

Tesis DOCTORALES

2011



PONTIFICIA UNIVERSIDAD
CATOLICA
DE VALPARAISO

Anuario de Tesis Doctorales 2011
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso
Vicerrectoría de Investigación y Estudios Avanzados

Edición y Entrevistas: Claudio Abarca Lobos
Diseño: Carola Martínez Silva
Impresión: El Mercurio de Valparaíso

Imagen de portada: "La Escuela de Atenas" (Rafael Sanzio, 1512).

Presentación	5
Feromonas sexuales para monitorear y controlar plaga que afecta cultivos frutícolas chilenos. Tesis de María Fernanda Flores, del Doctorado en Ciencias mención Química.	6
Compuestos derivados del renio y el hierro tienen gran potencial para atacar el mal de Chagas y la malaria. Tesis de Rodrigo Arancibia, del Doctorado en Ciencias mención Química.	8
“Síntesis, caracterización y potenciales aplicaciones de nuevos materiales poliméricos derivados del pineno”. Tesis de Carolina Ávila, del Doctorado en Ciencias mención Química.	10
“Comportamiento de membranas de nanofiltración en la separación de amonio en solución modelo”. Tesis de Felipe Hurtado, del Doctorado en Acuicultura.	10
Compuesto químico-orgánico afecta el desarrollo del piojo de mar, parásito que genera importantes pérdidas en la salmonicultura. Tesis de José Miguel Troncoso, del Doctorado en Acuicultura.	12
“Bioseguridad en efluentes de plantas de proceso de salmónidos, desinfección y control del virus ISA (Anemia Infecciosa del Salmón), para evitar su propagación al mar”. Tesis de Pamela Cañas, del Doctorado en Acuicultura.	14
“Producción y caracterización de alcohol deshidrogenasas nad⁺ dependientes para la oxidación de alcoholes alifáticos superiores”. Tesis de Lorena Álvarez, del Doctorado en Biotecnología.	15
Conversión a biodiesel aumenta su rendimiento usando lipasa como biocatalizador. Tesis de Eduardo Caballero, del Doctorado en Biotecnología.	16
Levadura surge como opción para alimentar a salmones, ante menor producción de harina y aceite de pescado. Tesis de Romina Álvarez, del Doctorado en Biotecnología.	18
Buscando opciones para combatir más efectivamente enfermedad que ataca a salmones. Tesis de Daniela Gómez, del Doctorado en Biotecnología.	20
Modificación enzimática del aceite de pescado, una buena opción para concentrar ácidos Omega-3. Tesis de Carolina Pizarro, del Doctorado en Biotecnología.	22
“Aplicación de tecnología enzimática en la extracción de antioxidantes fenólicos desde residuos de la agroindustria”. Tesis de Liza Laroze, del Doctorado en Biotecnología.	24
“Obtención de oligosacáridos funcionales a partir de la hidrólisis enzimática de polisacáridos estructurales de residuos agroindustriales”. Tesis de Jacqueline Concha, del Doctorado en Ciencias de la Ingeniería mención Ingeniería Bioquímica.	26
Innovando con esteroides, insumo para el desarrollo de anabólicos, corticoides y otros productos. Tesis de Araceli Olivares, del Doctorado en Ciencias de la Ingeniería mención Ingeniería Bioquímica.	28

“Topological Chern-Simons gravity (and statistical lattice models)”.	30
Tesis de Marco Astorino, del Doctorado en Ciencias Físicas.	
“Propiedades térmicas y cinemáticas de agujeros negros topológicos”.	31
Tesis de Pablo González, del Doctorado en Ciencias Físicas.	
Textos científicos de Lingüística guían más al lector que los de Medicina y Economía.	32
Tesis de Millaray Salas, del Doctorado en Lingüística.	
La Ilustración tuvo una influencia limitada en Chile.	34
Tesis de Alejandra Guerra, del Doctorado en Historia.	
Una mirada actual a la Grecia clásica: el acuerdo es posible gracias al conflicto.	36
Tesis de Patricio Landaeta, del Doctorado en Filosofía.	
“La doctrina agustiniana de la creación y su interpretación en el inicio de la Escuela Franciscana del siglo XIII”.	38
Tesis de Verónica Benavides, del Doctorado en Filosofía.	

Hoy en día, la oferta para realizar estudios de doctorado es amplia y vasta en nuestro país y aun más grande si consideramos el programa de Becas Chile para realizar estudios de postgrado en el extranjero. El creciente número de nuestros estudiantes de doctorado muestran que esta Universidad, una de las con mayor tradición en el país, sigue logrando atraer a talentosos hombres y mujeres jóvenes dotados de curiosidad por el conocimiento de la naturaleza y la sociedad, y que son capaces de asumir el desafío que les impone un exigente programa de doctorado.

La consolidación de una institución como la nuestra se pone de manifiesto en sus investigadores y en el privilegio de contar con estudiantes que nos eligen para realizar sus estudios de doctorado en las más diversas áreas del saber. Este aprendizaje y transmisión continua de conocimiento entre sus académicos y estudiantes han creado una atmósfera de Academia en el sentido clásico de la palabra, la cual se puede vivir en cada una de las facultades de nuestra universidad.

La actitud fundamental de toda persona dedicada a la ciencia o a su enseñanza debe ser la de buscar libremente la verdad, en el sentido de leer, de conocer la naturaleza del universo, del hombre y de la sociedad y de transmitir, de un modo atractivo, los avances más significativos que emergen del cultivo del conocimiento, con una mirada innovadora. En su quehacer cotidiano, en su impacto en el tejido social, la ciencia y la enseñanza de sus disciplinas no puede prescindir del mundo de los valores. Una ciencia que reflexione únicamente sobre los medios y no sobre los fines pierde esencialmente su carácter científico, su condición de libertad. Pasa a ser dependiente de lo que se ha llamado la "razón instrumental", según la cual la razón humana se instrumentaliza teniendo como fin la utilidad y legitimándose por la eficacia. Tal legitimación implica para el quehacer científico pérdida de su necesaria autonomía e independencia y, por ende, de su creatividad.

El científico y el académico tienen la obligación de cultivar, primero, y de transmitir, luego, de manera clara y comprensible a las generaciones futuras, lo mejor de sus conocimientos. En tales afanes el investigador tiene la responsabilidad de ampliar el alcance de sus avances y descubrimientos, reconociendo de esta forma que es la sociedad la que le ha permitido llegar a las metas alcanzadas, dándole respaldo a su trabajo experimental y, muchas veces, liberándolo de otras tareas, tal vez, más pesadas y, por cierto, menos gratificantes. Quienes se encargan de la hermosa tarea científica han de ser conscientes de que otras mentes y otras manos seguirán adelante y completarán su trabajo, en una trayectoria que habrán de replicar y que, puesta en perspectiva, es la que ha dado lugar a los grandes avances que han marcado nuestro devenir como sociedad.

"A los hombres les encanta maravillarse. Esa es la semilla de la ciencia". Esta cita, del filósofo y escritor Ralph Waldo Emerson, expresa fielmente la inquietud y el ánimo que nuestros estudiantes comparten al haber seguido uno de nuestros programas doctorales e iniciarse en el hermoso campo de la investigación.

Por estos motivos, nos enorgullece presentar este primer Anuario de Tesis Doctorales, que reúne las veinte investigaciones desarrolladas por quienes se graduaron en el año 2011. Estas tesis, que conciernen a disciplinas tan diversas como la física, la química, la ingeniería bioquímica, la biotecnología, la acuicultura, la historia, la filosofía y la lingüística, dan cuenta del aporte original y de excelencia que nuestros graduados hacen al desarrollo del pensamiento crítico, al conocimiento científico y la innovación tecnológica.

Joel Saavedra Alvear
Vicerrector de Investigación y Estudios Avanzados
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso

TESIS DE MARÍA FERNANDA FLORES, DEL DOCTORADO EN CIENCIAS
MENCION QUÍMICA

Feromonas sexuales para monitorear y controlar plaga que afecta cultivos frutícolas chilenos

Trabajo apunta a aminorar los efectos de la acción de los chanchitos blancos, que provocan el 30% de los rechazos de cajas de frutas destinadas a exportación.

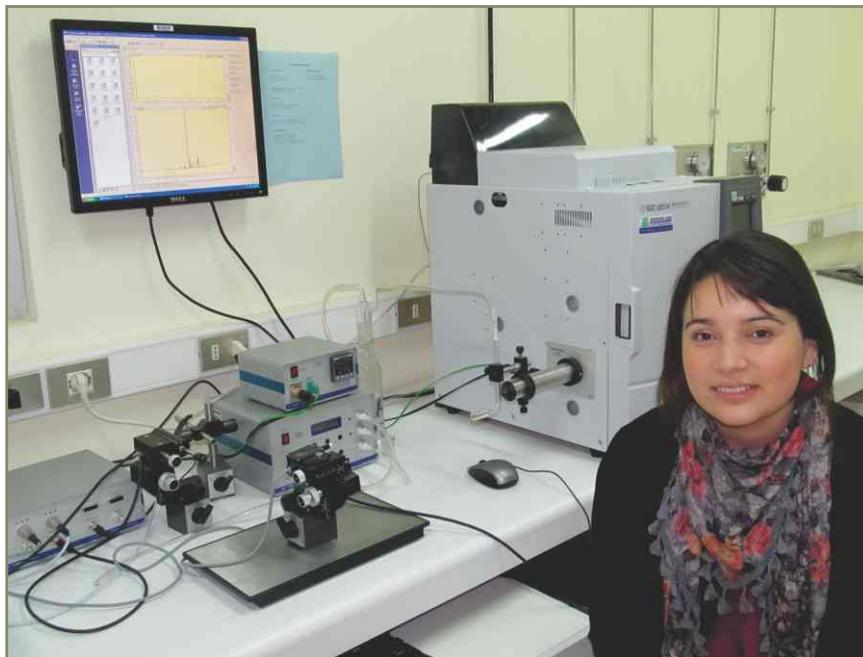
Chile es uno de los principales exportadores frutícolas del Hemisferio Sur y busca convertirse en una de las diez mayores potencias alimentarias del mundo. Un objetivo que demanda aumentar la competitividad del sector agrícola y de la industria agroalimentaria, y dar más valor a sus productos de exportación.

Una de las vallas que el país debe enfrentar para consolidar su protagonismo en el mercado alimentario internacional, radica en las plagas que afectan a los cultivos. En la temporada 2008-2009, por ejemplo, el Servicio Agrícola y Ganadero rechazó 5 millones 200 mil cajas de frutas que tenían como destino el extranjero.

INSECTOS SUCCIONAN TEJIDOS

El treinta por ciento de esos rechazos se debió a la presencia de insectos de la familia *Pseudococcidae*, que incluye a los chanchitos blancos o cochinillas harinosas, especies polífagas, que son plagas de cultivos agrícolas, ornamentales y forestales. Los chanchitos blancos provocan importantes daños por su gran actividad de succión de los tejidos y por la producción de mielecilla.

“En dicha familia de insectos, la plaga de la *Pseudococcus Calceolariae* es una de las más incidentes. Ataca



los cultivos de vid, cítricos, berries y paltos”, explica María Fernanda Flores, químico industrial de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (PUCV).

La profesional desarrolló la investigación “Identificación y síntesis de la feromona sexual de la especie *Pseudococcus Calceolariae*”, con la cual obtuvo el grado de Doctora en Ciencias mención Química.

MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS

María Fernanda Flores comenta que lo habitual es recurrir a métodos tradicionales de control de plagas, como insecticidas. “Sin embargo, las

legislaciones de diversos países están tendiendo a limitar el uso de los insecticidas, por lo que la alternativa es el manejo integral de plagas. En este contexto, una idea es trabajar con feromonas sexuales de los propios insectos”.

Entonces, ella identificó y sintetizó los compuestos volátiles que produce la hembra para atraer al macho, “en orden a que sirvan para controlar la plaga de la *Pseudococcus Calceolariae*”.

Tras criar la especie en laboratorio, coleccionar volátiles, analizar los extractos, sintetizar y hacer ensayos de campo, la hoy doctora probó la efectividad de la feromona en un

cultivo de frambuesas en Nogales. “Notamos que la feromona es activa hasta por dos meses y que cada trampa atrajo a cerca de cinco mil machos, de modo que el compuesto producido y liberado por hembras vírgenes de *Pseudococcus Calceolariae* demostró ser muy atractivo para machos de esta especie”.

A partir de los resultados obtenidos en las evaluaciones de campo, la doctora en Ciencias mención Química propone utilizar las feromonas sexuales de hembras *Pseudococcus Calceolariae* en programas de manejo integrado de plagas para el monitoreo y el control de esta especie en los campos. “Es una medida que implicaría beneficios

ambientales y económicos, aunque no está comprobado que su sola aplicación baste para acabar con la plaga. De hecho, en la agricultura se usan feromonas pero por ahora sólo para monitorear”, destaca la joven investigadora.

SERVICIO A AGRICULTORES

Para el profesor Jan Bergmann, quien dirigió la tesis junto a Gonzalo Buono-Core, “los resultados de este trabajo significan un avance académico, hacia un mayor entendimiento de la comunicación química en los chanchitos blancos. Y, por otro lado, su interés radica en que con la feromona identificada y sintetizada, se proyecta una aplicación concreta, para el uso de

este compuesto en programas de manejo integrado de plagas. Los primeros resultados de campo han sido muy promisorios, de modo que esta tesis doctoral de investigación básica ha sido la base para la formulación de un proyecto de investigación aplicada, que ya está en ejecución”.

De hecho, la tesis sirvió de base a María Fernanda Flores para presentar un proyecto al Primer Concurso de Valorización de la Investigación en la Universidad (VIU), de Fondef, en el que fue uno de los seleccionados en las dos etapas que considera el programa. Así, en estos meses, la doctora PUCV podrá crear la empresa que produzca las trampas naturales y ofrecer el servicio a los agricultores.

Resumen de la tesis

Identificación y Síntesis de la Feromona Sexual de *Pseudococcus calceolariae*

Por María Fernanda Flores

Doctorado en Ciencias mención Química

Directores de tesis: Jan Bergmann y Gonzalo Buono-Core

Los pseudococcus, más conocidos como chanchitos blancos, son una familia de insectos de importancia cuarentenaria que afectan gravemente a la fruticultura chilena, siendo su presencia en la fruta la principal causa de rechazo en inspecciones fitosanitarias.

Ante esta problemática, se estudió la comunicación química intraespecífica de la especie *Pseudococcus calceolariae*, estableciendo consistentemente, a partir de análisis cromatográficos de extractos obtenidos de aireaciones de hembras vírgenes, la presencia de dos compuestos, uno de ellos minoritario identificado como *trans*-crisantemol y uno mayoritario identificado como 2-acetoxi-3-metilbutanoato de crisantemilo, este último responsable del comportamiento

sexual del macho de la especie, capturando en campo 1171 ± 280 machos/trampa.

Luego se determinó que el isómero producido naturalmente corresponde al compuesto (*R*)-2-acetoxi-3-metilbutanoato de (*R,R*)-crisantemilo, el cual fue evaluado en campo, demostrando que no existen diferencias significativas en la respuesta del macho cuando es expuesto al isómero ópticamente puro y a una mezcla isomérica de éste.

Adicionalmente, otros dos ensayos de campo fueron realizados, demostrando la potencialidad para el uso de este compuesto en un programa de manejo integrado de plagas para el monitoreo y control de esta especie en campo.

Compuestos derivados del renio y el hierro tienen gran potencial para atacar el mal de Chagas y la malaria

Investigación permitió comprobar la efectividad de grupos organometálicos provenientes del ciretreno y el ferroceno para combatir ambas enfermedades, que afectan a millones de personas en el mundo.

La enfermedad de Chagas, causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi* (T. cruzi), es una de las endémicas más relevantes en América Central y del Sur. Datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) indican que más de 24 millones de personas en América Latina están infectados o son seropositivos para T. cruzi.

Hasta ahora, el tratamiento farmacológico se ha basado en medicamentos antiguos y muy inespecíficos. Además, los fármacos empleados generan efectos secundarios significativos como neuropatía, anorexia, vómitos, alergias, así como mayor actividad cardíaca y toxicidad renal.

La malaria, en tanto, es una enfermedad tropical causada por parásitos del género *Plasmodium*. De acuerdo a la OMS, cada año hay más de 300 millones de casos clínicos y mueren 1,2 millones de personas.

Para tratar a pacientes infectados con malaria, el medicamento más usado es la cloroquina, pero su generalizada distribución llevó a la aparición de cepas resistentes, que ahora son comunes en todas las zonas endémicas del mundo.

Enfrentar ambas enfermedades demanda, por lo tanto, nuevos



“Este campo (la química bioorganometálica) no ha sido estudiado en el país por nadie más”, destaca Rodrigo Arancibia.

fármacos, más efectivos y seguros.

FRAGMENTOS BIOACTIVOS

Bajo ese contexto ha venido trabajando el Instituto de Química de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, en particular su profesor Hugo Klahn, quien ha estudiado el potencial antiparasitario de compuestos organometálicos, como el ciretreno, proveniente del renio (mineral del que Chile es uno de los

principales productores del mundo), y el ferroceno, que deriva del hierro.

Junto a él ha trabajado el químico industrial Rodrigo Arancibia, quien en su tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias mención Química, diseñó, sintetizó y evaluó la incorporación de los grupos organometálicos ciretrenilo y ferrocenilo (derivados del ciretreno y el ferroceno, respectivamente) en fragmentos bioactivos de fármacos

utilizados para combatir el Chagas y la malaria.

ACCIÓN ANTIPARASITARIA

En su tesis, titulada "Compuestos organometálicos de cyretreno y ferroceno con potencial actividad antiparasitaria", Rodrigo Arancibia evaluó los efectos de dichas entidades organometálicas, "que a diferencia de los fármacos actualmente utilizados, no son tóxicos".

Según los resultados, el ciretreno

es más efectivo en su actividad antiparasitaria. "Es un compuesto que viene siendo estudiado hace varios años y, aunque nosotros esperábamos que ambos tuvieran similar efectividad, el ciretreno presentó mejores resultados".

El director de tesis, profesor Hugo Klahn, resalta que la tesis haya iniciado "el desarrollo en la PUCV de una nueva sub-área de la química, la denominada química bioorganometálica". En efecto,

Rodrigo Arancibia afirma que "este campo no ha sido estudiado en el país por nadie más y, por tanto, el haber analizado muchos compuestos para luego constatar la efectividad del ciretreno y del ferroceno, en particular del primero, es una excelente noticia para nuestra investigación".

Actualmente, Rodrigo Arancibia es investigador post doctoral en el Instituto de Química PUCV, donde continúa la línea de investigación desarrollada en su tesis.

Resumen de la tesis

"Compuestos organometálicos de cyretreno y ferroceno con potencial actividad antiparasitaria"

Por Rodrigo Arancibia

Doctorado en Ciencias mención Química

Director de tesis: Hugo Klahn

En esta tesis doctoral, que se enmarcó en la línea de investigación de la química bioorganometálica, se diseñó, sintetizó y evaluó la incorporación de los grupos organometálicos cyretrenilo ($(5-C_5H_4)Re(CO)_3$) y ferrocenilo ($(5-C_5H_4)Fe(5-C_5H_5)$) en fragmentos bioactivos de fármacos utilizados para combatir las enfermedades parasitarias de Chagas y Malaria.

Tomando en consideración la enfermedad de Chagas, se sintetizaron dos familias de compuestos que incorporaron los fragmentos ferrocenilo o cyretrenilo: i) iminocomplejos derivados de nitrofurano, nitrotiofeno y nitroarenos; y ii) benzoimidazoles. En relación a la enfermedad de Malaria, se sintetizaron dos tipos de complejos cyretrénicos con potencial actividad antipalúdica: i) iminas y aminas derivadas de aminoquinolinas; y ii) chalconas híbridas orgánica-organometálicas o totalmente organometálicas.

En una etapa posterior se procedió a evaluar, al menos de manera preliminar, los efectos que genera

la entidad organometálica en la actividad biológica de los nuevos compuestos frente a cepas del parásito *Trypanosoma cruzi*, responsable del mal de Chagas. La evaluación biológica *in vitro* para los imino complejos y nitrobenzoimidazoles frente a *Trypanosoma cruzi*, dan cuenta de una potente actividad tripanocida para los complejos que presentan el farmacóforo 5-nitrotiofeno, la que fue relacionada con los bajos potenciales de reducción ($E_{1/2} NO_2$) registrados para estos compuestos.

Por su parte, los estudios de la actividad antipalúdica *in vitro* de iminas y aminas cyretrénicas, chalconas y benzoimidazoles frente a cepas de uno de los parásitos responsables de la enfermedad de Malaria (*Plasmodium falciparum*), establecen que todos los compuestos fueron considerados moderadamente activos, al presentar valores de IC₅₀ en la escala μM . Estos resultados fueron correlacionados con la lipofilia a pH = 5,2 determinada para estos compuestos.

“Síntesis, caracterización y potenciales aplicaciones de nuevos materiales poliméricos derivados del pineno”

Por Carolina Ávila

Doctorado en Ciencias mención Química

Directores de tesis: Aurora Molinari y Alfonso Oliva

En esta tesis, se funcionalizó el pineno, transformándolo en compuestos bifuncionales del tipo alcohol, ácido carboxílico, hidroxilácido, amina, éster e isocianato con el fin de emplearlos en reacciones de condensación para formar oligómeros y/o polímeros del tipo éster, amida, éster uretano y éster amida. En la caracterización de los monómeros se emplearon técnicas espectroscópicas de ^1H RMN, ^{13}C RMN e IR.

La caracterización estructural de los productos de condensación se llevó a cabo empleando técnicas espectroscópicas de ^1H RMN, ^{13}C RMN e IR y los pesos moleculares fueron determinados por cromatografía por exclusión de tamaño, encontrándose pesos moleculares que van desde los 300 hasta los 53000

en el caso de algunos poliésteres. Sin embargo, la mayoría de los productos de condensación sintetizados son del tipo oligomérico. Las propiedades térmicas fueron determinadas por TGA y DSC. Los productos de condensación son térmicamente estables en la mayoría de los casos y su morfología es del tipo amorfo o semicristalino.

Estos productos de condensación fueron empleados en estudios de protección de cobre contra la corrosión en medio corrosivo de NaCl al 3,5%, y en un medio medianamente corrosivo de Na_2SO_4 0,1M, donde se encontró que los productos del tipo éster protegen al cobre medianamente contra la corrosión.

“Comportamiento de membranas de nanofiltración en la separación de amonio en solución modelo”

Por Felipe Hurtado

Doctorado en Acuicultura

PUCV – UCH – UCN

Directora de tesis: Beatriz Cancino



Esta investigación tuvo como objetivo evaluar distintas membranas de nanofiltración y de osmosis inversa de baja presión para la remoción de amonio como sistemas alternativos para los tradicionales sistemas de recirculación mediante procesos de nitrificación.

Para el cumplimiento de los objetivos planteados se propuso un diseño experimental de tres fases. La primera de ellas consideró la selección del material (principalmente capa) de la membrana en base a una revisión exhaustiva de bibliografía científico-tecnológica que diera cuenta del material “ad hoc” para

un buen desempeño en el porcentaje de remoción de amonio (RA). Posteriormente, una vez seleccionado el material, se tomó en cuenta modelos y tipos de membranas que se obtengan fácilmente en el mercado, de manera de poder proyectar su implementación. De esta manera, en la segunda fase se realizaron experiencias en una fase estacionaria a distintas presiones transmembranas (PTM), con el fin de encontrar la presión máxima o límite que diera cuenta de un cambio brusco en la RA. Finalmente, en la tercera fase, se realizaron experiencias en orden a evaluar el comportamiento del RA y flux en una fase estacionaria de manera de analizar en el tiempo su desempeño y también en una fase no estacionaria, con el objetivo de evaluar el comportamiento y desempeño del RA y flux a distintas concentraciones en la solución de alimentación. Para cada experiencia descrita anteriormente, se utilizó la PTM máxima obtenida de la segunda fase.

De los principales resultados de esta investigación, se puede mencionar que de las membranas evaluadas que corresponden a las de nanofiltración (NF-270, 200 y 90) y de osmosis inversa de baja presión (DSS-HR98PP), los mejores valores de RA se obtuvieron a pH 7 a condición estacionaria. Los máximos valores de PTM para las membranas de nanofiltración NF-90, NF-200 y NF 270 se obtuvieron a 16 bar, con valores promedio de 100, 98 y 77% de RA, respectivamente. Mientras que para la membrana DSS-HR98PP se obtuvo a una PTM de 24.5 bar con un valor de un 100% en la remoción de amonio. Los valores de flux para las experiencias a pH 5 y 7, para cada una de las membranas evaluadas en una condición estacionaria, no presentaron diferencias significativas. Por otra parte, la membrana que presentó el mayor flux corresponde a la NF-270, con valores de promedio superior en dos veces a la NF-200 y tres veces aproximadamente superior a la membrana NF-90, todas a la misma PTM de 16 bar. Los valores de RA fueron estables para el rango de operación entre los 4.25 y 16 bar de PTM para las membranas de nanofiltración. De igual forma, se pudo observar el mismo comportamiento de RA para la membrana DSS-HR98PP entre los 4.25 y 24.5 bar de PTM.

Del análisis de las membranas de nanofiltración en una fase estacionaria a PTM de 16 bar, se puede indicar que el comportamiento del RA para las membranas NF 200 y NF-90 fue estable en el tiempo sin presentar

diferencias estadísticas, con valores promedio de un 98% para el caso de la NF200 y de un 100% para la NF-90. Mientras que para la membrana NF270 no se pudo observar la misma estabilidad, presentándose un valor promedio de un 87.5% en un rango que fue decreciendo en el tiempo desde valores iniciales de un 90% y finales de un 82% en la RA, con un cambio significativo a partir de los cien minutos de operación. Para el caso de la membrana DSS-HR98PP, su comportamiento en términos de RA es estable en condiciones de operación estacionaria, con un valor promedio de un 99.5%.

En lo que respecta a la condición no estacionaria, los principales resultados de las experiencias nos permiten decir que para las membranas DSS-HR98PP (0.8 - 12.35 mg/L) y NF-90 (1.44 – 11.47 mg/L), los valores de RA no se ven afectados significativamente por el aumento en la concentración de amonio en la alimentación en el rango de operación en esta investigación, manteniéndose una estabilidad en su selectividad con valores promedio de 100% y 99.8, respectivamente. Queda de manifiesto así, en un sentido más estricto, que la fuerza iónica en dichas experiencias no influye en el desempeño de la membrana en los rangos de operación evaluados. Por otra parte, el desempeño del RA para las membranas NF-200 y NF-270 no es estable en una condición no estacionaria en la alimentación. Este comportamiento se traduce en que para el caso de la membrana NF-200, se obtuvo un valor promedio de un 95.8% con una disminución de un 15% en la remoción entre el inicio y fin de la experiencia, mientras que para la membrana NF-270, el valor promedio fue de un 81.5% con una disminución final de un 25% en el RA.

En este contexto, los buenos resultados en la RA se producen principalmente por las propiedades electroquímicas de la superficie de la membrana de poliamida, las cuales son dependientes del material de esta, como de las condiciones de operación en términos del pH de la solución de alimentación, además del tipo y la concentración de la solución iónica utilizada. Producto de los parámetros descritos anteriormente es que los procesos que permiten la remoción eficiente a pH 7 en las membranas evaluadas, se produce principalmente por mecanismos de: disociación ácido/base de los grupos hidrofílicos de la membrana (comportamiento anfotérico), disociación de los grupos hidrofílicos e intercambio por procesos de competencia de iones por parte de los grupos hidrofóbicos.

Compuesto químico-orgánico afecta el desarrollo del piojo de mar, parásito que genera importantes pérdidas en la salmonicultura

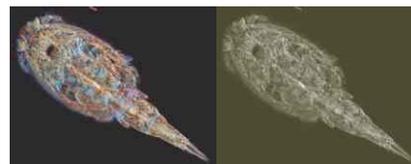
Aldehídos insaturados registran un efecto negativo en la madurez de embriones y en el número de éstos en los sacos ovígeros del piojo de mar, y reducirían la viabilidad larval del *Caligus rogercresseyi*.

La industria nacional del salmón sufre importantes pérdidas económicas por la acción del *Caligus rogercresseyi*, conocido como piojo de mar. El estrés que éste causa puede deprimir la inmunidad de los peces, facilitando que patógenos como la *Piscirickettsia salmonis*, causante del Síndrome Rickettsial del Salmón (SRS), puedan infectar y/o expresar su patogenicidad. También se ha demostrado que los piojos de mar pueden ser vectores del virus de la Anemia Infecciosa del Salmón (ISA).

“La población de *Caligus* es independiente de la presencia de salmones en cultivo. Incluso tiene hospederos naturales de la fauna local. En el medio natural, la población del parásito se regula naturalmente. Sin embargo, se sabe que las condiciones de confinamiento de los

salmones en un cultivo favorecen la infestación y, por consiguiente, a la población del parásito; luego, mientras mayor la densidad de cultivo (número de peces o kilos por metro cúbico de agua), mayor la probabilidad de proliferación de *Caligus*”, explica Gabriel Yany, doctor en ciencias y técnicas de producción animal, y director del Doctorado en Acuicultura de las universidades Católica de Valparaíso, Católica del Norte y de Chile.

El académico PUCV agrega que los peces infestados sufren estrés por la acción del piojo de mar, condición que los predispone a contraer enfermedades bacterianas o virales que producen altos porcentajes de mortalidad, las que pueden alcanzar hasta el noventa por ciento de un plantel. “Por ello es importante



La población del piojo de mar es independiente de la presencia de salmones en cultivo. Incluso tiene hospederos naturales de la fauna local.

eliminar el *Caligus*”, afirma el doctor Yany.

BLOQUEO DE LA EMBRIOGÉNESIS

Lamentablemente, los fármacos hasta ahora empleados no han logrado un control óptimo de la infestación, al punto de que el piojo de mar se ha vuelto algo resistente a ellos. Por esto, se está buscando nuevos medicamentos.

En esa dirección, la investigación ha permitido saber que diatomeas planctónicas (organismos del fitoplancton) y también algunas cianobacterias y rafidofíceas de agua dulce, pueden producir aldehídos insaturados (compuestos químico-orgánicos), como metabolitos secundarios que tienen la propiedad de bloquear la embriogénesis de copépodos calanoideos, que son crustáceos del zooplancton.

José Miguel Troncoso, en su tesis para obtener el grado de Doctor en el programa conjunto de las universidades de Chile, Católica del Norte y Católica de Valparaíso, postuló que dichos metabolitos también afectarían el proceso reproductivo del *Caligus rogercresseyi*.

En su estudio, Troncoso determinó que el aldehído, si bien no tiene efecto



en el desarrollo de hembras ovígeras ni en las larvas, sí registra un efecto negativo en la madurez de embriones y en el número de éstos en los sacos ovígeros del piojo de mar, y que inhibiría la formación del filamento frontal, reduciendo la viabilidad larval

del *Caligus rogercresseyi*.

Vale decir, el ahora doctor en acuicultura identificó al aldehído como un agente que altera el desarrollo del piojo de mar, sin afectar la sobrevivencia del salmón.

Esta investigación fue apoyada

por Ewos, empresa internacional dedicada a la alimentación y la nutrición para la industria acuícola internacional, y donde actualmente José Miguel Troncoso se desempeña. Ewos busca aplicar la investigación y sus resultados.

Resumen de la tesis

“Bloqueo de la madurez gonadal y del desarrollo de embriones y larvas de *Caligus rogercresseyi* (Boxshall y Bravo, 2001), expuestos a distintas concentraciones del aldehído insaturado 2-Trans 4-Trans decadienal”

Por José Miguel Troncoso

Doctorado en Acuicultura

PUCV – UCH – UCN

Director de tesis: Gabriel Yany

El piojo de mar, *Caligus rogercresseyi*, causa importantes pérdidas económicas a la industria nacional del salmón. El estrés causado por éste puede deprimir la inmunidad de los peces, facilitando que patógenos como *Piscirickettsia salmonis*, causante del Síndrome Rickettsial del Salmón (SRS), puedan infectar y/o expresar su patogenicidad. También se ha demostrado que los piojos de mar pueden ser vectores del virus de la Anemia Infecciosa del Salmón (ISA).

El control de la infestación se realiza mediante fármacos de relativa eficacia, razón por la que se hacen importantes esfuerzos para incorporar y mantener la vida útil de nuevos fármacos, que permitan alternar el uso de benzoato de emamectina, como los piretroides (deltametrina y cipermetrina) y el diflubenzurón. Sin embargo, estas drogas ya tienen antecedentes de generar resistencia por los piojos de mar.

La alta tasa de reproducción de *C. rogercresseyi*, asociadas a altas temperaturas en la columna de agua, permite que las infestaciones de estos parásitos se realicen con alta frecuencia, cinco a siete días después de cada tratamiento.

Se ha descrito que algunas diatomeas planctónicas, como *Thalassiosira weissloggi*, *Thalassiosira rotula*, *Skeletonema costatum* y algunas cianobacterias y rafidoficeas de agua dulce, pueden producir aldehídos insaturados, como metabolitos secundarios (2-trans-4-

cis-7-cis-decatrienal, 2-trans-4-trans-7-cis-decatrienal y 2-trans-4-trans-decadienal) que tienen la propiedad de bloquear la embriogénesis de copépodos calanoídeos. Extrapolando, se postuló que estos metabolitos también afectan el proceso reproductivo de *C. rogercresseyi*.

El objetivo general fue determinar el efecto de 2-trans-4-trans-decadienal en la madurez de embriones, número de embriones y en la viabilidad larval de *Caligus rogercresseyi*. Para esto, se evaluó la toxicidad de este compuesto en el salmón salar utilizando el aldehído diluido en agua sobre hembras maduras de *C. rogercresseyi*, en tres concentraciones (0,1 mg/L, 0,5 mg/L y 1,5 mg/L) a distintos tiempos de exposición (un día y diez días) y el aldehído incorporado en el alimento de salmones en dos concentraciones (9ppm y 18ppm).

Los principales resultados fueron: i) el aldehído no sería persistente en el ambiente marino por más de diez días, ii) el aldehído no afecta la sobrevivencia de salmones. iii) el aldehído, administrado en el alimento de salmones, no tuvo efecto en el desarrollo de hembras ovígeras ni en las larvas, pero sí tiene un efecto negativo en la madurez de embriones y en el número de éstos en los sacos ovígeros de *C. rogercresseyi* y iv) el aldehído inhibiría la formación del filamento frontal, reduciendo la viabilidad larval de *C. rogercresseyi*.

“Bioseguridad en efluentes de plantas de proceso de salmónidos, desinfección y control del virus ISA (Anemia Infecciosa del Salmón), para evitar su propagación al mar”

Por Pamela Cañas

Doctorado en Acuicultura

PUCV – UCH – UCN

Director de tesis: Gabriel Yany



La anemia infecciosa del salmón (ISA) es una enfermedad producida por un virus. Su huésped es el salmón del atlántico (*Salmo salar*) y se expresa principalmente en la fase de engorda en el mar, provocando enormes pérdidas y perjuicios a la industria. Es un virus ARN de cadena simple, con cápsida, pleomórfico, de 45 a 140 nm de diámetro, de la familia *Orthomyxoviridae*, especie *Isaviridae*. Es un agente etiológico contaminante de transmisión hídrica que se concentra en los RILES de las plantas de proceso que faenan peces proveniente de zonas ISAv positivo.

En Chile, las plantas de proceso de salmónidos no desinfectaban sus RILES. Al ingresar el virus como epidemia a Chile en julio de 2007, se procedió a normar la desinfección RILES (Resolución 1882/2008 del Servicio Nacional de Pesca). En la actualidad, alrededor del 78% de las plantas de proceso desinfectan sus RILES con hipoclorito de sodio, observándose que existe un desconocimiento del real efecto virucida de este desinfectante en agua de mar; no existe todavía metodologías estandarizadas para detectar virus de peces en agua.

Se postuló como hipótesis que la concentración de hipoclorito de sodio necesaria para lograr una acción virucida efectiva está determinada por los SST presentes en el RIL. Como metodología, se utilizó la demanda de cloro y el Ct del hipoclorito de sodio se determinó mediante el método FAS. La acción virucida del hipoclorito de sodio se midió mediante un virus indicador, el fago MS2 (ATCC 15597f). Este es un fago ARN de cadena simple con cápsida, cuya célula huésped es *E.coli* (ATCC 15597), y es ampliamente utilizado para evaluar la resistencia de los virus a los desinfectantes en agua dulce, no habiéndose

trabajado hasta ahora en agua de mar. Se trabajó con RILES de 100, 300, 700 y 1300 mg/l SST para la verificación de la desinfección y se aplicó las metodologías establecidas en el Standard Methods.

Como resultado se determinó que sobre la demanda de cloro de cada uno de los RILES con diferentes SST, se obtenía una acción virucida con una dosis de 100 mg/l HCl- libre sobre la demanda de cloro entre 10 y 15 minutos de interacción y la materia orgánica que constituye el $\geq 90\%$ de los SST del RIL interactúa con el desinfectante a los 30 minutos. Se observó que al duplicarse la concentración de SST, se debe cuadruplicar la dosis de hipoclorito de sodio para lograr el mismo efecto virucida de 5 órdenes de magnitud sobre el virus MS2. Todos los resultados se ajustaron a una curva cinética de regresión de modelo cuadrático, con una regresión de 0,99.

Se obtuvo una “Curva de Dosificación de HCl- v/s SST” que se aplicó para dosificar el hipoclorito de sodio como desinfectante para inhibir un inóculo de 105 de virus ISA en un cultivo celular SHK-1, donde la detección de la inhibición del virus ISA se determinó mediante las técnicas de qRT-PCR Taqman, IFAT y TCID₅₀, dando como resultado la total inhibición del virus ISA, y este es cuatro veces más sensible al hipoclorito de sodio que el virus MS2. El F+ Bacteriófago MS2 es un excelente virus indicador de eficiencia de desinfección en agua de mar y por su mayor resistencia a los desinfectantes, su aplicación entrega una dosificación del desinfectante que es biosegura para inactivar el virus ISA en los RILES de las plantas de proceso de salmónidos. Así, se controla la diseminación del virus ISA en el origen, evitando su propagación al mar.

“Producción y caracterización de alcohol deshidrogenasas nad⁺ dependientes para la oxidación de alcoholes alifáticos superiores”

Por Lorena Álvarez

Doctorado en Biotecnología

PUCV – USM

Directores de tesis: Andrés Illanes y Fernando Acevedo



El proceso Kraft para la producción de pulpa de celulosa genera residuos que tienen un gran potencial de revalorización. Una de las fracciones que se puede obtener a partir del residuo conocido como jabón de licor negro es denominada fracción neutra liviana, la cual contiene principalmente policosanoles, dentro de los cuales se destacan los alcoholes primarios alifáticos de 22 y 24 carbonos denominados docosanol y tetracosanol respectivamente. La producción de ácidos grasos de cadena larga por oxidación de los policosanoles (docosanol y tetracosanol) obtenidos del jabón de licor negro posee una importante utilidad en la industria farmacéutica, alimenticia y cosmética.

Esta tesis tuvo como objetivo central seleccionar microorganismos productores de alcohol deshidrogenasas e inducir en ellos la producción de una enzima alcohol deshidrogenasa con capacidad de oxidación de alcoholes de 22 y 24 átomos de carbono adicionando al cultivo alcanos o alcoholes. Para ello se estudiaron siete cepas entre las cuales se encontraba una cepa mesófila (*Candida tropicalis* ATCC20336), una termófila (*Thermus* AB1) y cinco termófilas extremas (*Thermus thermophilus* HB27, HNI11, NR17, PRQ16, PRQ25). Sólo *Candida tropicalis* ATCC20336, *Thermus* AB1 y *Thermus thermophilus* PRQ25 lograron producir mediante la utilización de los agentes inductores hexacosanol, docosanol y eicosanol respectivamente una alcohol deshidrogenasa con capacidad de oxidar alcoholes de 14, 22 y 24 átomos de carbonos. La actividad máxima de oxidación sobre tetracosanol, docosanol y tetracosanol se obtuvo con la enzima proveniente de *Candida tropicalis* ATCC20336 con valores de 86,7; 196,9 y 218,8 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de proteína respectivamente. Los más altos niveles de enzima se obtuvieron cuando el inductor es añadido al inicio de la fermentación y las células recolectadas al comienzo de la fase estacionaria

(entre 100 y 140 h de fermentación).

La purificación de las enzimas alcohol deshidrogenasas provenientes de *Candida tropicalis* ATCC 20336, *Thermus* AB1 y *Thermus thermophilus* PRQ 25 se logró mediante el uso de una mezcla de matrices cromatográficas de tipo catiónicas y aniónicas con factores de purificación de 39, 237 y 567 respectivamente y rendimientos en actividad de 24% para *Candida tropicalis* ATCC 20336 y de 36% para las enzimas de *Thermus* AB1 y *Thermus thermophilus* PRQ 25.

Los mejores biocatalizadores fueron obtenidos al inmovilizar las enzimas de *Candida tropicalis* ATCC 20336, *Thermus* AB1 y *Thermus thermophilus* PRQ 25 en glioxil agarosa BCL por medio de unión covalente multipuntual, obteniéndose valores de actividad de 1,84; 1,82 y 2,09 $\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ soporte respectivamente, valores determinados sobre tetracosanol como sustrato de la reacción enzimática. La máxima actividad fue registrada a pH 7,0; 50°C para *Candida tropicalis* ATCC 20336, 60°C *Thermus* AB1 y 70°C *Thermus thermophilus* PRQ 25, en presencia de 2mM FeSO_4 .

Estudios de la conversión de los alcoholes de 14, 22 y 24 carbonos revelaron que la alcohol deshidrogenasa de *Candida tropicalis* ATCC 20336 inmovilizada en glioxil agarosa es el mejor biocatalizador para realizar la oxidación de tetradecanol, observándose el mayor grado de conversión (84%) luego de 72 horas de reacción con un rendimiento en ácido tetradecanoico de 67% y sólo un 17% en tetradecanal. En cambio, la alcohol deshidrogenasa de *Thermus thermophilus* PRQ 25 es mejor para llevar a cabo la reacción de oxidación de docosanol y tetracosanol, con valores de conversión del 85,9% y 78,7% respectivamente y rendimientos en ácido docosanoico de 61,7% y ácido tetracosanoico 35,8% respectivamente.

Conversión a biodiesel aumenta su rendimiento usando lipasa como biocatalizador

El agotamiento de las reservas de petróleo ha llevado al desarrollo de muchos proyectos destinados a generar biocombustibles como energías alternativas renovables. Entre éstos, el biodiesel, producido principalmente mediante la transesterificación de triglicéridos con un alcohol en presencia de un catalizador.

Eduardo Caballero, para obtener el grado de Doctor en Biotecnología por las universidades Católica de Valparaíso y Santa María, consideró dichos antecedentes y planteó como hipótesis que la máxima conversión de biodiesel, usando agregados enzimáticos entrecruzados (CLEAs) de lipasa como biocatalizadores, registra un incremento al evitar el contacto de éstos con glicerol, siendo el objetivo general la obtención de un CLEA de lipasa capaz de llevar a cabo la producción de biodiesel a altos rendimientos de conversión (>92%).

“Estas lipasas se pueden usar en forma soluble, con lo que hacen su trabajo como catalizadores en la reacción, pero no se pueden recuperar



Eduardo Caballero buscó entregar una alternativa ambientalmente más amigable para la producción de biodiesel.

Estudio dio un paso en demostrar que se puede generar biocatalizadores que produzcan altos rendimientos de conversión y con una forma barata de inmovilizar la lipasa. Un aporte significativo en el ámbito de las energías alternativas renovables.

para ser reutilizadas, lo que es una pérdida para un proceso industrial debido al alto costo de las enzimas como la lipasa. Por eso, en la tesis estudié un método de inmovilizarla (que son los CLEAs) para que la lipasa estuviese presente en forma sólida en el medio de reacción y pudiese ser recuperada y reutilizada en reacciones secuenciales y así aprovechar al máximo el potencial de estos biocatalizadores”.

NO SE GENERA RILES

El también ingeniero civil bioquímico PUCV se enfocó en entregar una alternativa ambientalmente más amigable para la producción de biodiesel, “ya que actualmente se produce usando como catalizador una solución concentrada de NaOH (hidróxido de sodio o soda cáustica), lo que genera altas conversiones pero también residuos líquidos industriales (RILES) que deben ser tratados para poder verterlos. En cambio, al usar la lipasa como biocatalizador, no se genera RILES”.

El segundo problema abordado se relacionó con las desventajas de los biocatalizadores que se habían estudiado hasta la actualidad, “los que sólo alcanzaban rendimientos de conversión de setenta a ochenta por ciento para reacciones por lote, debido principalmente a que el glicerol se deposita en la superficie de la lipasa inmovilizada, lo que evita

que siga catalizando la reacción”.

“Tomando como premisa que el medio de reacción es una mezcla de aceite de raps y etanol, lo que da una mezcla mayormente apolar (no afín con el agua) y que el glicerol que se produce es polar (afín al agua), se planteó la solución de generar un CLEA con una superficie hidrofóbica, lo que lo haría más afín con el medio de reacción y menos afín al glicerol, evitando que este último se deposite en la superficie del CLEA (lipasa inmovilizada), obteniendo finalmente rendimientos de conversión cercanos al 97 por ciento, lo mayor obtenido en una reacción por lote con un biocatalizador”.

Es decir, la hipótesis del actual investigador del Centro Regional de Estudios en Alimentos Saludables fue apropiadamente contrastada y verificada.

Eduardo Caballero concluye que “la aplicación de biocatalizadores para la producción de biodiesel aún no se ha llevado a cabo a nivel industrial debido al alto precio de las lipasas, pero mi estudio dio un paso en demostrar que se puede generar biocatalizadores que produzcan una alta conversión y con una forma barata de inmovilizar la lipasa. Al tenerla inmovilizada y poder reutilizarla, se puede disminuir el costo de la lipasa según el número de reacciones que logre catalizar. Por esta línea se seguirá avanzando en el futuro cercano”.

“Desarrollo de estrategias para el aumento del rendimiento de conversión a alquil ésteres de ácidos grasos (biodiesel) mediante el uso de cleas de lipasa como catalizador de la reacción de transesterificación a partir de aceite de raps canola”

Por Eduardo Caballero

Doctorado en Biotecnología

PUCV – USM

Director de tesis: Germán Aroca

Debido al inminente agotamiento de las reservas de petróleo se ha desarrollado una gran cantidad de proyectos destinados a la generación de biocombustibles como energías alternativas renovables, dentro de los cuales se encuentra el biodiesel (alquil ésteres de ácidos grasos), el que se produce principalmente mediante la transesterificación de triglicéridos con un alcohol en presencia de un catalizador.

Se planteó como hipótesis que la máxima conversión de alquil ésteres de ácidos grasos usando agregados enzimáticos entrecruzados (CLEAs) de lipasa como biocatalizadores se ve incrementada al evitar el contacto de éste con glicerol, siendo el objetivo general la obtención de un CLEA de lipasa capaz de llevar a cabo la producción de biodiesel a altos rendimientos de conversión (>92%).

Los objetivos específicos incluyeron la selección de una lipasa no inmovilizada, la determinación de las condiciones para la preparación de CLEAs, la obtención de las mejores condiciones de producción de biodiesel y la evaluación de la adición de una superficie hidrofílica al medio de reacción o el uso de CLEAs con superficie hidrofóbica respecto al rendimiento de conversión de biodiesel.

Las principales metodologías para llevar a cabo las actividades fueron la medición de la actividad de síntesis del biocatalizador (donde se utiliza p-nitrofenolpalmitato y etanol como sustratos de la reacción de transesterificación) y la cuantificación de alquil ésteres de ácidos grasos mediante cromatografía de gases basada en la cuantificación de los ácidglicéridos remanentes en el medio de reacción.

Dentro de los resultados se destacan los siguientes: la selección de la lipasa PS de *Burkholderia cepacia* con una actividad de síntesis de 1290,7Us/g_{proteína}. La obtención de un CLEA con una actividad de síntesis óptima de 163,3Us/g_{CLEA} preparado con polímeros de glutaraldehído a pH 11,2, concentración de

glutaraldehído de 36,8mM y una razón enzima/albúmina de 18,4mg/mg, sin embargo, el rendimiento de conversión obtenido con este CLEA es de 72,9%p/p. La adición de una superficie hidrofílica no catalítica al medio de reacción, logrando obtener un máximo rendimiento de conversión de 91,3%p/p usando un 34,2% de sílica gel y 10% de CLEA de lipasa. La preparación de un CLEA de lipasa con superficie hidrofóbica, logrando una conversión máxima de 97%p/p con un CLEA preparado con hexametilenediamina (HMDA) como agente de entrecruzamiento y propiltrióxosilano (PTES) para hidrofobizar la superficie. Este biocatalizador ha sido reutilizado, obteniendo un 94,5%p/p de conversión en el segundo lote de reacción y un 93,2%p/p de conversión en el tercero.

Según los resultados obtenidos, se puede mencionar que la selección de la lipasa utilizando la actividad de síntesis como criterio, se presenta como un método fácil, rápido y bien correlacionado con los resultados de otros autores. Respecto de la optimización de las condiciones para la preparación de un CLEA de lipasa, se ha logrado establecer que el uso de polímeros de glutaraldehído tiene un efecto positivo en la actividad de síntesis del biocatalizador. Por otra parte, tanto la adición de una superficie hidrofílica (sílica gel) en el medio de reacción como el uso de un CLEA de lipasa con superficie hidrofóbica, generan un aumento del rendimiento de conversión de biodiesel al evitar el contacto de la superficie del biocatalizador con el glicerol, el que incrementaría la incidencia de las restricciones difusionales externas.

Finalmente, se concluye que la hipótesis ha sido apropiadamente contrastada y verificada, obteniendo como mejor resultado la elaboración del CLEA con superficie hidrofóbica preparado con HMDA y PTES, el que se presenta como un biocatalizador que logra altos rendimientos de conversión y puede ser reutilizado sin perder mayormente su potencial catalítico.

TESIS DE ROMINA ÁLVAREZ, DEL DOCTORADO EN BIOTECNOLOGÍA

Levadura surge como opción para alimentar a salmones, ante menor producción de harina y aceite de pescado

Se comprobó que la combinación de metanol y magnesio fue la más efectiva para obtener Pichia Angusta DL-1, pues arrojó la mayor proporción de lípidos y proteínas, componentes dominantes en la alimentación del salmón.

La industria del cultivo del salmón y la trucha no sólo enfrenta desafíos en el ámbito sanitario. Uno de sus principales costos está en la alimentación de los ejemplares, consistente sobre todo en harina de pescado y aceite de pescado. “Dos insumos cuya producción va a la baja en el mercado mundial, a pesar de que la demanda ha seguido aumentando”, explica Romina Álvarez, ingeniero civil bioquímico de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (PUCV).

Ello avala la pertinencia de la tesis con la que la profesional obtuvo el grado de Doctora en Biotecnología, en el programa conjunto que imparten la PUCV y la Universidad Técnica Federico Santa María: “Determinación de las condiciones de cultivo de Pichia Angusta DL-1 para obtener biomasa de alto valor nutricional para la formulación de alimento para salmones”.

“Una alternativa para alimentar a los salmones está en los

microorganismos. Entre éstos, la levadura Pichia Angusta DL-1 que, a diferencia de otras levaduras, no tiene implicancias patógenas en el animal que la consume”, explica Romina Álvarez, actualmente asesora de investigación científica escolar del Programa Explora en Valparaíso, de Conicyt, y docente del Magíster en Ciencias de la Ingeniería mención Ingeniería Bioquímica de la PUCV.

CHILE PRODUCE MUCHO METANOL

La Pichia Angusta DL-1 requiere una fuente de carbono para su generación. Romina Álvarez eligió el metanol: “es el alcohol más sencillo; puede ser elaborado a partir de gas natural, carbón, petróleo, biogás, etcétera; y Chile produce un décimo de las casi cuarenta millones de toneladas que anualmente se producen en el mundo”.

Para dar de comer a 1,4 millones de toneladas de salmón, es necesario

contar con 260 toneladas de metanol, lo que equivale al siete por ciento de la producción nacional. “Disponemos de metanol suficiente para alimentar al salmón y seguir haciéndolo por años”, destaca la investigadora.

En el desarrollo del estudio, probó diversas combinaciones para obtener biomasa con el mayor valor nutricional posible. “De las alternativas manejadas, la de mejor resultado fue la de metanol y magnesio, porque presentó la mayor proporción de lípidos y proteínas, los componentes dominantes en la alimentación del salmón”.

La doctora anota que, hasta ahora, la industria salmonera chilena ha preferido recurrir a fuentes vegetales para alimentar a los peces. “En otros países, ya se emplea microorganismos -como la Pichia Angusta DL-1- para alimentarlos y creo que en el corto plazo las empresas en Chile tendrán que considerarlo”, prevé Romina Álvarez.

Así lo considera también el profesor Fernando Acevedo, quien dirigió la tesis: “ésta explora la posibilidad de ayudar a resolver el problema de la alimentación de salmones y truchas mediante el cultivo de levaduras en base a una materia prima abundante y de precio moderado, el metanol, que no compite con la producción de otros alimentos. Los resultados obtenidos son prometedores y justifican posteriores estudios a mayores escalas”.



“Chile dispone de metanol suficiente para producir levadura y seguir haciéndolo por años”, destaca Romina Álvarez.

“Determinación de las condiciones de cultivo de *Pichia Angusta* DL-1 para obtener biomasa de alto valor nutricional para la formulación de alimento para salmones”

Por Romina Álvarez

Doctorado en Biotecnología

PUCV – USM

Director de tesis: Fernando Acevedo

En Chile, la actividad acuícola se ha basado principalmente en el cultivo de especies de salmónidos. En la actualidad, existen problemas sanitarios que afectan al sector, vinculados principalmente con brotes de anemia infecciosa del salmón (ISA), pero para el año 2011 se esperaba lograr disminuir el riesgo sanitario y de esta manera la salmonicultura crecería a un ritmo de un veinte por ciento anual.

Dentro de la acuicultura, la nutrición de peces se ha convertido en una de las áreas de investigación y desarrollo más importantes, debido a que los costos de alimentación generalmente constituyen la fracción más significativa dentro de los costos de operación de las empresas dedicadas al cultivo de estos organismos acuáticos.

La disponibilidad mundial de harina y aceite de pescado, principales fuentes de proteínas y lípidos en la alimentación de salmónidos, ha disminuido, por lo que se espera una escasez que podría afectar en forma importante a la acuicultura mundial y en particular a la industria salmonera chilena. Una solución posible a este problema sería complementar la utilización de harina y aceite de pescado con la utilización de una fuente de proteínas y lípidos de origen no convencional, como es el caso de los microorganismos, ya que son ricos en proteínas, lípidos y vitaminas y ofrecen numerosas ventajas en su producción.

Este trabajo tuvo como objetivo central determinar las condiciones de cultivo de la levadura metilotrófica *Pichia angusta* DL-1 en cuanto a la limitación de nutrientes, para obtener biomasa de composición macromolecular adecuada para la formulación de alimento para salmones. Para ello se cultivó la levadura en un medio con metanol como fuente de carbono y energía en la modalidad de cultivo continuo, y se trabajó a distintas tasas de dilución, evaluando el contenido de proteínas, lípidos y RNA de esta levadura cultivada bajo condiciones de limitación por distintos nutrientes, tanto en forma simple como doble, en estado estacionario y también en régimen transitorio. En forma adicional se analizó el perfil de ácidos grasos obtenido en cada experiencia.

Se obtuvo que la limitación simple con un nutriente distinto a la fuente de carbono y energía y la limitación doble de nutrientes heterólogos, permiten modificar la composición macromolecular de la levadura debido no sólo a la acumulación de lípidos, sino también a su efecto en la cantidad de proteína total sintetizada. El mayor contenido de proteínas (61,8%) se logró en el cultivo realizado con limitación por nitrógeno-magnesio a una tasa de dilución de 0,11 h⁻¹. Y la máxima acumulación de lípidos se obtuvo cuando el cultivo fue limitado por nitrógeno-fósforo y por carbono-magnesio, alcanzando un valor de 35%, valor superior al máximo alcanzado con limitación simple (30,4%) y que equivale a un poco más del doble de lo obtenido en modalidad lote.

Los perfiles de ácidos grasos de los cultivos realizados tanto en modalidad lote como continua, nos indican que esta levadura contiene una cantidad importante de ácidos grasos insaturados, como los ácidos oleico, linoleico y linolénico, en relación al contenido total de ácidos grasos. Estos ácidos grasos son considerados fundamentales en la dieta de peces, ya que no los pueden sintetizar y específicamente en salmones son precursores de ácidos grasos omega-3, como el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA), indispensables para el normal crecimiento y desarrollo del pez.

En relación al estudio en régimen transitorio, las mediciones realizadas no mostraron cambios significativos tanto en el crecimiento celular de la levadura como en su composición macromolecular.

Finalmente, basándonos en los requerimientos nutricionales de los salmones, la mejor relación lípidos-proteínas se obtuvo en el cultivo limitado por carbono-magnesio a una tasa de dilución de 0,07 h⁻¹, donde el contenido de proteínas fue 51,9% y de lípidos 34,8%. En estas condiciones, la productividad volumétrica celular obtenida fue 0,033 g/L·h.

Estos resultados hacen considerar a la levadura metilotrófica *Pichia angusta* DL-1 como una interesante alternativa de complemento alimenticio en la formulación de alimentos para salmones.

Buscando opciones para combatir más efectivamente enfermedad que ataca a salmones

Ante la baja efectividad de las vacunas comercializadas actualmente contra la *P. salmonis*, una de las bacterias más persistentes que ataca los cultivos, investigadora trabajó con individuos naturalmente resistentes al mal provocado por dicho patógeno.

Entre los muchos patógenos que atacan a los salmones y provocan grandes pérdidas a la salmonicultura chilena, la bacteria *Piscirickettsia salmonis* (*P. salmonis*) es uno de los más relevantes: ella genera la Septicemia Rickettsial Salmonídea (SRS), la que desde su aparición en 1989 ha evolucionado con brotes más insidiosos, refractarios a tratamientos orales, y con un aumento de su virulencia hacia la trucha arcoiris y el salmón del Atlántico.

En algunas temporadas de cultivo, incluso, ha causado la muerte de uno de cada dos salmones en fase de engorda.

Lamentablemente, las vacunas comercializadas contra la *P. salmonis* han sido de baja efectividad, por lo que ha surgido como opción la selección de individuos naturalmente resistentes a la enfermedad. El uso de marcadores genéticos que asistan en la selección permite acelerar el proceso y, según se ha observado, genes del sistema inmunológico, como los del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC), serían los indicados, porque están estrechamente ligados con la resistencia o susceptibilidad a enfermedades en diversos animales,

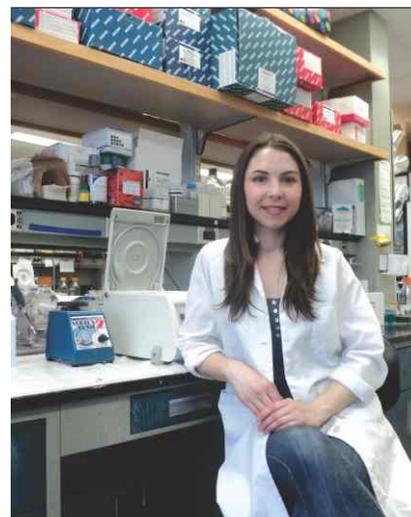
incluyendo los salmónidos.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Dados esos y otros antecedentes, Daniela Gómez desarrolló la investigación "Selección de alelos del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) de salmónidos como indicadores de resistencia o susceptibilidad a *Piscirickettsia salmonis*", con la cual obtuvo el grado de Doctora en Biotecnología, otorgado por las universidades Católica de Valparaíso y Santa María.

En su tesis, identificó y caracterizó alelos del MHC de clase I y II como marcadores inmunogenéticos de resistencia y/o susceptibilidad a *Piscirickettsia salmonis* en peces salmónidos de cultivo. Para lograrlo, trabajó con las tres especies salmónidas mayormente cultivadas en Chile: *Salmo salar*, *Oncorhynchus mykiss* y *Oncorhynchus kisutch*, utilizando muestras tanto de peces expuestos a brotes naturales de piscirickettsiosis en centros de cultivo del país, como de peces provenientes de ensayos de desafío controlados con la bacteria.

En concreto, Daniela Gómez extrajo el ADN de un pez y amplificó



Actualmente, Daniela Gómez realiza un post doctorado en el laboratorio del doctor Oriol Sunyer, en la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad de Pennsylvania. El doctor Sunyer es uno de los más reconocidos a nivel mundial en el estudio del sistema inmune de peces.

un gen específico relacionado con el sistema inmune (gen del Complejo Mayor de Histocompatibilidad). "Gracias al análisis estadístico descubrimos que ciertos alelos de estos genes se relacionaban con más resistencia a la enfermedad", explica la hoy doctora, cuya tesis fue guiada por Sergio Marshall, profesor del Instituto de Biología PUCV y quien ha trabajado con la bacteria *Piscirickettsia salmonis* durante muchos años, estudiando su patogénesis y buscando posibles vacunas.

Daniela Gómez cuenta que "los resultados obtenidos ya están siendo utilizados en orden a seleccionar a los reproductores que poseen los alelos del MHC que, según encontramos, estaban relacionados con resistencia a *P. salmonis*".

“Selección de alelos del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) de salmónidos como indicadores de resistencia o susceptibilidad a *Piscirickettsia salmonis*”

Por Daniela Gómez

Doctorado en Biotecnología

PUCV – USM

Director de tesis: Sergio Marshall

La creciente industria salmonicultora nacional se ha visto constantemente amenazada por diversos patógenos que causan grandes pérdidas y debilitan la capacidad exportadora nacional. Entre ellos destaca especialmente la bacteria *Piscirickettsia salmonis* (*P. salmonis*), por ser una de las amenazas más antiguas y persistentes de la industria.

Debido a la baja efectividad de las vacunas comercializadas actualmente contra *P. salmonis*, se presenta como alternativa la selección de individuos naturalmente resistentes a la enfermedad. En esto, el uso de marcadores genéticos que asistan en la selección permite acelerar el proceso, y se ha visto que genes del sistema inmunológico, como los del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC), serían los indicados, dado que están estrechamente ligados con la resistencia o susceptibilidad a enfermedades en diversos animales, incluyendo salmónidos.

El MHC corresponde a una región de genes muy polimórficos cuyos productos están implicados en la generación de la respuesta inmune. Específicamente los productos de los genes de MHC clase I y II son los encargados de presentar en la superficie de algunas células fragmentos de los antígenos exógenos a los linfocitos T, participando directamente en la generación de la respuesta inmune adaptativa.

En salmónidos, los genes del MHC clase I y II presentan funciones y estructura similares a los humanos, con la diferencia distintiva de que en peces estos genes no forman un complejo, permitiendo una mayor variabilidad génica. Estudios de polimorfismos del MHC de salmónidos han demostrado que se expresa principalmente una combinación singular de locus clásicos alfa y beta de MHC clase II: DAA y DAB, y un único locus clásico de MHC clase I: UBA.

Dados los antecedentes anteriores, en esta tesis se presenta la identificación y caracterización de alelos del MHC de clase I y II como marcadores inmunogenéticos de resistencia y/o susceptibilidad a *Piscirickettsia salmonis* en peces salmónidos de cultivo. Para

lograrlo, se trabajó con las tres especies salmónidas mayormente cultivadas en Chile: *Salmo salar*, *Oncorhynchus mykiss* y *Oncorhynchus kisutch*, utilizando muestras tanto de peces expuestos a brotes naturales de piscirickettsiosis en centros de cultivo del país, así como de peces provenientes de ensayos de desafío controlados con la bacteria. Para el estudio de la diversidad alélica del MHC, se utilizaron principalmente técnicas de PCR, electroforesis en geles de gradiente denaturante (DGGE) y secuenciación de DNA, combinado con diversos análisis de bioinformática, genética de poblaciones y de estadística.

Nuestros resultados para el MHC clase I mostraron la presencia de genes no-clásicos y pseudogenes, los que en conjunto dificultaron el análisis para determinar la eventual asociación de estos alelos con la resistencia y/o susceptibilidad a enfermedades. Sin embargo, para el MHC clase II se logró una caracterización específica de los locus deseados, encontrando un alto nivel de diversidad alélica en las muestras estudiadas, muy similar al reportado para poblaciones naturales. Con estos datos se realizó un análisis evolutivo sobre los orígenes de la diversidad del MHC clase II alfa y beta en salmónidos, concluyendo que tanto la recombinación como la selección positiva son dos elementos importantes en la generación de diversidad de estas moléculas.

Finalmente, la comparación de individuos sobrevivientes versus las mortalidades a causa del patógeno, tanto en el escenario de centros de cultivo naturalmente infectados como en los ensayos de desafío controlado, nos permitieron definir alelos altamente asociados con resistencia y/o susceptibilidad a la bacteria *Piscirickettsia salmonis* para las tres especies analizadas. En este sentido, los resultados obtenidos proyectan el uso de estos alelos del MHC clase II, como potenciales marcadores de selección de reproductores salmónidos que generen progenies resistentes a la enfermedad.

TESIS DE CAROLINA PIZARRO, DEL DOCTORADO EN BIOTECNOLOGÍA

Modificación enzimática del aceite de pescado, una buena opción para concentrar ácidos Omega-3

Investigación apuntó a obtener ácidos grasos poliinsaturados EPA y DHA mediante diferentes estrategias de inmovilización de lipasas.

La modificación de triacilglicerol (TAG, un tipo de lípidos) de aceite de pescado mediante tecnología enzimática ha sido propuesta como alternativa frente a la hidrólisis química para la concentración de ácido eicosapentanoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA), ambos ácidos grasos poliinsaturados Omega-3 asociados a múltiples beneficios para la salud.

En "Estudio de sistemas de reacción de hidrólisis de aceite de pescado para la obtención de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga EPA y DHA mediante diferentes estrategias de inmovilización de lipasas", su tesis doctoral para optar al grado de Doctora en Biotecnología, Carolina Pizarro Torres, ingeniero civil bioquímico de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, propuso la modificación enzimática de aceite de pescado como una alternativa para concentrar EPA y DHA.

La profesional, quien actualmente se desempeña como docente en varias universidades de Santiago, plantea que "la hidrólisis selectiva de ciertas lipasas permite obtener glicéridos de Omega-3, preferidos por su mayor biodisponibilidad en el organismo. La inmovilización -adsorción al soporte- de lipasas puede

modular su selectividad y, basada en esto, busqué establecer un sistema de hidrólisis de aceite de pescado utilizando lipasas inmovilizadas para concentrar EPA+DHA en glicéridos a valores superiores al obtenido con la enzima soluble".

Carolina Pizarro explica que "la inmovilización hidrofóbica implica que la enzima se adsorbe ('se pega') al soporte mediante interacciones hidrofóbicas. Esto sucede porque el soporte es de naturaleza hidrofóbica en su superficie y la enzima, por su parte, tiene zonas que también lo son. Así se produce esta afinidad y se produce la unión".

Según explica la hoy doctora,

"mediante este estudio se pudo determinar el sistema de inmovilización más apropiado para la aplicación estudiada, considerando la productividad específica acumulada por lote de reacción y la capacidad de reutilización de soporte de inmovilización".

"Si este trabajo se aplicara, se podría obtener ácidos grasos Omega-3 en la estructura de glicéridos, que es más biodisponible en el organismo. Y estos ácidos tienen relevancia en el mercado de los nutracéuticos", concluye Carolina Pizarro, doctora en Biotecnología por las universidades Católica de Valparaíso y Técnica Federico Santa María.



El trabajo de investigación de Carolina Pizarro podría tener aplicaciones en la industria de los nutracéuticos.

“Estudio de sistemas de reacción de hidrólisis de aceite de pescado para la obtención de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga EPA y DHA mediante diferentes estrategias de inmovilización de lipasas”

Por Carolina Pizarro

Doctorado en Biotecnología

PUCV – USM

Director de tesis: Rolando Chamy

La modificación de triacilglicerol (TAG) de aceite de pescado mediante tecnología enzimática ha sido propuesta como alternativa frente a hidrólisis química para la concentración de EPA y DHA; ácidos grasos poliinsaturados Omega-3 asociados a múltiples beneficios para la salud.

La hidrólisis de TAG presenta la ventaja de utilizar una simple reacción con un único sustrato, a diferencia de la reacción de esterificación, en la cual se requieren los dadores de acilo como etil-ésteres o alcoholes.

La selectividad de hidrólisis de ciertas lipasas permite obtener Omega-3 en forma de glicéridos, los cuales son preferibles a los etil-ésteres pues presentan una mayor biodisponibilidad en el organismo.

La inmovilización de lipasas, además de aumentar su estabilidad, modifica el microentorno de ésta, lo que permitiría modular su selectividad frente a un determinado sustrato.

Basado en esto, el presente estudio tuvo como objetivo establecer un sistema de hidrólisis enzimática de aceite de pescado utilizando lipasas inmovilizadas, con el fin de concentrar EPA+DHA en glicéridos en un valor superior al obtenido con la enzima soluble. Bajo esta perspectiva, se evaluó el potencial de hidrólisis de aceite de pescado de diferentes lipasas mediante el propuesto parámetro de índice de selectividad (IS).

La lipasa de *Candida cylindracea* (CCL) presentó el mayor porcentaje de hidrólisis de aceite de pescado correspondiente a 69,1% a las 48 horas de reacción y un IS de 3,8. Diferentes soportes y estrategias de inmovilización fueron aplicadas a CCL: inmovilización por adsorción mediante interacciones

hidrofóbicas, inmovilización por adsorción mediante interacciones hidrofóbicas combinada con entrecruzamiento con polímeros funcionales, inmovilización por adsorción mediante interacciones iónicas, e inmovilización por enlace covalente.

Se obtuvo que la inmovilización modula negativamente la selectividad de CCL para efectos del objetivo planteado; los IS disminuyeron respecto al obtenido con la lipasa soluble, donde el derivado de CCL inmovilizada en octil-agarosa (O-CCL) presentó el mayor IS (2,7). Sin embargo, la estabilidad de la lipasa inmovilizada aumenta considerablemente; el tiempo de vida media de O-CCL es de 275 a 40°C mientras que para CCL es de 2 horas a igual temperatura.

En otro aspecto, la presencia de solventes/co-solventes en el medio de reacción (SR III) permitió lograr un 90,8% de hidrólisis de aceite de pescado a las 48 horas de reacción, no obstante, se disminuyó la capacidad de reutilización del derivado en lotes sucesivos tras ciclos de reuso del soporte.

Finalmente el sistema de reacción SR II, correspondiente al derivado O-CCL en ausencia de solventes/co-solventes en el medio de reacción, se consideró el más apropiado para la aplicación estudiada. Con este sistema de reacción se obtuvo la mayor productividad específica acumulada (144,1 g aceite hidrolizado/g CCL*h), y presenta mejor capacidad de reuso de soporte, además en términos económicos, a partir del segundo ciclo utilizando el soporte reciclado, los costos del aceite hidrolizado no sólo se igualan a los del sistema SR I (lipasa soluble), sino que además son inferiores a éstos.

“Aplicación de tecnología enzimática en la extracción de antioxidantes fenólicos desde residuos de la agroindustria”

Por Liza Laroze

Doctorado en Biotecnología

PUCV – USM

Directora de tesis: María Elvira Zúñiga

En una primera etapa de este trabajo, se caracterizó materiales residuales derivados del procesamiento de arándanos y frambuesas, entre otras frutas.



Las industrias procesadoras de frutas y hortalizas producen una gran cantidad de residuos sólidos (hojas, tallos, cáscaras, carozos, semillas, etc.). En general, los residuos del procesamiento de frutas y hortalizas han sido empleados como alimento para el ganado o producción de compost. En los últimos años, una diversidad de estudios han propuesto algunos subproductos vegetales como fuente de antioxidantes fenólicos, los cuales podrían ser empleados como conservantes en alimentos y cosméticos o como suplementos dietarios para la prevención de determinadas enfermedades crónicas no transmisibles del tipo cardiovascular, tumoral, neurodegenerativas e inflamatorias, entre otras.

El objetivo de esta tesis fue obtener extractos ricos en antioxidantes fenólicos a partir de residuos agroindustriales, mediante un proceso respetuoso con el medio ambiente, como una manera de otorgar valor agregado a tales descartes y ayudar a solucionar el problema de disposición de los desechos sólidos de la industria hortofrutícola chilena. Se esperaba que al realizar una degradación enzimática de las paredes celulares de los residuos agroindustriales considerados, fuera posible obtener mejores rendimientos de extracción de compuestos polifenólicos y mayores actividades antioxidantes de los extractos respecto de lo que resultaría con extractos producidos sin tratamiento enzimático.

En una primera etapa de este trabajo, se realizó la caracterización proximal de los materiales residuales derivados del procesamiento de arándano azul, arándano rojo, frambuesa, durazno, pera y pimentón, valorando su contenido de proteínas, cenizas, aceite, fibra cruda y extracto libre de nitrógeno. Asimismo, para cada uno de ellos, se determinó el contenido en

fibra neutro detergente, fibra ácido detergente, fibra ácido de lignina y pectinas. En una segunda etapa, se estudió la recuperación convencional sólido/líquido de antioxidantes fenólicos a partir de los residuos anteriormente mencionados, evaluando el rendimiento de sólidos solubles (g extracto/100g muestra seca), el contenido fenólico (mg ácido gálico/g muestra seca) y la actividad antioxidante de los extractos ensayada por el método del radical 2,2 difenil-1- picrilhidracilo o DPPH (mmoles trolox/100g muestra seca). En una tercera etapa, se seleccionó el residuo que ofrecía la mayor recuperación de polifenoles para el estudio de la extracción de antioxidantes fenólicos asistida con enzimas. Finalmente, se evaluó el efecto que los extractos más activos obtenidos sobre la estabilidad oxidativa de aceites crudos, permitiendo así encontrar un antioxidante fenólico de acción comparable a la de antioxidantes comerciales.

En cuanto a los resultados de la caracterización proximal, los residuos de arándano azul, arándano rojo y frambuesa, los cuales contenían pieles y semillas, presentaron un elevado contenido de fibra cruda (mayor al 35%). En general, se observó un bajo contenido de proteínas, aceite y cenizas, para todos los residuos. La composición en fibras sugirió que para una efectiva acción de enzimas hidrolíticas sobre la pared celular vegetal se requería de una combinación de celulasas, hemicelulasas y pectinasas.

Como consecuencia del análisis de las cinéticas de extracción convencional con un único solvente orgánico (metanol) a una temperatura, velocidad de agitación y razón solvente/residuo fijas de 50°C, 150 rpm y 20:1, respectivamente, de acuerdo a lo reportado en bibliografía, para los ocho residuos estudiados, se

seleccionaron aquellos derivados de arándano azul, arándano rojo y frambuesa como las materias primas más adecuadas para la recuperación de polifenoles con actividad antioxidante. Con estos tres descartes, se realizaron estudios tendientes a identificar condiciones propicias de tiempo y temperatura para la obtención de extractos polifenólicos con capacidad secuestradora de radicales libres, determinándose que el proceso extractivo se ve favorecido con largos tiempos de contacto y altas temperaturas de extracción, sin desprejar la calidad/actividad de los mismos.

Mediante un diseño factorial 2³, con repeticiones en el punto central, se optimizaron tres variables: temperatura, tiempo de extracción y razón solvente/residuo para extractos obtenidos a partir de residuos de arándano azul, arándano rojo y frambuesa. Se emplearon seis diferentes sistemas extractores; agua, metanol, etanol, acetato de etilo así como las mezclas hidrometanólicas e hidroetanólicas a una proporción 50/50% v/v. Globalmente, al analizar los extractos obtenidos a partir de los residuos de arándano azul, arándano rojo y frambuesa, en sólidos solubles, polifenoles y actividad antioxidante medida por el método DPPH, se observó que los valores más altos de temperatura y razón solvente/residuo resultaban favorables, mientras que la influencia del tiempo fue variable, en algunas ocasiones tiempos cortos eran suficientes para una adecuada extracción. Los extractos producidos con la mezcla hidroetanólica y con metanol ofrecían un mejor comportamiento antioxidante; sin embargo, industrialmente es preferible emplear etanol en combinación con agua que metanol, por tanto, se seleccionó el primero como solvente extractor.

De los subproductos estudiados, la pomasa de frambuesa resultó ser la fuente más promisoría para obtener un extracto antioxidante debido a su elevado contenido en polifenoles, a su gran capacidad para captar radicales libres DPPH y ABTS (2,2'-etilbenzotiazolin-6-sulfonato) por transferencia de hidrógeno y para reducir Fe⁺³ a Fe⁺²; con este subproducto se efectúa un tratamiento enzimático con el objetivo de mejorar la extracción de antioxidantes fenólicos.

La selección de la enzima más apropiada para degradar los principales componentes de los envoltorios celulares fue realizada a condiciones operacionales recomendadas por sus proveedores y empleando doce biocatalizadores a una razón enzima/sustrato de 10%, permitiendo determinar

que todos los preparados enzimáticos evaluados incrementaban los rendimientos de recuperación de sólidos solubles con respecto al control no enzimático, aunque no todos mejoraban la extractibilidad de los compuestos fenólicos ni la actividad antioxidante de los extractos obtenidos. Las enzimas más destacadas fueron Grindamyl de Danisco y Maxoliva de DSM, con un rendimiento en polifenoles superior al blanco de 39% y una actividad antioxidante que superó al control no enzimático en un 56%, 16% y 31%, para los métodos DPPH, ABTS y FRAP (del inglés "Ferric Reducing Antioxidant Power"), respectivamente.

La temperatura provoca efectos contrapuestos en la acción de los biocatalizadores uno de reactividad y otro de inactivación térmica. En concordancia con ello, un incremento de la temperatura desde 40°C a 50°C mejoró el contenido fenólico y la actividad antioxidante evaluada por tres diferentes métodos; sin embargo, un incremento de la temperatura desde 50°C a 60°C disminuyó el contenido de sólidos solubles, fenoles totales extraíbles y actividad antioxidante de los extractos tratados enzimáticamente.

Sólo el tratamiento enzimático con agua y con la mezcla hidroetanólica (75/25 % v H₂O/v EtOH) a razones enzima/sustrato de 5 y 10% incrementaron el contenido fenólico y la actividad antioxidante de los extractos obtenidos enzimáticamente en comparación a los respectivos controles no enzimáticos.

La extracción acuosa asistida enzimáticamente con Grindamyl al 5% enzima/sustrato mejoró la eficiencia de extracción por sobre la extracción convencional con agua; la extracción convencional con agua durante 24 horas no superó los resultados obtenidos a las seis horas de tratamiento enzimático.

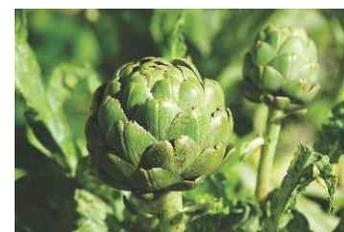
La efectividad del extracto hidroetanólico de residuos de frambuesa para estabilizar un aceite crudo de pepita de uva fue analizada midiendo la magnitud de la alteración oxidativa a través del índice de peróxidos. El aceite crudo de pepita de uva con extracto de residuos de frambuesa fue más eficaz que el aceite que contenía ácido ascórbico, su acción fue similar a la inhibición de la oxidación lipídica obtenida con catequina y levemente inferior a la protección del aceite otorgada por el ácido gálico. Los polifenoles presentes en el extracto de residuos de frambuesa retardaban el enranciamiento capturando los radicales libres que hayan podido generarse; sin embargo, el aceite con extracto de residuos de frambuesa presentó menor efectividad que el aceite estabilizado con los antioxidantes sintéticos comerciales BHA, BHT y TBHQ.

“Obtención de oligosacáridos funcionales a partir de la hidrólisis enzimática de polisacáridos estructurales de residuos agroindustriales”

Por Jacqueline Concha

Doctorado en Ciencias de la Ingeniería mención Ingeniería Bioquímica

Directora de tesis: María Elvira Zúñiga



Anualmente en Chile se genera una cantidad significativa de residuos sólidos industriales, de los cuales alrededor de un quince por ciento proviene del sector silvoagropecuario y un cinco por ciento, de la industria manufacturera, específicamente de la industria de alimentos, bebidas y tabaco. Si bien estos materiales no tienen carácter peligroso, el tratamiento inadecuado deriva en la mayoría de los casos en serios problemas de gestión medioambiental.

En los últimos años, el interés por utilizar este tipo de residuos para obtener fracciones poliméricas y derivados químicos con potencial actividad biológica, ha ido en constante aumento, siendo los procesos químicos con ácidos o álcalis los tratamientos más empleados para cumplir con dicha finalidad. Sin embargo, el gran inconveniente de este tipo de tratamientos es la generación de compuestos indeseables o tóxicos.

La aplicación de tecnología enzimática es hoy en día una alternativa tecnológica a la aplicación de procedimientos químicos, que se caracteriza por cumplir con los acuerdos de producción limpia, favoreciendo la formación de extractos con potencial actividad biológica y contribuyendo a mejorar la rentabilidad del proceso industrial de partida.

En la tesis, se planteó como objetivo desarrollar un protocolo integral de producción de oligosacáridos con propiedades funcionales, mediante tecnología

enzimática, a partir de residuos agroindustriales, específicamente producción de oligosacáridos derivados de hemicelulosa, como los xilo-oligosacáridos.

En Japón y Europa, los xilo-oligosacáridos (XOS) han alcanzado gran popularidad en los últimos veinte años. Las aplicaciones más importantes se refieren a su incorporación en alimentos tales como la combinación con leche de soja, bebidas no alcohólicas, bebidas de té o cacao, preparaciones nutritivas, productos lácteos con leche, leche en polvo y yogures, caramelos, pasteles, galletas, pudines, jaleas, mermeladas y productos de miel, y preparados para la alimentación especial de salud para los ancianos y los niños, o como componentes activos de los preparados simbióticos.

En Chile, los xilo-oligosacáridos no tienen un uso difundido. Luego, la posibilidad de generar un nuevo ingrediente alimentario en nuestro país resulta ser muy atractivo, dando además cumplimiento a las 3R (reducir, reciclar y reutilizar) y disponer en el mercado de una fuente alternativa de prebióticos, aprovechando los residuos suministrados por la industria procesadora de frutas y hortalizas.

En la tesis, se estudió la producción de extractos de oligosacáridos funcionales a partir de la transformación de materias primas lignocelulósicas, incorporando enzimas de uso comercial al proceso hidrolítico. Para ello el procedimiento experimental fue dividido en tres

etapas: (1) selección de un residuo o subproducto agro-industrial, (2) obtención de aislados de hemicelulosa y (3) producción enzimática de oligosacáridos. La selección del material lignocelulósico se realizó con descartes de pera, durazno, pimentón, alcachofa, café, orujo de uva y coseta agotada de remolacha. Esta última se distinguió por cumplir con los cuatro criterios de selección delimitados, es decir, un alto contenido de carbohidratos disponibles, bajo contenido de fibra cruda, alto contenido de hemicelulosa y bajo contenido de lignina.



La selección del material lignocelulósico se realizó con descartes de alimentos como pera, pimentón, alcachofa y remolacha, entre otros.

En la obtención de aislados de polisacáridos hemicelulósicos desde la coseta agotada de remolacha, se evaluó en primer lugar la despectinización del material con cuatro preparados enzimáticos comerciales con actividad pectinolítica: Rohapect DA6L, Rohapect Max, Rohapect 10L y Macer8 FJ. La remoción de pectinas a 50°C, pH de 4,0; relación E/S de 2%; razón líquido sólido 20:1 y tiempo de tratamiento enzimático de 15 horas con Rohapect DA6L desde la coseta agotada, previamente lavada con agua y EDTA, logró un rendimiento de remoción del 94,1%, quedando un residuo sólido con 30,6% de

hemicelulosa, 25,9% de celulosa, 12,1% de lignina y 0,8% de pectinas.

En lo concerniente a la solubilización y recuperación de sustancias hemicelulósicas desde el material despectinizado, se evaluó dos tipos de tratamientos: hidrotérmico con autoclave e hidrólisis alcalina con hidróxido de sodio. De ambos, el tratamiento con álcali resultó ser el más efectivo en la extracción de hemicelulosa, logrando remover un 50% de sólidos y 95% de hemicelulosa. Las condiciones del tratamiento alcalino empleadas fueron temperatura de 80°C, tiempo de hidrólisis de 180 minutos y concentración de NaOH de 8%. Las hemicelulosas solubilizadas fueron recuperadas desde el hidrolizado por precipitación con cuatro volúmenes de etanol al 96% y liofilizadas.

En lo que respecta a la producción de oligosacáridos por hidrólisis enzimática sobre hemicelulosa de coseta agotada de remolacha, se evaluó seis preparados enzimáticos comerciales, Ecopulp, Hemicellulase 334P, Rohapect B1, Granozyme XB Plus, Pulpzyme y Max Oliva, a tiempos de hidrólisis de 12 horas, razón E/S de 2% y 50 grados centígrados. De los preparados, Maxoliva se seleccionó por cumplir con los cánones de selección estipulados como fue el producir oligosacáridos con grado de polimerización entre 2 y 7. Para el tratamiento enzimático con Maxoliva se evaluaron las cinéticas enzimáticas a tiempos hasta 18 horas, razones de enzima/sustrato de 1 a 4%, y temperaturas entre 30 y 50°C. Durante el tratamiento con 2% E/S a 40°C y 15 horas y 50°C y 12 horas, se observó el mejor rendimiento de producción de oligosacáridos, valor de 4 (mg/mL) correspondiente a un rendimiento que bordeó el 46% de oligosacáridos.

En el trabajo se pudo concluir que tratamientos hidrolíticos con preparados enzimáticos comerciales sobre coseta agotada de remolacha producen, como consecuencia de la despolimerización selectiva de la pared celular vegetal, sustancias pécticas y oligosacáridos hemicelulósicos con potencial actividad antiproliferativa, probadas en líneas celulares de cáncer de mama MCF-7.

ARACELI OLIVARES, DOCTORA EN CIENCIAS DE LA INGENIERÍA MENCIÓN INGENIERÍA BIOQUÍMICA

Innovando con esteroides, insumo para el desarrollo de anabólicos, corticoides y otros productos

La investigadora empleó soluciones de pequeñísimas partículas de esteroles en un medio acuoso, para obtener altas cantidades del producto y de manera más limpia que la aplicada por la industria farmacéutica.



La investigación de Araceli Olivares consistió en el uso de una nanodispersión para obtener esteroles en altas concentraciones.

Por ello, el trabajo realizado por Araceli Olivares, ingeniero civil bioquímico de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso e investigadora del Centro Regional de Estudios en Alimentos Saludables, es de gran originalidad y podría tener un positivo impacto en el sector farmacéutico.

La profesional llevó a cabo la tesis "Biotransformación de esteroides de madera utilizando el sustrato como nanodispersiones a alta concentración", con la que obtuvo el grado de doctora en Ciencias de la Ingeniería mención Ingeniería Bioquímica de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (PUCV).

PEQUEÑÍSIMAS PARTÍCULAS

La investigación consistió en el uso de una nanodispersión para obtener el sustrato -el esteroles- en altas concentraciones. "Lo usual es que se emplee solventes o gran cantidad de

Las hormonas esteroideas, como el estrógeno, la testosterona y la progesterona, son ampliamente utilizadas en la industria farmacéutica para el desarrollo de anabólicos, anticonceptivos, corticoides y otros productos.

Los esteroides, en tanto, son lípidos estructurales presentes en la mayoría de las células eucariotas y sirven de precursores para la elaboración de

dichas hormonas.

Actualmente, la industria farmacéutica realiza la biotransformación -alteración mediante uso de microorganismos- de los esteroides empleando muchos solventes, lo que demanda limpiar el producto final y tiene como resultado una productividad menor a la deseada, debido a los largos tiempos de reacción.



tensoactivos para lograr una alta concentración del sustrato, pero yo me atreví usando nanodispersiones del esteroles que se obtiene del árbol (a partir del proceso Kraft de obtención de la celulosa), es decir, soluciones de pequeñas partículas del sustrato, para conseguir un producto en altas cantidades que sirve de insumo en la elaboración de hormonas

esteroidales”, explica la hoy doctora.

Araceli Olivares logró desarrollar “un proceso innovador, en condiciones más suaves al utilizar microorganismos, en un medio acuoso sin uso de solventes y más limpio”, y consiguió como resultado una mayor productividad que la que se logra vía aplicación de solventes. Así, comprobó su hipótesis, consistente

en que “el uso de nanodispersiones a alta concentración permite alcanzar altas cantidades del producto”.

El director de la tesis, profesor Fernando Acevedo, destacó sobre ella que la industria de la celulosa “ocupa un importante sitio en nuestro país” y que, “mediante la acción de bacterias mutantes, se obtuvo positivos resultados”.

Resumen de la tesis

“Biotransformación de esteroides de madera utilizando el sustrato como nanodispersiones a alta concentración”

Por Araceli Olivares

Doctorado en Ciencias de la Ingeniería mención Ingeniería Bioquímica

Director de tesis: Fernando Acevedo

La biotransformación de esteroides de madera para la producción de los principales precursores esteroidales, como son 4-androstene-3,17-diona (AD) y 1,4-androstadiene-3,17-diona (ADD), fue estudiada utilizando dos cepas mutadas de *Mycobacterium* sp. de origen comercial capaces de degradar en forma selectiva la cadena lateral de los esteroides. La cepa DSMZ2966 produjo como producto principal AD y la cepa DSMZ2967 produjo principalmente ADD.

Como sustrato para llevar a cabo la biotransformación se utilizó una dispersión de esteroides de madera, provenientes de tall oil, un residuo del proceso Kraft de pulpeo de la celulosa. La dispersión fue proporcionada por la empresa Härting S.A. y fue preparada mediante un proceso en vías de patentamiento. La dispersión, preparada en medio acuoso y con una baja concentración de tensoactivos, alcanza una alta concentración de esteroides (100g/L) y un pequeño tamaño de partícula (< 0.41 μ m; para el 50% de las partículas).

Se estudió el efecto de la fuente de carbono y energía, así como también la fuente de nitrógeno utilizada para la preparación del medio de cultivo durante la producción de biomasa y su posterior utilización en la biotransformación, encontrándose

que la glucosa, por sobre el glicerol, produce mayor concentración de AD y/o ADD, según la cepa. La fuente de nitrógeno que entregó la mayor conversión de esteroides en AD fue el nitrato de amonio (15.9%), a partir de una dispersión de esteroides de 20g/L. No se encontró relación directa entre la producción de biomasa y la biotransformación para las distintas fuentes de nitrógeno estudiadas. Por otro lado, el uso de pellet de biomasa crecido en nitrato de amonio aumenta sobre 3.5 veces la producción de AD y ADD para las cepas DSMZ2966 y DSMZ2967, respectivamente, en comparación con el uso de caldo de cultivo. El uso del parámetro REB (relación esteroides/biomasa) permitió el ajuste de la concentración de pellet y el trabajo en condiciones no estériles, donde un valor cercano a 1 permitió obtener una conversión de AD a 17.9% a partir de una dispersión de esteroides concentrada a 20g/L y en 4 días.

Disminuyendo la concentración de sustrato para la biotransformación a 5g/L y adicionando un medio de cultivo fresco a la biotransformación, se logró obtener una conversión de AD de 58% en 4 días. Esta última condición se logró escalar desde un volumen de 20mL en matraz Erlenmeyer a 1L en un reactor (50 veces), alcanzando una conversión de AD de 40.1%.

“Topological Chern-Simons gravity (and statistical lattice models)”

Por Marco Astorino

Doctorado en Ciencias Físicas

PUCV – USM

Directores de tesis: Jorge Zanelli y Sergio del Campo



En este trabajo de tesis, se analiza algunos aspectos de la teoría topológica descubiertos por Chern y Simons, y se analiza, tanto desde el punto de vista gravitatorio como de la teoría de nudos, la conexión con los modelos estadísticos de Potts. En lo que concierne a la gravitación, una nueva solución en tres dimensiones de Chern-Simons se discute. Representa una solución de tipo C-métrica de $2+1$, dimensión de la relatividad general con constante cosmológica, y se interpreta como un agujero negro acelerado en tres dimensiones. La aceleración es proporcionada por un espacio de dimensiones semi-infinita puntal. Un hecho notable es que las configuraciones de agujeros negros son admisibles, incluso para la constante cosmológica positiva. Además de un par de inmersiones de este indicador en $3+1$ dimensiones, se considera, en primer lugar, una cuerda negra de aceleración y, por último, se propone un anillo como singularidad cubierto por un horizonte toroidal, donde se equilibra la fuerza de gravedad por la aceleración suministrada por un disco que, de hecho, sostiene al anillo. Cada sector- ϕ constante representa un agujero negro con aceleración de una dimensión menor.

En lo que concierne al nudo de la expectativa de valor de los operadores de bucle Wilson en tres dimensiones $SO(N)$, la teoría gauge de Chern-Simons ha dado con un nudo conocido invariable: el polinomio de Kauffman. Aquí este resultado se deriva, en primer orden, a través de un método variacional sencillo. Se obtiene también con el mismo procedimiento la relación para el caso $Sp(N)$. El polinomio de Jones se presenta como casos especiales: $Sp(2)$, $SO(-2)$ y $SL(2, R)$. Estos resultados se confirmaron y se ampliaron hasta el segundo orden, por medio de la teoría de perturbaciones, que además nos permiten establecer una relación de dualidad entre el $SO(\pm N)$ y SP (invariantes). Una correspondencia entre los órdenes más bajos en la teoría de perturbaciones de $SO(-2)$, $Sp(2)$ o $SU(2)$ de Chern-Simons holonomías cuántica y la función de partición de la $Q=4$ Modelo de Potts.

Algunos métodos fenomenológicos semi-analíticos basados en el enfoque Kallen-Lehmann, tomado de la física de alta energía, se han desarrollado para estudiar los modelos estadísticos, como el de dos dimensiones de Q-Potts y el modelo de Ising 3D.

“Propiedades térmicas y cinemáticas de agujeros negros topológicos”

Por Pablo González

Doctorado en Ciencias Físicas

PUCV – USM

Director de tesis: Joel Saavedra

En esta tesis, se estudia propiedades térmicas y cinemáticas de agujeros negros topológicos con sección transversal hiperbólica. Específicamente, enfocamos nuestro estudio tanto en los agujeros negros topológicos de Chern-Simons, como en los agujeros negros topológicos sin masa. Dichos agujeros negros corresponden a soluciones particulares de la acción de Lanczos-Lovelock, en la cual los coeficientes se han determinado exigiendo que las teorías posean una única constante cosmológica.

De este modo, se presentan tanto los modos cuasinormales como los coeficientes de reflexión, de transmisión y la sección eficaz de absorción, bajo perturbaciones de campos escalares. Por una parte, se obtiene que los modos cuasinormales dependen explícitamente del grado del polinomio de curvatura presente en la acción para los agujeros negros topológicos de Chern-Simons y, por otra parte, se obtiene que en el límite de baja energía, existe un rango de modos que contribuye a la sección eficaz de absorción. Esta disminuye si el momentum angular del campo escalar aumenta.



Textos científicos de Lingüística guían más al lector que los de Medicina y Economía

Profesora del Instituto de Literatura y Ciencias del Lenguaje defendió trabajo doctoral acerca del uso de metadiscurso en artículos de investigación.

Significativos hallazgos en la escritura del género científico son los que hizo Millaray Salas Valdebenito, profesora del Instituto de Literatura y Ciencias del Lenguaje (ILCL) de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso: tras analizar 238 artículos escritos en español y pertenecientes a las disciplinas de Lingüística, Economía y Medicina, se encontró con una presencia notablemente mayor de metadiscurso en los textos de Lingüística. En otras palabras, éstos aluden mucho más a sí mismos y, a diferencia de los otros, guían constantemente al lector.

Tales fueron los resultados de la investigación que la profesora de Pedagogía en Inglés y magíster en Lingüística Aplicada llevó a cabo y defendió con éxito, con lo que obtuvo el grado de Doctora en Lingüística por la PUCV.

Su trabajo, guiado por el académico del ILCL René Venegas, se tituló "Metadiscourse in the genre research article (RA) in spanish: variation across disciplines" ("Metadiscurso en el género de artículos de investigación científica (AIC): variación interdisciplinar").

"El estudio, de carácter cuantitativo, se propuso comparar el empleo de metadiscurso en artículos de tres disciplinas, publicados entre los años 2005 y 2009 en revistas de

España y América Latina indexadas en Web of Science. Elegimos una por cada área del conocimiento: humanidades (Lingüística), ciencias sociales (Economía) y ciencias naturales (Medicina)", detalló la docente del Instituto de Literatura y Ciencias del Lenguaje PUCV.

EL TEXTO QUE SE REFIERE A SÍ MISMO

La profesora Salas explicó que "el metadiscurso corresponde a las expresiones lingüísticas empleadas para referirse al texto y a los participantes del acto comunicativo, es decir, escritor y lector". Puede ser personal, cuando refiere al autor del texto o bien incorpora al lector; o impersonal, cuando no usa referencias de ese tipo. Y cumple una de tres funciones: metalingüística, cuando el texto alude al propio texto a medida que éste se va desplegando

(ejemplos: "esta investigación", "en el párrafo anterior"); expresiva cuando se refiere a sí mismo (ejemplo: "mi empleo del término", "el autor de estas líneas"); o directiva, cuando el autor alude a su audiencia en su rol de lectores (ejemplo: "recomendamos al lector interesado").

En su tesis doctoral, Millaray Salas se preguntó si hay diferencias estadísticamente significativas entre los tres conjuntos de artículos, a partir de la inclusión en ellos de rasgos lingüísticos que indican metadiscurso personal o impersonal.

La respuesta la sorprendió: "mi expectativa era encontrar diferencias importantes entre la Economía y la Medicina, dado que aquella es una disciplina de las ciencias sociales y me parecía razonable que se guiara mucho más al lector. Sin embargo, ambos campos registran una baja incidencia de marcadores de metadiscurso. De todos modos, los artículos económicos presentan un empleo significativo de la función directiva, con líneas como 'considere el siguiente ejemplo', que buscan persuadir al lector".

Los textos médicos, en tanto, son más breves y homogéneos, y no suelen guiar al lector. "Y los de Lingüística, en cambio, usualmente



"El metadiscurso corresponde a las expresiones lingüísticas empleadas para referirse al texto y a los participantes del acto comunicativo, es decir, escritor y lector", explicó la profesora Salas.

hacen visible al autor y conducen e interactúan mucho más con el lector a través de expresiones como 'si tenemos en cuenta', que implica una persuasión abierta", precisó Millaray Salas.

UNA DIDÁCTICA DE LA ESCRITURA CIENTÍFICA

Un elemento común en las tres disciplinas, de acuerdo a lo que reveló la investigación, "es que la mayoría de los autores busca un estilo más bien

impersonal. Es muy inusual el empleo de 'yo' o incluso de 'nosotros'. Esto se explica, en buena medida, porque el discurso científico vela por valores como la imparcialidad, la objetividad y la neutralidad, y un texto impersonal manifiesta de mejor manera esta opción".

Un discurso que, según explicó la profesora Salas, "no es enseñado. En la comunidad académica, se empieza a redactar artículos de investigación tomando como referencia otros

textos de la misma disciplina, pero sin tener claro y menos estructurado un modelo de escritura científica. Investigaciones como ésta aportan, entonces, más evidencia de cómo se escribe en cada disciplina científica, en orden a caracterizar este tipo de escritura y, así, poder enseñarla. El programa de Doctorado en Lingüística está, de hecho, muy interesado en la didáctica de esta escritura, pues hoy prácticamente nadie la enseña".

Resumen de la tesis

"Metadiscourse in the genre research article (RA) in spanish: variation across disciplines" ("Metadiscurso en el género de artículos de investigación científica (AIC): variación interdisciplinar")

Por Millaray Salas

Doctorado en Lingüística

Director de tesis: René Venegas

Este estudio basado en corpus, el proyecto de tesis, se centra en el metadiscurso, tomando el enfoque no integrador para el estudio de este fenómeno (Adel, 2006). Existe alguna evidencia a favor de la hipótesis de variación interdisciplinario del artículo de investigación de género (RA) en términos de marcadores metadiscurso (Myers, 1989; Hyland, 1998, 2001, 2002; Fløttum, Dahl y Kinn, 2006; Mur Dueñas, 2007; Afros y Schryer, 2009; Bruce, 2009).

El objetivo de este proyecto fue comparar el empleo de metadiscurso en artículos de investigación de tres disciplinas (medicina, economía y lingüística), publicados en diversas revistas científicas, y en los que se observó la aparición de ciertas características léxico-gramaticales.

Aunque hay una serie de estudios que han analizado el metadiscurso en la prosa académica y científica en español (Beke, 2005; Cubo de Severino, 2005; Müller, 2007; Mur Dueñas, 2007; Aguirre, 2010; Bolívar, Beke y Shiro, 2010), ninguno de estos estudios ha empleado los métodos cuantitativos, con la excepción de Pérez-Llantada (2010).

La pregunta de investigación: ¿hay diferencias

estadísticamente significativas entre los tres corpus de la AR en función de la tasa de incidencia de algunos rasgos lingüísticos que indican metadiscurso personales e impersonales?

El estudio cuantitativo consideró el empleo de técnicas tanto manuales como computacionales para anotar y analizar un corpus de 238 RA escritos en español y publicados en revistas de España y América Latina que están indexadas en Web of Science (Thomson Reuters). Los resultados indican que los escritores científicos de ciencias económicas y medicina emplean un número significativamente menor de marcadores de metadiscurso que sus contrapartes en lingüística.

También hay diferencias estadísticamente significativas entre los tres corpus en términos de varias categorías funcionales: la auto-cita, marcadores relacionales, las directivas, los verbos discursivos, glosas y las etiquetas de código de discurso (Hyland, 2005; Adel, 2006). Esto sugiere que el género científico varía mucho en cuanto a la forma y la medida en que los escritores de diferentes disciplinas indican la presencia del autor, interactúan con su público y orientan al lector.

ALEJANDRA GUERRA, DOCTORA EN HISTORIA:

La Ilustración tuvo una influencia limitada en Chile

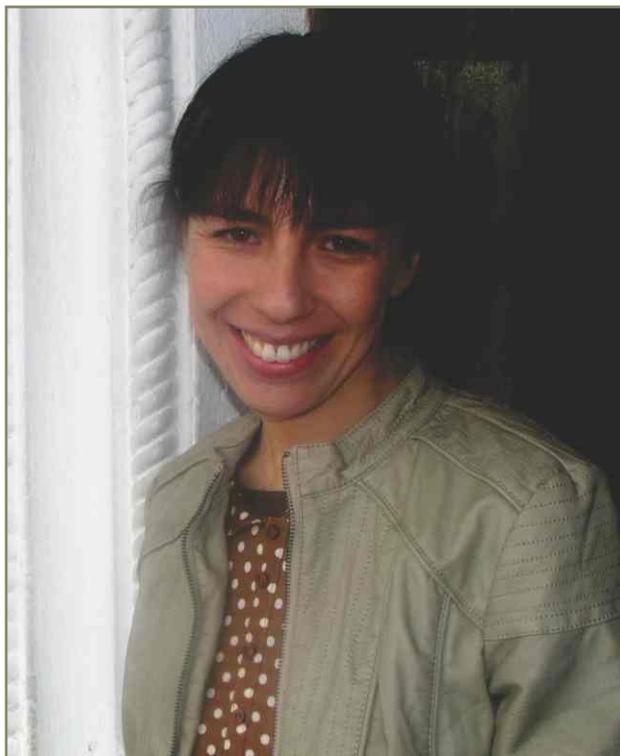
En su tesis doctoral, revisó el pensamiento y la actuación de “conspiradores e ilustrados” en Santiago entre fines del siglo XVIII y principios del XIX.

Alejandra Guerra Acuña revisó en profundidad dos causas judiciales, correspondencia personal, la obra de Manuel de Salas y el Archivo de la Universidad Real de San Felipe, entre otros documentos. Todo este trabajo y su análisis se materializó en la tesis “Pensar como no se debe: las ideas en crisis. Conspiradores e ilustrados en Santiago de Chile (1780-1810)”, la que fue guiada por el académico del Instituto de Historia de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (PUCV) y Premio Nacional de Historia 2008, Eduardo Cavieres.

El trabajo fue defendido con éxito por la profesional PUCV, quien con él optó al grado de Doctora en Historia: la comisión que evaluó la presentación, encabezada por el doctor Cavieres, evaluó con nota siete la presentación, que así obtuvo la calificación sobresaliente *summa cum laude*.

CONSPIRACIONES

En su tesis, Alejandra Guerra se propuso investigar cómo se plasmaron las ideas de la Ilustración en Santiago en el período inmediatamente anterior al proceso independentista chileno. “Este fue el tema de estudio, que a su vez me llevó a preguntas como si hubo o no una efectiva Ilustración en Chile, quién fue ilustrado, cuál fue su verdadero alcance en la Independencia del



Alejandra Guerra se propuso investigar cómo se plasmaron las ideas de la Ilustración en Santiago en el período inmediatamente anterior al proceso independentista chileno.

país”, explicó la autora.

Para ello, revisó dos casos judiciales relativos a supuestas conspiraciones contra el Rey de España urdidas en Chile: la que intentaron llevar a cabo el chileno José Antonio de Rojas y los franceses Antonio Berney y Antonio Gramusset en 1780, con el objeto de establecer una república independiente, la que fue conocida como la “Conspiración de los tres Antonios”; y la que, en 1810, tramaron el propio Rojas junto al chileno Juan Antonio Ovalle y el argentino Bernardo de Vera y Pintado.

Aunque todos ellos, en sus respectivos momentos, fueron acusados de conspiradores contra el Rey de España, la hoy doctora en Historia planteó que “no se les puede considerar como tales. Sí suscribían ideas frescas y renovadoras, reformistas en cierto sentido, pero no apuntaban a rebelarse contra el Rey. De hecho, su oposición se dirigía más bien a las autoridades locales”.

BÚSQUEDA DE PROGRESO Y REFORMA EDUCATIVA

A juicio de Alejandra Guerra, la Ilustración en Chile “fue una

Ilustración sui generis, promovida por un grupo pequeño, que adhirió a ideas modernistas y que apuntó a transformaciones puntuales, como una reforma en la educación y la búsqueda de progreso, a partir de la incorporación a una sociedad más tecnológica que dejara atrás la agricultura como actividad económica central. No tuvo un impacto relevante en la academia y me parece que muchos historiadores le asignaron una influencia en Chile

mayor que la que efectivamente tuvo. Incluso, cabe preguntarse si la revolución independentista en el país

simplemente utilizó las ideas de la Ilustración para validarse, más que suscribirla con plena convicción”.

“Este trabajo tiene un doble valor. Por un lado, se vuelve a revisar un proceso histórico muy importante para la independencia de Chile, y por otro, desde una perspectiva metodológica, es una propuesta narrativa actualizada que no esconde el sustrato histórico de la misma”.

Eduardo Cavieres
Profesor guía de la tesis
Director del Doctorado en Historia PUCV

Resumen de la tesis

“Pensar como no se debe: las ideas en crisis. Conspiradores e ilustrados en Santiago de Chile (1780-1810)”

Por Alejandra Guerra
Doctorado en Historia
Director de tesis: Eduardo Cavieres

En esta investigación proponemos analizar la Ilustración en Chile y su relación con la Ilustración española en el contexto de 1780-1810, estudiando el fenómeno a través de algunos de sus protagonistas. Para ello trabajamos con el *Testimonio de la Causa Criminal formada contra Don Antonio Vergne y Don Antonio Gramusset* (Archivo Histórico Nacional-Real Audiencia); el *Proceso seguido por el Gobierno de Chile el 25 de Mayo de 1810, contra don Juan Antonio Ovalle, don José Antonio Rojas y el doctor don Bernardo de Vera y Pintado por el delito de conspiración* (publicado por Guillermo Feliú Cruz) y el *Archivo de la Real Universidad de San Felipe* (Archivo Histórico Nacional).

Considerando el contexto planteado como un escenario de cambios significativos en cuanto a reformas económicas y administrativas, crecimiento demográfico, debilitamiento del peso social de las familias aristocráticas, surgimiento de nuevos grupos

de poder y un refinamiento ilustrado en lo material e intelectual, analizamos la transformación, a nivel del pensamiento, de una sociedad tradicional que paulatinamente se va abriendo a la influencia de la modernidad.

No nos interesa analizar esta problemática desde la historia política ni económica, como tradicionalmente se ha hecho, aunque reconocemos que estos ámbitos inevitablemente convergen en nuestra mirada toda vez que son expresiones culturales; más bien nos detenemos en el problema de “ser ilustrado” y su vinculación con el concepto de “Ilustración Católica” como denominación de una realidad mucho más compleja que pertenecer a un grupo y en las posibles divergencias o convergencias entre Ilustración y Reforma identificando en el caso de esta última su dimensión católica en caso de poseerla.



TESIS DE PATRICIO LANDAETA, DEL DOCTORADO EN FILOSOFÍA

Una mirada actual a la Grecia clásica: el acuerdo es posible gracias al conflicto

En su investigación, analizó la relación entre la familia y la comunidad de ciudadanos para comprender las condiciones sociales, culturales y políticas en que surge y se impone la polis como modo de organización comunitaria.

Aunque en su tesis doctoral Patricio Landaeta no hizo referencias a fenómenos y sucesos de los últimos años, marcados por el desacuerdo y el conflicto social, su trabajo bien puede decirnos mucho sobre los tiempos que corren.

En "Acerca de la relación de *oikós* y *pólis* para comprender la *stásis* en Grecia", Landaeta desarrolló una historia crítica de la ciudad griega, analizando la relación de *oikós* y *pólis*, es decir, de la familia y la comunidad de ciudadanos para comprender las condiciones sociales, culturales y políticas en que surge y se impone la polis como modo de organización de la vida comunitaria.

"Es una historia crítica porque la mayor parte de las fuentes se remite a plantear un modelo griego de la política y la filosofía sustentado en el acuerdo. Yo, leyendo los mismos textos de Platón que se suele leer para entender la filosofía, la política, la ciudad, la república y las leyes de la Grecia clásica, además de otros textos, visualizo que él también pone énfasis en el conflicto", explica Landaeta, quien con su trabajo obtuvo el grado de Doctor en Filosofía por la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

"Su mirada filosófica, así como la de Aristóteles, se emparenta con



Haciendo una lectura de la actualidad desde su investigación, Patricio Landaeta afirma: "no hay democracia ni política sin el riesgo latente de que todo termine mal (...) No por querer conservar el orden, vamos a prohibir el desacuerdo".

la de Tucídides en la historiografía. Tucídides fue quien más estudió las guerras civiles de Grecia y, a su juicio, la más importante fue la de Córcira, en el año 427 antes de Cristo, donde para él 'se inició la historia terrible' y se vieron todas las formas de la maldad desatadas", expone el también licenciado en Filosofía de la PUCV y máster en Filosofía por la Universidad Complutense de Madrid.

"Es la gran mancha de la polis griega", dice Patricio Landaeta, quien comenta: "las guerras civiles son

vistas por Tucídides como aquellos momentos en que la ciudad se divide. Pero en el origen de estos conflictos de la polis, está el conflicto familiar. Siempre la *stásis*, la guerra civil, comienza en la casa del gobernante".

HERMANDAD EN EL CONFLICTO

El doctor en Filosofía dice que "algo interesante sucedía en Grecia: la polis había organizado una 'hermandad ciudadana', más digna incluso que la de la sangre y a través de la cual era posible alcanzar otros

estadios de desarrollo; entonces, la ciudad es una expresión de hermandad”.

Patricio Landaeta afirma que “la 'hermandad' fue posible precisamente porque unos se imponen a otros; entonces, lo que sale a flote es la diferencia, que no somos hermanos, y que gracias a ello podemos oponernos. En mi trabajo, concluyo que la hermandad sólo existe en la forma del conflicto, en que cuenta tanto mi palabra como la del otro. Esto sirve para dialogar y tomar posición”.

El hoy investigador post doctoral

sostiene: “lo que busca la política es conciliar el acuerdo y el desacuerdo. Lo importante es que siempre el otro tenga la oportunidad de estar en desacuerdo conmigo. De hecho, en Grecia, una de las primeras medidas democráticas allí fue la posibilidad de apelar a un veredicto”.

“No busco ser un provocador, pero debo decir que no hay democracia ni política sin el riesgo latente de que todo termine mal. Se suele estar por criminalizar el conflicto, la manifestación pública, pues conducen al desorden, pero es un error: no por querer conservar el

orden, vamos a prohibir el desacuerdo”, comenta Patricio Landaeta.

El graduado PUCV expone que “el desacuerdo hace posible el acuerdo en la polis. En la familia hay lugar para una sola visión que se impone, se da entonces una estructura absolutamente jerárquica; no es así en la polis, donde el desacuerdo es esencial y conduce a la búsqueda de una comunidad y de un acuerdo. Cabe, finalmente, pensar la *stásis* como una cuestión terrible pero también positiva para el devenir de la ciudad”.

Resumen de la tesis

“Acerca de la relación de *oikós* y *pólis* para comprender la *stásis* en Grecia”

Por Patricio Landaeta

Doctorado en Filosofía

Director de tesis: Ricardo Espinoza



La investigación se pensó como una historia crítica de la ciudad griega, analizando la relación de *oikós* y *pólis*, de la familia y la comunidad de ciudadanos para comprender las condiciones sociales, culturales y políticas en que surge y se impone la *pólis* como modo de organización de la vida comunitaria.

Este acercamiento nos permitió, en primer lugar, tomar distancia de los discursos y representaciones, los modelos, finalmente, donde la ciudad aparece retratada como un lugar del perfecto intercambio ciudadano. En segundo lugar, nos permitió aproximarnos a los mismos modelos criticados para conocer lo que está a la base de su orden y perfección: la hermandad ciudadana.

La ciudadanía es, pues, la culminación de un proceso que se inicia con la fundación de la *pólis* por un grupo homogéneo, los *aristoi*, los guerreros, y que

termina, con las reformas de Solón y Clístenes, con la apertura de la vida pública para la masa de campesinos y artesanos.

Sin embargo, lo que nuestro trabajo mostró es que tal “hermandad” sólo existe en la forma del conflicto, que va desde la división en la asamblea hasta la guerra civil (*stásis*), que es asimilada a una “lucha doméstica” en la que se mezclan los destinos de la casa y ciudad.

En tercer lugar, nuestro trabajo posibilitó comprender la reacción de la filosofía frente a la *stásis* de la ciudad griega: el pensamiento antiguo pensó el camino para la construcción de la comunidad subestimando la verdad a la que nos confronta la *stásis*. Nosotros, a la distancia, hemos intentado pensar la *stásis* como un elemento positivo y terrible a la vez de la vida de la ciudad.

“La doctrina agustiniana de la creación y su interpretación en el inicio de la Escuela Franciscana del siglo XIII”

Por Verónica Benavides

Doctorado en Filosofía

Director de tesis: Juan Carlos Ossandón



Esta investigación buscó establecer los límites y alcances de la recepción e interpretación que los maestros franciscanos Alejandro de Hales y San Buenaventura realizaron de la noción de creación, forjada por la mente de San Agustín de Hipona. En este sentido, se pretendió establecer hasta dónde llega la influencia agustiniana en estos autores y hasta dónde podría decirse que estamos en presencia de una nueva síntesis metafísica al respecto.

En cuanto a las conclusiones obtenidas, ellas se resumen en tres asertos: en primer lugar, las principales tesis de la Escuela Franciscana del siglo XIII, asociadas a la metafísica de la creación, tienen, efectivamente, su origen en San Agustín.

En segundo lugar, concluimos que no todos los elementos que componen la doctrina franciscana de la creación provienen de Agustín, es más, en algunos temas se dan fusiones doctrinales inéditas para la época y en que el “agustinismo” creacionista se ve enriquecido por nuevas influencias filosóficas.

En tercer y último lugar, encontramos un punto de disenso entre San Agustín y Buenaventura en torno a la creación, y que tiene que ver más con un asunto de exégesis bíblica sobre los días de la creación, que sobre un asunto de argumentación filosófica.

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso

Vicerrectoría de Investigación y Estudios Avanzados

www.vriea.ucv.cl

