

MARCACION CON YODO¹²⁵ Y RADIOINMUNOANALISIS DE HORMONAS FOLICULO ESTIMULANTES (FSH) Y LUTEINIZANTE (LH) HUMANAS

*Elsa Munévar, Blanca L. Ortiz y Ruth de Estrada**

En el presente trabajo se describe la optimización del Radioinmunoanálisis de las hormonas Foliculo Estimulantes (FSH) y Luteinizante (LH) humanas, estableciendo inicialmente las condiciones de marcación con ¹²⁵I por el método de la Cloramina T.

Las preparaciones de LH (LER 960) y de FSH (1801-3) para marcar, así como el suero anti-FSH (Batch N° 4) y la preparación estándar para el RIA, fueron suministradas por The National Institutes of Health, Bethesda, Md. U.S.A.; el anti-LH fue donado por el Dr. Robert Ryan, de la Clínica Mayo; el segundo antisuero empleado para la separación del ligado provino de un lote preparado por la Dra. Myriam de Gómez y el Dr. Jonh Mazusky en la Granja de Tibaitatá (ICA).

El curso de la estabilidad de las hormonas marcadas se siguió por medio de las repurificaciones de éstas a través de Sephadex G-100, y se encontró que no era posible utilizarlas por un tiempo mayor de cuarenta días.

Se estudiaron algunos parámetros que contribuyeron a mejorar la técnica, tales como la temperatura, tiempo de incubación de los antisueros. Para procesar las muestras se escogió el sistema de incubación a 4°C durante siete días como sigue: 1er día: incubación del primer antisuero, estándares y muestras; 2º día: edición de la hormona marcada recién purificada; 5º día: precipitación con segundo antisuero y suero normal de conejo en proporción 1:16 vs. 1:64; 7º día: centrifugación a 4°C y conteo de los precipitados.

Como aplicación de la técnica desarrollada se hizo el estudio de los niveles de LH y de FSH a lo largo de un ciclo menstrual normal en 15 muje-

* Profesora Asistente. Departamento de Química. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.

res, y del efecto que tienen los anticonceptivos de dosis mínimas Microgynon (D-Norgestrel 0.15 mg. y Etinil Estradiol 0.03 mg) en 9 mujeres, y exlutón (Linestrenol 0.5 ug) en 3 mujeres, sobre dichos niveles; además se procesaron muestras de pacientes de consulta externa del Hospital Militar Central. Se logró establecer sin ninguna dificultad el día de la ovulación y se encontraron los siguientes valores para el pico (en mUI/ml.): LH: 25.5 ± 8.74 ; FSH : 8.55 ± 3.20 .

El método empleado mostró una buena reproducibilidad en las medidas, así como adecuada precisión, exactitud y especificidad, por lo cual lo consideramos como una técnica apropiada para la determinación de niveles de LH y de FSH en suero humano.

Este trabajo fue realizado como parte del "Programa de Investigaciones Hormonales con el Radioinmunoanálisis y la Competencia Protéica como Métodos de Dosificación" que se desarrolla en el servicio de Endocrinología del Hospital Militar Central, y que cuenta con la colaboración del Departamento de Química de la U.N. y el apoyo del Organismo Internacional de Energía Atómica y del Programa Latinoamericano de Investigaciones en Reproducción Humana (P.L.A.M.I.R.H.).

ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD PROTEOLITICA PRESENTE EN LA SECRECION DE LA GLANDULA PRINCIPAL DEL APARATO VENENOSO DE BOTHROPS-ATROX.

Enid Rivadeneira M., Juanita Bustamante de Eslava y Virginia Montes de Gómez***

Se desconoce la forma como se almacenan las enzimas del veneno en la glándula principal del sistema venenoso de las serpientes, así como también el mecanismo mediante el cual controla la actividad para evitar la destrucción de los tejidos glandulares.

Gans C. y Elliott W. han planteado como posibles mecanismos de defensa los siguientes:

* Microbióloga. Sección de Bioquímica, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, Colombia.

** Profesora Asistente. Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

- a) La síntesis de estas enzimas como proenzimas o zimógenos que se activarían en la secuencia de la inyección al pasar por la glándula accesoria.
- b) En el caso de las proteasas, que son metaloenzimas, se propone que se produce una proenzima en la glándula principal, la cual, a su paso por la glándula accesoria toma el metal, originando la proteasa activa.
- c) La activación del veneno se produce por el cambio de condiciones que experimenta al pasar del sistema venenoso (pH 4.5 a 5) al sistema circulatorio de la víctima (pH 7.5).

En general, se da mucha importancia a la secreción de la glándula accesoria en el proceso de activación de las enzimas almacenadas en la glándula principal.

Se trabajó específicamente con las proteasas del veneno, considerando como posible mecanismo de defensa la síntesis de estas enzimas en forma inactiva, como zimógenos, dado que este es el mecanismo que regula la actividad de la mayoría de las enzimas proteolíticas del tracto digestivo de los mamíferos.

Se estudió la actividad proteolítica hacia caseína TAME y BAPNA de la secreción almacenada en la glándula principal del aparato venenoso de la serpiente *Bothrops-atrox* (TayaX), en extracto glandular y directamente en el veneno almacenado en el lumen glandular.

El extracto glandular de serpientes muertas por enfriamiento hasta la ausencia total de movimientos reflejos presenta una actividad proteolítica muy baja. Esto no se debe a la síntesis de las enzimas como zimógenos sino a posibles procesos autolíticos o de inactivación, debidos a la muerte de la serpiente.

Se eliminan al máximo estas interferencias, trabajando con serpientes que presenten movimientos reflejos aún después de decapitadas y directamente con el veneno almacenado en el lumen glandular.

La actividad de esta secreción (veneno glandular) recién extraída, cae en el rango de actividades registradas para el veneno total, y permanece estable por lo menos durante 3 días, al mantenerlo en solución a 4° C., lo que podría descartar la síntesis y almacenamiento de estas enzimas como zimógenos. Además descartaría la influencia de la secreción aportada por la glándula accesoria, en el proceso de activación de las enzimas proteolíticas almacenadas en la glándula principal, ya que no presenta ningún efecto sobre la actividad proteolítica.

El aporte de proteínas de la glándula accesoria es muy bajo, ya que no se observan variaciones apreciables en los patrones electroforéticos (en gel de poliacrilamida) del veneno total y del veneno glandular; si secreta proteínas estas también son secretadas por la glándula principal, o no se pueden diferenciar en el sistema electroforético empleado.

Se fraccionó veneno total en Sephadex G-75 con amortiguador tris-acetato 0.02 M pH 4,5 y con amortiguador tris HCl 0.02 M pH 8.5 como sistema de elución. Aunque el patrón cromatográfico en estos dos sistemas muestra sólo ligeras variaciones, hay variaciones apreciables en el patrón de la actividad caseinolítica y en los patrones electroforéticos de las fracciones según el sistema de elución empleado.

En el fraccionamiento a pH 4.5 se requiere un período de preincubación de 15 min. a pH básico y 37° C., para determinar la actividad caseinolítica, mientras que en el fraccionamiento a pH 8.5 se obtiene una alta actividad caseinolítica al determinarla sin preincubación.

Esta diferencia no se debe a una influencia de las soluciones amortiguadoras empleadas, ya que el veneno total liofilizado, reconstruido en cada una de ellas, presenta prácticamente la misma actividad.

El período de preincubación requerido en el fraccionamiento a pH 4.5 podría ser debido a la separación, durante el fraccionamiento, de un factor K que mantiene a la enzima en su conformación activa, a pesar de estar a pH ácido, o que acelera la transformación de la enzima a su forma activa al pasar a pH básico.

RESPUESTA FOTOSINTETICA DE ALGUNAS VARIEDADES DE MAIZ, CAFE Y FRIJOL

Anundo Polanía León, Gerardo Pérez G. y Saúl Camacho***

Aprovechando el intercambio gaseoso que ocurre a través de las hojas, se hicieron medidas de ratas de fotosíntesis neta y transpiración en plantas de café, maíz y frijol. Para ello se construyó y ensambló un equipo de flujo abierto de gases y para plantas individuales. Se estudió el comportamiento de esas dos características frente a las variables de mayor incidencia sobre la fotosíntesis como son: temperatura de hoja, intensidad de la luz y concentración de CO₂ en el aire.

La planta se encerró en una cámara transparente, herméticamente sellada, con un control de temperatura, humedad relativa e intensidad de luz incidente. La concentración del CO₂ del aire se determinó con un

* Profesor Asociado. Departamento de Química. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

** Fisiólogo. Sección Fisiología Vegetal. Instituto Colombiano Agropecuario. Bogotá.

analizador de gases infra-rojo y el vapor de agua con un higrómetro de punto de rocío. Para las medidas de temperatura se utilizaron termopares de Cobre-Constantan.

La variedad de maíz utilizada (ICA H-507), presentó un comportamiento típico de las plantas C-4, con altas ratas de fotosíntesis, insaturación de luz al aumentar su intensidad y muy bajo grado de fotorespiración. El frijol, (variedad Diacol Andino) presentó bajas ratas de fotosíntesis, alto grado de fotorespiración y saturación de luz a bajas intensidades, todo lo cual constituye características propias de las plantas C-3.

Las dos variedades de café (típico y caturra) presentaron bajas ratas de fotosíntesis, saturación de luz con valores altos de energía lumínica (aún cuando existe baja eficiencia en la conversión de ésta) y grados de fotorrespiración más altos inclusive que en el frijol, características clásicas de plantas C-3. Existe notable diferencia entre las dos variedades, siendo la típica la más productiva (mayor rata de fotosíntesis neta y menor fotorrespiración); la variedad "caturre" presentó mayor adaptación a climas más calientes puesto que reveló mayor desempeño fotosintético a temperaturas más altas que las presentadas por la variedad típica.

Estos resultados podrían ser utilizados en trabajos de mejoramiento genético para la obtención de híbridos que requieran características como las presentadas por estas variedades. De la misma manera los resultados brindan información acerca del comportamiento ecofisiológico de las variedades estudiadas para su aprovechamiento a nivel de campo.

ESTUDIOS PRELIMINARES DE LA PAPAYUELA

*Luz Marina Díaz, Martha L. Gómez y Crisólogo Camargo**

En el trabajo se efectúa el análisis bromatológico de la pulpa a dos variedades de papayuela: *Carica pubescens* Lenne et Kock y *Carica goudotiana* Tr et Planch, procedentes de Choachí (Cundinamarca) y Petretillo-Buga (Valle del Cauca), respectivamente. Se investigan preliminarmente, los componentes volátiles del aroma de la *Carica pubescens* Lenné et Koch y su variación en dos estados de madurez: pintona y madura, por cromatografía de gases, y se elabora un producto confitado, estableciendo

* Profesor Asociado. Departamento de Química. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

las condiciones óptimas de su preparación, para buscar el aprovechamiento de la fruta.

Las dos variedades de papayuela estudiadas, resultaron ricas en vitamina C y potasio, con alto contenido de agua y buena cantidad de vitamina A, pero pobres en azúcares, teniendo la variedad de Cundinamarca mayor riqueza en nutrientes orgánicos y la del Valle en minerales.

Por poseer la variedad de Cundinamarca un exquisito aroma, más llamativo que la del Valle, se inició el estudio de sus componentes volátiles en dos estados de maduración. Para ello se preparó un extracto, destilando el puré de la pulpa por arrastre con vapor y extrayendo con éter. Una vez obtenido este extracto se analizó cromatográficamente, utilizando columnas de diferente polaridad y la técnica de enriquecimiento. Se emplearon sustancias patrón con el objeto de hacer la identificación de los compuestos del aroma. Dicho aroma se debe a una mezcla compleja de compuestos entre los cuales se identificaron algunos hidrocarburos, alcoholes, ésteres y lactonas.

Se ensayó como método de conservación, la elaboración de un producto confitado, el cual consiste en deshidratar la fruta mediante el uso de altas concentraciones de azúcar, inhibiendo así el desarrollo microbiano. Se realizaron varias pruebas con el fin de obtener un producto de óptima calidad, el cual fue evaluado sensorialmente y sometido a ensayo de incubación y análisis químico.

INTRODUCCION AL ESTUDIO DE LA BIOQUIMICA DEL DETERIORO DE YUCA PARAFINADA DURANTE UN PERIODO DE ALMACENAMIENTO

*Blanca Ligia Higuera Mancipe, Ruth Marcela Pachón Bautista,
Virginia Montes de Gómez* y Teresa Salazar de Buckle***

El presente trabajo se realizó como un proyecto conjunto del Instituto de Investigaciones Tecnológicas y de la sección de Bioquímica del Departamento de Química de la Universidad Nacional, encaminado a iniciar el estudio de los cambios bioquímicos que ocurren en la post-cosecha de la

* Profesora Asistente. Departamento de Química. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

** Química. Instituto de Investigaciones Tecnológicas. Bogotá, Colombia.

yuca y de las razones por las cuales el parafinado retarda los procesos de deterioro.

En la primera fase del trabajo se establecieron las mejores condiciones de extracción de la amilasa presente en la yuca y de determinación de la actividad amilásica. Se encontró que una doble extracción con acetato de calcio al 0.2% durante dos horas en una relación 1:0,5, yuca fresca (gr): acetato de calcio (ml) dió los mejores resultados.

Para la determinación de la actividad amilásica se escogieron como condiciones óptimas de incubación: tiempo 20 minutos, amortiguador de fosfatos 0,067M de pH 6,9, temperatura 37°C y sustrato de almidón al 1%. Dicha actividad se midió en términos de los azúcares reductores liberados, determinados por el método del ácido 3,5-Dinitrosalicílico.

Para determinar si realmente una de las causas del deterioro de la yuca almacenada es la variación de la actividad amilásica y si el proceso de parafinado influye sobre esta actividad, se hizo necesario en primer lugar, determinar un tratamiento de la yuca tal que al aplicarlo a una muestra dada mantuviera la actividad amilásica sin variaciones durante un período de tiempo, a fin de conservar dicha muestra con un valor de actividad igual al que tenía al aplicar el tratamiento.

Se encontró que el mejor método fue la liofilización de las muestras de yuca y la conservación de los liofilizados a -4°C.

En la última fase se estudió el comportamiento de la actividad amilásica en yuca parafinada y sin parafinar, almacenada durante aproximadamente un mes a 30°C y 80-90 % de humedad relativa. Dicho estudio se hizo, al finalizar el período de almacenamiento, sobre muestras de yuca liofilizadas obtenidas en los diferentes días de muestreo.

El análisis estadístico de los resultados no mostró un comportamiento reproducible definido de la actividad amilásica a través de los días. Sin embargo, se notó claramente que el parafinado mantuvo los valores de esta actividad por debajo de los presentados por la yuca testigo.

Se concluyó que el parafinado produce una acción efectiva sobre la conservación, retardando el deterioro de la yuca en términos del ablandamiento, pero dicho ablandamiento no parece ser causado básicamente por la enzima amilasa a pesar de que impide un aumento de su actividad.

Como se ha comprobado que el parafinado retarda el pardeamiento producido por la peroxidasa, es aconsejable hacer un estudio similar al presentado en este trabajo sobre la actividad peroxidásica, además de un estudio tendiente a buscar las causas bioquímicas del ablandamiento de yuca.