

24
28/2/85



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química

DETERMINACION DE METABOLITOS DEL COLESTEROL EN EL RIO
COATZACOALCOS, VER., POR EL METODO DE CROMATOGRAFIA
EN FASE DE VAPOR



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

T E S I S

Que para obtener el Título de
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

Presenta

JUAN MANUEL CORTES VAZQUEZ

1985



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

	PÁGINA
OBJETIVO	1
INTRODUCCIÓN	3
GENERALIDADES	27
AREA DE ESTUDIO	50
METODOLOGÍA	63
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	65
CONCLUSIONES	87
BIBLIOGRAFÍA	88

OBJETIVO

GENERALMENTE LOS LÍPIDOS SON SUSTANCIAS SOLUBLES EN DISOLVENTES ORGÁNICOS Y QUE PUEDEN SER TRANSFORMADOS EN HIDROSOLUBLES POR MEDIO DE UNA HIDRÓLISIS ALCALINA. SIN EMBARGO, EN LA EXTRACCIÓN DE UNA PLANTA O TEJIDO ANIMAL, CON DISOLVENTES ORGÁNICOS, SE PUEDE APRECIAR UNA CIERTA CANTIDAD DE LÍPIDOS QUE SON RESISTENTES A LA SAPONIFICACIÓN. ÉSTOS LÍPIDOS NO SAPONIFICABLES PUEDEN INCLUIR UNA O MÁS DE UNA VARIEDAD DE SUSTANCIAS ORGÁNICAS QUE PERTENECEN AL GRUPO DE ALCOHOLES CRISTALINOS CONOCIDOS COMO ESTEROLES (STEREOS = SÓLIDO).

LOS ESTEROLES SON CONSTITUYENTES MENORES DE PLANTAS Y ANIMALES. LAS PLANTAS Y ESPECIES PRIMITIVAS DEL REINO ANIMAL PRESENTAN UNA VARIEDAD DE ESTEROLES, DE LOS CUALES EL COLESTEROL PREDOMINA SOBRE OTROS.

AUNQUE LOS ESTEROLES SON CONSTITUYENTES MENORES EN PLANTAS Y ANIMALES, RESISTEN UNA DEGRADACIÓN MICROBIANA POR PERÍODOS MÁS PROLONGADOS QUE OTROS LÍPIDOS, ESTO HACE QUE LOS ESTEROLES PUEDAN SER EMPLEADOS COMO MARCADORES BIOLÓGICOS PARA PERÍODOS GRANDES DE TIEMPO.

DEBIDO A LAS TÉCNICAS ANALÍTICAS MODERNAS, ES POSIBLE DIFERENCIAR SI SON DE ORIGEN MARINO, TERRESTRE, O DEBIDO A DESCARGAS DOMÉSTICAS Y/O INDUSTRIALES. (2, 6, 13). ESTA PROPIEDAD ES USADA ESPECIALMENTE EN ZONAS COSTERAS, DONDE LA MATERIA ORGÁNICA EN SEDIMENTOS PUEDE SER APORTADA DE MUY DIVERSAS FUENTES.

EN ADICIÓN A LA EXISTENCIA DE RESTOS DE PLANTAS Y ANIMALES, LAS DESCARGAS MUNICIPALES Y/O INDUSTRIALES CONTIENEN DERIVADOS DE - MATERIA FECAL DE MAMÍFEROS, CUYOS COMPUESTOS SURGEN DE LA REDUCIÓN DE ESTEROLES A ESTANOLES POR LA FLORA INTESTINAL DE LOS -- MAMÍFEROS. LOS ESTEROLES QUE EL HUMANO EXCRETA SON PREDOMINANTEMENTE: COLESTEROL, COPROSTANOL, β -SITOSTEROL, METIL COLESTEROL Y ETIL COPROSTANOL. EL COLESTEROL, β -SITOSTEROL Y --- METIL COLESTEROL HAN SIDO IDENTIFICADOS EN EL AMBIENTE MARINO, PERO EL COPROSTANOL NO HA SIDO DETECTADO EN SEDIMENTOS NO CONTAMINADOS. (14).

LOS ESTEROLES PUEDEN SER ANALIZADOS POR DISTINTOS MÉTODOS COMO SON: LA ESPECTROSCOPÍA EN EL VISIBLE, LA CROMATOGRFÍA DE LÍ-- QUÍDOS A ALTA PRESIÓN, Y LA CROMATOGRFÍA EN FASE DE VAPOR. EL ANÁLISIS POR ESPECTROSCOPÍA PUEDE PRESENTAR CIERTAS POSIBILIDA-- DES DE INTERFERENCIAS ESPECTRALES, COMO SON: ISOMERISMO, TRASLAPE DE MÁXIMOS DE ABSORCIÓN, ETC.

LA CROMATOGRFÍA DE LÍQUIDOS PRESENTA UNA BUENA SEPARACIÓN, PERO LOS DETECTORES USADOS NO TIENEN LA SENSIBILIDAD DE LOS EM--- PLEADOS EN LA CROMATOGRFÍA EN FASE DE VAPOR.

EL OBJETIVO DE ESTE TRABAJO ES EMPLEAR A LA CROMATOGRFÍA EN FA SE DE VAPOR PARA LA DETERMINACIÓN DE ALGUNOS DE ESTOS ESTEROLES, YA QUE ESTA TÉCNICA ANALÍTICA PRESENTA UNA EXCELENTE SEPARACIÓN, GRAN SENSIBILIDAD Y REPRODUCTIBILIDAD, ADEMÁS DE REDUCIR EL --- TIEMPO DE ANÁLISIS.

INTRODUCCION

DURANTE LOS ÚLTIMOS AÑOS SE HA INCREMENTADO LA IMPORTANCIA DE EVALUAR Y CONTROLAR LAS DISTINTAS FUENTES DE CONTAMINACIÓN ACUÁTICA. LA CONTAMINACIÓN INDUSTRIAL DEL AGUA, ES ÚNICAMENTE UNO DE LOS FACTORES CONSIDERADOS EN LA COMPLEJA CONTAMINACIÓN ORGÁNICA DE NUESTRAS CORRIENTES. LAS DESCARGAS NATURALES Y DOMÉSTICAS, Y MATERIALES DERIVADOS DEL CICLO DE VIDA DE LAS PLANTAS Y ANIMALES ACUÁTICOS, CONTRIBUYEN EN CANTIDADES SUSTANCIALES DE MATERIA ORGÁNICA DE ORIGEN BIOLÓGICO. (FIG. 1). LOS MÉTODOS ACTUALES NECESITAN DESCUBRIR LA PRESENCIA DE CLASES ESPECÍFICAS DE COMPUESTOS QUE PUEDEN SER RELACIONADOS CUANTITATIVAMENTE CON LAS FUENTES DE CONTAMINACIÓN.

ASÍ, ES POSIBLE DETECTAR MUCHOS ORGANISMOS PATÓGENOS EN EL AGUA, PERO SIN EMBARGO LA TÉCNICA MICROBIOLÓGICA NECESARIA PARA SU DETECCIÓN ES, EN GENERAL, COMPLICADA PARA TRABAJAR EN EL CAMPO, REQUIERE BASTANTE TIEMPO Y PUEDE SER UN RIESGO A LA SALUD DEL ANALISTA. ENTRE LOS ORGANISMOS PATÓGENOS ÚNICAMENTE SALMONELLA Y LOS ESTREPTOCOCOS FECALES SON USADOS COMO INDICADORES DE CONTAMINACIÓN.

UN GRUPO DE MICROORGANISMOS, EL COLIFORME, HA SIDO USADO COMO INDICADOR, PERO PRESENTA ALGUNAS DESVENTAJAS, POR LO QUE SE HAN BUSCADO OTROS INDICADORES, TANTO BIOLÓGICOS COMO QUÍMICOS.

ESCHERICH, EN 1885, FUE EL PRIMERO EN DESCRIBIR EL BACILLUS COLI COMO UN INDICADOR DE CONTAMINACIÓN FECAL. ESCHERICHIA COLI ESTÁ PRESENTE EN INTESTINOS HUMANOS Y DE ANIMALES, Y POR ÉSTO,

ES POTENCIALMENTE UN BUEN INDICADOR DE LA CONTAMINACIÓN FECAL. OTROS MIEMBROS DEL GRUPO COLIFORME COMO SON AEROBACTER AEROGENES Y AEROBACTER CLOACAE, TIENEN BAJO SIGNIFICADO SANITARIO, PUES PUEDEN SER ORIGINADOS DE OTRAS FUENTES QUE NO SEAN LAS -- HECES.

SE CONOCE QUE CIERTAS PRUEBAS QUÍMICAS COMUNES DAN UNA EVIDENCIA DE CONTAMINACIÓN FECAL, PERO NO SON INDICADORES ESPECÍFICOS. ÉSTAS PRUEBAS INCLUYEN, POR EJEMPLO: AMONIO, CLORUROS, CARBONATOS, NITRITOS, DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO Y OXÍGENO DISUELTO, (1,14). RECIENTEMENTE SE HA SUGERIDO QUE EL AGUA - CONTENIENDO MÁS DE 0.1 MG/L DE AMONIO PUEDE INDICAR UNA CONTAMINACIÓN RECIENTE. LOS NITRITOS SON FORMADOS USUALMENTE POR LA ACCIÓN DE BACTERIAS EN AMONIO Y NITRÓGENO ORGÁNICO, PERO ES RARO ENCONTRARLOS EN GRANDES CANTIDADES, YA QUE ES OXIDADO A - NITRATOS, Y ÉSTOS PUEDEN INDICAR LA PRESENCIA DE CONTAMINACIÓN, CUANDO SE HALLAN PRESENTES EN CONCENTRACIONES MAYORES DE LAS - NORMALES REPORTADAS EN EL SITIO DE MUESTREO. LOS CLORUROS ESTÁN PRESENTES, EN ALTAS CONCENTRACIONES, EN SITIOS DE DESCARGA DE AGUAS NEGRAS. EL OXÍGENO DISUELTO TAMBIÉN PUEDE SER USADO COMO UN INDICADOR EN DESCARGAS DE AGUAS NEGRAS, YA QUE CUANDO LA CONTAMINACIÓN OCURRE, EL OXÍGENO ES DESPLAZADO COMO UN RE-- SULTADO DE UNA DEGRADACIÓN AERÓBICA DE MATERIA ORGÁNICA. (14).

CADA UNA DE ESTAS SUSTANCIAS PUEDEN SER EMPLEADAS PARA INDICAR CONTAMINACIÓN, SIN EMBARGO, UNA MEJOR INDICACIÓN PUEDE SER OBTENIDA EXAMINANDO EN EL AGUA MÁS DE UNA SUSTANCIA, POR EJEMPLO, LA PRESENCIA DE NITRITOS INDICA UNA POSIBLE CONTAMINACIÓN POR DESGARGA DE AGUAS NEGRAS, PERO SI LOS NITRITOS ESTÁN PRESENTES CON EL AMONIO Y UNA GRAN CONCENTRACIÓN DE CLORUROS, LA CONCLU--

SIÓN ES MÁS CERTERA. PEROS ESTOS INDICADORES PUEDEN CREAR CONFUSIÓN, PUES EL AMONIO PUEDE VENIR DE AGUAS DE LAVADO INDUSTRIAL, LOS CLORUROS PUEDEN ESTAR PRESENTES EN AGUAS DE LAVADO DE UNA FÁBRICA DE ALIMENTOS, LOS CARBONATOS PUEDEN PROVENIR POR DEGRADACIÓN EN LA VEGETACIÓN, ETC. PARA QUE ESTOS FACTORES PUEDAN SER ESPECÍFICOS, DEBEN SER USADOS EN CONJUNCIÓN CON OTROS FACTORES AMBIENTALES, QUE PUEDEN SER:

ACIDO ÚRICO - EL ÁCIDO ÚRICO ES EL PRINCIPAL VEHÍCULO DE EXCRECIÓN DE REPTILES, AVES, INSECTOS Y ES EL PRODUCTO FINAL DEL METABOLISMO DE LAS PURINAS EN EL HOMBRE Y LOS GRANDES ANTROPOIDES. SIN EMBARGO, EL ÁCIDO ÚRICO SÓLO ES EMPLEADO COMO INDICADOR DE CONTAMINACIÓN FECAL RECIENTE.

COLESTEROL - EL ESQUELETO FUNDAMENTAL PARA LA ESTRUCTURA DEL COLESTEROL ES LA DEL ANILLO DE CICLO PENTANO PERHIDRO FENANTRENO EL COLESTEROL ES UN ALCOHOL INSATURADO CON FÓRMULA $C_{27}H_{45}OH$ - QUE HA SIDO CONOCIDO COMO EL PRINCIPAL CONSTITUYENTE EN CÁLCULOS BILIARES HUMANOS Y RECIENTEMENTE HA ADQUIRIDO MAYOR IMPORTANCIA POR SU RELACIÓN CON DOLENCIAS CIRCULATORIAS, PARTICULARMENTE EN EL ENDURECIMIENTO DE LAS ARTERIAS. EL COLESTEROL SE HA SUGERIDO COMO INDICADOR DE CONTAMINACIÓN FECAL, (14) PERO -- COMO TAMBIÉN SE ENCUENTRA EN ALGUNOS ANIMALES Y PLANTAS, NO PUEDE CONSIDERARSE UN INDICADOR ESPECÍFICO DE CONTAMINACIÓN FECAL, Y SIEMPRE SE ENCUENTRA EN CONCENTRACIONES CERCANAS A SU SOLUBILIDAD EN AGUA ($26 \mu g/l$), SU FUENTE ES DESCONOCIDA.

COPROSTANOL - ESTE ESTEROL ES CARACTERÍSTICO DE LOS COMPUESTOS ORGÁNICOS ENCONTRADOS EN LAS HECEZ FECALES DE LOS ANIMALES, INCLUIDO EL HOMBRE, (7). PARA TODOS LOS PROPÓSITOS PRÁCTICOS, LA

ÚNICA FUENTE DE COPROSTANOL SON LAS HECES FECALES. BAJO CONDICIONES NORMALES EL COPROSTANOL ES EL MAYOR ESTEROIDE FECAL, EN ADICIÓN LA FRACCIÓN NEUTRAL DE ESTEROIDES FECALES CONTIENEN PEQUEÑAS CANTIDADES DE LOS SIGUIENTES ESTEROLES DE ORIGEN ENDÓGENO: 7 - DIHIDROCOLESTEROL, COLESTEROL, LANOSTEROL, METOSTEROL, COLESTANOL Y COPROSTANOL.

EL COPROSTANOL FUE AISLADO DE LAS HECES HUMANAS POR AUSTIN ---- FLINT JR. EN 1862. EL FARMACÓLOGO VON BONDZYNSKI CARACTERIZÓ EL ESTEROL COMO UN ALCOHOL DE FÓRMULA $C_{27}H_{47}OH$ Y LE DIÓ EL NOMBRE DE COPROSTANOL (KOPROS = ESTIERCOL).

EL COPROSTANOL ES EL ISOMERO C_5 DEL COLESTANOL, LOS ESTEROLES TÍPICOS SATURADOS SON DEL TIPO A/B TRANS Ó 5 α Y LA ÚNICA EXCEPCIÓN DE ÉSTO ES EL COPROSTANOL. LAS ESTRUCTURAS SE MUESTRAN EN LA FIG. 2.

COMO SE MENCIONÓ ANTERIORMENTE, SE REQUIEREN DE CLASES ESPECÍFICAS DE COMPUESTOS PARA SER RELACIONADOS CON LA FUENTE DE CONTAMINACIÓN Y LOS ESTEROLES OFRECEN ESTAS VENTAJAS, YA QUE ALGUNOS DE ELLOS SON CARACTERÍSTICOS DE DESCARGAS DE ALGUNA FORMA DE VIDA. (2). EN LA TABLA 1 SE PRESENTAN ALGUNOS ESTEROLES Y LOS ORGANISMOS EN QUE ESTÁN CONTENIDOS.

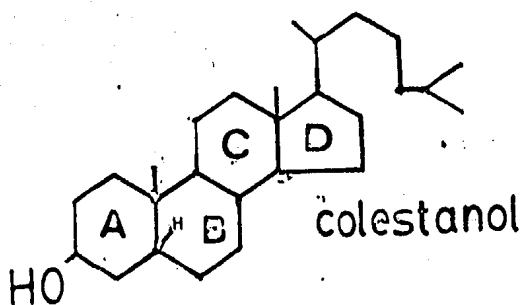
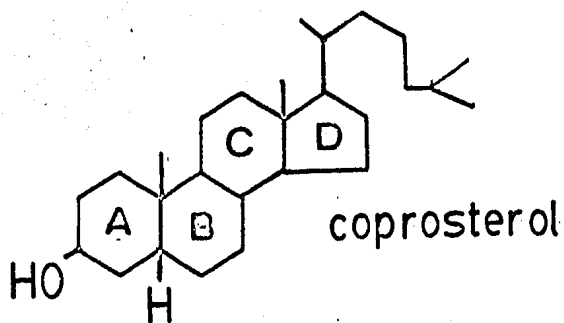
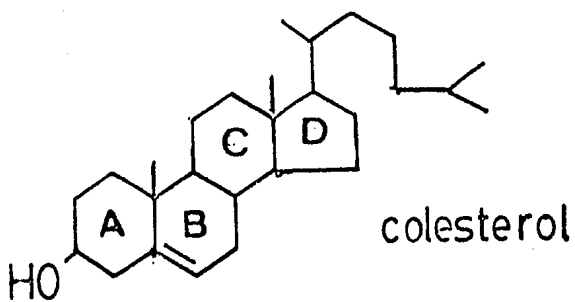
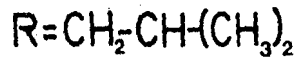
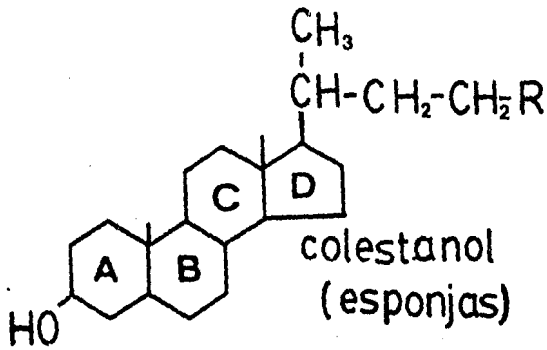
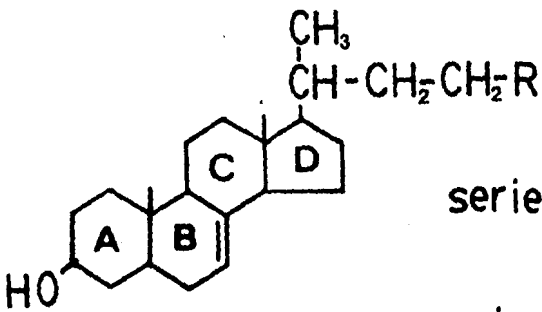
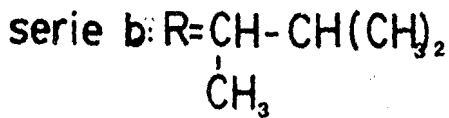
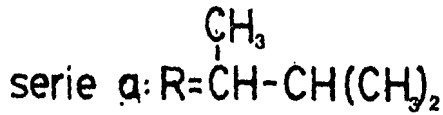


FIGURA 2



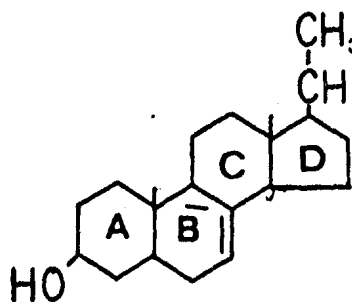
serie 24 metil colestano



serie a: stellastanol
(equinodermos)

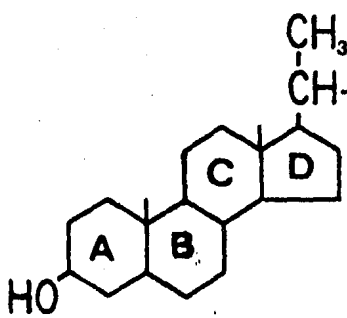
serie b: γ -ergosterol
(hongos)

TABLA 1



serie a: stellasterol
(equinodermos)

serie b: dihidroergosterol
(hongos)



serie a: neospongosterol
(esponjas)

serie: 24 etil colestano

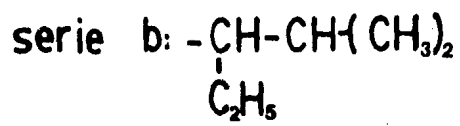
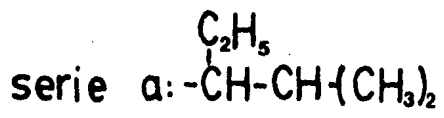


TABLA 1 (cont.)

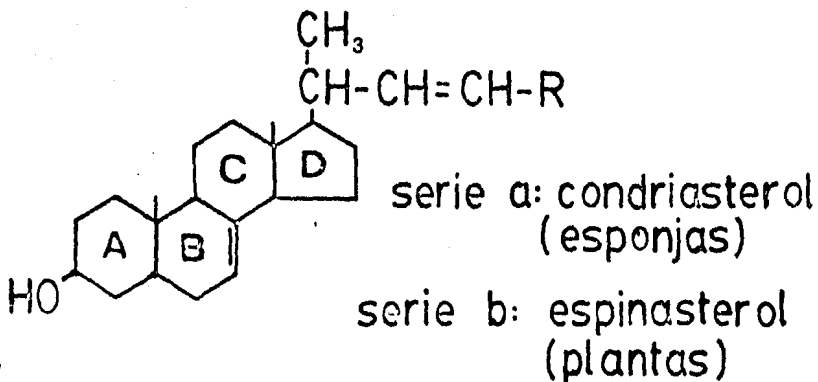
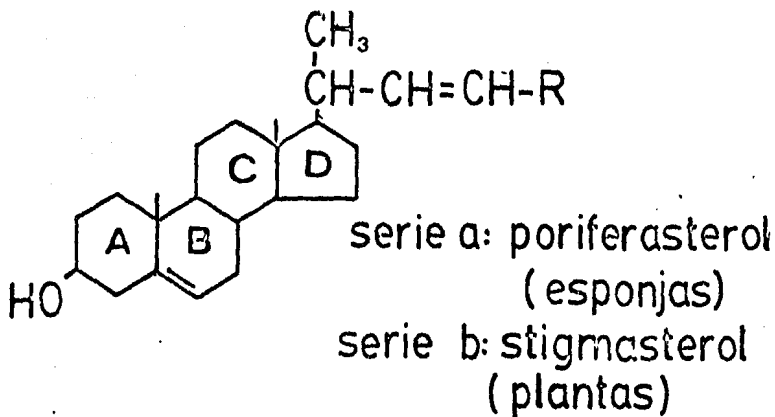
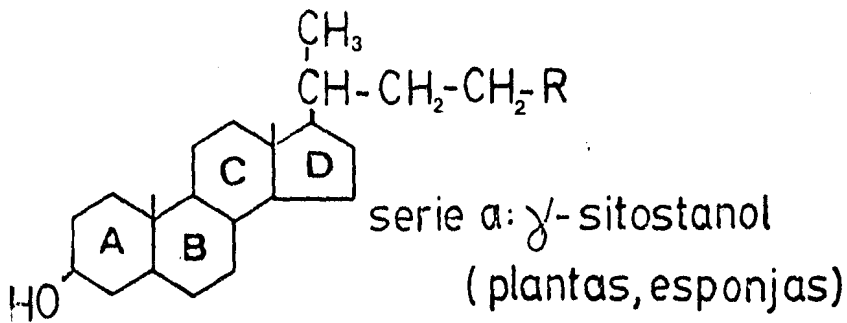


TABLA 1 (cont.)

BIOSÍNTESIS DEL COLESTEROL

AUNQUE NO SE CONOCEN POR COMPLETO LAS ETAPAS DE LA SÍNTESIS ENZIMÁTICA DEL COLESTEROL, LA MAYORÍA DE ELLAS SE CONOCEN CON ALGÚN DETALLE, GRACIAS A LAS INVESTIGACIONES INICIADAS POR BLOCH EN 1940, QUE DEMOSTRARON QUE LOS ÁTOMOS DE CARBONO MARCADOS, EN UN ACETATO, ADMINISTRADO A RATAS, SE INCORPORA AL COLESTEROL -- DEL HÍGADO, (3,9). SE HALLÓ QUE TANTO EL NÚCLEO ESTEROIDE COMO LA CADENA LATERAL DE OCHO ÁTOMOS DE CARBONO APARECÍAN MARCADOS. DE LA COMPARACIÓN DE RESULTADOS OBTENIDOS CON ACETATOS MARCADOS EN EL METILO, CON LOS MARCADOS EN EL GRUPO CARBOXILO, SE DEDUJO - QUE AMBOS ÁTOMOS DE CARBONO DEL ÁCIDO ACÉTICO SE INCORPORAN AL COLESTEROL, APROXIMADAMENTE EN CANTIDADES IGUALES (15 DEL GRUPO METILO Y 12 DEL GRUPO CARBOXILO).

UNA CLAVE IMPORTANTE RESPECTO A LA NATURALEZA DE LA SENDA QUE - DESDE EL ACETATO CONDUCE AL COLESTEROL, PROCEDE DEL DESCUBRI--- MIENTO DE QUE EL ACETATO MARCADO SE INCORPORA A LA CADENA ABIERTA DEL HIDROCARBURO ISOPRENOIDE ESCUALENO, COMPUESTO DIHIDROTERPÉNICO, ESTE HIDROCARBURO QUE POR PRIMERA VEZ SE ENCONTRÓ EN - EL HÍGADO DE TIBURÓN, SE HALLA EN PEQUEÑAS CANTIDADES EN EL HÍGADO DE LA MAYORÍA DE LOS ANIMALES SUPERIORES.

CUANDO SE INCUBA UN ESCUALENO MARCADO CON ISÓTOPOS, CON CORTES DE HÍGADO, GRAN PARTE DEL ISOTOPO SE ENCUENTRA DESPUÉS INCORPORADO AL COLESTEROL. ÉSTAS OBSERVACIONES SUGIRIERON QUE EL NÚ-- CLEO ESTEROIDEO DEL COLESTEROL, SE FORMA POR CICLIZACIÓN DEL ESCUALENO, DE CADENA ABIERTA, POR LO QUE PUEDE ADMITIRSE QUE LA - ESTRUCTURA COMPLETA SURGE A PARTIR DE UNIDADES DE ISOPRENO.

EL MECANISMO POR EL QUE SE FORMAN LAS UNIDADES ISOPRENOIDES A PARTIR DEL ACETATO, SE DESCONOCÍA HASTA QUE SE DESCUBRIÓ EL ÁCIDO MEVALÓNICO, METABOLITO QUE SE OBTIENE DEL ÁCIDO ACÉTICO. ESTE COMPUESTO ES EL PRECURSOR DIRECTO DEL ESCUALENO Y OTROS COMPUESTOS ISOPRENOIDES Y, POR LO TANTO, DEL COLESTEROL. EL ÁCIDO MEVALÓNICO ES UN FACTOR DE CRECIMIENTO, CAPAZ DE SUSTITUIR AL ACETATO EN DETERMINADAS BACTERIAS. SE PERCIBIÓ QUE ESTE ÁCIDO DE SEIS ÁTOMOS DE CARBONO PODRÍA DAR ORIGEN, TEÓRICAMENTE, POR DESCARBOXILACIÓN, A UNA UNIDAD ISOPRÉNICA DE CINCO CARBONOS,

CON ESTA IDEA SE MARCÓ UN ÁCIDO MEVALÓNICO, SE INCUBÓ CON CORTESES DE HÍGADO Y SE OBSERVÓ QUE SE INCORPORABA AL ESCUALENO Y TAMBIÉN AL COLESTEROL CON ALTO RENDIMIENTO.

ESTAS INVESTIGACIONES SIRVIERON DE BASE PARA DETALLAR MÁS LOS MECANISMOS ENZIMÁTICOS, POR LO QUE 1) EL ACETATO SE CONVIERTE EN ÁCIDO MEVALÓNICO, 2) EL ÁCIDO MEVALÓNICO SE TRANSFORMA EN ESCUALENO Y 3) EL ESCUALENO SE CONVIERTE EN COLESTEROL.

EN PRIMER LUGAR VEREMOS LAS ETAPAS DE LA CONVERSIÓN DEL ACETATO EN ÁCIDO MEVALÓNICO, QUE SE FORMA POR CONDENSACIÓN DE TRES MOLÉCULAS DE ACETIL-CoA. (FIG. 3).

EL PRODUCTO INTERMEDIO, CLAVE DE ESTE PROCESO ES EL β -HIDROXI β -METIL GLUTARIL CoA, (9,15), QUE ES UN PRODUCTO INTERMEDIO DE LA DESACILACIÓN DEL ACETOACETIL-CoA. AUNQUE EL β -HIDROXI- β -METIL GLUTARIL CoA, PUEDE PRESENTAR ESCISIÓN ENZIMÁTICA Y FORMAR ACETO ACETATO MÁS ACETIL CoA, TAMBIÉN PUEDE SUFRIR REDUCCIÓN DE UNO DE SUS GRUPOS CARBOXILOS Y PÉRDIDA DE CoA POR LA ACCIÓN DE β -HIDROXI β -METIL GLUTARIL CoA REDUCTASA PARA OBTENER

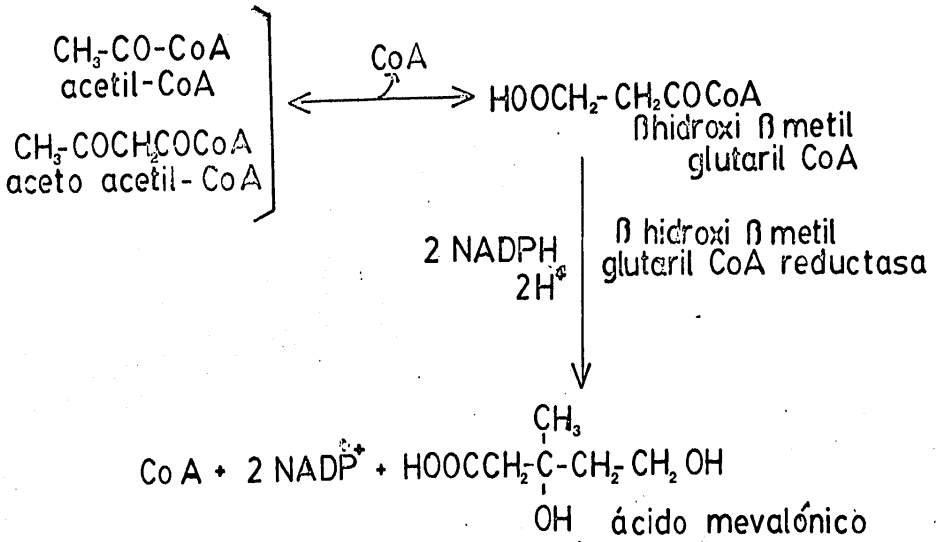


FIGURA 3

NER ÁCIDO MEVALÓNICO. ESTA COMPLEJA REACCIÓN, QUE ES REVERSIBLE Y TIENE LUGAR, POR LO MENOS, EN DOS ETAPAS, PUEDE SER UN IMPORTANTE PUNTO DE CONTROL EN LA BIOSÍNTESIS DEL COLESTEROL.

EN LA SIGUIENTE ETAPA, EL ÁCIDO MEVALÓNICO SE CONVIERTE EN ESCUALENO. (FIG. 4), ESTA SECUENCIA COMIENZA CON LA FOSFORILACIÓN DEL ÁCIDO MEVALÓNICO POR EL ATP, PRIMERO SE FORMA UN ESTER 5' MONOFOSFATO Y DESPUÉS EL 5' PIROFOSFATO. UNA TERCERA FOSFORILACIÓN EN EL CARBONO 3 ORIGINA UN PRODUCTO INTERMEDIO MUY INESTABLE, QUE PIERDE ÁCIDO FOSFÓRICO Y SE DESCARBOXILA FORMANDO 3-ISOPENTIL PIROFOSFATO, EL CUAL SE ISOMERIZA A 3,3'-DIMETIL ALIL PIROFOSFATO. ESTOS DOS ISOPENTIL PIROFOSFATOS ISÓMEROS SE CONDENSAN CON LA ELIMINACIÓN DE ÁCIDO PIROFOSFÓRICO Y FORMAN EL MONO TERPENO TRANS-GERANIL PIROFOSFATO. ENTONCES REACCIONA UN TERCER ISOPRENIL PIROFOSFATO CON ELIMINACIÓN DE ÁCIDO PIROFOSFÓRICO Y PRODUCE EL DERIVADO SESQUITERPÉNICO TRANS-FARNESIL PIROFOSFATO. SE CREE QUE ESTE ÚLTIMO COMPUESTO EXPERIMENTA UNA CONDENSACIÓN REDUCTORA CON SU ISÓMERO DIMETIL ALÍLICO, CONCRETAMENTE EL NEROLIDOL PIROFOSFATO, Y SE ORIGINA EL ESCUALENO.

EN LA ÚLTIMA DE LAS ETAPAS PRINCIPALES DE LA SÍNTESIS DEL COLESTEROL, EL ESCUALENO SUFRE EL ATAQUE DEL OXÍGENO MOLECULAR Y FORMA EL 2,3 EPÓXIDO, REACCIÓN CATALIZADA POR UNA OXIDASA DE FUNCIÓN MIXTA, EL 2,3 EPÓXIDO DEL ESCUALENO EXPERIMENTA SU CICLIZACIÓN A LANOSTEROL. EN ESTA REACCIÓN UNA SERIE DE DESPLAZAMIENTOS ELECTRÓNICOS PRODUCE EL CIERRE DE LOS CUATRO ANILLOS. LA CONVERSIÓN DE LANOSTEROL A COLESTEROL, IMPLICA LA PÉRDIDA DE GRUPOS METILO (EN C-4 Y EN C-14) LA SATURACIÓN DEL DOBLE ENLACE EN LA CADENA LATERAL Y EL DESPLAZAMIENTO DEL DOBLE ENLACE 8/9

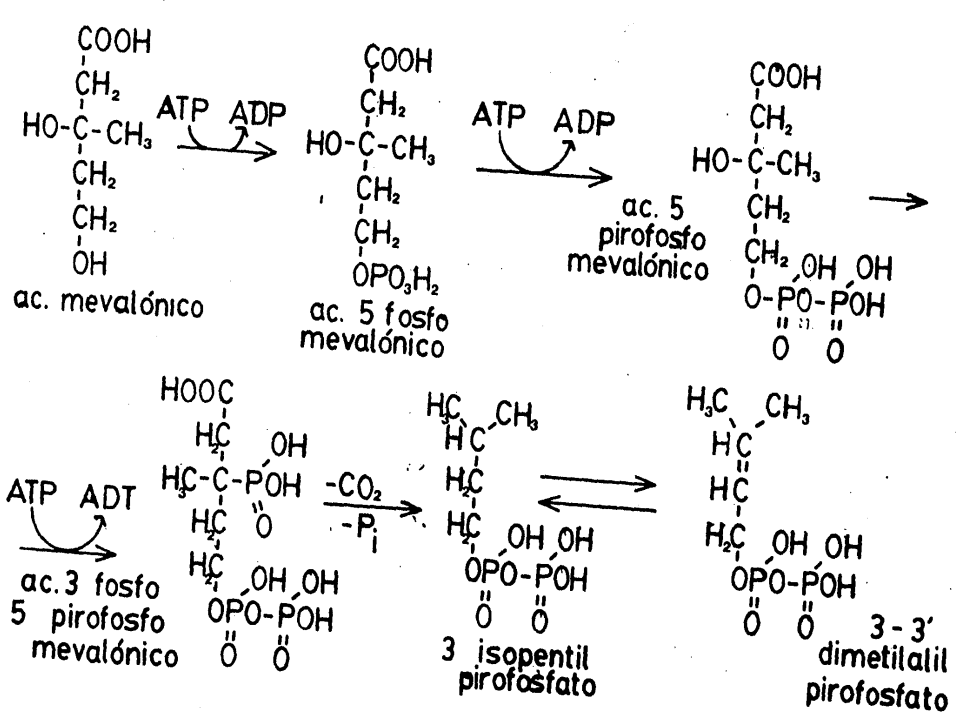


FIGURA 4

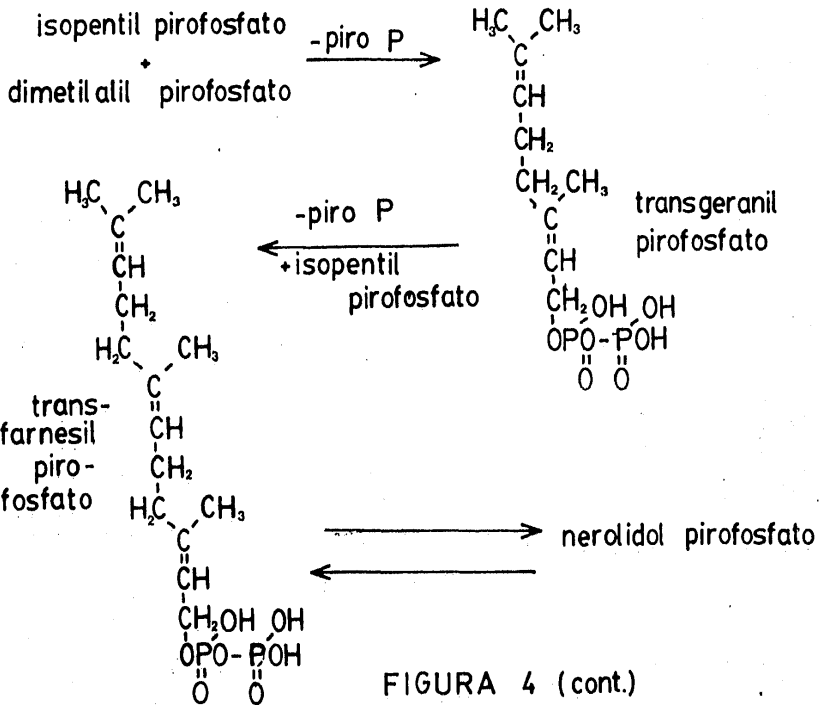


FIGURA 4 (cont.)

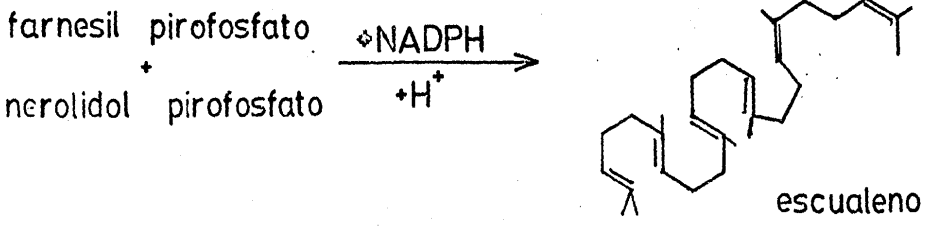


FIGURA 4 (cont.)

A LAS POSICIONES 5/6 DEL ANILLO B. (FIG. 5). EL MECANISMO ENZIMÁTICO DE ÉSTA CONVERSIÓN NO SE CONOCE, AUNQUE EXISTE MÁS DE UN CAMINO.

LA BIOSÍNTESIS DEL COLESTEROL EN EL HÍGADO EXPERIMENTA UN GRAVE DECREMENTO POR EL COLESTEROL DE LA DIETA, EFECTO QUE PROBABLEMENTE ES INDUCIDO POR LA INHIBICIÓN DE LA REACCIÓN DE LA β -HIDROXI β -METIL GLUTARIL CoA REDUCTASA, GRACIAS A LA CUAL EL β -HIDROXI β -METIL GLUTARIL CoA ES REDUCIDO A ÁCIDO MEVALÓNICO. SIN EMBARGO, EL PROPIO COLESTEROL NO ACTÚA COMO INHIBIDOR, SE HA POSTULADO QUE EL VERDADERO INHIBIDOR ES UNA LIPOPROTEÍNA QUE CONTIENE COLESTEROL, O BIEN QUE SE TRATA DE UN ÁCIDO BILIAR, O DE UNA PROTEÍNA ESPECÍFICA HALLADA EN LA BILIS. EL AYUNO TAMBIÉN INHIBE LA SÍNTESIS COLESTERÓLICA, MIENTRAS QUE LAS DIETAS RICAS EN GRASAS ACELERAN EL PROCESO.

EL TRANSPORTE Y EL DEPÓSITO DE COLESTEROL EN LOS MAMÍFEROS ESTÁ SOMETIDO A VARIOS MECANISMOS DE CONTROL, QUE AÚN SE DESCONOCEN EN DETALLE; LOS DEFECTOS DE DICHO MECANISMO DE CONTROL CONDUCE, EN EL HOMBRE, A ANORMALIDADES PATOLÓGICAS. EL COLESTEROL SE DEPOSITA CON FRECUENCIA EN EL SISTEMA VASCULAR, ESTADO, QUE SE CONOCE CON EL NOMBRE DE ATROSCLEROSIS, QUE HA SIDO DEFINIDO POR LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD COMO UNA COMBINACIÓN VARIABLE DE LAS ALTERACIONES DE LA PARTE ÍNTIMA DE LAS ARTERIAS, QUE CONSISTE EN LA ACUMULACIÓN DE LÍPIDOS, CARBOHIDRATOS COMPLEJOS, SANGRE Y SUS PRODUCTOS, TEJIDO FIBROSO Y DEPÓSITOS DE CALCIO, - ADEMÁS ASOCIADA CON ALTERACIONES DE LA MEDIA ARTERIAL. (5). LA PATOGENIA DE LA ATROSCLEROSIS EN EL HOMBRE, NO SE HA ESTABLECIDO DEFINITIVAMENTE. FACTORES GENÉTICOS HORMONALES, METABÓLICOS Y DIETÉTICOS HAN SIDO INVOLUCRADOS TODOS EN ALGÚN GRADO. HAY -

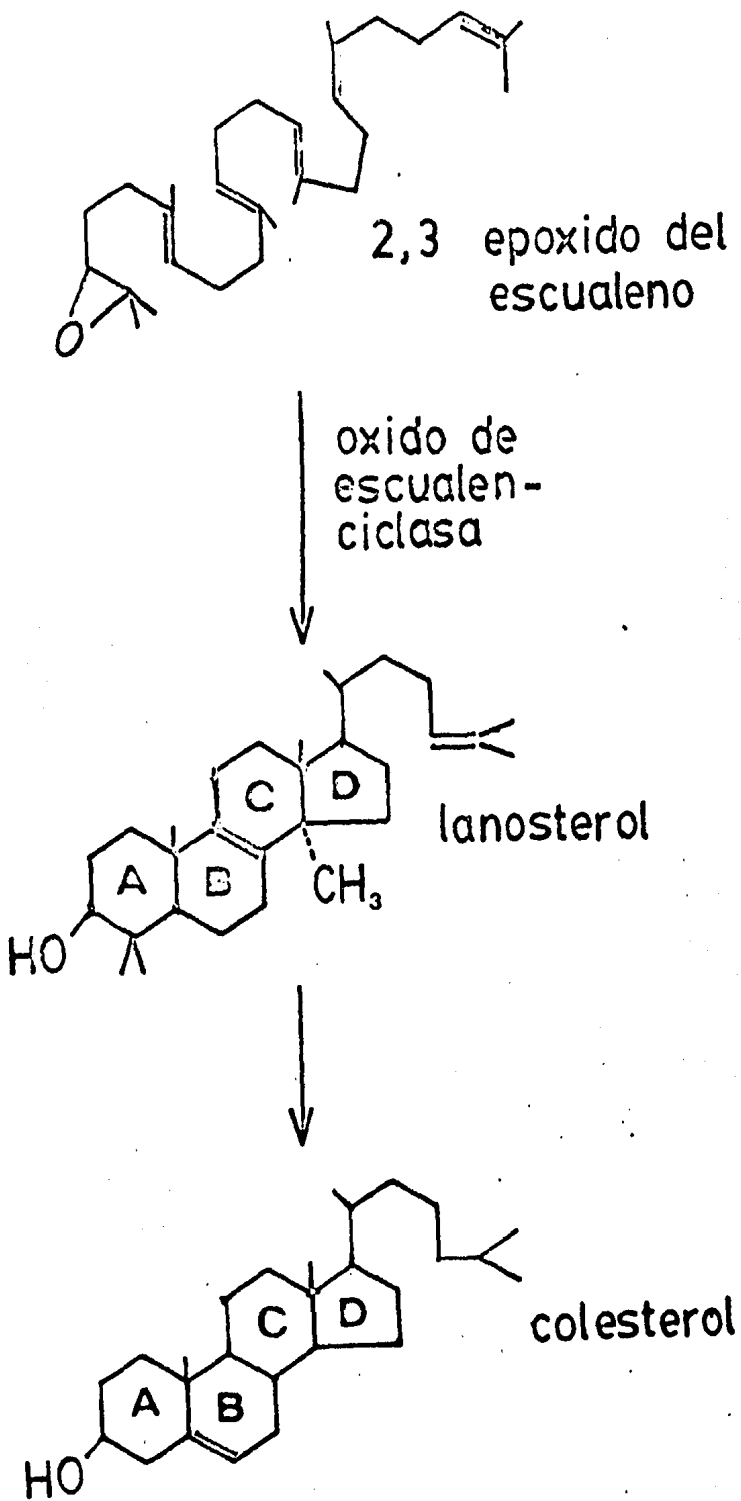


FIGURA 5

UN GRAN NÚMERO DE PRUEBAS CIRCUNSTANCIALES QUE SUGIEREN QUE LA ELEVACIÓN DE LOS LÍPIDOS DEL SUERO ES UN FACTOR CONTRIBUYENTE. LOS ESTUDIOS EPIDEMIOLÓGICOS A LARGO PLAZO HAN ESTABLECIDO QUE LOS NIVELES ELEVADOS DE COLESTEROL EN EL SUERO SON UN FACTOR DEFINIDO DE RIESGO EN EL DESARROLLO DE LA ENFERMEDAD CARDÍACA CORONARIA. TAMBIÉN DEBE HACERSE ÉNFASIS, SIN EMBARGO, EN QUE PRÁCTICAMENTE NO HAY PRUEBAS DIRECTAS DE QUE BAJANDO EL NIVEL DE LÍPIDOS DEL SUERO SE MODIFIQUE EN ALGUNA FORMA EL PROGRESO DE LA ATROSCLEROSIS O SE MEJORE EL PRONÓSTICO EN LOS PACIENTES DE ESTA ENFERMEDAD.

LA PRUEBA DE CUALQUIER RELACIÓN CAUSAL ENTRE HIPERLIPEMIA Y -- ATROSCLEROSIS SE BASA EN VARIOS PUNTOS. PRIMERO, HAY NOTORIA CORRELACIÓN ENTRE LA COMPOSICIÓN DE LOS LÍPIDOS DE LA PLACA -- INICIAL Y LA DEL PLASMA SANGUÍNEO. LOS LÍPIDOS DEL SUERO CIRCULAN COMO COMPONENTES DE LAS LIPOPROTEÍNAS, TANTO LIPOPROTEÍNAS DE BAJA DENSIDAD COMO DE ALTA DENSIDAD SE HAN AISLADO DE LA ÍNTIMA HUMANA. SE HA DEMOSTRADO QUE LIPOPROTEÍNAS QUE CONTIENEN COLESTEROL RADIOACTIVO PENETRAN LA PARED DE LA AORTA -- DEL PERRO IN VIVO. TAMBIÉN SE DEMOSTRÓ QUE EL COLESTEROL RADIOACTIVO ADMINISTRADO, TANTO A CONEJOS COMO AL HOMBRE, APARECÍA EN LAS LIPOPROTEÍNAS CIRCULANTES Y EN LA AORTA (5).

LAS MOLÉCULAS DE LIPOPROTEÍNAS VARÍAN DE TAMAÑO Y DE COMPOSICIÓN Y PUEDEN FRACCIONARSE POR MÉTODOS DE PRECIPITACIÓN, ELECTROFORESIS, O ULTRACENTRIFUGACIÓN EN SOLUCIONES DE DENSIDAD RÍGIDAMENTE CONTROLADA. LAS DOS CLASES MÁS GENERALES SE DESIGNAN COMO α - Y β - LIPOPROTEÍNAS. LAS PARTÍCULAS DE α -LIPOPROTEÍNAS TIENEN UN PESO MOLECULAR, ESTIMADO, DE 200 000 Y SE CREE QUE SON ELIPSOIDES. SE SUPONE QUE LAS PARTÍCULAS DE β - LIPOPROTEÍNAS SON ESFERAS DE PESO MOLECULAR DE 1 300 000.

LAS α - Y β - LIPOPROTEÍNAS PUEDEN TODAVÍA SUBFRACCIONARSE - PARA DAR FRACCIONES IDENTIFICABLES DE DIFERENTE COMPOSICIÓN.

LAS β - LIPOPROTEÍNAS NORMALMENTE TRANSPORTAN DEL 65 AL 75% DEL COLESTEROL DEL SUERO Y MUY A MENUDO SE OBSERVA ELEVACIÓN -- DE LAS β - LIPOPROTEÍNAS O DEL COLESTEROL DE LAS β - LIPOPROTEÍNAS EN ATROSCLEROSIS EXPERIMENTAL DE LOS ANIMALES O EN LAS ENFERMEDADES QUE CONDUCCN A LA ATROSCLEROSIS EN EL HOMBRE.

EL DESTINO DEL COLESTEROL EN EL CUERPO, INCLUYE SU CONVERSIÓN - EN ÁCIDOS BILIARES, EXCRESIÓN FECAL (COMO COLESTEROL Y COMO UN DERIVADO HIDROGENADO, COMO EL COPROSTÁNOL), TRANSFORMACIÓN EN OTRAS HORMONAS ESTEROIDES, COMO LAS HORMONAS ADRENOCORTICALES O GONADALES Y, FINALMENTE, EL DEPÓSITO EN VARIOS TEJIDOS. SE HA ESTIMADO QUE EL HOMBRE SINTETIZA ENTRE 1.5 A 2.0 G. DE COLESTEROL DIARIAMENTE Y QUE EL 70 AL 90% DEL ESTEROL SINTETIZADO ENDÓGENAMENTE SE CONVIERTE EN ÁCIDOS BILIARES (5).

EL EFECTO DEL COLESTEROL DE LA DIETA SOBRE LOS NIVELES DE COLESTEROL DEL SUERO EN EL HOMBRE, HA SIDO OBJETO DE UNA CONTINUA -- CONTROVERSIA. BASADOS EN EL TIPO DE EXPERIMENTO Y LA FORMA EN QUE SE ADMINISTRA EL COLESTEROL, ALGUNOS INFORMES HAN INDICADO QUE LA INGESTIÓN DIETÉTICA DE ESTE ESTEROL NO INFLUYE EN LOS NIVELES DE COLESTEROL DEL SUERO, MIENTRAS QUE OTROS HAN AFIRMADO QUE EL COLESTEROL DE LA DIETA ES VERDADERAMENTE IMPORTANTE. SI EL COLESTEROL DE LA DIETA ES IMPORTANTE EN LA ELEVACIÓN DE LOS NIVELES DEL SUERO, ENTONCES LA INHIBICIÓN DE SU ABSORCIÓN ES UN MÉTODO ESENCIAL DE CONTROL.

EN 1952 SE ENCONTRÓ QUE LOS ESTEROLES DE SOYA MEZCLADOS, EVITA-

BAN LA HIPERCOLESTEREMIA Y ATROSCLEROSIS DE LOS POLLOS CUANDO SE AGREGABAN A UNA DIETA RICA EN COLESTEROL, (5). TAMBIÉN SE DEMOSTRÓ QUE EL β - SITOSTEROL PURO, EL ESTIGMASTEROL Y EL ERGOSTEROL ERAN EFICACES PARA PREVENIR LA HIPERCOLESTEREMIA EN POLLOS ALIMENTADOS CON COLESTEROL. LOS ESTEROLES DE SOYA ACTÚAN INHIBIENDO LA ABSORCIÓN DEL COLESTEROL, COMO MUESTRA LA REDUCCIÓN DE LA APARICIÓN DE RADIOACTIVIDAD EN LA LINFA, DESPUÉS DE ADMINISTRAR COLESTEROL MARCADO. TODOS LOS ESTEROLES VEGETALES SE ABSORBEN EN CIERTO GRADO, PERO NINGUNO AFECTA LA BIOSÍNTESIS DEL COLESTEROL, (5).

EL MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS ESTEROLES VEGETALES NO ES CLARO, PERO LA MEJOR PRUEBA INDICA QUE RETARDAN LA ABSORCIÓN INTESTINAL DEL COLESTEROL, COMPITIENDO POR LOS SITIOS DE ESTERIFICACIÓN. SE HA OBSERVADO TAMBIÉN AUMENTO DE LA EXCRECIÓN FECAL DEL ESTEROIDE, SE ATRIBUYE EL BLOQUEO A ESPECIFICIDAD EN LA FORMACIÓN DE COMPLEJOS DE LIPOPROTEÍNAS, LO CUAL, SE CREE, ES UN PROCESO OBLIGADO EN LA TRANSFERENCIA DE ESTEROLES DE LA LUZ INTESTINAL A LA MUCOSA.

SOBRE LA PREMISA DE QUE EL COLESTEROL ENDÓGENO ES EL CONTRIBUYENTE PRINCIPAL DE LA CONCENTRACIÓN DE COLESTEROL DEL SUERO LA INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS POR MEDIOS FARMACOLÓGICOS PARECE OFRECER UNA MANERA IDEAL DE CONTROLAR LOS NIVELES DE COLESTEROL. SIN EMBARGO, PARA SER COMPLETAMENTE EFICAZ, UN INHIBIDOR DE LA SÍNTESIS DE COLESTEROL DEBERÍA ACTUAR SOBRE EL PRIMER PASO QUE LE ES EXCLUSIVAMENTE CARACTERÍSTICO, ES DECIR, EN LA FORMACIÓN DEL ÁCIDO MEVALÓNICO. EL AYUNO, EL SUMINISTRO DE COLESTEROL, LA IRRADIACIÓN CON RAYOS X, AFECTAN LA BIOSÍNTESIS DEL COLESTEROL EN EL PASO DE ÁCIDO MEVALÓNICO, (5). ADEMÁS UN INHIBIDOR IDEAL DE LA BIOSÍNTESIS NO DEBE INTERFERIR CON LA PRODUCCIÓN FI

SIOLÓGICA DE LAS SUSTANCIAS NECESARIAS DEL METABOLISMO DEL COLESTEROL, ÁCIDOS BILIARES Y HORMONAS ESTEROIDES.

TRANSFORMACION DE COLESTEROL A COPROSTANOL

LA CONVERSIÓN DE COLESTEROL A COLESTANOL Y COPROSTANOL HA SIDO ESTUDIADO PARA DEFINIR EL MECANISMO DE ESTA TRANSFORMACIÓN (9, 20, 21). EXISTEN DOS PRINCIPALES HIPÓTESIS QUE SE HAN POSTULADO PARA EXPLICAR ESTA REACCIÓN: 1) UNA REDUCCIÓN ESTEREOESPECÍFICA DIRECTA EN EL DOBLE ENLACE, PRESUMIBLEMENTE POR MICROORGANISMOS INTESTINALES Y 2) UNA CONVERSIÓN EN TRES PASOS, EN DONDE INTERVIENEN LOS INTERMEDIARIOS Δ^4 COLESTEN - 3 - ONA Y COLESTAN - 3 - ONA. EL COLESTEROL ES CIERTAMENTE ABSORBIDO, PERO EL COLESTANOL Y EL COPROSTEROL NO LO SON, LA VÍA DE ABSORCIÓN DEL COLESTEROL ES LA LINFÁTICA, Y ALREDEDOR DEL 50% DEL COLESTEROL ABSORBIDO ES ESTERIFICADO; LA MAYOR PARTE DEL COLESTEROL SE ENCUENTRA EN EL PLASMA EN FORMA DE ÉSTERES DE ÁCIDOS GRASOS.

EL SUSTRATO ESPECÍFICO ES UNA ESTERASA INTESTINAL QUE JUEGA UN PAPEL IMPORTANTE EN LA HABILIDAD DE ABSORBER ESTEROIDES HIDROXILADOS. LA MUCOSA INTESTINAL CONTIENE UNA ESTEROL DESHIDROGENASA QUE CATALIZA LA CONVERSIÓN DE COLESTEROL A 7 - DIHIDROCOLESTEROL.

EL COLESTEROL EN EL PLASMA ESTÁ EN CONCENTRACIÓN MAYOR QUE EN OTROS ANIMALES, PERO ES POCO ABSORBIDO Y MUCHO DE EL EXCRETADO POR LAS HECE. ALGO DEL COLESTEROL FECAL ES DERIVADO DEL MATERIAL SECRETADO EN EL TRACTO GASTROINTESTINAL POR LA BILIS; EL OTRO ESTEROIDE EN HECE FECALES ES EL COPRESTANOL, FORMADO POR LA ACCIÓN DE BACTERIAS INTESTINALES SOBRE EL COLESTEROL, (9) --

VÍA Δ^4 COLESTENONA, ESTOS MICROORGANISMOS HAN SIDO IDENTIFICADOS, SIN EMBARGO, LA Δ^4 COLESTENONA NO ES UN INTERMEDIARIO OBLIGADO Y EL COLESTEROL PROBABLEMENTE ES REDUCIDO DIRECTAMENTE, DE UNA FORMA ESTEREOESPECÍFICA A COPROSTANOL, (FIG. 6).

ES PROBABLEMENTE QUE EL COLESTANOL SEA FORMADO EN LOS TEJIDOS - POR UNA REDUCCIÓN ESTEREOESPECÍFICA DE Δ^4 COLESTENONA ABSORBIDA, ESTA CETONA NO ES CONVERTIDA A COLESTANOL DIRECTAMENTE, SINO QUE EXISTE UN INTERMEDIARIO QUE ES UNA CETONA SATURADA, LA - COLESTEN - 3 - ONA. (FIG. 6).

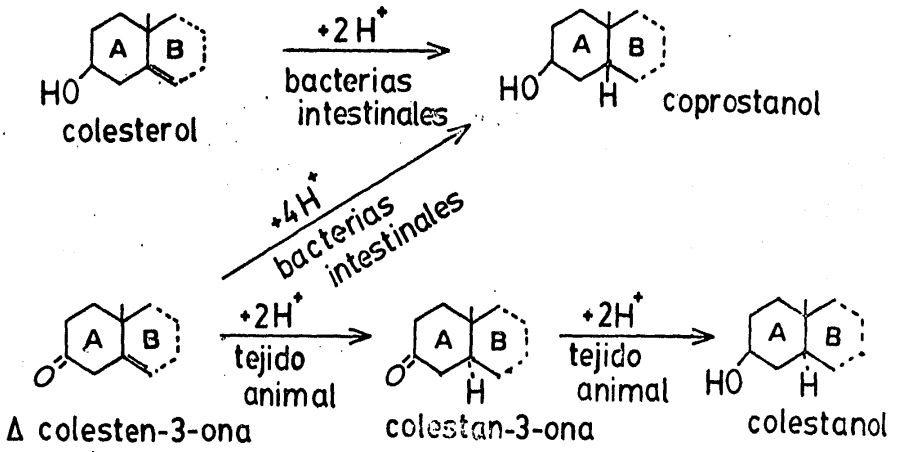


FIGURA 6

GENERALIDADES

LA CROMATOGRAFÍA ES UN PROCESO DE SEPARACIÓN, BASADO EN LAS DIFERENTES VELOCIDADES DE MIGRACIÓN DE LAS SUSTANCIAS AL INTERACCIONAR ENTRE UNA FASE ESTACIONARIA, NORMALMENTE DE GRAN ÁREA DE CONTACTO Y UNA FASE MÓVIL.

HISTORIA

EN EL AÑO DE 1900 D.T. DAY PRESENTÓ UN TRABAJO EN EL PRIMER CONGRESO INTERNACIONAL DEL PETROLEO, EN EL CUAL DEMOSTRÓ QUE AL PASAR FRACCIONES DE UN CRUDO A TRAVÉS DE TIERRA FULLER, SE PODÍAN SEPARAR LAS DISTINTAS FRACCIONES; PERO DAY INTERPRETÓ EQUIVOCAMENTE LAS BASES FISCOQUÍMICAS DE LA SEPARACIÓN, CONSIDERÁNDO LA COMO UN PROCESO DE DIFUSIÓN CAPILAR, (4).

POSTERIORMENTE M.S. TSWETT, EN 1906, REALIZÓ INVESTIGACIONES EN LAS CUALES PROBÓ UN GRAN NÚMERO DE SOLVENTES PARA EXTRAER PIGMENTOS VEGETALES Y MÁS DE CIENTO SUSTANCIAS SÓLIDAS CAPACES DE RETARDAR SELECTIVA E INDIVIDUALMENTE A LOS PIGMENTOS POR UN FENÓMENO DE ADSORCIÓN, A ESTA TÉCNICA LE LLAMÓ CROMATOGRAFÍA (CHROMA = COLOR Y GRAPHE = ESCRITURA), PERO EL MISMO TSWETT ENFATIZÓ QUE ESTA TÉCNICA ES APLICABLE TANTO A SUSTANCIAS COLORIDAS COMO A INCOLORAS Y QUE LA SEPARACIÓN SE PRODUCE MEDIANTE FENÓMENOS DE ADSORCIÓN. (4).

LOS TRABAJOS DE TSWETT NO TUVIERON MUCHO EFECTO EN EL CAMPO DE ANÁLISIS, YA QUE ENTONCES NO SE LES ENCONTRÓ MUCHA APLICACIÓN.

TUVIERON QUE PASAR 25 AÑOS PARA QUE KUHN, APLICANDO EL MÉTODO DE TSWETT, LOGRARA LA SEPARACIÓN DE CAROTENOS Y XANTÓFILAS DE YEMA DE HUEVO, (4).

EN 1941 A.J.P. MARTIN Y R.L.M. MARTIN DESCUBRIERON LA CROMATO--GRAFÍA DE PARTICIÓN Y DEMOSTRARON SU USO EMPLEANDO UN LÍQUIDO -- COMO FASE MÓVIL. POSTERIORMENTE MARTIN Y JAMES (1951) EFECTUA--RON TRABAJOS PARA SEPARAR ÁCIDOS GRASOS, INTRODUCIENDO UN GAS -- COMO FASE MÓVIL, DETERMINANDO LAS FRACCIONES ELUÍDAS POR TITULA--CIÓN.

EN EL MISMO AÑO D.H. DESTY Y N.H. RAY REALIZARON LA SEPARACIÓN DE HIDROCARBUROS EMPLEANDO UN DETECTOR DE CONDUCTIVIDAD TÉRMICA. DURANTE LOS SIGUIENTES AÑOS ESTA NUEVA TÉCNICA DE ANÁLISIS SE -- UTILIZÓ PARA RESOLVER GRAN CANTIDAD DE PROBLEMAS, PROPICIANDO -- QUE EN 1955 APARECIERA EL PRIMER INSTRUMENTO COMERCIAL. A PAR--TIR DE ESE MOMENTO LA CROMATOGRFÍA DE GASES, TAMBIÉN LLAMADA -- CROMATOGRFÍA EN FASE DE VAPOR, CFV, EXPERIMENTÓ UN GRAN DESA--RROLLO Y DEMOSTRÓ SER UNA TÉCNICA ANALÍTICA DE GRAN VALOR EN LA RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS, TANTO DE RUTINA COMO DE INVESTIGACIÓN, GRACIAS A SU SENSIBILIDAD, VELOCIDAD, EXACTITUD Y SIMPLICIDAD, LO CUAL PERMITE LA IDENTIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS VOLATILIZABLES, EN UN TIEMPO RELATIVAMENTE CORTO.

SISTEMA CROMATOGRFICO

LAS ARTES BÁSICAS DE UN CROMATÓGRAFO DE GASES SON:

- 1.- UN CILINDRO DE GAS PORTADOR
- 2.- UN PUERTO DE INYECCIÓN

- 3.- COLUMNA
- 4.- DETECTOR
- 5.- REGISTRADOR

ADEMÁS DE UN CONTROLADOR DE FLUJO DE GAS, UN REGULADOR DE PRESIÓN, Y TERMOSTATOS PARA EL INYECTOR, COLUMNA Y DETECTOR, (Fig. 7).

EN LA CROMATOGRFÍA GAS-LÍQUIDO (CGL), LOS COMPONENTES, PARA SER SEPARADOS, SON ACARREADOS POR UN GAS INERTE (GAS PORTADOR) A TRAVÉS DE LA COLUMNA. LA MUESTRA PRESENTA UN PROCESO DE PARTIÇÃO ENTRE EL GAS PORTADOR Y UN DISOLVENTE NO VOLÁTIL (FASE ESTACIONARIA O FASE LÍQUIDA) QUE ESTÁ RECUBRIENDO A UN SÓLIDO INERTE DE PARTÍCULA UNIFORME (SOPORTE). EL DISOLVENTE SELECTIVO RETARDA LOS COMPONENTES DE LA MUESTRA, DE ACUERDO A SU COEFICIENTE DE DISTRIBUCIÓN, HASTA QUE SON SEPARADOS POR MEDIO DEL GAS PORTADOR. ÉSTOS COMPONENTES SON LLEVADOS A TRAVÉS DE LA COLUMNA EN LA CORRIENTE DEL GAS Y SON REGISTRADOS EN FUNCIÓN DEL TIEMPO, POR UN DETECTOR.

GAS PORTADOR

LAS CARACTERÍSTICAS QUE DEBE TENER UN GAS PARA SER EMPLEADO EN LA CROMATOGRFÍA DE GASES SON:

- 1) INERTE, PARA EVITAR INTERACCIONES CON LA MUESTRA O LOS DISOLVENTES
- 2) CAPAZ DE MINIMIZAR LA DIFUSIÓN GASEOSA
- 3) FÁCIL DE OBTENER

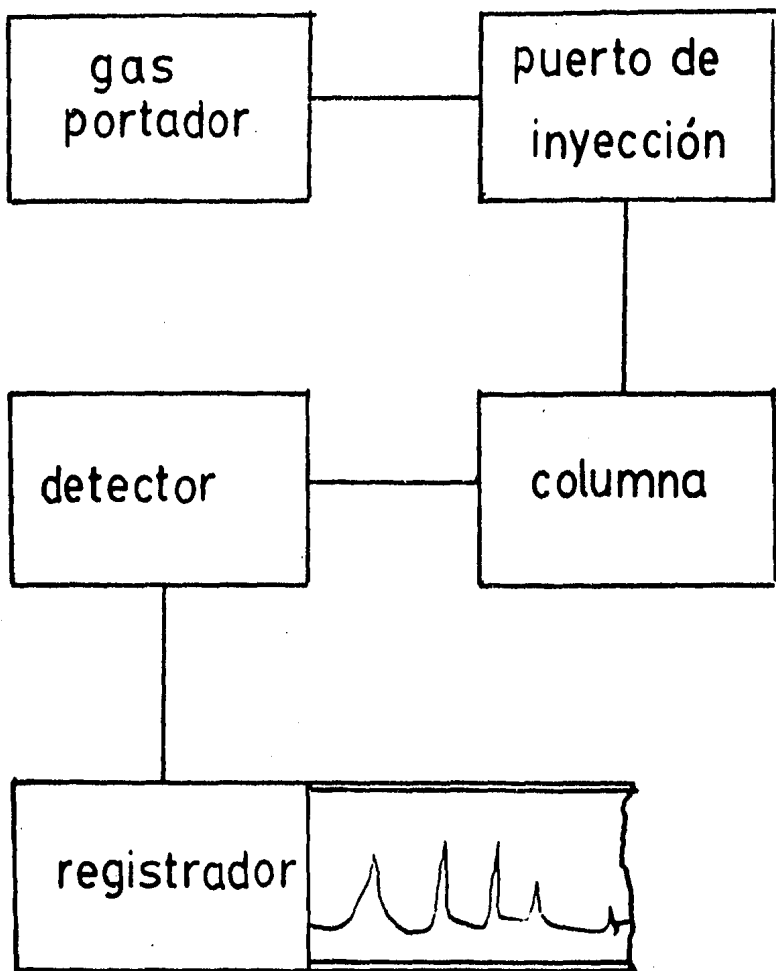


FIG. 7 Sistema cromatográfico

- 4) CON UN ALTO GRADO DE PUREZA
- 5) APROPIADO AL DETECTOR USADO
- 6) DE BAJO COSTO

LA EFICIENCIA DE LA COLUMNA DEPENDE DE LO APROPIADO QUE SEA LA VELOCIDAD LINEAL PROMEDIO. EL FLUJO ÓPTIMO PUEDE SER DETERMINADO FÁCILMENTE ELABORANDO UNA CURVA DENOMINADA DE VAN DEEMTER -- (ALTURA EQUIVALENTE DEL PLATO TEÓRICO, HETP VS. VELOCIDAD LINEAL PROMEDIO, u). EL FLUJO MÁS EFICIENTE ES AQUEL EN QUE SE ENCUENTRA LA MENOR ALTURA DE HETP O EL NÚMERO MÁXIMO DE PLATOS TEÓRICOS, N . (FIG. 8).

PUERTO DE INYECCIÓN

EN EL PUERTO DE INYECCIÓN SE VA A VAPORIZAR LA MUESTRA PARA QUE EL GAS PORTADOR LA INTRODUZCA A LA COLUMNA Y SE LLEVE A CABO LA SEPARACIÓN.

EL PUERTO DE INYECCIÓN DEBE ESTAR A UNOS 30 - 40 °C ARRIBA DE LA TEMPERATURA DE LA COLUMNA PARA EVITAR CONDENSACIONES Y POR LO TANTO, EVITAR LA CONTAMINACIÓN DEL PUERTO DE INYECCIÓN.

PARA EVITAR ESTAS CONTAMINACIONES, ACTUALMENTE SE ESTÁ INTRODUCIENDO LA TÉCNICA DE INYECCIÓN EN LA COLUMNA, (18), ESTA TÉCNICA INTRODUCE LA MUESTRA DIRECTAMENTE A LA COLUMNA SIN UNA ANTERIOR VAPORIZACIÓN Y OFRECE LAS SIGUIENTES VENTAJAS SOBRE EL MÉTODO CONVENCIONAL DE VAPORIZACIÓN:

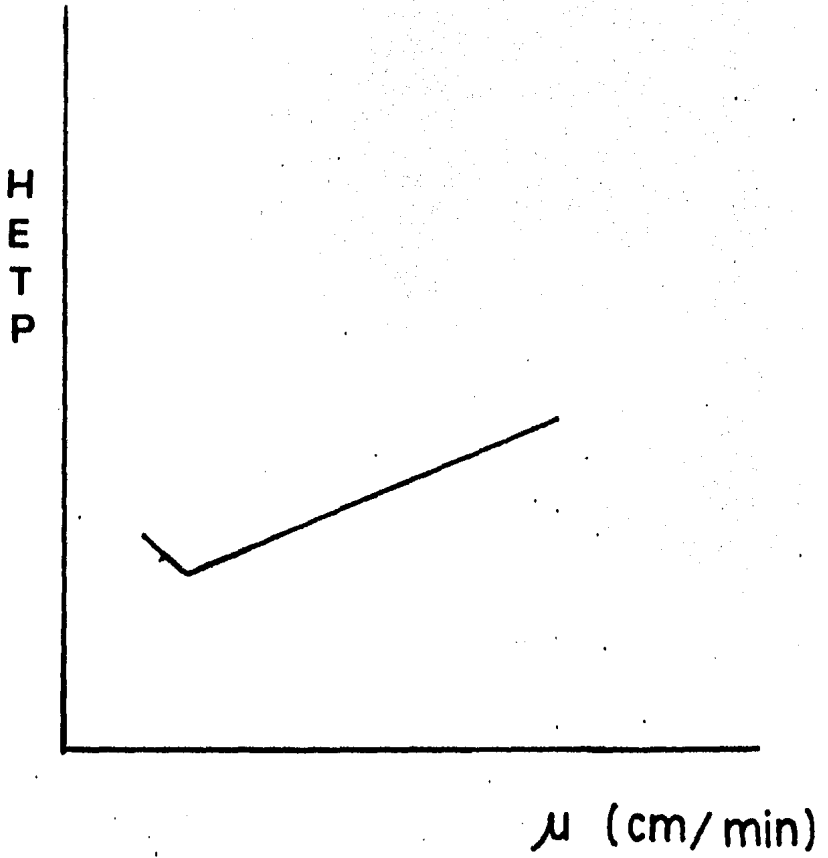


FIG.8 - CURVA DE VAN DEEMTER

- 1) NO OCURRE DESCRIMINACIÓN DE LA MUESTRA POR EFECTOS DE LOS RESTRICTORES.
- 2) SE EVITA LA DESCOMPOSICIÓN DE LA MUESTRA POR -- EFECTOS TÉRMICOS Y CATALÍTICOS.
- 3) BRINDA GRAN PRECISIÓN ANALÍTICA.
- 4) EXCELENTE CUANTIFICACIÓN DE SOLUTOS INDIVIDUALMENTE.
- 5) NO SE NECESITA GRAN CANTIDAD DE SOLVENTE.

COLUMNA

LA COLUMNA ES LA PARTE MÁS IMPORTANTE DEL CROMATÓGRAFO, YA QUE EN ELLA SE REALIZA LA SEPARACIÓN DE LOS COMPONENTES DE LA MUESTRA PROBLEMA. EN CROMATOGRAFÍA GAS-LÍQUIDO (CGL), EXISTEN DOS TIPOS DE COLUMNAS: LAS COLUMNAS EMPACADAS Y LAS COLUMNAS CAPILARES, (4, 16, 18, 22).

EN LAS COLUMNAS EMPACADAS, EL SOPORTE ES IMPREGNADO POR LA FASE LÍQUIDA Y, CON ESTA MEZCLA ES RELLENADA LA COLUMNA, QUE PUEDE SER DE MUY DIVERSOS MATERIALES, COMO SON: VIDRIO, ACERO INOXIDABLE, COBRE, NIQUEL, TEFLÓN, DEPENDIENDO DEL TIPO DE ANÁLISIS QUE SE DESEE EFECTUAR.

EXISTEN DOS TIPOS DE COLUMNAS CAPILARES: LAS LLAMADAS DE ---- GOLAY Ó WCOT, SIGLAS EN INGLÉS DE "WALL COATED OPEN TUBULAR" Y LAS LLAMADAS PLOT Ó SCOT, SIGLAS EN INGLÉS DE "POROUS LAYER -- OPEN TUBULAR" Y "SUPPORT COATED OPEN TUBULAR", RESPECTIVAMENTE. EN LAS COLUMNAS WCOT, LA FASE LÍQUIDA ES DEPOSITADA DIRECTAMENTE A LAS PAREDES DEL TUBO, SIN QUE TENGA ALGUNA SUSTANCIA QUE PUEDA SER LLAMADA SOPORTE.

EN LAS COLUMNAS PLOT Ó SCOT LA COLUMNA CONTIENE UN SOPORTE CON UN TAMAÑO DE PARTÍCULA MUY PEQUEÑO, GENERALMENTE ALÚMINA O SÍLICA, RECUBIERTO DE FASE LÍQUIDA.

RETENCIÓN RELATIVA () - ES LA DISTANCIA ENTRE LOS MÁXIMOS DE DOS PICOS Y ESTÁ EXPRESADA POR EL FACTOR DE SEPARACIÓN PARA -- ESOS DOS PICOS EN UNA COLUMNA PARTICULAR, Y ESTÁ EXPRESADA POR:

$$\alpha = \frac{TR_2}{TR_1}$$

DONDE: TR_2 ES EL TIEMPO DE RETENCIÓN DEL SEGUNDO PICO DE INTERÉS

TR_1 ES EL TIEMPO DE RETENCIÓN DEL PRIMER PICO DE INTERÉS

EFICIENCIA - LA EFICIENCIA DE LA COLUMNA ES UNA MEDIDA DEL NÚMERO DE PLATOS TEÓRICOS POR LONGITUD DE COLUMNA, Y ESTÁ EXPRESADA POR:

$$N = 16 \left(\frac{TR}{WB} \right)^2 = 5.54 \left(\frac{TR}{WH} \right)^2$$

DONDE: N ES EL NÚMERO DE PLATOS TEÓRICOS
 TR TIEMPO DE RETENCIÓN DEL PICO DE INTERÉS
 WB ANCHO DE LA BASE EN LA BASE
 WH ANCHO DE LA BASE A LA MITAD DE LA ALTURA

EL GRADO DE SEPARACIÓN DE DOS COMPONENTES, ES UNA FUNCIÓN DEL -
 NÚMERO TOTAL DE PLATOS TEÓRICOS EN LA COLUMNA; SIN EMBARGO, LA
 EFICIENCIA DE LA COLUMNA PUEDE SER EXPRESADA POR LA ALTURA EQUI-
 VALENTE DE PLATO TEÓRICO (HETP), QUE ES EXPRESADA POR LA LONGI-
 TUD DE LA COLUMNA, L, EN CENTÍMETROS, ENTRE EL NÚMERO DE PLATOS
 TEÓRICOS, N.

$$\text{HETP} = \frac{L}{N}$$

RESOLUCIÓN - ES LA SEPARACIÓN REAL DE DOS PICOS ADYACENTES Y -
 ES UNA MEDIDA ENTRE LA EFICIENCIA Y LA SELECTIVIDAD, ESTÁ DEFI-
 NIDA POR:

$$R = \frac{2 (TR_2 - TR_1)}{W_2 - W_1}$$

DONDE: TR_2 Y TR_1 SON LOS TIEMPOS DE RETENCIÓN DE LOS PI-
 COS DE INTERÉS

W_2 Y W_1 SON LOS ANCHOS DE LAS BASES EN LAS BASES
 DE LOS PICOS DE INTERÉS

CUANDO LA RESOLUCIÓN ES MAYOR O IGUAL A 1.5 EXISTE UNA SEPARA-
 CIÓN COMPLETA.

SOPORTE - EL PROPÓSITO PRIMARIO DEL SOPORTE, ES PROVEER UNA SU-
 PERFICIE DONDE SE DEPOSITE LA FASE LÍQUIDA; IDEALMENTE EL SOPOR

TE NO DEBE INTERACCIONAR CON LA MUESTRA, PERO ÉSTO NO SUCEDE -- EN ALGUNOS CASOS.

SE NECESITA QUE EL SOPORTE TENGA UNA BUENA ESTRUCTURA POROSA, - CON UN TAMAÑO DE PORO DEL ORDEN DE 1 MICRA, PUES SI EL PORO ES MUY GRANDE, LA FASE LÍQUIDA VA A LLENAR EL PORO EN LUGAR DE RECUBRIR LAS PAREDES Y NO HAY BUENA SEPARACIÓN, (FIG. 9), TAMBIÉN SE REQUIERE QUE EL SOPORTE SEA QUÍMICAMENTE PURO, QUE TENGA UNA GRAN SUPERFICIE DE ÁREA POR UNIDAD DE VOLUMEN, TÉRMICAMENTE ESTABLE Y RESISTENTE AL MANEJO MECÁNICO, (4,22).

EL SOPORTE MÁS COMUNMENTE EMPLEADO ES LA TIERRA DE DIATOMACEAS QUE CONSISTE EN EL ESQUELETO DE ALGAS SIMPLES LLAMADAS DIATOMACEAS FORMADAS POR SILICO-ALUMINATOS.

UNA DE LAS CARACTERÍSTICAS QUE PUEDEN SER CRÍTICAS EN LA SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA, ES LA DENSIDAD DE LOS SOPORTES, PUES SI LA DENSIDAD DE LOS SOPORTES VARÍA DE LOTE A LOTE, ES IMPOSIBLE OBTENER TIEMPOS DE RETENCIÓN COMPARABLES DE COLUMNA A COLUMNA Y EN ALGUNOS CASOS ES IMPOSIBLE OBTENER BUENAS SEPARACIONES.

PARA EVITAR QUE EL SOPORTE NO PRESENTE UNA ABSORCIÓN DE LA MUESTRA, SE ELIMINAN SUS SITIOS ACTIVOS CON UN TRATAMIENTO ÁCIDO O BÁSICO, ADEMÁS DE AGREGARLE UN COMPUESTO SILANIZANTE ANTES DE RECUBRIRLO CON LA FASE LÍQUIDA.

FASE LÍQUIDA - EN LA APLICACIÓN PRÁCTICA DE LA CGL LA SELECCIÓN DE LA MEJOR FASE LÍQUIDA PARA UN PROBLEMA DE SEPARACIÓN, ES FUN-

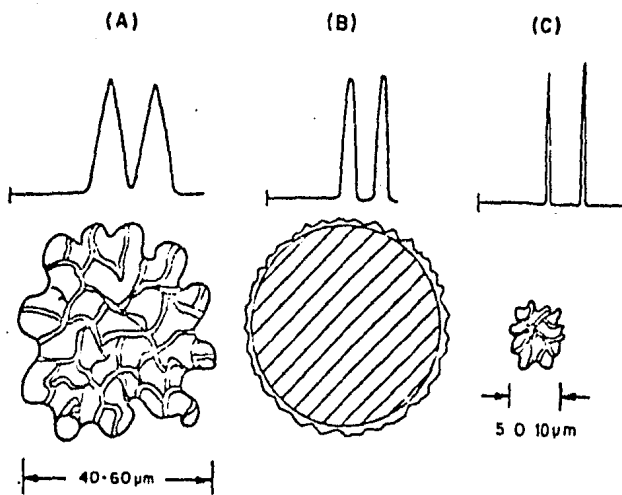


FIGURA 9

DIVERSOS TIPOS DE SOPORTES EMPLEADOS EN CROMATOGRAFIA

DAMENTAL. NORMALMENTE UNA FASE LÍQUIDA DEBE REUNIR LOS SIGUIENTES REQUISITOS:

- 1) SER UN BUEN DISOLVENTE PARA LOS COMPONENTES DE LA MUESTRA.
- 2) NO SER VOLÁTIL, UNA PRESIÓN DE VAPOR DE 0.01 A 0.1 MM. A TEMPERATURA DE OPERACIÓN.
- 3) TÉRMICAMENTE ESTABLE.
- 4) QUÍMICAMENTE INERTE A LOS SOLUTOS QUE SE ANALIZAN.

LA ELECCIÓN DE LA FASE LÍQUIDA, DEPENDE DE LA COMPOSICIÓN DE LA MUESTRA; PARA UNA BUENA SEPARACIÓN, LA FASE LÍQUIDA DEBE SER DE COMPOSICIÓN SIMILAR A LOS COMPONENTES DE LA MUESTRA. SI LOS -- COMPONENTES DE LA MUESTRA SON DE DIFERENTES CLASES QUÍMICAS, PERO DE UN PUNTO DE EBULLICIÓN CERCANO, PUEDEN SER USADAS FASES -- LÍQUIDAS DE DIFERENTE POLARIDAD. PARA VARIAR LA POLARIDAD DE -- UN DISOLVENTE, ENTRAN EN JUEGO FUERZAS DE INTERACCIÓN QUE AFECTAN LA SEPARACIÓN, (18), ESTAS SON:

- 1.- FUERZAS COULOMBICAS - ESTAS FUERZAS EXISTEN ENTRE IONES, SE MENCIONAN PORQUE EXISTEN FASES LÍQUIDAS QUE TIENEN SALES FUNDIDAS Y SON EMPLEADAS CUANDO SE REQUIEREN ALTAS -- TEMPERATURAS.
- 2.- FUERZAS DE ORIENTACIÓN (DIPOLO-DIPOLO).
 - A) FUERZAS DE KEESOM - ES UNA ROTACIÓN LIBRE MOLECULAR - EN UN GAS, Y ESTÁ DADO POR EL PROMEDIO DE LA ENERGÍA POTENCIAL DE INTERACCIÓN ENTRE DOS MOLÉCULAS TENIENDO UN MOMENTO DIPOLO Y LA DISTANCIA ENTRE ELLAS.

B) FUERZAS DE VAN DER WALLS - ES UN TIPO ESPECIAL DE FUERZAS DE ORIENTACIÓN, YA QUE ES ESENCIALMENTE ELECTROSTÁTICA, ÉSTO DEBIDO A QUE HAY ENLACES DE HIDRÓGENO INVOLUCRADOS EN LA MOLÉCULA, Y LA CONDUCTA DE LA MOLÉCULA ESTÁ CONTROLADA POR EL ENLACE DE HIDRÓGENO.

- 3.- FUERZAS DE INDUCCIÓN (DIPOLO-DIPOLO INDUCIDO) - ESTAS FUERZAS DEPENDEN DE LO POLARIZABLE QUE SEA LA MOLÉCULA Y, RESULTAN ENTRE LA INTERACCIÓN DE UNA MOLÉCULA CON UN DIPOLO PERMANENTE Y EL DIPOLO INDUCIDO POR UN CAMPO ELÉCTRICO, DE UNA MOLÉCULA CERCANA.
- 4.- FUERZAS DE DISPERSIÓN (INTERACCIÓN DE MOLÉCULAS NO POLARES) - EXISTEN EN TODAS LAS MOLÉCULAS, Y RESULTAN DE LAS VARIACIONES SINCRÓNICAS EN EL DIPOLO INSTANTÁNEO DE DOS MOLÉCULAS EN INTERACCIÓN.
- 5.- FUERZAS ESPECÍFICAS DE INTERACCIÓN - ESTAS FUERZAS RESULTAN DE ENLACES QUÍMICOS, FORMACIÓN DE COMPLEJOS ENTRE SOLUTO Y SOLVENTE, ETC.

ESTAS FUERZAS DE INTERACCIÓN DETERMINAN LA SOLUBILIDAD Y CON ELLO LA SEPARACIÓN OBTENIDA. ÉSTOS EFECTOS COMBINADOS SON EXPRESADOS POR EL COEFICIENTE DE PARTICIÓN, K , QUE SE DEFINE COMO:

$$K = \frac{T'R}{T M}$$

DONDE: T'_R ES EL TIEMPO DE RETENCIÓN CORREGIDO.

T'_M ES EL TIEMPO MUERTO.

EL VALOR DE K ES MAYOR EN LA SUSTANCIA QUE QUEDA RETENIDA EN LA FASE LÍQUIDA.

UN REQUISITO IMPORTANTE PARA SELECCIONAR LA FASE LÍQUIDA IDEAL PARA LA SEPARACIÓN DE LA MUESTRA, ES LA CLASIFICACIÓN DE LAS FASES LÍQUIDAS, ÉSTO SE LOGRA POR MEDIO DE LOS ÍNDICES DE RETENCIÓN O DE KOVATS, (1).

EL SISTEMA DE ÍNDICES DE RETENCIÓN UTILIZA LA FAMILIA DE LAS N-PARAFINAS COMO REFERENCIA PARA IDENTIFICAR COMPUESTOS EN FUNCIÓN AL TIEMPO DE RETENCIÓN CORREGIDO, LOS ÍNDICES DE RETENCIÓN DE LAS PARAFINAS NORMALES, POR DEFINICIÓN, SON IGUAL A 100 VECES EL NÚMERO DE ÁTOMOS DE CARBONO DE LA MOLÉCULA, ÉSTA DEFINICIÓN SE APLICA PARA CUALQUIER COLUMNA, TEMPERATURA, Y EN GENERAL CUALQUIER CONDICIÓN. EN EL CASO DE OTROS COMPUESTOS, SON MUY IMPORTANTES LAS CONDICIONES, COMO SON FASE LÍQUIDA, CONCENTRACIÓN DE FASE LÍQUIDA, SOPORTE, TEMPERATURA, Y DESDE LUEGO DEBEN SER ESPECIFICADOS.

LA MANERA DE CALCULAR LOS ÍNDICES DE RETENCIÓN DE OTROS COMPUESTOS, ES LA SIGUIENTE: PRIMERO SE ESPECIFICA LA FASE LÍQUIDA, SOPORTE Y TEMPERATURA EMPLEADAS, NORMALMENTE SE EMPLEA UNA FASE LÍQUIDA NO POLAR, POR EJEMPLO, ESCUALANO, DESPUÉS SE INYECTAN LAS N-PARAFINAS Y SE OBTIENEN LOS TIEMPOS DE RETENCIÓN, POSTERIORMENTE SE INYECTA EL COMPUESTO PROBLEMA Y SE OBTIENE EL TIEMPO DE RETENCIÓN, PARA CALCULAR LOS ÍNDICES DE RETENCIÓN SE EM--

PLA LA SIGUIENTE FÓRMULA:

$$I = 100Z + \left(\frac{\text{LOG Y} - \text{LOG X}}{\text{LOG X} + 1 - \text{LOG X}} \right) 100$$

DONDE: Y = T'R DEL COMPUESTO DE INTERÉS,
 X = T'R DEL N-ALCANO QUE ELUYE ANTES DEL COMPUESTO
 DE INTERÉS,
 X+1= T'R DEL N-ALCANO QUE ELUYE DESPUÉS DEL COMPUES
 TO DE INTERÉS,
 Z = NÚMERO DE ÁTOMOS DE CARBONO DE "X".

ESTE MISMO PROCEDIMIENTO SE REPITE VARIANDO LA POLARIDAD DE LA COLUMNA Y OBTENIENDO LOS ÍNDICES DE RETENCIÓN DE LOS COMPUESTOS PROBLEMA, UNA VEZ OBTENIDOS ÉSTOS, SE SACA LA DIFERENCIA ENTRE LOS ÍNDICES DE RETENCIÓN, (ΔI), DE LA SIGUIENTE FORMA:

$$\Delta I = I \text{ POLAR} - I \text{ NO POLAR}$$

SI POR EJEMPLO, INYECTAMOS BENCENO EN LAS COLUMNAS, LA DIFERENCIA DE LOS DOS VALORES ES UNA MEDIDA DE LA POLARIDAD DE LA COLUMNA PARA HIDROCARBUROS AROMÁTICOS, EN OTRAS PALABRAS, SI LA POLARIDAD DE LA COLUMNA AUMENTA, EL TIEMPO DE RETENCIÓN PARA -- LOS HIDROCARBUROS AROMÁTICOS TAMBIÉN AUMENTA.

DETECTOR

PARA QUE UN DETECTOR PUEDA SER GENERALMENTE USADO EN LA CROMATOGRAFÍA, DEBE TENER UNA GRAN SENSIBILIDAD A LA MAYORÍA DE LAS SUSTANCIAS (A MENOS QUE SEA SELECTIVO), GRAN ESTABILIDAD TÉRMICA, UN BUEN INTERVALO LINEAL O PROPORCIONALIDAD Y DAR UNA RESPUESTA EN UN LAPSO CORTO, (4, 14, 18).

- 1.- SENSIBILIDAD - EXPRESA LA RESPUESTA A UN COMPUESTO QUE ESTÁ PASANDO A TRAVÉS DEL DETECTOR, LLEVADO POR EL FLUJO DE GAS PORTADOR, LA RESPUESTA ESTÁ EN FORMA DE UN PICO, LLAMADO PICO CROMATOGRÁFICO.
- 2.- LÍMITE DE DETECCIÓN - ES LA MÍNIMA CANTIDAD DE SUSTANCIA QUE VA A CAUSAR UNA RESPUESTA EN EL DETECTOR.
- 3.- ESTABILIDAD - DEBE TENER UNA BUENA ESTABILIDAD TÉRMICA, - CON EL FIN DE QUE LAS VARIACIONES DE TEMPERATURA NO AFECTEN LA SENSIBILIDAD.
- 4.- VERSATILIDAD - LAS COLUMNAS EN LA CROMATOGRAFÍA DE GASES PUEDEN SER PREPARADAS PARA REALIZAR SEPARACIONES DE DIFERENTES COMPUESTOS, POR LO QUE ES DESEABLE QUE EL DETECTOR NO SEA UN FACTOR LIMITANTE PARA OBTENER LA MÁXIMA UTILIDAD DE LA TÉCNICA.
- 5.- PROPORCIONALIDAD - ES DESEABLE UNA RESPUESTA LINEAL DEL DETECTOR A UN INTERVALO AMPLIO DE CONCENTRACIONES.
- 6.- TIEMPO DE RESPUESTA - LA RESPUESTA DEBE SER EN UN LAPSO -

PEQUEÑO, YA QUE LOS COMPONENTES SEPARADOS DEBEN SER DETECTADOS INDIVIDUALMENTE.

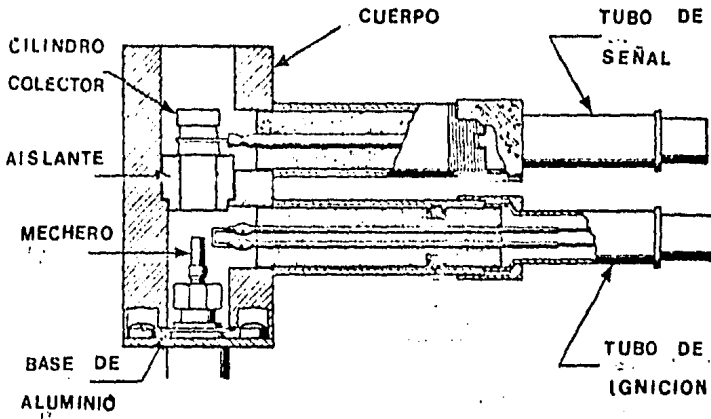
EXISTEN MUY VARIADOS TIPOS DE DETECTORES, PERO LOS MÁS UTILIZADOS SON:

- 1.- DETECTOR DE CONDUCTIVIDAD TÉRMICA - (DCT).
- 2.- DETECTOR DE IONIZACIÓN DE FLAMA - (DIF).
- 3.- DETECTOR DE CAPTURA DE ELECTRONES - (DCE).

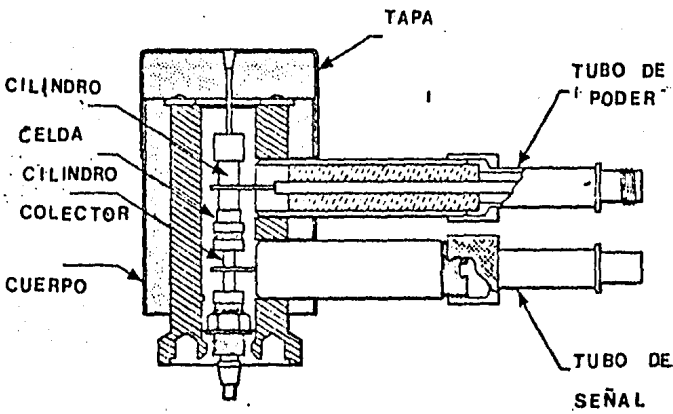
DETECTOR DE CONDUCTIVIDAD TÉRMICA - COMPARA LA CONDUCTIVIDAD TÉRMICA DE UNA MEZCLA LLEVADA POR LA CORRIENTE DE GAS PORTADOR CON LA CONDUCTIVIDAD TÉRMICA DEL GAS PORTADOR. EL HIDRÓGENO Y EL HELIO CONDUCE MUCHO MÁS EFICIENTEMENTE EL CALOR QUE OTROS GASES, POR LO QUE SON RECOMENDADOS PARA OBTENER UNA EFECTIVA CONDUCTIVIDAD TÉRMICA.

LA CELDA DE CONDUCTIVIDAD TÉRMICA CONSISTE EN UN FILAMENTO, CALENTADO AL ROJO, DENTRO DE UN BLOQUE DE METAL, Y CON UNA CORRIENTE ELÉCTRICA CONSTANTE QUE PASA A TRAVÉS DEL FILAMENTO, ESTE FILAMENTO ESTÁ CONECTADO A UN PUENTE DE WHEASTONE; LOS FILAMENTOS ESTÁN FABRICADOS POR METALES QUE RESISTAN LA CORROSIÓN Y TENGAN UN ALTO COEFICIENTE DE RESISTENCIA A LA TEMPERATURA, LOS METALES MÁS USADOS SON: PLATINO, TUNGSTENO, NÍQUEL Y ALEACIONES DE TUNGSTENO.

A ESTE DETECTOR SE LE DENOMINA UNIVERSAL, YA QUE PRESENTA RESPUESTA A TODOS LOS COMPUESTOS, YA SEAN ORGÁNICOS O INORGÁNICOS, LA SENSIBILIDAD DEL DETECTOR ES DEL ORDEN DE 100 PPM.



ESQUEMA DEL DETECTOR DE IONIZACION DE FLAMA



ESQUEMA DEL DETECTOR DE CAPTURA DE ELECTRONES

DETECTOR DE IONIZACIÓN DE FLAMA - OPERA CON EL PRINCIPIO DE QUE LA CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA DE UN GAS ES DIRECTAMENTE PROPORCIONAL A LA CONCENTRACIÓN DE PARTÍCULAS CARGADAS QUE CONTENGA LA CORRIENTE DEL GAS.

EL GAS QUE FLUYE DE LA COLUMNA, GENERALMENTE NITRÓGENO, A TRAVÉS DEL ORIFICIO DEL ELECTRODO, PASA POR UNA FUENTE DE IONIZACIÓN QUE IONIZA ALGUNAS DE LAS MOLÉCULAS PRESENTES EN LA CORRIENTE DEL GAS, LA PRESENCIA DE PARTÍCULAS CARGADAS EN EL ELECTRODO CAUSA QUE LA CORRIENTE ELÉCTRICA SE INCREMENTE, PROVOCANDO UN DESBALANCEO EN LAS RESISTENCIAS, POR LO QUE AL PASAR LA SEÑAL ELÉCTRICA AL REGISTRADOR, FORMA EL LLAMADO PICO CROMATOGRÁFICO.

EL DIF RESPONDE VIRTUALMENTE A TODOS LOS COMPUESTOS ORGÁNICOS, PERO ES "CIEGO" A COMPUESTOS INORGÁNICOS, ESTO HACE QUE EL DIF SEA UN DETECTOR SELECTIVO, Y SEA DE ESPECIAL AYUDA PARA EL ANÁLISIS DE CONTAMINANTES DEL AIRE Y DEL AGUA, MATERIALES BIOLÓGICOS, BEBIDAS ALCOHÓLICAS, ETC. EN LA ACTUALIDAD LA SENSIBILIDAD DEL DETECTOR ES DEL ORDEN DE NANOGRAMOS.

DETECTOR DE CAPTURA DE ELECTRONES - MIDE EL DESCENSO DE LA CORRIENTE ELÉCTRICA PRODUCIDA; CUANDO EL GAS PORTADOR (GENERALMENTE ARGÓN-METANO, 1:20) PASA A TRAVÉS DEL DETECTOR, COMPUESTO POR TRITIO O NÍQUEL-63, EL GAS SE IONIZA Y SON FORMADOS ELECTRONES LENTOS. ÉSTOS ELECTRONES LENTOS EMIGRAN AL ÁNODO POR UNA CELDA DE VOLTAJE, QUE TIENE UN VOLTAJE FIJO, PRODUCIENDO UNA CORRIENTE ELÉCTRICA QUE ES AMPLIADA POR UN ELECTRÓMETRO. SI LA MUESTRA CONTIENE MOLÉCULAS ÁVIDAS POR ELECTRONES, LA CORRIENTE ES REDUCIDA. ÉSTA PÉRDIDA DE CORRIENTE ES UNA MEDIDA DE LA CAN

TIDAD DE LA AFINIDAD ELECTRÓNICA DEL COMPUESTO.

EL DCE ES EXTREMADAMENTE SENSIBLE A CIERTOS COMPUESTOS, COMO -- HALOALQUILOS, CARBONILOS CONJUGADOS, NITRILOS, NITRATOS, ORGANQ METALES, PERO ES VIRTUALMENTE INSENSIBLE A HIDROCARBUROS, ALCOHOLAS, CETONAS, ETC. SU SENSIBILIDAD A LOS HALÓGENOS LO HACE -- MUY VALIOSO PARA EL ANÁLISIS DE PESTICIDAS, YA QUE DETECTA HAS-- TA PICOGRAMOS.

ANÁLISIS CUALITATIVO

LA BASE DEL ANÁLISIS CUALITATIVO EN LA CFV ES LA COMPARACIÓN -- DE LOS TIEMPOS DE RETENCIÓN DE LOS COMPUESTOS DESCONOCIDOS CON EL VALOR OBTENIDO DE UN COMPUESTO CONOCIDO, TRATADO A LAS MIS-- MAS CONDICIONES DE OPERACIÓN, YA QUE CUANDO LAS VARIABLES DE -- OPERACIÓN SON MANTENIDAS CONSTANTES, EL TIEMPO DE RETENCIÓN ES CARACTERÍSTICO DE UN COMPUESTO.

EL TIEMPO DE RETENCIÓN ES MODIFICADO POR CAMBIOS EN:

- 1.- TEMPERATURA DE LA COLUMNA.
- 2.- LA NATURALEZA DEL GAS PORTADOR Y EL FLUJO.
- 3.- ENTRADA Y SALIDA DE LA PRESIÓN DEL GAS.
- 4.- LA LONGITUD DE LA COLUMNA.
- 5.- LA COMPOSICIÓN Y NATURALEZA DE LA FASE ESTACIONARIA.
- 6.- VOLUMEN DE INYECCIÓN.

LA IDENTIFICACIÓN CROMATOGRÁFICA SE REALIZA POR DISTINTOS MÉTODOS, Y ENTRE ELLOS SE ENCUENTRAN:

DATOS DE RETENCIÓN - EL VOLUMEN DEL GAS PORTADOR REQUERIDO PARA ELUIR UN COMPONENTE EN LA COLUMNA ES LLAMADO VOLUMEN DE RETENCIÓN. BAJO CONDICIONES DE PRESIÓN CONSTANTE EL FLUJO ES LINEAL CON RESPECTO AL TIEMPO, POR LO QUE SE HABLA DE TIEMPO DE RETENCIÓN.

SERIES HOMOLOGAS O KOVATS - SI LA MUESTRA CONTIENE ALGUNOS MIEMBROS DE UNA SERIE HOMOLOGA, LA IDENTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS PUEDE SER OBTENIDA GRAFICANDO EL LOGARITMO DEL TIEMPO DE RETENCIÓN CONTRA EL NÚMERO DE ÁTOMOS DE CARBONO, NÚMERO DE GRUPOS METILO, PUNTO DE EBULLICIÓN, ETC.

EMPLEO DE CANAL DOBLE - LA COMPARACIÓN DE LA RESPUESTA DADA A LOS COMPUESTOS ANALIZADOS POR DOS DIFERENTES DETECTORES, BAJO CONDICIONES CONTROLADAS ES CARACTERÍSTICA DE ESOS COMPUESTOS. UNA MUESTRA ES INTRODUCIDA A LA COLUMNA Y AL FINAL DE ÉSTA SE ENCUENTRA UN DIVISOR DE FLUJO QUE ENVÍA LA MUESTRA A DOS DIFERENTES DETECTORES, QUE DEPENDIENDO DE SU SELECTIVIDAD NOS DARÁN UNA RESPUESTA CUALITATIVA.

TÉCNICAS NO CROMATOGRÁFICAS -

- 1.- FORMACIÓN DE DERIVADOS.
- 2.- ESPECTROSCOPÍA INFRARROJA.
- 3.- ESPECTROSCOPÍA DE MASAS.
- 4.- RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR.

ANÁLISIS CUANTITATIVO

LA MEDICIÓN CUANTITATIVA DEPENDE DEL AREA DEL PICO REGISTRADO O LA ALTURA DEL PICO Y LA RELACIÓN DE ESTAS CON LA CANTIDAD O -

CONCENTRACIÓN DEL SOLUTO EN LA MUESTRA. LA MEDICIÓN DEL ÁREA - SE LLEVA A CABO POR LAS SIGUIENTES TÉCNICAS:

- 1.- PLANIMETRÍA.
- 2.- BASE POR ALTURA A LA MITAD DE LA ALTURA.
- 3.- TRIANGULACIÓN
- 4.- CORTAR Y PESAR.
- 5.- INTEGRADOR DE DISCO.
- 6.- INTEGRADOR ELECTRÓNICO.

LA ALTURA Y EL ÁREA DE PICO CROMATOGRÁFICO NO SÓLO ES EFECTADO POR EL VOLUMEN DE INYECCIÓN, PUES HAY OTROS FACTORES QUE INFLUYEN EN LA RESPUESTA O SENSIBILIDAD DEL DETECTOR, COMO CON ---- FLUCTUACIONES DE LA CORRIENTE ELÉCTRICA, EN EL GAS PORTADOR, Y LAS TEMPERATURAS DE LA COLUMNA Y DEL DETECTOR. ÉSTAS VARIACIONES PUEDEN SER CONTROLADAS O EL EFECTO DE LA VARIACIÓN PUEDE SER ELIMINADO CON TÉCNICAS DE COMPENSACIÓN APROPIADAS, Y ÉSTAS PUEDEN SER:

NORMALIZACIÓN - SE CALCULA LA COMPOSICIÓN PORCENTUAL DEL ---- ÁREA EN CADA PICO, DIVIDIENDO LAS ÁREAS INDIVIDUALES ENTRE LA SUMATORIA DE ÁREAS.

$$\% A = \frac{\text{ÁREA DE A}}{\text{SUMA DE ÁREAS}} \times 100$$

CUANDO SE UTILIZAN SERIES HOMÓLOGAS, ÉSTE MÉTODO PUEDE SER USADO PARA CALCULAR EL POR CIENTO EN PESO.

FACTORES DE CORRECCIÓN O DE RESPUESTA. LAS ÁREAS DE LOS COMPONENTES NO SON DIRECTAMENTE PROPORCIONALES A LA COMPOSICIÓN POR-

CENTUAL EN PESO, DIFERENTES COMPUESTOS TIENEN DIFERENTE RESPUESTA DEL DETECTOR, POR LO TANTO ES NECESARIO DETERMINAR SUS FACTORES DE CORRECCIÓN. UNA VEZ CALCULADOS ESTOS FACTORES PUEDEN -- SER USADOS PARA CALCULAR LA COMPOSICIÓN PORCENTUAL. SE USA LA SIGUIENTE EXPRESIÓN:

$$\% A = \frac{\text{AREA A} / F_A}{\Sigma \text{AREAS} / \text{FACTORES}} \times 100$$

CALIBRACIÓN ABSOLUTA - SE INYECTAN CANTIDADES EXACTAS DE UNA - SUSTANCIA PURA, LOS VALORES DE LAS ÁREAS SON GRAFICADAS CONTRA EL PESO DE LA MUESTRA. ÉSTA CURVA DE CALIBRACIÓN DEBE SER LI-- NEAL Y PASAR POR EL ORIGEN (NO MUESTRA, NO RESPUESTA).

UNA CANTIDAD EXACTA DEL COMPUESTO DESCONOCIDO ES INYECTADO, EL ÁREA DEL PICO ES MEDIDO Y ES INTERPOLADO EN LA CURVA DE CALIBRA CIÓN Y CALCULADO LA CANTIDAD DE COMPUESTO PRESENTE POR MEDIO DE LA SIGUIENTE FÓRMULA:

$$\% \text{ PESO A} = \frac{\text{AREA A} \times G / A}{G, \text{ INYECTADOS}} \times 100$$

LA DESVENTAJA DE ESTE MÉTODO ES QUE SE REQUIERE CONOCER LA CAN TIDAD DE MUESTRA INYECTADA Y LA SENSIBILIDAD DEL DETECTOR DEBE SER COMPROBADA DE ANÁLISIS A ANÁLISIS PARA PODER COMPARAR LOS - RESULTADOS CON LA CURVA DE CALIBRACIÓN Y QUE ÉSTOS SEAN CONFIA BLES.

AREA DE ESTUDIO

EL ÁREA DE ESTUDIO DEL PRESENTE TRABAJO SE ENCUENTRA LIMITADA - POR LOS MUNICIPIOS DE COATZACOALCOS Y MINATITLÁN, CADA UNO DE - LOS CUALES PRESENTA CARACTERÍSTICAS PARTICULARES, SIENDO ÉSTAS:

MUNICIPIO DE COATZACOALCOS

CON UNA SUPERFICIE DE 730.41 KILÓMETROS CUADRADOS, LIMITA CON - LOS MUNICIPIOS DE PAJAPAN, CASOLEACAQUE, MINATITLÁN, IXHUATLÁN DEL SURESTE, MOLOACÁN Y LAS CHOAPAS; AL ESTE CON EL ESTADO DE - TABASCO Y AL NORTE CON EL GOLFO DE MÉXICO.

POR SER MUNICIPIO COSTERO SU SUELO PRESENTA GRANDES PLANICIES. ES IRRIGADO POR LOS RÍOS COATZACOALCOS, EL CUAL DESEMBOCA EN EL GOLFO DE MÉXICO, POR EL TONALÁ QUE SIRVE DE LÍMITE ENTRE VERA--- CRUZ Y TABASCO Y POR EL HUAZUNTLÁN AL NORTE. CUENTA ADEMÁS CON LOS ARROYOS DE TORTUGUERO Y GAVILÁN, ENTRE OTROS, Y CON LA LAGU NA DEL OSTIÓN EN EL LÍMITE CON PAJAPAN. COATZACOALCOS SE LOCA LIZA A LOS 94° 25' LONG. W. Y 18° 10' LAT. N.

MUNICIPIO DE MINATITLÁN

TIENE UNA SUPERFICIE DE 6,975 KILÓMETROS CUADRADOS, LA MAYOR -- DEL ESTADO DE VERACRUZ. LIMITA CON LOS MUNICIPIOS DE COATZA-- COALCOS, COSOLEACAQUE, ZARAGOZA, JALTIPAN, HIDALGOSTITLÁN, JE-- SÚS CARRANZA, IXHUATLÁN DEL SURESTE, MOLOACÁN, LAS CHOAPAS; EN UNA IMPORTANTE FRACCIÓN SUR CON EL ESTADO DE OAXACA Y EN UNA -- PORCIÓN PEQUEÑA CON EL ESTADO DE CHIAPAS. LA MAYOR PARTE DE SU

SUELO LO COMPONEN EXTENSAS LLANURAS, AUNQUE DESTACAN ALGUNAS ALTITUDES COMO LOS CERROS AGALAPAN Y SAN VICENTE. ES REGADO POR LOS RÍOS UXPANAPA, NANCHITAL, COACHAPAN, JUANES, SOLOSUCHIL, -- ALEGRE Y MÚLTIPLES ARROYOS, TODOS AFLUENTES DEL RÍO COATZACOALCOS. CUENTA ADEMÁS CON LAS LAGUNAS DE TORTUGUERO Y MEXCALAPAN. MINATITLÁN ESTÁ SITUADA A LOS $94^{\circ} 35'$ LONG. W Y $18^{\circ} 00'$ LAT. N.

Río COATZACOALCOS

NACE EN EL ESTADO DE OAXACA, EN LA SIERRA ATREVESADA, A MÁS DE 2 MIL METROS DE ALTURA. EN LA PRIMERA PARTE DE SU RECORRIDO -- ATRAVIESA UNA ZONA MONTAÑOSA DE TOPOGRAFÍA COMPLICADA Y RECIBE NUMEROSOS PEQUEÑOS AFLUENTES DIFÍCILES DE IDENTIFICAR. SE TRATA DE UNA ZONA POCO CONOCIDA Y POCO POBLADA. MÁS ADELANTE SE LE LLAMA RÍO DEL CORTE Y RECIBE MUCHOS AFLUENTES, ESPECIALMENTE EN SU MARGEN IZQUIERDA.

A LA ALTURA DE SANTA MARÍA CHIMALAPA SU RUMBO OESTE CAMBIA EN DIRECCIÓN NORTE. EN ESTE TRAMO RECIBE COMO AFLUENTE POR SU -- MARGEN IZQUIERDA A LOS RÍOS CHICHIHUA, ALMOLOYA, MALATONGO Y -- SARABIA.

AL CRUZAR SOCHIAPA, VER., ADQUIERE UNA DIRECCIÓN NNE QUE CON-- SERVA HASTA SU DESEMBOCADURA. AQUÍ RECIBE UN AFLUENTE DE IM-- PORTANCIA, POR LA MARGEN IZQUIERDA, EL RÍO JALTEPEC; A PARTIR DE ESTE PUNTO Y EN ADELANTE, EL CAUCE SE VUELVE DIVAGANTE, CON NUMEROSOS MEANDROS, FORMANDO VARIAS LAGUNETAS Y ESTEROS, E IN-- CLUSO FORMANDO UN DOBLE CAUCE A LA ALTURA DE HIDALGOSTITLÁN, -- VER.

PESE A ELLO, RECIBE ALGUNOS AFLUENTES IMPORTANTES, ESPECIALMENTE POR SU MARGEN DERECHA, COMO SON EL SOLOSÚCHIL, EL COACHAPA Y EL UXPANAPA. ESTE ÚLTIMO ENTRA AL CAUCE PRINCIPAL CINCO KILÓMETROS AGUAS ABAJO DE MINATILÁN; CERCA DE LA DESEMBOLCADA EL COATZACOALCOS RECIBE, POR SU MARGEN DERECHA, AL RÍO CALZADAS, - EL CUAL VIENE DESDE LA SERRANÍA DE SAN ANDRÉS TUXTLA, DONDE SE LE CONOCE COMO RÍO HUAZUNTILÁN.

LAGUNA DEL OSTIÓN

LA LAGUNA DEL OSTIÓN SE LOCALIZA EN EL SURESTE DEL ESTADO DE VERACRUZ, ENTRE LAS COORDENADAS $19^{\circ} 78'$ Y $18^{\circ} 15'$ LAT. N. Y LOS MERIDIANOS $94^{\circ} 42'$ Y $94^{\circ} 33'$ LONG. W.

PRESENTA UNA SUPERFICIE DE 12.7 KILÓMETROS CUADRADOS, SE ENCUENTRA ESTRANGULADA POR DEPÓSITOS CONTINENTALES CUBIERTAS DE DUNAS, SU COMUNICACIÓN CON EL MAR SE HACE A TRAVÉS DE UN LARGO CANAL. LA LAGUNA TIENE UNA PROFUNDIDAD MEDIA DE 3 METROS, PRESENTA DOS TIPOS DE AGUA, UNA SALOBRE Y OTRA SALINA, LA PRIMERA SE ENCUENTRA MÁS DISTRIBUIDA, DEL CENTRO A LA MARGEN SUR DE LA LAGUNA Y LA SEGUNDA DEL CENTRO AL NOROESTE.

EXISTEN BANCOS OSTRÍCOLAS NATURALES A LO LARGO DE LA LAGUNA. LA VEGETACIÓN CIRCUNDANTE CORRESPONDE EN SU MAYOR PARTE AL MANGLAR, REPRESENTADO POR: RHIZOPHORA MANGLE, AVICENIA GERMINAE Y --- LAGUNCULARIA RACEMOSA.

EL APORTE DE MATERIA ORGÁNICA PROVIENE DEL MANGLAR Y ES INTRODUCIDO POR LAS AGUAS DEL RÍO HUAZUNTILÁN.

Río TONALÁ

ESTA CORRIENTE NACE EN LOS LÍMITES DE LOS ESTADOS DE VERACRUZ, TABASCO Y CHIAPAS, EN LA SIERRA MADRE DE CHIAPAS A UNOS 100 M. DE ALTITUD. PRÁCTICAMENTE EN TODO SU RECORRIDO SIRVE COMO DIVISIÓN POLÍTICA NATURAL ENTRE LOS ESTADOS DE VERACRUZ Y TABASCO. EN EL TRAMO ORIGINAL SE LLAMA RÍO PEDREGAL. EL CAUCE PRINCIPAL SIGUE UNA DIRECCIÓN GENERAL NNW, DE MODO QUE HACIA LA MARGEN IZQUIERDA DEL ÁREA DRENADA TOTAL (2,344 Km.2), PERTENECE AL ESTADO DE VERACRUZ. HACIA LA MARGEN DERECHA DEL ÁREA ES DE 3,335 Km.2, ÍNDICE DE LA GRAN IMPORTANCIA DE ESTA CORRIENTE, QUE TAMBIÉN ES NAVEGABLE EN ESTIAJE EN MÁS DE 300 Km. DE SU RECORRIDO TOTAL, INCLUIDOS SUS AFLUENTES.

ES DE IMPORTANCIA ESTA CARACTERÍSTICA, YA QUE EN SU RECORRIDO - EL RÍO TOCA VARIAS POBLACIONES RELEVANTES, COMO FRANCISCO RUEDA, LAS CHOAPAS Y TONALÁ.

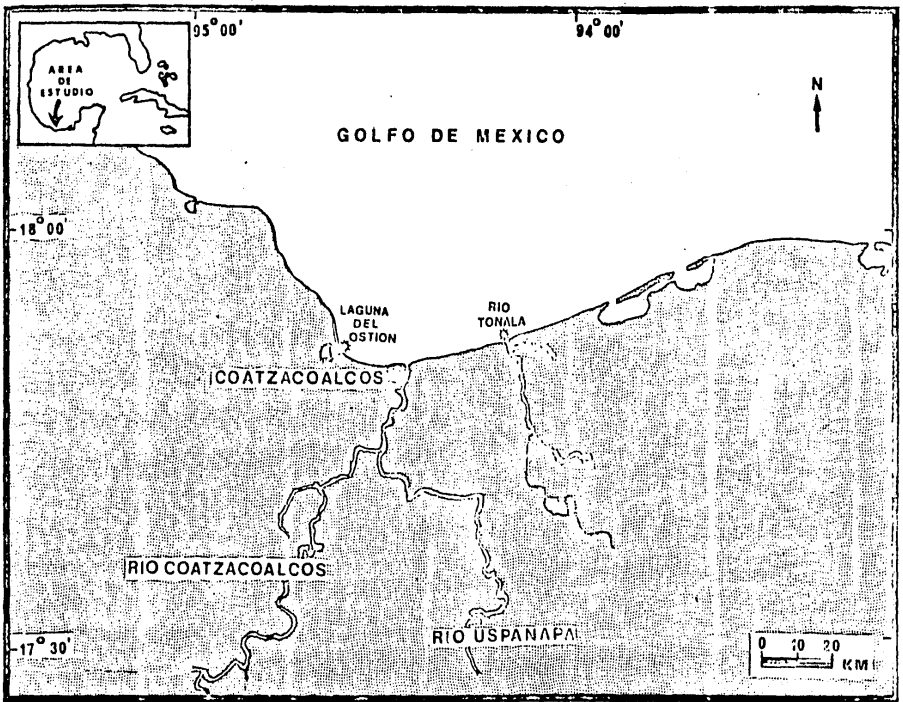
LA LONGITUD TOTAL DEL CAUCE ES DE 150 Km., DE ELLA 120 Km., SE DESARROLLAN ABAJO DE LOS 200 M. DE ALTITUD, LO QUE DA LUGAR A - UN TRAMO SINUOSO Y CON ALGUNAS LAGUNAS HACIA LA PARTE FINAL DEL RECORRIDO.

LOS AFLUENTES IZQUIERDOS, CITADOS EN AGUAS ARRIBA HACIA AGUAS - ABAJO, SON: EL RÍO PLAYAS O XOCOAPAN, QUE NACE EN EL CERRO -- DEL MONO PELADO, TIENE DIRECCIÓN GENERAL HACIA EL NORESTE, PASA POR PUEBLO VIEJO Y SAN PEDRO Y ENTRA AL TANCOCHAPA, NOMBRE DEL TONALÁ EN SU CURSO SUPERIOR, A 10 Km. AGUAS ARRIBA DE FRANCISCO RUEDA, TABASCO.

HACIA LA PARTE BAJA DE SU RECORRIDO, EL TANCOCHAPA RECIBE LA -
APORTACIÓN DEL ARROYO PESQUERO Y DEL ARROYO PIEDRAS. POR LA -
DERECHA, ES DECIR COMO AFLUENTES TABASQUEÑOS, ENTRAN EN SUCE--
SIÓN EL RÍO ZANAPA, EL RÍO BLASILLO Y EL RÍO CHICO ZAPOTE. DE
ELLOS EL MÁS IMPORTANTE ES EL ZANAPA, QUE TIENE COMO AFLUENTES
IZQUIERDOS LOS ARROYOS MOSQUITERO, HONDO CHICO Y HONDO GRANDE;
ESTAS TRES CORRIENTES SIGUEN UNA DIRECCIÓN HACIA EL NORESTE Y
FORMAN UNA LAGUNA ALARGADA CONOCIDA CON EL NOMBRE DE LAGUNA RO
SARIO, CUYO DESFOGUE ES UNA APORTACIÓN IZQUIERDA AL RÍO ZANAPA,
QUE SE ORIGINA AL SUROESTE DE HUIMANGILLO CON EL NOMBRE DE RÍO
COACJAPA Y CUENTA CON UN AFLUENTE LLAMADO ARROYO EL LIMÓN.

MAPA 1.-

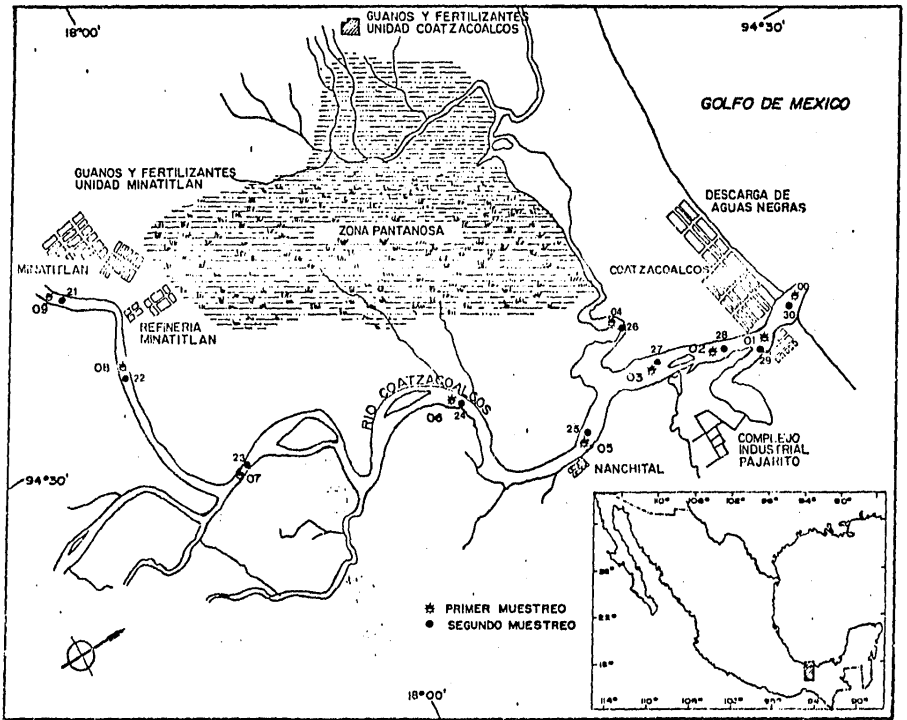
SISTEMA FLUVIO-DELTAICO DEL RIO COATZACOALCOS.
SE SEÑALAN LA CIUDAD DE COATZACOALCOS Y LA
LAGUNA DEL OSTION Y EL RIO TONALA.



MAPA 2.-

RIO COATZACOALCOS.

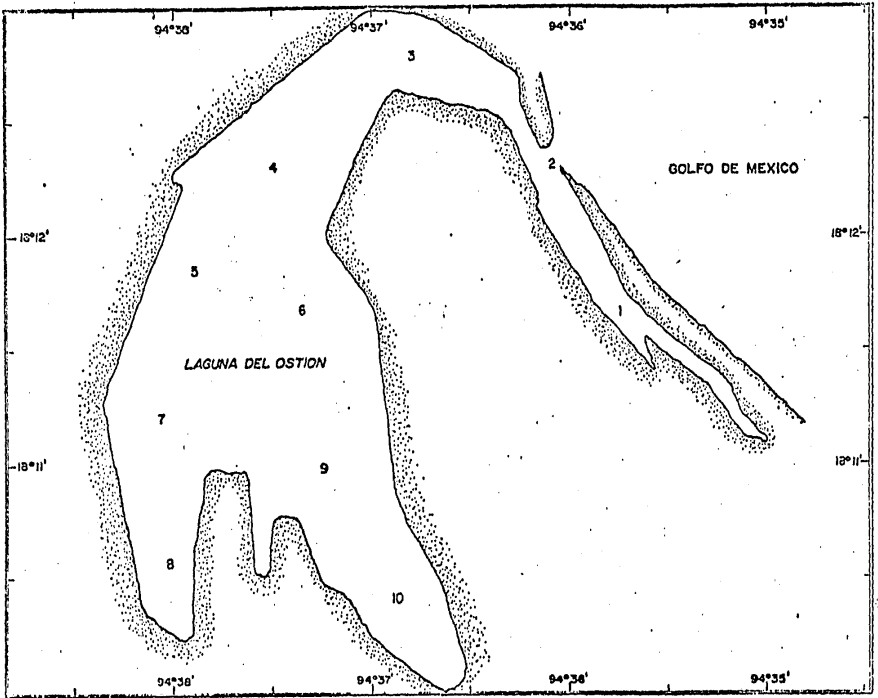
LOCALIZACION DE LAS ESTACIONES DE MUESTREO.
SE MUESTRAN LAS INDUSTRIAS MAS IMPORTANTES.



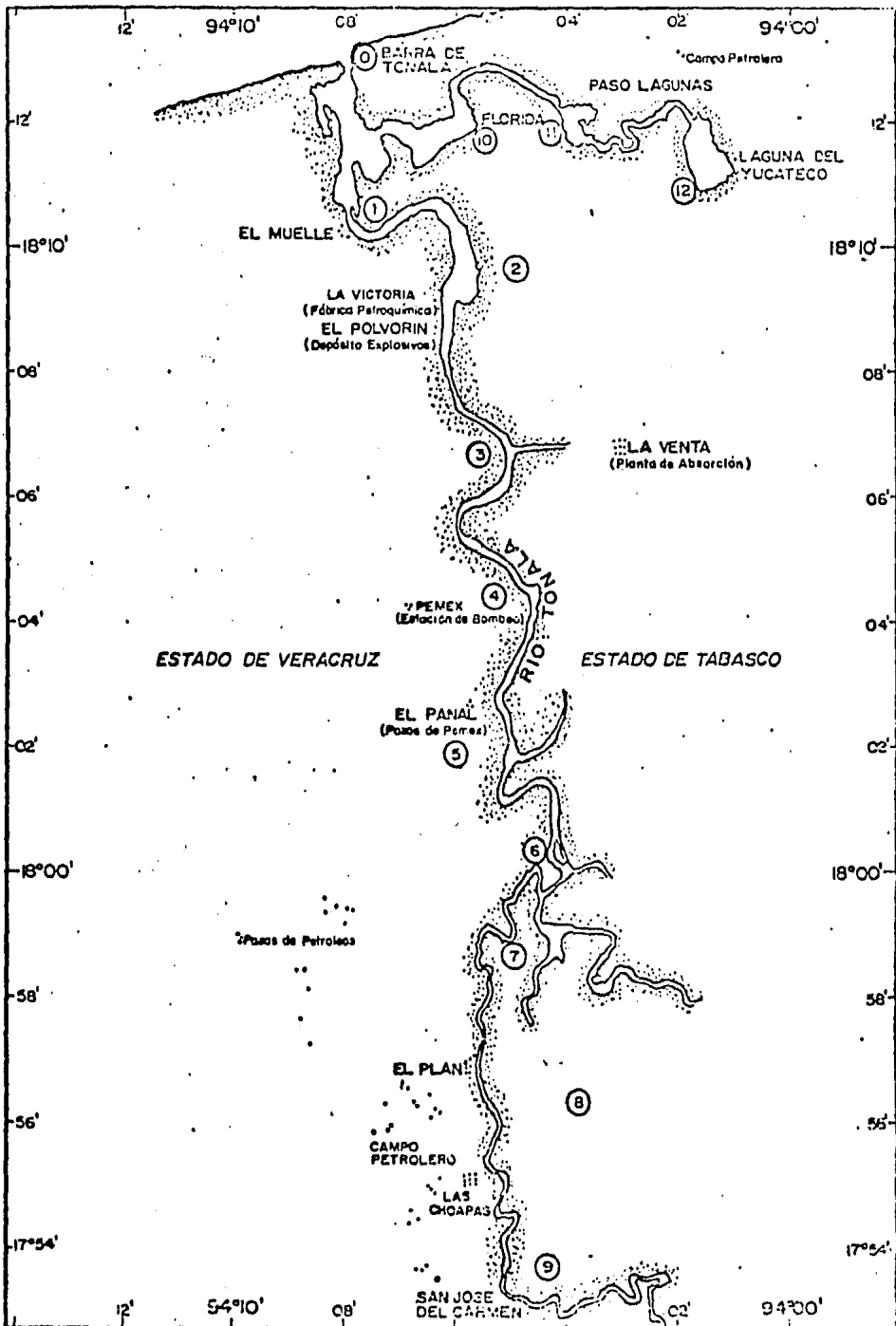
MAPA 3.-

LAGUNA DEL OSTION.

LOCALIZACION DE LAS ESTACIONES DE MUESTREO.



MAPA 4.- RIO TONALA.
LOCALIZACION DE LAS ESTACIONES DE MUESTREO.



METODOLOGIA

TRABAJO DE CAMPO.

A LO LARGO DEL RÍO COATZACOALCOS, SE ESTABLECIERON 10 ESTACIONES FIJAS DE MUESTREO.

SE REALIZARON DOS MUESTREOS, UNO EN MARZO Y OTRO EN JUNIO DE 1982, LOS SEDIMENTOS FUERON COLECTADOS CON UNA DRAGA VAN VEEN, SE TRANSVASA EL SEDIMENTO A BOLSAS DE PLÁSTICO Y SE CONGELAN A 4 °C HASTA SU ANÁLISIS EN EL LABORATORIO.

ADEMÁS EN EL MES DE SEPTIEMBRE DEL MISMO AÑO, SE COLECTARON -- MUESTRAS EN 10 ESTACIONES, UBICADAS EN LA LAGUNA DEL OSTIÓN, - CON EL FIN DE HACER UNA COMPARACIÓN DE RESULTADOS, DE UNA ZONA CONTAMINADA (COATZACOALCOS) CON OTRA NO CONTAMINADA (LAGUNA DEL OSTIÓN).

POSTERIORMENTE SE REALIZÓ UN MUESTREO EN EL RÍO TONALÁ, YA QUE NO SE CONTABA CON INFORMACIÓN DE LOS NIVELES DE CONTAMINACIÓN EN LA ZONA, EL NÚMERO DE ESTACIONES MUESTREADAS FUE DE 10, LOCALIZADAS A LO LARGO DEL RÍO TONALÁ.

TRABAJO DE LABORATORIO.

LAS MUESTRAS FUERON SECADAS A 60 °C DURANTE 24 HORAS, SE PASARON A UN MORTERO, SE MOLIERON Y SE TAMIZARON POR UNA MALLA 60 (0.25 MM.). SE COLOCARON 50 GRAMOS EN UN APARATO SOXHLET Y SE PUSIERON A REFLUJO 4 HORAS CON UNA MEZCLA BENCENO : METANOL.

SE FILTRARON LAS MUESTRAS Y SE EVAPORARON A SEQUEDAD, PARA DESPUÉS PASARLAS POR UNA COLUMNA DE ALUMINA, ELUYÉNDOSE CON ÉTER ETÍLICO. EN LA BASE DE LA COLUMNA SE PUSO SULFATO DE SODIO AN-

HIDRO PARA ELIMINAR SULFUROS. SE EVAPORARON A SEQUEDAD Y SE --
ANALIZARON POR CROMATOGRAFÍA DE GASES.

ANÁLISIS QUÍMICO.

PARA EL ANÁLISIS CUALITATIVO Y CUANTITATIVO, SE EMPLEARON ESTAN--
DARES DE LOS SIGUIENTES ESTEROLES: COLESTEROL, COLESTANOL, CO--
PROSTANOL, LANOSTEROL, STIGMASTEROL, ERGOSTEROL Y SITOSTEROL.

LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN DEL CROMATÓGRAFO FUERON LAS SIGUIEN--
TES:

TEMP. INICIAL:	150 °C
TEM. FINAL:	280 °C
VEL. DE PROGRAMACIÓN:	5 °C/MIN.
GAS PORTADOR:	NITRÓGENO
FLUJO:	1 ML/MIN.
RESTRICTOR:	1:30
DETECTOR:	IONIZACIÓN DE FLAMA
COLUMNA:	SÍLICA FUNDIDA (D.I. 0.2 MM.).
FASE LÍQUIDA:	OV-101
LONG. COLUMNA:	10 M.
VOL. INYECCIÓN:	2 μ L
VEL. REGISTRO:	1 CM/MIN.

EL MÉTODO USADO PARA EL ANÁLISIS CUANTITATIVO FUE EL DE ESTAN--
DARD EXTERNO.

RESULTADOS Y DISCUSION

LA CONCENTRACIÓN DE METABOLITOS DEL COLESTEROL ENCONTRADA EN --
LOS SEDIMENTOS DEL RÍO COATZACOALCOS, VER., ESTÁN EN UN INTERVA
LO DE 0.013 - 4.84 ppm. ESTOS VALORES SON RELATIVAMENTE BAJOS
SI SE COMPARAN A LOS REPORTADOS POR GOODFELLOW ET AL (1977) EN
EL ESTUARIO DE CLYDE, CERCA DE LA CIUDAD DE GLASGOW (0.019 -14
ppm.), Y POR HATCHER ET AL (1978) EN LA BAHÍA DE NEW YORK ----
(0.056 - 5.2 ppm.), PERO MUCHO MÁS ELEVADO A LOS DETERMINADOS -
POR ESCALONA ET AL (1980), EN LA BAHÍA DE VERACRUZ, VER., ----
(0.006 - 0.44 ppm.) Y EN MAZATLÁN, SIN., (0.03 - 0.2 ppm.).
SIN EMBARGO, ES NECESARIO ACLARAR QUE LAS DOS PRIMERAS ÁREAS DE
COMPARACIÓN TIENEN UNA DESCARGA DIRECTA DE AGUAS RESIDUALES, --
MIENTRAS QUE LAS OTRAS NO.

Á PESAR DE QUE EL ÁREA DE ESTUDIO ES UNA ZONA CONTAMINADA, TAN-
TO POR HIDROCARBUROS FÓSILES, METALES PESADOS, MATERIA ORGÁNICA
Y OTROS COMPUESTOS, LA CONCENTRACIÓN DE METABOLITOS DEL COLESTE
ROL NO ES MUY ELEVADA, PUES SEGUN MURTAUGH (1967), SE EXCRETAN
UN PROMEDIO DE 2.2 G. DE COPROSTEROL POR DÍA PER CÁPITA. ESTOS
BAJOS NIVELES DE METABOLITOS ENCONTRADOS EN EL RÍO COATZACOAL--
COS, PUEDEN SER EXPLICADOS PORQUE EXISTE UNA DESAPARICIÓN DE --
LOS ESTEROLES EN EL AMBIENTE ACUÁTICO, DEBIDO A LA BIODEGRADA--
CIÓN POR MICROORGANISMOS, CUYO PROCESO DECRECE CUANDO SE CLORI-
NAN LAS AGUAS RESIDUALES, PERO EN LA ZONA DE ESTUDIO NO EXISTE
ESA CLORINACIÓN, POR LO QUE LA BIODEGRADACIÓN OCURRE RÁPIDAMEN-
TE, AUNQUE ESTA DEGRADACIÓN PRESENTA ALTIBAJOS DEBIDO A LA VA--
RIACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS PRESENTES.

PARA QUE UN INDICADOR DE LA CONTAMINACIÓN FECAL SEA IDEAL, DEBE PRESENTAR ALGUNAS CARACTERÍSTICAS (KIRCHMER, 1971), COMO SON:

- 1.- DEBE PRESENTAR RESULTADOS UNIFORMES EN TODO TIPO DE AGUAS.
- 2.- ESTE INDICADOR NO DEBE ESTAR PRESENTE EN AGUAS BACTERIOLÓGICAMENTE PURAS.
- 3.- LA CONCENTRACIÓN DEL INDICADOR DEBE INCREMENTARSE EN PROPORCIÓN DIRECTA A LA CANTIDAD DE DESCARGAS DE DRENAJE.
- 4.- EL INDICADOR DEBE ESTAR MÁS TIEMPO PRESENTE EN EL AGUA, - QUE LOS ORGANISMOS PATÓGENOS.
- 5.- DEBE TENER UNA OCURRENCIA CONSTANTE EN HECEAS HUMANAS.
- 6.- DEBE SER DETECTABLE POR UN ANÁLISIS SIMPLE Y RÁPIDO.

AUNQUE COMUNMENTE SE USAN LAS BACTERIAS DEL GRUPO COLIFORME COMO INDICADORES, SE HA VISTO QUE LA VALIDEZ DEL MÉTODO DEPENDE - DE LA RAPIDEZ DEL ANÁLISIS, PUES DESPUÉS DE 48 HORAS DE TOMADA LA MUESTRA, LOS RESULTADOS PUEDEN SER CUESTIONADOS EN SU VALIDEZ.

MIENTRAS TANTO, EL COPROSTEROL PUEDE OFRECER VENTAJAS, YA QUE ES POSIBLE ALMACENAR LAS MUESTRAS POR ALGUNOS DÍAS, MIENTRAS - SE LLEGA AL LABORATORIO PARA REALIZAR SU ANÁLISIS.

AUNQUE EL ANÁLISIS DE METABOLITOS DEL COLESTEROL NO VA A SUPLAN - TAR LA PRUEBA DE COLIFORMES, SI PROVEE UNA HERRAMIENTA ADICIO---

NAL, MUY PRÁCTICA, PARA UNA MEJOR CARACTERIZACIÓN DE LA CALIDAD DE AGUA Y PODER TENER UNA MAYOR CERTEZA PARA EVALUAR LA EFECTIVIDAD DE UN TRATAMIENTO DE AGUAS EN DESCARGAS INDUSTRIALES O DOMÉSTICAS.

EN EL PRESENTE TRABAJO, ADEMÁS DE ENCONTRAR METABOLITOS DEL COLESTEROL, TAMBIÉN SE ENCONTRARON OTROS ESTEROLES CUYO ORIGEN -- PUEDE SER A TRAVÉS DE ALGAS Y MOLUSCOS, ESTOS ESTEROLES FUERON ENCONTRADOS EN CASI TODOS LOS SITIOS DE MUESTREO, PROBABLEMENTE SON LLEVADOS POR LA CORRIENTE DEL RÍO COATZACOALCOS Y SUS ----- AFLUENTES DE OTRAS ZONAS DONDE EXISTEN ESTOS ORGANISMOS, Y PUEDEN SERVIRNOS DE AYUDA PARA PODER CARACTERIZAR SI LA CONTAMINACIÓN PROVIENE POR MECANISMOS BIOGÉNICOS O POR DESCARGAS ANTROPOLÓGICAS.

AHORA BIEN, LA CONTAMINACIÓN FECAL EN EL RÍO COATZACOALCOS NO -- ES MUY ELEVADA, COMO LO SEÑALAN LOS RESULTADOS OBTENIDOS, YA -- QUE LOS MUESTREOS EFECTUADOS, UNO EN LA ÉPOCA DE SECAS Y OTRO -- EN ÉPOCA DE LLUVIAS, NOS REVELAN UNA VARIACIÓN ESTACIONAL EN LA CONCENTRACIÓN, LO CUAL PUEDE SER DEBIDO AL AUMENTO DEL CAUDAL -- DEL RÍO Y AUNADO A LA CORRIENTE NORMAL, PROBABLEMENTE HAY UNA -- ADSORCIÓN DE LOS ESTEROLES EN LOS SEDIMENTOS FINOS Y SER REMOVIDOS DEL FONDO DEL RÍO Y LLEVADOS A LA BOCA DEL RÍO Y POSTERIORMENTE AL MAR.

COMO SE MENCIONÓ ANTERIORMENTE, SE LLEVÓ A CABO UN MUESTREO EN LA LAGUNA DEL OSTIÓN, YA QUE DEBIDO A SU Poca SUPERFICIE Y QUE NO TIENE EL MOVIMIENTO DEL RÍO COATZACOALCOS, SE PENSÓ QUE PODRÍA SERVIR COMO REFERENCIA.

LOS DATOS OBTENIDOS DE LA CONCENTRACIÓN DE METABOLITOS DEL COLESTEROL EN LA LAGUNA SON MÁS ELEVADOS (0.13 - 7.114 ppm.) EN COMPARACIÓN DE LOS OBTENIDOS EN EL RÍO COATZACOALCOS, Y NOS INDICA QUE LA CONTAMINACIÓN FECAL ES MAYOR QUE EN EL RÍO, ÉSTO A PESAR DE QUE EL ASENTAMIENTO HUMANO EN LA LAGUNA ES PEQUEÑO,

ÉSTA ELEVADA CONCENTRACIÓN PUEDE DEBERSE A QUE LOS PESCADORES Y SUS FAMILIAS DESCARGAN LOS DESECHOS DOMÉSTICOS A LA LAGUNA Y COMO ÉSTA NO TIENE UNA GRAN CORRIENTE, LOS METABOLITOS QUEDAN SEDIMENTADOS Y PERDURE MÁS TIEMPO LA CONTAMINACIÓN FECAL.

EN LAS MUESTRAS TOMADAS EN EL RÍO TONALÁ, NO FUERON DETECTADOS NINGUNO DE LOS ESTEROLES QUE SIRVIERON COMO ESTANDARES, AUNQUE DEBEMOS SUPONER QUE EXISTEN ESTEROLES BIOGÉNICOS QUE PUEDEN ESTAR PRESENTES EN EL RÍO, YA QUE SUS RIBERAS ESTÁN BORDEADAS POR MANGLE Y EN ALGUNAS ZONAS POR PASTOS MARINOS.

TABLA 1.- ESTEROLES ENCONTRADOS EN EL RIO COATZACOALCOS
EN EL PRIMER MUESTREO DURANTE EL MES DE MARZO
DE 1982. SE REPORTA EN PPM EN PESO SECO.

estacion compuesto	01	02	03	04	05	06	07	08	09	00
coprosterol	*	*	*	*	0,070	*	0,587	*	*	*
colesterol	3,07	*	7,33	*	0,291	*	2,260	1,643	0,647	3,95
colestano	2,89	1,146	1,50	*	0,151	*	1,108	0,961	0,854	*
ergosterol	1,23	*	8,43	*	0,026	*	1,263	*	*	*
stigmasterol	0,132	*	*	*	0,031	*	0,610	*	*	*
lanosterol	0,770	*	0,912	*	0,069	*	0,669	0,960	*	0,152
β -sitosterol	0,354	*	0,208	*	0,132	*	0,075	*	*	*

* .- no detectado SE REPORTA EN PPM

TABLA 1- DATOS DE COATZACOALCOS EN

MARZO DE 1982.

TABLA 2.- ESTEROLES ENCONTRADOS EN EL RIO COATZACOALCOS
EN EL SEGUNDO MUESTREO DURANTE EL MES DE JUNIO
DE 1982. SE REPORTA EN PPM EN PESO SECO.

estacion compuesto	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
coprosterol	0.634	0.071	*	0.013	*	0.276	0.434	*	*	-
colesterol	2.967	0.082	1.011	0.232	0.051	0.620	0.494	0.620	0.676	-
colestano	4.840	0.147	0.263	0.154	0.403	0.474	0.249	2.760	0.380	-
ergosterol	2.393	1.670	*	0.014	*	0.102	0.145	0.480	0.084	-
stigmasterol	*	0.329	*	0.012	*	0.253	*	*	0.009	-
lanosterol	4.259	2.023	0.232	0.023	*	0.203	0.032	*	0.208	-
β -sitosterol	*	0.080	*	*	*	0.039	*	*	0.011	-

* - no detectado

SE REPORTA EN PPM

TABLA 2- DATOS DE COATZACOALCOS EN

JUNIO DE 1932.

TABLA 3.- ESTEROLES ENCONTRADOS EN LA LAGUNA DEL OSTION
DURANTE EL MES DE SEPTIEMBRE DE 1982.
SE REPORTA EN PPM EN PESO SECO.

estación compuesto	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10
coprostanol	1,150	0.013	*	*	0.013	2,284	1,378	0.343	0.253	*
colesterol	*	0.215	*	*	0.362	7,594	2,185	*	*	*
colestano	7,114	0.162	0.787	*	0.288	*	5.925	5.421	1.023	5.980
ergosterol	1,411	0.023	*	*	0.049	0.420	2,146	4.267	*	*
stigmasterol	1,169	0.014	*	*	0.020	*	0.074	*	*	*
lanosterol	1,516	0.027	*	*	*	*	*	0.298	0.252	*
β -sitosterol	*	0.002	*	*	*	*	0.159	*	*	*

* - no detectado

SE REPORTA EN PPM

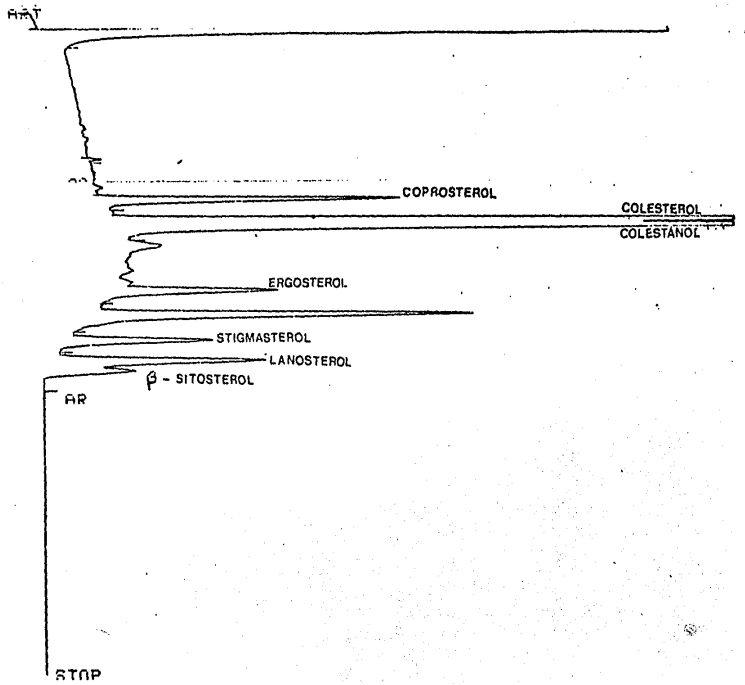
TABLA 3 - DATOS DE LAGUNA DEL OSTION EN

SEPTIEMBRE DE 1982.

CROMATOGRAMA 1

-

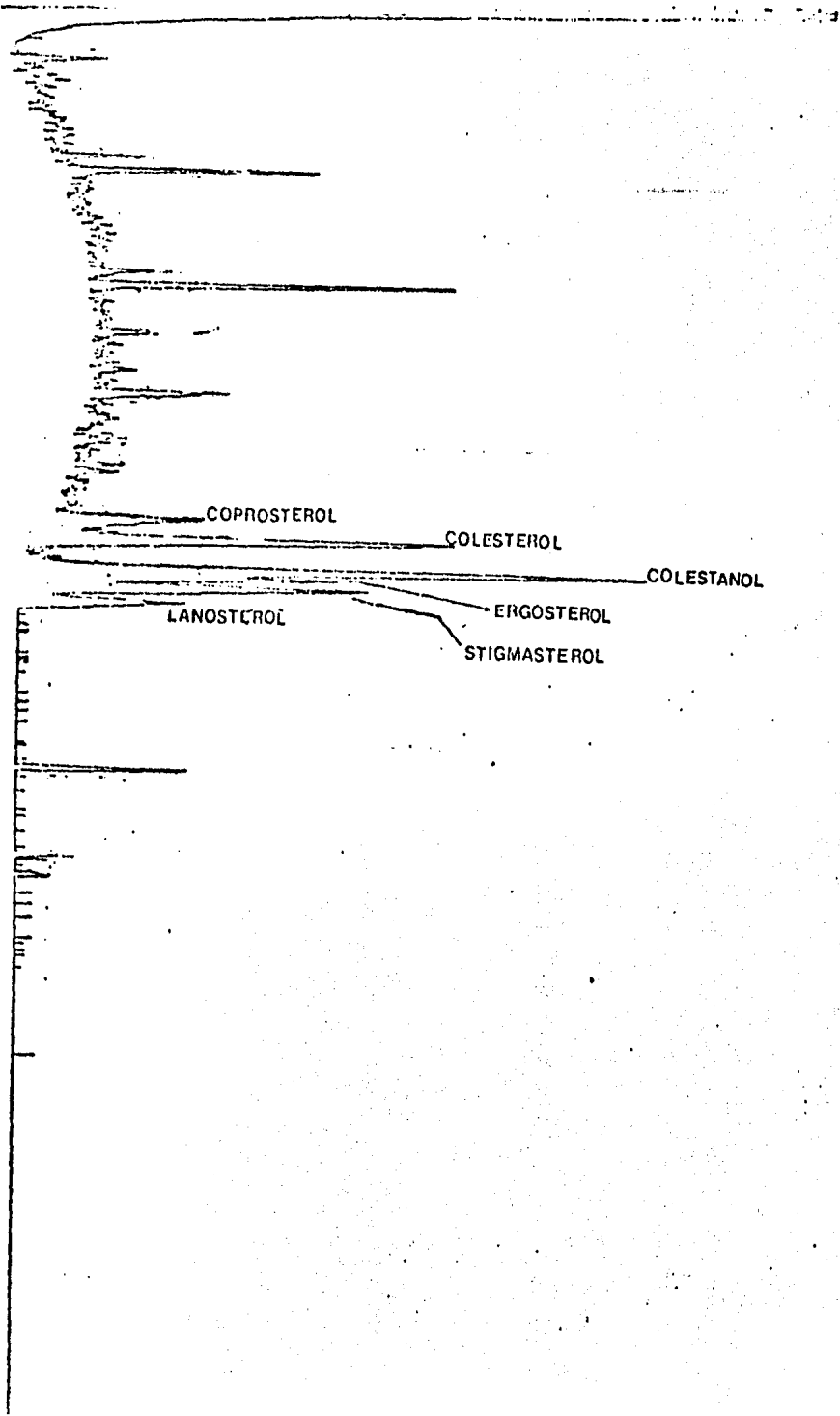
ESTANDARES DE ESTEROLES



CROMATOGRAMA 2

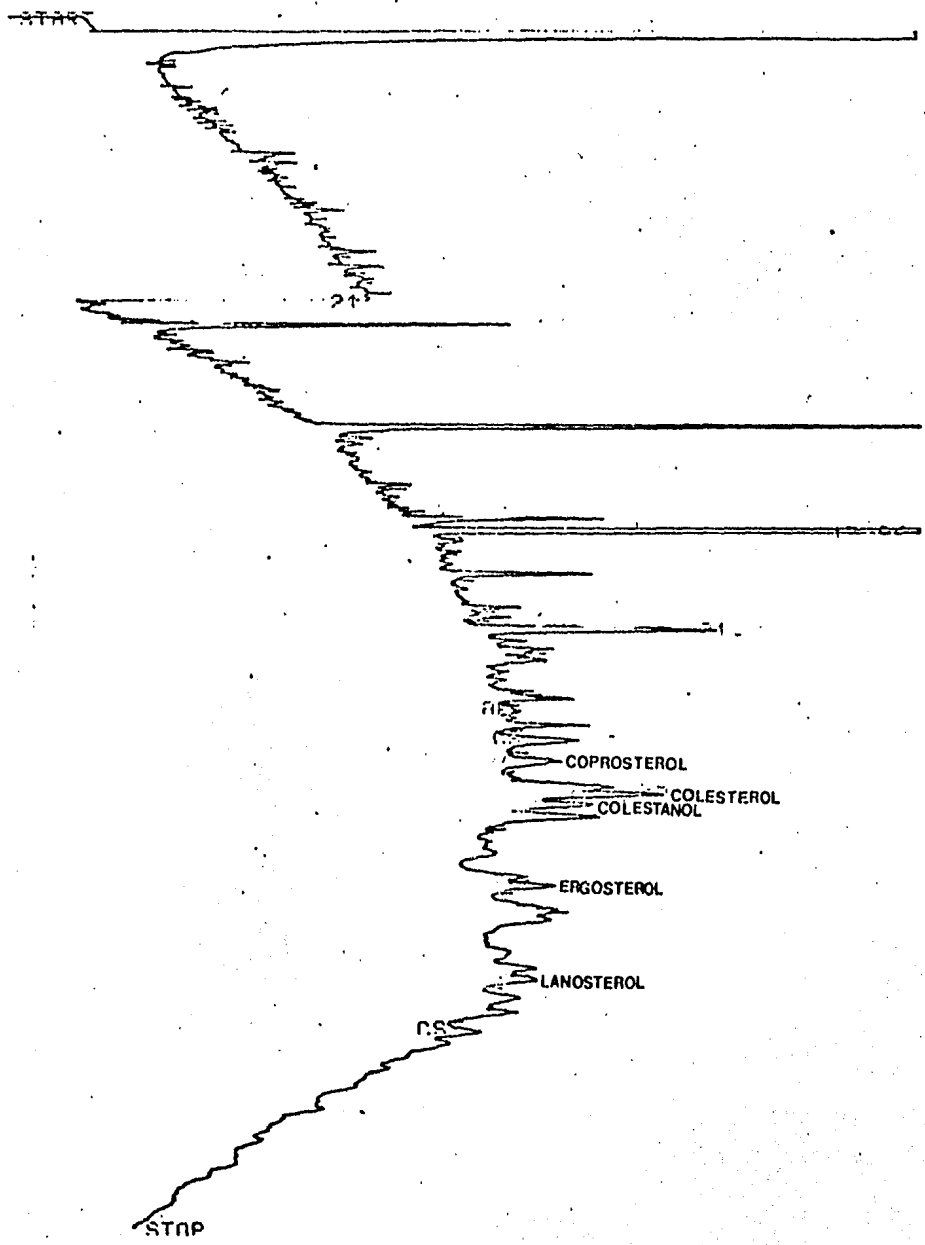
-

ESTEROLES ENCONTRADOS EN LA
ESTACION 05 DURANTE EL MES DE
MARZO DE 1982 EN EL RIO
COATZACOALCOS



CROMATOGRAMA 3

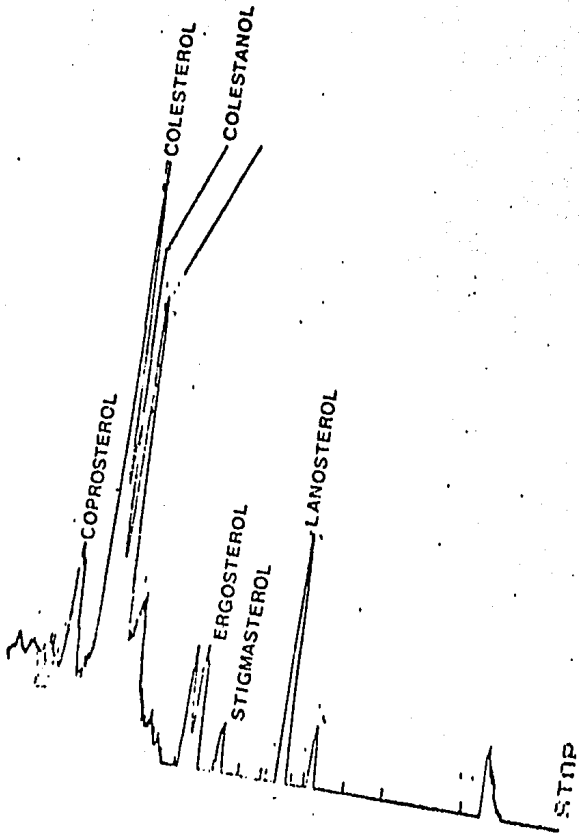
- ESTEROLES ENCONTRADOS EN LA
ESTACION 21 DURANTE EL MES
DE JUNIO DE 1982 EN EL RIO
COATZACOALCOS



CROMATOGRAMA 4 -

ESTEROLES ENCONTRADOS EN LA
ESTACION 26 DURANTE EL MES DE
JUNIO DE 1982 EN EL RIO
COATZACOALCOS

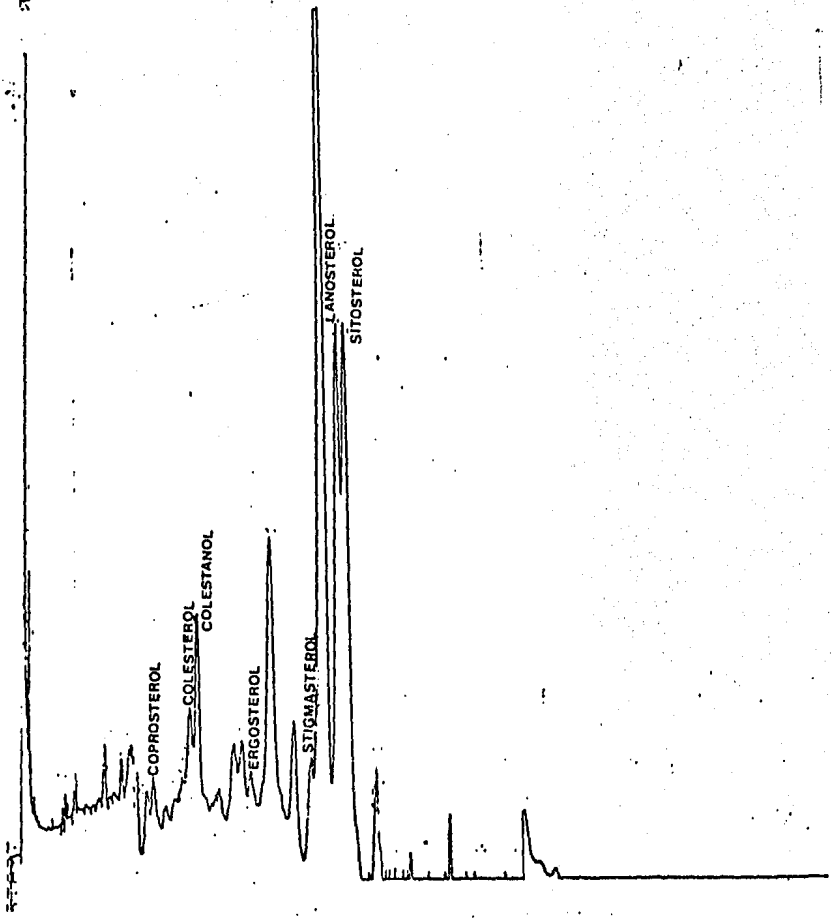
ZFR0 7 2



CROMATOGRAMA 5

-

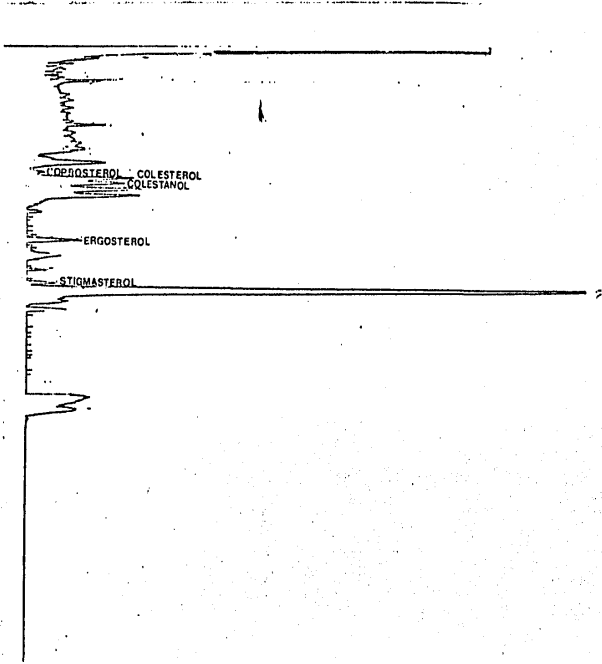
ESTEROLES ENCONTRADOS EN LA
ESTACION 02 DURANTE EL MES DE
SEPTIEMBRE DE 1982 EN LA
LAGUNA DEL OSTION



CROMATOGRAMA 6

-

ESTEROLES ENCONTRADOS EN LA
ESTACION 05 DURANTE EL MES
DE SEPTIEMBRE DE 1982 EN LA
LAGUNA DEL OSTION



CONCLUSIONES

EN ESTE TRABAJO SE OBSERVA QUE LOS METABOLITOS DEL COLESTEROL, PUEDEN SER EMPLEADOS COMO INDICADORES DE CONTAMINACIÓN FECAL. LA NATURALEZA ESPECÍFICA DE LOS METABOLITOS Y SU PRESENCIA EN LOS SEDIMENTOS Y AGUAS CONTAMINADAS POR DESCARGAS DOMÉSTICAS - NO DEJAN DUDA DE QUE LA PRESENCIA DE ESTOS ESTEROLES DENOTAN - CONTAMINACIÓN FECAL.

LOS DATOS OBTENIDOS DE LOS METABOLITOS PUEDEN SER USADOS COMO ÍNDICE DE CONTAMINACIÓN EN ADICIÓN AL MÉTODO DE COLIFORMES FECALES, QUE INDUDABLEMENTE ES UNA MEDIDA IMPORTANTE DE LA CALIDAD DE AGUA, PERO QUE OFRECE PROBLEMAS ASOCIADOS CON LA MUERTE BACTERIANA.

LOS ANÁLISIS DE ESTEROLES OFRECEN CIERTAS VENTAJAS, YA QUE PUEDEN SER PRESERVADOS EN EL SITIO DE MUESTREO Y DAN UNA ACUMULACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN FECAL.

LOS ANÁLISIS DE ESTEROLES PUEDEN SER PARTICULARMENTE USADOS EN LA DETECCIÓN DE DESCARGAS DOMÉSTICAS O INDUSTRIALES, CUANDO -- EXISTE UNA BAJA CONCENTRACIÓN DE BACTERIAS, DEBIDO A LA TEMPERATURA O A LA PRESENCIA DE SUBSTANCIAS TÓXICAS.

SIN EMBARGO ES NECESARIO COMPROBAR LA VALIDEZ DE ESTE MÉTODO, BUSCANDO FUENTES ADICIONALES DE ESTEROLES Y TOMANDO EN CONSIDERACIÓN QUE EXISTE UNA BIODEGRADACIÓN, LA CUAL PUEDE ELIMINAR, EN FORMA NATURAL, LA MAYORÍA DE LOS ESTEROLES EN EL AGUA Y --- SEDIMENTOS.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- ALBAIGES J. ANALYTICAL TECHNIQUES IN ENVIRONMENTAL CHEMISTRY
PERGAMON PRESS 1980.
- 2.- BERGMAN W. COMPARATIVE BIOCHEMICAL STUDIES ON THE LIPIDS ON MARINE INVERTEBRATES, WITH SPECIAL REFERENCE TO THE STEROLS.
J. MARINE RES. 8, 137, (1949).
- 3.- BLOCH K., L.C. CLARK,
I. HIRARY UTILIZATION OF BRANCHED CHAIN ACIDS IN CHOLESTEROL SYNTHESIS.
J. BIOL. CHEM. 211, 687,
(1964).
- 4.- DAL NOGARE S.,
R. J. JUVET JR. GAS - LIQUID CHROMATOGRAPHY
INTRESCIENCE PUBLISHERS. 1962
- 5.- DRILL V.A. FARMACOLOGÍA MÉDICA
LA PRENSA MÉDICA MEXICANA
PRIMERA EDICIÓN
- 6.- DUURMAN K.,
R. DAWSON MARINE ORGANIC CHEMISTRY
ELSEVIER OCEANOGRAPHY SERIES.
1981.
- 7.- DUTKA B. J.,
A.S. Y. CHAN,
J. COBURN RELATIONSHIP BETWEEN BACTERIAL
INDICATOR OF WATER POLLUTION
AND FECAL STEROIDS.
WATER RES. 8, 1047, (1974).

- 9.- FRUTON J. S.,
A. SIMONDS
GENERAL BIOCHEMISTRY
WILEY INTERNATIONAL 1958.
- 10.- GOODFELLOWR. M.,
J. CARDOSO,
G: EGLINTON,
J. P. DAWSON & G. A. BEST
A FECAL STEROL SURVEY IN THE
CLYDE ESTUARY
MAR. POLL.BULL 8, 272 (1977).
- 11.- GOODMAN L.S., GILMAN A.
BASES FARMACOLÓGICAS DE LA TE-
RAPÉUTICA.
INTERAMERICANA 1974
- 12.- HATCHER P.G.,
P.A. Mc GILLIVARY
SEWAGE CONTAMINATION IN THE MA-
RINE ENVIRONMENT OF THE NEW
YORK BIGHT: FECAL STEROIDS AS
INDICATORS.
MIAMI, FLA. NOAA ATLANTIC OCEA-
NOGRAPHIC AND METEREOLOGICAL
LABORATORIES; MIMEO (1978).
- 13.- IDLER D.R., A. SAITO,
P. WISEMAN
STEROLS IN RED ALGAE.
STEROIDS 11, 465, (1968).
- 14.- KIRCHMER C.J.
5-BETA CHOLESTAN 3-BETA-OL. AN
INDICATOR OF FECAL POLLUTION.
U. OF FLORIDA PH. D. THESIS
(1971).
- 15.- LEHNINGER A.L.
BIOQUÍMICA
ED, OMEGA 1974.

- 16.- Mc NAIR H.M.,
E. J. BONELLI
BASIC GAS CHROMATOGRAPHY
VARIAN INSTRUMENTS 1969.
- 17.- MURTAUGH J.J.
STEROLS AS A MEASURE OF FECAL
POLLUTION.
J. W. P. C. F. 39, 404 (1967).
- 18.- PERRY J.A.
INTRODUCTION TO ANALYTICAL GAS
CHROMATOGRAPHY
MARCEL DEKKER. 1981.
- 19.- ROSENFELD R.S.
THE TRANSFORMATION OF CHOLESTE-
ROL TO COPROSTANOL.
J. BIOL. CHEM. 24, 301, (1954).
- 20.- _____
THE ISOLATION OF COPROSTANOL --
FROM STEROLS ESTERS ON HUMAN
FECES.
ARCH. BIOCHEM. BIOPHYS.
108, 384, (1964).
- 21.- SNOG-KJAER,
I. PRANGE & H. DAM
CONVERSION OF CHOLESTEROL INTO
COPROSTEROL BY BACTERIA IN VI-
TRQ.
J. GEN. MICROBIOL. 14, 256,
(1956).
- 22.- SUPINA W.R.
THE PACKED COLUMN IN GAS CHROMA
TOGRAPHY
SUPELCO INC. 1979.

23.- WINITZ M., J. GRAFT,
D.A. SEEDMAN

EFFECT OF DIETARY CARBOHIDRATES
ON SERUM CHOLESTEROL LEVELS.
ARCH. BIOCHEM. BIOPHYS.
108, 576 (1964)