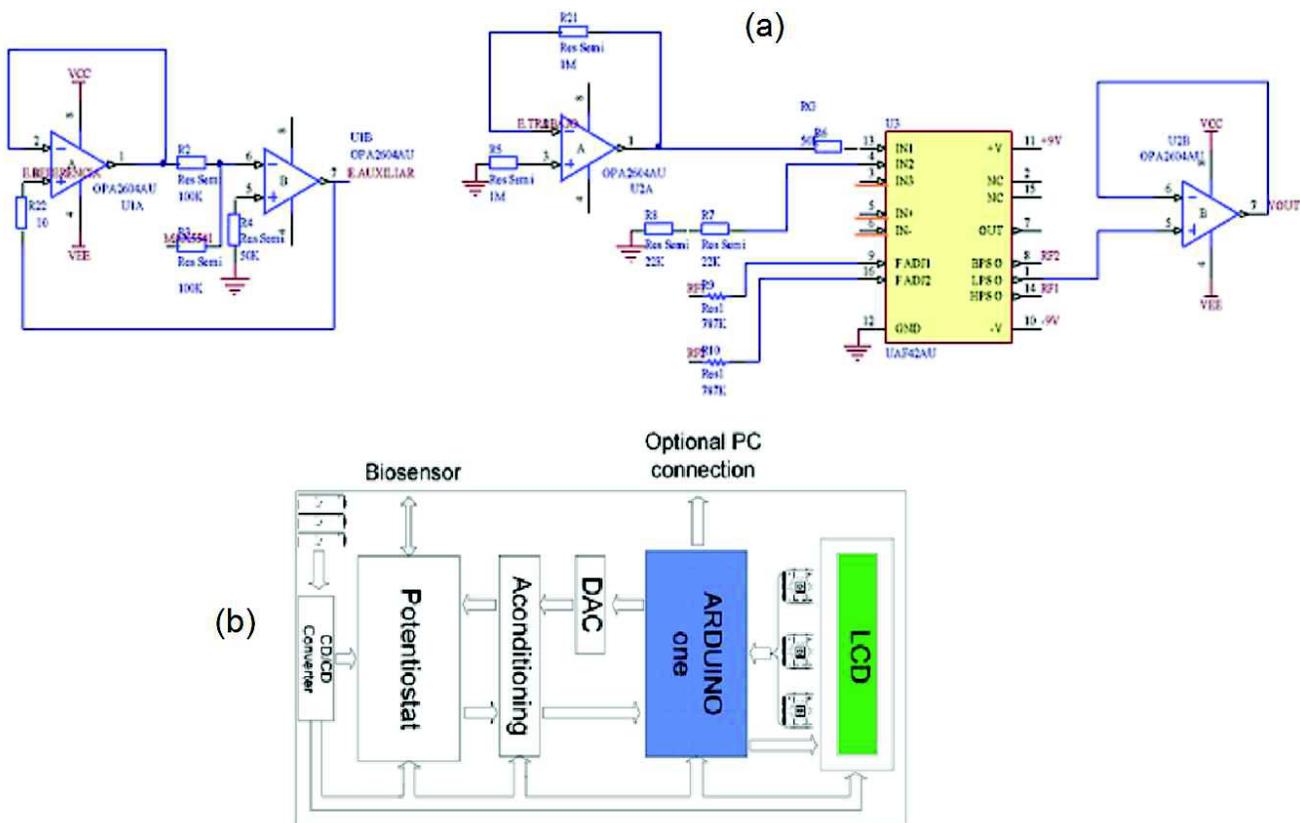


Figura 1. a). Esquema eléctrico del potencióstato desarrollado. b) El sistema del potencióstato completo, contiene algunos elementos que aseguran su portabilidad como lo son las baterías recargables la pantalla LCD todo controlado por una tarjeta Arduino Uno®.

cuentra comúnmente en un laboratorio y no es equipo especializado para un monitoreo ambiental real en el sitio.

En el presente trabajo, se muestra el diseño de dos equipos que son usados para la detección de pesticidas. La principal característica de dichos instrumentos es que pueden ser aplicados en tareas de monitoreo ambiental en el sitio, además de que son diseñados con tecnología de punta y su costo es relativamente bajo.

### Metodología

El primer dispositivo que se describe en este trabajo es un potencióstato. El potencióstato tiene dos tareas, primero, mide la diferencia de potencial entre dos electrodos (trabajo y referencia), sin polarizar el electrodo de referencia y compara la diferencia de potencial con el voltaje establecido previamente (voltaje de trabajo). Después inyecta un flujo de corriente desde un electrodo auxiliar hacia el electrodo de trabajo, con el fin de no modificar el voltaje previamente establecido. En la figura 1 se muestra el diseño del circuito del potencióstato portable (Alonso, Dominguez, Marty y Muñoz, 2011).

El voltaje de trabajo puede ser establecido por medio de una interfaz de tres botones y el rango que maneja el potencióstato va de  $-300\text{mV}$  a los  $+700\text{mV}$ , con el fin de medir el rendimiento del potencióstato comparado con un potencióstato comercial se eligió el voltaje de trabajo de  $100\text{mV}$ . El software instalado en la tarjeta Arduino Uno

permite guardar los valores de corriente que se miden en el electrodo de trabajo y que es proporcional a la actividad de la enzima. Es decir, se tendrá un voltaje máximo desplegado en la pantalla LCD cuando el biosensor se encuentra sumergido en solución tamponada con una cantidad conocida de sustrato. Si hubiera algún inhibidor en la celda electroquímica, el voltaje máximo disminuiría hasta un cierto nivel, este nivel es regularmente correlacionado con la concentración del inhibidor presente en la muestra.

Las pilas con las que cuenta el potencióstato tienen una capacidad de corriente de  $3800\text{mA}$ , lo que asegura un funcionamiento autónomo de 40 horas en uso continuo. Además de que al ser recargables, cuando el potencióstato se conecte a la computadora para descargar los valores almacenados o cuando se conecte la alimentación, este se cargará en un tiempo de 3 horas. El convertidor DC/DC proporciona voltajes bipolares de valores  $\pm 5\text{V}$  y  $\pm 9\text{V}$ .

Arduino Uno es una plataforma de desarrollo libre, cuenta con un microcontrolador de 8 bits (ATMEGA328P). La tarjeta Arduino fue acoplada a una pantalla LCD y un modulo de tres botones que hacen de interfaz entre el usuario y el sistema de potencióstato. En la figura 2. Se muestra el potencióstato, al momento de encenderlo se muestran dos opciones, configurar el voltaje de trabajo o comenzar a medir la corriente en el electrodo de trabajo del biosensor. La corriente esta medida en orden de nano Amperes y el voltaje de trabajo está en el orden de mili volts.

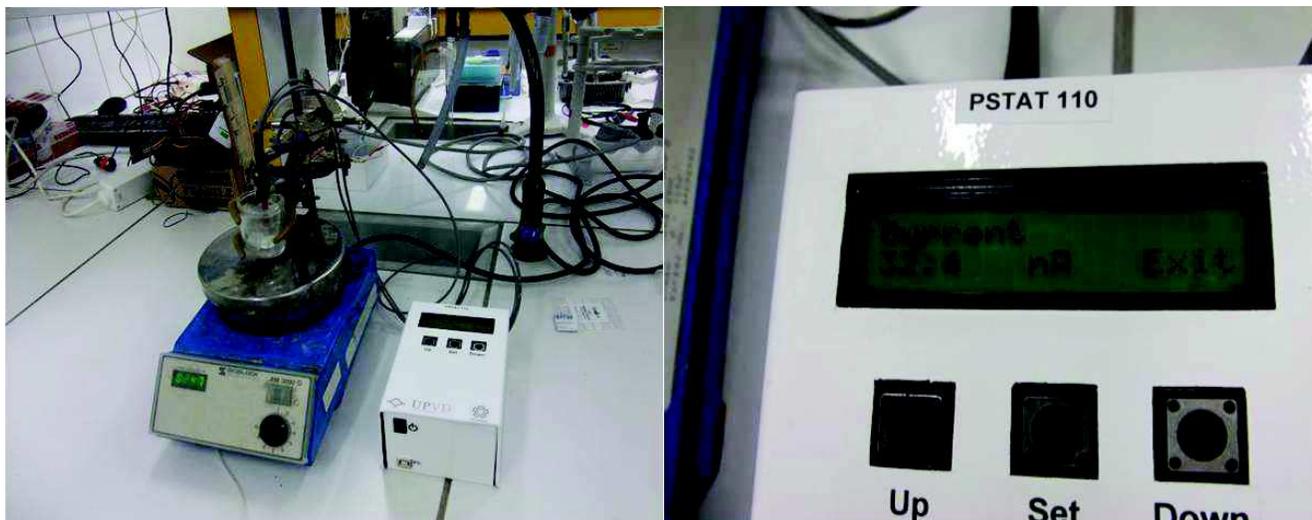


Figura 2. Potenciostato desarrollado

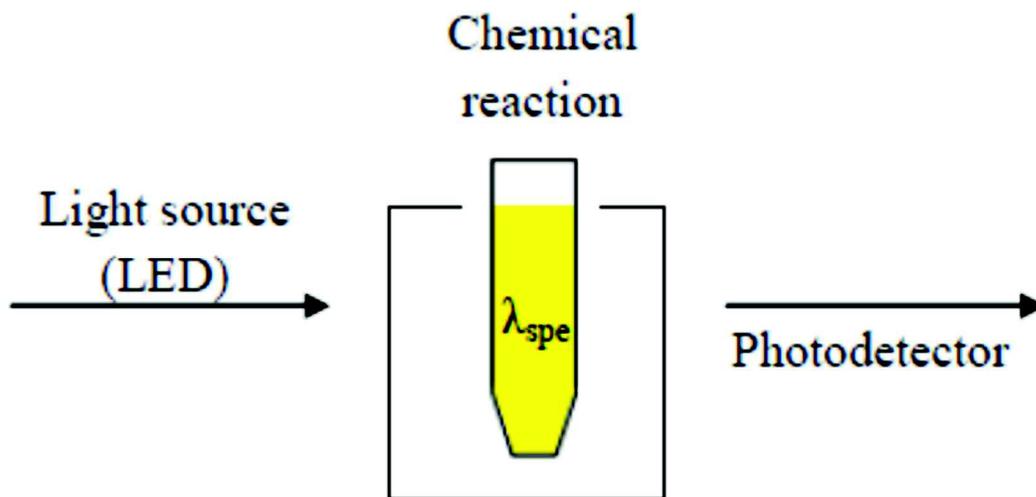


Figura 3. Esquema del principio del espectrofotómetro

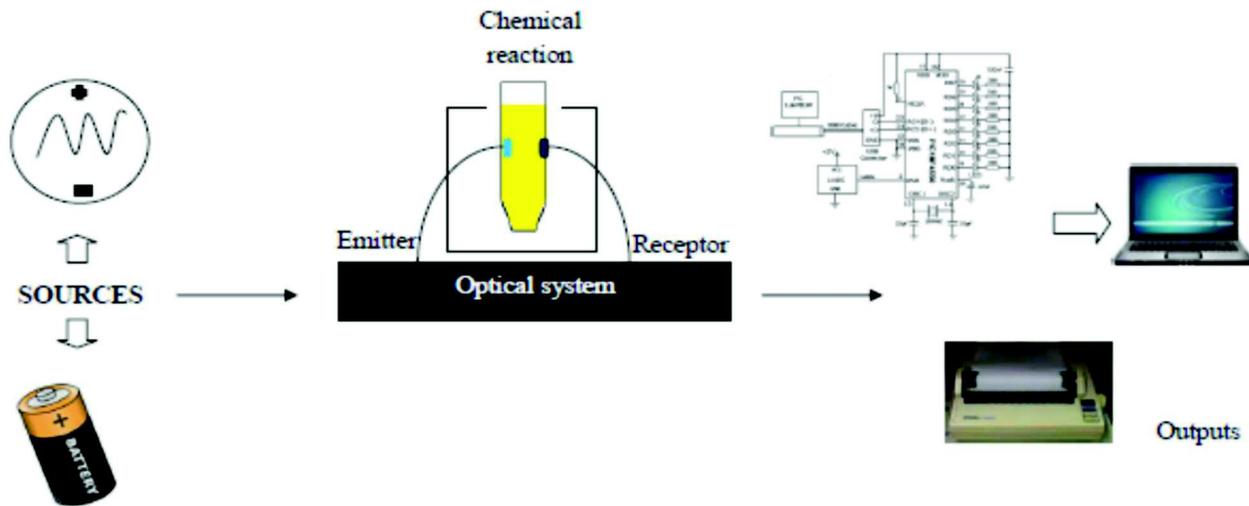


Figura 4. Esquema del espectrofotómetro desarrollado

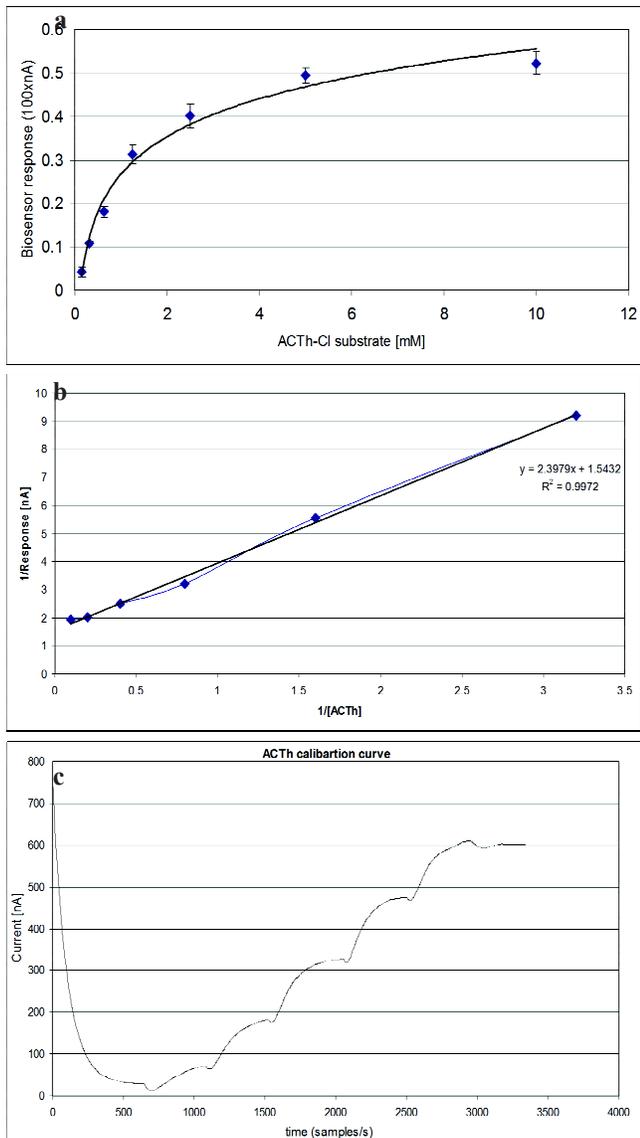


Figura 5. Detección del sustrato usando el potenciostato PSTAT110. a) Curva de correlación de la respuesta del potenciostato y de las concentraciones conocidas de ACTh-Cl. b) Curva doble inversa usada para calcular las constantes cinéticas de la enzima. c) inyecciones sucesivas de concentraciones cada vez más altas de ACTh-Cl.

El segundo equipo presentado en este trabajo es un espectrofotómetro basado en diodos emisores de luz (LEDs). La descripción del principio de medida de un espectrofotómetro es mostrado en la figura 3.

El espectrofotómetro presentado en este trabajo fue diseñado para trabajar con una fuente de poder de 5V, una batería de 3.7V en serie con una de 1.5V pueden proveer la energía necesaria y con la característica de que pueden ser recargables para una mayor autonomía. Un diodo ultrabrillante y un amplificador operacional acoplado a un fotodetector, son los elementos básicos que integran al espectrofotómetro. Como resultado del dispositivo se tiene una salida de voltaje de corriente directa, para una intensidad inicial. Conforme la absorción se va incrementando (la luz

cada vez atraviesa menos la sustancia) el nivel de voltaje disminuye. Este nivel de voltaje puede ser adquirido con un dispositivo de registro digital, tales como: computadora, microcomputadora, tarjeta de adquisición, entre otros. (véase figura 4).

La determinación de la actividad de la enzima Acetilcolinesterasa (AChE) y las inhibiciones fueron llevadas a cabo conjuntamente con un espectrofotómetro comercial (HP8452A). Las medidas espectrofotométricas para ambos equipos se llevaron a cabo de acuerdo al método de Ellman modificado (Ellman, Courtney, Andres, y Featherstone, 1961). El método Ellman permite medir la velocidad de producción de tiorcolina después de la hidrólisis del sustrato. La longitud de onda de detección es a 412nm. Con el fin de obtener las constantes cinéticas de la enzima en solución libre se necesitó preparar las siguientes soluciones:

#### Para la solución de control:

600  $\mu$ L de buffer pH=7, 300  $\mu$ L de 2.5mM DTNB, 100  $\mu$ L de 10mM TChl (en 0.9%NaCl).

#### Para las medidas de prueba:

10  $\mu$ L de enzimas fueron agregadas al blanco en la celda espectrofotométrica.

Las pruebas se realizaron a diferentes tiempos: 1,3,5,10,15 minutos de tiempo de incubación con concentraciones conocidas de pesticidas. Tres tipos de enzimas fueron usadas para este estudio. Las enzimas de la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*), anguila eléctrica (*Electrophorus electricus*) y *Drosophila melanogaster* modificada genéticamente.

## Resultados

La evaluación del potenciostato desarrollado se llevó a cabo midiendo la concentración del acetilcolina cloro (ACTh-Cl). El biosensor usado tenía inmovilizada en el electrodo de trabajo una enzima de la anguila eléctrica. Diferentes concentraciones de ACTh-Cl fueron sucesivamente inyectadas en la celda electroquímica y diferentes valores de corriente se obtuvieron en la pantalla del potenciostato diseñado (PSTAT110). En la figura 5 se muestran

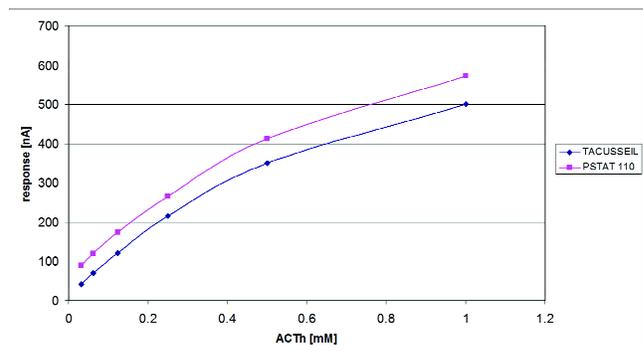
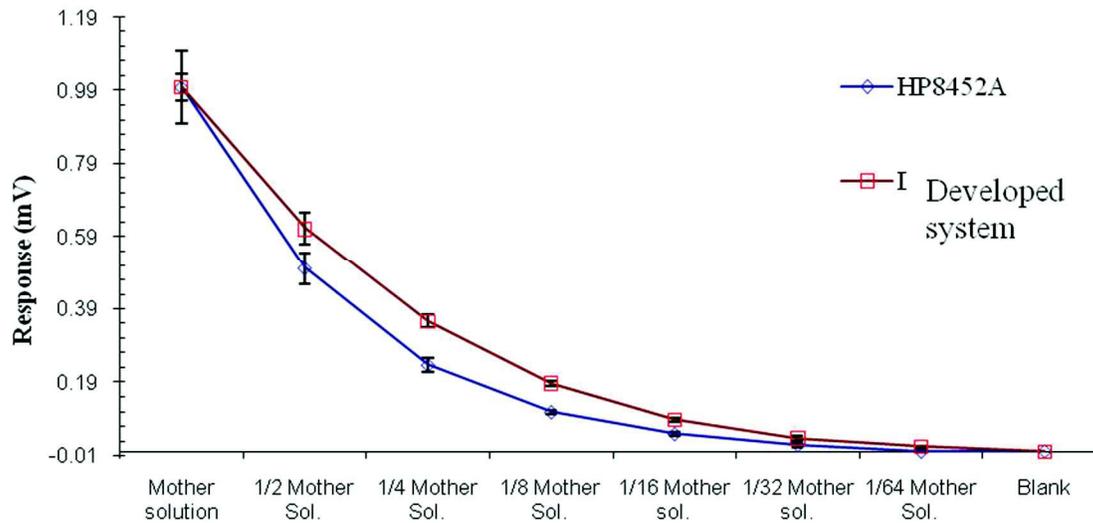


Figura 6. Curvas de calibración del potenciostato desarrollado (PSTAT110) y del potenciostato comercial TACUSSEIL RG.

Sensitivity in the spectrophotometer and the optical system developed



Enzymatic dilutions

Figura 7. Curvas de calibración para nuestro espectrofotómetro y para el HP8452A.

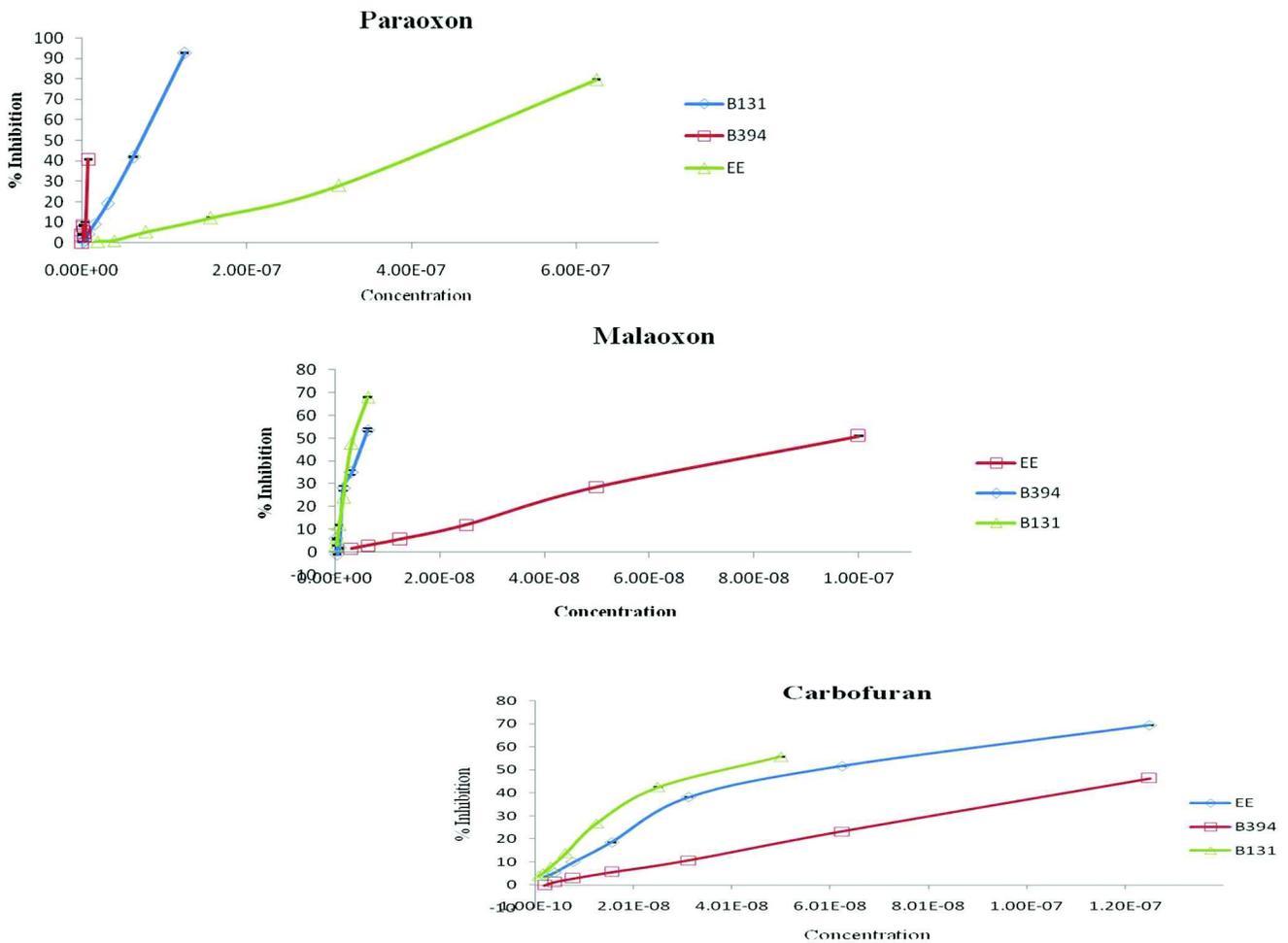


Figura 8. Curvas de inhibición de las tres enzimas acetilcolinesterasas por los pesticidas a) Paraoxon, b) Malaoxon y c) Carbofuran.

las curvas de calibración obtenidas con el potenciostato aquí presentado.

El rango de ACTh-Cl detectado fue de 0.156 -10mM. Cada medida fue hecha por triplicado. En otra prueba diferentes concentraciones de sustrato fueron agregadas a la celda y el potenciostato fue conectado a una PC vía el puerto usb y la señal fue desplegada en la pantalla de la computadora por una interfaz de software desarrollada en Processing®.

La respuesta del potenciostato en desarrollo fue comparada con la respuesta bajo las mismas condiciones con el potenciostato comercial TACUSEIL RG. En la figura 6 se muestra la respuesta de los dos instrumentos para diferentes concentraciones de ACTh-Cl.

El porcentaje de similitud entre el potenciostato comercial y el desarrollado fue obtenida por la correlación entre las dos curvas de respuesta, obteniéndose un 99% de similitud.

Para el caso del espectrofotómetro, los Límites de Detección (LODs) en ambos equipos fueron calculados como el 10% por debajo de la respuesta máxima del detector (cuando hay ausencia de cualquier pesticida-inhibidor). De esta manera los LODs fueron:  $2.29 \times 10^{-3}$  y  $6.91 \times 10^{-4}$  AU/s para el HP8452A y para nuestro espectrofotómetro respectivamente. En la figura 7 se muestran las curvas obtenidas con los dos equipos para diferentes reacciones enzimáticas.

Los efectos inhibitorios del pesticida paraoxon, malaoxon y carbofuran hacia tres diferentes enzimas se muestran en la figura 8. Diferentes concentraciones de los pesticidas mencionados antes fueron probadas por separado en la celda de nuestro espectrofotómetro, la generación de diferentes intensidades de color amarillo fueron registradas con niveles de voltaje diferentes que se correlacionaron con las diferentes concentraciones de pesticidas.

Los límites de detección obtenidos con el espectrofotómetro desarrollado son comparables con los reportados con métodos electroquímicos. Límites de detección (LODs) bajos fueron obtenidos con la enzima genéticamente modificada y el pesticida carbofuran. Para este mismo pesticida detectado con las otras dos enzimas los LODs son comparados con los reportados por otros sistemas (Ben Oujji, Bakas, Istamboulié, Ait-Icho, Ait-Addi, Rouillon y Noguier, 2012). Para malaoxon los LODs son más bajos que los resultados reportados por trabajos previos (Valdés-Ramírez, Fournier, Ramírez-Silva y Marty, 2008). La tabla 1 es un resumen de los límites de detección obtenidos con el espectrofotómetro desarrollado y los LODs reportados en otros trabajos.

## Conclusiones

Los resultados obtenidos con el equipo desarrollado son comparables con los obtenidos con equipos más robustos, además de que nuestro espectrofotómetro es fácil de usar, portátil y barato.

## Referencias

- Alonso, G. A., Dominguez, R. B., Marty, J. L. y Muñoz, R. (2011). An approach to an inhibition electronic tongue to detect on-line organophosphorus insecticides using a computer controlled multi-commuted flow system. *Sensors*, 11(4), 3791-3802.
- Ben Oujji, N., Bakas, I, Istamboulié, G., Ait-Ichou, I., Ait-Addi, E., Rouillon, R. y Noguier, T. (2012). Acetylcholinesterase Immobilized on Magnetic Beads for Pesticides Detection: Application to Olive Oil Analysis. *Sensors*, 12(6), 7893-7904
- Campàs, M., Prieto-Simón, B. y Marty J. L. (2009). A review of the use of genetically engineered enzymes in electrochemical biosensors. *Seminars in cell & developmental biology*, 20,1
- Ellman, G. L., Courtney, K. Courtney, D. E., Andres Jr., V. y Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, 7(2), 88-95.
- Martínez-Valenzuela, C. y Gómez-Arroyo, S. (2007). Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 23(4), 185-200.
- Ongley, E. D. (1996). Control of water pollution from agriculture, Food & Agriculture Org.
- Valdés-Ramírez, G., M. Cortina, Ramírez-Silva, M.T., Marty, J. L. (2008). Acetylcholinesterase-based biosensors for quantification of carbofuran, carbaryl, methylparaoxon, and dichlorvos in 5% acetonitrile. *Analytical and bioanalytical chemistry* 392(4), 699-707.
- Valdés-Ramírez, G., Fournier, D., Ramírez-Silva, M. T. y Marty, J. L. (2008). Sensitive amperometric biosensor for dichlorvos quantification: Application to detection of residues on apple skin. *Talanta* 74(4), 741-746.
- Wong, F., H., Alegria, H. A., Bidleman, T. F., Alvarado, V., Angeles, F., Ávila Galarza, A., Bandala, E. R., de la Cerdá Hinojosa, I., Galindo Estrada, I., Galindo Reyes, G., Gold-Bouchot, G. Vinicio, J., Macías Zamora, J. V., Murguía-González, J. y Ramirez Espinoza,