

Investigadores de hoy

para los retos del mañana

Alberto Marinas Aramendía (Ed.)



UCOPress
Editorial Universidad de Córdoba

Investigadores de hoy para los retos del mañana

Edición a cargo de
Alberto Marinas Aramendía

UCOPress
Editorial Universidad de Córdoba

Investigadores de hoy para los retos del mañana. Editado por Alberto Marinas Aramendía. – Córdoba : UCOPress. Editorial Universidad de Córdoba, 2018.

ISBN 978-84-9927-386-0

Edita: UCOPress. Editorial Universidad de Córdoba

UCOPress. Editorial Universidad de Córdoba
Campus Universitario de Rabanales
Ctra. Nacional IV, km. 396
14071 – Córdoba, España

Comité editorial: Pedro Ruiz Pérez, Eduardo Collantes Estévez, María Ángeles Alonso Moraga, Aurora Galván Cejudo, Manuel Izquierdo Carrasco y Vidal Barrón López de Torre

Maquetación y diseño: David Sánchez Cruz

Con la colaboración de la Unidad de Cultura Científica y de la Innovación

<http://www.uco.es/ucopress/>
ucopress@uco.es

ISBN 978-84-9927-386-0

© UCOPress. Editorial Universidad de Córdoba
© Los autores
© Los editores



Esta publicación se encuentra bajo una licencia internacional Creative Commons BY-NC-SA 4.0. Puede copiar, distribuir, adaptar y crear obras derivadas de este contenido, siempre y cuando le atribuya la autoría original y no utilice esta obra con fines comerciales. Las obras derivadas también deben estar bajo una licencia similar.

Índice

Prólogo	5
CIENCIAS DE LA SALUD	6
<hr/> <hr/>	
Capítulo 1. La imperceptible influencia de las redes sociales en la imagen corporal	7
Capítulo 2. Circulación del virus de la Hepatitis E en bovinos y ungulados silvestres en el Parque Nacional de Doñana	11
Capítulo 3. Vitrificación de espermatozoides de caballo empleando crioprotectores no penetrantes	15
Capítulo 4. Estudio retrospectivo de la prevalencia de urolitiasis canina en casos recibidos en el Hospital Clínico Veterinario de la UCO desde 2011 a 2017	19
Capítulo 5. Efectos de la sobre-expresión de CYB5R3 sobre el sistema del coenzima Q en células hepáticas	23
Capítulo 6. Expresión de las moléculas CD163 y CD107a en el pulmón y la tonsila de cerdos infectados experimentalmente con cepas de diferente virulencia del PRRSV-1	27
Capítulo 7. Efectos biológicos de la cerveza negra y algunos de sus compuestos distintivos: ensayos in vivo e in vitro para evaluar su potencial quimiopreventivo y protector del ADN	33
CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES	38
<hr/> <hr/>	
Capítulo 8. Síntesis de polímeros de coordinación de zirconio con conectores quirales: Caracterización y aplicación como catalizadores heterogéneos en reacciones de cianosililación	39
Capítulo 9. Caracterización electroquímica de Monocapas Autoensambladas (SAMs) de etilenglicoles sobre superficies 2D de oro	43
Capítulo 10. Estudio de la nucleosidasa en <i>Phaseolus vulgaris</i>	48
Capítulo 11. Análisis genético y bioquímico de la H ⁺ -ATPasa Pma1 en el hongo patógeno <i>Fusarium oxysporum</i>	51
Capítulo 12. Efectos de los ureidos en la tolerancia a la sequía en plantas de judía cultivadas en condiciones de fijación de nitrógeno o fertilizadas con nitrato	55
Capítulo 13. Estudio de preparación de muestra para el análisis de endocannabinoides en suero humano mediante LC-MS/MS en modo SRM	60
Capítulo 14. Probabilidades de ionización de un átomo de hidrógeno fuera de confinamiento	65
Capítulo 15. Expresión, purificación y caracterización de la Peroxirredoxina 6 humana (Prdx6)	69
Capítulo 16. Efecto sobre la secreción de LH de la activación farmacogenética de las neuronas Kiss1 del núcleo arcuato	73
Capítulo 17. Desarrollo de un método rápido de separación para la determinación de proteínas alérgicas mediante el uso de columnas “core-shell” y extracción con nanomateriales	78

CIENCIAS SOCIALES, ECONÓMICAS Y JURÍDICAS **82**

Capítulo 18. Ciencia-Escuela Primaria	83
Capítulo 19. La vida cotidiana cordobesa en tiempos del cardenal Salazar según su documentación notarial: primeros avances	87
Capítulo 20. Conexiones normativas entre la Ley de Competencia Desleal y la Ley de Defensa de la Competencia: Aproximación a la teoría de los puentes	91
Capítulo 21. Validación de un programa para la prevención y reducción del prejuicio étnico-cultural en alumnado de segundo ciclo de Educación Primaria	96
Capítulo 22. Los niños de hoy en la Europa del mañana: el papel de la educación	101
Capítulo 23. La figura comunitaria del facilitador de infracciones de competencia: Su compatibilidad con el derecho administrativo sancionador español	105
Capítulo 24. La caracterización de la eficiencia de las Cooperativas de Crédito tras la reestructuración del Sistema Financiero. Un análisis DEA	110

HUMANIDADES **113**

Capítulo 25. Problemas pragmáticos en El impostor de Javier Cercas: ¿una novela sin ficción?	114
Capítulo 26. La enseñanza de la lengua española en un entorno Flipped Learning: análisis de su efectividad en Educación Primaria	118
Capítulo 27. Aproximación al estudio de las metáforas en la cata del vino: el caso del Pedro Ximénez	122
Capítulo 28. La retórica visual en las pinturas de Antonio Palomino en la Catedral de Córdoba	126

INGENIERÍA Y TECNOLOGÍA **130**

Capítulo 29. Emisión y fijación fotoquímica de gases NOX en suelos	131
Capítulo 30. PWM aleatorio mediante FPGA para reducir la emisión de supra-armónicos en controladores LED	135
Capítulo 31. Diseño de un sistema de control multivariable para un DFIG	139
Capítulo 32. Morteros industriales realizados con aguas procedentes de EDAR	143
Capítulo 33. Modelizar el fuego: los Incendios Forestales y su propagación	146

Prólogo

La interdisciplinariedad, el trabajo en red y la excelencia son sin duda los avales que requiere la investigación para afrontar los grandes retos sociales de nuestro tiempo. Las soluciones a los problemas ambientales, sanitarios, económicos e incluso políticos sólo llegarán si somos capaces de reflexionar sobre ellos, aplicarles el método científico y aportar propuestas desde una perspectiva diversa en sus enfoques.

Reunimos en este volumen las propuestas de 33 jóvenes investigadores de la Universidad de Córdoba. Trabajos científicos que abordan problemas reales relacionados con las Ciencias de la Salud, Ciencias Exactas, Sociales, Humanidades e Ingeniería y Tecnología y que se sitúan en la vanguardia de la investigación científica por cuanto se encuentran enmarcados en líneas de investigación absolutamente innovadoras, como lo son las de los equipos de la Universidad de Córdoba.

La cantera científica de la UCO es de hecho uno de los grandes valores de la institución. El libro que tiene en sus manos es un ejemplo de la fortaleza con la que la Universidad aborda su futuro gracias a quienes en estos momentos se inician en la carrera investigadora. Esperamos que encuentre en estas páginas una muestra de la creatividad y excelencia de nuestros jóvenes investigadores. Quienes comienzan el largo camino de la investigación científica con tan buen pie y con estos mimbres sólo pueden hacernos ser optimistas y creer que los investigadores de hoy sabrán abordar los retos del mañana.

Córdoba, marzo de 2018

María Teresa Roldán Arjona

Vicerrectora de Investigación

Ciencias de la salud

Pilar Aparicio-Martínez, Manuel Vaquero Abellán

Capítulo 1. La imperceptible influencia de las redes sociales en la imagen corporal

Universidad de Córdoba. Facultad /Escuela de Medicina y Enfermería. Departamento de Enfermería.

Dirección: Avda. Menéndez Pidal, s/n. E-mail:n32apmap@uco.es

Resumen

Las redes sociales se han convertido en el medio de comunicación y propagación de información más usado por los jóvenes. El estudio se ha centrado en el diseño y distribución entre alumnos de la Universidad de Córdoba (N=328) una encuesta sobre las redes sociales y la apreciación corporal. Los resultados sobre la opinión de los jóvenes respecto a su imagen corporal, en relación con los estereotipos que se promocionan y a la influencia de las redes sociales, muestran que el grado de satisfacción de la imagen corporal en las mujeres presenta alta correlación con la frecuencia de conexiones a las redes sociales, con la imagen corporal actual que se tiene y con el grado de afectación de la publicidad. Esto implica que a medida que se produce un incremento entre la frecuencia de conexión a las redes sociales, aumenta la mala imagen corporal, y también aumenta el efecto de la publicidad, lo que incrementa el grado de insatisfacción corporal. Por el contrario, en los hombres no existe esta elevada correlación e influencia.

Fundamento y presentación de resultados

En la sociedad actual, es un hecho indiscutible el que son cada vez más las personas que utilizan las redes sociales como la forma más común de interacción sociocultural durante una considerable cantidad de tiempo, siendo los jóvenes los usuarios más adictos [1]. Facebook, Twitter o Instagram son las redes sociales (SNSs) más difundidas y utilizadas [2,3], lo que da lugar a que se produzca una gran influencia en los jóvenes e induce a que modifiquen en numerosas ocasiones sus hábitos y formas de vida, sin ser conscientes de ello. Sin embargo, números estudios han demostrado que los comentarios que son publicados, la mayoría de supuestos “amigos”, como por ejemplo los mensajes sobre la imagen corporal, producen un efecto negativo sobre la percepción de la propia imagen y del comportamiento afectivo [4].

La influencia de las redes sociales sobre los jóvenes incide sobre numerosas áreas que conforman la personalidad. Una de estas es la percepción de la imagen corporal, particularmente el grado de satisfacción con la misma [5,6], lo que da lugar al descontento de estos jóvenes con su propio cuerpo.

Un factor importante en esta insatisfacción es el uso de la publicidad en las redes sociales con el fin de propagar el ideal de belleza estandarizado: “un cuerpo delgado”. Números estudios experimentales realizados en países occidentales y algunos en el sureste de Europa, muestran el mencionado impacto de los medios de comunicación en

Sección 1. Ciencias de la salud - Capítulo 1. La imperceptible influencia de las redes sociales en la imagen corporal

la insatisfacción corporal[4,7]. Cabe destacar, que la publicidad utiliza imágenes corporales fuertemente estereotipadas para promocionar cánones físicos y conductas alimentarias no saludables, asociadas a productos alimentarios dirigidos sobre todo a los jóvenes[8].

Este trabajo de investigación muestra un estudio estadístico de una encuesta de diseño propio acerca de la imagen corporal, el grado de satisfacción de la misma y la percepción y uso de redes sociales.

En la tabla 1, centrada en las mujeres, se observa como la media del grado de satisfacción corporal es de 4,61 sobre 7 mientras que en la tabla 2, centrada en los hombres, el valor es de 5,0 sobre 7. En las mujeres la desviación típica en el grado de satisfacción corporal es de 1,36, lo que significa que los datos de la muestra se encuentran más dispersos, mientras que en los hombres es de 1,02. Respecto a la variable “percepción de la imagen que la joven tiene de sí misma”, (Tabla 1) la media del grupo de las mujeres es de 3.34 sobre 7, siendo este valor de delgadez moderada y cuerpo más definido. La desviación típica en esta imagen es de 0.92, lo que muestra que los datos son bastantes parejos. Asimismo, la media de la variable, imagen corporal que se desea tener, es de 2.94 lo que implica una imagen más delgada, siendo su desviación típica del 0.65 por lo que se muestra que los datos se encuentran concentrados en el valor menor de 3. La media obtenida, sobre la imagen que proyecta la publicidad, es de 1.55 por lo que esta es de extrema delgadez, siendo su desviación típica del 0.75 por lo que los datos se encuentran concentrados entorno al valor 1 y 2.

Tabla 1. Resultados correspondientes de la encuesta del grupo joven femenino

	Edad	Imagen actual	Grado de satisfacción	Imagen deseada	Imagen de la publicidad	Frecuencia de conexión	Red social	Afectación de la publicidad
Media	19.68	3.34	4.61	2.94	1.55	9.93	3.39	3.27
Desviación típica	1.49	0.92	1.36	0.65	0.75	2.83	0.95	1.62

Por otro lado, la media de la variable “el grado de afectación de la publicidad” es de 3.27 sobre 7, lo que es un valor de afectación medio. Sin embargo, la desviación típica es de 1.62, por lo que los datos de la muestra están dispersos. Finalmente, en cuanto a las redes sociales, se han estudiado la frecuencia media de conexiones en las distintas redes durante la semana. La media obtenida es de 9.93 conexiones por semana. La desviación típica es de 0.95.

La Tabla 2, centrada en hombres, muestra que la media para la variable “percepción de la imagen que el joven tiene de sí mismo” es de 3.49, “imagen musculosa”. La desviación típica de 1.21 muestra mayor dispersión. La media de la variable: “imagen deseada” es 4, lo que muestra una mayor concordancia con la imagen que tienen de sí mismos, con una desviación típica de 0.59 muestra mayor homogeneidad entre resultados. En cuanto a la variable: “imagen que refleja la publicidad” la media es de 3.88 con una desviación típica de 0.81. Por último, con respecto a la publicidad, la media de la variable: “grado de afectación de la misma” es de 2.17 sobre 7, lo que implica que la mayoría de los jóvenes consideran que no les afecta la publicidad en las

Sección 1. Ciencias de la salud - Capítulo 1. La imperceptible influencia de las redes sociales en la imagen corporal

redes sociales. Sin embargo, la desviación típica de esta variable es de 1.12, mayor dispersión. En cuanto a las redes sociales: “la frecuencia de conexión” y “las redes sociales como medio de comunicación” muestra que la media de frecuencia de conexiones a redes sociales es de 10.47, con una desviación típica de 3.67, lo que implica que los datos son muy dispares.

Tabla 2. Resultados correspondientes de la encuesta del grupo joven masculino

	Edad	Imagen actual	Grado de Satisfacción	Imagen deseada	Imagen publicidad	Afectación de la publicidad	Frecuencia de conexiones	Redes sociales
Media	18.63	3.49	5.00	4.00	3.88	2.17	10.45	3.39
Desviación típica	1.64	1.21	1.02	0.59	0.81	1.12	3.67	0.89

Las tablas 3 y 4 muestran los resultados del test de Kruskal-Wallis para el grado de satisfacción corporal en las siete variables estudiadas para las muestra femenina y masculinas, respectivamente. La hipótesis nula considerada es: “el grado de satisfacción es independiente de cada una de las variables”. En la muestra femenina se rechaza la hipótesis nula, es decir el grado de satisfacción depende de las variables: frecuencia de conexiones (Chi-square 15.321. df 5. p-value 0.003) la imagen corporal actual (Chi-square 17.791. df 5. p-value 0.003) y el grado en el que afecta la publicidad (Chi-square 19.171. df 5. p-value 0.02). Sin embargo, el estudio para la muestra masculina refleja que la hipótesis nula es aceptada ya que los valores de chi-cuadrado y los valores de p obtenidos no son significativos. por lo que el grado de satisfacción corporal no depende de las variables propuestas.

Tabla 3. Resultados de Krusal-Wallis correspondientes al grado de satisfacción corporal en grupo femenino

	Edad	Imagen de la publicidad	Frecuencia de conexión	Imagen actual	Imagen deseada	Red Social	Afectación de la publicidad
Chi-Square	9.127	3.603	15.321	17.791	3.475	3.592	19.171
df	5	5	5	5	5	5	5
Asymp. Sig.	.104	.608	.009	.003	.627	.609	.002

Tabla 4. Resultados de Krusal-Wallis correspondientes al grado de satisfacción corporal en grupo masculino

	Edad	Imagen actual	Imagen deseada	Imagen publicidad	Afectación de la publicidad	Frecuencia de conexiones	Redessociales
Chi-Square	2.084	3.747	6.153	1.692	2.041	4.253	6.506
df	4	4	4	4	4	4	4
Asymp. Sig.	.720	.441	.188	.792	.728	.373	.164

Sección 1. Ciencias de la salud - Capítulo 1. La imperceptible influencia de las redes sociales en la imagen corporal

Bibliografía

- [1] A. Watson. N. K. Lecki. M. Lebcir. Does size matter? An exploration of the role of body size on brand image perceptions. *Journal of Product & Brand Management*. 2015. 24 (3). 252 - 262.
- [2] R.Rodgers.H. Chabrol.The impact of exposure to images of ideally. *Psychopathologie*. 2009. 35. 262—268.
- [3] J.J.M. Regina. J. S. van den Eijnden. The Social Media Disorder Scale. (Elsevier. Ed.) *Computers in human Behavior*. August de 2016. 61. 478-487.
- [4] A. Arroyo. S. Brunner. Negative body talk as an outcome of friends. *Journal of Applied Communication Research*. 11 de August de 2016. 44(3). 216–235.
- [5] A. Wyssen. J. Coelho. P. Wilhelm. G. Zimmermann. S. Munsch. Thought-shape fusion in young healthy females appears after vivid imagination of thin ideals. *Journal of behavior therapy and experimental therapy*. 2016 52(10). 75-82.
- [6]K. Brooks. J. Mond.R. Stevenson.I. Stephen. Body Image Distortion and Exposure toExtreme Body Types:Contingent Adaptation and Cross Adaptation for Self and Other. *Frontiers in Neuroscience*.15 de July de 2016.10. 1-10.
- [7]B. E. Jiménez-Cruz. C. Silva-Gutiérrez. Riesgo para trastorno alimentario. ansiedad. depresión y otras emociones asociadas a la exposición de imágenes publicitarias. *Anales de psicología*. 2010 6(1). 11-17.
- [8]H. Madanat. R. Brown. S. Hawks. S. (2006). The impact of body mass index and Western advertising and. *Public Health Nutrition*. 2006. 10(10). 1039–1046.

Sección 1. Ciencias de la salud - Capítulo 2. Circulación del virus de la Hepatitis E en bovinos y ungulados silvestres en el Parque Nacional de Doñana

Javier Manuel Caballero Gómez, Ignacio García Bocanegra, Antonio Rivero Juárez

Capítulo 2. Circulación del virus de la Hepatitis E en bovinos y ungulados silvestres en el Parque Nacional de Doñana

Universidad de Córdoba. Facultad de Veterinaria. Departamento de Sanidad Animal.

Dirección: Edificio de Sanidad Animal, 2ª planta. Campus de Rabanales. 14071 Córdoba, España.

E-mail: javiercaballero15@gmail.com

Resumen

La hepatitis E (HE) es una enfermedad zoonótica emergente que afecta anualmente a 20 millones de personas en el mundo cuya principal vía de infección en países industrializados es la ingestión de productos de origen porcino. Aunque el cerdo y el jabalí son los principales reservorios de los genotipos zoonóticos del virus de la HE (VHE), los estudios sobre el papel epidemiológico de otras especies domésticas y silvestres siguen siendo muy limitados. El principal objetivo del presente estudio fue determinar la prevalencia de VHE en ganado bovino y ungulados silvestres del Parque Nacional de Doñana (PND). Durante 2015 se obtuvieron muestras de sangre de 137 vacas, 99 jabalíes, 101 ciervos y 102 gamos en las cinco áreas de manejo en las que se divide el PND. Las muestras se analizaron mediante RT-PCR a tiempo real para la detección de ARN del VHE. Por especies, la prevalencia fue del 9,5% en bovino (13/137), 1% en jabalí (1/99), 5% en ciervo (5/101) y 1% en gamo (1/102). La detección de bovinos positivos al VHE confirma, por primera vez en Europa, la infección por el virus en esta especie. Las diferencias observadas entre grupos de especies podrían indicar la existencia de ciclos epidemiológicos independientes entre el ganado doméstico y los ungulados silvestres en el PND. El riesgo zoonótico de infección por consumo de productos crudos o poco cocinados de origen bovino o de ungulados silvestres podría tener gran relevancia desde un punto de vista de Salud Pública.

Fundamento y presentación de resultados

La hepatitis E (HE) es una enfermedad zoonótica emergente de transmisión alimentaria producida por el virus de la hepatitis E (VHE), un virus ARN de cadena simple y sin envoltura [1]. El VHE está incluido dentro de la familia Hepeviridae, siendo cuatro genotipos de Orthohepevirus A (1-4) los que presentan mayor importancia desde un punto de vista de Salud Pública [1]. Actualmente, la HE está considerada como una enfermedad emergente de distribución mundial con gran relevancia en Salud Pública, estimándose que un tercio de la población mundial ha estado infectada por el VHE. Así mismo, es la principal causa de hepatitis aguda humana a nivel mundial, causando 20 millones de casos y 57.000 muertes anuales [2].

Sección 1. Ciencias de la salud - Capítulo 2. Circulación del virus de la Hepatitis E en bovinos y ungulados silvestres en el Parque Nacional de Doñana

Las infecciones asociadas a los genotipos 1 y 2, están relacionadas principalmente con brotes humanos en países en vías de desarrollo por el consumo de agua contaminada [1]. Por otro lado, los genotipos 3 y 4 de VHE están implicados en casos de HE en todo el mundo, y su origen es eminentemente de tipo zoonótico, siendo los suidos los principales reservorios [1]. La principal vía de infección de los genotipos 3 y 4 de VHE en humanos es el consumo de alimentos crudos o poco cocinados de porcino (cerdo doméstico (*Sus scrofa domesticus*) y jabalí (*Sus scrofa*)) y ciervo (*Cervus elaphus*) infectados [3]. Por otro lado, la principal vía de infección por VHE en el cerdo es la vía fecal-oral a partir de heces contaminadas [3]. En este sentido, se ha detectado genotipo 3 de VHE en hígado, heces y bilis de cerdos en matadero, así como productos de origen porcino preparados para consumo humano en supermercados [4].

Otras especies domésticas también se consideran potenciales fuentes de infección zoonótica por VHE (Doceul et al., 2016). El VHE ha sido detectado en ganado bovino en China, así como en caprino en Italia y China [1]. La infección por VHE también se ha evidenciado en diversas especies de ungulados silvestres como jabalí, ciervo, corzo (*Capreolus capreolus*) y gamo (*Dama dama*). Sin embargo, tan solo el consumo de productos cárnicos procedentes del jabalí o ciervo han producido, hasta la fecha, casos zoonóticos de HE a partir de fauna silvestre [1].

El Parque Nacional de Doñana (PND) es un espacio natural protegido situado al oeste de Andalucía. Con una superficie de 54.252 ha, la biodiversidad del Parque resulta única en Europa debido a sus múltiples ecosistemas. El área de contacto del matorral de los cotos con la marisma tiene lugar a través de una franja anchura denominada "vera", que corresponde a un ecotono de gran riqueza ecológica. En esta estrecha franja interaccionan con frecuencia la mayor parte de especies domésticas y silvestres presentes en el Parque.

El principal objetivo del presente trabajo fue determinar la prevalencia de VHE en ganado bovino y ungulados silvestres del PND.

El estudio se realizó en las cinco áreas (I-V, de norte a sur) en las que se divide el PND. Durante el año 2015 se tomaron muestras de sangre de 439 ungulados, incluyendo 137 bovinos marismeños, así como 99 jabalíes, 101 de ciervos y 102 de gamos que compartían hábitat con el ganado bovino. En el laboratorio, las muestras se centrifugaron tras su recogida para la obtención del suero, el cual se conservó a una temperatura de -80°C hasta su análisis laboratorial en el Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC). Para cada muestra, la extracción del ARN viral se realizó de forma automática empleando el sistema QIAcube (QIAgen, Hilden, Alemania). La detección de ARN viral se llevó a cabo en pools de 4 eluciones mediante RT-PCR a tiempo real (CFX Connect Real Time PCR System) utilizando el kit iTaq Universal Probes One-Step Kit (Biorad, Hercules, California, EEUU). Los pools positivos y dudosos se reevaluaron posteriormente de forma individual.

Un total de 20 de los 439 (4,6%; IC95%: 2,7-6,4%) animales analizados, resultaron positivos a infección por VHE (Tabla 1). Por especies, se detectó ARN del VHE en 13 de los 137 bovinos (9,5%), 1 de los 99 jabalíes (1%), 5 de los 101 ciervos (5%) y 1 de los 102 gamos (1%). La prevalencia de infección fue significativamente superior en

Sección 1. Ciencias de la salud - Capítulo 2. Circulación del virus de la Hepatitis E en bovinos y ungulados silvestres en el Parque Nacional de Doñana

bovino (9,5%) comparado con el total de ungulados silvestres (2,3%) ($P= 0,002$). Se detectó una prevalencia significativamente mayor en vacas comparada con gamo y jabalí ($P= 0,001$), pero no con ciervo ($P= 0,155$). No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la prevalencia de infección y la edad o el sexo.

Tabla 1. Prevalencia de infección por el VHE por especie y área

Área	Bovino N° positivos/N° analizados (%)	Jabalí N° positivos/N° analizados (%)	Ciervo N° positivos/N° analizados (%)	Gamo N° positivos/N° analizados (%)	Total N° positivos/N° analizados (%)
I	-	0/21 (0%)	0/20 (0%)	1/20 (5%)	1/61 (1,6%)
II	1/23 (4,3%)	1/20 (5%)	1/23 (4,3%)	0/20 (0%)	3/86 (3,5%)
III	0/31 (0%)	0/20 (0%)	3/18 (16,7%)	0/21 (0%)	3/90 (3,3%)
IV	0/43 (0%)	0/18 (0%)	0/20 (0%)	0/20 (0%)	0/101 (0%)
V	12/40 (30%)	0/20 (0%)	1/20 (5%)	0/21 (0%)	13/101 (12,9%)
TOTAL	13/137 (9,5%)	1/99 (1%)	5/101 (5%)	1/102 (1%)	20/439 (4,6%)

La prevalencia fue significativamente mayor en la V comparado con el resto de áreas ($P < 0,001$). Así mismo, se detectó al menos un ungulado silvestre infectado en cuatro (80%) de las cinco áreas del Parque.

Un total de 13 (9,5%) vacas fueron ARN-VHE positivas. Este es el primer estudio que evalúa la infección por VHE en bovino en España y el primero en detectar infección por VHE en esta especie en Europa. Aunque se ha evidenciado contacto entre bovino y VHE por medio de estudios serológicos en otros países como Brasil, China, Estados Unidos e India [5], el número de trabajos donde se ha conseguido detectar el VHE en esta especie es muy limitado. En China, la prevalencia de ARN-VHE fue del 6% en muestras de suero [6], siendo inferiores a la detectada en el presente estudio. Nuestros resultados confirman, la susceptibilidad a la infección por VHE en vacas en Europa. Este hallazgo, puede tener importantes implicaciones para la Salud Pública debido al riesgo de transmisión asociado al consumo de productos de origen bovino. En este sentido, en un estudio experimental empleando primates no humanos, se ha comprobado que la leche de vaca contaminada con VHE es capaz de infectar incluso después de ser sometida a tratamiento de pasteurización [1].

Distintos estudios de VHE en ungulados silvestres realizados previamente en Europa y Asia [7] detectaron, en general, frecuencias de infección más elevadas que las obtenidas en el presente estudio. La baja prevalencia detectada en jabalí (1,0%) en nuestro trabajo, contrasta con los valores previamente obtenidos en el centro y sur de España (variando entre el 10 y el 20%) [8,9]. Estas diferencias podrían estar relacionadas con particularidades propias de la zona de estudio. El PND es un área protegida donde la gestión de las poblaciones de ungulados silvestres, a diferencia de fincas cinegéticas, se limita exclusivamente a la extracción selectiva de animales una vez al año. El grado de manejo del jabalí se ha asociado a mayores tasas de infección por VHE en España [8],

Sección 1. Ciencias de la salud - Capítulo 2. Circulación del virus de la Hepatitis E en bovinos y ungulados silvestres en el Parque Nacional de Doñana

tal y como ocurre en otras enfermedades infecciosas. Además, la ausencia de explotaciones de cerdo doméstico, principal reservorio doméstico de VHE [1], podría ser otra de las razones de la limitada prevalencia obtenida en jabalí en el Parque. Los resultados preliminares obtenidos en este estudio sugieren un papel más limitado del jabalí como reservorio silvestre del VHE en el PND. La prevalencia de VHE obtenida en ciervos (5,0%) contrasta igualmente con los valores detectados previamente en otras regiones de España (14%-16%), o Italia (11%) [7,9]. Sin embargo, nuestros resultados son muy similares a los obtenidos en otros países como Holanda (5,2%) y Alemania (2,4%-5,2%) [7]. Este es el primer estudio de infección por VHE en gamo en España. Hasta la fecha, tan solo el trabajo realizado por Neumann y cols. (2016) [10] permitió detectar ARN de VHE en suero de esta especie, obteniendo una prevalencia del 4% (2/46) en áreas del centro de Alemania. Las bajas prevalencias observadas en jabalí podrían justificar, en parte, las limitadas tasas de infección encontradas en ciervo y gamo. Nuestros resultados sugieren que los ungulados silvestres podrían actuar como hospedadores accidentales más que como verdaderos reservorios de VHE en el PND.

Aunque se detectaron animales infectados por VHE en 4 de las 5 áreas del PND, la dispersión no fue homogénea, observándose una prevalencia significativamente superior en el área V. Este hecho está asociado fundamentalmente al elevado número de vacas positivas detectadas en este área. Teniendo en cuenta que el ganado bovino analizado en el área V perteneció a explotaciones diferentes, las elevadas prevalencias detectadas en esta especie parecen estar más asociadas a una fuente de exposición común, específica para el ganado doméstico, en dicha área. Sin embargo, son necesarios estudios adicionales para determinar el origen de la elevada circulación de VHE en el ganado bovino en este área.

Bibliografía

- [1] V. Doceul, E. Bagdassarian, A. Demange, N. Pavio, *Viruses*, 8 (2016), 1–24.
- [2] OMS, Organización Mundial de la Salud (2017). Global Hepatitis Report, 2017; <http://www.who.int/hepatitis/publications/global-hepatitis-report2017/en/>
- [3] X. J. Meng, *Vet Microbiol.* 140 (2010) 256-265.
- [4] I. Di Bartolo, M. Diez-Valcarce, P. Vasickova, P. Kralik, M. Hernandez, G. Angeloni, F. Ostanello, M. Bouwknegt, D. Rodríguez-Lázaro, I. Pavlik, and F. M. Ruggeri, *Emerg Infect Dis.*, 18 (2012), 1282-1289
- [5] W-J. Park, B-J. Park, H-S. Ahn, J-B. Lee, S-Y. Park, C-S. Song, S-W. Lee, H-S. Yoo, I-S. Choi, *J Vet Sci.*, 17 (2016), 1-11.
- [6] B. Yan, L. Zhang, L. Gong, J. Lv, Y. Feng, J. Liu, L. Song, L., Q. Xu, M. Jiang, A. Xu, *Emerg Infect Dis.*, 22 (2016), 2211–2212.
- [7] M. Boadella, *Small Rum Res.*, 128 (2015), 64–71.
- [8] N. de Deus, B. Peralta, S. Pina, A. Allepuz, E. Mateu, D. Vidal, F. Ruiz-Fons, M. Martín, C. Gortázar, J. Segalés, *Vet Microbiol.*, 129 (2008), 163–170.
- [9] E. Kukielka, V. Rodríguez-Prieto, J. Vicente, J. M. Sánchez-Vizcaíno, *Transbound Emerg Dis.*, 63 (2016), e360-e368.
- [10] S. Neumann, S. S. Hackl, M. Piepenschneider, M., A. Vina-Rodríguez, P. Dremsek, R. G. Ulrich, M. U. Groschup, M. Eiden., *J Wildl Dis.*, 52 (2016), 106–113.

César Consuegra González

Capítulo 3. Vitrificación de espermatozoos de caballo empleando crioprotectores no penetrantes

*Universidad de Córdoba. Facultad de Veterinaria. Departamento de Medicina y
Cirugía Animal.*

*Dirección: Campus de Rabanales. Hospital Clínico Veterinario. Ctra. Madrid-Cádiz
km 396. 14014 Córdoba*

E-mail: v12cogom@uco.es

Resumen

La vitrificación de espermatozoos consiste en introducir pequeños volúmenes en nitrógeno líquido consiguiendo una alta velocidad de enfriamiento. Esta técnica ha tenido éxito en otras especies, pero no en caballo. Nuestro objetivo fue valorar la vitrificación empleando crioprotectores no penetrantes como alternativa a la congelación con glicerol, estudiando movimiento e integridad de la membrana plasmática. Se recogieron 18 eyaculados de seis sementales, se centrifugaron (600 x g/10 min) y se resuspendieron en INRA96 añadiendo glicerol para congelación o 0,02 M de sacarosa y 1% de albúmina sérica bovina (BSA) para vitrificación. En congelación se siguió un protocolo estándar para caballos. Para vitrificación, se depositaron alícuotas de 30 µL en nitrógeno líquido. Movimiento total (MT,%) y progresivo (MP,%) fueron evaluados mediante el sistema CASA. La integridad de la membrana plasmática (MPI,%) y se evaluó por microscopía de epifluorescencia. Los valores fueron comparados entre tratamientos mediante ANOVA. Los resultados se expresaron como media ± error estándar. La vitrificación obtuvo resultados mayores significativamente ($P < 0,05$) para MT (55.67%±2.99 vs. 35.41%±2.96), MP (38.32%±3.05 vs. 14.42%±1.80) y MPI (66.61%±2.69 vs. 49.16%±2,60) que la congelación. En conclusión, la vitrificación con crioprotectores no penetrantes podría ser una alternativa a la congelación convencional.

Fundamento

La vitrificación es una técnica de criopreservación basada en la bajada de temperatura a alta velocidad introduciendo el espermatozoos directamente en nitrógeno líquido, reduciendo la formación de grandes cristales de hielo, como ocurre en la congelación lenta tradicional [1]. Para reducir el daño por congelación se emplean los crioprotectores, los cuales protegen al espermatozoos, debiendo tener una presión osmótica adecuada para minimizar el daño en la membrana plasmática. Los crioprotectores que se han utilizado principalmente en congelación son los penetrantes, los cuales también dañan al espermatozoos; uno de los más empleados es el glicerol, el cual ejerce un mayor efecto tóxico en el espermatozoos al penetrar la membrana plasmática más despacio que otros crioprotectores, provocando un mayor desequilibrio osmótico [2].

Sección 1. Ciencias de la salud - Capítulo 3. Vitrificación de espermatozoides de caballo empleando crioprotectores no penetrantes

La vitrificación supone un método alternativo a la congelación convencional, permitiendo que la solución pase a un estado vítreo y evitando la formación de cristales de hielo. Este estado vítreo se consigue empleando una alta velocidad de enfriamiento y altas concentraciones de crioprotectores, obteniendo buenos resultados en la vitrificación de embriones y ovocitos[3]. Sin embargo, el espermatozoide no tolera esta alta concentración de crioprotectores[4]. Recientemente, se ha empleado la vitrificación cinética, que consiste en introducir pequeños volúmenes en nitrógeno líquido empleando medios que combinan sacarosa y proteínas como crioprotectores no penetrantes, en lugar de los crioprotectores penetrantes[5].

El objetivo de este estudio es valorar la vitrificación de espermatozoides equinos empleando crioprotectores no penetrantes como alternativa a la congelación lenta con glicerol.

Metodología

Los eyaculados se obtuvieron de seis sementales de raza Pura Raza Español (3), Hispano-árabe (1), Anglo-árabe (1) y Bretón (1) utilizando una vagina artificial tipo Missouri en presencia de una yegua en celo. Se obtuvieron un total de 18 eyaculados.

Para la congelación, el espermatozoide fresco fue diluido en INRA96 y centrifugado durante 10 minutos a 600 x g. El pellet de espermatozoides fue resuspendido en INRA96 con 2,2% de glicerol. El espermatozoide fue refrigerado a 5°C durante 1 hora, y a continuación fue envasado en pajuelas, las cuales se congelaron a 2,5 cm sobre la superficie del nitrógeno líquido (LN2) durante 5 minutos. Posteriormente, se introdujeron en un tanque de LN2, donde se mantuvieron hasta su valoración.

Para la vitrificación el espermatozoide fresco fue diluido en INRA96 y centrifugado durante 10 minutos a 600 x g. Tras la centrifugación, el pellet de espermatozoides fue resuspendido en el medio para vitrificación con 0,02M de sacarosa + 1% de albúmina sérica bovina (BSA) en INRA96. El espermatozoide se refrigeró 1 hora a 5°C. A continuación, se introdujeron directamente en nitrógeno líquido (LN2) 5 alícuotas de 30 µL del espermatozoide diluido en el medio para vitrificación. Las esferas se desvitrificaron sumergiéndolas en 2 mL de INRA a 42 °C.

El movimiento espermático se valoró mediante un sistema de análisis automático de espermatozoides, Sperm Class Analyzer. Se toman 2 gotas 5 µL del espermatozoide diluido a 25 x 10⁶, tomando 6 campos de forma aleatoria, incluyendo un mínimo de 200 espermatozoides. La trayectoria de cada espermatozoide fue analizada con el software de SCA obteniendo el movimiento total (MT, %) y progresivo (MP, %).

Sección 1. Ciencias de la salud - Capítulo 3. Vitrificación de espermatozoides de caballo empleando crioprotectores no penetrantes



Figura 1. Evaluación de la integridad de la membrana plasmática

La integridad de la membrana plasmática fue valorada mediante el kit comercial Vital-Test® que consta de los fluorocromos yoduro de propidio y naranja de acridina. Se toma una alícuota de 10 μl de la muestra y se añade 1 μl de ambos fluorocromos. Posteriormente se visualizan al menos 200 espermatozoides utilizando un microscopio de fluorescencia. Se registró el porcentaje de espermatozoides que emiten fluorescencia verde, es decir, con la membrana plasmática íntegra (MPI,%). Los espermatozoides con la membrana plasmática fragmentada emiten fluorescencia roja (Figura 1).

Resultados

Tabla 1. Resultados de los parámetros espermáticos valorados tras la congelación o vitrificación de los eyaculados de los caballos (N=6)

Parámetro	Congelación GLY	Vitrificación S20+BSA1
TM	35,411 \pm 2,96 ^c	55,67 \pm 2,99 ^a
PM	14,42 \pm 1,80 ^c	38,32 \pm 3,05 ^a
MPI	49,16 \pm 2,60 ^c	66,61 \pm 2,69 ^a

GLY= Diluyente control glicerol 2,2% en INRA96; *S20+BSA1*= Sacarosa 0,02M + 1% Albúmina Sérica Bovina en INRA96; *MT*= Movimiento Total %; *MP*=Movimiento Progresivo %; *MPI*= Membrana plasmática íntegra %. Los valores están expresados en media \pm error típico. Letras distintas entre tratamientos indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

Conclusión

La técnica de vitrificación empleando el diluyente con 0,02 M de sacarosa y 1% BSA presentó valores significativamente superiores en los parámetros espermáticos de movimiento total, progresivo e integridad de la membrana plasmática en comparación con la congelación convencional usando glicerol. Por tanto, la vitrificación de espermatozoides de caballo empleando esta concentración de sacarosa y BSA podría ser una alternativa a la congelación convencional.

**Sección 1. Ciencias de la salud - Capítulo 3. Vitrificación de espermatozoides de caballo
empleando crioprotectores no penetrantes**

Bibliografía

- [1] Fahy G. M.; MacFarlane D. R.; Angell C. A.; Meryman H.T. : Vitrification as an approach to cryopreservation. *Cryobiology*, 21, 1984, p. 407-426.
- [2] Vidament M.; Vincent P.; Martin F. X.; Magistrini M.; Blesbois E. : Differences in ability of jennies and mares to conceive with cooled and frozen semen containing glycerol or not. *Anim Reprod Sci*, 112, 2009, p. 22-35.
- [3] Rall W. F.; Fahy G. M. : Ice-free cryopreservation of mouse embryos at -196 degrees C by vitrification. *Nature*, 313, 1985, p. 573-575.
- [4] Isachenko E.; Isachenko V.; Katkov, II; Dessolet S.; Nawroth F. : Vitrification of mammalian spermatozoa in the absence of cryoprotectants: from past practical difficulties to present success. *Reprod Biomed Online*, 6, 2003, p. 191-200.
- [5] Isachenko E.; Isachenko V.; Weiss J. M.; Kreienberg R.; Katkov, II; Schulz M.; Lulat A. G.; Risopatron M. J.; Sanchez R. : Acrosomal status and mitochondrial activity of human spermatozoa vitrified with sucrose. *Reproduction*, 136 , 2008, p. 167-173.

Sección 1. Ciencias de la salud - Capítulo 4. Estudio retrospectivo de la prevalencia de urolitiasis canina en casos recibidos en el Hospital Clínico Veterinario de la UCO desde 2011 a 2017

Begoña Fernández, Ignacio López, Carmen Pineda

Capítulo 4. Estudio retrospectivo de la prevalencia de urolitiasis canina en casos recibidos en el Hospital Clínico Veterinario de la UCO desde 2011 a 2017

Universidad de Córdoba. Facultad /Escuela de Veterinaria. Departamento de Medicina y Cirugía Animal.

Dirección: Departamento de Medicina y Cirugía Animal. Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de Córdoba. Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba. Campus Universitario Rabanales. Ctra. Madrid-Cádiz, km. 396. 14014 Córdoba.

E-mail: bego_ez94@hotmail.com

Resumen

La urolitiasis canina es una patología muy común en la clínica de pequeños animales. Para un manejo clínico adecuado es importante conocer los factores de riesgo que predisponen a padecerla así como la composición mineral de los distintos urolitos. Por tanto, los objetivos del presente estudio retrospectivo se basaron en la descripción de los principales factores de riesgo y en una estimación de la prevalencia de los distintos tipos de urolitiasis en nuestra zona. Para ello, se estudió una población formada por 34 perros, de los cuales se extrajeron quirúrgicamente urolitos de distintas zonas de las vías urinarias: uretra (n=18), vejiga (n=17), riñón (n=2) y uréter (n=1). La urolitiasis más frecuente fue la producida por cálculos de oxalato cálcico (n=12), seguida de la urolitiasis por urato (n=7), estruvita (n=6), sílice (n=5), xantina (n=2) y cistina (n=2). La raza más prevalente fue la raza Yorkshire Terrier, la edad media de presentación fue de $6,63 \pm 0,49$ años y los machos no castrados fueron más susceptibles. La obesidad fue la enfermedad concomitante más comúnmente diagnosticada (n=8) seguida de 1 caso de shunt portosistémico y 1 caso de hiperadrenocorticismismo.

Introducción y fundamentos

La urolitiasis se define como la formación de cálculos en cualquier localización de las vías urinarias. La urolitiasis canina es una patología muy común en la clínica de pequeños animales, suponiendo aproximadamente el 18% de las consultas veterinarias en perros con afecciones del tracto urinario inferior [1]. En su fisiopatología intervienen factores genéticos, ambientales y dietéticos. Entre las causas genéticas más relevantes relacionadas con determinadas razas destacan la cistinuria, xantínuria e hiperuricosuria. Otras causas asociadas a litiasis son las infecciones del tracto urinario, malformaciones de vías urinarias, obesidad, fármacos (alopurinol) y enfermedades tales como shunt portosistémico o hiperadrenocorticismismo [2,3]. En perros, los minerales que se encuentran con mayor frecuencia son el fosfato amónico magnésico (estruvita), el oxalato cálcico, el urato amónico y la cistina. Otros tipos menos frecuentes son el fosfato cálcico, la xantina y los silicatos [4]. El conocimiento de los distintos factores de

Sección 1. Ciencias de la salud - Capítulo 4. Estudio retrospectivo de la prevalencia de urolitiasis canina en casos recibidos en el Hospital Clínico Veterinario de la UCO desde 2011 a 2017

riesgo implicados y la identificación de la composición mineral de los urolitos son clave en el manejo clínico de esta patología [1]. Por tanto, los objetivos y fundamento del presente trabajo se basaron en la descripción de los principales factores de riesgo y en una estimación de la prevalencia de los distintos tipos de urolitiasis en nuestra zona.

Metodología

El presente estudio retrospectivo incluyó 34 perros con diagnóstico de urolitiasis remitidos al Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de Córdoba entre los años 2011 y 2017. A los animales se les realizó una anamnesis y examen físico completo, hemograma y bioquímica sanguínea, y pruebas de imagen. El urianálisis completo sólo estuvo disponible en 23 casos, dado que un número importante de animales fue intervenido quirúrgicamente de urgencia o porque al tratarse de un estudio retrospectivo estos datos no estuvieron disponibles. En aquellos casos con sedimento urinario activo se realizó cultivo y antibiograma.

Los urolitos fueron extraídos mediante cirugía y remitidos al Minnesota Urolith Center (Estados Unidos) para su análisis cuantitativo. Las técnicas quirúrgicas llevadas a cabo fueron: cistotomía, retrohidropulsión + cistotomía, uretrotomía, ureterotomía y nefrectomía.

La mayoría de las evaluaciones realizadas en este estudio son de tipo descriptivo más que puramente estadístico. No obstante, para algunas variables tales como edad, peso y pH urinario el estudio estadístico se realizó mediante el programa SPSS versión 15.0. Los resultados están expresados como media \pm error estándar. Para la comparación de medias de variables continuas entre más de dos grupos se utilizó un ANOVA de una vía seguido de un test post hoc DMS. $P < 0.05$ fue considerado estadísticamente significativo.

Resultados

En los animales incluidos en este estudio se han identificado 14 razas distintas y 4 perros mestizos, siendo la raza Yorkshire Terrier la más predominante con un 29,41% ($n=10$). La edad media de los animales se situó en $6,63 \pm 0,49$ años. Del total de los 34 casos, el 73,53% fueron machos ($n=25$) mientras que el 26,47% fueron hembras ($n=9$). Hubo un mayor número de animales enteros ($n=23$, 67,65%), en comparación a los animales esterilizados ($n=11$, 32,35%). El peso medio fue de $13,14 \pm 1,85$ Kg. Las patologías concomitantes diagnosticadas fueron: obesidad ($n=8$), shunt portosistémico ($n=1$) e hiperadrenocorticismismo ($n=1$). Además, 2 animales estaban recibiendo alopurinol de manera prolongada como tratamiento para la leishmaniosis.

Se pudo estimar el pH urinario por cada tipo de urolitiasis en 23 animales (Tabla 1). Se evidenció hematuria microscópica en 7 animales y leucocituria en 6, realizándose cultivo urinario en 4 de ellos. Se encontraron cristales en 6 animales y en la mayoría de los casos ($n=5$) la morfología de los mismos predijo el tipo de cálculo.

Sección 1. Ciencias de la salud - Capítulo 4. Estudio retrospectivo de la prevalencia de urolitiasis canina en casos recibidos en el Hospital Clínico Veterinario de la UCO desde 2011 a 2017

En aquellos casos en los que el manejo dietético no fue efectivo en la disolución de los cálculos se programó la cirugía para extraerlos. Igualmente, hubo animales que tuvieron que ser intervenidos de urgencia. La cistotomía fue la técnica más comúnmente realizada (n=17), seguida de cistotomía + retrohidropulsión (n=10) y uretrotomía (n=8). La nefrectomía se realizó en 2 casos y la ureterotomía en 1.

Los resultados del análisis cuantitativo de los urolitos resultaron en una dominancia de los urolitos de oxalato cálcico representando el 35,29% (n=12) seguido por los urolitos de urato, siendo el 20,59% (n=7); el 17,65% (n=6) estuvo representado por los cálculos de estruvita; los cálculos de sílice supusieron el 14,71% (n=5); los cálculos de cistina y xantina se presentaron en igual porcentaje (5,88%; n=2, en ambos tipos).

Tabla 1. Principales variables asociadas a cada tipo de urolitiasis en el grupo de perros bajo estudio. M: macho; H: hembra; C: castrado; E: entero; TUS: tracto urinario superior; TUI: tracto urinario inferior; P: puro; Mx: mixto. Los valores están expresados como media ± error estándar

Tipo de cálculo	Sexo (M/H)	Edad(años)	Peso (Kg)	Estado sexual (C/E)	pH urinario	Localización anatómica (TUS/TUI)	Composición (P/Mx)
Oxalato cálcico	8/4	8,83 ± 0,67	6,83±1,60	4/8	6,86±0,22	0/12	12/0
Urato	5/2	4,90±1,21	18,96±4,42	1/6	6,80±0,41	1/7	7/0
Estruvita	3/3	6,67±0,42	7,10±3,01	2/4	7,55±0,34	1/5	5/1
Sílice	5/0	4,60±0,98	23,46±4,16	¼	6,83±0,44	1/4	5/0
Cistina	2/0	4,50±0,50	19,00±12,00	1/1	6,40±0,10	0/2	2/0
Xantina	1/1	6,50±2,50	11,10±2,10	2/0	6,50±0,50	0/2	2/0

Conclusiones

La urolitiasis por oxalato cálcico fue la más prevalente con un 35,29%, seguida de la urolitiasis por urato y estruvita (20,59% y 17,65%, respectivamente). Las razas de talla pequeña fueron las más susceptibles a la formación de cálculos urinarios, siendo la raza Yorkshire Terrier la más predispuesta. Por otro lado, los machos no castrados fueron más susceptibles a padecer esta patología. En la urolitiasis por oxalato cálcico los animales tuvieron mayor edad, en contraste con la urolitiasis por cistina, donde se encontró la edad media más baja. Aunque no significativo, la urolitiasis por estruvita presentó un pH urinario alcalino en comparación con los demás tipos de cálculos. Por último, enfermedades como obesidad, shunt portosistémico o hiperadrenocorticismismo y la administración de fármacos como el alopurinol estuvieron ligados al desarrollo de urolitiasis, siendo la obesidad la más prevalente en los animales estudiados.

Bibliografía

[1] Lulich JP, Osborne CA, Bartges JW. Canine lower urinary tract disorders. En: Ettinger SJ, Feldman EC eds. Textbook of Veterinary Internal Medicine. Diseases of the Dog and Cat. 5st ed. Philadelphia: WB Saunders; 2000, p. 1747-1781.

Sección 1. Ciencias de la salud - Capítulo 4. Estudio retrospectivo de la prevalencia de urolitiasis canina en casos recibidos en el Hospital Clínico Veterinario de la UCO desde 2011 a 2017

- [2] Hesse A, Neiger R. A Colour Handbook of Urinary Stones in Small Animal Medicine. 1st ed. London: Manson Publishing; 2009.
- [3] Houston DM, Moore AEP. Canine and feline urolithiasis: Examination of over 50000 urolith submissions to the Canadian Veterinary Urolith Centre from 1998 to 2008. *Can Vet J.* 2009; 50 (12): p. 1263–1268.
- [4] Vrabelova D, Silvestrini P, Ciudad J, Gimenez JC, Ballesteros M, Puig P, Ruiz de Gopegui R. Analysis of 2735 canine uroliths in Spain and Portugal. A retrospective study: 2004–2006. *Res Vet Sci.* 2011; 91 (2): p. 208-211.
- [5] Lulich JP, Berent AC, Adams LG, Westropp JL, Bartges JW, Osborne CA. ACVIM Small Animal Consensus Recommendations on the Treatment and Prevention of Uroliths in Dogs and Cats. *J Vet Intern Med.* 2016; 30 (5): p. 1564-1574.

Sección 1. Ciencias de la salud - Capítulo 5. Efectos de la sobre-expresión de CYB5R3 sobre el sistema del coenzima Q en células hepáticas

Marta Pulgarín Alfaro

Capítulo 5. Efectos de la sobre-expresión de CYB5R3 sobre el sistema del coenzima Q en células hepáticas

Universidad de Córdoba. Facultad de Ciencias. Departamento de Biología Celular, Fisiología e Inmunología.

Dirección: Campus de Rabanales (Edf. C6, 3ª planta), 14014 Córdoba.

E-mail: b32pualm@uco.es

Resumen

Las citocromo b5 reductasas son una familia de flavoproteínas que transfieren equivalentes de reducción desde NADH al citocromo b5. La isoforma CYB5R3 anclada a membrana es un componente del sistema redox en membranas extramitocondriales, donde lleva a cabo la reducción de quinonas como el coenzima Q. Se ha demostrado que la sobre-expresión de la CYB5R3 mejora diversos parámetros metabólicos, aumenta la longevidad y reduce las alteraciones asociadas al envejecimiento. El coenzima Q en su forma reducida es un importante antioxidante presente en todas las membranas celulares y, debido a su influencia sobre el control de la homeostasis celular, se propone que los efectos positivos ejercidos por la CYB5R3 podrían estar parcialmente mediados por este antioxidante. Empleando un modelo de sobre-expresión transitoria de CYB5R3 en hepatocitos murinos, se observó un descenso en los niveles de colesterol y de coenzima Q9 y Q10, sin variaciones en el ratio coenzima Q9/Q10. El estudio de proteínas implicadas en la ruta del mevalonato reveló una disminución en los niveles de FDPS. Nuestros resultados sugieren que la CYB5R3 podría regular negativamente la actividad de la HMG-CoA reductasa, enzima clave en la ruta del mevalonato.

Fundamento y presentación de resultados

La restricción calórica es la intervención no genética mejor caracterizada que contribuye a aumentar la longevidad y a disminuir la aparición de alteraciones asociadas a la edad, habiéndose observado que, en tales condiciones, la proteína CYB5R3 se encuentra sobre- expresada [1]. Por otra parte, se conoce que la sobre-expresión in vivo de esta proteína en animales transgénicos produce una serie de beneficios relacionados con el estado metabólico, la esperanza de vida y el envejecimiento saludable [2]. Uno de los sustratos de la CYB5R3 es el coenzima Q (CoQ), y ambos elementos forman parte del sistema redox transmembrana de la membrana plasmática (Ilustración 1) confiriendo protección frente a oxidantes extracelulares [3]. El CoQ desempeña funciones esenciales en el correcto funcionamiento celular y se ha observado que existe una disminución para este compuesto con la edad. Por tanto, se pretende estudiar si los efectos beneficiosos de la sobre-expresión de CYB5R3 pueden estar mediados, al menos parcialmente, por el sistema del coenzima Q.

Sección 1. Ciencias de la salud - Capítulo 5. Efectos de la sobre-expresión de CYB5R3 sobre el sistema del coenzima Q en células hepáticas

plasmídico. Finalmente, se comprobó mediante secuenciación Sanger que la secuencia de estos plásmidos había permanecido inalterada durante la amplificación.

Tras obtener los vectores de expresión purificados se trabajó en la obtención de una línea estable Hepa 1-6 que sobre-expresara la CYB5R3. Sin embargo, tras dos intentos fallidos en la estabilización de la transfección, se decidió trabajar con un modelo transitorio de sobre-expresión a 48 h de la transfección. Este modelo, aunque presenta ciertos inconvenientes, es una alternativa válida para estudiar, al menos a corto plazo, los efectos de la sobre-expresión de CYB5R3.

En este modelo se determinaron los niveles de CoQ, observándose una disminución significativa respecto al control en los niveles de ambas isoformas, por lo que los niveles totales de CoQ también se vieron disminuidos con la sobre-expresión. Asimismo, se calculó el ratio CoQ9/CoQ10 y se observó que este no varía con la sobre-expresión. El análisis del colesterol también reveló una disminución en los niveles de este compuesto (Ilustración 2).

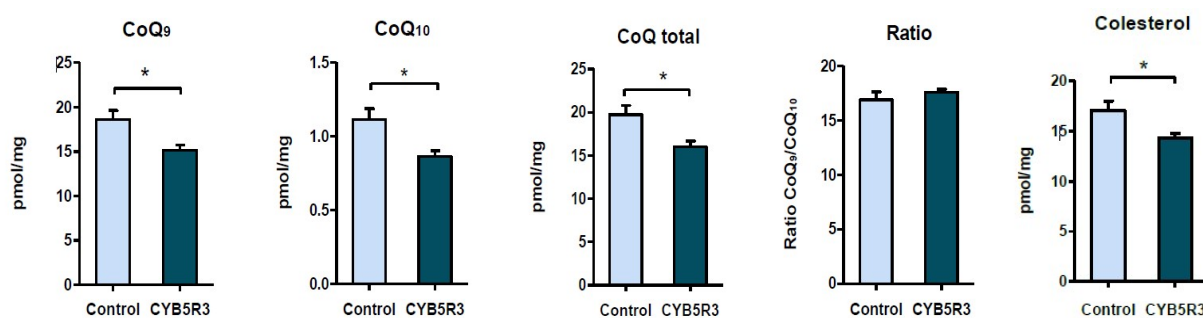


Ilustración 2. Efecto de la sobre-expresión de la proteína CYB5R3 en los niveles de CoQ y colesterol. Se observa una disminución significativa ($p < 0,05$) para los niveles de CoQ9, CoQ10, CoQ total y colesterol. El ratio CoQ9/CoQ10 no se vio alterado con la sobre-expresión. Los valores representados se corresponden con la media \pm SEM ($n = 6$)

Puesto que tanto el CoQ como el colesterol son productos finales de la ruta del mevalonato, quisimos evaluar la posible alteración de algunas enzimas de la ruta. En condiciones de sobre-expresión de CYB5R3 los niveles de la proteína farnesil difosfato sintasa (FDPS) mostraron un descenso significativo. Sin embargo, estudios descritos para la inhibición directa de esta proteína [6,7] indican que el aumento de IPP que ocurre como resultado de su inhibición altera de forma diferencial la biosíntesis de las distintas isoformas del CoQ. Dichos resultados difieren de los obtenidos con nuestro modelo, por lo que se planteó que la disminución observada para la FDPS podría estar produciéndose por una inhibición en reacciones previas de la ruta. Por su parte, no se encontraron cambios significativos para las proteínas geranylgeranyl difosfato sintasa (GGDPS) y poliprenil 4-hidroxibenzoato transferasa (COQ2) con la sobre-expresión de CYB5R3 en nuestro modelo.

Sección 1. Ciencias de la salud - Capítulo 5. Efectos de la sobre-expresión de CYB5R3 sobre el sistema del coenzima Q en células hepáticas

Con los resultados obtenidos, proponemos que la sobre-expresión de CYB5R3 en nuestro modelo de sobre-expresión a corto plazo podría estar provocando la inhibición de la β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA reductasa (HMG-CoA reductasa). Puesto que esta enzima cataliza una de las reacciones limitantes de la ruta, su represión explicaría que algunos de los productos finales se vean disminuidos. Además, al emplear NADH como sustrato, la sobre-expresión de CYB5R3 produce un aumento del ratio NAD⁺/NADH, el cual está relacionado con un incremento en la actividad de la proteína AMPK, regulador negativo de la HMG-CoA reductasa [8]. Por otra parte, la CYB5R3 favorece la síntesis de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga [2] y está descrito que la HMG-CoA reductasa se inhibe a altos niveles de estos ácidos grasos. Asimismo, en nuestro grupo se ha comprobado que el tratamiento de células Hepa 1-6 con lovastatina, un compuesto inhibidor de la HMG-CoA, provocan efectos similares sobre el CoQ a los observados con nuestro modelo [7]. Todo lo anterior apoyaría nuestra hipótesis sobre la inhibición de esta diana en la ruta del mevalonato. No obstante, en futuras investigaciones sería interesante estudiar si la CYB5R3 podría estar afectando a otras dianas implicadas en la biosíntesis del CoQ.

Bibliografía

- [1] R. de Cabo, R. Cabello, M. Rios, G. López-Lluch, D. K. Ingram, M. A. Lane, et al., *Exp. Gerontol.* 39 (2004), 297-304.
- [2] Martin-Montalvo, Y. Sun, A. Diaz-Ruiz, A. Ali, V. Gutierrez, H. H. Palacios, et al., *Npj Aging Mech. Dis.* 2 (2016) 16006.
- [3] P. Navas, J. M. Villalba, R. de Cabo., *Mitochondrion.* 7 (2007) 34–40.
- [4] Parrado-Fernández, G. López-Lluch, E. Rodríguez-Bies, S. Santa-Cruz, P. Navas, J. J. Ramsey, et al., *Free Radic. Biol. Med.* 50 (2011) 1728–1736.
- [5] J. Grünler, J. Ericsson, G. Dallner, *Biochim. Biophys. Acta (BBA)/Lipids Lipid Metab.* 1212 (1994) 259–277.
- [6] M. Bentinger, M. Kania, W. Danikiewicz, E. Kaczorowska, J. Wojcik, K. Brismar, et al., *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lipids.* 1841 (2014) 977–986.
- [7] L. Fernández del Río, *Dr. Thesis. Univ. Cordoba.* (2017).
- [8] R. Rafaeloff-phail, L. Ding, L. Conner, W. Yeh, D. McClure, H. Guo, et al., *J. Biol. Chem.* 279 (2004) 52934–52939.

Sección 1. Ciencias de la salud - Capítulo 6. Expresión de las moléculas CD163 y CD107a en el pulmón y la tonsila de cerdos infectados experimentalmente con cepas de diferente virulencia del PRRSV-1

J.M. Sánchez-Carvajal, J. Gómez-Laguna, I.M. Rodríguez-Gómez

Capítulo 6. Expresión de las moléculas CD163 y CD107a en el pulmón y la tonsila de cerdos infectados experimentalmente con cepas de diferente virulencia del PRRSV-1

Universidad de Córdoba. Facultad de Veterinaria. Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas.

Dirección: Ctra. Madrid-Cádiz, Km 396 – Campus Universitario Rabanales (Edif. Sanidad Animal), 14071, Córdoba. E-mail: jmsc919@gmail.com

Resumen

El Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino (PRRS) es una de las principales causas de pérdidas económicas en los sistemas de producción porcina a nivel mundial. El macrófago alveolar porcino (MAPs) es la principal célula diana del PRRSV, siendo el receptor CD163 fundamental para la internalización del virus. Por su parte, la molécula CD107a es considerada un marcador de degranulación y macrófagos activados. Este estudio compara la distribución, expresión y cinética del receptor CD163 y la molécula CD107a en pulmón y tonsila de cerdos infectados experimentalmente con tres cepas de diferente virulencia del PRRSV-1. Los animales infectados con la cepa SU1-bel presentaron mayor intensidad en las lesiones a nivel pulmonar y mayor número de macrófagos CD163+ a los 35 dpi en tonsila y pulmón. La molécula CD107a se expresó principalmente en el citoplasma de MAPs y macrófagos septales. En conclusión, la virulencia de las cepas del PRRSV-1 provocó cambios en la cinética de expresión del receptor CD163, sugiriendo que la cepa SU1-bel provoca mayor predisposición de estos animales a sufrir futuras reinfecciones con el PRRSV. Asimismo, el número de células CD107a+ aumentó independientemente a la virulencia de la cepa, sugiriendo un papel importante de esta molécula en la activación de macrófagos.

Fundamentos y Metodología

1. Diseño experimental, animales y cepas del virus

Un total de 73 cerdos de 5 semanas de edad negativos a PRRSV, Circovirus porcino tipo 2 y *Mycoplasma hyopneumoniae* mediante PCR y ELISA; se distribuyeron aleatoriamente en 4 grupos independientes: un grupo control inoculado por vía intranasal con 1,5 ml de PBS estéril; animales inoculados por vía intranasal con 1,5 ml de 105 TCID₅₀ de la cepa Lelystad virus (LV), considerada de baja virulencia; animales inoculados por vía intranasal con 1,5 ml de 105 TCID₅₀ de una cepa altamente patógena del PRRSV (SU1-bel); y animales inoculados por vía intranasal con 1,5 ml de 105 TCID₅₀ de una cepa de campo británica de baja virulencia (215-06) [1]. Todos los animales fueron monitorizados diariamente para evaluar los signos clínicos y

Sección 1. Ciencias de la salud - Capítulo 6. Expresión de las moléculas CD163 y CD107a en el pulmón y la tonsila de cerdos infectados experimentalmente con cepas de diferente virulencia del PRRSV-1

determinar la temperatura rectal [2]. A los 3, 7 y 35 dpi se sacrificaron animales de cada uno de los grupos evaluándose la extensión de las lesiones a nivel macroscópico y tomando muestras de pulmón y tonsila, las cuales se fijaron en formol tamponado al 10% y sales de Zinc, para su estudio posterior.

2. Análisis histopatológico: caracterización lesional

A partir de las muestras fijadas en formol tamponado al 10% del pulmón y de la tonsila de los cuatro grupos se llevó a cabo un estudio histopatológico para identificar las principales lesiones, estableciéndose en cada caso una escala o sistema de puntuación que permitió llevar a cabo un análisis semicuantitativo de las lesiones [3].

3. Expresión de receptores del virus del PRRS en función de la cepa estudiada

A partir de las muestras fijadas en sales de Zinc se evaluó la distribución de los receptores CD163 y CD107a en cada uno de los órganos estudiados. Para llevar a cabo el estudio, se puso a punto una técnica inmunohistoquímica para detectar los diferentes receptores antes mencionados.

4. Análisis estadístico de los resultados

Todos los valores están expresados como la media \pm SD. Para realizar el análisis estadístico se utilizó el programa GraphPad Prism 5, CA.

Resultados

1. Caracterización de las lesiones macroscópicas y microscópicas

Lóbulo apical

El grado de lesión en el lóbulo apical de los animales infectados fue mayor a los 7 dpi para las tres cepas del PRRSV. Las lesiones microscópicas en el lóbulo apical del pulmón se caracterizaron por un engrosamiento de los septos alveolares con incremento en el número de células inflamatorias de tipo mononuclear (macrófagos y linfocitos) en el intersticio, hiperplasia e hipertrofia de los neumocitos tipo II, y la presencia de restos celulares y macrófagos en el interior de los alveolos.

Tonsila

En la tonsila se observó hiperplasia de los centros germinales presentes en los folículos linfoides con incremento del número de figuras mitóticas y linfoblastos. El grado de lesión a nivel microscópico no presentó diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre las diferentes cepas y dpi.

2. Expresión de los receptores CD163 y CD107a en el pulmón y la tonsila

Sección 1. Ciencias de la salud - Capítulo 6. Expresión de las moléculas CD163 y CD107a en el pulmón y la tonsila de cerdos infectados experimentalmente con cepas de diferente virulencia del PRRSV-1

La expresión del receptor CD163 en el lóbulo apical del pulmón se observó principalmente en el citoplasma y la membrana citoplasmática de MAPs y de macrófagos septales, siendo significativamente mayor en los primeros. Los animales infectados con la cepa SU1-bel presentaron mayor número de macrófagos CD163+ a los 35 dpi (Figuras 1a y 1c). Aunque la expresión de CD163 fue relativamente constante en los distintos grupos experimentales a lo largo del estudio, los animales infectados con la cepa SU1-bel se observó mayor expresión a los 7 y 35 dpi con respecto a los 3 dpi, estos resultados se resumen en la figura 1a-1c. En la tonsila la expresión del receptor CD163 se observó mayoritariamente en los macrófagos situados en las inmediaciones de las criptas, siendo muy baja en el tejido linforreticular de este mismo órgano. Teniendo en cuenta la totalidad de la tonsila, la cepa SU1-bel presentó un número significativamente mayor de células que expresaban el receptor CD163 a los 35 dpi. La expresión del marcador CD107a se observó indistintamente en el citoplasma de los MAPs y macrófagos septales del pulmón. Los grupos infectados presentaron mayor número de células que expresaban CD107a a lo largo del estudio en comparación con los animales control (Figura 3a-3c). Estos resultados se resumen en las figuras 3a-3c.

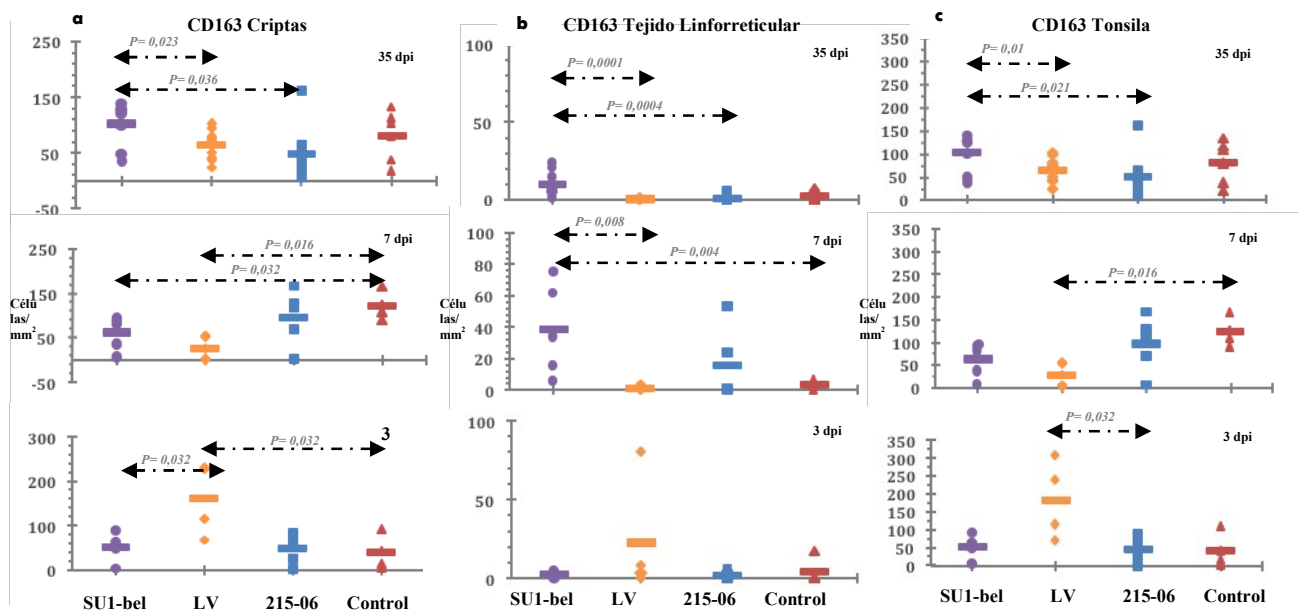


Figura 1. Recuento de células positivas a CD163 en lóbulo apical de cerdos infectados con 3 cepas diferentes del PRRSV (Su1-bel, LV y 215-06) y en el grupo control (a-c)

Sección 1. Ciencias de la salud - Capítulo 6. Expresión de las moléculas CD163 y CD107a en el pulmón y la tonsila de cerdos infectados experimentalmente con cepas de diferente virulencia del PRRSV-1

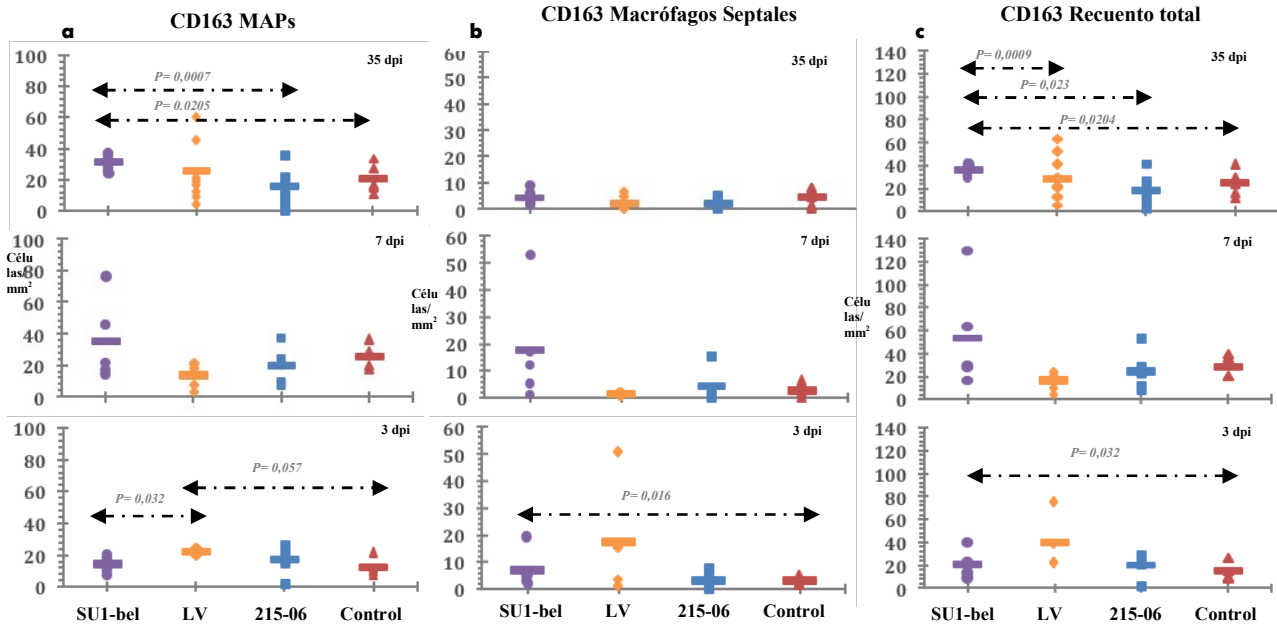


Figura 2. Recuento de macrófagos positivas a CD163 en la tonsila de cerdos infectados con 3 cepas diferentes del PRRSV-1 (Su1-bel, LV y 215-06) y en el grupo control (a-c)

Conclusiones

- La cepa SU1-bel provocamayor intensidad en las lesiones a nivel pulmonar.
- La expresión del receptor CD163 en citoplasma y membrana citoplasmática de MAPs con respecto a macrófagos septales, reafirma el papel de estas células como principal diana para la replicación del PRRSV.
- La tonsila presenta mayor número de macrófagos CD163+, sugiriendo una mayor predisposición para la persistencia del virus en este órgano linfoide.

Sección 1. Ciencias de la salud - Capítulo 6. Expresión de las moléculas CD163 y CD107a en el pulmón y la tonsila de cerdos infectados experimentalmente con cepas de diferente virulencia del PRRSV-1

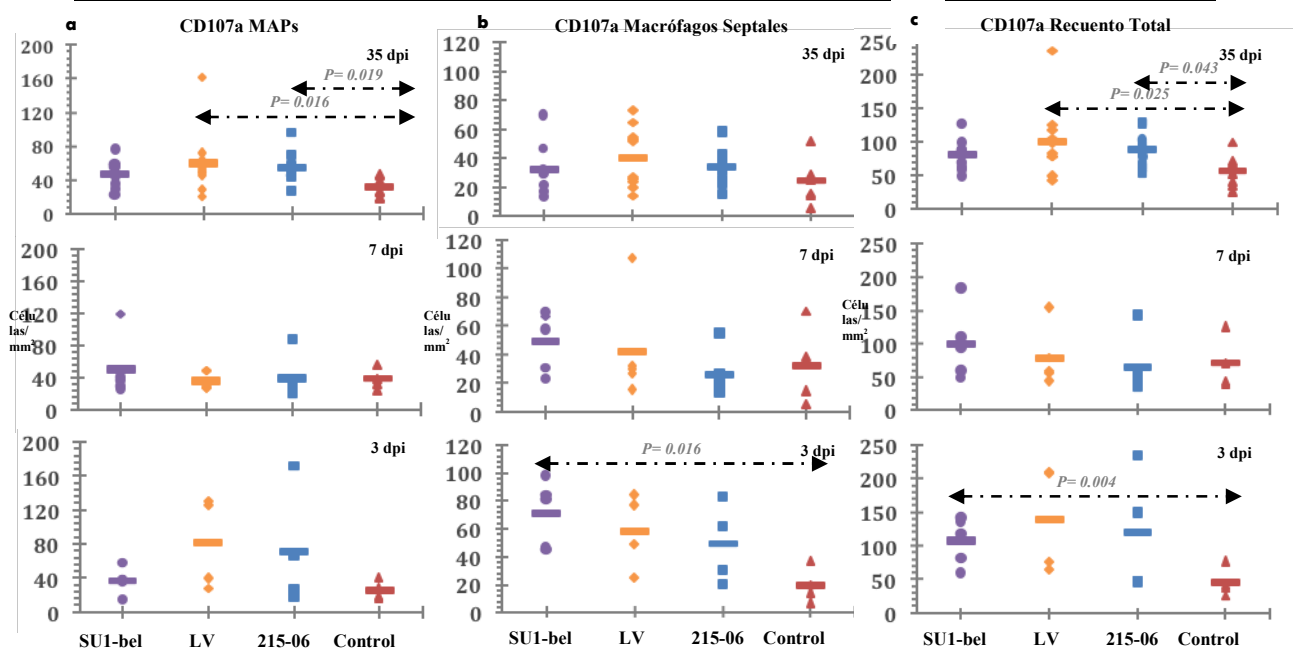


Figura 3. Recuento de células positivas a CD107a en lóbulo apical de cerdos infectados con 3 cepas diferentes del PRRSV (SU1-bel, LV y 215-06) y en grupo control (a-c)

- La cinética de expresión del receptor CD163 varía en función de la cepa que infecte al animal, por tanto, un aumento del número de macrófagos CD163+ sugiere mayor predisposición a sufrir infecciones o reinfecciones por el virus, mientras que una disminución de macrófagos CD163+ favorece el desarrollo de infecciones secundarias.
- La molécula CD107a se expresa en el citoplasma de MAPs y macrófagos septales. Las cepas del PRRSV-1, independientemente de su virulencia, provocan un aumento del número de macrófagos pulmonares CD107a+ a lo largo de la infección experimental, sugiriendo un posible papel de esta molécula como marcador de activación macrófágica.

Bibliografía

[1] Morgan, S.B., Graham, S.P., Salguero, F.J., Sanchez Cordon, P.J., Mokhtar, H., Rebel, J.M., Weesendorp, E., Bodman-Smith, K.B., Steinbach, F., Frossard, J.P., (2013). Increased pathogenicity of European porcine reproductive and respiratory syndrome virus is associated with enhanced adaptive responses and viral clearance. *Vet. Microbiol.* 163,13–22.

[2] Halbur, P.G., Paul, P.S., Meng, X.J., Lum, M.A., Andrews, J.J., Rathje, J.A., (1996). Comparative pathogenicity of nine US porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) isolates in a five-week-old cesarean-derived, colostrum-deprived pig model. *J. Vet. Diagn. Invest.* 8, 11–20.

[3] Halbur, P.G., Paul, P.S., Frey, M.L., Landgraf, J., Eernisse, K., Meng, X.J., Lum, M.A., Andrews, J.J., Rathje, J.A., (1995). Comparison of the pathogenicity of two US

Sección 1. Ciencias de la salud - Capítulo 6. Expresión de las moléculas CD163 y CD107a en el pulmón y la tonsila de cerdos infectados experimentalmente con cepas de diferente virulencia del PRRSV-1

porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates with that of the Lelystad virus. *Vet. Pathol.* 32, 648–660.

Sección 1. Ciencias de la salud - Capítulo 7. Efectos biológicos de la cerveza negra y algunos de sus compuestos distintivos: ensayos in vivo e in vitro para evaluar su potencial quimiopreventivo y protector del ADN

Alejandro Velasco-Ruiz, Tania Merinas-Amo, Ángeles Alonso-Moraga

Capítulo 7. Efectos biológicos de la cerveza negra y algunos de sus compuestos distintivos: ensayos in vivo e in vitro para evaluar su potencial quimiopreventivo y protector del ADN

Universidad de Córdoba. Facultad de Ciencias. Departamento de Genética.

Edificio Gregor Mendel, Campus de Rabanales, 14071, Córdoba. E-mail: averu95@hotmail.com

Resumen.

La relación entre la dieta y la salud humana ha sufrido un interés creciente por parte de la comunidad científica. La cerveza, la tercera bebida más consumida en el mundo, forma parte de este interés; a pesar de ello, el registro epidemiológico relacionado con el cáncer es limitado y con frecuencia contradictorio. Durante este proyecto se evaluaron las actividades biológicas de la Cerveza negra y algunos de sus componentes (Lúpulo Saazer e Iso-alfa humulona), mediante ensayos in vitro e in vivo, para determinar sus propiedades quimiopreventivas y protectoras del ADN. Los ensayos in vitro de citotoxicidad, daño en ADN y determinación del estado de metilación se realizaron en la línea celular de leucemia humana HL-60, y los ensayos in vivo de toxicidad, genotoxicidad y longevidad se realizaron en el organismo modelo *Drosophila melanogaster*. Los ensayos in vitro mostraron la actividad citotóxica y la modificación del estado de metilación de la línea celular HL-60. Los ensayos in vivo probaron la seguridad y las propiedades genoprotectoras de estas sustancias; sin embargo, mostraron una influencia negativa en los ensayos de longevidad. Tras los resultados obtenidos, podemos sugerir la Cerveza negra y el Lúpulo Saazer como sustancias nutracéuticas y terapéuticas, a dosis determinadas.

Fundamento y Metodología.

Un alimento es considerado nutracéutico cuando proporciona algún beneficio médico o resulta beneficioso para la salud, incluyendo la prevención y/o el tratamiento de una enfermedad, además de resultar segura o no ser tóxica [1].

La cerveza es la bebida alcohólica más consumida en el mundo, y la tercera incluyendo las bebidas no-alcohólicas [2], además de presentar un amplio rango de efectos beneficiosos para la salud, capacidad antioxidante y efectos fisiológicos beneficiosos, entre otros [3]; de entre ellas, la Cerveza negra es la menos estudiada, resultando muy limitada la información que existe sobre su potencial nutracéutico. De entre los componentes de la cerveza, el Lúpulo es el que más atención ha recibido debido a sus propiedades preservativas, aroma y su acidez, así como sus capacidades bacteriostáticas; propiedades que se deben principalmente a los α -ácidos y a los β -ácidos [4], donde entre los primeros encontramos la Iso-alfa humulona como

Sección 1. Ciencias de la salud - Capítulo 7. Efectos biológicos de la cerveza negra y algunos de sus compuestos distintivos: ensayos in vivo e in vitro para evaluar su potencial quimiopreventivo y protector del ADN

constituyente principal, y un ingrediente clave es la estabilidad de la espuma de la cerveza y su preservación [5]. Para la evaluación se usó *Drosophila melanogaster* como organismo modelo en los ensayos in vivo de toxicidad y genotoxicidad, y de longevidad según los procedimientos habituales de nuestro laboratorio [6]; y se utilizó la línea celular de leucemia humana HL-60 para los ensayos in vitro de citotoxicidad, daño en ADN y determinación del estado de metilación, según los métodos perfeccionados en nuestro laboratorio [6, 7].

Resultados.

En la Figura 1 se muestran los resultados del ensayo de toxicidad y antitoxicidad, donde podemos apreciar la ausencia de efecto tóxico de nuestros compuestos, y su capacidad protectora frente al compuesto tóxico peróxido de hidrogeno, excepto en las concentraciones más altas de cerveza y las más bajas de lúpulo. En la Tabla 1 se puede ver que ninguna sustancia resulto genotóxica, y que además, resultaron genoprotectoras frente a la genotoxina peróxido de hidrogeno. En los ensayos de longevidad la Cerveza negra y la Humulona mostraron una disminución significativa en la vida media de *Drosophila*; por otra parte, la Cerveza negra indujo una mejora significativa en la calidad de vida, el Lúpulo Saazer indujo una disminución significativa en la calidad de vida para la menor concentración ensayada, y la Humulona una disminución significativa para casi todas las concentraciones.

Tabla 1. Ensayos in vivo de genotoxicidad y antigenotoxicidad

Compuesto		Clones totales	IP (%)
H ₂ O	38	0.158 (6)	
H ₂ O ₂	40	0.400 (16) +	
Genotoxicidad			
Cerveza negra (mg/ml)			
3,125	42	0.238 (10) Δ	
50	44	0.273 (12) Δ	
Lúpulo Saazer (mg/ml)			
0,000625	38	0.263 (10) Δ	
0,01	38	0.210 (8) Δ	
Humulona (mM)			
2,414	40	0.150 (6) Δ	
77,25	40	0.250 (10) Δ	
Antigenotoxicidad			
Cerveza negra (mg/ml)			
3,125	40	0.200 (8) β	50,00
50	44	0.159 (7) β	60,25
Lúpulo Saazer (mg/ml)			
0,000625	38	0.131 (5) β	67,25
0,01	40	0.100 (4) β	75,00
Humulona (mM)			
2,414	38	0.342 (13) β	14,5
77,25	38	0.289 (11) β	27,75

Sección 1. Ciencias de la salud - Capítulo 7. Efectos biológicos de la cerveza negra y algunos de sus compuestos distintivos: ensayos in vivo e in vitro para evaluar su potencial quimiopreventivo y protector del ADN

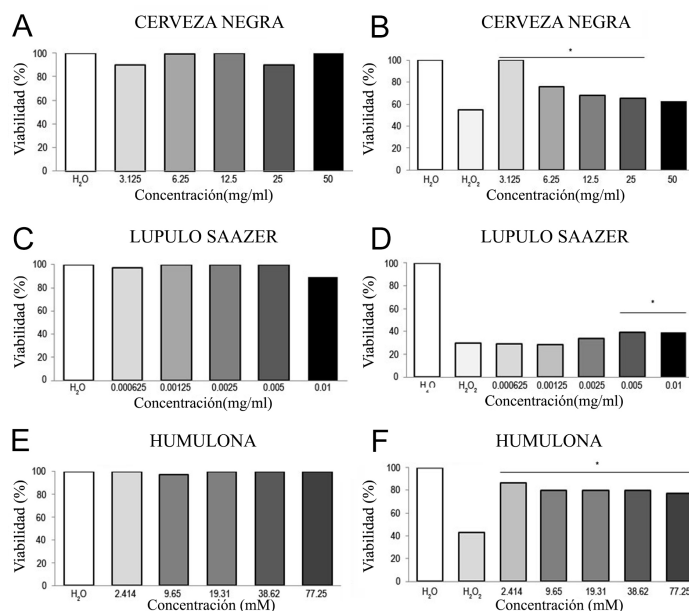


Figura 1. Ensayos in vivo de toxicidad (A, C y E) y de antitoxicidad (B, D y F)

En los ensayos in vitro (Figura 2), todos los compuestos mostraron efectos citotóxicos, en las células de leucemia humana, con una relación positiva dosis-efecto (Figura 2A) y con unas IC₅₀ de 4,14 mg/ml para la Cerveza negra, 0,001 mg/ml para el Lúpulo Saazer y 1,95 mM para la Humulona. Se observó fragmentación del ADN internucleosómico, con el característico patrón de bandas en escalera en el gel de agarosa, en las dos concentraciones inferiores de cerveza que corresponden a 15,125 y 31,25 mg/ml, y en las dos superiores de Humulona, que corresponden a 19,31 y 38,62 mM (Figura 2B). En el ensayo del cometa (Figura 2C), utilizado para evaluar las roturas de simple y doble cadena en la estructura del ADN que es capaz de inducir un compuesto, la cerveza presentó un valor del parámetro “Momento de la cola” superior a 20 en todas las concentraciones ensayadas, por lo que se puede concluir que su capacidad citotóxica se debe a un mecanismo apoptótico [8, 9]; por su parte, el lúpulo y la Humulona mostraron un “Momento de la cola” relativamente bajo, por lo que seguirían un mecanismo necrótico en la citotoxicidad de células de leucemia humana [8, 9]. El estado de metilación (Figura 2D) es estudiado en tres secuencias repetitivas (Alu-M1, LINE-1 y Sat- α); la cerveza mostró una hipermetilación generalizada en la mínima concentración para todas las secuencias estudiadas, y en Sat- α también para la máxima concentración; con el lúpulo podemos ver una hipermetilación significativa, para todas las secuencias, en la máxima concentración; y por su parte, la Humulona exhibió una hipometilación de todas las secuencias a todas las concentraciones estudiadas. Actualmente, la metilación en las secuencias repetitivas del genoma se considera preventivo del daño epigenético del ADN, ya que previene que las secuencias repetitivas endoparasíticas salten por el genoma [10].

Sección 1. Ciencias de la salud - Capítulo 7. Efectos biológicos de la cerveza negra y algunos de sus compuestos distintivos: ensayos in vivo e in vitro para evaluar su potencial quimiopreventivo y protector del ADN

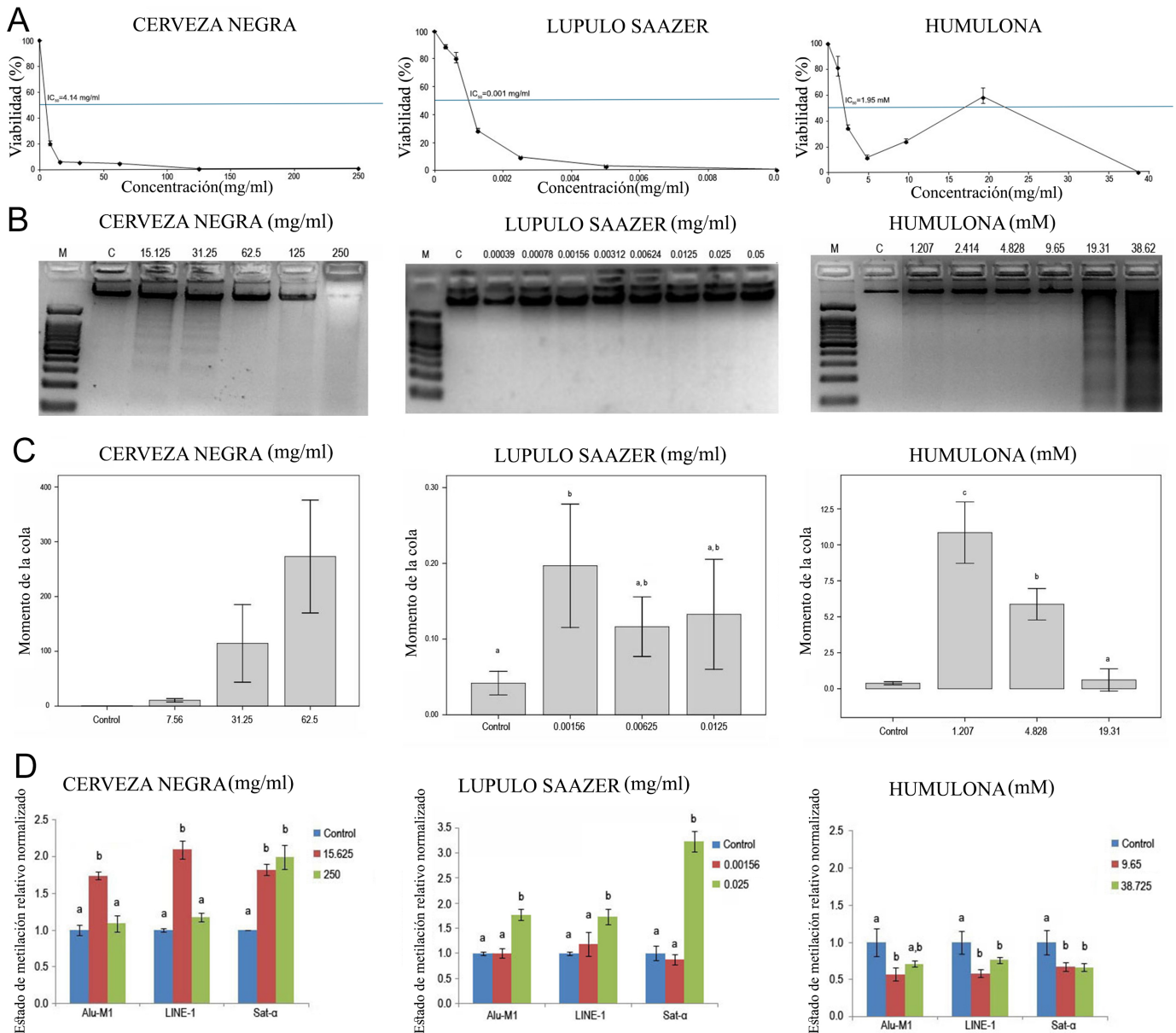


Figura 2. Ensayos in vitro de citotoxicidad (A), fragmentación internucleosómica del ADN (B), cometa (C) y de estado de metilación (D)

Conclusiones.

Durante este proyecto se ha determinado la seguridad y la capacidad genoprotectora de la cerveza en el organismo modelo *D. melanogaster*, debido a su ausencia de toxicidad y genotoxicidad, y por su actividad antitóxica y antigenotóxica; y su actividad quimiopreventiva, inductora de fragmentación pro-apoptótica del ADN y daño en el ADN a nivel de células individuales, así como su papel en la modulación del estado de metilación in vitro en la línea celular HL-60. Por ello, sugerimos el consumo moderado

Sección 1. Ciencias de la salud - Capítulo 7. Efectos biológicos de la cerveza negra y algunos de sus compuestos distintivos: ensayos in vivo e in vitro para evaluar su potencial quimiopreventivo y protector del ADN

de Cerveza negra y de Lúpulo Saazer como sustancias terapéuticas, anti-oncogénicas y quimiopreventivas.

Bibliografía.

- [1] E.K. Kalra. *Nutraceutical-definition and introduction*. AAPS PharmSci 5c (2003) p. 27-28
- [2] M. Nissensohn, A. Sánchez-Villegas, P. Galan, A. Turrini, N. Arnault, L. Mistura, L. Serra-Majem. *Beverage Consumption Habits among the European Population: Association with Total Water and Energy Intakes*. Nutrients 9d (2017) p. 383.
- [3] T. Merinas-Amo. *Role of beer in the modulation of degenerative processes. In vivo and in vitro integrative studies of the DNA protective activity, survival increase, antiproliferative potential and modulation of genetic methylation status*. PhD diss., Universidad de Córdoba, 2017, <http://hdl.handle.net/10396/14608>.
- [4] D. De Keukeleire. *Fundamentals of beer and hop chemistry*. Quim Nova 23 (2000) p. 108-112.
- [5] J. Fuchimoto, T. Kojima, T. Okabayashi, T. Masaki, N. Ogasawara, K. Obatta, N. Sawada. *Humulone suppresses replication of respiratory syncytial virus and release of IL-8 and RANTES in normal human nasal epithelial cells*. Med Mol Morphol 46d (2013) p. 203-209.
- [6] T. Merinas-Amo, I. Tasset-Cuevas, A.M. Díaz-Carretero, A. Alonso-Moraga, F. Calahorro. *In vivo and in vitro studies of the role of lyophilized blond Lager beer and some bioactive components in the modulation of degenerative processes*. J Funct Foods 27 (2016) p. 274-294.
- [7] M. Mateo-Fernández, T. Merinas-Amo, M. Moreno-Millán, A. Alonso-Moraga, S. Demyda-Peyrás. *In vivo and in vitro genotoxic and epigenetic effects of two types of cola beverages and caffeine: a multiassay approach*. BioMed Res Inter, 2016, p.15.
- [8] R. Fabiani, P. Rosignoli, A. De Bartolomeo, R. Fuccelli, G. Morozzi. *Genotoxicity of alkane epoxides in human peripheral blood mononuclear cells and HL60 leukaemia cells evaluated with the comet assay*. Mutat. Res. (2012) p. 1-6.
- [9] D.W. Fairbairn, K.L. O'Neill. *Necrotic DNA degradation mimics apoptotic nucleosomal fragmentation comet tail length*. In Vitro Cell Dev-An 31c (1995) p. 171-173.
- [10] M. Esteller. *DNA methylation and cancer therapy: new developments and expectations*. Curr Opin Oncol 17a (2005) p. 55-60.

Ciencias exactas y naturales

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 8. Síntesis de polímeros de coordinación de zirconio con conectores quirales: Caracterización y aplicación como catalizadores heterogéneos en reacciones de cianosililación

J. Amaro-Gahete,* D. Esquivel, D. Cosano, J.R. Ruiz, C. Jiménez-Sanchidrián y F. J. Romero-Salguero

Capítulo 8. Síntesis de polímeros de coordinación de zirconio con conectores quirales: Caracterización y aplicación como catalizadores heterogéneos en reacciones de cianosililación

Universidad de Córdoba. Facultad de Ciencias. Departamento de Química Orgánica. Instituto Universitario en Química Fina y Nanoquímica IUIQFN. Campus de Rabanales, Edificio Marie Curie (C-3). Crta. Nacional IV, km. 396, 14071, Córdoba, España; q22amgaj@uco.es

Resumen

Los polímeros de coordinación son un tipo de materiales híbridos orgánicos-inorgánicos que están formados por ligandos orgánicos y nodos metálicos. La posibilidad de incorporar ligandos orgánicos quirales en sus estructuras es particularmente interesante porque proporcionaría materiales capaces de actuar como adsorbentes quirales y como catalizadores enantioselectivos. En este trabajo, los ligandos orgánicos han sido ácido málico, ácido tartárico y ácido dibenzoil tartárico, mientras que los nodos metálicos consistían en zirconio. Todos los polímeros de coordinación sintetizados fueron amorfos como se revela por DRX. Aquellos formados por ácido málico y ácido dibenzoil tartárico exhibieron las mejores propiedades texturales. Precisamente, estos materiales fueron activos en la reacción de cianosililación de benzaldehído, dando lugar a un pequeño exceso enantiomérico.

Fundamento

La quiralidad es una de las características más importantes de la naturaleza, ya que, en una misma molécula podemos encontrar diferente comportamiento en respuestas biológicas o farmacológicas. La separación de estos enantiómeros siguen siendo un desafío, ya que tienen las mismas propiedades físicas y químicas dentro de un ambiente aquiral. Atendiendo a esto, las investigaciones científicas se centran en la búsqueda de métodos y nuevos materiales que puedan resolver esta problemática. De ahí han surgido las diferentes estrategias que se han ido siguiendo para la separación enantioselectiva de este tipo de sustancias.

Los polímeros de coordinación son un tipo de materiales híbridos que han recibido una gran atención en los últimos años. Estos materiales pueden mostrar diversas propiedades que pueden modularse mediante una selección adecuada de nodos metálicos y conectores orgánicos funcionales [1]. Debido a la importancia de las sustancias enantiopuras en la industria farmacéutica, agroalimentaria y cosmética, entre otras, las estructuras metal-orgánicas quirales se están aplicando en reconocimiento quiral y para la separación de enantiómeros puros a partir de mezclas racémicas. Además, estos materiales podrían utilizarse en catálisis asimétrica [2]. No obstante, la

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 8. Síntesis de polímeros de coordinación de zirconio con conectores quirales: Caracterización y aplicación como catalizadores heterogéneos en reacciones de cianosililación

síntesis de estos materiales representa un enorme desafío. Una de las aproximaciones más sencillas para obtener estos materiales es emplear ligandos orgánicos enantiopuros, como ha sido el caso de aminoácidos [3]. En este trabajo se han utilizado productos naturales sencillos como ligandos orgánicos quirales capaces de coordinar cationes metálicos, concretamente zirconio. El objetivo es preparar diferentes polímeros quirales, caracterizarlos mediante diferentes técnicas y evaluarlos como catalizadores enantioselectivos en la reacción de cianosililación del benzaldehído.

Presentación de resultados

Las diferentes variables que afectan en el proceso de formación del polímero fueron optimizadas llevando a cabo métodos de síntesis vía solvotermal con la utilización de autoclaves. Para ello, se seleccionaron como ligandos orgánicos quirales diferentes productos naturales sencillos: el ácido málico, un ácido dicarboxílico que posee un carbono asimétrico confiriéndole carácter quiral; el ácido tartárico, también un ácido dicarboxílico con dos centros quirales; y el ácido dibenzoil tartárico, derivado del ácido tartárico, pero con los grupos hidroxilos esterificados por ácido benzoico. Se ha empleado como sal metálica el oxiclورو de zirconio octahidratado y diferentes solventes (agua, dimetilformamida). El tiempo de reacción, estequiometría y temperatura son variables que también han sido estudiadas. Los materiales obtenidos se han nombrado siguiendo la nomenclatura: L-M-T-A (L: Ligando, M: Metal, T: Temperatura, A: Autoclave). La caracterización de los distintos polímeros de coordinación sintetizados se ha llevado a cabo utilizando diferentes técnicas instrumentales. Los resultados extraídos de cada una de ellas se detallan a continuación:

- **Caracterización estructural: Difracción de rayos X (DRX)**
Los polímeros formados por ácido málico se sintetizaron a diferentes temperaturas (110, 150 y 180 °C) con el fin de comprobar si existía alguna relación entre cristalinidad y temperatura de síntesis.

En los difractogramas correspondientes a los tres materiales, no se han encontrado diferencias en cuanto a las señales de difracción, por lo que se concluye que estas estructuras no presentan cristalinidad, independientemente de la temperatura de síntesis. Los difractogramas de rayos-X de los polímeros sintetizados con ácido tartárico y ácido dibenzoil tartárico mostraron un pico ancho a 8° (2θ) que también demostró la ausencia de ordenamiento estructural en estos materiales.
- **Caracterización textural: Porosimetría de adsorción-desorción de N₂**
Todos los materiales obtenidos presentaron isothermas de tipo IV, correspondientes a sólidos con mesoporos distribuidos prácticamente en todos los tamaños. El material con mayor superficie específica fue el polímero Mal-Zr-110-A, con 192 m²/g.
- **Análisis termogravimétrico (ATG)**
Los análisis termogravimétricos se realizaron con el objetivo de observar la estabilidad térmica de los polímeros de coordinación cuando son sometidos a temperaturas entre 30 y 900 °C en atmósfera oxidante. Todos los materiales mostraron tres etapas comunes de pérdida de peso. La primera se encontró entre 30-100 °C, siendo menor del 10 %, y

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 8. Síntesis de polímeros de coordinación de zirconio con conectores quirales: Caracterización y aplicación como catalizadores heterogéneos en reacciones de cianosililación

correspondiéndose con la eliminación del agua adsorbida por el material y del disolvente retenido en los poros. La segunda etapa comprendida entre 200-600 °C y cuyo porcentaje de pérdida se encontró entre el 20-30 %, se ha atribuido a la degradación de los ligandos orgánicos quirales coordinados al metal. En la última etapa, entre 550 y 650 °C, se producen pérdidas de peso menores, por la pérdida de los últimos restos de los ligandos, dando lugar a la formación de óxido de zirconio, estable a elevadas temperaturas.

- **Espectroscopia Raman**

En los espectros Raman de todos los polímeros de coordinación, se observó una señal de baja intensidad por debajo de 3000 cm⁻¹, la cual se ha asignado a la banda de tensión C-H (sp³) correspondiente a la parte hidrocarbonada de los ligandos coordinados al centro metálico. En el caso del ácido dibenzoil tartárico, apareció adicionalmente la banda de tensión =C-H aromática que indicaba la presencia de los anillos aromáticos, confirmando así la adecuada coordinación del conector quiral al centro metálico de zirconio.

- **Actividad catalítica**

Se estudió la actividad catalítica de todos los materiales sintetizados en la reacción de cianosililación de benzaldehído con trimetilsilanocarbonitrilo (Figura 1):

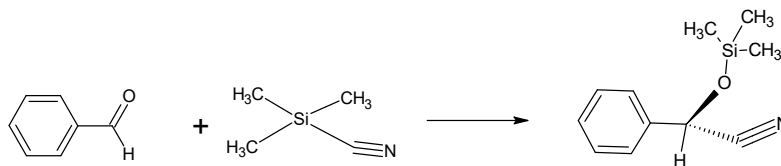


Figura 1. Reacción de cianosililación de benzaldehído

Inicialmente se analizó la reacción en blanco para estudiar todos los parámetros de esta reacción, seleccionando un tiempo de reacción de 14 horas en el que se obtenía un 18 % de conversión al producto (cianohidrina). Posteriormente, se evaluaron todos los polímeros de coordinación en dicha reacción. Se analizó la conversión al producto, así como el exceso enantiomérico. En la Tabla 1 se exponen todos los resultados:

Tabla 1. Resultados de conversión y exceso enantiomérico (%)

Polímeros de coordinación	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	Conversión (%)	Exceso enantiomérico (%)
Mal-Zr-110-A	RT	14	96	2.9
Mal-Zr-110-A	-10	20	55	5.8
Mal-Zr-150-A	RT	14	95	2.7
Mal-Zr-180-A	RT	14	94	2.1
Tart-Zr-110-A	RT	14	17	1.2
Dibtart-Zr-110-A	RT	14	67	<1
Dibtart-Zr-110-A	-10	20	26	3

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 8. Síntesis de polímeros de coordinación de zirconio con conectores quirales: Caracterización y aplicación como catalizadores heterogéneos en reacciones de cianosililación

Conclusiones.

Se han obtenido estructuras metal-orgánicas utilizando ácido L-tartárico, ácido L-málico y ácido dibenzoil-L-tartárico como ligandos orgánicos quirales y zirconio como nodo metálico. Los polímeros Mal-Zr-110-A y DibTart-Zr-110-A poseen propiedades químicas y texturales adecuadas para su uso como catalizadores. De hecho, se ha comprobado que muestran actividad catalítica y una pequeña enantioselectividad en la reacción de cianosililación de benzaldehído.

Agradecimientos.

Los autores agradecen las ayudas concedidas por el Ministerio de Economía y competitividad (Proyecto MAT2013-44463-R), Fundación Ramón Areces, Consejería de Educación y Ciencia de la Junta de Andalucía (grupo FQM-346) y Fondos Feder. J.A-G. agradece al Ministerio de Educación, Cultura y Deporte (MECD) por la concesión de la Beca de Colaboración 2016-17 y a la SECAT por la concesión en 2017 de una “Beca SECAT para Proyectos Fin de Máster en Catálisis”.

Bibliografía.

- [1] S. Furukawa, J. Reboul, S. Diring, K. Sumida, S. Kitagawa, *Chem. Soc. Rev.* 43, (2014), p. 5700-5734.
- [2] M. Yoon, R. Srirambalaji, K. Kim, *Chem. Rev.* 112, (2012), p.1196-1231.
- [3] V. Schurig, *J. Chromat. A.* 906, (2001), p. 275-299.

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 9. Caracterización electroquímica de Monocapas Autoensambladas (SAMs) de etilenglicoles sobre superficies 2D de oro

Autora: Miriam Chávez Peraza, Directora: Teresa Pineda Rodríguez

Capítulo 9. Caracterización electroquímica de Monocapas Autoensambladas (SAMs) de etilenglicoles sobre superficies 2D de oro

Universidad de Córdoba. Instituto de Química Fina y Nanoquímica. Departamento de Química Física y Termodinámica Aplicada. Dirección: Campus Rabanales, Ed. Marie Curie 2ª Planta, E-14014 Córdoba, España. E-mail: z52chpem@uco.es

Resumen

Las monocapas autoensambladas (SAMs) son sistemas moleculares formados por la adsorción espontánea de moléculas desde una disolución en un sustrato sólido. Estas moléculas se organizan en dominios ordenados de mayor o menor tamaño, constituyendo las formas más elementales de películas delgadas de material orgánico a escala nanométrica. Son muchos los factores experimentales que afectan la estructura resultante así como a la velocidad de formación (disolvente, temperatura, concentración de adsorbato, tiempo de inmersión, etc.). En la actualidad, sin embargo, se conocen bien las condiciones experimentales para la obtención de interfases orgánicas reproducibles y que exhiben el comportamiento funcional deseado. En el caso particular de que los materiales se pretendan orientar al campo de la BioNanoMedicina deben presentar la propiedad de la biocompatibilidad. Por tanto, es necesario diseñar nuevas estrategias que, entre otros parámetros, permitan minimizar los defectos y maximizar el orden supramolecular. Recientemente, existe un gran interés en los estudios de funcionalización superficial de sustratos de oro (tanto poli- como mono-orientados (111)) con polímeros tiolados basados en etilenglicol (HS-EGn) debido a las propiedades anti-incrustantes que presentan estos materiales, en particular frente a la adsorción de proteínas. En este trabajo se presentan resultados de la caracterización de Egn-SAMs utilizando técnicas electroquímicas (voltametría cíclica (VC) y espectroscopía de impedancia (EIS)), espectroscópicas (FT-IRRAS y XPS) y por medidas de ángulo de contacto.

Fundamento y presentación de resultados

A partir de los trabajos pioneros sobre Egn-SAMs preparadas a partir de derivados que contienen una cadena de alcano conectando al grupo oligoetilenglicol terminal con el grupo tiol reactivo [1-3], se ha producido un gran interés en el estudio de este tipo de ensamblajes debido, fundamentalmente, a sus grandes aplicaciones en el campo de la BioNanoMedicina. Aunque se ha discutido extensamente el origen del carácter bioinerte de estas interfases, el mecanismo a través del cual se produce este efecto no se conoce con claridad.

La combinación de la versatilidad y robustez de las SAMs sobre Au con las propiedades anti-incrustantes de los EGs ha propiciado numerosos estudios. La intercalación de una cadena de entre 2 y 15 unidades metilénicas se ha considerado necesaria para conseguir

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 9. Caracterización electroquímica de Monocapas Autoensambladas (SAMs) de etilenglicoles sobre superficies 2D de oro

un cierto grado de organización en las películas [4] ya que estos segmentos dirigen la organización del resto de la molécula después de su adsorción superficial. Se ha encontrado que la adsorción de proteínas depende de la naturaleza del sustrato, dado que éste es el que determina la densidad de moléculas de tiolato que forman la monocapa. Cuando la SAM se forma sobre Ag, ésta resulta más densamente empaquetada que cuando se forma sobre Au y este parámetro se puede correlacionar con la afinidad por adsorción de proteínas[4,5]. Existen evidencias de que los tramos EGn adoptan una configuración *todo-trans* cuando se adsorben sobre Ag, mientras que, en el caso de Au, el segmento EGn de la monocapa formada adopta una conformación helicoidal. Estos resultados están apoyados por estudios teóricos[4] que sugieren que las moléculas de agua penetran en la película y son atrapadas por los átomos de O de los grupos EG vía enlace de H. Otros estudios en los que sistemáticamente se cambia la hidrofiliidad de los grupos terminales así como el número de unidades EG, encuentran que la resistencia a proteínas está gobernada por la densidad de empaquetamiento, es decir, por la capacidad de las moléculas de agua de acomodarse en la porción EG de la SAM. Se ha sugerido que la capa de agua se comporta como una barrera física que impide el contacto directo entre la proteína y la interfase al encontrarse fuertemente adherida a la SAM y que la existencia de una interacción electrostática repulsiva de largo alcance con proteínas cargadas negativamente se debe a una capa de iones hidróxido fuertemente unidos que se produce por la adsorción preferente de estos iones en comparación con los iones hidronio desde la disolución acuosa [6]. La cadena de alcano en estas SAMs se encuentra inclinada 30° con respecto a la normal a la superficie, con los grupos terminales formando una fase amorfa líquida o semicristalina con las porciones de EG perpendiculares a la superficie [4]. Estas estructuras afectan a su interacción con las moléculas del entorno, definiendo así sus propiedades funcionales.

Las EGn-SAMs objeto del presente estudio, difieren en muchos de los aspectos comentados en el párrafo anterior, a pesar de las similitudes estructurales. En particular, las películas se forman a partir de HS-EGn donde la cadena polimetilénica de intercalación está ausente. Las EGn-SAMs en condiciones ambientales coexisten como una mezcla de dos estados conformacionales: helicoidal, en el que se asume una conformación cercana a la hélice 7/2, y un ordenamiento plano, que se conoce como *todo-trans*. La relación entre las dos conformaciones es función de factores tales como los niveles de hidratación [7,8], el sustrato donde se anclan[4,6], el recubrimiento superficial y un largo etcétera. Ya que la capacidad de adsorber proteínas de manera inespecífica podría depender de su capacidad de asociarse con moléculas de agua, lo que a su vez se relaciona con la orientación, orden y conformación de las cadenas de EG es muy importante caracterizar estas SAMs en diferentes condiciones experimentales. En este sentido se han estudiado SAMs de diferentes derivados EGn ($n = 7, 18, 45$) utilizando técnicas espectroscópicas (FT-IRRAS y XPS) así como electroquímicas (VC y EIS)[7,9,10], obteniéndose interesantes resultados, que se sintetizan a continuación.

Se ha encontrado que todas las moléculas EGn estudiadas forman SAMs sobre sustratos de Au a través de la unión mediante el enlace S-Au. Las características de estas SAMs dependen del tiempo de modificación. A tiempos de modificación cortos, las moléculas

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 9. Caracterización electroquímica de Monocapas Autoensambladas (SAMs) de etilenglicoles sobre superficies 2D de oro

EGn reconocen las diferentes facetas de un sustrato de oro poliorientado como cabe deducir de la existencia de estructura fina en los VCs del proceso de desorción reductiva (DR) de las SAMs y de la coincidencia de los potenciales de pico con los que se obtienen en sustratos monocristalinos (Figura 1). Asimismo, la organización de las cadenas es función tanto del tiempo de modificación como de la longitud de la cadena.

Los procesos de oxidación de la monocapa a altos potenciales sólo se observan de forma significativa en EGN con $n = 18$ y 45 . Este efecto es una medida indirecta de las interacciones inter-cadena que perduran después del proceso DR y provocan que al alcanzarse estos potenciales se observe la oxidación de los grupos S- desorbidos que permanecen próximos a la interfase. Asimismo, de los estudios de desorción oxidativa directa se extrae que todas las SAMs formadas presentan un efecto protector de la superficie del sustrato metálico frente a su propia oxidación (Figura 2).

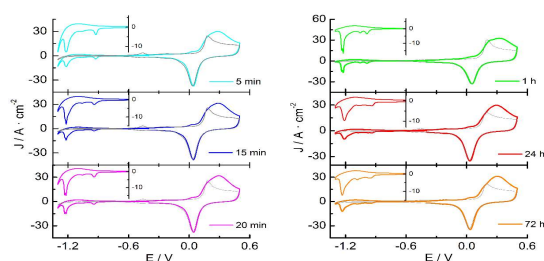


Figura 1. VCs del proceso DR de EG7-SAM-Au(p) en disolución 0.1 M KOH

A partir de la carga involucrada en el proceso DR se pueden determinar las áreas moleculares resultando de 33, 40 y 43 \AA^2 para EG7, EG18 y EG45 respectivamente. Estos valores, aunque mayores que los correspondientes a alcanotioles, están de acuerdo con la compacidad en las películas y con la de existencia de interacciones intermoleculares.

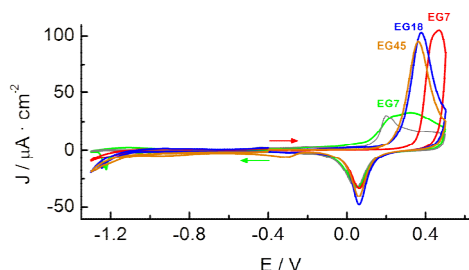


Figura 2. Desorciones oxidativas de las SAMs formadas a partir de los diferentes EGs en disolución 0.1 M KOH a diferentes tiempos de modificación

La inhibición de la transferencia electrónica de la sonda electroquímica $(\text{Fe}(\text{CN})_6)^{3-/4-}$ es completa en presencia de la EG7-SAM. En cambio, las EG18- y EG45-SAMs no muestran este grado de inhibición. Este efecto podría estar relacionado con la menor organización de las cadenas de mayor longitud en comparación con EG7 y con el

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 9. Caracterización electroquímica de Monocapas Autoensambladas (SAMs) de etilenglicoles sobre superficies 2D de oro

diferente grado de hidratación de las mismas. Por otra parte, las EGN-SAMs son permeables a las sondas $(\text{Ru}(\text{NH}_3)_6)^{2+/3+}$ y ferrocenometanol.

Los estudios sobre la integridad y la capacidad de conducción iónica de las EGN-SAMs ponen de manifiesto que la presencia de la película sobre el sustrato le confiere cierto carácter “ideal”, no permitiendo la entrada de iones de manera significativa en la región de potenciales de estabilidad de la SAM.

El grado de orden de las EGN-SAMs se puede describir mediante Espectroscopía FT-IRRAS. Así, la EG7-SAM alcanza un grado de organización en forma de hélice 7/2 cuando se forma en un tiempo de modificación de 1 h. La presencia de esta estructura organizada se pone de manifiesto por la presencia de un conjunto de bandas de absorción (serie A_2) como se observa en la Figura 3.

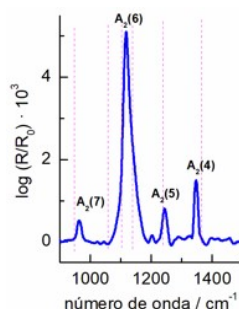


Figura 3. Espectro FT-IRRAS registrado para una EG7-SAM en Au(111)

El comportamiento observado indica que la organización aumenta con el tiempo de modificación hasta 1 h y, a partir de ahí, se produce una pérdida de orden en función del tiempo para la EG7-SAM. Sin embargo, en el caso de EG18 y EG45, la organización mejora con este parámetro, pero no se llega a obtener una única conformación, coexistiendo regiones helicoidales con otros tipos de estructura.

Los espectros XPS de las EGN-SAMs han puesto de manifiesto que las moléculas de EGN se unen al sustrato mediante el enlace S-Au y que estas capas atenúan la señal del Au en proporción a la longitud de su cadena. Por último, hay que señalar que las películas presentan un grado de hidrofobicidad que aumenta con el tiempo de modificación. Este efecto indicaría que las estructuras menos organizadas exponen los grupos polares. Sin embargo, ya que poseen grupos terminales apolares, estos terminarían exponiéndose conforme aumenta la organización de las cadenas y así, aumenta el grado de hidrofobicidad.

Bibliografía

- [1] K.L. Prime, G.M. Whitesides, J. Am. Chem. Soc. 115 (1993) 10714.
- [2] K.L. Prime, G.M. Whitesides, Science 252 (1991) 1164.

**Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 9. Caracterización
electroquímica de Monocapas Autoensambladas (SAMs) de etilenglicoles sobre
superficies 2D de oro**

- [3] C. Palegrosdemange, E.S. Simon, K.L. Prime, G.M. Whitesides, *Journal of the American Chemical Society* 113 (1991) 12.
- [4] P. Harder, M. Grunze, R. Dahint, G.M. Whitesides, P.E. Laibinis, *J. Phys. Chem. B* 102 (1998) 426.
- [5] K. Feldman, G. Hahner, N.D. Spencer, P. Harder, M. Grunze, *Journal of the American Chemical Society* 121 (1999) 10134.
- [6] S. Herrwerth, W. Eck, S. Reinhardt, M. Grunze, *Journal of the American Chemical Society* 125 (2003) 9359.
- [7] M.W.A. Skoda, R.M.J. Jacobs, J. Willis, F. Schreiber, *Langmuir* 23 (2007) 970.
- [8] M.W.A. Skoda, F. Schreiber, R.A.J. Jacobs, J.R.P. Webster, M. Wolff, R. Dahint, D. Schwendel, M. Grunze, *Langmuir* 25 (2009) 4056.
- [9] T. Doneux, A. de Ghellinck, E. Triffaux, N. Brouette, M. Sferrazza, C. Buess-Herman, *The Journal of Physical Chemistry C* 120 (2016) 15915.
- [10] T. Doneux, L. Yahia Cherif, C. Buess-Herman, *Electrochimica Acta* 219 (2016) 412.

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 10. Estudio de la nucleosidasa en *Phaseolusvulgaris*

Elena Delgado García, Pedro Piedras Montilla, Manuel Pineda y Gregorio Gálvez Valdivieso

Capítulo 10. Estudio de la nucleosidasa en *Phaseolusvulgaris*

Departamento de Botánica, Ecología y Fisiología Vegetal, Grupo de Fisiología Molecular y Biotecnología de Plantas, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, CEIA3. Campus de Rabanales, Edif. Severo Ochoa, 1ª planta, Universidad de Córdoba, 14071, Córdoba. E-mail: d.g.elena94@gmail.com

Resumen

Los ureidos alantoina y alantoato son moléculas claves en el transporte y almacenamiento de nitrógeno en leguminosas ureídicas. El metabolismo de nucleótidos tiene un papel excepcional en este tipo de plantas cuando crecen en condiciones de fijación de nitrógeno, ya que los ureidos proceden del catabolismo de los nucleótidos de purina. Los nucleótidos pueden proceder de la síntesis de novo o del reciclaje. Enzimas cruciales en la relación entre ambas rutas son las nucleosidasas (nucleósido hidrolasas) que catalizan la hidrólisis del nucleósido hasta la base nitrogenada y la ribosa. En la leguminosa ureídica *P. vulgaris* se han identificado cuatro genes que codifican nucleosidasas (PvNSH1, PvNSH2, PvNSH3 y PvNSH4). En este trabajo se ha analizado mediante qRT-PCR, Western blot y ensayo de actividad enzimática, la expresión de las nucleosidasas de judía en distintos órganos de plantas bajo dos regímenes nutricionales: dependencia de la fijación biológica (FBN) y fertilización con NO₃. El análisis mostró mayor expresión y actividad de nucleosidasas en nódulos, órganos en los que se lleva a cabo la síntesis de novo de ureidos, mientras que en el resto de tejidos no se detectaron diferencias significativas en los niveles de nucleosidasas entre plantas que fijaban nitrógeno y plantas fertilizadas con NO₃.

Fundamentos, metodología, presentación de resultados y conclusiones

Las leguminosas son plantas que establecen una relación simbiótica con bacterias formadoras de nódulos en la raíz tales como *Rhizobium*, que son capaces de fijar N₂ atmosférico. El nitrógeno así fijado se transporta a las partes aéreas de las plantas como amidas (asparagina, o glutamina) o como ureidos (alantoina y alantoato), lo que permite clasificar a las leguminosas como amídicas o ureídicas, según el compuesto que utilicen para la movilización del N. La nucleosidasa (nucleósido hidrolasa) cataliza la hidrólisis de los nucleósidos para dar lugar a la base nitrogenada y la pentosa. Esta actividad se ha postulado como una enzima clave en el control de la relación entre el reciclaje y la degradación de nucleótidos [1]. Además, en leguminosas ureídicas como la judía, el catabolismo de purinas tiene un papel esencial, ya que es el punto de partida para la síntesis de ureidos [3]. En judía, se han identificado cuatro genes que codifican posibles nucleosidasas (PvNSH1, PvNSH2, PvNSH3 y PvNSH4) (Galvez-Valdivieso et al., datos no publicados). Con objeto de estudiar si el papel de las nucleosidasas está relacionado con el tipo de nutrición nitrogenada que recibe la planta, se ha estudiado la expresión de las nucleosidasas en distintos órganos de judía tanto en condiciones de

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 10. Estudio de la nucleosidasa en *Phaseolus vulgaris*

fijación biológica de nitrógeno (FBN) como de fertilización con nitrato. Dicho estudio se ha realizado a nivel de mRNA, de actividad y de acumulación de proteína.

El análisis de la expresión mediante qRT-PCR de los genes que codifican nucleosidasas en *P. vulgaris* mostró unos niveles de expresión de PvNSH1 mucho más elevados que los de PvNSH2 (Fig. 1), mientras que PvNSH3 y PvNSH4 fueron indetectables. La mayor cantidad de transcrito se detectó en nódulos activos, órganos especializados en la síntesis de novo de ureidos y, por tanto, donde la nucleosidasa tiene un papel fundamental. La única diferencia significativa entre las plantas cultivadas en condiciones FBN y las fertilizadas con NO₃ se encontraron hojas en desarrollo, en las que la expresión fue mayor en las plantas fertilizadas con NO₃.

La inmunodetección de nucleosidasas con anticuerpos policlonales anti-PvNSH1 en los mismos tejidos y condiciones mostró una mayor acumulación de nucleosidasa en los nódulos (Fig. 2), lo que coincide con los niveles elevados de mRNA de PvNSH1 y 2 en estos órganos (Fig. 1).

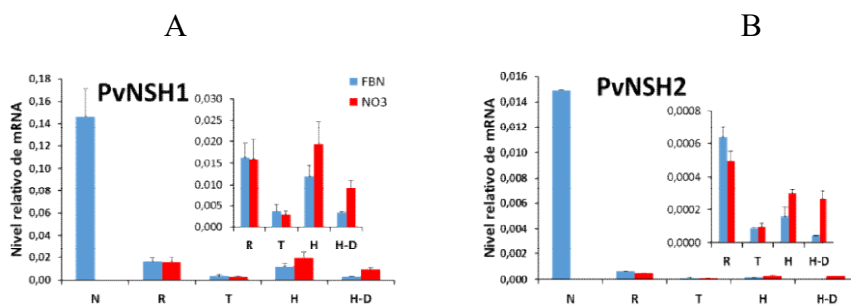


Figura 1. Expresión relativa de PvNSH1 (A) y PvNSH2 (B) en distintos tejidos de judía, y distinta nutrición nitrogenada

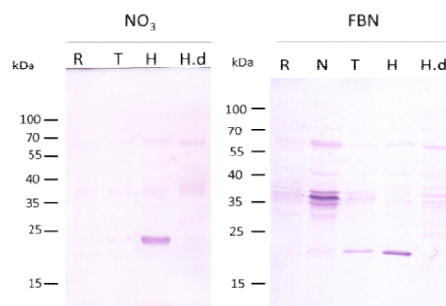


Figura 2. Inmunodetección mediante Western blot de las nucleosidasas en diferentes tejidos de judía y distinta nutrición nitrogenada

Se ha determinado la actividad nucleosidasa en extractos crudos de judía tanto con xantosina como con uridina, los dos sustratos con los que la enzima recombinante PvNSH1 mostró mayor actividad [2]. Coincidiendo con el análisis de expresión y la inmunodetección, la actividad nucleosidasa fue superior en nódulos, y en todos los casos, la actividad con xantosina dobló la actividad con uridina (Figura 3).

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 10. Estudio de la nucleosidasa en *Phaseolusvulgaris*

Los ureidos también pueden estar involucrados en procesos de movilización de nitrógeno entre órganos fuente y sumidero, por lo que se ha analizado la actividad nucleosidasa en cotiledones y ejes de plántulas durante la germinación y el desarrollo postgerminativo. En cotiledones (Fig. 4A), la actividad nucleosidasa aumenta linealmente a partir del día 2. La actividad nucleosidasa en ejes aumenta ligeramente el día 2, pero se mantiene bastante constante durante el desarrollo postgerminativo (Fig. 4B).

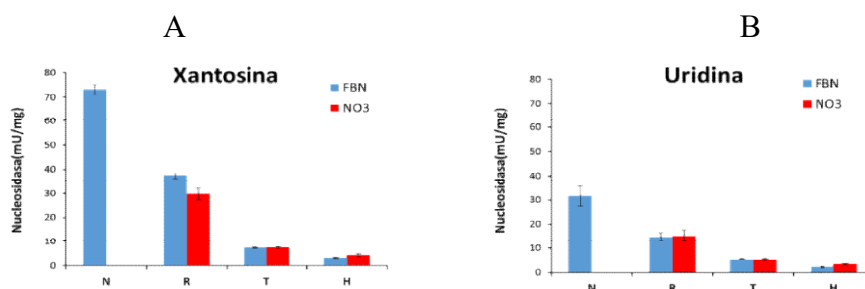


Figura 3. Actividad nucleosidasa en distintos tejidos de judía y distinta nutrición nitrogenada. (A) actividad degradadora de xantosina. (B) Actividad degradadora de uridina

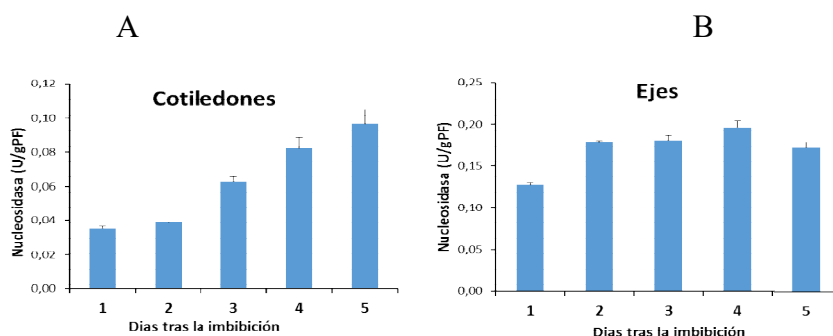


Figura 4. Actividad nucleosidasa en cotiledones (A) y ejes (B) de judía durante la germinación

Anteriormente, se había caracterizado la actividad nucleosidasa de la enzima recombinante PvNSH1 con varios nucleósidos, a excepción de timidina, por lo que, para completar este estudio, se ensayó la actividad con dicho nucleósido. Los resultados mostraron que PvNSH1 no presenta actividad con timidina.

Bibliografía.

- [1] B. Jung, M. Flörckinger, H.H Kunz, M. Traub, R. Wartenberg, W. Jeblick, H.E. Neuhaus and T. Möhlmann. *Plant Cell* 21 (2009) 876-891.
- [2] E. Delgado. Trabajo Fin de Grado (2016). Universidad de Córdoba.
- [3] R. Zrenner, M. Stitt, U. Sonnewald, and R. Bolt. *Annu Rev Plant Biol.* 57 (2006) 805-836.

Marta Franco Losilla, Tânia Ribeiro Fernandes, Antonio Di Pietro

Capítulo 11. Análisis genético y bioquímico de la H⁺-ATPasa Pma1 en el hongo patógeno Fusarium oxysporum

Universidad de Córdoba. Facultad /Escuela de Ciencias. Departamento de Genética.

Dirección: Campus Univ. De Rabanales Crt Madrid-Cádiz Km. 396 1407- Córdoba.

E-mail: martafranlo@gmail.com

Resumen

El pH juega un papel clave en la patogénesis del hongo *Fusarium oxysporum*. Pma1, una bomba de protones de la membrana plasmática, es esencial para la supervivencia siendo el principal regulador del pH intracelular en hongos. Para el estudio de Pma1 en *F. oxysporum* se han creado cepas portadoras del gen pma1 controladas por el promotor inducible nit1, en fondo silvestre y en un transformante que expresa la proteína indicadora de pH, pHluorina. El análisis Southern blot confirmó la sustitución del promotor nativo de pma1 por el Pnit1. Además, se ha observado una parada de crecimiento en presencia de glutamina, represor del Pnit1, demostrando que pma1 es esencial. Para crecer las cepas obtenidas en medio líquido, diferentes condiciones fueran ensayadas para inducir o reprimir del Pnit1. En las diferentes condiciones, se ha observado la formación de aglutinaciones y fusiones de hifas en los transformantes obtenidos y cepa silvestre. Esto ha imposibilitado la obtención de muestras homogéneas dificultando la evaluación de la función de Pma1 en el control del pH intracelular. Para seguir llevando a cabo este estudio se deben optimizar las condiciones de crecimiento de forma que se obtenga un crecimiento similar a la cepa silvestre en condiciones no limitantes.

Fundamento y presentación de resultados

Fusarium oxysporum es un patógeno de plantas capaz de infectar a más de 120 cultivos diferentes y personas inmunodeprimidas [1]. El pH es un factor fundamental en el crecimiento, la fisiología y la diferenciación celular dentro de los hongos patógenos como es *F. oxysporum*. Uno de los principales mecanismos del regulación del pH intracelular de este hongo es la H⁺-ATPasa Pma1 de la membrana citoplasmática [2]. Pma1 es una proteína esencial para la célula, que se activa en respuesta a la acidificación externa o a la glucosa, expulsando el exceso de protones del citoplasma y manteniendo así la homeostasis del pH intracelular [3].

El objetivo del presente trabajo fue la creación de cepas de *F. oxysporum* con expresión condicionada del gen pma1 bajo el control del promotor inducible nit1 para el estudio de su función en la homeostasis del pH intracelular y en el desarrollo del hongo.

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 11. Análisis genético y bioquímico de la H⁺-ATPasa Pma1 en el hongo patógeno *Fusarium oxysporum*

Las dos cepas de *F. oxysporum*, una obtenida a partir de la cepa silvestre y otra a partir de un transformante con la proteína pHluorina, se obtuvieron transformando protoplastos del hongo para que se produzca la sustitución del promotor nativo de *pma1* por el *Pnit1*, mediante la recombinación homóloga de las construcciones obtenidas para el proceso (Figura 1). Esta estrategia se trata de una herramienta novedosa y complicada que permite la manipulación de un gen esencial, siendo la primera vez en llevarse a cabo en nuestro grupo.

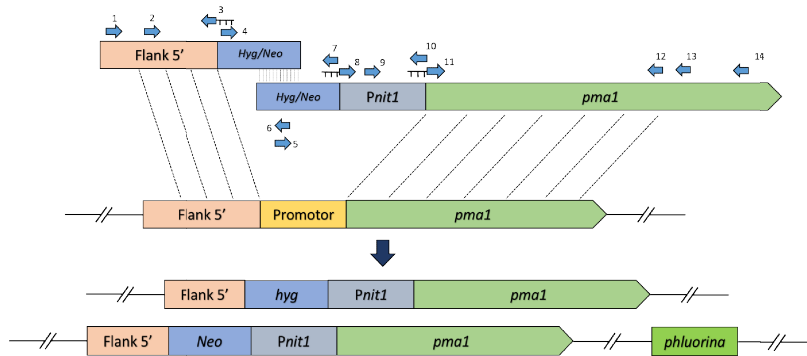


Figura 1: Sustitución del promotor nativo de pma1 por el promotor nit1 en la estirpe silvestre y la estirpe con la pHluorina

Una vez obtenidos los transformantes, aislados y analizados mediante PCR de confirmación y Southern blot, se observaron problemas en el crecimiento. En primer lugar se observó que los transformantes eran incapaces de crecer en el medio rico PDB. Esto se debe a la presencia de la glutamina, un inhibidor de *Pnit1*. De esta manera, se tuvo que buscar un medio alternativo de crecimiento, siendo el elegido el medio mínimo. Este medio se suplementó tanto con nitrato como con amonio, inductor y represor de *Pnit1* respectivamente, y se observó como el crecimiento era mayor en nitrato (Figura 2), siendo un indicativo de que el sistema podría estar funcionando correctamente.

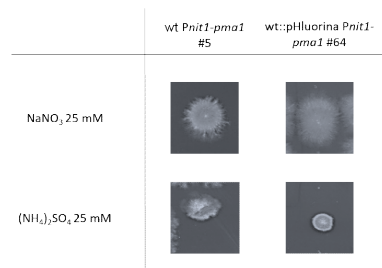


Figura 2: Crecimiento de las cepas obtenidas en medio mínimo suplementado con nitrato o amonio

El medio mínimo se trata de un medio menos rico en el cual las cepas obtenidas tardaban como mínimo una semana en crecer y generaba un número mucho menor de esporas. Esto hizo que se sustituyese el medio mínimo por el medio mínimo Puhalla, un

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 11. Análisis genético y bioquímico de la H⁺-ATPasa Pma1 en el hongo patógeno *Fusarium oxysporum*

medio con una concentración de nutrientes un poco más elevada que el utilizado anteriormente, lo que hizo que se hubieran producido un mayor número de esporas aunque visiblemente inferior a la cepa silvestre. (Figura 3)

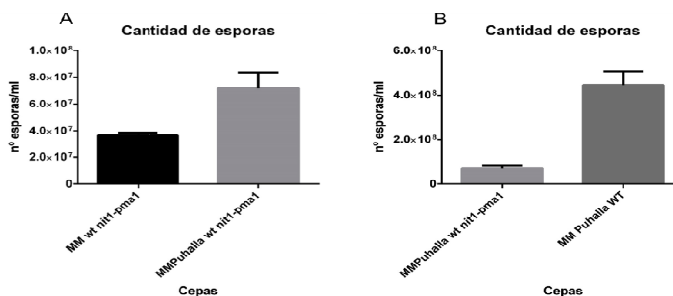


Figura 3: A) Comparativa del número de esporas en MM y MM Puhalla del transformante silvestre B) Comparativa en MM Puhalla del transformante y estirpe silvestre

A pesar de obtener el incremento de la cantidad esporas, el medio mínimo Puhalla generó problemas de aglutinamiento y de crecimiento que imposibilitó abordar correctamente la puesta a punto del estudio del papel de Pma1 en la homeostasis del pH intracelular. En estudios en levadura, se observó que la represión de *pma1* mediante un promotor regulable producía una disminución del pH citosólico [4]. En nuestro trabajo no se pudo llevar a cabo el estudio del pH intracelular debido a que no se obtuvo la suficiente cantidad de germínulas para llegar a la densidad óptica necesaria. A una densidad óptica 0,1 no se obtenían los cambios de fluorescencia necesarios entre las cepas silvestres (autofluorescencia) y las cepas del fondo pHluorina (fluorescencia que permite medir los cambios del pH intracelular). Por otro lado, al aumentar la densidad óptica sí que se producían los cambios (figura 4), lo que indicaba que no se debía el problema a la sustitución del promotor si no a la baja cantidad de muestra.

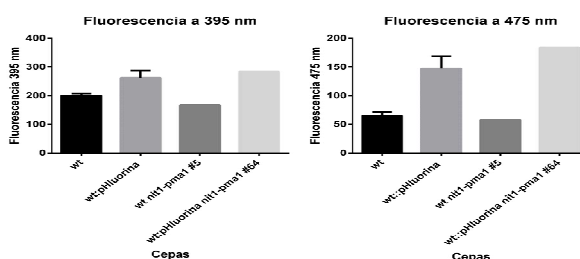


Figura 4: Fluorescencia a 395 nm y 475 nm de las diferentes cepas

A raíz de estos resultados nos preguntamos cómo explicar la dificultad del crecimiento en los transformantes obtenidos. La primera dificultad encontrada durante el aislamiento de los transformantes positivos resultó ser el crecimiento retardado. Se sospechó que la

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 11. Análisis genético y bioquímico de la H⁺-ATPasa Pma1 en el hongo patógeno *Fusarium oxysporum*

necesidad de cambiar el medio PDB por un medio mínimo suplementado con nitrato afectaba al crecimiento de los transformantes. Esta suposición fue aceptada debido a que la cepa silvestre no presentaba cambios significativos de crecimiento en comparación con el PDB. Además, se descartó la hipótesis de que el medio mínimo utilizado no fuese bueno para el crecimiento de *F. oxysporum*. También se descartó que la concentración de nitrato pudiese ser la causante del retardo del crecimiento, debido a que un aumento de concentración no producía mejorías. Así, los resultados obtenidos parecen sugerir que el promotor nit1 incluso en la presencia de nitrato en el medio no han resultado en la expresión de pma1 esperada. A pesar del alto nivel de expresión de genes bajo el control del promotor nit1 descrito previamente, la expresión de pma1 bajo el control de este promotor parece ser más baja que el promotor nativo. Para poder contestar a esta pregunta sería necesario comparar el nivel de transcrito del gen pma1 bajo la regulación de su promotor nativo (cepa silvestre) y bajo la regulación del promotor nit1 a través de RT-PCR. Debido a los problemas de optimización y manipulación este experimento no pudo llevarse a cabo.

En este trabajo se puede concluir que pma1 es un gen esencial en *F. oxysporum* debido a que los transformantes con pma1 bajo el control del promotor nit1 no crecen en medios con la fuente represora glutamina y presentan un crecimiento retardado en comparación con la cepa silvestre. En futuros experimentos, para la determinación del papel que juega Pma1 en el control del pH intracelular en *F. oxysporum* necesitan optimizarse las condiciones experimentales en que la aglutinación de hifas no ocurra y/o los niveles de expresión de pma1 sean similar en las cepas obtenidas a los de la cepa silvestre.

Bibliografía

- [1] Ortoneda, M. Guarro, J., Madrid, M.P., Caracuel, Z., G. Roncero, M.I., Mayayo, E. y Di Pietro, A. *Fusarium oxysporum* as a multihost model for the genetic dissection of fungal virulence in plants and mammals, *Infection and Immunity* 72, 2004, 1760-1766.
- [2] Kane P.M., Proton Transport and pH Control in Fungi, *Advances in Experimental Medicine and Biology* 892, 2016, 33-68.
- [3] Serrano R., Kielland-Brandt M.C., Fink G.R., Yeast plasma membrane ATPase is essential for growth and has homology with (Na⁺ K⁺), K⁺- and Ca²⁺-ATPases, *Nature* 319, 1986, 689-693.
- [4] Dechant R., Saad, S., Ibáñez, A.J., Peter, M., Cytosolic pH Regulates Cell Growth through Distinct GTPases, Arf1 and Gtr1, to Promote Ras/PKA and TORC1 Activity, *Molecular Cell* 55(3), 2014, 409-21.

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 12. Efectos de los ureidos en la tolerancia a la sequía en plantas de judía cultivadas en condiciones de fijación de nitrógeno o fertilizadas con nitrato

Cristina M^a López Vázquez¹, Manuel Pineda y Josefa Muñoz Alamillo

Capítulo 12. Efectos de los ureidos en la tolerancia a la sequía en plantas de judía cultivadas en condiciones de fijación de nitrógeno o fertilizadas con nitrato

Universidad de Córdoba. Facultad de Ciencias. Departamento de Botánica, Ecología y Fisiología Vegetal.

Dirección: Campus Rabanales, Edif. Severo Ochoa, 1^a Pl. E-mail: 1b22lovac@uco.es y 2bv1munaj@uco.es

Resumen

Los ureidos se acumulan de forma natural en leguminosas fijadoras de N₂, pero no en leguminosas cultivadas con nitrato. Sin embargo, en estas últimas los ureidos sí se acumulan bajo condiciones de estrés hídrico. La acumulación de ureidos se ha relacionado con la sensibilidad a la sequía y la inhibición de la fijación simbiótica. Sin embargo, los ureidos podrían ofrecer protección frente a la sequía por medio de la regulación de síntesis de ácido abscísico (ABA), que regula las cascadas de transducción de señales de resistencia al estrés hídrico. En este trabajo se analizó, en plantas de judía cultivadas bajo fijación simbiótica y plantas fertilizadas con nitrato, la influencia del estrés hídrico en la regulación de síntesis de ABA y ureidos. También, se determinó la pérdida de agua en el tejido foliar y la biomasa de plantas control y en sequía, y se investigó el origen de los ureidos acumulados durante la sequía en plantas con aporte de nitrato. Los resultados reflejaron que, al contrario que en plantas con nitrato, las plantas fijadoras no sufrían pérdida del contenido hídrico foliar ni de biomasa durante la sequía y tenían una mayor expresión del gen PvNCED3, responsable de la síntesis de ABA.

Fundamento

Las leguminosas ofrecen una gran ventaja agrícola ya que tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, lo que permite reducir el uso de fertilizantes nitrogenados y aumentar la fertilidad del suelo [2, 5, 7]. El nitrógeno derivado de la fijación simbiótica de N₂ es usado para producir ureidos en las llamadas leguminosas ureídicas. Sin embargo, los ureidos solo predominan cuando las leguminosas están realizando la fijación simbiótica del nitrógeno atmosférico. El aporte de nitrato durante el riego y la sequía son factores que inhiben la fijación simbiótica. A pesar de esto, se ha observado un aumento en los niveles de ureidos durante el estrés hídrico, tanto en leguminosas fijadoras de N₂ como en leguminosas con aporte de nitrato [1, 4]. Además, se ha demostrado que los mayores incrementos en los niveles de ureidos se dan en los cultivares más sensibles a la sequía que en los tolerantes [3].

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 12. Efectos de los ureidos en la tolerancia a la sequía en plantas de judía cultivadas en condiciones de fijación de nitrógeno o fertilizadas con nitrato

La sequía inhibe la fijación de N₂ en leguminosas, pero también induce mecanismos de protección frente a la falta de agua en la planta, como la síntesis de ABA y de ureidos. De manera que, la hipótesis de este trabajo es que las plantas de judía cultivadas bajo condiciones de fijación de N₂ deberían ser más tolerantes al estrés hídrico, y que esta tolerancia estaría mediada por los ureidos que se sintetizan naturalmente en estas plantas a partir del nitrógeno fijado en los nódulos. Dichos ureidos ejercerían su papel protector a través de la regulación de la síntesis de ABA que participa en diversos mecanismos de resistencia al estrés. Por tanto, el objetivo principal de este trabajo es determinar si la fijación de N₂ atmosférico regula la síntesis de ABA, así como investigar cuál es el origen de los ureidos acumulados durante la sequía tanto en las plantas en simbiosis como en las fertilizadas con nitrato.

Metodología

Para llevar a cabo el estudio se cultivaron plantas de *Phaseolus vulgaris* bajo fijación simbiótica de N₂ y plantas con aporte de 10 Mm nitrato durante el riego. En ambos casos se dividieron en dos grupos, unas fueron sometidas a sequía durante 7 y 14 días, a 21 y 28 días de crecimiento. A continuación, se llevó a cabo un análisis fisiológico en el que se observó el efecto del tratamiento sobre la biomasa de la raíz y la parte aérea de cada planta, y también se determinó el contenido relativo hídrico (RWC) del tejido foliar. Además, se analizó la concentración de ureidos en el tejido foliar de plantas fijadoras de N₂ y plantas con nitrato sometidas a sequía. Finalmente, se llevó a cabo un análisis de expresión a nivel transcripcional de los genes PvXDH, PvPRAT3 y PvHGPT, relacionados con las rutas de síntesis de ureidos, y de los genes PvNCED y PvMYC, relacionados con la síntesis de ABA y la respuesta dependiente de ABA respectivamente, en plantas fijadoras y con nitrato sometidas a sequía.

Presentación de los resultados

1. Análisis fisiológico

En este trabajo se observó que la biomasa de raíz no se veía afectada por la sequía ni en plantas de fijación ni de nitrato. En cambio, sí que se observó una reducción significativa de la biomasa aérea de plantas con nitrato, sometidas a 7 y 14 días de sequía con respecto a su control. Esto coincide con el hecho de que las células vegetales frenan su expansión rápidamente, sobre todo en las hojas, como consecuencia de la falta de agua. Curiosamente, las plantas en condiciones de fijación de N₂ no variaron su biomasa aérea con respecto a su control tras el tratamiento de sequía. En cuanto a la determinación del RWC, se observó que las hojas de plantas fijadoras mantenían el contenido hídrico estable durante la sequía, al contrario que las hojas de plantas tratadas con nitrato.

2. Determinación de ureidos

Como ya se ha dicho con anterioridad, el aporte de nitrato durante el riego inhibe la fijación simbiótica y los ureidos se ven parcialmente sustituidos por aminoácidos. Esto concuerda con los resultados obtenidos, en los que se apreció que las plantas tratadas con nitrato acumulaban menor cantidad de ureidos que las plantas fijadoras. Este hecho podría relacionarse con la conservación del contenido hídrico en el tejido foliar durante

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 12. Efectos de los ureidos en la tolerancia a la sequía en plantas de judía cultivadas en condiciones de fijación de nitrógeno o fertilizadas con nitrato

la sequía en plantas fijadoras y sugeriría que los ureidos existentes antes del estrés ayudarían a proteger a las plantas fijadoras de la pérdida de agua durante la sequía, bien actuando como osmolitos, o a través de otros mecanismos.

Varios estudios han relacionado la acumulación de ureidos durante la sequía con la sensibilidad a dicho estrés. Por tanto, una menor acumulación de ureidos podría traducirse en mayor tolerancia a la sequía. Durante la determinación de ureidos se observó que, aunque tanto en plantas fijadoras como con aporte de nitrato había un aumento en los niveles de ureidos, dicho aumento era mayor en las plantas con aporte de nitrato.

3. Análisis de expresión génica

3.1. Análisis de expresión de los genes relacionados con la síntesis de ureidos

Durante el análisis de expresión de los genes PvXDH, PvPRAT3 y PvHGPT en el tejido de raíz no se apreciaron diferencias significativas. En cambio, en el tejido foliar se observó una inducción significativa en la expresión del gen PvXDH tanto en plantas con aporte de nitrato como fijadoras, durante los 7 y 14 días de sequía. La inducción del gen PvXDH, relacionado con el catabolismo de las purinas, indicaría que los ureidos sintetizados durante la sequía proceden mayoritariamente de la degradación de los ácidos nucleicos y no de las rutas de síntesis de novo, ni de las de reciclaje de los ácidos nucleicos con las se relacionarían los genes PvPRAT3 y PvHGPT, respectivamente.

3.2. Análisis de expresión de los genes relacionados con la expresión de ABA

De todas las proteínas que participan, la NCED es la que media la etapa clave en la síntesis de ABA [6]. Mediante una PCR semicuantitativa se comprobó que, de las cuatro isoformas codificantes de dicha proteína, solo la PvNCED3 era la que principalmente se expresaba en el tejido foliar durante el estrés hídrico.

Como PvNCED3 mostró una respuesta mayor al resto de isoformas, se analizó su expresión mediante qPCR en respuesta al estrés hídrico en las plantas fijadoras y de nitrato. Los resultados de este análisis mostraron que tanto en raíces como en hojas había una clara inducción de la expresión de PvNCED3 en plantas con nitrato a 7 y 14 días de sequía. En cambio, las plantas fijadoras no mostraron diferencias significativas con respecto su control, A pesar de esto, sí que se apreció una mayor expresión de PvNCED3 en el control de plantas fijadoras con respecto el control de plantas con nitrato. Esto sugiere que habría una mayor expresión de ABA en plantas fijadoras que en plantas tratadas con nitrato durante las condiciones de riego y, por tanto, las plantas fijadoras podrían reaccionar más rápido ante la falta de agua.

Finalmente, el análisis de la expresión del gen PvMYC2 relacionado con las respuestas dependientes de ABA de protección frente a la sequía, mostró que en hoja había una mayor expresión a 7 días de sequía con respecto el control y disminuía a 14. Esto ocurría tanto en plantas con nitrato como fijadoras. Además, este gen mostraba niveles más elevados en los controles de fijación que en los de nitrato, por lo que, parece que la respuesta al ABA se encuentra ya activada en plantas fijadoras de judía. Esto coincidiría con el efecto de la alantoína descrito en Arabidopsis [9,8], y confirmaría que los ureidos

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 12. Efectos de los ureidos en la tolerancia a la sequía en plantas de judía cultivadas en condiciones de fijación de nitrógeno o fertilizadas con nitrato

que sintetizan las plantas fijadoras las hacen más resistentes a la pérdida de agua en condiciones de sequía.

Conclusiones

En el presente trabajo se ha demostrado que las plantas de *P. vulgaris* crecidas bajo fijación simbiótica de nitrógeno retienen más agua y son menos afectadas por la sequía que las plantas fertilizadas con nitrato. El alto nivel de expresión del gen de biosíntesis de ABA, PvNCED3, en hojas de plantas simbióticas durante el riego podría explicar la mayor capacidad de retención de agua en sus hojas. Además, los ureidos acumulados bajo estrés hídrico en *P. vulgaris* no se producen a partir de purinas sintetizadas de novo, ni por vías de salvamento nucleotídicas, sino por el aumento del metabolismo de ácidos nucleicos y la inducción del catabolismo de las purinas.

En consecuencia a lo citado anteriormente, se puede decir que la simbiosis con rizobios parece promover la tolerancia a la sequía, a pesar de la conocida sensibilidad a la sequía de la fijación de nitrógeno.

Bibliografía

- [1] Alamillo JM., Díaz-Leal JL., Sánchez-Morán V., Pineda M. (2010) Molecular analysis of ureide accumulation under drought stress in *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Cell and Environment*. 33:1-9.
- [2] Brockwell J., Bottomley P.J., Thies J.E. (1995) Manipulation of rhizobia microflora for improving legume productivity and soil fertility: a critical assessment. *Plant and Soil* 174:143-180.
- [3] Coletto I., Pineda M., Rodinño AP., De Ron AM. and Alamillo JM. (2014) Comparison of inhibition of N₂ fixation and ureide accumulation under water deficit in four common bean genotypes of contrasting drought tolerance. *Annals of Botany*. 113:1071–1082, 2014
- [4] Díaz-Leal J., Gálvez-Valdivieso G., Fernández J., Pineda M. and Alamillo JM. (2012). Developmental effects on ureide levels are mediated by tissue-specific regulation of allantoinase in *Phaseolus vulgaris* L. *Journal of Experimental Botany*. 63:4095-4106
- [5] Gentzbittel L., Andersen S.U., Ben C., Rickauer M., Stougaard J., Young N.D. (2015) Naturally occurring diversity helps to reveal genes of adaptive importance in legumes. *Frontiers in Plant Science* 6:269.
- [6] Iuchi S., Kobayashi M., Taji T., Naramoto M., Seki M., Kato T., Tabata S., Kakubari Y., Yamaguchi-Shinozaki K. and Shinozaki K. (2001) Regulation of drought tolerance by gene manipulation of 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase: a key enzyme in abscisic acid biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Journal* 27:325–333.
- [7] Sprent J. (2002) Knobs, knots and nodules—the renaissance in legume symbiosis research. *New Phytologist* 153:2-6.
- [8] Takagi H., Ishiga Y., Watanabe S., Konishi T., Egusa M., Akiyoshi N., Matsuura T., Mori I.C., Hirayama T., Kaminaka T., Shimada H., Sakamoto A. (2016) Allantoin, a stress-related purine metabolite, can activate jasmonate signaling in a MYC2-regulated and abscisic acid-dependent manner. *Journal of Experimental Botany* 67: 2519-2532.

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 12. Efectos de los ureidos en la tolerancia a la sequía en plantas de judía cultivadas en condiciones de fijación de nitrógeno o fertilizadas con nitrato

[9] Watanabe S., Matsumoto M., Hakomori Y., Takagi H., Shimada H., Sakamoto A. (2014). The purine metabolite allantoin enhances abiotic stress tolerance through synergistic activation of abscisic acid metabolism. *Plant, Cell and Environment* 37:1022–1036.

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 13. Estudio de preparación de muestra para el análisis de endocannabinoides en suero humano mediante LC-MS/MS en modo SRM

Diego Luque Córdoba

Capítulo 13. Estudio de preparación de muestra para el análisis de endocannabinoides en suero humano mediante LC-MS/MS en modo SRM

Universidad de Córdoba. Facultad /Escuela de Ciencias. Departamento de Química Analítica.

Dirección: Feliciano Priego Capote. E-mail: q72prcaf@uco.es

Resumen

Los endocannabinoides son sustancias endógenas pertenecientes a una familia de lípidos mediadores implicados en multitud de procesos fisiológicos y patológicos. Los endocannabinoides se detectan en matrices complejas como biofluidos y tejidos a bajas concentraciones, dificultando su cuantificación. Por ello, el análisis de endocannabinoides supone un reto para los investigadores que tienen que implementar herramientas analíticas para alcanzar altos niveles de sensibilidad y selectividad. En esta investigación se ha desarrollado un método analítico basado en extracción en fase sólida acoplada en línea a cromatografía de líquidos con espectrometría de masas en tándem (SPE-LC-MS/MS) para la determinación cuantitativa de endocannabinoides en suero humano. Los analitos de interés fueron las aciletanolamidas (N-palmitoil, N-estearoil, N-oleoil, N-araquidonoil, docosatetraenoil y docosahexaenoil etanolamida), las N-acildopaminas (N-palmitoil, N-estearoil, N-oleoil y N-araquidonoil dopamina) y otros derivados del ácido araquidónico como los araquidonoil glicerol (2-araquidonoil glicerol y 2-araquidonoil glicerol éter) N-araquidonoil glicina y O-araquidonoil etanolamina. La conexión en línea entre SPE y el análisis mediante LC-MS/MS permitió automatizar completamente el proceso analítico con la reducción de los típicos errores asociados a la preparación de muestra. Con este enfoque propuesto se obtuvieron límites de cuantificación (LOQs) entre 10–150 pg mL⁻¹, mientras que los límites de detección (LODs) oscilaron entre 3–45 pg mL⁻¹. El método SPE-LC-MS/MS se comparó con un método de precipitación de proteínas y con SPE en formato discontinuo para la retención selectiva de glicerosfolípidos. El método propuesto ofreció mejores resultados en términos de sensibilidad debido al alto factor de preconcentración alcanzado y a la eliminación de compuestos supresores de la ionización gracias a la SPE en línea.

Fundamento y presentación de resultados

Desde su descubrimiento, los endocannabinoides han adquirido un gran interés científico ya que intervienen en multitud de procesos fisiológicos y patológicos [1,2]. El análisis de endocannabinoides supone un gran reto debido a la variedad de biofluidos y tejidos [3,4] en los que se pueden determinar, además de la baja concentración a la que han sido detectados.

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 13. Estudio de preparación de muestra para el análisis de endocannabinoides en suero humano mediante LC-MS/MS en modo SRM

Se han propuesto diferentes métodos para el análisis de endocannabinoides, la mayoría de ellos con determinación por LC-MS/MS y GC-MS. Las diferencias entre ellos se centran en la preparación de muestra, principalmente basada en precipitación de proteínas [5], extracción líquido-líquido [6] y extracción en fase sólida (SPE) [7]. Los endocannabinoides más determinados en muestras biológicas han sido N-araquidonoil etanolamida (AEA) y 2-araquidonoil glicina (2-AG) y, en el caso especial del plasma, también se han determinado N-oleoil etanolamida (OEA), N-palmitoil etanolamida (PEA), 2-araquidonoil glicerol éter (2-AG ether) y O-araquidonoil etanolamida (O-AEA) [8].

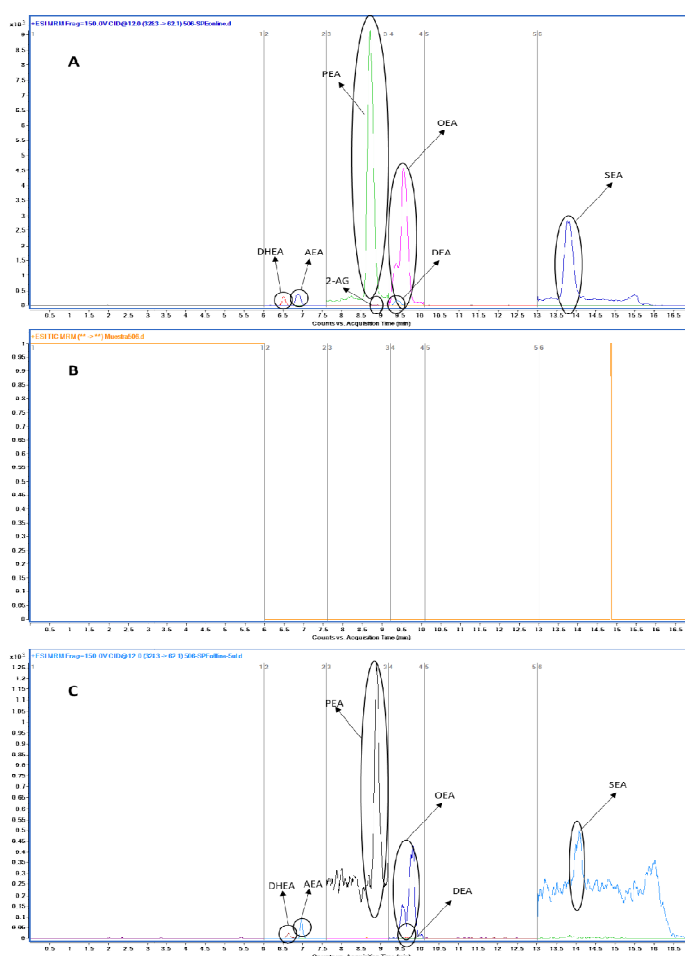


Figura 1. Cromatogramas obtenidos mediante el método SPE-LC-MS/MS (A), mediante precipitación de proteínas seguida de LC-MS/MS (B) y mediante SPE en modo convencional utilizando un cartucho para la retención selectiva de glicerofosfolípidos seguida de LC-MS/MS (C).

Este trabajo ha permitido el desarrollo de un método analítico capaz de cuantificar 14 endocannabinoides en suero mediante SPE-LC-MS/MS. Con el acoplamiento en línea

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 13. Estudio de preparación de muestra para el análisis de endocannabinoides en suero humano mediante LC-MS/MS en modo SRM

entre SPE y LC se consigue la automatización completa del proceso analítico que permite reducir los posibles errores derivados del tratamiento de muestra. Además, el acoplamiento SPE-LC permite inyectar un alto volumen de muestra (100 μL), no compatible con el análisis directo mediante LC-MS/MS. De esta forma se consigue aumentar la sensibilidad de manera notable.

El método propuesto consiste en la descongelación de la muestra en hielo para evitar posibles degradaciones de los analitos en el suero debido al choque térmico. Una vez descongelada, la muestra se centrifuga a $20200 \times g$ durante 10 minutos para separar posibles partículas en suspensión en el suero, y seguidamente es filtrada mediante un filtro de nylon con un tamaño de poro de $0.2 \mu\text{m}$. Se toman 200 μL del filtrado y se introducen en un vial opaco con inserto que se introduce en el automuestreador del sistema SPE termostaticado a 4°C para su análisis. El protocolo SPE consiste en primer equilibrado del cartucho con 10 mL de metanol, y un segundo equilibrado con 1 mL de metanol, seguido de dos pasos de solvatación consecutivos con 1 mL de ACN al 25% en agua (v/v) que contiene 0.7% (v/v) de ácido fórmico. A continuación, se llenan los 100 μL del bucle de muestra, que rápidamente se cargan en el cartucho con 1.5 mL de la disolución de solvatación, quedando así retenidos los analitos en el sorbente del cartucho y eliminando la matriz de la muestra. Los analitos son eluidos por la fase móvil cromatográfica, siendo el tiempo de elución de 1 minuto y 30 segundos. La etapa de SPE finaliza con una purga del cartucho con agua, metanol, agua, 30% ACN (v/v) en agua, y agua, consecutivamente.

Las condiciones cromatográficas iniciales son de 70% de ACN al 0.1 % (v/v) de ácido fórmico, como agente ionizante, a un flujo constante de $800 \mu\text{L min}^{-1}$, manteniéndose constantes durante el primer minuto de cromatografía, a partir del cual se aplica un gradiente hasta el 80% ACN hasta llegar a los 5 minutos de cromatografía. Entre los minutos 5 a 13 se aplica un nuevo gradiente para alcanzar un 88% ACN, y durante los 30 segundos siguientes hay un gradiente hasta alcanzar un 100% ACN. Estas condiciones se mantienen constantes hasta el final de la cromatografía, que acaba a los 17 minutos. Se necesitan 8 minutos para restablecer las condiciones cromatográficas iniciales con el fin de iniciar el análisis de la siguiente muestra. La temperatura de la columna cromatográfica se mantiene constante durante todo el proceso a 15°C .

Para llevar a cabo el estudio de preparación de este método analítico se ha evaluado la influencia de todos los parámetros implicados tanto en la detección por espectrometría de masas como en la preparación de muestra. La detección por espectrometría de masas se realizó mediante SRM (del inglés "Selected Reaction Monitoring") por lo que fue necesario optimizar el ion precursor y los iones producto para cada analito, así como las variables implicadas en la ionización. Respecto a la preparación de la muestra se estudió la capacidad de retención de 3 sorbentes con diferentes mecanismos de retención y la eficiencia en la eliminación de interferentes. Una vez seleccionadas las condiciones óptimas del método para cada sorbente, se evaluó la eficiencia de extracción, seleccionándose el sorbente que mejor resultados presentó, realizándose una caracterización completa del método con dicho sorbente en términos de sensibilidad, precisión y exactitud (Tabla 1). Finalmente, se llevó a cabo un estudio de reusabilidad

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 13. Estudio de preparación de muestra para el análisis de endocannabinoides en suero humano mediante LC-MS/MS en modo SRM

para comprobar cuantas veces se puede usar un mismo cartucho sin que se pierda capacidad de retención de los analitos, resultando un número máximo de 2 usos.

El método optimizado se ha comparado con otras dos alternativas de preparación de muestra como son la precipitación de proteínas y la SPE en modo convencional utilizando un cartucho selectivo para la retención de glicerofosfolípidos (interferentes potenciales en la ionización de los analitos). El método propuesto ofreció mejores resultados en niveles de sensibilidad mediante el análisis de muestras de suero procedentes de 5 individuos voluntarios en los que se detectaron 7 endocannabinoides (Figura 1): AEA, PEA, 2-AG, OEA, N-estearoil etanolamida (SEA), docosatetraenil etanolamida (DEA) y docosahexaenil etanolamida (DHEA). El método propuesto por tanto representa una alternativa muy competitiva para llevar a cabo el análisis de endocannabinoides en suero y, teniendo en cuenta, su capacidad de eliminar interferencias asociadas al efecto matriz, pudiéndose adaptar al análisis de otros biofluidos.

Como conclusión, se ha desarrollado un método automático mediante SPE-LC-MS/MS para el análisis cuantitativo de 14 endocannabinoides, proporcionando una rápida separación cromatográfica de los endocannabinoides, además de la separación total de dos endocannabinoides que presentan igual masa y similar estructura, AEA y O-AEA. El método diseñado para la cuantificación en muestras de suero presenta una etapa de extracción en fase sólida online, permitiendo la preconcentración de los endocannabinoides y la eliminación de las interferencias que causan supresión de la ionización, lo que se traduce en una mejora de la señal analítica a pesar de los bajos niveles en muestras biológicas, del orden de pg mL^{-1} . Se consigue reducir considerablemente el proceso de tratamiento de muestra, evitando las etapas de extracción con disolventes orgánicos o mezclas, de precipitación de proteínas, y de preconcentración mediante evaporación del disolvente; evitándose así, los errores asociados a estas etapas del proceso analítico, por lo que, la comparativa del método propuesto basado en SPE-online, con un método basado en SPE-offline y otro con una simple desproteinización de las muestras mostró que los mejores resultados se obtuvieron con la SPE-online.

Bibliografía

- [1] B. K. Atwood, K. MacKie, Br. J. Pharmacol. 160 (2010) 467–479.
- [2] J. M. McPartland, M. Glass, R. G. Pertwee, Br. J. Pharmacol. 152 (2009) 583–593
- [3] S. Engeli, J. Böhnke, M. Feldpausch, K. Gorzelniak, J. Janke, S. Bátkai, P. Pacher, J. Harvey-White, F. C. Luft, A. M. Sharma, J. Jordan, Diabetes 54 (2005) 2838–2843
- [4] A. Giuffrida, F. M. Leweke, C. W. Gerth, D. Schreiber, D. Koethe, J. Faulhaber, J. Klosterkötter, D. Piomelli, Neuropsychopharmacol. 29 (2004) 2108–2114.
- [5] M. G. J. Balvers, K. C. M. Verhoeckx, R. F. Witkamp, J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci. 877 (2009) 1583–1590.
- [6] A. Giuffrida, D. Piomelli, FEBS Lett. 422 (1998) 373–376.
- [7] M. Sergi, N. Battista, C. Montesano, R. Curini, M. MacCarrone, D. Compagnone, Anal. Bioanal. Chem. 405 (2013) 785–793.

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 13. Estudio de preparación de muestra para el análisis de endocannabinoides en suero humano mediante LC-MS/MS en modo SRM

[8] A. Thomas, G. Hopfgartner, C. Giroud, C. Staub, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 23 (2009) 629–638.

Milagros Francisca Morcillo Arencibia

Capítulo 14. Probabilidades de ionización de un átomo de hidrógeno fuera de confinamiento

Universidad de Córdoba. Facultad de Ciencias. Departamento de Física.

Dirección: Campus de Rabanales Edif. C2, 14071 Córdoba, España.

E-mail: f22moarm@uco.es

Resumen

Los niveles de energía de un átomo confinado son diferentes de los niveles del átomo libre. Este trabajo estudia la evolución temporal de un átomo de hidrógeno confinado por una barrera esférica e infinita de potencial cuando desaparece el confinamiento. Consideramos que el cambio del sistema se produce en un tiempo muy pequeño en comparación con la escala de tiempo asociada a la dinámica del sistema, por lo que usamos la aproximación repentina para el análisis de la situación.

Calculamos las probabilidades de ionización del átomo de hidrógeno partiendo de distintas situaciones de confinamiento. Analizando la distribución de probabilidad de ionización en función de la energía para distintos estados de partida del átomo confinado, observamos en cada caso un máximo principal para un valor de energía similar al del estado de partida, así como una serie de máximos secundarios incluso para grandes valores de energía.

Fundamento

Para analizar la evolución temporal de nuestro sistema vamos a utilizar la aproximación repentina [1].

Inicialmente consideramos que el átomo de hidrógeno está confinado y, por tanto, el Hamiltoniano del sistema es

$$\widehat{H}_c = -\frac{1}{2}\nabla^2 - \frac{1}{r} + V_c(r). \quad (1)$$

V_c es el potencial de confinamiento que, en nuestro caso, tomamos como una barrera esférica e infinita de potencial. De esta forma, los valores de energía y autoestados iniciales serán los del átomo de hidrógeno confinado. Dichos autoestados se pueden expresar como

$$\langle \vec{r} | \psi_{nlm}^a \rangle = R_{nl}^a(r) Y_{lm}(\theta, \varphi), \quad (2)$$

donde nlm son los números cuánticos del estado inicial del sistema (n indica el nivel de energía y los índices l y m corresponden a los números cuánticos para el momento angular orbital del átomo y su componente z , respectivamente).

**Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 14. Probabilidades de ionización
de un átomo de hidrógeno fuera de confinamiento**

Haciendo uso de la función de onda radial reducida $\phi_{nl}^a(r) = rR_{nl}^a(r)$, tenemos el problema monodimensional [1]

$$-\frac{d^2\phi_{nl}^a(r)}{dr^2} + \left(-\frac{2}{r} + 2V_c + \frac{l(l+1)}{r^2}\right)\phi_{nl}^a(r) = 2E_n^a\phi_{nl}^a(r). \quad (3)$$

Esta ecuación deberá satisfacerse con las condiciones de contorno

$$\phi_{nl}^a(0) = 0, \quad \phi_{nl}^a(R_c) = 0. \quad (4)$$

Una vez se produce el cambio abrupto del Hamiltoniano, no teniendo por qué ser la diferencia entre ambos Hamiltonianos necesariamente pequeña, se tiene el átomo de hidrógeno libre, problema cuya solución analítica es bien conocida y puede consultarse en la referencia [1].

Finalmente, la probabilidad de transición entre estados estacionarios del átomo de hidrógeno libre y confinado se calcula como

$$P = |\langle \psi_{n'l'm}^d | \psi_{nlm}^a \rangle|^2. \quad (5)$$

Para poder alcanzar los objetivos marcados en este trabajo referentes a la estabilidad del átomo de hidrógeno tras abandonar el confinamiento, hemos de resolver la ecuación de Schrödinger (3). Para ello, utilizamos el Método de Prolongación Analítica Sucesiva (MPAS) [2,3], que nos permitirá obtener las funciones de onda. El método se puede describir como sigue: dada una ecuación diferencial y un mallado no necesariamente equiespaciado en un intervalo de interés, se aproxima la solución en un entorno de cada punto r_j mediante un desarrollo en serie de la forma

$$\phi(r) = \sum_i c_i (r - r_j)^i, \quad (6)$$

y se conectan todos exigiendo continuidad en la función y en su primera derivada, de forma que se obtiene una solución continua en todo el intervalo.

En el caso del espectro discreto (estados ligados), la ecuación de Schrödinger solo tiene soluciones físicamente admisibles para unos valores de energía determinados. Por tanto, se trata de resolver una ecuación de autovalores. Para la obtención de estos valores aplicamos un método de disparo [4]. En nuestro caso, integramos desde los extremos del intervalo considerado hacia el interior e imponemos la continuidad de la derivada logarítmica en un punto intermedio. Para cada valor de energía resolvemos la ecuación (3) mediante el MPAS [5].

Sin embargo, para el espectro continuo hay solución físicamente admisible para cualquier valor de energía, por lo que se aplica directamente el MPAS para la resolución de la ecuación (3) con el valor de energía deseado [5].

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 14. Probabilidades de ionización de un átomo de hidrógeno fuera de confinamiento

Presentación de resultados

Para el átomo de hidrógeno confinado hemos considerado los 10 primeros estados ligados para 10 radios de confinamiento distintos, mientras que para el átomo de hidrógeno libre hemos tenido en cuenta hasta 500 estados del espectro discreto y hasta 10000000 de estados del espectro continuo. Para la aplicación del MPAS se ha realizado un desarrollo en serie hasta polinomios de orden 20.

Analizamos las distribuciones de probabilidad de ionización en función de la energía para cada estado inicial del átomo confinado y para cada radio de confinamiento. Como ejemplo, vamos a centrarnos en el estado confinado 4s para un radio de confinamiento de 3 u.a. El resultado para los otros estados es similar. En la figura (1) apreciamos una serie de máximos para determinadas energías, representando cada uno de esos máximos una mayor probabilidad de que el electrón se ionice con esa energía cinética tras abandonar el átomo el confinamiento. El máximo principal se localiza para una energía similar a la del estado inicial confinado (la energía de este es 7.48564 u.a. y el máximo principal se sitúa en 7.13476 u.a.). A su vez, en la gráfica apreciamos también mínimos próximos a 0 que representan estados de energía en los que es muy improbable que se encuentre el electrón.

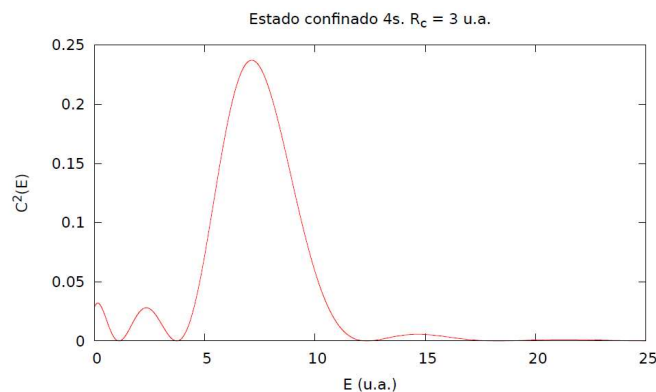


Figura 1: Distribución de probabilidad de ionización frente a la energía para el estado confinado 4s y $R=3$ u.a.

La figura (2) representa las funciones de onda radial reducida de los estados inicial y final en la región de confinamiento y su producto para distintas energías.

Vemos que el máximo principal de la figura (1) se debe a que las funciones radiales de los estados inicial y final en la región de confinamiento se solapan prácticamente por completo: están en fase y se produce una interferencia constructiva, tal y como podemos ver en la figura (2). Asimismo, al aumentar la energía de los posibles estados del espectro continuo, aumenta la frecuencia y con ello el número de onda, de manera que la función del estado final se va desfasando respecto a la inicial y se produce una interferencia destructiva que origina una probabilidad prácticamente nula para ciertos estados, como apreciamos para $E=12.34823$ u.a.

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 14. Probabilidades de ionización de un átomo de hidrógeno fuera de confinamiento

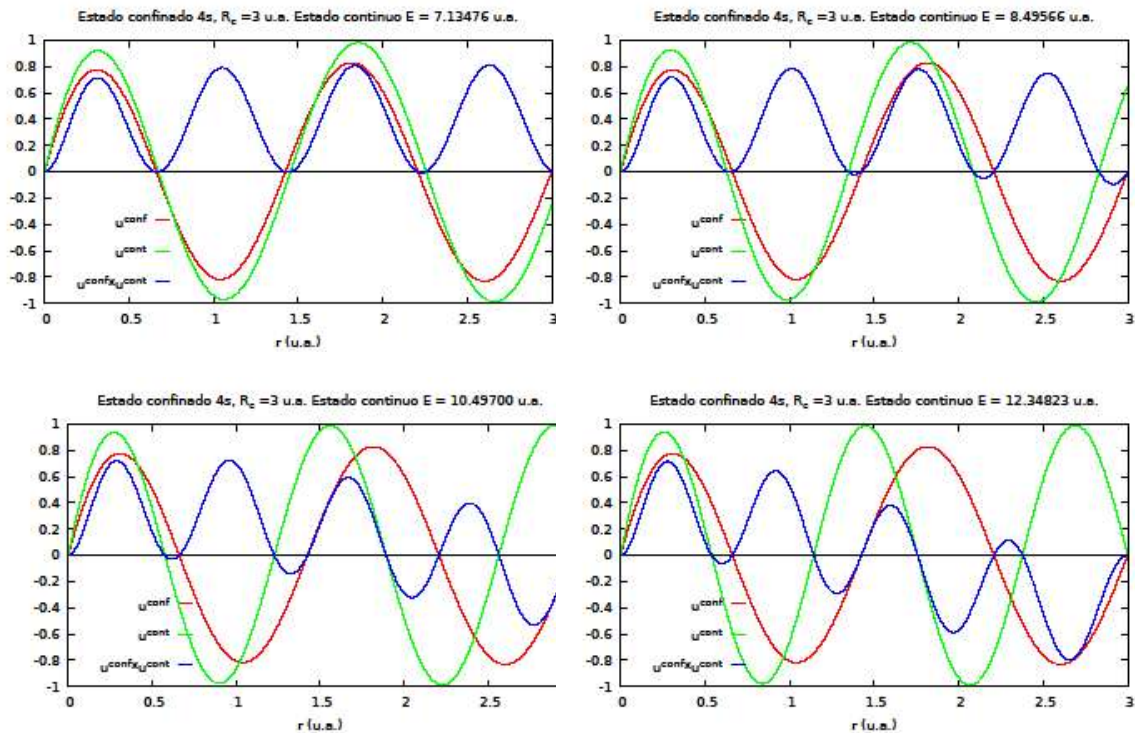


Figura 2: Funciones de onda radial reducida del estado confinado 4s para $R_c = 3$ u.a. y del estado libre del espectro continuo y su producto para distintos valores de energía.

Esta sucesión de interferencias destructivas y constructivas entre las funciones de onda de los estados confinado e ionizado se va a ir repitiendo según se varíe la energía, obteniéndose así la sucesión de máximos y mínimos en la distribución de probabilidad de ionización en función de la energía del electrón.

Bibliografía

- [1] N. Zettili, Quantum Mechanics: concepts and applications, Second Ed.: Wiley, 2009.
- [2] A. Holubec, A.D. Stauffer, *J. Phys. A* 18 (1985) 2141-2149.
- [3] A. Holubec et al., *J. Phys. A* 23 (1990) 4081-4095.
- [4] R.L. Burden, J.D. Faires, Análisis Numérico, Segunda Ed.: Grupo Editorial Iberoamérica, 1996.
- [5] M.F. Morcillo, J.M. Alcaraz-Pelegriña, A. Sarsa, *Int J Quantum Chem.* (2017) e25563.

Elvira Rodríguez Vázquez

Capítulo 15. Expresión, purificación y caracterización de la Peroxirredoxina 6 humana (Prdx6)

Universidad de Córdoba. Facultad /Escuela de Ciencias. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular.

Dirección: Campus de Rabanales, Ed. Severo Ochoa. E-mail: b22rovae@uco.es

Resumen

El trabajo se enmarca dentro de las líneas de trabajo del grupo de Investigación BIO-216 y del proyecto BFU2015-63598-P, titulado: “Función de las Peroxirredoxinas en la homeostasis celular como antioxidantes y en señalización”. El punto de partida del proyecto ha sido la continuación de una línea de trabajo ya iniciada por el grupo que consiste en la clonación, expresión y purificación a gran escala de la proteína recombinante humana, peroxirredoxina 6 (Prdx6). Ya había sido clonada y expresada en E. coli BL-21 pero formaba cuerpos de inclusión. Por tanto, el objetivo principal de este trabajo es poner a punto un método que nos permita expresar, solubilizar y purificar dicha proteína recombinante en E. coli BL-21 a gran escala. Una vez purificada la Prdx6, las siguientes fases del proyecto van encaminadas a su caracterización enzimática, poniendo a punto ensayos enzimáticos de las distintas actividades descritas para las Prdxs de 1 cisteína, estudios de oligomerización in vitro y de modificación de la proteína recombinante mediante glutationilación, nitrosilación y/o fosforilación.

Fundamentos, metodología, presentación de resultados y conclusiones

1ª Fase.- Preparación de un cultivo a gran escala del clon de expresión seleccionado. Se preparó un cultivo de E. coli BL21(DE3)/pET22b/PRDX6 en 500 ml LB + ampicilina, a 25 °C y con agitación. Cuando se alcanzó una DO600 \approx 0.5 se añadió 0.5 mM IPTG y se continuó incubando a 25 °C una noche. Se recolectaron las células por centrifugación y se disolvieron en 25 ml Tris-HCl 20 mM, pH 8, 0.1 M NaCl (tampón A), con 15 mg de lisozima y 30 mg de DNasa I. Se sonicó durante 30 min en frío y se centrifugó a 10000xg durante 30 min a 4°C.

2ª Fase.- Purificación mediante cromatografía de afinidad con Ni de la proteína recombinante con cola de histidina. El sobrenadante se filtró y se pasó a través de una columna TALON equilibrada con tampón A. Seguidamente se lavó con 50 ml de tampón A con 5 mM de imidazol. Después, se eluyó con tampón A con 100 mM imidazol y se recogieron fracciones de 1 ml, alas que se le midió la A280. El perfil de elución fue el siguiente:

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 16. Efecto sobre la secreción de LH de la activación farmacogenética de las neuronas Kiss1 del núcleo arcuato

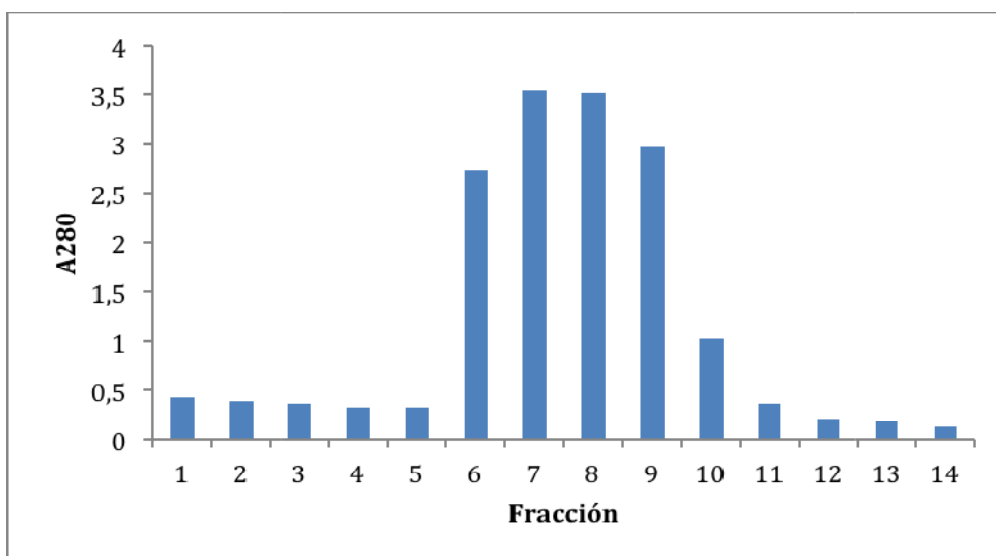


Figura 1. Perfil de elución de la proteína recombinante PRDX6

3ª Fase.- Análisis mediante SDS-PAGE. Se tomaron alícuotas de las fracciones 5-13, las cuales contenían la mayor elución de proteína recombinante PRDX6 y se realizó una SDS-PAGE 12% para determinar que realmente se trataba de la proteína de interés.

5 6 7 8 9 10 11 12 13

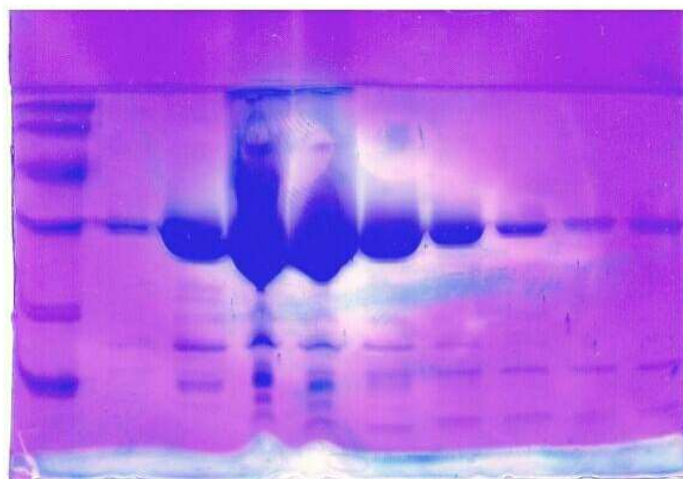


Figura 2. SDS-PAGE 12% de las fracciones de elución 5-13. El símbolo “” indica el marcador de 25 kDa, próximo a las bandas correspondientes a la proteína recombinante PRDX6*

4ª Fase.- Cuantificación de la proteína purificada, determinación de la actividad enzimática probando distintos sustratos y condiciones. Se reunieron las fracciones 3-12 y se dializó frente a 1 litro de Tris-HCl 20 mM, pH 8, 0.1 M NaCl. La muestra PRDX6

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 16. Efecto sobre la secreción de LH de la activación farmacogenética de las neuronas Kiss1 del núcleo arcuato

presentó entonces una $A_{280} = 3,025$, por lo que su concentración es 134 μM o 3,5 mg/ml (Coef.extinc. = 22522; 1 $\text{mg/ml} = 0,869$; datos Protparam). A continuación, se realizaron ensayos de actividad peroxidasa dependiente de Trx y de Grx.

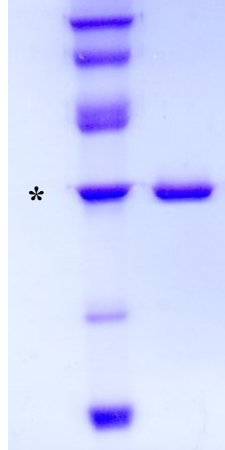


Figura 3. SDS-PAGE. El símbolo “” indica el marcador de 25 kDa. La banda próxima a este marcador en el siguiente carril corresponde a la proteína recombinante PRDX6*

Ensayo con TRX: 250 μM NADPH, 500 μM GSH, 0,5 μM Trx2p, 5 μM Trx3p, 5 μM PRX, 100 μM H₂O₂ en tampón HEPES 50 mM pH 7. El ensayo de actividad con la Prx1p como control fue como de costumbre, con un consumo de NADPH de 10 $\mu\text{M min}^{-1}$. Sin embargo, los ensayos con PRDX6 no mostraron actividad ni de éste modo ni cambiando los siguientes parámetros:

- Reduciendo el peróxido a la mitad
- Reduciendo el peróxido a la mitad y sin GSH
- Reduciendo el peróxido a la mitad, sin GSH y con 20 μM DTT
- Cambiando el tampón a Tris-HCl 20 mM, pH 8, 0.1 M NaCl

Ensayo con GRX: 250 μM NADPH, 500 μM GSH, 1 U/ml GR (yeast, Sigma), 5 μM GRX, 5 μM PRX, 100 μM t-BOOH en tampón Tris-HCl 20 mM, pH 8, 0.1 M NaCl. El ensayo de actividad con Prx1 como control también fue positivo, rindiendo un consumo de NADPH de 10,8 $\mu\text{M min}^{-1}$. Sin embargo, los ensayos con PRDX6 no mostraron actividad ni de este modo ni cambiando lo siguiente:

- Cambiando la Grx2p por una Grx de rata (concentración desconocida)
- Cambiando el pH del ensayo a 7 aproximadamente (con grx de levadura o rata)

5ª Fase.- La proteína recombinante se ha empleado para hacer estudios de oligomerización y modificaciones postraduccionales in vitro. Actualmente esta última fase se encuentra en desarrollo y se disponen de algunos resultados preliminares.

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 16. Efecto sobre la secreción de LH de la activación farmacogenética de las neuronas Kiss1 del núcleo arcuato

Conclusiones

1. Se ha llevado a cabo la purificación de la proteína recombinante PRDX6 hasta homogeneidad.
2. Se ha determinado que la proteína purificada se trataba de la proteína de interés mediante comprobación de su tamaño por SDS-PAGE y western blot con anticuerpos específicos frente a dicha proteína.
3. Se han puesto a punto distintos ensayos de actividad para PRDX de 1-cys, sin embargo la proteína recombinante PRDX6 presentaba poca actividad.

Bibliografía

- [1] J.R. Pedrajas, C.A. Padilla, B. McDonagh, J.A. Bárcena, Glutaredoxin Participates in the Reduction of Peroxides by the Mitochondrial 1-CYS Peroxiredoxin in *Saccharomyces cerevisiae*, *Antioxid Redox Signal*, 13, 2010, p. 249-258.
- [2] J.R. Pedrajas, et al. Glutathione is the Resolving Thiol for Thioredoxin Peroxidase Activity of 1-Cys Peroxiredoxin without Being Consumed during the Catalytic Cycle, *Antioxid Redox Signal*, 24, 2016, p. 115-128.
- [3] A.B. Fisher, Peroxiredoxin 6: A Bifunctional Enzyme with Glutathione Peroxidase and Phospholipase A 2 Activities, 15 2011, p. 831-844.
- [4] S. Zhou, E.M. Sorokina, S. Harper, H. Li, L. Ralat, C. Dodia, et al., Peroxiredoxin 6 Homodimerization and Heterodimerization with Glutathione S-transferase pi are Required for its Peroxidase but not Phospholipase A2 Activity, *Free Radic. Biol. Med.* Elsevier, 94, 2016, p. 145–156.

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 16. Efecto sobre la secreción de LH de la activación farmacogenética de las neuronas Kiss1 del núcleo arcuato

Miguel Ruiz Cruz; Directores: Manuel Tena Sempere, Juan Roa Rivas

Capítulo 16. Efecto sobre la secreción de LH de la activación farmacogenética de las neuronas Kiss1 del núcleo arcuato

Universidad de Córdoba. Facultad de Medicina. Departamento de Biología Celular, Fisiología e Inmunología..

Dirección: Departamento de Biología Celular, Fisiología e Inmunología, Universidad de Córdoba; Instituto Maimónides de Investigación Biomédica (IMIBIC)/Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba, 14004, España. E-mail:myguestp@gmail.com

Resumen

La función reproductora está bajo el control de una gran variedad de señales, entre ellas, las Kisspeptinas, neuropéptidos producidos por las neuronas Kiss1, uno de los elementos más importantes en el control del eje reproductor. Así pues, el desarrollo de herramientas que permitan la manipulación de la actividad de estas neuronas repercutirá positivamente en el estudio de la función de éstas y su interacción con otras señales. En este contexto, el objetivo de este trabajo fue la puesta a punto de un protocolo para la activación de la población de neuronas Kiss1 localizada en el núcleo arcuato (ARC), que controla la secreción pulsátil de GnRH/LH. Para este objetivo, usamos herramientas virogenéticas-farmacogenéticas dirigidas a la expresión del DREADDs (del inglés, Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs) activador hM3Dq en el ARC y su posterior estimulación mediante el ligando específico clozapina-n-óxido (CNO). Nuestros resultados demostraron que la sobre-expresión de hM3Dq en el ARC consigue la expresión de este receptor en un pequeño porcentaje de neuronas Kiss1, el cual fue variable dependiendo del animal. Sin embargo, la activación de hM3Dq con CNO produjo un incremento significativo de la secreción de LH que fue proporcional al número de neuronas Kiss1 que co-expresaban hM3Dq.

Fundamentos, metodología, presentación de resultados y conclusiones

Fundamentos.

Las neuronas Kiss1 se encuentran en el hipotálamo y secretan Kisspeptinas, una familia de neuropéptidos que actúan estimulando la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) por parte de las neuronas GnRH [1]. La liberación de dicho neuropéptido, estimula a su vez la secreción de las gonadotropinas, Hormona Luteinizante (LH) y Hormona Folículo-estimulante (FSH) por parte de la hipófisis, que viajan por la circulación sistémica para estimular en las gónadas, por un lado, la producción de gametos (gametogénesis) y, por otro lado, la secreción de hormonas gonadales de naturaleza peptídica y esteroidea. Estas hormonas cierran el ciclo mediante circuitos de retroalimentación tanto negativa como positiva por mecanismos que implican a las neuronas Kiss1. Existen dos poblaciones de neuronas Kiss1: una en el núcleo anteroventral periventricular (AVPV), que está presente únicamente en hembras, y que interviene en la inducción de la ovulación. Y otra en el ARC responsable de la secreción tónica de GnRH/LH [2, 3].

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 16. Efecto sobre la secreción de LH de la activación farmacogenética de las neuronas Kiss1 del núcleo arcuato

Objetivo.

En este contexto, el objetivo de este trabajo fue desarrollar un método para la activación farmacogenética de las neuronas Kiss1 del ARC que nos sirva como herramienta para avanzar en la caracterización del papel de esta población neuronal en el control del eje reproductor.

Metodología.

Para la consecución de dicho objetivo, se emplearon herramientas virogenéticas-farmacogenéticas encaminadas a la expresión de un DREADD [4] acoplado a una proteína Gq (hM3Dq) en neuronas del ARC, núcleo donde reside una población de neuronas Kiss1 que ha sido implicada en el control de la secreción pulsátil de LH. Concretamente, se utilizaron virus adeno-asociados (AAVs, del inglés Adeno-associated viruses) del serotipo 8 debido a su mayor difusión en el tejido cerebral respecto a otros serotipos. Estos AAVs fueron inyectados mediante estereotaxia en el ARC de ratones macho adultos que expresan GFP bajo el promotor de Kiss1 (Kiss1-GFP). Tras un periodo de 3 semanas posterior a la inyección, que asegura una expresión efectiva de hM3Dq, se realizaron distintos ensayos de cara a evaluar el efecto de la activación in vivo de dicho receptor sobre la secreción de LH. A posteriori, se realizaron ensayos de colocalización entre hM3Dq y neuronas Kiss1 para intentar correlacionar el grado de respuesta secretora de LH con el número de neuronas Kiss1 que expresan hM3Dq en cada animal evaluado.

Para la activación del receptor hM3Dq se administró, vía intraperitoneal (ip), una dosis de CNO de 0.3 mg/kg y se tomaron muestras de sangre antes (0-min) y a los 15, 30, 60 y 90 min de la inyección para monitorizar el efecto de la activación de hM3Dq sobre la secreción de LH. Para conocer el efecto de la activación de hM3Dq, en términos de incremento de la secreción de LH sobre la masa secretora basal de esta hormona, se procedió a la repetición de este mismo protocolo inyectando salino (0.9% NaCl) ip a los mismos animales, tras las recuperación total de éstos de la manipulación anterior. El efecto neto de la activación de hM3Dq sobre la secreción de LH se calculó como el área bajo la curva (AUC) de la respuesta a CNO durante el periodo analizado menos la respuesta a salino durante este mismo periodo.

Todas las muestra de sangre (volumen 4 μ L) se tomaron tras una pequeña incisión en la cola del animal, sometido a una ligera anestesia inhalatoria. Las muestras de sangre fueron diluidas en 46 μ L de PBS-T (0.1M PBS, 0.05% Tween 20, pH 7.4) y almacenadas a -80°C hasta su uso posterior para la determinación hormonal de LH mediante ELISA (del inglés Enzyme-Linked InmunnoSorbent Assay). Tras la recuperación de los animales del último ensayo, los cerebros de éstos se perfundieron con paraformaldehído (PFA 4 %) para posteriores análisis de colocalización entre el receptor hM3Dq (asociado a la proteína reportera mCherry) y las neuronas Kiss1 (asociadas a la proteína reportera GFP), mediante inmunohistoquímica. Esto nos permitió cuantificar el porcentaje de neuronas Kiss1 que co-expresan hM3Dq y correlacionarlo con la respuesta de LH a la inyección de CNO.

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 16. Efecto sobre la secreción de LH de la activación farmacogenética de las neuronas Kiss1 del núcleo arcuato

Resultados.

Los análisis inmunohistoquímicos para la evaluación de la colocalización entre el receptor hM3Dq y las neuronas Kiss1 revelaron que el grado de coexpresión entre ambas proteínas, tras la inyección viral, es variable (Figura 1). En este sentido, en los animales evaluados se detectó un grado de colocalización que varió desde el 0% (no colocalización) hasta el 16%.

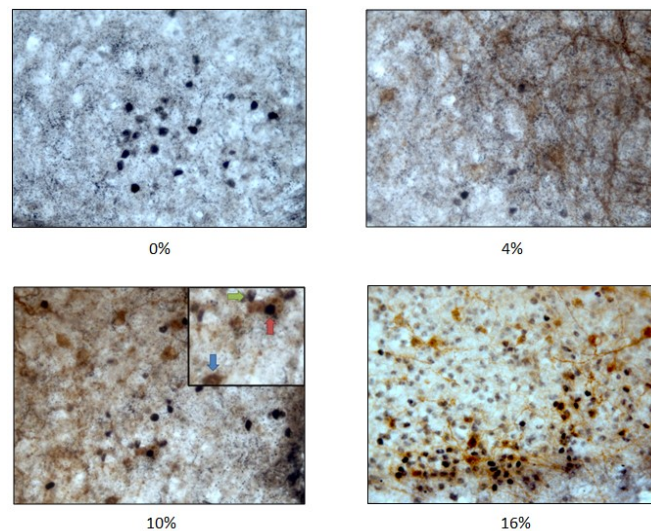


Figura 1. Fotografías representativas mostrando el núcleo ARC de cerebros con diferentes grados de colocalización entre hM3Dq y neuronas Kiss1. En la fotografía de la esquina inferior izquierda se muestra una zona ampliada indicando con flechas ejemplos de los diferentes tipos de neuronas que podemos encontrar: en rojo, neurona Kiss1-positiva que colocaliza con el receptor hM3Dq; en azul neurona Kiss1-negativa que expresa hM3Dq; y en verde, neurona Kiss1-positiva que no colocaliza con hM3Dq

Asimismo, los análisis de secreción neta de LH en respuesta a CNO (Figura 2) muestran que el grado de respuesta de LH a la activación del receptor hM3Dq por CNO es variable en función del ratón.

Curiosamente, la comparación entre el grado de colocalización de hM3Dq con neuronas Kiss1 y el incremento de la secreción neta de LH en respuesta al CNO, mostró una relación lineal entre ambas variables (Figura 3).

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 16. Efecto sobre la secreción de LH de la activación farmacogenética de las neuronas Kiss1 del núcleo arcuato

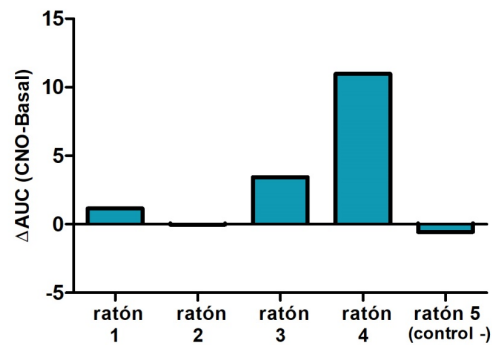


Figura 2. Estimulación de la secreción de LH en respuesta a CNO. Ésta se representa como la masa neta secretada (AUC) resultante de sustraer el AUC del perfil basal al AUC del perfil de CON

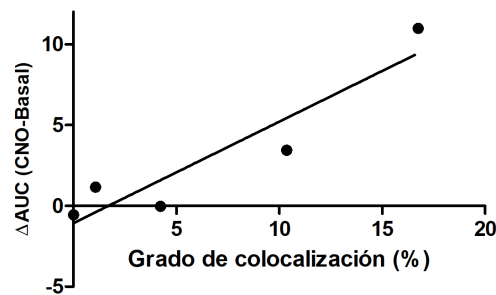


Figura 3. Representación del grado de colocalización entre *hM3Dq* y neuronas *Kiss1*. La regresión lineal con un $R^2 = 0.87$ revela la dependencia de la secreción de LH en respuesta a CNO con el grado de colocalización

Conclusión

Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran la validez del empleo de herramientas virogenéticas-farmacogenéticas para la manipulación de las neuronas Kiss1 del ARC y consecuentemente, del eje reproductor.

Bibliografía

[1] Pinilla L, Aguilar E, Dieguez C, Millar RP, Tena-Sempere M., Kisspeptins and reproduction: physiological roles and regulatory mechanisms. *Physiol Rev* 2012; 92:1235-1316

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 16. Efecto sobre la secreción de LH de la activación farmacogenética de las neuronas Kiss1 del núcleo arcuato

- [2] Navarro VM. New insights into the control of pulsatile GnRH release: the role of Kiss1/neurokinin B neurons. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2012; 3:48
- [3] Roa J, Aguilar E, Dieguez C, Pinilla L, Tena-Sempere M. New frontiers in kisspeptin/GPR54 physiology as fundamental gatekeepers of reproductive function. *Front Neuroendocrinol* 2008; 29:48-69
- [4] Rogan, S. C., & Roth, B. L. (2011). Remote control of neuronal signaling. *Pharmacological reviews*, 63(2), 291-315.

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 17. Desarrollo de un método rápido de separación para la determinación de proteínas alérgicas mediante el uso de columnas “core-shell” y extracción con nanomateriales

M^a del Valle Zurita Lozano¹, M^a de la Paz Aguilar Caballos¹ y María Ángeles Martín Santos²

Capítulo 17. Desarrollo de un método rápido de separación para la determinación de proteínas alérgicas mediante el uso de columnas “core-shell” y extracción con nanomateriales

Universidad de Córdoba. Facultad de Ciencias. ¹Departamento de Química Analítica. ²Departamento de Química Inorgánica e Ingeniería Química (Grupo RMN-271). Edificio Marie Curie. Campus Universitario de Rabanales. 14071-Córdoba. Spain. E-mail: b22zulom@uco.es

Resumen

Se presenta por primera vez el uso de nanopartículas (NPs) magnéticas recubiertas de Ag como sorbentes para la extracción en fase sólida dispersiva de β -lactoglobulinas, caseínas y albúmina de suero bovino, como analitos modelo, previamente a su determinación mediante CL rápida en fase reversa. Para la separación cromatográfica, se ha utilizado por primera vez para la separación de estos analitos, una columna C18 con tecnología “core-shell”, específica para la separación de péptidos y proteínas. Los relativamente cortos tiempos de retención han proporcionado una buena velocidad de muestreo. La detección fotométrica se realiza a 214 nm, donde absorben los enlaces peptídicos de las proteínas. Los límites de detección obtenidos son iguales o inferiores a 0.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ y los valores de precisión son aceptables, según las directrices europeas para la validación de nuevos métodos. Los resultados obtenidos en la extracción de estándares de proteínas de leche, mediante el uso de las NPs magnéticas recubiertas de plata son prometedores, ya que se obtienen valores de recuperación superiores al 75%. Esta metodología puede ser también de interés para el perfilado químico de las especies macromoleculares, fuentes principales del N orgánico presentes en residuos alimentarios y su disponibilidad como fuentes de N.

Fundamento

Las caseínas y otras proteínas de la leche, que pueden originar respuestas alérgicas en algunas personas, se determinan normalmente utilizando distintas metodologías analíticas, tales como métodos inmunoquímicos, electroforéticos y de cromatografía de líquidos. Los métodos inmunoquímicos presentan la principal ventaja de poder detectar de forma selectiva una proteína en presencia de otras. Existen diversos inmunoensayos descritos para la determinación de β -caseína [1-3], α S1-caseína [4] and β -lactoglobulina [5]. En algunos de estos métodos, la nanotecnología ha sido utilizada para disminuir los límites de detección obtenidos mediante el uso de nanopartículas de oro (AuNPs) [2], partículas magnéticas [3] o ambas simultáneamente [1] debido a su elevada relación superficie volumen. La utilización de métodos electroforéticos, tales como la electroforesis en geles de poliacrilamida (PAGE), es especialmente útil en estudios de adulteración de muestras de leche [6,7]. Esta técnica ha sido de utilidad para determinar

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 17. Desarrollo de un método rápido de separación para la determinación de proteínas alérgicas mediante el uso de columnas “core-shell” y extracción con nanomateriales

la adulteración de leche de oveja y de cabra con leche de vaca, midiendo la intensidad de las bandas de β -lactoglobulina bovina mediante PAGE nativa [6]. Esta proteína se utilizó también como marcador de adulteración en un método que utilizó SDS-PAGE con medidas densitométricas para determinar la potencial adulteración en quesos [7]. Se han descrito diversas determinaciones para la separación de proteínas lácteas mediante HPLC en fase reversa. La naturaleza de las columnas utilizadas es crucial para la separación de las proteínas y sus subunidades. Se ha utilizado, por ejemplo, una columna Júpiter C4 de 25-cm de longitud y partículas de 5 μm de diámetro para la separación de las subunidades $\alpha\text{s}1$ y $\alpha\text{s}2$ de caseína [8], consiguiéndose esta separación con el uso de columnas monolíticas [9]. En dichos métodos, los tiempos requeridos para la separación fueron relativamente largos.

La consecución de los niveles requeridos de sensibilidad es un aspecto crucial para realizar la determinación de los analitos de interés a nivel de trazas. Las técnicas de extracción constituyen una herramienta útil para mejorar la sensibilidad de un sistema y para alcanzar límites de detección relativamente bajos. El enorme avance de la nanotecnología en los últimos años ha permitido el desarrollo de una gran variedad de nanomateriales que pueden utilizarse como sorbentes en procesos de extracción. Se ha descrito, por ejemplo, que se pueden utilizar nanopartículas de Ag (AgNPs) para la extracción de proteínas con alto contenido en residuos cisteína [10], mediante una interacción reversible. No obstante, la utilización de las AgNPs puede ser problemática para conseguir una separación adecuada del sorbente y del sobrenadante del extracto proteico. La utilización de NPs con núcleos magnéticos puede permitir su fácil separación, por lo que en este trabajo se ha procedido a la síntesis de NPs magnéticas recubiertas de Ag.

Metodología

Las investigaciones realizadas se han centrado en diferentes aspectos de la síntesis de las nanopartículas y de la optimización del método cromatográfico, tales como: 1) Síntesis de NPs magnéticas recubiertas de Ag, 2) Estudio de la interacción entre las NPs y las proteínas, 3) Estudio de variables químicas para la separación cromatográfica (pH, concentración de TEA y concentración de TFA), 4) Optimización de variables hidrodinámicas (tipo de gradiente, caudal y volumen de inyección), 5) Obtención del intervalo lineal de trabajo y 6) Análisis de muestras reales.

Resultados

1. Síntesis de las NPs magnéticas recubiertas de Ag

Se realizó siguiendo un procedimiento relativamente de coprecipitación hidrotermal relativamente simple, que permite obtener cantidades elevadas de sorbente, por lo que su coste es relativamente bajo en comparación con otras NPs comerciales.

2. Optimización de las condiciones de la separación cromatográfica

Para ello, se analizaron varias variables hidrodinámicas y químicas empleando un método univariante, es decir, cambiando una variable y manteniendo constante las otras. Se ensayó la influencia de las variables hidrodinámicas sobre la separación y

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 17. Desarrollo de un método rápido de separación para la determinación de proteínas alérgenas mediante el uso de columnas “core-shell” y extracción con nanomateriales

comparando distintos programas isocráticos y lineales para conseguir una buena separación de los analitos. Los mejores resultados se obtuvieron con programas que comenzaban con un gradiente lineal y posteriormente se necesitaba una etapa isocrática debido a la similitud en el comportamiento cromatográfico de las proteínas de leche ensayadas. La influencia del caudal se ensayó en el intervalo de 0,4 - 1,5 mL min⁻¹ y se encontró que el uso de velocidades de flujo superiores a 0,5 mL min⁻¹ dificultó la separación de las proteínas. También se ensayó el volumen de inyección, ya que volúmenes mayores pueden proporcionar los métodos con mejor sensibilidad, pero los efectos de ensanchamiento de pico pueden ser muy significativos. La inyección de 100 µL, el volumen máximo del inyector automático tuvo un efecto positivo en la sensibilidad con mínimos problemas de resolución. En relación con las variables químicas, se comprobó la influencia del TFA (para la formación de pares iónicos y conseguir reducir su cola y mejorar la resolución), del pH en los dos componentes de la fase móvil, y del TEA (agente bloqueante de grupos silanol residuales de la columna para evitar la interacción fuerte de los analitos cargados positivamente) (Tabla 1).

Tabla 1.- Variables químicas estudiadas para la optimización la fase móvil acuosa

VARIABLE DE ESTUDIO	INTERVALO DE ESTUDIO	VALOR ÓPTIMO
pH	2,1 - 3	2,5
[TEA]	0 - 3 %	1,5 %
[TFA]	0 - 0,025 %	0,025 %

Los intervalos lineales obtenidos estuvieron comprendidos entre 2 y 75 para la mayoría de las proteínas ensayadas y sus límites de detección fueron iguales o inferiores a 0.5 µg mL⁻¹.

3. Interacción de las NPs y extracción de las proteínas

Una vez sintetizadas las NPs, se optimizó su interacción, comprobando que las proteínas se retenían sobre las NPs a pH próximos a la neutralidad y se utilizó un medio ácido que incluía TFA y TEA para conseguir la elución de las proteínas. Esto se logra mediante el uso de NPs magnéticas recubiertas de Ag y variando las condiciones de pH ya que la carga y la conformación de las proteínas dependen del mismo. Se ha realizado un estudio de recuperación del proceso de extracción obteniendo valores superiores al 75%. Su aplicación a la determinación en extractos lácteos ha proporcionado resultados satisfactorios.

Conclusiones

El trabajo aquí presentado describe el uso de NPs magnéticas recubiertas con Ag para la extracción de caseínas y otras proteínas alérgenas. El método permite utilizar cantidades pequeñas de NPs, lo que reduce los costes de extracción. El método de extracción en fase sólida dispersiva es una etapa previa a la separación mediante LC rápida en fase reversa, que se ha desarrollado y optimizado para la determinación de caseínas, BSA, β-lactoglobulina, soja y gliadina. La separación se realiza en aproximadamente 10

Sección 2. Ciencias exactas y naturales - Capítulo 17. Desarrollo de un método rápido de separación para la determinación de proteínas alérgicas mediante el uso de columnas “core-shell” y extracción con nanomateriales

minutos, aunque se requieren algunos minutos más para equilibrar la columna para el comienzo de un nuevo análisis. Los tiempos de retención relativamente bajos permiten un menor consumo de disolventes, lo que, en combinación con los límites de detección obtenidos, hacen de este método una buena alternativa para la detección y determinación de proteínas alérgicas y su extensión al perfilado de compuestos proteicos, ricos en N en otros extractos proteicos.

Bibliografía

- [1] Li, Y.S., Meng, X.Y., Zhou, Y., Zhang, Y.Y., Meng, X.M., Yang, L., Hu, P., Lu, S.Y., Ren, H.L., Liu, Z.S., Wang, X.R. Magnetic bead and gold nanoparticle probe-based immunoassay for β -casein detection in bovine milk samples, *Food Chemistry, Biosens. Bioelectron.* 66 (2015) 559 – 564.
- [2] Zhou, Y., Song, F., Li, Y.S., Liu, J.Q., Lu, S.Y., Ren, H.L., Liu, Z.S., Zhang, Y.Y., Yang, L., Li, Z.H., Zhang, J.H., Wang, X.R. Double-antibody based immunoassay for the detection of β -casein in bovine milk samples. *Food Chem.*, 141 (2013) 167 – 173.
- [3] Song, F., Zhou, Y., Li, Y.S., Meng, X.M., Meng, X.Y., Liu, J.Q., Lu, S.Y., Ren, H.L., Hu, P., Liu, Z.S., Zhang, Y.Y., Zhang, J.H. A rapid immunomagnetic beads-based immunoassay for the detection of β -casein in bovine milk. *Food Chem.* 158 (2014) 445 – 448.
- [4] Muller-Renaud, S., Dupont, D., Dulieu, P. Development of a biosensor immunoassay for the quantification of α S1-casein in milk. *J. Dairy Res.*, 72 (2005) 57 – 64.
- [5] Ruiz-Valdepeñas Montiel, V., Campuzano, S., Conzuelo, F., Torrente-Rodríguez, R.M., Gamella, M., Reviejo, A.J., Pingarrón, J.M. Electrochemical magnetoimmunosensing platform for determination of the milk allergen β -lactoglobulin. *Talanta.* 131 (2015) 156 – 162.
- [6] Pesic, M., Barac, M., Vrvic, M., Ristic, N., Macej, O., Stanojevic, S. Qualitative and quantitative analysis of bovine milk adulteration in caprine and ovine milks using native-PAGE. *Food Chem.*, 125, (2011) 1443 – 1449.
- [7] Magenis, R.B, Prudêncio, E.S., Molognoni, L., Daguer, H. A control method to inspect the compositional authenticity of minas frescal cheese by gel electrophoresis. *J. Agr. Food Chem.*, 62 (2014) 8333 – 8339.
- [8] Bonizzi I, Buffoni JN, Feligini M. Quantification of bovine casein fractions by direct chromatographic analysis of milk. Approaching the application to a real production context. *J Chromatogr A.* 2009 Jan 2;1216(1):165-8
- [9] P. Ramírez-Palomino, J.M. Fernández-Romero, A. Gómez-Hens. Rapid chromatographic determination of caseins in milk with photometric and fluorimetric detection using a hydrophobic monolithic column. *Food Chem.* 142 (2014) 249 – 254.
- [10] Siriwardana, K., Wang, A., Gadogbe, M., Collier, W.E., Fitzkee, N.C., Zhang, D. Studying the effects of cysteine residues on protein interactions with silver nanoparticles. *J. Phys. Chem. C*, 119 (2015) 2910 – 2916.

Ciencias sociales, económicas y jurídicas

Teresa Arrebola Gómez*, Manuel Mora Márquez, Jorge Alcántara Manzanares

Capítulo 18. Ciencia-Escuela Primaria

Universidad de Córdoba. Facultad de Ciencias de la Educación. Departamento de Didáctica de las Ciencias Sociales y Experimentales.

*Dirección: Avda. San Alberto Magno, s/n. 14014 Córdoba. *E-mail: teresa.arrebola95@gmail.com*

Resumen

Hoy en día, las ciencias han quedado relegadas a sólo dos materias dentro del currículum educativo de Educación Primaria en la mayoría de nuestros centros, pero ¿debería ser esto así? El proyecto “Ciencia-Escuela Primaria” trata poner en valor estas materias, situándolas como piezas clave a partir de las cuales trabajar el currículo de la etapa en su conjunto. Este proyecto tiene como objetivo principal mejorar el proceso de enseñanza-aprendizaje en general y de las ciencias en particular. Para ello se pretende potenciar la investigación, incentivando a aquellas escuelas que cumplan con los requisitos de calidad necesarios para recibir el marchamo de Ciencia-Escuela. Dichos requisitos de calidad están relacionados tanto con la formación del profesorado, como la existencia en el centro de instalaciones adecuadas para la experimentación, un número mínimo de horas de uso de las mismas, la creación y puesta en práctica de protocolos de experimentación adaptados a la etapa educativa, etc.

A través de este proyecto de colaboración se pretendía sentar las bases para realizar un proyecto piloto de puesta en práctica de la idea de Ciencia-Escuela en centros de Educación Primaria. A lo largo del curso pasado, se realizaron dos experiencias en un centro de la capital cordobesa, cuyos resultados se muestran en el desarrollo.

Fundamentos, metodología, presentación de resultados y conclusiones

A menudo, los alumnos encuentran dificultad en el aprendizaje de ideas expuestas en las clases de ciencias. En ocasiones, el profesorado emite una idea que el alumnado acepta. Sin embargo, el alumnado piensa diferente y, por tanto, lo entiende a su manera, creándose así un gran número de confusiones.[2]. Una manera de paliar este problema es enseñar desde la práctica, desde la experimentación.

La idea de este proyecto es que las ciencias tengan un nuevo valor dentro de nuestros centros educativos, hacer que el aprendizaje sea más significativo para el alumnado a través de la manipulación y el descubrimiento por sí mismos, a través de la curiosidad[1]. Autores, como Mellado [3] piensan que motivar al alumnado a través de sus intereses es de vital importancia para conseguir un mejor proceso enseñanza-aprendizaje y con este proyecto perseguimos llegar al alumnado a través de algo que suele llamar mucho la atención a los más pequeños: la manipulación y la experimentación.

Sección 3. Ciencias sociales, económicas y jurídicas - Capítulo 18. Ciencia-Escuela

Primaria

A través de investigaciones como la realizada por Costa &Dorrío [1], queda demostrado que los niños que han sido instruidos de forma exclusivamente verbal se han encontrado dificultades en la comprensión de ciertas actividades. Sin embargo, esta misma investigación demuestra que los niños que aprenden a través de actividades manipulativas adquieren todas las competencias de forma hábil y sencilla. [4].

La ciencia es una actividad eminentemente práctica, por lo que la enseñanza de las ciencias debe promover la adquisición de una serie de procedimientos y habilidades de esta índole, partiendo de las más básicas hasta alcanzar las más complejas por lo que la importancia de los trabajos prácticos como actividad de aprendizaje es bastante destacable [5].

El objetivo principal de este proyecto es conseguir sentar las bases para la generación de un programa “Ciencia-escuela primaria” que sirva para mejorar el proceso de enseñanza-aprendizaje de las ciencias, además de provocar un acercamiento del alumnado a las ciencias y del propio profesorado a un aprendizaje manipulativo y más significativo.

Metodología

Para la puesta en marcha del proyecto, se han realizado unas pruebas en un centro de la capital cordobesa con alumnado de primero de Primaria, cuyo profesorado se mostró interesado en la propuesta que se les presentó.

Para el desarrollo de las experiencias, se prepararon tres puestos diferentes en los que los niños trabajarían con nosotros y en compañía del profesorado del propio centro. Para el primer puesto, se llevó una lupa con la que los niños podrían ver las diferentes partes que componen el cuerpo de diferentes bichos gracias a una colección que llevamos también para la visita. En el segundo puesto, el alumnado podría observar diferentes muestras con el microscopio, así como aprender cómo funciona y para qué sirve este objeto que, en un principio, era desconocido para ellos. Por último, llevamos un experimento en el que moveríamos un pequeño barquito de papel rompiendo la tensión superficial del agua con una gota de jabón.

Se dividió al alumnado en tres grupos para que fueran pasando por cada uno de los puestos a lo largo de las dos sesiones en las que se desarrolló la actividad. Cada alumno tuvo la oportunidad de formular hipótesis acerca de lo que iba a ocurrir en cada puesto, y se les dejó manipular y ayudar en la preparación de lo que cada uno iba a ver o experimentar. En el puesto de la lupa, cada alumno escogió un insecto o animal que quería ver a través de ella, y se hizo una breve explicación de la diferencia entre animales vertebrados e invertebrados, de manera que el alumnado crease su propio aprendizaje a través de preguntas y respuestas que se iban formulando. En el puesto del microscopio, el alumnado tuvo la oportunidad de dar rienda suelta a su imaginación para intentar adivinar qué estaban viendo a través de este instrumento nuevo que habían aprendido. En el puesto del barco, se explicó el concepto de tensión superficial de forma representativa. El alumnado debía simular ser pequeñas partículas que, unidas, apenas se movían, mientras que en el momento que se separaban un poco, tenían mayor movilidad. Después, se realizó el mismo experimento, pero esta vez de forma

“abstracta” haciendo que un barquito de papel se moviese con una sola gota de jabón sobre el agua.

Una vez todos los niños hubieron pasado por todos los puestos, volvieron a sus sitios para realizar una ficha que nos facilitara la recogida de datos para una posterior investigación. En ella debían escribir qué es lo que más les había gustado, qué habían aprendido y hacer un sencillo dibujo de la experiencia.

Análisis de datos

Gracias a las fichas que el alumnado realizó al finalizar la experiencia, se han podido analizar de forma independiente las dos preguntas en las que podían darnos “feedback” para posteriores visitas, y datos que recoger para una posterior investigación.

Decidimos analizar de forma independiente los datos recogidos para la primera pregunta “¿Qué es lo que más te ha gustado?”, de manera que pudiesen recogerse en diferentes categorías los datos acerca de qué es lo que más había gustado al alumnado y representarse en un gráfico de forma más explícita. Dicha representación de datos puede observarse en la figura 1.

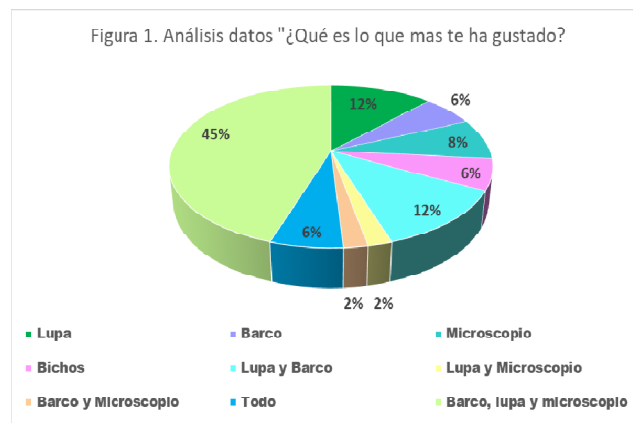


Figura 1. Frecuencia de las categorías de respuesta del alumnado a la pregunta “¿Qué es lo que más te ha gustado?”

Como se puede observar, todos los alumnos contestaron de manera positiva a la pregunta que se les formuló. Igualmente, se puede observar como una gran parte del alumnado encuestado respondió que le había gustado todo lo que se había realizado en la experiencia (45% Barco, lupa y microscopio y 6% Todo). Sin embargo, el resto de alumnos, prefirieron comentar qué puesto les había gustado más de forma específica. Del mismo modo se analizó la pregunta “¿Qué has aprendido?”. Se establecieron una serie de categorías para sacar conclusiones de forma más sencilla y se representaron en un gráfico al igual que en la pregunta anterior (Figura 2).

Al igual que en la pregunta anterior, todas las respuestas fueron afirmativas, con lo que podemos decir que el alumnado aprendió nuevos conceptos o afianzó lo que ya tenía a través de las distintas actividades que se realizaron. En esta pregunta, se han dado

Sección 3. Ciencias sociales, económicas y jurídicas - Capítulo 18. Ciencia-Escuela Primaria

grandes diferencias entre las respuestas de los niños. Hemos podido ver desde respuestas tan simples como “Barcos” a otras más elaboradas como “Que el barco se mueve rompiendo las bolitas del agua”. Ante una misma experiencia, algunas de las respuestas denotan la elaboración de un pensamiento complejo. En la categoría “Otras”, encontramos respuestas de diversa índole como por ejemplo “A tener cuidado con las cosas de la ciencia”. Esto también nos permite concluir que mediante esta actividad se adquieren contenidos procedimentales.

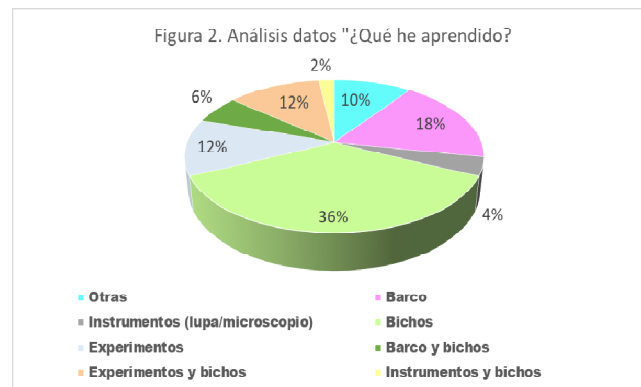


Figura 2. Frecuencia de las categorías de respuesta del alumnado a la pregunta “¿Qué has aprendido?”

Los experimentos son esenciales para la enseñanza de las Ciencias, haciendo que los niños y niñas muestren una mayor motivación y curiosidad por lo que están aprendiendo. Para un aprendizaje significativo es necesario partir de las ideas previas del alumnado, que los experimentos sean atractivos, a la vez que sencillos y cercanos.

Bibliografía

- [1] M.D. Costa, B.V. Dorrío, Actividades manipulativas como herramienta didáctica en la educación científico-tecnológica (2010).
- [2] R. Osborne, P. Freyberg, *El aprendizaje de las ciencias: influencia de las " ideas previas" de los alumnos* (1991) Vol.121.
- [3] Mellado Jiménez, V. Concepciones y prácticas de aula de profesores de ciencias, en formación inicial de primaria y secundaria. *Enseñanza de las Ciencias*, 14(3), 289-302.(1996).
- [4] Cárdenas, G. M. Análisis de las interacciones maestra-alumnos durante la enseñanza de las ciencias naturales en primaria. *Revista Mexicana de Investigación Educativa*, 9(22), 721-745. (2004).
- [5] Caamaño, A., Carrascosa, J., & Oñorbe, A. (1992). Los trabajos prácticos en ciencias experimentales. *Aula de innovación educativa*, 9, 61-68.

Sección 3. Ciencias sociales, económicas y jurídicas - Capítulo 19. La vida cotidiana cordobesa en tiempos del cardenal Salazar según su documentación notarial: primeros avances

Autora: María Paloma Enríquez García

Directora y tutora: Profesora Dra. Dña. María Soledad Gómez Navarro

Capítulo 19. La vida cotidiana cordobesa en tiempos del cardenal Salazar según su documentación notarial: primeros avances

Universidad de Córdoba. Facultad de Filosofía y Letras de Córdoba. Departamento de Historia Moderna, Contemporánea y América.

Dirección: Plaza del cardenal Salazar, 3, 14003, Córdoba. E-mail: l22engam@uco.es / hi1gonas@uco.es

Resumen

Pretendemos con este trabajo, fruto de una Beca Semillero II, aval de nuestro Trabajo Fin de Máster, estudiar la vida cotidiana de la sociedad cordobesa coetánea al cardenal Salazar como avance en la redacción de su biografía. Si con el Trabajo Fin de Grado desvelamos sus relaciones con su cabildo catedral durante tres años de su obispado, con esta investigación nos planteamos estos objetivos: conocer y discernir culturas material e inmaterial de la Córdoba del cardenal Salazar para el año guía 1700 -tanto por la ingente cantidad de documentación recogida en los archivos a este respecto como por encontrarnos en plena maduración de su pontificado, con todo lo que ello implica en conocimiento de tradiciones, costumbres y mentalidad, usos, interiorización o aplicación social y significados de la sociedad cordobesa de aquel tiempo-, valorar dichas expresiones o manifestaciones culturales sobre las bases de una prolija documentación notarial, centrada monográficamente en cartas de dote e instrumentos última voluntad, de la que hemos tratado desentrañar relevancia y sentido de objetos indicativos de cotidianidad y examinar desde la Historia Social cultura material e inmaterial según determinados factores como sexo y nivel socioprofesional y de renta.

Fundamentos

Dada la ingente cantidad de documentación consultada, lo que en principio concebimos como un estudio diacrónico de este campo en tres años testigos como son 1690, 1700 y 1710, ha pasado a ser el referido análisis y estudio patrimonial de la Córdoba del cardenal Salazar para el año tipo de 1700 precisamente como año bisagra entre el Seiscientos y el Setecientos, y en la madurez de la prelatura del mencionado eclesiástico. En consonancia con ello, los fundamentos de este trabajo se resumen en: radiografiar rasgos que por lo general pasan inadvertidos de la estamental sociedad cordobesa de comienzos del siglos XVIII teniendo como enmarque indispensable de contexto su cotidianidad, diferenciar entre los elementos conformantes de cultura material e inmaterial y patentizar su incidencia en comportamientos y devenir de la sociedad cordobesa de tiempos del cardenal Salazar y desentrañar a través de dichos elementos mentalidades y actitudes ante la familia, los amigos, la Iglesia, la muerte, el

Sección 3. Ciencias sociales, económicas y jurídicas - Capítulo 19. La vida cotidiana cordobesa en tiempos del cardenal Salazar según su documentación notarial: primeros avances

sexo, lo trascendente, lo banal, lo extraordinario y lo cotidiano como manifestaciones, expresiones y contenidos culturales para el estudio de la Historia Moderna.

Metodología

La metodología empleada en la elaboración de este trabajo se ha regido por criterios cuantitativos y cualitativos -porque la documentación notarial es muy seriada y seriable, lo que permite agrupar por series y cuantificar para establecer regularidades-, o dicho de otro modo, dos son los pilares en los que este estudio se basa: fuentes primarias y secundarias, con su pertinente análisis.

Dentro de la primera categoría, tan fundamental para esta investigación archivística inédita, están los protocolos notariales circunscritos al año 1700, conservados en el Archivo Histórico Provincial de Córdoba, recopilados y fotografiados desde diciembre de 2016 hasta julio de 2017. Éstos serán debidamente citados tanto en el cuerpo del trabajo como en su pertinente sección. De ellos incidiremos en dos clases de documentos como enmarques indispensables de contexto para la reconstrucción de la vida cotidiana en la Córdoba del Setecientos cuales son cartas de dote y documentos de última voluntad. Diseccionando dichos protocolos desde una perspectiva global, vemos que es mayor el número de testamentos que de cartas de dote y, grosso modo, ambas tipologías documentales se estructuran en:

1. Una introducción, en la que, tras las debidas invocaciones religiosas que obedecen a la arraigada mentalidad religiosa del momento, se presentan los otorgantes de dote y los testantes. En algunos documentos se escribe también en esta parte el nombre del notario pero no es lo más habitual, en tanto que esto aparece al final. También se puede hacer alusión a lugar y fecha en que el escrito se redacta y firma pero lo más frecuente es, igualmente, que estos datos consten al final.
2. Un cuerpo textual donde se procede a la redacción de las cartas dotes o bien de los testamentos. En el caso de las primeras, lo que inicialmente se ve es quién otorga la escritura -no olvidemos que para que la mujer pueda hacer en la Edad Moderna esta clase de escritos, debe contar con autorización ya sea de su padre ya sea de su marido- y después se procede a relatar los objetos que la mujer aporta al matrimonio o al convento -pues las dotes son imprescindibles tanto para el casamiento como para la profesión religiosa-, estableciéndose, como veremos más adelante, diversas categorías clasificatorias de dichos bienes y objetos. En lo concerniente al segundo se comienza con cláusulas declaratorias - que abarcan todo el preámbulo hasta la mortaja y que son menos sensibles a los factores sociales del sexo y del nivel socioprofesional y de renta- y decisorias o dispositivas -desde la mortaja en adelante, incluyendo cláusulas religiosas y profanas y la parte más reactiva a los factores diferenciales del sexo, nivel socioprofesional y de renta y también de la evolución a lo largo del año de 1700 dado el carácter sincrónico de nuestro trabajo-.
3. Una parte final en la que se data y firma el documento en cuestión tanto por el notario como por los otorgantes. En determinados casos se sella, pudiendo suponer un encarecimiento del coste de la escritura.

Sección 3. Ciencias sociales, económicas y jurídicas - Capítulo 19. La vida cotidiana cordobesa en tiempos del cardenal Salazar según su documentación notarial: primeros avances

En la segunda categoría se adscribe bibliografía general y específica del tema que nos ocupa. La primera nos ha permitido contextualizar el tema que investigamos de la mano de autores como Aranda Doncel o Domínguez Ortiz y la segunda nos ha revelado importantes claves de las escrituras a analizar y su relevancia dentro de las Historias social, mental y cultural -Aranda Doncel, Chaunu, D'Aumard, Domínguez Ortiz, Garrido Flores, Gómez Navarro o Sarti-.

Resultados

La vida cotidiana en la Edad Moderna es un tema tan fascinante como amplio por abarcar áreas de conocimiento como Historia de las Mentalidades y Costumbres, Sociología, Psicología, entre otros ejemplos, todo lo cual está enfocado a reconstruir desde su pertinente ámbito tan compleja como sugerente temática que, de la mano de nuestro Trabajo Fin de Máster se concreta, como ya hemos señalado en examen y explicación de cómo vive e interactúa en el día a día la sociedad cordobesa en el ecuador del pontificado de don Pedro de Salazar y Arciniega y Gutiérrez de Toledo, más conocido como el obispo - cardenal Salazar, que vive a caballo entre dos siglos como son el XVII y el XVIII y que ejerce su prelación en Córdoba entre 1686 y 1706. Pese a encontrarnos en pleno proceso de redacción de nuestro referido Trabajo Fin de Máster, titulado Cultura material e inmaterial en la Córdoba del cardenal Salazar desde la Historia Social-, los resultados que en la actualidad podemos desvelar son los siguientes, a saber:

1. Escasa representatividad de las cartas de dote frente al grueso de protocolos notariales del Archivo Histórico Provincial de Córdoba. Si para el año de 1700 las 43 notarías cordobesas registran un total de 5518 escrituras (100%), de ese total 151 (2,74%) son cartas dotales. La presencia de los escritos de últimas voluntades es bastante mayor -de 5518 escrituras (100%), 216 (3,91%) dada la arraigada noción que en la sociedad moderna se tenía sobre la muerte, materializándose esto en el desempeño de una serie de actitudes, comportamientos y acciones dentro de los que se incluyen la generación de escritos de esta clase.
2. De las cartas de dote, oscilación en la tasación de los objetos que en ellas constan en virtud de la posición socioeconómica de la dotante, lo que se hace notar también en la variable extensión de dichos documentos. Algunas cartas de esta naturaleza escritas en 1700 abarcan 11 folios frente a otras, paupérrimas, que no llegan ni a 2, lo que creemos es bastante ilustrativo de lo que acabamos de comentar.
3. Mayor volumen de cartas de dote de mujeres con vistas de casarse que para entrar de religiosas, lo que no es sinónimo de escasez de monjas -pues abunda la ciudad en conventos-, sino, quizá, de una menor presencia de esta tipología de cartas en los libros de protocolos notariales civiles. Con independencia a que las dos grandes categorías de cartas de dote ya sea para la mujer poder casarse o ingresar en un convento, se pueden encontrar otros escritos que tienen que ver con esta temática como son devoluciones dotales con consiguiente cancelación

Sección 3. Ciencias sociales, económicas y jurídicas - Capítulo 19. La vida cotidiana cordobesa en tiempos del cardenal Salazar según su documentación notarial: primeros avances

matrimonial o renunciadas a las mismas, si bien es verdad que son muy infrecuentes de encontrar este tipo de documentos.

4. Concepción de los testamentos como una forma de contemplación de la muerte amén de considerarse una cadena de acción -reacción y un ritual a cumplir que debe tenerse en mente y valorarse no solo en su redacción sino también en sentimiento, expresión y comprensión en la imagen global que el individuo forma en su mente ante la evidencia de su fin. Esto no podría entenderse si no es por la arraigada mentalidad sacra existente en la sociedad del momento y la férrea concienciación que en ella se tiene de la muerte, lo que la Iglesia alimenta.
5. Diversidad de estados de la persona a la hora de testar. Es raro que el testamento se redacte en salud, pero se puede hacer, así como ante un viaje largo e incierto. Lo más lógico es que se haga estando la persona enferma y a las puertas de la muerte. En cualquier caso el testador debe estar en posesión de sus plenas facultades mentales de cara a la validez de lo que escriba.

Conclusiones

La primera consideración final a tener presente es la consideración de cartas dotalas y escritos de últimas voluntades como fuentes de gran relevancia del estudio de la Historia Social y de las Mentalidades, y por ende de una interesante parcela de la Historia Moderna. La segunda es la necesidad de ahondar en la reconstrucción de modos de vida y costumbres de la sociedad cordobesa de 1700 como factor de vital importancia para comprender actitud, forma de pensar y labor episcopal del cardenal Salazar. Como probamos en nuestro Trabajo Fin de Grado, al cabildo catedralicio cordobés acuden personas de los distintos estamentos sociales que exponen una serie de problemas que el cabildo en connivencia con su prelado debe solucionar. Tales problemas son, indudablemente, fruto palpable de mentalidad y cotidianidad de aquel tiempo y, a raíz de lo que a lo largo de los años quien escribe estas líneas ha podido comprobar, su solución está en muy buena medida en el enfoque y capacidad de comprensión que la Iglesia cordobesa con su obispo a la cabeza trata de ejecutar.

Bibliografía

- [1] M. Barrio Gozalo, *El clero en la España moderna*, Caja de Ahorros del Monte de Piedad de Córdoba - CSIC, Córdoba, (2010).
- [2] M. P. Enríquez García, “El cardenal Salazar y su cabildo catedral: primeras aportaciones, A. Marinas Aramendia (ed.), *Investigando por un futuro mejor*, Córdoba, Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba, (2016).
- [3] A. Garrido Flores, *La casa en la Córdoba moderna: Una Historia Social de lo cultural*, Córdoba, en prensa, (2017).
- [4] S. Gómez Navarro, *Una elaboración cultural de la experiencia del morir*, Córdoba, Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba, (1998).

Sección 3. Ciencias sociales, económicas y jurídicas - Capítulo 20. Conexiones normativas entre la Ley de Competencia Desleal y la Ley de Defensa de la Competencia: Aproximación a la teoría de los puentes

Pedro Mario González Jiménez

Capítulo 20. Conexiones normativas entre la Ley de Competencia Desleal y la Ley de Defensa de la Competencia: Aproximación a la teoría de los puentes

Universidad de Córdoba. Facultad de Derecho y CCEE. Departamento de Derecho Público y Económico.

Dirección: Avd. Libia N°40 (Casa), 14014. E-mail:d12gojip@uco.es

Resumen

Este trabajo tiene por propósito analizar los interrogantes que plantean las interacciones entre el Derecho de Defensa de la Competencia y la Competencia Desleal. En primer lugar se realizan unas consideraciones previas con una finalidad de fijación del marco conceptual. Posteriormente, se aborda la aplicación del art. 3 de la Ley de Defensa de la Competencia. En ésta materia, se ofrece el encuadre de dicho ilícito en nuestro actual Ordenamiento a modo de introducción. Seguidamente se expone la problemática de los elementos que conforman su estructura tipológica: comisión de un acto de competencia desleal, falseamiento de la libre competencia y afectación del interés público. Todo ello a la vista de recientes pronunciamientos de las autoridades antitrust. Más tarde, encontramos una tercera cuestión que versa sobre el art 15.2 de la Ley de Competencia desleal. Se tratará la interpretación doctrinal mayoritaria a la par que sus obstáculos y una alternativa interpretativa. A continuación se aborda su relación con las conductas de menor importancia y la posibilidad de servir de presupuesto para la comisión del falseamiento de la libre competencia por actos desleales. Finalmente, se exponen una serie de conclusiones que supondrán una valoración del trabajo realizado.

Fundamento

Las conexiones que presentan las leyes de la competencia son: Por un lado el art. 3 de Ley de Defensa de la Competencia (LDC), que liga con la deslealtad por ser precisamente la comisión de un acto de competencia desleal uno de sus presupuestos. Y por otro el art. 15.2 de la Ley de Competencia Desleal (LCD), que enlaza deslealtad y ley antitrust en tanto que la misma se considera norma concurrencial cuya violación entraña un ilícito de deslealtad.

En primer lugar respecto del art. 3 LDC -falseamiento de libre competencia por actos desleales-, se han de buscar 3 requisitos en el ejercicio de subsunción: comisión de un acto de competencia desleal, falseamiento de la libre competencia y afectación del interés público.

Para estudiar la comisión de un acto de competencia desleal se debe acudir a la LCD porque la legislación antitrust no establece un concepto propio. No obstante, eso no

**Sección 3. Ciencias sociales, económicas y jurídicas - Capítulo 20. Conexiones
normativas entre la Ley de Competencia Desleal y la Ley de Defensa de la
Competencia: Aproximación a la teoría de los puentes**

implica que el artículo sea una mera intención de otorgar legitimidad al Consejo, como es señalado en las resoluciones LOOMIS PROSEGUR o ENDESA ICP. Sin embargo, sendas resoluciones contradicen expresamente el modus operandi del propio Consejo, pues según sus propias palabras, “el órgano de instrucción debe analizar, antes que nada, la concurrencia del presupuesto de la afectación al interés público.” Lejos de esto, analiza primero y exclusivamente la concurrencia de un acto de competencia desleal. Con esta praxis alcanza más sentido que nunca concibir la deslealtad como un *posterius* y no como un *prius*, ya que “todo acto con fines concurrenciales que falsee la competencia y lesione el interés público habría de ser calificado como desleal a la luz de la LCD, y en particular, de la cláusula general de la buena fe” [1]. Con este planteamiento la Comisión Nacional de los Mercados y la Competencia quedaría liberada para actuar con absoluta independencia respecto de la Jurisdicción ordinaria y en concreto, respecto de la aplicación que haga de la LCD. Se evitarían así la privatización del enjuiciamiento antitrust y los pronunciamientos contradictorios entre Administración y Tribunales. Además, no habría lugar a Resoluciones con diferentes modus operandi, algo recomendable en pos de la seguridad jurídica.

Pasando a analizar el falseamiento de la competencia, se encuentran dos complicaciones: La primera es el hecho de que en ocasiones se presenta indiferenciado de la afectación del interés público – convirtiendo ambos elementos del tipo en uno solo– y la segunda, que a veces es requerido un cierto grado de intensidad del falseamiento concurrencial. Esto es así pese al cambio legislativo que el art. 3 experimentó con respecto al vetusto art. 7, por el cual se omite toda referencia a la sensibilidad de la práctica como elemento configurador del tipo. Ejemplo de la primera complicación tenemos la resolución APARATOS ELEVADORES en la que se observa como los fundamentos para determinar la afectación al interés público son los mismos que fundamentan el falseamiento de la competencia, mientras que en otras como ENDESA SUR o IBERDROLA SUR sí que se diferencian claramente. Por su parte, como ejemplo de la segunda tendríamos la resolución ENDESA ICP, en la que se deduce que solo cuando las consecuencias sean graves se podrá hablar de falseamiento de la competencia. Para solventar ambos problemas existe una propuesta interpretativa que parte de la base de que no todo acto desleal falsea la competencia [2] y de que además no es casualidad que la supresión de un cierto grado de intensidad en el falseamiento de la competencia coincida en el tiempo con la nueva configuración de la regla de *minimis*. Así, el art. 3 LDC sería aplicable sólo a aquellos casos en que sí se falsee la competencia y no en todos los demás, quedando bien diferenciado de la afectación del interés público. Además, si atendemos al art 5 LDC vemos que éste sería un filtro muy importante a la hora de sancionar conductas. El elemento cuantitativo vendría definido ex art. 3 LDC por su relación con el art 5 LDC y debería ser enjuiciado sobre la base del mismo, no como adjetivo calificativo del falseamiento [3]. Su utilización en la aplicación del art. 3 LDC traería dos beneficios: Por un lado para el operador jurídico, pues sabría bien a que reglas acudir para valorar la significación. Por otro, para el propio concepto de conducta de menor importancia, pues el ser partícipe de la casuística del precepto ayudaría a su determinación.

**Sección 3. Ciencias sociales, económicas y jurídicas - Capítulo 20. Conexiones
normativas entre la Ley de Competencia Desleal y la Ley de Defensa de la
Competencia: Aproximación a la teoría de los puentes**

Por último sobre el art. 3 LDC, en lo que concierne a la afectación del interés público en su delimitación positiva, la Comisión Nacional de los Mercados y la Competencia se alejó de la pauta interpretativa del antiguo Tribunal de Defensa de la Competencia. Ahora viene identificándola con situaciones concretas, como se observa en IBERDROLA y ENDESA SUR, donde se traspasan contratos desde la comercializadora de último recurso hasta la comercializadora en mercado libre, sin recabar el consentimiento expreso del consumidor. En ambas, la autoridad administrativa atiende al momento especialmente sensible -la liberalización del mercado-, y al bien afectado para decretar la afectación al interés público. En IBERDROLA SUR el Consejo incluso la examina sobre la base del “contexto jurídico y económico en el que se produce la conducta imputada”. Curiosamente, estos aspectos son utilizados en el Reglamento de Defensa de la Competencia en el art. 3 “como criterio a tener en cuenta para determinar si las conductas son aptas para afectar de manera significativa a la competencia”. Por otro lado, en la resolución GAS NATURAL 2011 se sanciona el envío de cartas denigrantes a parte de sus clientes, con la finalidad de disuadir cambios de suministrador. Ello afectó al interés público habida cuenta de quién la remite -el antiguo monopolista-, así como su alcance millonario respecto de los consumidores y competidores.

En segundo lugar respecto del art. 15.2 LCD –violación de normas concurrenciales-, la doctrina mayoritaria lo concibe como un ilícito mixto sujeto al control de la jurisdicción ordinaria y resalta su funcionalidad para reprimir conductas de menor importancia. Desde esta perspectiva el art. 15.2 LCD sería reflejo del art 3. LDC. Sin embargo, según una interpretación alternativa a diferencia de la LDC, ley especial que por dicho carácter requiere de una norma como el art. 3 LDC, la LCD no necesita ninguna norma para que el Juez pueda conocer de los comportamientos concurrenciales aunque estos sean antitrust. Sería suficiente con acudir a los artículos delimitadores de su ámbito de aplicación para ver que los ilícitos antitrust entran en el mismo y que por tanto para tal enjuiciamiento contaría el Juez con la cláusula general del art. 4 LCD y las cláusulas especiales, exceptuada la del art. 15.2 LCD. Es sabido que los cambios legislativos alteraron la naturaleza de las conductas de menor importancia, que pasan de ilícito antitrust a comportamiento lícito [4]. Como la posición mayoritaria presupone que dichas conductas infringían la normativa antitrust y ya no ocurre así, no pueden ser sancionadas vía art. 15.2 LCD. Ello no implica indefensión porque queda la cláusula general y las específicas, dada la relación existente entre la LCD y la LDC. Por otro lado, ejercer de forma acumulada tipos específicos, como el artículo 15.2 LCD, con la cláusula general está proscrito por nuestra doctrina jurisprudencial. Por ello es más recomendable enjuiciar la deslealtad mediante la LCD sin recurrir a la LDC. No hay necesidad de suplantar el juicio de deslealtad por otro antitrust.

Por último, en cuanto al ilícito desleal de la violación de normas concurrenciales como presupuesto del falseamiento de la competencia por actos desleales, decir que cada vez que se constata un ilícito de los art. 1 o 2 de la LDC, se está constatando de facto el primer requisito del art. 3 LDC. Además, si recordemos que a veces no se diferencia con claridad la sensibilidad del falseamiento de la libre competencia o de la afectación del interés público, dado que el comportamiento que es sancionado lo es por ser de

**Sección 3. Ciencias sociales, económicas y jurídicas - Capítulo 20. Conexiones
normativas entre la Ley de Competencia Desleal y la Ley de Defensa de la
Competencia: Aproximación a la teoría de los puentes**

mayor importancia –pues de lo contrario no hay ilícito antitrust–, los demás requisitos se dan de forma casi automática.

Presentación de resultados

1. Las resoluciones de la autoridad antitrust no muestran unos criterios uniformes que permitan alcanzar una interpretación cerrada del precepto. En concreto, debe hacerse hincapié en que el primer elemento a enjuiciar sea la afectación del interés público.
2. La sensibilidad del falseamiento de la competencia ya no es una exigencia a constatar en la subsunción del supuesto de hecho en la norma, más bien su ausencia supondría una circunstancia que motivaría la inaplicación de la prohibición vía art. 5 de la LDC.
3. Es pertinente mantener el art 3, aun en contra de parte de la doctrina, por cuatro cuestiones: Su virtualidad teórica como cláusula de cierre del sistema de defensa de la competencia, su carácter abierto que puede concebirse como una oportunidad, su probado pragmatismo ya que se ha mostrado eficaz para sancionar conductas llevadas a cabo en mercados sectorialmente regulados y por último, su coherencia con respecto al modelo económico constitucional, pues se muestra respetuoso con la libre competencia inherente al liberalismo pero también se preocupa por un aspecto más social, en tanto que atiende a la deslealtad como elemento configurador.
4. Carece de lógica la automaticidad producida en lo que a violación de normas concurrenciales como presupuesto del art. 3 LDC se refiere. Para esto se plantean dos soluciones: Diferenciar la sensibilidad de una conducta de los requisitos del art. 3 LDC o reconocer la disfuncionalidad de concebir el art 15.2 como mecanismo para sancionar comportamientos antitrust.
5. La relación existente entre ley general y ley especial, desaconseja ver en el art. 15.2 LCD un reflejo del art 3. LDC. No es necesario crear un puente para establecer la coherencia del Derecho de la competencia. Es necesaria una carretera en un solo sentido, para que la autoridad antitrust pueda conocer de supuestos que con origen desleal, tienen efectos antitrust. El Juez ordinario por su parte ya cuenta con infraestructuras necesarias para llegar a buen destino, pues siempre podrá conocer de los supuestos antitrust que entrañen un desleal.

Bibliografía

- [1] FONT GALÁN, J.I. y MIRANDA SERRANO, L.M., *Competencia desleal y antitrust. Sistema de ilícitos*, Marcial Pons, Madrid, 2005, pp.82.
- [2] GARCÍA PÉREZ, R., “Falseamiento de la libre competencia por actos desleales e infracción de normas que tienen por objeto la regulación de la actividad concurrencial (a propósito de la resolución del Consejo de la CNC de 24 de febrero de 2012, Iberdrola Sur)”, en *Revista de Derecho de la Competencia y la Distribución*, Nº 11, Sección Comentarios de jurisprudencia, La Ley, 2012, pp. 229-252.
- [3] MARCOS, F. “La exigencia de sensibilidad del falseamiento de la competencia en la LDC. Notas a Propósito de problemática puesta de manifiesto por la STS de 29 de

Sección 3. Ciencias sociales, económicas y jurídicas - Capítulo 20. Conexiones normativas entre la Ley de Competencia Desleal y la Ley de Defensa de la Competencia: Aproximación a la teoría de los puentes

enero de 2008”, en *Diario La Ley*, N° 7328, Sección Doctrina, 26 de Enero de 2010, Ref. D-26, La Ley, 2010, pp.1-10.

[4] MIRANDA SERRANO, L.M., “La regla de minimis en la Ley 15/2007, de Defensa de la Competencia, y su Reglamento de desarrollo”, en *Derecho de los negocios*, N° 216, septiembre de 2008, pp. 5-36.

Sección 3. Ciencias sociales, económicas y jurídicas - Capítulo 21. Validación de un programa para la prevención y reducción del prejuicio étnico-cultural en alumnado de segundo ciclo de Educación Primaria

Carmen María Hernández Lloret y José Luis Álvarez Castillo (Prof. tutor)

Capítulo 21. Validación de un programa para la prevención y reducción del prejuicio étnico-cultural en alumnado de segundo ciclo de Educación Primaria

Universidad de Córdoba. Facultad Ciencias de la Educación. Departamento de Educación.

Dirección: Avd. Gran Vía Parque, 19. E-mail: m32hellc@uco.es

Resumen

La investigación que se presenta a continuación, la cual se encuentra en proceso, pretende validar y comprobar la eficacia de un programa de actividades, elaborado junto a familias, profesorado y agentes sociocomunitarios, dirigido a prevenir y reducir los prejuicios que, aunque incipientes, pueda mantener la población infantil (8-10 años) de la ciudad de Córdoba hacia el colectivo de origen marroquí y, por extensión, hacia cualquier otro grupo con rasgos culturales o étnicos diversos. En particular, en la población española se han mantenido durante siglos creencias estereotipadas y actitudes de prejuicio hacia la población árabe que, a causa de diversos factores (conflictos de violencia colectiva, crisis socioeconómica, etc.), se están intensificando, por lo que resultan aún más necesarias las actuaciones preventivas desde la escuela. Las intervenciones educativas deberán responder al principio de inclusión y ser previamente evaluadas para verificar que pueden alcanzar sus objetivos. Este trabajo aporta una metodología cuasiexperimental y longitudinal para esta validación.

Fundamentos

El problema de investigación se asocia a la necesidad de analizar la coyuntura que afecta a la sociedad española y andaluza (concretamente cordobesa) ante la llegada de población inmigrante durante las dos últimas décadas, y tratar de poner fin a todo lo que se deriva de ello desde el ámbito educativo (estereotipos, prejuicios, conductas discriminatorias). Es decir, se parte del cambio sociológico de tendencia observado en España desde finales de los años 90, pasando de ser un país emisor de emigrantes a ser una potencia receptora de población extranjera [1]. Entre los nuevos desafíos que plantea esta situación queda implicado el de la atención de la diversidad intercultural, que deriva en un proceso incipiente e incesante de reflexión y búsqueda de nuevas soluciones a partir del principio más básico que figura en la Declaración de los Derechos Humanos: “todos los seres humanos nacen libres e iguales en dignidad y derechos y, dotados como están de razón y conciencia, deben comportarse fraternalmente los unos con los otros” (art. 1).

Para entrar en detalles y analizar las circunstancias que envuelven esta trama, conviene conocer la cifra actualizada de extranjeros y su principal procedencia. Esta asciende a

Sección 3. Ciencias sociales, económicas y jurídicas - Capítulo 21. Validación de un programa para la prevención y reducción del prejuicio étnico-cultural en alumnado de segundo ciclo de Educación Primaria

4.549.858, de los que 699.502 y 678.467 proceden de Rumanía y Marruecos, respectivamente. Concretamente, la población de referencia en nuestro estudio es la de origen marroquí, cuyo número de residentes en Andalucía es de 131.296, de los que 2.501 viven en Córdoba [2]. Y precisamente conviene destacar que, del número total de residentes en Andalucía, el 85,2% de niños y niñas se forman en centros públicos. El resto acude a centros concertados o privados. Las características del colectivo exogrupal (físicas, culturas, religiosas...) percibidas como escasamente afines por el grupo poblacional mayoritario, los actos aislados de violencia perpetrados por miembros del exogrupo, las tensiones socioeconómicas, las noticias o rumores que se difunden a través de los medios de comunicación en beneficio del grupo mayoritario, los comentarios despectivos realizados por agentes de socialización de la población infantil (familia, profesorado y grupo de amigos), junto con otros fenómenos de esta naturaleza, han creado el humus propicio para la proliferación de actitudes negativas (estereotipos y prejuicios) hacia la población marroquí, que ocasionalmente derivan en comportamientos discriminatorios, que finalmente perjudican la convivencia en el conjunto de la sociedad. Todo ello se vive día a día en el ámbito educativo junto a los más pequeños. De ahí surge el interés por analizar y diagnosticar el prejuicio y otras variables que lo condicionan, tales como la empatía y los valores de equidad, respeto y altruismo. En segundo lugar, el interés de la investigación radica, en caso de encontrar evidencia de categorizaciones y actitudes incipientes de prejuicio, aplicar un programa piloto de prevención y reducción del prejuicio hacia dicho colectivo y, por extensión, a la diversidad étnico-cultural en general, dirigido a niños y niñas de 2º ciclo de educación primaria (8-10). Entre los 3 y los 6 años ya se detectan actitudes negativas hacia las minorías. El debate en la literatura se establece entre dos opciones: la de aplicar el programa cuando el prejuicio comienza a desarrollarse, o bien hacerlo a edades intermedias cuando el menor va madurando como ser social. En este estudio nos posicionamos en torno a la segunda opción [3]. Si con la actuación preventiva y reductora del prejuicio se consigue establecer una relación intergrupala equitativa con metas comunes, se trabaja cooperativamente y se cuenta con el apoyo institucional y de los profesionales [4], se avanzará de manera decidida por el camino de la inclusión e igualdad de oportunidades.

Metodología

Como toda investigación se requiere de un planteamiento de objetivos, generales y específicos, que guiará en todo momento el proyecto. Estos objetivos quedan definidos así: O1. Diagnosticar la presencia de prejuicios hacia la población inmigrante procedente de Marruecos en distintos colectivos que forman parte de la comunidad educativa (a. en el profesorado y b. en el alumnado). O2. Diseñar un programa para la prevención y reducción del prejuicio (a. propuesta comunidad educativa y b. programa piloto). O3. Validar un programa en términos de reducción del prejuicio y mejora de la convivencia escolar (a. comprobar efectividad y b. verificar estabilidad). Con el fin de conseguir los objetivos previamente descritos surgen dos hipótesis que tienen que ver directamente con los fines perseguidos. Están serán comprobadas mediante diseños diversos (Véase Figura 1).

Sección 3. Ciencias sociales, económicas y jurídicas - Capítulo 21. Validación de un programa para la prevención y reducción del prejuicio étnico-cultural en alumnado de segundo ciclo de Educación Primaria

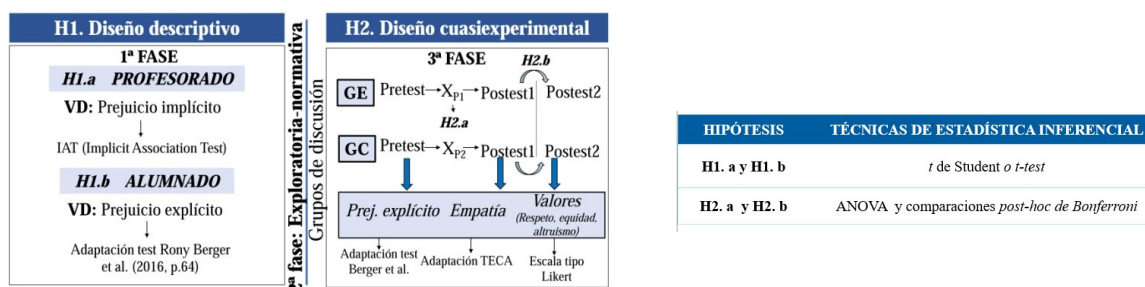


Figura 1. Elementos metodológicos y estrategias analíticas asociadas a las hipótesis generales

Concretamente, la investigación parte del paradigma positivista o cuantitativo, empleando el método hipotético-deductivo-inductivo o racionalista. Se prevé un diseño de carácter longitudinal, ya que se evaluarán los efectos de la aplicación del programa inmediatamente después de haber concluido su aplicación y 6 meses después de esta conclusión. Por último, enmarcaríamos el diseño en el paradigma de la evaluación de programas, planificando tres grandes fases para dicha evaluación: una descriptiva o exploratoria con el objeto de llevar a cabo un diagnóstico inicial en profesorado y alumnado, una segunda exploratoria y normativa o de planificación del programa piloto junto a profesorado, familias y agentes sociocomunitarios, y una última cuasiexperimental para la puesta a prueba de la efectividad del programa. Esta última fase se aplicará sobre alumnado de segundo ciclo (8-10) de Educación Primaria de un centro de la ciudad de Córdoba (Andalucía) financiado con fondos públicos, de nivel socioeconómico medio-bajo y con un mínimo de dos líneas por curso [5].

A continuación, se mencionan las variables que serán analizadas, tanto en la primera como en la tercera fase: dependientes (prejuicio, empatía y valores) e independiente (programa específico para prevenir y reducir el prejuicio). Para la medida de las variables dependientes se utilizarán instrumentos adaptados de otros autores, tal como queda reflejado en la Figura 1, así como algunos de elaboración propia para validación. En la tercera fase, surgen dos programas (experimental y placebo) y dos grupos de implementación. Por un lado, sobre uno de los grupos (control), se aplicará un programa de carácter general para la mejora de la convivencia. Por otro lado, un programa específico se aplicará única y exclusivamente sobre el alumnado que forme parte del grupo experimental (un grupo de 3º y otro de 4º). Para su diseño y planificación se ha tenido en cuenta la investigación de Berger y sus colegas [6], aunque la adaptación ha sido sustancial dado que el contexto en el que trabajan estos autores difiere ampliamente del español y andaluz. Las actividades para este programa, al margen de que estas luego se enriquezcan según lo previsto en el objetivo general número 2, se plantearán en torno a seis ámbitos o niveles de actuación: el individuo, la familia, la pertenencia a un grupo, el ambiente del colegio, la comunidad y la cultura [6], y deberán ser atractivas, dinámicas, adaptadas al nivel psicoevolutivo y garantes de contacto con el exogrupo (artísticas, dialógicas...). Cada intervención tendrá lugar una vez a la semana durante un

Sección 3. Ciencias sociales, económicas y jurídicas - Capítulo 21. Validación de un programa para la prevención y reducción del prejuicio étnico-cultural en alumnado de segundo ciclo de Educación Primaria

semestre con una duración de 90 minutos. Cada sesión quedará organizada en torno a una estructura básica de partida (véase Anexo B) que facilitará el trabajo de coordinación entre los profesionales implicados.

Resultados esperados

Una vez aplicado el programa, se prevén tanto implicaciones favorables como posibles limitaciones. Una adecuada ejecución de la propuesta, junto con los apoyos y recursos necesarios, permitirá la consecución de los objetivos preestablecidos al inicio y la verificación o refutación de las hipótesis correspondientes. Los resultados esperados se hallarán referidos, fundamentalmente, a la sensibilización en materia de equidad, respeto y altruismo hacia el colectivo vulnerable objeto de estudio (población marroquí) y, por extensión, a la diversidad étnico-cultural en general. La repercusión más importante del estudio tendrá que ver con el proceso de transferencia, es decir, con la posibilidad de que una vez que se valide el programa de intervención, este pueda difundirse y ser aplicado en otros centros de Educación Primaria.

Por otro lado, como posibles limitaciones, tendremos que hacer frente a la posición de la Consejería de Educación de la comunidad de referencia en relación con el estudio, que podrá autorizar o no su puesta en marcha. Aún será más importante la toma en consideración de las características específicas del centro educativo seleccionado en la fase 3, ya que estas podrán sesgar la eficacia del programa. Asimismo, dada la longitudinalidad del diseño, resultará crucial mantener la intensidad en la aplicación de todas las actuaciones del programa durante todo el periodo previsto, lo que incidirá sobre los beneficios del mismo a largo plazo.

Conclusiones

Programas como el que se han diseñado para validación en este trabajo de iniciación a la investigación pueden ser muy útiles para avanzar por el camino de la inclusión y la equidad, eliminando barreras cognitivas, actitudinales y comportamentales que son propias de representaciones y reacciones emocionales que se mantienen durante siglos en nuestras sociedades, como es el caso de las que se mantienen hacia el colectivo marroquí. Hay que ser conscientes de que se trata de una labor conjunta: la investigadora es solo una dinamizadora del proceso, pero es el profesorado y también las familias y otras agencias las que protagonizan la mejora educativa. Las aulas son espacios en los que se puede empezar a luchar preventivamente contra estos fenómenos, mejorando las actitudes y relaciones entre el profesorado y alumnado (autóctono o marroquí) y, por extensión, las relaciones cooperativas entre grupos étnica y culturalmente diversos. Empezar a combatir este fenómeno desde el ámbito educativo y, en concreto, el escolar, permitirá cuestionar creencias y actitudes negativas hacia la diversidad cultural que, con el transcurso del tiempo, dará paso a una convivencia más armónica y pacífica en un mundo globalizado.

Sección 3. Ciencias sociales, económicas y jurídicas - Capítulo 21. Validación de un programa para la prevención y reducción del prejuicio étnico-cultural en alumnado de segundo ciclo de Educación Primaria

Bibliografía

- [1] I. Solbes, C. Callejas, P. Rodríguez, M. O. Lago, El contacto interétnico y su influencia sobre los prejuicios étnicos a lo largo de la niñez. *Anales de psicología*, 27 (2011) 670-678
- [2] Instituto Nacional de Estadística, Estadística del Padrón Continuo. Población extranjera por comunidades y provincias, nacionalidad y sexo, 2017 <http://www.ine.es/jaxi/Tabla.htm?path=/t20/e245/p04/provi/10/&file=0ccaa002.px>
- [3] S.E. Aboud, C. Tredoux, L.R. Tropp, C. Spears, U. Niens, N.M. Noor, Interventions to reduce prejudice and enhance inclusion and respect for ethnic differences in early childhood: A systematic review. *Developmental Review*, 32 (2012) 307-336.
- [4] G.W. Allport, *The nature of prejudice*, Addison-Wesley Publishing Company, Reading, MA, 1954.
- [5] Consejería de Educación Junta de Andalucía, Listado centros docentes públicos (Córdoba),2017,http://www.juntadeandalucia.es/educacion/vscripts/util/fpdf/imprime_listado_rcda_curact.asp?pro=14
- [6] R. Berger, H. Abu-Raiya, M. Gelkopf, The art of living together: Reducing prejudicial attitudes through the Arab-Jewish class exchange program, *Journal of Educational Psychology*, 107 (2015) 678-688.

Carmen Viejo¹, Beatriz Leva²

Capítulo 22. Los niños de hoy en la Europa del mañana: el papel de la educación

Universidad de Córdoba. Facultad de Ciencias de la Educación. Departamento de Psicología. Calle San Alberto Magno, s/n. E-mail: m32letab@uco.es

¹*Directora del proyecto de investigación. Doctora por la Universidad de Córdoba, España. Facultad de Ciencias de la Educación. Dpto. de Psicología. Grupo de investigación LAECOVI. E-mail: cviejo@uco.es*

²*Graduada en Educación Primaria. Beneficiaria de Beca de Colaboración 2016/2017. Autora de la comunicación.*

Resumen

El presente trabajo de iniciación a la investigación se enmarca dentro de un Proyecto Europeo (Programa Europa H2020) que tiene por objetivo reunir la opinión de jóvenes de siete países europeos diferentes para llevarla al Parlamento Europeo. Dicho proyecto de investigación, liderado desde Austria, recibe el nombre del Europa 2038: la voz de los jóvenes. El objetivo principal de este diseño de investigación, paralelo al estudio internacional, es conocer qué papel juega la educación en la formación de la identidad europea de los niños y niñas en la etapa de Educación Primaria. Para ello, en primer lugar, se hará una revisión de la literatura para explicar qué tipos de identidad existen, comenzando desde el nivel microcontextual hasta el macrocontexto. Posteriormente, se diseña una intervención con escolares de entre 10 y 12 años para el desarrollo de la identidad europea, evaluada a través de un pretest-postest con cuestionario de autoinforme. Los docentes y la familia también participarán en el proceso. Teniendo en cuenta investigaciones afines a ésta, los resultados muestran que la educación ocupa un lugar fundamental en las preocupaciones de los niños y niñas europeos y que la intervención, en este sentido, aportaría una mejora significativa de la identidad europea.

Fundamentos, metodología, presentación de resultados y conclusiones

La educación es un pilar fundamental que influye en la vida de todas las personas. Primero son los padres y, más tarde, la escuela se convierte en un agente socializador. Por este motivo, este trabajo pretende investigar cómo el agente educativo incide en la formación de la identidad del alumnado, no sólo a nivel microcontextual sino también del macrocontexto, explorando así la formación de la identidad europea.

Tanto los rasgos individuales de una persona que conforman la identidad humana, la imagen que se tiene de sí mismo [1], como los de una colectividad, características que hacen a un grupo único, están interrelacionados ya que los individuos están anclados a un medio al que pertenecen [4]. Dado que la construcción de la identidad de un sujeto

Sección 3. Ciencias sociales, económicas y jurídicas - Capítulo 22. Los niños de hoy en la Europa del mañana: el papel de la educación

requiere de lo colectivo, existe una estrecha relación entre identidad y educación porque en este nuevo contexto los niños y niñas interactúan con los docentes, los amigos, etc. [4]. En referencia al papel que le toca jugar a la educación con respecto a la formación de la identidad del propio alumnado, hay una serie de problemas derivados de las transformaciones sociales a los que la escuela debe hacer frente.

Dependiendo del contexto en el que se enmarque, la identidad de grupo puede significar identidad social, o bien, cohesión [2]. Pocas personas se sienten satisfechas con su integración en un determinado grupo, por lo que cualquier adolescente puede modificar su conducta para ser integrado en uno de ellos. Esta identidad de grupos es llamada identidad nacional [4].

La educación ayuda a que un estado sea conocido como multicultural, con diferentes lenguas, costumbres y religiones que componen la identidad nacional de un país [1]. Por este motivo, se incorporan en los contenidos curriculares, actividades educativas y culturales de carácter nacional tanto formales como informales para promover la identidad nacional. Se consigue así, gracias también al bilingüismo, una identidad integrada y colectiva nítida [9].

Por otro lado, el término cultura también se encuentra ligado al de identidad ya que la cimentación de identidad es un proceso simultáneo material, social y cultural, en el que los individuos se definen a sí mismos en términos de ciertas categorías compartidas, cuyo significado está culturalmente definido, tales como religión, género, etnia, sexualidad, etc. [6].

Ahora bien, la labor que desempeña la educación en el correcto funcionamiento de los sistemas democráticos es elemental dado que la sociedad es cada vez más global. Este hecho se deriva de dos acontecimientos paralelos, la globalización y la reafirmación de diversas identidades culturales [5]. De este modo, si se consigue desarrollar de manera adecuada en los escolares la identidad europea, contribuiría a la facilitación de la apertura hacia un espacio más plural y social donde prime el respeto hacia los demás. Se ponen en marcha programas educativos con Europa en los que el objetivo principal es la comprensión de valores culturales de otros grupos y países [7].

Participantes

El alumnado participante está escolarizado en 4 colegios de diferente titularidad en distintos puntos de la provincia cordobesa y su edad estará comprendida entre 10 y 12 años ya que serán estudiantes matriculados en 5º y 6º curso de Educación Primaria; como mínimo, contaremos con un total de 400 estudiantes. Además, los tutores y tutoras de estos cursos formarán parte de la muestra también, al igual que los miembros de los equipos directivos para contar con una visión más global; por lo que, como mínimo, entrevistaremos a 25 docentes. Asimismo, contaremos con, al menos, 200 familiares.

Instrumentos

Para el análisis cualitativo de los elementos educativos que influyen en la formación de una identidad europea, se realizará una entrevista semiestructurada a los miembros de la comunidad educativa. Además, también forma parte de este tipo de análisis la

Sección 3. Ciencias sociales, económicas y jurídicas - Capítulo 22. Los niños de hoy en la Europa del mañana: el papel de la educación

observación de los planes y proyectos de los colegios, al igual que de las programaciones didácticas, para los que se utilizará como instrumento un registro de elaboración propia de observación de los documentos que analizará en qué medida quedan registradas diferentes categorías, tales como educación global, biculturalismo, número de idiomas, etc.

Para el análisis cuantitativo se realizará una encuesta anónima al alumnado que estará compuesta por una batería de cuestionarios. La primera parte del cuestionario será de índole personal donde cada niño o niña cumplimentará edad, sexo y curso en el que se encuentra matriculado. En segundo lugar se encontrará el cuerpo del cuestionario, se utilizará una versión reducida del cuestionario adaptado por Vivas (1998) [10] que estaba compuesto por 80 afirmaciones correspondientes a las escalas de comportamiento, estatus intelectual y escolar, ansiedad, popularidad, aspecto corporal y cualidades físicas, felicidad y satisfacción. Por otro lado, se utilizará parte del cuestionario que usó Herranz y Basabe (1999) [3] para estudiar la relación de la identidad cultural con la memoria colectiva.

Finalmente, para medir las variables de oportunidades y/o preocupaciones de futuro e identidad europea, se realizará una adaptación del cuestionario español del proyecto “Europa 2038: la voz de la juventud” utilizado por Ortega, Viejo, Gómez-López (2016) [8]. Este instrumento ha sido traducido y validado en siete países de Europa.

Procedimiento

Los participantes prestarán colaboración en horario escolar y de forma colectiva, previo consentimiento por parte de la dirección del centro. Una vez obtenidos los datos, éstos serán volcados a una matriz para su posterior análisis; más tarde, se llevará a cabo en los centros educativos una intervención en forma de eventos de difusión además de reuniones investigadoras en otros espacios para crear un efecto de multiplicadores. Una vez hecho esto, se volverá a realizar el primer paso para analizar qué impacto ha tenido la formación en los participantes.

Resultados

Apoyándonos en estudios anteriores, se podrían formular una serie de hipótesis o resultados esperados para esta investigación. Cabe esperar que los escolares que hayan estado matriculados en la materia de Educación para la ciudadanía o en la actual de Valores Sociales y Cívicos tendrán una mayor adquisición de la identidad europea e, igualmente, más y mejores conocimientos de la realidad que rebasa sus fronteras, es decir, internacional. Además, un bajo porcentaje de los estudiantes encuestados, contarán con un alto nivel de valores sociales y cívicos.

Se podría decir que los niños y niñas de Educación Primaria puede que, quizás, no hayan pensado en cómo será su futuro. En contraste, cuando realmente se les pregunta a los jóvenes acerca de las aspiraciones y preocupaciones de cara a su futuro, sí que aparece la educación ocupando unos de los primeros puestos. Igualmente, puede ser que vean la educación como una oportunidad de movilidad y de visitar otros países en los que puedan optar por programas de intercambio con los que continuar sus estudios.

Sección 3. Ciencias sociales, económicas y jurídicas - Capítulo 22. Los niños de hoy en la Europa del mañana: el papel de la educación

Los fracasos y dificultades escolares pueden hacer que la educación sea una preocupación en cuanto a las problemáticas que le causan, pues pasan mucho tiempo en la comunidad educativa; sin embargo, también puede ser vista como una oportunidad en relación a las puertas que, gracias a ella, pueden encontrarse abiertas en todos los aspectos de su vida.

Por último, cabría esperar que se obtuviera un impacto muy positivo en la formación del alumnado a largo plazo una vez concluida la intervención, ya que el efecto de los multiplicadores mantendría la acción en el tiempo.

Conclusiones

Por otra parte, a modo de conclusión se podrían rescatar las siguientes ideas: a) Gracias al proceso necesario para la construcción de una identidad más global, los estudiantes adquieren una serie de valores cívicos y sociales que hace que su relación con los demás no esté llena de prejuicios; b) la educación se encuentra entre una de las mayores preocupaciones de cara al futuro de los niños y niñas, y la escuela como agente educativo debe lidiar con distintas problemáticas para educar bien a sus discentes; c) como se ha señalado anteriormente, la fase formativa es beneficiosa para todos los participantes del proyecto; d) la actual materia de Valores Sociales y Cívicos implantada por la Ley Orgánica para la Mejora de la Calidad Educativa, participa activamente en la construcción de una identidad europea. No obstante, no es suficiente, puesto que se oferta como una asignatura alternativa a las enseñanzas religiosas.

Bibliografía

- [1] Chong, M.C. (2009). El papel de la Educación en la Identidad Humana. *Eikasía*, 171-180.
- [2] Henry, K., Arrow, H., & Carini, B. (1999). A tripartite model of group identification. *Theory and Measurement. Small group research*, 558-581.
- [3] Herranz, K., & Basabe, N. (1999) Identidad nacional, ideología política y memoria colectiva. *Psicología Política*, 31-47.
- [4] Huarte, R. (2013). Identidad y educación. *Revista de FAEEBA*, 151-158.
- [5] Jover, G. (2001). Educación y ciudadanía: el compromiso cívico de los jóvenes españoles. *Education in the knowledge society*.
- [6] Larrain, J. (2003). El concepto de identidad. *Revista FAMECOS*, 30-42.
- [7] Leclercq, J.M. (1999). La dimensión europea en la formación del profesorado: problemas y posibles soluciones. En Barthélémy, D. et al., *La dimensión europea en la educación secundaria*. Madrid: Publicación del Consejo de Europa. Ministerio de Educación y Cultura.
- [8] Ortega, R., Viejo, C.M., Gómez-López, M. (2016). *Cuestionario sobre preocupaciones y oportunidades de jóvenes europeos*. Manuscrito presentado para su publicación.
- [9] Rubilar, L.H. (2009). Educación y construcción de identidad. *Educere*, 1053-1061.
- [10] Vivas, J. (1998). *Adaptación de la escala de autoconcepto Piers-Harris para la ciudadanía de Bogotá*. Bogotá: Grujel Ltda.

Sección 3. Ciencias sociales, económicas y jurídicas - Capítulo 23. La figura comunitaria del facilitador de infracciones de competencia: Su compatibilidad con el derecho administrativo sancionador español

Carmen Martín Fernández

Capítulo 23. La figura comunitaria del facilitador de infracciones de competencia: Su compatibilidad con el derecho administrativo sancionador español

Universidad de Córdoba. Facultad de Derecho y Ciencias Económicas y Empresariales. Departamento de Derecho Público y Económico.

Dirección: c/Vicente Núñez, 17 14920-Aguilar de la Frontera (Córdoba)

E-mail: carmenmartinfernandez93@gmail.com

Resumen

La figura del facilitador de infracciones administrativas surgida en el seno del Derecho de la Unión Europea, sobre todo en el ámbito del Derecho de la competencia, tiene como finalidad que se sancione, no sólo a los autores de las infracciones, sino también a aquellos sujetos que con su conducta facilitan su perpetración. Ante tan loable finalidad, las autoridades administrativas y judiciales españolas no han dudado en adoptar dicha figura comunitaria en sus pronunciamientos. Sin embargo, ello ha conllevado, en algunas ocasiones, dejar de lado las garantías más esenciales de nuestro ius puniendi, básicamente, el principio de legalidad administrativa sancionadora, en su vertiente de reserva de ley y de principio de tipicidad. Fue lo que ocurrió en el caso del cártel de los vinos de Jerez, donde la Comisión Nacional de la Competencia declaró la responsabilidad de la Junta de Andalucía, junto con la de otros operadores económicos, por infringir el art. 1 LDC y el art. 101 TFUE. Como consecuencia se despertó la alarma de un sector doctrinal que no consideraba adecuado declarar la responsabilidad sancionadora sin las garantías más esenciales -la LDC no tipifica como infracción la conducta del facilitador- y que se preguntaba si una Administración Pública podía ser declarada infractora de Derecho de la competencia cuando actúa en el mercado, no como un operador económico, sino en ejercicio de potestades de imperium. Ante tal panorama, se ha analizado la compatibilidad de la figura comunitaria del facilitador de infracciones con el Derecho administrativo sancionador español y se ha llegado a la conclusión de que, en España, sólo se podrá sancionar al facilitador de una infracción si una Ley así lo permite expresamente.

Fundamento

En una época de tendencia claramente europeísta discutir el grado de acierto de las decisiones de instancias europeas parece inusual. Sin embargo, cuando se trata de defender las garantías más esenciales de nuestro Estado de Derecho, en general, y de nuestro Derecho Administrativo Sancionador, en particular, creo que no se debe dudar en poner en entredicho la doctrina comunitaria que atente contra dichas garantías. Es lo que ha ocurrido con la figura comunitaria del facilitador de infracciones administrativas

Sección 3. Ciencias sociales, económicas y jurídicas - Capítulo 23. La figura comunitaria del facilitador de infracciones de competencia: Su compatibilidad con el derecho administrativo sancionador español

y por ese motivo se ha procedido a estudiar el origen de la misma, su adopción en España y su dudosa compatibilidad con el Derecho administrativo sancionador español.

Fue con el caso Treuhand cuando la Comisión de las Comunidades Europeas empezó a aludir a dicha figura. Aunque, a priori, podía parecer que se trataba de una apreciación más de entre las relativas a los sujetos responsables, en realidad constituía un auténtico cambio de criterio que marcaría el camino a seguir por las autoridades europeas, y no sólo por ellas, sino también -como después se pudo comprobar- por las autoridades administrativas y judiciales españolas. Y ello porque en los expedientes anteriores, los sujetos sancionados por infringir la normativa de defensa de la competencia eran empresas competidoras que realizaban prácticas anticompetitivas junto con otras empresas que operaban en el mismo mercado. Sin embargo, en el expediente relativo a la sociedad AC-Treuhand, se sancionaba, junto a otros operadores económicos privados, a una sociedad asesora que nada tenía que ver con el mercado de referencia, pero que había coadyubado a la realización de la conducta tipificada como infracción.

Las autoridades administrativas españolas vieron en la doctrina del facilitador de infracciones una finalidad loable: perseguir a aquellos sujetos que con su conducta facilitaban la perpetración de infracciones administrativas. Consideraban que, de no adoptar el cambio de criterio, en numerosos casos se seguiría sancionando únicamente a los autores de las infracciones y no a los demás participantes en las mismas. Pues bien, al igual que el caso Treuhand constituyó la primera ocasión en que la Comisión de las Comunidades Europeas sancionó a un sujeto por facilitar una práctica anticompetitiva, el caso del cártel de los productores de vino de Jerez ha supuesto la primera vez que la Comisión Nacional de la Competencia ha declarado responsable a un sujeto en concepto de facilitador de infracciones administrativas. En este caso, la novedad no radicaba únicamente en que se responsabilizaba al facilitador de la infracción, sino que, además, ese facilitador era una Administración Pública, concretamente, la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía. Por ambos motivos, este caso de los vinos de Jerez se ha convertido en el caso emblemático de la nueva vía interpretativa que parece estar adoptándose: que la responsabilidad sancionadora de los facilitadores de infracciones no tiene que aparecer tipificada en la ley, sino que se deduce de la previsión de la responsabilidad de los autores, y que los destinatarios de las normas de defensa de la competencia no son sólo las empresas, sino también las Administraciones Públicas cuando actúan en el mercado como un operador económico e incluso cuando ejercen de forma inadecuada potestades de imperium.

Como consecuencia, se procedió a analizar con detalle el caso de los vinos de Jerez, para así inducir cuáles han sido las razones jurídicas que han llevado a las autoridades administrativas y judiciales españolas a adoptar la figura comunitaria del facilitador de infracciones en nuestro ordenamiento jurídico.

Metodología

Para la realización de este análisis jurídico se ha acudido en primer lugar a las fuentes primarias de información, es decir, a los pronunciamientos de la Comisión de las Comunidades Europeas y de la Comisión Nacional de la Competencia, así como a las

Sección 3. Ciencias sociales, económicas y jurídicas - Capítulo 23. La figura comunitaria del facilitador de infracciones de competencia: Su compatibilidad con el derecho administrativo sancionador español

resoluciones judiciales dictadas al respecto, para así extraer las razones jurídicas que han conducido a las autoridades europeas a elaborar la doctrina del facilitador de infracciones y a las autoridades españolas a adoptarla en sus pronunciamientos.

Tras ello, se ha realizado un análisis doctrinal basado en examinar las diferentes posturas que han surgido en España a propósito de la figura comunitaria del facilitador de infracciones.

Para enriquecer la investigación se ha acudido a aquellos foros de debate donde el tema ha sido tratado por juristas y profesionales del mundo del Derecho, con la finalidad de lograr una visión amplia y no sesgada del tema a raíz de la confrontación de las diferentes opiniones emitidas, no sólo por administrativistas -visión con la que ya se contaba dada el área de conocimiento donde la becaria ha desarrollado su trabajo-, sino también por mercantilistas, jueces y abogados, pues todos ellos cuentan con una visión particular del tema que puede ser crucial para mantener la nuestra propia o modularla en ciertos aspectos.

Resultados

La figura comunitaria del facilitador de infracciones administrativas no está exenta de polémica, sino que, más bien al contrario, despierta enfrentamientos entre sectores de la doctrina española.

Algunos autores, como REBOLLO PUIG sostienen que, si las normas que tipifican las respectivas infracciones no contienen ningún precepto específico sobre los responsables de las infracciones, deben ser entendidas en el sentido de que sólo son responsables los que realicen la conducta tipificada. Es esto lo que ocurre con los responsables de las infracciones de la LDC, pues su art. 61 considera sujetos infractores a las personas físicas o jurídicas que realizan las acciones u omisiones tipificadas como infracciones en la misma, y según el art. 62, son infracciones el desarrollo o la realización de las conductas tipificadas, pero nada más, no su facilitación. Por tanto, esta parte de la doctrina concluye que no cabe concebir al facilitador de ilícitos como responsable, salvo que una Ley recoja expresamente que la conducta propia de dicha figura constituye una infracción administrativa [6, 7].

Por el contrario, otros autores como COSTAS COMESAÑA, consideran que, aunque el facilitador no forma parte del mercado afectado por el cártel, participa en la infracción y nada impide que su actuación, auxiliar pero esencial para que el cártel alcance su objetivo anticompetitivo, sea perseguible. Y ello incluso sin que la ley tipifique expresamente la conducta del facilitador de infracciones porque para que una conducta caiga bajo la prohibición antitrust es necesario y suficiente que tenga aptitud objetiva para restringir la competencia [1, 2]. Por ello, en el caso del cártel de los productores de vinos de Jerez, los autores defensores de esta tesis consideraban perfectamente subsumible en el art. 1 LDC la conducta de la CAP de la Junta de Andalucía

Sección 3. Ciencias sociales, económicas y jurídicas - Capítulo 23. La figura comunitaria del facilitador de infracciones de competencia: Su compatibilidad con el derecho administrativo sancionador español

Conclusiones

En España, la tipificación de la figura del facilitador de infracciones es, además de conveniente, perfectamente posible, pues el principio de legalidad prohíbe que se sancione al que no ha llevado a cabo la conducta tipificada, pero no impide la posible responsabilidad por participar en la infracción de la que es autor otro, siempre que así lo prevea una Ley y se sancione al partícipe por su propia conducta.

Trasladar, sin más, la figura del facilitador gestada en el Derecho comunitario al ordenamiento jurídico español supone vulnerar las exigencias más básicas de nuestro Estado de Derecho: que nadie pueda ser sancionado por una determinada conducta sin una Ley previa que así lo disponga. Querer adaptarse rápido -y mal- a las exigencias de la Unión Europea conlleva destruir parte de la base de nuestro Derecho Administrativo Sancionador, es decir, el cardinal principio de legalidad administrativa sancionadora y todo lo que conlleva. Por no hablar de la escasa seguridad jurídica que se transmite a los ciudadanos cuando los órganos administrativos y judiciales españoles actúan de esta manera.

En nuestro país, a diferencia de lo que parece suceder en la Unión Europea, es necesario recoger de forma precisa y clara en las Leyes todas las conductas y todos los sujetos responsables que pueden ser sancionados, para que así los ciudadanos sepan a qué atenerse cuando actúan. Es lo mínimo que debe garantizar un Estado de Derecho.

Bibliografía

- [1] COSTAS COMESAÑA, Julio, “La sujeción de la actividad de la Administración al Derecho de la competencia”, Estudios de derecho mercantil: *Libro homenaje al Prof. Dr. Dr.h.c. José Antonio Gómez Segade*, coordinada por TOBÍO RIBAS, Ana María, Marcial Pons, 2013, Madrid, pp. 369-382.
- [2] COSTAS COMESAÑA, Julio y HORTALÀ I VALLVÉ, Joaquim, “La tipificación de la Actividad de la Administración como facilitadora de cárteles”, *Anuario de la competencia*, nº 1, 2013, pp. 13-32.
- [3] MARCOS FERNÁNDEZ, Francisco, “El ámbito de aplicación subjetivo de la LDC y la conducta de la Junta de Andalucía en el cártel de la uva y del mosto de Jerez: Comentario a la RCNC de 6 de octubre de 2011, Exp. S/0167/09”, *Revista de Derecho de la Competencia y la Distribución*, nº 11, 2012, pp. 253-276.
- [4] MARCOS FERNÁNDEZ, Francisco, “Restricciones públicas de la competencia”, *Papeles de economía española*, nº 145, 2015, pp. 2-10.
- [5] PASCUAL MORCILLO, Álvaro, “El cooperador necesario en las infracciones de la ley de defensa de la competencia”, *Problemas prácticos y actualidad del Derecho de la Competencia*, coordinada por RECUERDA GIRELA, Miguel Ángel, Civitas, 2015, Cizur Menor (Navarra), pp. 111-135.
- [6] REBOLLO PUIG, Manuel, “Responsabilidad de los autores de las infracciones y los partícipes”, *Revista vasca de Administración Pública*, nº especial 99-100, 2014, pp. 2527-2546.
- [7] REBOLLO PUIG, Manuel, “Los principios de legalidad, personalidad y culpabilidad en la determinación de los responsables de las infracciones”, *Régimen jurídico básico de las Administraciones Públicas*, coordinada por REBOLLO PUIG,

Sección 3. Ciencias sociales, económicas y jurídicas - Capítulo 23. La figura comunitaria del facilitador de infracciones de competencia: Su compatibilidad con el derecho administrativo sancionador español

Manuel, LÓPEZ BENITEZ, Manuel y CARBONELL PORRAS, Eloisa, Iustel, 2015, Madrid, pp. 843-864.

[8] S.H. CHAN, S., “AC-Treuhand: What is the ambit of cartel facilitators’ liability?”, *ECLR*, Issue 4 (2016), Thomson Reuters, pp. 133-138.

[9] VALLERY, A. y SCHELL, C., “AC-Treuhand: Substantial Fines for Facilitators of Cartels”, *Journal of European Competition Law & Practice*, Vol. 7, No. 4 (2016), Oxford University Press, pp. 254-257.

**Sección 3. Ciencias sociales, económicas y jurídicas - Capítulo 24. La
caracterización de la eficiencia de las Cooperativas de Crédito tras la
reestructuración del Sistema Financiero. Un análisis DEA**

Sergio Román Pizarro

**Capítulo 24. La caracterización de la eficiencia de las Cooperativas de
Crédito tras la reestructuración del Sistema Financiero. Un análisis
DEA**

*Universidad de Córdoba. Facultad de Derecho y Ciencias Económicas y
Empresariales. Departamento de Economía, Sociología y Política Agraria.*

Dirección: Plaza de Puerta Nueva, s/n, 14002 Córdoba. E-mail: es1hifea@uco.es

Resumen

Entre el conjunto de cambios, procedimientos de adaptación y reestructuraciones acaecidas en casi todos los ámbitos de nuestra sociedad durante la última década, los procesos de reforma llevados a cabo en el sistema financiero español, en el cual se incluyen las cooperativas de crédito, son, sin duda, uno de los que mayor importancia han tenido, tanto por su especificidad como por la indudable necesidad de los mismos al tratarse de un sector transversal en los sistemas de economía de mercado.

Dada la vocación con las que nacen las cooperativas de crédito en España caracterizada por la proximidad al socio y al cliente, la vinculación territorial y sectorial y el conocimiento del medio socioeconómico en el que despliegan su actividad; el análisis de las innovaciones llevadas a cabo para adaptarse a la reestructuración que se ha producido en todo el sistema financiero es necesario centrarlo en dos ámbitos: la vinculación territorial y la relación entre la rentabilidad financiera y la eficiencia medida mediante el tratamiento de diferentes variables significativas en el proceso de gestión.

A través del análisis Envolvente de Datos (DEA), el objetivo de este trabajo ha sido estudiar la efectividad de un grupo de cooperativas de crédito, en perspectiva comparada, que permita calcular un índice mediante la resolución de programas de optimización, cuyo resultado proporcione valores de eficiencia relativa para cada cooperativa de crédito.

Fundamento y presentación de resultados.

- Realizar un análisis comparativo entre entidades aparentemente similares entre sí, como las cooperativas de crédito, podría resultar carente de dificultad. Sin embargo, éstas cuentan con ciertos componentes heterogéneos entre sí. Por ello se hace necesaria una metodología que permita comparar entre unas y otras, presumiendo que el proceso y, por tanto, la función de producción sean únicos para todas ellas.
- En este trabajo para estudiar la eficiencia del grupo de cooperativas de crédito entre puntos temporales distintos se ha apelado a un Análisis Envolvente de

Sección 3. Ciencias sociales, económicas y jurídicas - Capítulo 24. La caracterización de la eficiencia de las Cooperativas de Crédito tras la reestructuración del Sistema Financiero. Un análisis DEA

Datos (DEA), que es una metodología que mediante el uso de fronteras de producción no paramétricas permite estudiar la eficiencia relativa de un grupo de cooperativas de crédito, mediante la determinación del máximo ratio output-input, indicando qué factores son los que contribuyen mayoritariamente a esa alta o baja eficiencia relativa para cada cooperativa de crédito.

- Los criterios de eficiencia que hemos considerado para cada una de las unidades son algunos de los planteados por estudios para la eficiencia del Sistema Bancario Español y para el Sistema Bancario Internacional. Tras el estudio individual de todas las variables conocidas, clasificados como outputs se han recogido los créditos a la clientela, los ingresos por intereses y la rentabilidad financiera, mientras que como inputs se han considerado el capital, los empleados, el número de oficinas y los gastos por intereses.
- Entre las conclusiones más relevantes del análisis llevado a cabo sobre la eficiencia relativa, económica y social, del grupo de cooperativas de crédito estudiado, podemos destacar las siguientes:
- Se puede afirmar que tras el padecimiento de la crisis económico-financiera mundial acaecida a partir del año 2008, a consecuencia de la cual se produjo una reestructuración en el Sistema Financiero Español, los grandes grupos cooperativos de crédito españoles –analizando individualmente cada una de sus unidades- están saliendo de esta situación fortalecidos, mediante la toma de decisiones estratégicas y la optimización y mejora de sus recursos en los procesos de gestión.
- Con respecto al número e importe medio de las operaciones realizadas, podemos establecer y cuantificar que la situación particular de estas entidades queda reflejada en la captación del ahorro de su clientela, a través de depósitos.
- En relación a las cuentas de resultados cooperativos podemos destacar los elevados gastos de explotación, fundamentalmente concretados en los gastos de personal, a consecuencia de establecer un modelo bancario minorista, frente a la banca virtual con la mecanización de actividades y la informatización de servicios.
- Analizando su eficacia social, destacamos el índice créditos-depósitos que interpretamos como el compromiso que la cooperativa de crédito adquiere con su clientela y con el entorno territorial en que desarrolla su actividad, y cuyo balance resulta muy positivo en tanto que se da más crédito de los depósitos que se reciben.

En cualquier caso para valorar la eficiencia social mediante la metodología DEA se encuentran mayores dificultades porque no es posible utilizar parámetros estrictamente económicos y por ello para valorar la productividad social hemos analizado las dotaciones al Fondo de Formación y Sostenibilidad y corroboramos que las cooperativas de crédito aportan vinculación con el tejido productivo local, tienen proximidad al cliente y financian sectores específicos así como atienden a los intereses locales del entorno geográfico en que desarrollan su actividad.

- La eficiencia de las cooperativas de crédito en España, así como su rentabilidad financiera siguen la misma tendencia que la mayoría de macromagnitudes; se comprueba, por ejemplo, que existe correlación entre la eficiencia media, la

Sección 3. Ciencias sociales, económicas y jurídicas - Capítulo 24. La caracterización de la eficiencia de las Cooperativas de Crédito tras la reestructuración del Sistema Financiero. Un análisis DEA

rentabilidad financiera media y el PIB. Por tanto es posible afirmar que la eficiencia en estas entidades se encuentra sujeta a las desviaciones cíclicas que sufre la economía.

- En cuanto a las diferencias existentes entre los valores extremos, podemos comprobar que un alto número de entidades (en torno a 1/3 de la muestra) se comportan y mantienen una eficiencia máxima en los tres periodos analizados. Por el contrario algo menos del 10% de la muestra nunca alcanza una eficiencia que esté por encima del 90%.
- Se puede afirmar que el proceso productivo de las cooperativas de crédito ha pasado por mantener una estructura operativa (empleados, oficinas operativas...) similar durante los diferentes periodos estudiados aunque ajustándose parcialmente a la tendencia. Si bien es cierto que, la innovación para fortalecerse en este periodo ha venido dada por dos aspectos: por un lado, la capitalización de las entidades y, por otro lado, el gran aumento de la brecha entre ingresos y gastos por intereses.

Bibliografía

- [1] R. D. Banker, A. Charnes, W. W. Cooper. *Management science* 30. 1984. p. 1078-1092.
- [2] S. Berg, F. Fersund, I. Hjalmarsson, M. Suominen. *Journal of banking and finance*, nº 17. 1993. p. 371-347.
- [3] Calvo Bernardino, J. I. González Rodríguez. *Revesco. Revista de estudios cooperativos*, núm.67. 1999. p. 51-70
- [4] E. Castelló Muñoz, C. Trías Pintó. *Boletín de estudios económicos*. vol. IXX- nº 216. 2015. p. 555-569.
- [5] T. J. Coelli. *University of new england. Australia*. 1996.
- [6] M. Gutiérrez, R. Palomo, M. Romero. *Revesco. Revista de estudios cooperativos*, núm. 107. 2012. p. 7-34.
- [7] Hidalgo-Fernández, F. J. Bernabéu Aguilera. *Revesco. Revista de estudios cooperativos*, núm. 114. 2014. p.59-83.
- [8] J.L. Mateu Gordon, R. J. Palomo Zurdo. *Boletín económico de ICE*, núm. 2836. 2005. p. 51-61.
- [9] R. J. Palomo, R. J. Sanchís. *Estudios de economía aplicada*, núm. 26. 2008. p. 189-132.
- [10] E. Tortosa-Ausina, E. Grifell-Tatjé, C. Armenro, y D. Conesa. *European Journal of Operational Research*, núm. 184. 2008. p. 1062-1082.

Humanidades

Sección 4. Humanidades - Capítulo 25. Problemas pragmáticos en El impostor de Javier Cercas: ¿una novela sin ficción?

Raúl Calleja Fuentes

Capítulo 25. Problemas pragmáticos en El impostor de Javier Cercas: ¿una novela sin ficción?

Universidad de Córdoba. Facultad de Filosofía Letras. Departamento de Ciencias del lenguaje. (Área de Teoría de la literatura y Literatura Comparada)

Dirección: Plaza del Cardenal Salazar S/N

E-mail: L32cafur@uco.es o callejafuentes@gmail.com

Resumen

El objetivo de este trabajo es ofrecer una propuesta de lectura de la novela de Javier Cercas *El impostor*, el cual la presenta bajo la etiqueta de “novela sin ficción”. Para ello, analizaremos este concepto y, seguidamente, clarificaremos las distintas modalidades discursivas y, por tanto, diferentes pragmáticas, a las que esta novela se somete y que hace que se convierta en un texto raro y, a simple vista, difícil de clasificar. Tras ese análisis de las tres modalidades narrativas (biógrafo, autobiógrafo-ficcional y ensayista) llegaremos a unas conclusiones que resulten aclaratorias frente a estos problemas que *El impostor* de Cercas plantea en su lectura.

Fundamentos, metodología, presentación de resultados y conclusiones

Cuando hablamos del concepto de novela – a pesar de las dificultades que existen en torno a la definición de este – hay un asunto en el que la mayoría de los teóricos de la literatura están de acuerdo y es en su carácter ficcional: lo que el profesor Pozuelo Yvancos denominó “pacto narrativo” en el año 1978 y que define como la “aceptación de una retórica por la que la situación, enunciación, recepción que se ofrece dentro de la novela es distinguible de la situación fuera de la novela”, lo cual nos permite explicar, también, el funcionamiento de la ficción en general. [1].

Ahora bien, esta pragmática en la que tradicionalmente se han insertado las novelas desde sus inicios con *El Quijote* de Cervantes, considerada la primera novela moderna, parece no adecuarse al texto que Truman Capote publica en 1961, *In Cool Blood*, y con el cual inicia lo que se conoce como la “novela sin ficción”, es decir, textos que se presentan como novelas pero en las que lo narrado en ellas carece del carácter ficticio que venían presentando este tipo de textos, siendo, por tanto, la narración fiel de unos hechos reales, constatables y que verdaderamente ocurrieron. Así lo explica Capote, quien en una entrevista afirma que tomó el caso “porque sería escribir lo que yo denominaba una novela real, un libro que se leyera exactamente igual que una novela, solo que cada palabra de él fuera rigurosamente cierta” [2].

Así, Capote crea, impulsado en gran medida por el fenómeno del “nuevo periodismo” o “*new journalism*” que surge durante esos años en Estados Unidos pero que no trataremos aquí por cuestiones de espacio, una forma de escritura novedosa en ese

Sección 4. Humanidades - Capítulo 25. Problemas pragmáticos en *El impostor* de Javier Cercas: ¿una novela sin ficción?

momento y que será continuada por bastantes autores de distintas lenguas: Norman Mailer y *The armies of the night* (1968), algunos títulos de Carrère como *L'adversaire* (1999) o *D'autres vies que la mienne* (2009) o Laurent Binnet, quien recientemente ha publicado textos como *HHhH* (2010) o *La Septieme Fonction du langage* (2015). En España destaca el nombre de Javier Cercas, quien ya venía poniendo en práctica este tipo de escritura en sus obras *Soldados de Salamina* (2001) o *Anatomía de un instante* (2009) pero que con la publicación en 2014 de *El impostor* parece llevar al extremo los límites entre realidad y ficción, creando así un texto raro debido a los problemas pragmáticos que presenta y que nos lleva a preguntarnos, por un lado, si verdaderamente se trata de una novela sin ficción y, si no fuera así, qué es en realidad este texto.

En mayo de 2005, el historiador español Benito Bermejo descubrió la impostura de Enric Marco, un sindicalista catalán, secretario general de la CNT y presidente de la Amical de Mauthausen que durante más de treinta años se hizo pasar por deportado del campo de concentración de Flossenbürg y superviviente del Holocausto nazi. Dada la relevancia pública de Marco por las múltiples conferencias en las que hablaba de su (falsa) experiencia, el descubrimiento de toda esa vida ficticia que construyó se convirtió en un escándalo a nivel internacional.

Esta será la historia que Cercas aborde en su libro. Sin embargo, la variedad de modalidades discursivas a las que el autor recurre hará que *El impostor* se presente como un libro heterogéneo y que en su lectura cree cierta confusión al situarse en un terreno de constante ambigüedad. Es por ello por lo que para aclarar esa confusión discursiva y pragmática que encontramos, debemos analizar los tres narradores que configuran el texto.

En primer lugar, Cercas se erige como un biógrafo en tanto en cuanto la tarea que acomete desde esta modalidad es contar lo que pudo ser la vida de Enric Marco, (re)hacerla para desvelar sus ocultaciones, fingimientos y secretos, basándose, por un lado, en documentos, entrevistas, fotografías, documentales y bibliografía, así como, por otro lado, en las entrevistas que mantiene con el propio biografiado. Es así como toda esta parte reclama una lectura en clave biográfica. Así lo señala también Faber: “Cercas desentierra gran parte de una vida desconocida hasta la fecha y la cuenta con gracia, economía y empatía dignas de admiración” [3]. Se somete, pues, a un pacto referencial, de modo que el lector tiene la posibilidad de acudir a las fuentes que señala el autor como base de su trabajo u otras para constatar lo narrado en el libro.

Podemos afirmar, además, que todo lo referente a la narración de la vida de Marco se corresponde con el concepto de “relato real” que el propio Cercas propone en su novela *Soldados de Salamina*:

Decidí también que el libro que iba a escribir no sería una novela, sino un relato real, un relato cosido a la realidad, amasado con hechos y personajes reales, un relato que estaría centrado en el fusilamiento de Sánchez Mazas y en las circunstancias que lo siguieron. [4]

Sección 4. Humanidades - Capítulo 25. Problemas pragmáticos en *El impostor* de Javier Cercas: ¿una novela sin ficción?

En segundo lugar, encontramos un narrador que oscila entre lo autobiográfico y lo ficcional: este se proyecta en el texto como autor que se enfrenta a las vicisitudes que supone la (re)construcción de la historia de Marco y, aunque es cierto que se corresponde con Cercas como autor, persona física y real e involucra a su familia (hijo, esposa, hermana, madre, etc.) hay momentos en los que este narrador se muestra sobreactuado y se aproxima más a un narrador ficticio a pesar de usar la misma identidad. Todo esto lo respalda el propio Cercas cuando, en una conversación “ficticia”, según él mismo indica, que mantiene con Marco en el capítulo octavo de la tercera parte, afirma lo siguiente:

- *Soldados de Salamina* no era ni una novela sin ficción ni un relato real.
- El narrador bien decía que lo era.
- Pero no significa que lo fuese. Lo primero que hay que hacer al leer una novela es desconfiar del narrador. [5]

Por tanto, como hemos dicho, este narrador se perfila como un narrador autobiográfico pero que no niega ni renuncia a la incursión en algunos momentos en el terreno de la ficción, por lo que la pragmática a la que el discurso de esta voz narrativa debe someterse es al pacto narrativo de Pozuelo que anteriormente hemos explicado.

En tercer y último lugar, encontramos el narrador ensayista que podríamos considerar, no como un narrador autónomo en sí, sino como una ramificación de ese narrador autobiográfico-ficcional: el Cercas que encontramos aquí es el Cercas articulista, el que escribe en periódicos de tirada nacional y opina y reflexiona sobre temas diversos: política, memoria histórica, literatura, etc. Por tanto, respecto a este narrador, afirmamos que no se somete a ninguna pragmática: simplemente emplea el cauce de la escritura literaria para, esas mismas afirmaciones que hace en prensa, verterlas en el libro.

Explicado esto, hemos llegado a las siguientes conclusiones. Por un lado, Cercas no crea una novela sin ficción tal y como lo hace Capote, sino que lleva a cabo, aparentemente, un experimento narrativo con el que intenta situarse en esa corriente iniciada por el autor estadounidense recurriendo a distintas modalidades discursivas que se someten a diferentes pragmáticas, creando así un narrador ambiguo: a veces biógrafo, a veces autobiográfico-ficcional y otras veces ensayista, que convierte al texto en una realidad desconcertante para el lector.

Por otro lado, se trata de un libro marcado por la heterogeneidad y el hibridismo discursivo que se declara así heredero de la tradición cervantina en tanto que el autor de *El Quijote* asienta la naturaleza abierta y experimental de la novela moderna.

Por último, con todo esto, finalizamos con que *El impostor* es una novela como tradicionalmente se ha entendido este concepto; si bien, hay que reconocer que es un tipo de novela que se aleja de las formas habituales con las que el lector está familiarizado, de ahí el desconcierto en su lectura, pero siendo precisamente en ese desconcierto donde radica la propuesta estética y narrativa que Cercas ofrece en su obra.

Sección 4. Humanidades - Capítulo 25. Problemas pragmáticos en *El impostor* de Javier Cercas: ¿una novela sin ficción?

Bibliografía

- [1] Pozuelo Yvancos, José María. “El pacto narrativo: semiología del receptor inmanente en *El coloquio de los perros*”, en *Anales Cervantinos*, vol. IV, Madrid, 1978, p. 142-176.
- [2] Cantavella, Juan. *La novela sin ficción. Cuando el periodismo y la narrativa se dan la mano*. Murcia: Septem ediciones, (2002), p. 8.
- [3] Faber, Sebastiaan. “Javier Cercas y *El impostor* o el triunfo del kistch”. *Fronterad*. (2015) Disponible en: <http://www.fronterad.com/?q=javier-cercas-y-‘-impostor’-o-triunfo-kitsch> [Última consulta el 1 de noviembre de 2017].
- [4] Cercas, Javier. *Soldados de Salamina*. Barcelona: Random House, (2001). Ed. 2015, p. 48.
- [5] Cercas, Javier. *El impostor*. Barcelona: Debolsillo, (2014). Ed: 2016, p. 379.

Azahara Jiménez Millán, Javier Domínguez Pelegrín

Capítulo 26. La enseñanza de la lengua española en un entorno Flipped Learning: análisis de su efectividad en Educación Primaria

Universidad de Córdoba. Facultad de Ciencias de la Educación. Departamento de Ciencias del Lenguaje

Avda. San Alberto Magno, s/n, 14071 Córdoba

m32jimia@uco.es, javier.dominguez@uco.es

Resumen

El presente trabajo es un estudio experimental, cuantitativo y transversal cuyo objetivo es analizar la efectividad del enfoque Flipped Learning (también conocido como Flipped Classroom o aula invertida) en la enseñanza de la lengua española en Educación Primaria. Para ello, se ha trabajado con una muestra de un centro educativo de Córdoba compuesta por 40 estudiantes de cuarto curso de Educación Primaria, dividida en un grupo experimental (modelo Flipped Learning) y otro control (metodología tradicional). Los resultados muestran una correlación moderada del rendimiento académico de los alumnos del modelo Flipped Learning en comparación con los alumnos del grupo control. A pesar de que los resultados obtenidos coinciden con experiencias previas, serían necesarios estudios empíricos contrastivos con muestras mayores o de mayor duración para poder afirmar de modo concluyente que el Flipped Learning es un modelo pedagógico más eficaz que el tradicional.

Fundamentos teóricos

Las aulas del siglo XXI exigen un cambio del rol del docente y de los estudiantes ya que el paradigma educativo no consiste en transmitir conocimientos, sino en crear contextos en los que el estudiante se convierta en el verdadero protagonista de su propio aprendizaje [1]. En este sentido, surge el modelo Flipped Learning (FL), cuyos precursores son Jonathan Bergmann y Aaron Sams, y que se define como “un modelo pedagógico que transfiere determinados procesos fuera del aula y usa el tiempo de clase junto con la experiencia docente, para facilitar y potenciar procesos de adquisición y práctica de conocimientos en el aula” [2]. A diferencia del modelo tradicional, los alumnos comienzan con el estudio en casa mediante material seleccionado o creado por su profesor (preferiblemente vídeos), que les facilita a través de los medios que la tecnología ofrece. La posibilidad de ver el vídeo a su propio ritmo implica que cuando el alumno llega al aula ya posee los conocimientos necesarios, de modo que el profesor pasa de ser un transmisor de conocimientos a un dinamizador del aprendizaje [2,3].

La literatura sobre FL plantea ventajas tanto para el alumnado como para el profesorado y, aunque todavía no se disponga de evidencia científica sobre la mejora del rendimiento académico de los estudiantes que aprenden con este modelo, son numerosas las experiencias realizadas con resultados prometedores. Por ello, puesto que

Sección 4. Humanidades - Capítulo 26. La enseñanza de la lengua española en un entorno Flipped Learning: análisis de su efectividad en Educación Primaria

“sería conveniente llevar a cabo trabajos contrastivos empíricos en los que se compare el grado de aprovechamiento de los estudiantes en marcos tradicionales y de FL” [4], este trabajo se adscribe a esta línea de investigación.

Metodología

El presente proyecto se trata de un estudio cuantitativo, experimental y transversal cuya hipótesis de investigación sostiene que el enfoque FL es un modelo de enseñanza más eficaz que el tradicional. Para desarrollar esta hipótesis, proponemos el siguiente objetivo general: comprobar si la enseñanza de la lengua española mediante el enfoque FL propicia un mayor aprendizaje por parte de los estudiantes en comparación con el modelo tradicional. Para ello, nos fijamos los siguientes objetivos específicos: a) comprobar si el enfoque FL promueve un mayor rendimiento académico; b) comprobar si el rendimiento académico es más homogéneo en un contexto FL; y c) comprobar si el aprendizaje es más duradero mediante el enfoque FL.

La variable independiente de la investigación es la intervención didáctica, que vamos a manipular para analizar su relación con las variables dependientes: el rendimiento académico, la homogeneidad del aprendizaje y la duración del mismo. Además, consideramos la incidencia de variables no controladas como la motivación de cada estudiante, su rendimiento escolar previo o la implicación de la familia.

La muestra es no probabilística y dirigida. Está formada por dos clases de cuarto curso de Educación Primaria de un colegio de Córdoba capital, cuya población de referencia tiene un nivel socioeconómico medio. Al comienzo del estudio, la muestra la componen 50 escolares, pero finalmente queda reducida a 40 participantes debido a la mortalidad estadística.

Hemos empleado dos tipos de instrumentos: los que tienen como finalidad la medición de datos para conocer el rendimiento académico de los participantes en el estudio (pre-test, post-test inmediato y post-test a largo plazo), y los empleados en la transposición didáctica, que han consistido en la aplicación informática PlayPosit y en una actividad para cada uno de los contenidos lingüísticos: la descripción, los tiempos verbales, el uso de la “h” y los prefijos.

Presentación de resultados

Para desarrollar el primer objetivo específico, hemos realizado un análisis estadístico descriptivo de las medias de los pre test y post-test del grupo experimental (GE) y del grupo control (GC). También hemos extraído el coeficiente de correlación biserial puntual como medida de estadística inferencial. En el primer caso, y como se muestra en la tabla 1, la media desde el pretest al post-test del grupo experimental aumenta en comparación con el grupo control. Asimismo, la desviación estándar (SD) se reduce en tres de las cuatro actividades en el grupo experimental, mientras que en el grupo control aumenta en la misma proporción.

Sección 4. Humanidades - Capítulo 26. La enseñanza de la lengua española en un entorno Flipped Learning: análisis de su efectividad en Educación Primaria

Tabla 1. Estadísticos descriptivos de los pre-test y post-test

Contenidos	Medias				Desviación Estándar				Diferencia estadística			
	Pretest		Post-test		Pretest		Post-test		Media		SD	
	GE	GC	GE	GC	GE	GC	GE	GC	GE	GC	GE	GC
Descripción	5,8	3,2	8,3	5,7	1,2	1,4	0,7	1,8	-2,5	-2,5	0,5	-0,2
Verbos	4,1	2,5	7,3	5,0	1,5	1,2	1,5	1,9	-3,2	-2,5	0	-0,7
Uso de la “h”	6,4	5,9	8,9	7,4	1,0	1,9	1,2	1,5	-2,5	-1,5	-0,1	-0,3
Prefijos	3,8	4,2	8,8	7,5	1,4	1,5	0,9	1,5	-5	-3,3	0,52	0

Con respecto a la estadística inferencial, hemos obtenido una correlación positiva moderada, es decir, valores entre 0,40 y 0,69 (véase tabla 2). Dadas las características de nuestra muestra en cuanto a tamaño y con un rendimiento académico dentro de la normalidad, el hecho de haber obtenido una correlación moderada (y en el límite de una correlación positiva alta en el contenido 1) ofrece indicios de que el FL puede ser un método más efectivo.

Tabla 2. Coeficiente de correlación biserial puntual de las actividades

Post-test	r_{pq}
1. Descripción de objetos	0,69
2. Los verbos	0,55
3. El uso de la “h”	0,48
4. Los prefijos	0,42
5. Post-test a largo plazo	0,44

En relación al segundo objetivo específico, hemos analizado la desviación estándar intragrupal e intergrupala. Como se observa en la tabla 1, hemos obtenido una desviación menor en todos los contenidos trabajados en el enfoque FL. Estos datos indicarían que los resultados son más homogéneos en el grupo experimental y, por tanto, que los alumnos con dificultades en el aprendizaje han mejorado su rendimiento académico.

En cuanto al tercer objetivo específico, hemos comparado los resultados del post-test a largo plazo del grupo experimental con los del grupo control (tabla 3) y hemos obtenido una media mayor en el grupo experimental, por lo que podemos interpretar que se produce un aprendizaje más duradero en un entorno FL. Además, en la misma línea que el segundo objetivo específico, la desviación estándar continúa siendo menor en el grupo experimental, lo que indicaría que el rendimiento sigue siendo más homogéneo en un contexto FL.

Sección 4. Humanidades - Capítulo 26. La enseñanza de la lengua española en un entorno Flipped Learning: análisis de su efectividad en Educación Primaria

Tabla 3. Media y desviación estándar del post-test a largo plazo

	Grupo Experimental	Grupo Control
Media	9,22	7,93
SD	1,04	1,5

Conclusiones

Puesto que el FL permite que cada estudiante trabaje a su ritmo fuera del aula, este enfoque pedagógico propicia una atención más personalizada, que puede traducirse en un paradigma educativo de mayor calidad al mejorar el rendimiento académico de TODOS. Por otro lado, los profesores al frente de un aula invertida necesitan formarse en competencia digital y en metodologías activas para personalizar la enseñanza, de modo que lo que supondría una gran inversión de esfuerzo y tiempo se compensaría con un crecimiento profesional y personal al observar buenos resultados. Sin embargo, según los datos obtenidos en el presente trabajo, con una mejora moderada en relación al método tradicional, nos planteamos si realmente se trata de un modelo rentable en relación al esfuerzo requerido. No obstante, si tomamos en consideración que el perfil de la muestra es normal en lo que se refiere a rendimiento académico, el enfoque FL podría augurar mejores resultados en muestras con estudiantes con dificultades de aprendizaje.

Bibliografía

- [1] J. Tourón, R. Santiago, R., A. Díez, *The Flipped Classroom. Cómo convertir la escuela en espacio de aprendizaje*, Grupo Océano, Barcelona, 2014.
- [2] R. Santiago, R., *What is the Flipped Classroom*, 2015. Recuperado de <http://www.theflippedclassroom.es/what-is-innovacion-educativa/>
- [3] J. Bergman, A. Sams, *Dale la vuelta a tu clase: Lleva tu clase a cada estudiante, en cualquier momento y cualquier lugar*, SM, Madrid, 2014.
- [4] J. Domínguez Pelegrín, C. E. Peragón López, *La integración del enfoque Flipped Learning en el EEES. Una experiencia de planificación para el aprendizaje de la Lengua Española*. En *Actas del II Congreso flipped classroom*. MT Servicios educativos, Madrid, pp. 378-429.

Sección 4. Humanidades - Capítulo 27. Aproximación al estudio de las metáforas en la cata del vino: el caso del Pedro Ximénez

Francisco Luque Janodet

Capítulo 27. Aproximación al estudio de las metáforas en la cata del vino: el caso del Pedro Ximénez

Universidad de Córdoba. Facultad de Filosofía y Letras. Departamento de Traducción e Interpretación, Lenguas Romances, Estudios Semíticos y Documentación.

Dirección: Plaza del Cardenal Salazar, 3. E-mail: l32luja@uco.es

Resumen

La comunicación que presentamos se enmarca en la denominada traducción agroalimentaria y aborda, concretamente, el discurso de la cata del vino dulce Pedro Ximénez. Si bien este producto se encuentra amparado actualmente por varias denominaciones de origen de Andalucía, tomaremos como objeto de estudio el vino Pedro Ximénez producido en la Denominación de Origen Protegida Montilla-Moriles. Esta comunicación pretende estudiar las metáforas conceptuales que estructuran el discurso de la cata del vino tanto en español como en francés. Para llevar a cabo nuestro estudio, hemos procedido a compilar un corpus textual de notas de cata en el par de lenguas francés-español. A partir de dicho corpus, compuesto, a su vez, por un subcorpus paralelo y otro comparable, hemos realizado un análisis contrastivo de las figuras retóricas que pudimos hallar en la descripción de este producto en las distintas fases de su cata. Concluimos pues, que el discurso de la cata del vino es un lenguaje de especialidad, en el cual conviven las funciones poética e informativa del lenguaje, cuya traducción se vería simplificada mediante la compilación de un corpus bilingüe ad hoc.

Fundamento y presentación de resultados

El vino es un producto que siempre ha generado un gran interés en el ser humano. Actualmente, parte de este interés se debe al gran potencial económico que representa en nuestro país: por ejemplo, las exportaciones de vino en Andalucía representaron un total de 108,7 millones de euros, esto es, un 7% más que en año anterior [1]. Asimismo, cabe recordar que España es el mayor viñedo del mundo [2]. Este potencial económico ha propiciado el desarrollo de distintos proyectos de investigación desde los estudios de Humanidades, como Winetasting-Term, una base de datos en inglés y español desarrollada en la Universidad de Castilla-La Mancha sobre la cata de vinos castellano-manchega, o la futura aplicación para teléfonos inteligentes, WineApp, fruto del proyecto FFI2016-79785R concedido por el Ministerio de Economía y Competitividad, desarrollada actualmente por investigadores de la Universidad de Córdoba y la Universidad de Cádiz, con los cuales colaboro en calidad de doctorando. Dicha aplicación ofrecerá equivalentes en español, inglés, alemán y francés de términos del lenguaje vitivinícola.

Estos motivos nos han llevado a estudiar, concretamente, el discurso de la cata del vino, cuya consideración como lenguaje de especialidad se encuentra actualmente inmersa en pleno debate. La mayoría de los autores consultados considera este lenguaje como

Sección 4. Humanidades - Capítulo 27. Aproximación al estudio de las metáforas en la cata del vino: el caso del Pedro Ximénez

especializado, aunque sí cabe señalar que muchos destacan sus particularidades. Para algunos expertos, este lenguaje, al igual que otros lenguajes de especialidad, presenta un carácter mixto, ya que está compuesto por tecnicismos creados por especialistas y difíciles de entender para el público general, así por palabras pertenecientes a la lengua general que se utilizan para aclarar, mediante recursos como los sinónimos o las metáforas, conceptos o sensaciones más abstractos [3]. Sin embargo, para otros expertos, el lenguaje de la cata es un sociolecto caracterizado por un gran número de metáforas que parten de la personificación del vino y las cuales solo son accesibles para aficionados y especialistas [4].

Por tanto, nos encontramos ante un discurso especializado, que recurre a elementos de la función poética como la metáfora. Esta figura tiene el fin facilitar la transmisión de información, dadas las lagunas terminológicas existentes en este lenguaje, ya que los seres humanos no poseen suficientes palabras técnicas para describir sensaciones [5]. Este hecho también ha sido señalado por Suárez-Toste, quien afirma que «cuando hablamos del vino nos damos cuenta de que prácticamente no existe —en ningún idioma— un vocabulario científico y riguroso para describir con fidelidad las impresiones sensoriales» [6].

Por este motivo, algunos expertos apuntan al bagaje personal al que deben recurrir los aficionados al vino para poder describir este producto mediante el uso de metáforas [5]. Este bagaje, creado a lo largo de los años, se ve, además, influenciado por la cultura del país donde los catadores crecieron o vivieron la mayor parte de su vida.

Por ello, las metáforas empleadas para describir el vino dependen de una gran cantidad de factores, como la lengua, la cultura y el bagaje personal del degustador. Hay estudios según los cuales el lenguaje de la cata en español se articula en torno a cinco metáforas [7, 8]:

EL VINO ES UN SER VIVO, EL VINO ES UN TEJIDO, EL VINO ES UN ALIMENTO, EL VINO ES UN OBJETO y EL VINO ES UN EDIFICIO.

Por ello, planteamos como uno de los objetivos de nuestra investigación corroborar la anterior afirmación, para lo cual debimos proceder a la compilación de un corpus ad hoc. Esto nos condujo a tomar como punto de partida los estudios de Seghiri Domínguez y su metodología protocolizada [9, 10]. Tras fijar los criterios de diseño de nuestro corpus, procedimos a realizar el protocolo de compilación propuesto por esta autora, compuesto por cuatro fases: 1) Búsqueda y acceso a la documentación; 2) Descarga de datos; 3) Normalización y 4) Almacenamiento. El posterior análisis de los resultados de nuestro corpus demostró que las figuras retóricas empleadas en la descripción del vino Pedro Ximénez en español se podían englobar en las metáforas propuestas [7, 8], confirmando, por tanto, los resultados de dicho estudio. Debemos destacar, además, que las dos metáforas que arrojaron una mayor cantidad de ejemplos fueron

EL VINO ES UN SER VIVO y EL VINO ES UN OBJETO.

Si nos centramos particularmente en la metáfora *EL VINO ES UN OBJETO*, podremos observar que proporcionó una gran cantidad de ejemplos. Son llamativas las analogías

Sección 4. Humanidades - Capítulo 27. Aproximación al estudio de las metáforas en la cata del vino: el caso del Pedro Ximénez

que comparan al Pedro Ximénez con «un curso de cata en sí mismo», el «építome de la elegancia», «un concierto» o une belle interprétation de ce genre de vin de méditation. Asimismo, encontramos comparaciones del tipo: comme l'huile d'un moteur usagé, en las que se compara las lágrimas que deja el vino en la copa con el aceite de un motor usado.

Por otro lado, también hallamos una gran cantidad de adjetivos que atribuyen a este producto una serie de características geométricas o físicas, como: «redondo» (rond), así como una variante de este, «vino esférico». Del mismo modo, encontramos otros adjetivos que describirían más bien la superficie de un objeto, como «pulido», hallado en la fase gustativa de la cata.

Constatamos, además, el uso de adjetivos y de otras figuras que establecían una relación entre este vino en particular con un producto medicinal en francés, con ejemplos como: petites lampées homéopathiques gourmandes, médicinale, balsamique y roboratif. Esta metáfora, *EL VINO ES UN MEDICAMENTO*, se puede englobar, a su vez, en la metáfora *EL VINO ES UN OBJETO*.

Tras la realización de nuestro análisis, pudimos llegar a la conclusión de que el discurso de la cata del vino en español se articula, principalmente, en las cinco metáforas propuestas anteriormente; si bien es cierto que pueden existir otras, ya que esto depende de múltiples factores como el catador, su experiencia, su bagaje personal; así como la cultura, historia y tradición del país en el que creció o en el que vive.

Este hecho nos lleva a pensar que el traductor que deba tratar con textos que incluyan notas de cata deberá realizar un importante trabajo de documentación previo en el que se incluya la consulta de glosarios bilingües, pero, especialmente, diccionarios y recursos monolingües especializados y dedicados únicamente al lenguaje del vino. No obstante, creemos que el proceso de traducción se podría ver más simplificado si se procediese a la compilación de un corpus ad hoc de notas de cata en el par de lenguas de trabajo.

Bibliografía

- [1] Agencia Andaluza de Promoción Exterior. Andalucía lidera las exportaciones de alimentos y bebidas en 2016, con un crecimiento del 12,2% entre enero y junio, 2016. Available from: http://www.extenda.es/web/opencms/extenda/noticias/noticia_1315.html [18/05/2017]
- [2] Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, Las exportaciones del sector agroalimentario representan el 17% del comercio exterior español, 2015. Available from: <http://www.mapama.gob.es/es/prensa/noticias/las-exportaciones-del-sector-agroalimentario-representan-el-17-del-comercio-exterior-esp%C3%B1ol-/tcm7-368937-16> [12/04/2017]
- [3] M. R. De Felipe Boto, M. J. Fernández Antolín, in: M. Ibáñez Rodríguez, M. T. Sánchez Nieto (Coord.), *El lenguaje de la vid y el vino y su traducción*. Secretariado de Publicaciones e Intercambio Editorial, Universidad de Valladolid, 2004, p. 215-252.
- [4] M. C. Planelles Iváñez, *Cuadernos de Investigación Filológica*. 39 (2013) 205-220.

**Sección 4. Humanidades - Capítulo 27. Aproximación al estudio de las metáforas
en la cata del vino: el caso del Pedro Ximénez**

- [5] M. Falgueras, *Vila Viniteca*, 2016.
- [6] E. Suárez Toste, *Vinaletras*. 2 (2009) 78-87.
- [7] I. Negro Alousque, *Revista Española de Lingüística*. 43 (2) (2013), 151-173.
- [8] I. Negro Alousque, XXXI Congreso Internacional de la Asociación Española de Lingüística Aplicada. (2013) 845-855.
- [9] M. Seghiri Domínguez, *Compilación de un corpus trilingüe de seguros turísticos (español-inglés-italiano): aspectos de evaluación, catalogación, diseño y representatividad*. Universidad de Málaga, Málaga.
- [10] M. Seghiri Domínguez, *RLA: Revista de Lingüística Teórica y Aplicada*. 49 (2) (2011), 13-30.

Sección 4. Humanidades - Capítulo 28. La retórica visual en las pinturas de Antonio Palomino en la Catedral de Córdoba

Autora: Clara Sánchez Merino; Director: Manuel Pérez Lozano

Capítulo 28. La retórica visual en las pinturas de Antonio Palomino en la Catedral de Córdoba

Universidad de Córdoba. Facultad de Filosofía y Letras. Departamento de Historia del Arte.

Dirección: Plaza Cardenal Salazar, 3, 1403, Córdoba. E-mail: lourdesmorillo@uco.es

Resumen

Los nuevos análisis de la imagen visual irrumpen en la disciplina de la historia del arte sentando las bases para la superación de los modelos tradicionales de estudio de la obra de arte, cuyo nuevo enfoque centra su atención en el receptor.

El gusto de los receptores de la época, concretado para este caso en el análisis de los códigos empleados por el tratadista y pintor Acisclo Antonio Palomino, nos permite desde las nuevas formulaciones teóricas volver la mirada al receptor como intérprete y creador último del significado de la imagen. Podemos disponer de su tratado, el Museo Pictórico y Escala Óptica, en el que nos hemos detenido especialmente en aquellas fuentes escritas de las que el propio Antonio Palomino se hace eco en sus pinturas, con el objetivo de acercarnos a su horizonte de expectativas, reflejado en la concepción final de dichas pinturas.

Fundamento y presentación de resultados

Los fundamentos que refuerzan nuestra investigación se encuentran en el análisis histórico-artístico de los principios de la hermenéutica de Hans George Gadamer, en su obra *Verdad y Método*, y la teoría conocida como estética de la recepción [1], desarrollada a partir de los trabajos de Hans Robert Jauss y Wolfgang Iser [2]. Nuestra finalidad es llegar a la comprensión del repertorio signico y las estrategias de interpretación que Palomino ideó para la ejecución de su obra pictórica pero desde nuestro propio horizonte de expectativas. El historiador, en su tarea por desentramar los hilos que teje nuestro pasado histórico, se debe aventurar a sumergirse en el universo de la intersubjetividad para lograr conocer con mayor exactitud la justificación y la razón de ser de los prejuicios que definen una determinada época [3]. Los prejuicios configuran el horizonte de expectativas desde el que se elaboran las estrategias de interpretación [4], todo ello para explicar desde el giro icónico los nuevos enfoques de la retórica visual [5].

Aunque la línea de investigación que hemos seguido ha abarcado el estudio de las tres pinturas realizadas por Antonio Palomino (1655-1726) para la Capilla del Cardenal Salazar de la Catedral de Córdoba, con el fin de no excedernos en el límite establecido nos centraremos en una de ellas: La aparición de San Rafael al Padre Roelas (véase Figura 1. A.). Es el último lienzo si atendemos al criterio cronológico con el que han sido ejecutadas las tres obras que componen esta serie destinada a la Capilla funeraria

Sección 4. Humanidades - Capítulo 28. La retórica visual en las pinturas de

Antonio Palomino en la Catedral de Córdoba

del Cardenal Salazar de la Catedral de Córdoba con el objeto de ensalzar su figura, insertándola en los momentos culminantes de la Iglesia en Córdoba [6]. Hemos analizado el repertorio sígnico que Palomino emplea para hacer explícito este mensaje que los albaceas testamentarios, los sobrinos del Cardenal, encargaron al pintor. Así lo representa como un intermediario entre el Venerable Roelas, San Rafael y los Santos Mártires. Este hecho no pasa inadvertido si tenemos en consideración que el Cardenal Salazar fue quien, junto al Padre Posadas, promovió la causa de beatificación del Venerable Roelas.

Cuando Palomino realiza esta pintura, no existe una representación preestablecida de la figura del Padre Roelas, es por ello que Palomino resuelve el problema situándolo de espaldas al espectador. Pero, sin duda, el aspecto más interesante es el que concierne a la iconografía que representa la leyenda de la aparición de San Rafael al Padre Roelas, Palomino determina un modelo de representación iconográfica para este acontecimiento que veremos reflejado en numerosas pinturas con posterioridad (véase Figura 1. C.). En último término, Palomino crea un discurso de la imagen que será aceptado e integrado por el receptor [7].

Debía ser una pintura que recogiera la grandiosidad de la figura del Cardenal, pero a su vez que fuera ampliamente reconocida por el público para así ser recordada para la eternidad. Palomino solventa el problema inspirándose en una pintura generalmente conocida del pintor Claudio Coello, que fue un referente cercano para Palomino. Podemos considerar que La Anunciación de San Plácido, obra ejecutada por Claudio Coello en 1668 (véase Figura 1. B.), se alzó para nuestro aventajado Palomino como una pintura de la cual supo extraer aquellos elementos que más le favorecían para culminar su lienzo para la memoria del Cardenal.

La resolución de la problemática planteada ha sido satisfactoria en la mayoría de los ámbitos que hemos tenido ocasión de analizar y estudiar. Sin embargo, se trata de un trabajo cuyo campo de estudio abarca un amplio repertorio de líneas de investigación aún por desarrollar. Por ende, nuestra finalidad no reside en alcanzar unos resultados únicos, inalterables e invariables en el campo de la investigación, sino reflexionar y sopesar las nuevas vías cuyas posibilidades de estudio nos permitirían un mayor, así como profundo, acercamiento a esta materia de la Historia del Arte.

Tres fueron las pinturas realizadas por el ilustre Palomino para Capilla del Cardenal, tres acontecimientos históricos que marcaron el devenir de la historia de la Iglesia. Palomino construye la historia con una finalidad que hace encajar a la perfección con las bases del proyecto que se le había encomendado, la dignificación del Cardenal Salazar como principal promotor del culto a San Rafael y a los Santos Mártires. Representa al Cardenal Salazar como máximo protagonista de una historia que, si bien no presenció, sí se hizo proclamar por sus sobrinos tras su muerte como promotor de la devoción de San Rafael y los Santos Mártires, cuyo origen se remontaba siglo XVI.

Sección 4. Humanidades - Capítulo 28. La retórica visual en las pinturas de Antonio Palomino en la Catedral de Córdoba

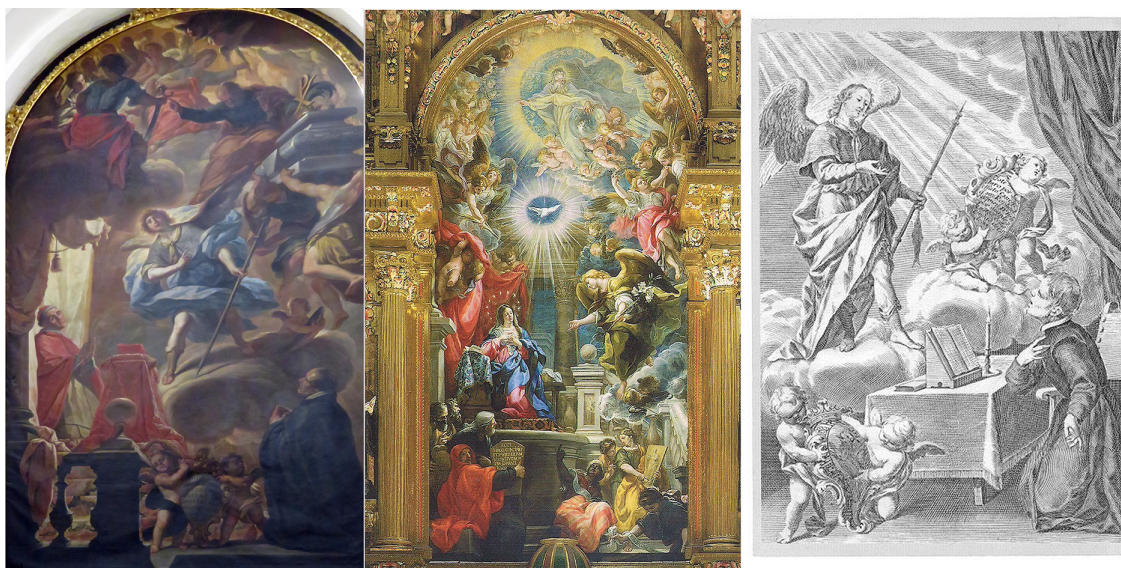


Figura 1. A. La aparición de San Rafael al Padre Roelas, Antonio Palomino, 1713; B. La Anunciación de San Plácido, Claudio Coello, 1668; C. Aparición de San Rafael al Padre Roelas, Juan Bernabé Palomino, S. XVIII.

Palomino comprende este mandato y lo adapta a los términos de su modo de creación. La retórica visual será su herramienta para conseguir los propósitos que se plantea: ¿Cómo hacer para que los receptores reciban el mensaje de la Iglesia triunfante a través de las pinturas? Palomino añadirá a su repertorio de gestos, composición, y demás elementos, características inconfundibles de otros autores que alcanzaron el máximo prestigio en la centuria anterior. Palomino, pintor a caballo entre dos siglos, aprovecha este hecho para sacar el máximo provecho al conocimiento de las grandes obras maestras, lo cual le había posibilitado un nuevo canal de comunicación que no se regía por el lenguaje habitual, sino que empleaba un nuevo sistema de códigos visuales donde los gestos componían el nuevo abecedario del lenguaje del arte.

Nos expresamos y nos relacionamos a través de la imagen, todo se reduce al fenómeno de la retórica visual, un concepto que Palomino ya utilizó en el ocaso del siglo XVII y los albores de la nueva centuria. Palomino ya apostaba por este método a través del cual se reivindica el acceso a lo “real” [10], sosteniendo que la percepción nos permite conocer el mundo de tal forma que puede incluso desplazar la función del lenguaje tal cual estaba concebida. Cualquier obra nos abre la posibilidad de contar una historia. Y en las obras analizadas lo que hemos intentado mostrar es cómo el Cardenal Salazar y, sobre todo sus albaceas testamentarios, entendieron los momentos culminantes del cristianismo cordobés y la forma de mostrárselo a sus coetáneos con imágenes que les resultaran satisfactorias, para eso recurrieron a Palomino, para también integrar en la historia de la cristiandad cordobesa a la figura de Pedro de Salazar, para inmortalizarlo en el lugar donde estaban depositados sus restos mortales.

**Sección 4. Humanidades - Capítulo 28. La retórica visual en las pinturas de
Antonio Palomino en la Catedral de Córdoba**

Bibliografía

- [1] G. Hans George: *Verdad y Método*, tomo I, Ediciones Sígueme, Salamanca, 1991.
- [2] I. Wolfgang: *El acto de leer. Teoría del efecto estético*, Taurus, Madrid, 1987.
- [3] G. Hans George: *Estética y Hermenéutica*, Tecnos, Madrid, 2006.
- [4] P. Manuel: “La Teoría de la Recepción. Consideraciones metodológicas previas”. Introducción metodológica a la Tesis Doctoral del autor Manuel Pérez Lozano, titulada: *El conceptismo en la pintura andaluza del Siglo de Oro*, Universidad de Córdoba, 1993.
- [5] M. Keith: *El tiempo de lo visual*, Sans Soleil Ediciones, Barcelona, 2015.
- [6] G. Juan: *Catálogo de los Obispos de Córdoba y breve noticia histórica de su Iglesia Catedral y Obispado*, tomo II, Capítulo XIV, 1778, p. 728.
- [7] B. Norman: *Visión y pintura. La lógica de la mirada*, Alianza forma, Madrid, 1991, p. 133.
- [8] M. Keith: *Teoría, práctica, persuasión*, Ediciones el Serbal, Barcelona, 2003.

Ingeniería y tecnología

José Antonio Entrenas de León

Capítulo 29. Emisión y fijación fotoquímica de gases NOX en suelos

Universidad de Córdoba. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y de Montes. Departamento de Edafología.

*Dirección: Edificio C4, Campus de Rabanales, 14071 Córdoba, España.
E-mail: p82enlej@uco.es*

Resumen

Los óxidos de nitrógeno gaseosos resultantes de la combustión de combustibles fósiles, erupciones volcánicas, incendios forestales y la desnitrificación de los suelos no sólo afectan a la calidad del aire y a la concentración de ozono atmosférica, sino que también contribuyen al cambio climático y a la lluvia ácida. Tanto la oxidación (nitrificación) como la reducción (desnitrificación) se ha atribuido principalmente a la actividad microbológica de los suelos, sin embargo, no se ha reportado con anterioridad evidencia alguna de actividad catalítica no biológica que afecte al estado de oxidación del N en suelos. Con esta investigación se está estudiando el intercambio de gas en los suelos, incluyendo emisiones de NO_x, mediante reacciones fotoquímicas, y su fijación a través de reacciones fotocatalíticas bajo radiación UV-Visible. Se pretende demostrar que existe actividad catalítica que estimula la captura de NO_x como nitrato en los suelos, así como ver el nivel de captura de los mismos para relacionarlos con sus propiedades físicas y mineralógicas. Este nuevo mecanismo de fijación de N, podría ayudarnos a entender el ciclo del N y ayudar a elaborar nuevas estrategias para reducir las pérdidas de nitratos y emisiones de NO en suelos.

Fundamentos, metodología, presentación de resultados y conclusiones

El óxido nítrico, NO, así como el dióxido de nitrógeno, NO₂, gaseosos, conocidos generalmente como NO_x, son contaminantes atmosféricos que se concentran en las grandes urbes procedentes de la actividad antropogénica, como es el uso de combustibles fósiles [1]. También son generados en los procesos de nitrificación y desnitrificación del suelo, erupciones volcánicas, rayos e incendios forestales. Los NO_x, son perjudiciales para los seres humanos, así como para los animales, las plantas y algunos materiales, además, contribuyen a la formación de niebla tóxica, lluvia ácida, ozono troposférico y gases que provocan efecto invernadero como es el caso del N₂O.

La oxidación fotocatalítica de estos gases es un simple y a la vez efectivo método de descontaminación del NO_x [2], basado en ciertas propiedades de algunos materiales sintéticos semiconductores, capaces de promover la oxidación del NO_x con la ayuda de oxígeno, agua y luz UV-visible. La reacción implica la activación de la superficie de un semiconductor mediante un haz de luz de similar o mayor energía que la de la banda prohibida, provocando la transferencia de electrones desde la banda de valencia a la banda de conducción y creando de esta forma pares electrón-hueco. Tanto los electrones fotogenerados como los huecos pueden reaccionar con agua y oxígeno para formar

Sección 5. Ingeniería y tecnología - Capítulo 29. Emisión y fijación fotoquímica de gases NOX en suelos

especies de oxígeno reactivas como los radicales $\bullet\text{O}_2^-$ and $\bullet\text{OH}$, que son capaces de transformar NO_x en NO_3^- . Los materiales semiconductores utilizados para este fin son principalmente compuestos sintéticos como el TiO_2 , $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ and ZnO , en solitario o en combinación con aditivos como pueden ser arcillas, carbonos o materiales mesoporosos [2, 3]. Algunos de estos materiales fotocatalíticos existen de manera natural en los suelos.

Los procesos de desnitrificación tanto químicos como biológicos, que ocurren de manera natural en los suelos, tienen un fuerte impacto en el ciclo del N. De hecho, la desnitrificación disminuye el N disponible para las plantas, que en suelos agrícolas implica, en su mayoría, el uso de fertilizantes industriales obtenidos de procesos que requieren una gran cantidad de consumo de energía, produciendo a su vez emisiones importantes de CO_2 . El objetivo de este trabajo es demostrar que existe actividad catalítica que estimula la captura de NO_x como nitrato en los suelos, así como ver el nivel de captura de los mismos para relacionarlos con sus propiedades físicas y mineralógicas. Este nuevo mecanismo de fijación de N, podría ayudarnos a entender el ciclo del N y ayudar a elaborar nuevas estrategias para reducir las pérdidas de nitratos y emisiones de NO en suelos.

Para ello se siguen analizando, textural y mineralógicamente, un total de 10 suelos de área mediterránea, de los cuales 5 son calcáreos. Además, se ha determinado la cantidad de nitratos solubles en el suelo con la ayuda de un espectrofotómetro [4]. Asimismo, mediante un porosímetro (ASAP 2010), se ha llevado a cabo la determinación de la superficie específica de los distintos suelos, así como la de microporos, haciendo uso del método BET (Brunauer–Emmett–Teller theory) [5]. Por otro lado, se ha separado la fracción arcilla, limo y arena, así como se ha procedido a descarbonatar las 5 muestras de suelos calcáreos, con el fin de someter cada una de las muestras a un análisis de emisión y fijación de gases NO_x . Éste último análisis se ha realizado bajo un flujo controlado de 100ppb de NO aproximadamente, un valor similar al de algunos entornos urbanos y al de la emisión de NO de determinados suelos fertilizados. Bajo estas condiciones se ha sometido a cada muestra a luz UV-visible para activar la oxidación fotocatalítica anteriormente mencionada, y se ha medido el balance de gases NO durante 3 horas.

Tabla 1. Tabla resumen de las características mineralógicas de los suelos

Muestra	Fracción (g/kg)			Mineralogía (%)			
	Arena	Limo	Arcilla	Esmectita	Vermiculita	Illita	Caolinita
ADAZ3	170	71	220	90	0	7	3
FTPZ2	650	700	286	0	0	72	28
INM20	110	60	100	6	0	86	8
ISIZ1	443	156	388	94	0	4	2
LCVZ4	426	135	387	0	3	93	4
MCCZ1	84	52	172	0	75	19	6
MNL3Z	527	150	201	60	0	34	6
PUEZ1	261	90	645	0	14	38	48

Sección 5. Ingeniería y tecnología - Capítulo 29. Emisión y fijación fotoquímica de gases NOX en suelos

RCNZ2	794	41	170	63	0	29	8
SORZ2	760	150	92	0	1	95	4

Tabla 2. Tabla resumen de las características físicas de los suelos

Muestra	Superficie específica (m ² /g)	Carbonatos (g/kg)	Nitratos (ppm)
ADAZ3	21,4	554	0,7
FTPZ2	32,1	0	8,0
INM20	14,4	720	3,7
ISIZ1	35,6	0	7,0
LCVZ4	41,2	44	12,0
MCCZ1	28,7	706	9,3
MNL3Z	19,6	128	8,2
PUEZ1	79,2	0	11,3
RCNZ2	13,6	0	4,6
SORZ2	4,3	0	1,6

En la tabla 1 se presentan las fracciones arena, limo y arcilla de las 10 muestras de suelo, así como la mineralogía de las arcillas presentes en los mismos. Por otro lado, en la tabla 2, se muestra su superficie específica, cantidad de carbonatos y nitratos (previos a la fotocatalisis). Podemos observar que, a mayor contenido de arcillas, mayor superficie específica. También podemos ver la heterogeneidad de los suelos escogidos.

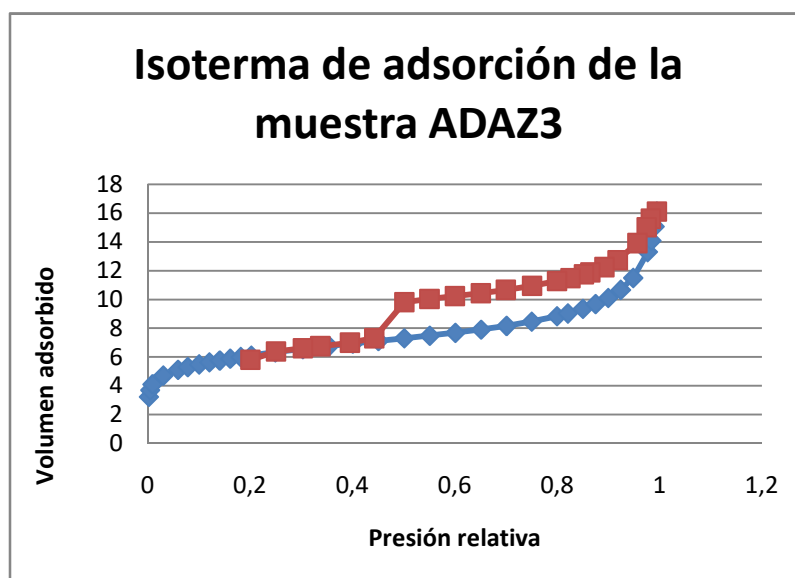


Figura 1. Adsorción (línea azul) y desorción (línea roja) de la muestra ADAZ3

En la figura 1 se representa la isoterma de adsorción de gases (en este caso N) que realiza el porosímetro ASAP 2010. A mayor volumen adsorbido, mayor superficie específica, determinada mediante el método BET.

Finalmente, la actividad fotocatalítica se midió utilizando muestras de 5 g sometidas a un flujo laminar de gases así como a luz artificial de una Solarbox 3000e R con

Sección 5. Ingeniería y tecnología - Capítulo 29. Emisión y fijación fotoquímica de gases NOX en suelos

irradiancia UV y Visible. Las concentraciones de NO y NO₂ se midieron con un analizador de quimioluminiscencia AC32M. En la figura 2 se muestra un ejemplo del experimento de fotocatalisis para la muestra de suelo de ISIZ1.

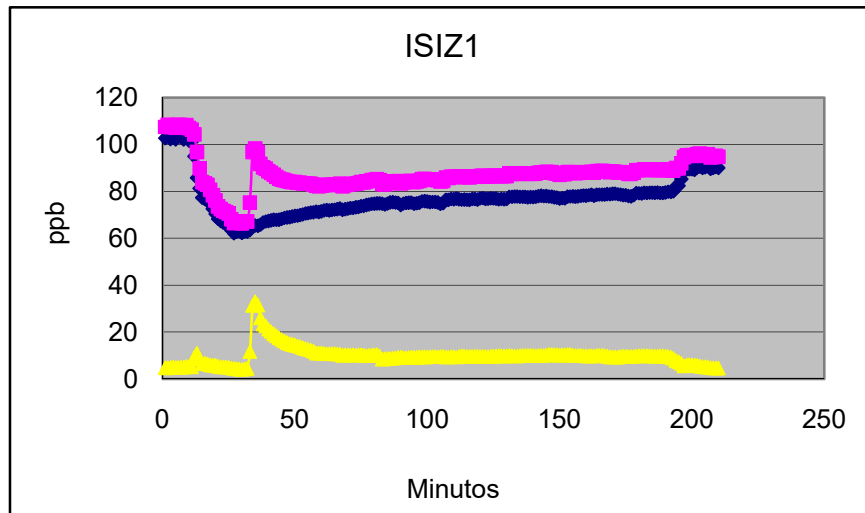


Figura 2. Concentración de NO_x en la muestra ISIZ1, irradiada con luz UV-Visible

La concentración de NO gaseoso (línea azul) que fluye a través de la muestra de suelo disminuye drásticamente cuando se encendió la luz solar artificial en el minuto 10. Los siguientes 180 minutos bajo radiación UV-Visible, el NO gaseoso fue aparentemente oxidado a NO₂, pero la leve variación de este gas sugiere que el NO₂ (línea amarilla) fue a su vez transformado en NO₃⁻. La forma de la curva de NO varía para las distintas muestras de suelo, probablemente por las diferencias en la difusión de los gases asociada a los distintos tamaños de partículas y la porosidad de los suelos. La cantidad de NO_x fijada a lo largo del experimento también varía claramente entre las muestras sometidas al experimento, pero es notablemente superior en suelos ricos en Ti y Fe.

Actualmente se pretende completar los análisis de fotocatalisis de estas 10 muestras de suelo, más el análisis posterior de nitratos.

Bibliografía:

- [1] P. J. Crutzen, *Annu. Rev. Earth Planet. Sci.* 7, (1979)
- [2] (J. Balbuena, M. Cruz-Yusta, *L. J. Nanosci. Nanotechnol.* 15, (2015).
- [3] S. Xiao et al., *Nanoscale* 8, 2899–2907 (2016).
- [4] Klute et al., *Methods of soil analysis. Part 1. Physical and mineralogical methods.* (American Society of Agronomy, Soil Science Society of América, Madison, 1986)
- [5] S. J. Gregg, K. S. W. Sing, *Adsorption, surface area and porosity* (Academic press, 1982)

Joaquín Garrido Zafra

Capítulo 30. PWM aleatorio mediante FPGA para reducir la emisión de supra-armónicos en controladores LED

Universidad de Córdoba. Escuela Politécnica Superior. Departamento de Arquitectura de computadores, Electrónica y tecnología Electrónica.

Dirección: Leonardo Da Vinci, Campus de Rabanales. E-mail: p22gazaj@uco.es

Resumen

La técnica PWM es la más usada en fuentes de alimentación conmutadas para la obtención de una señal de corriente continua con un valor medio diferente al de la señal de entrada. La distorsión armónica producida por estos dispositivos típicamente se situaba en el rango que va desde la frecuencia fundamental hasta los 2 kHz, de ahí que su estudio se hiciera prioritario para reducir el impacto que tales frecuencias producían en otros dispositivos electrónicos susceptibles conectados a la red. El rango de los “supra-armónicos” comprende desde los 2 kHz hasta los 150 kHz [1]. Sin embargo, este rango ha sido ignorado casi completamente hasta ahora debido al reducido efecto que se pensaba que tenía en los dispositivos electrónicos conectados a la red. El reciente aumento de la frecuencia de conmutación y la expansión del número de dispositivos electrónicos tales como los empleados en iluminación LED, han hecho que se tengan que estudiar con más profundidad el rango de armónicos de 2-150 kHz en el que emiten este tipo de dispositivos [2]. El objetivo es reducir en origen los supra-armónicos. Para ello, se han implementado en un controlador LED las técnicas aleatorias recogidas en la tabla 1 [3].

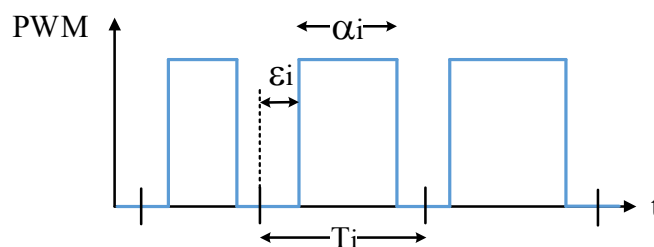


Figura 1. Señal de conmutación en el esquema de modulación aleatoria

Tabla 1. Resumen de las técnicas de modulación empleadas

Modulación	T_i	α_i	ϵ_i	$di=\alpha_i/T_i$
PWM	fijo	fijo	cero	fijo
RCFMFD	aleatorio	aleatorio	cero	fijo
RPPM	fijo	fijo	aleatorio	fijo

Sección 5. Ingeniería y tecnología - Capítulo 30. PWM aleatorio mediante FPGA para reducir la emisión de supra-armónicos en controladores LED

Fundamento y presentación de resultados

Para estudiar la efectividad de estas técnicas de modulación, se ha empleado el prototipo de convertidor Boost de la figura 2 como controlador LED operando en modo de corrección activa del factor de potencia a una frecuencia de conmutación de 25kHz. El algoritmo de control se ha implementado en la FPGA embebida en la plataforma CompactRIO 9063 de National Instruments. La medida de corriente se ha realizado en el secundario del transformador debido a su mayor amplitud respecto a la del primario.

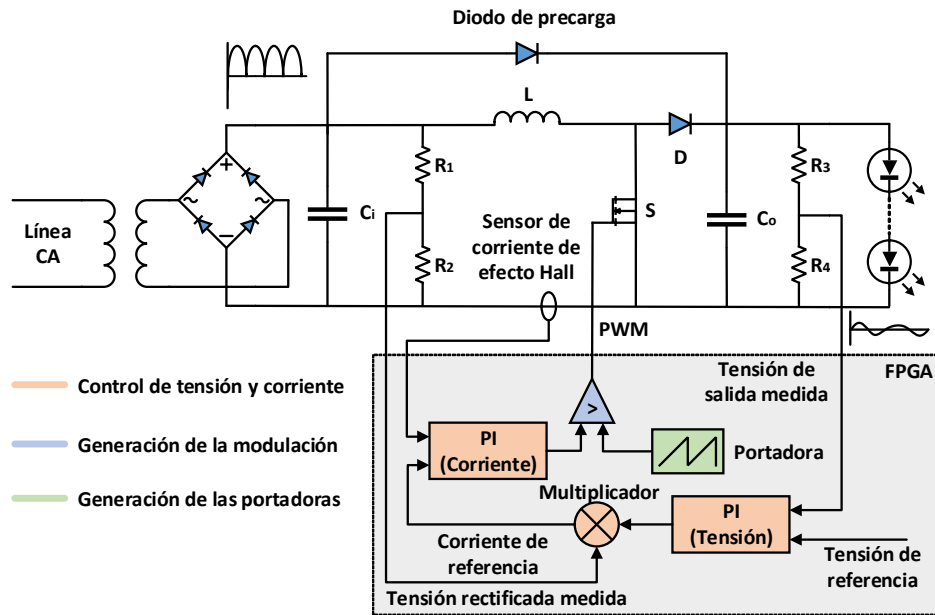


Figura 2. Estrategia de control para el controlador LED Boost empleado

La naturaleza de la técnica PWM convencional es periódica, esto provoca que la energía de la señal se concentre casi exclusivamente en ciertas frecuencias múltiplos de la frecuencia de conmutación denominados armónicos dominantes tal y como puede apreciarse en la figura 3.

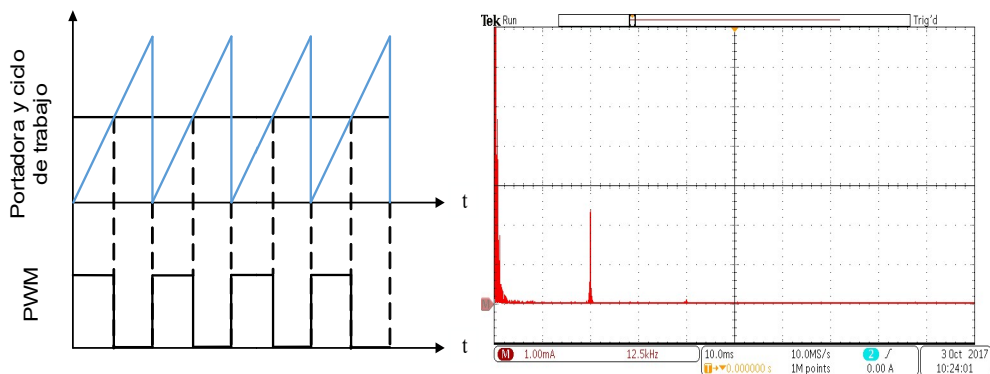


Figura 3. Aspecto de la modulación y espectro de la corriente para el PWM convencional

Para reducir la amplitud de estos armónicos, en la figura 4, se propone incorporar la aleatoriedad a la frecuencia de la portadora modulando entre los límites $\pm 10\%$. El resultado es una reducción del 75,8 % en la componente a la frecuencia de

Sección 5. Ingeniería y tecnología - Capítulo 30. PWM aleatorio mediante FPGA para reducir la emisión de supra-armónicos en controladores LED

conmutación, así como la aparición de una componente a la mitad de esta frecuencia con una amplitud que representa el 25 % de la componente a 25 kHz en el PWM convencional que, en adelante, se tomará como referencia. Se produce también un aumento del ancho de banda en cada componente como era de esperar debido a la propagación espectral.

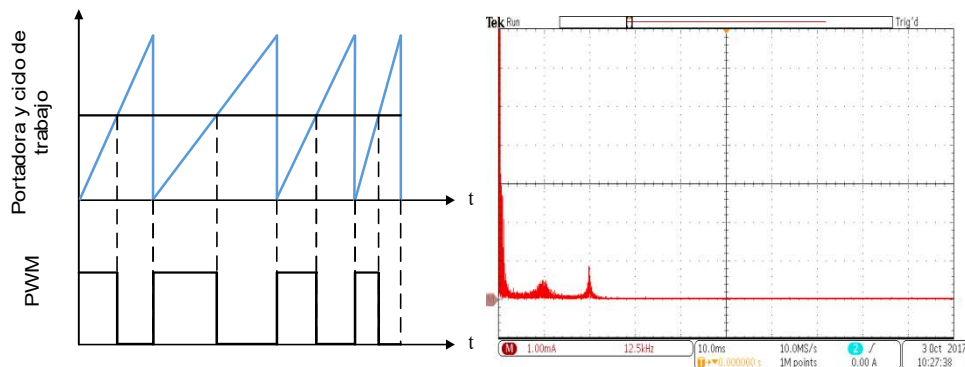


Figura 4. Aspecto de la modulación y espectro de la corriente en la técnica RCFMFD

Las técnicas basadas en la variación aleatoria de la posición del pulso en la señal de conmutación (RPPM) [3] ofrecen una alternativa más eficaz, mitigando considerablemente los armónicos situados en el rango de los supra-armónicos. Mediante el empleo de la primera variante RPPM1, figura 5, se consigue eliminar la componente a 25 kHz representando ahora la presente a 12,5 kHz un 52 %. El aumento del ancho de banda de esta componente es también bastante notable.

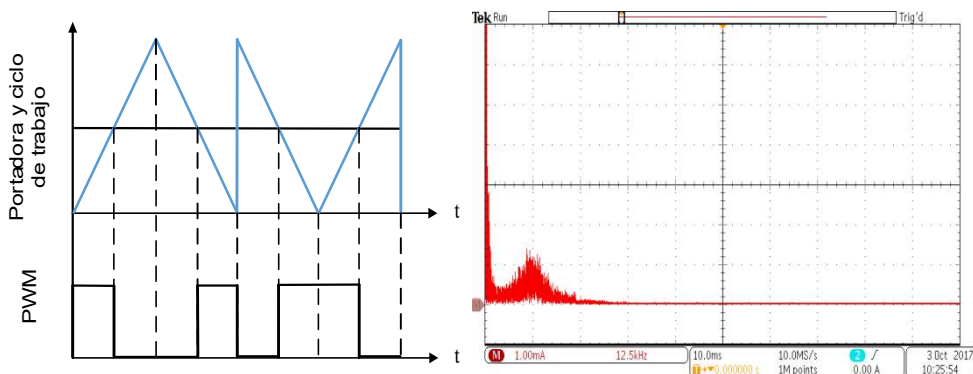


Figura 5. Aspecto de la modulación y espectro de la corriente para la técnica RPPM1

La variante RPPM2 por su parte, presenta los mejores resultados como se puede ver en la figura 6, la componente a 25 kHz es eliminada por completo y la situada en 12,5 kHz supone un 12,2 % de la de referencia en el PWM convencional.

Sección 5. Ingeniería y tecnología - Capítulo 30. PWM aleatorio mediante FPGA para reducir la emisión de supra-armónicos en controladores LED

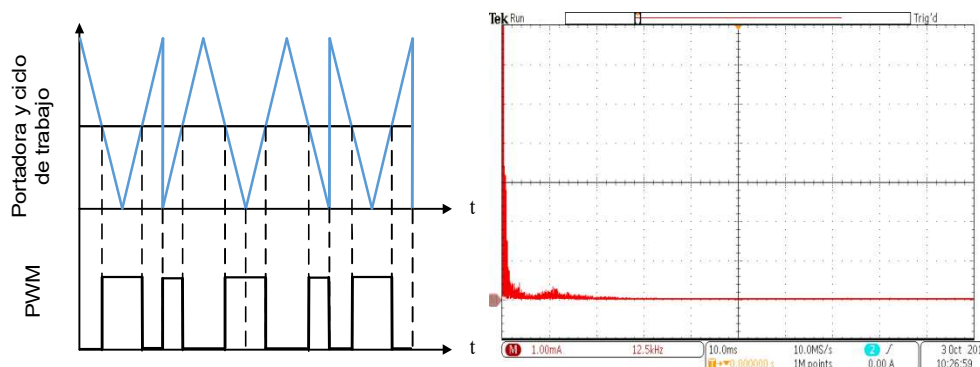


Figura 6. Aspecto de la modulación y espectro de la corriente para la técnica RPPM2

Bibliografía

- [1] Bollen, M.; Olofsson, M.; Larsson, A.; Ronnberg, S.; Lundmark, M. "Standards for supraharmonics (2 to 150 kHz)" *Electromagnetic Compatibility Magazine*, IEEE, Issue Date: 1st Quarter 2014
- [2] Sarah K. Rönnberg, Mats Wahlberg, Math H.J. Bollen "Total conducted emission from a customer in the frequency range 2 to 150 kHz with different types of lighting", in *Proceedings of CIRED 21st International Conference on Electricity Distribution*, Frankfurt, Germany, 2011
- [3] Y. S. Lai, Y. T. Chang and B. Y. Chen, "Novel Random-Switching PWM Technique With Constant Sampling Frequency and Constant Inductor Average Current for Digitally Controlled Converter," in *IEEE Transactions on Industrial Electronics*, vol. 60, no. 8, pp. 3126-3135, Aug. 2013.
- [4] S. K. Rönnberg, A. G. d. Castro, A. Moreno-Munoz, M. H. J. Bollen and J. Garrido, "Solar PV inverters supraharmonics reduction with random PWM," 2017 11th IEEE International Conference on Compatibility, Power Electronics and Power Engineering (CPE-POWERENG), Cadiz, 2017, pp. 644-649.

Manuel Lara Ortiz

Capítulo 31. Diseño de un sistema de control multivariable para un DFIG

*Universidad de Córdoba. Facultad /Escuela Politécnica Superior de Córdoba.
Departamento de Informática y Análisis Numérico.*

Dirección: Campus de Rabanales, Edificio Leonardo Da Vinci, Córdoba, España.

E-mail: p12laorm@uco.es

Resumen

Este documento presenta la descripción del trabajo desarrollado sobre una planta de laboratorio experimental, sobre la que se ha implementado un emulador de una turbina eólica. La planta se compone fundamentalmente de un generador de inducción doblemente alimentado (DFIG) de pequeña potencia, cuyo eje de rotación es solidario con un servomotor brushless de corriente continua que actúa de motor de arrastre simulando el par aerodinámico. El objetivo principal desarrollado en este trabajo es la implementación de una estructura de control multivariable descentralizado que permita regular eficientemente las principales variables que intervienen en un aerogenerador de velocidad variable, partiendo de un modelo no lineal del mismo. Este objetivo principal se divide en tres objetivos secundarios (creación de un modelo acorde a las características de la planta, diseño de lazos de control para las distintas variables a controlar en un DFIG y comunicación en tiempo real con todos los dispositivos de la planta).

Fundamentos

La energía eólica se ha convertido en la tecnología de generación eléctrica renovable más prometedora. En la Unión Europea, desde 1990 se ha mantenido un crecimiento anual del 20% en la producción de energía eólica. En España, la energía procedente por parte del viento supone un 19,54% de la cobertura de la energía actual, situándose incluso por delante de energías tradicionales como el carbón [1].

Para que esta fuente alternativa de energía siga siendo viable, es necesario que los generadores eólicos continúen mejorando y también sus sistemas de control. Disponer de un sistema que represente un aerogenerador sin depender físicamente de los recursos naturales del viento y de una turbina real, resulta esencial [2]. En los últimos años, ha habido un avance importante en el desarrollo de emuladores eólicos [3], [4]. La mayoría de ellos reproducen bastante bien el comportamiento mecánico de los sistemas de pitch. La tecnología predominante en la industria eólica es el generador de inducción doblemente alimentado (DFIG). En este trabajo se presenta un emulador de planta eólica de velocidad variable basado en este tipo de generadores.

Sección 5. Ingeniería y tecnología - Capítulo 31. Diseño de un sistema de control multivariable para un DFIG

La planta experimental con la que se ha trabajado está dotada de una componente eléctrica que reproduce con gran fidelidad los principales aspectos de los aerogeneradores de gran potencia mediante el uso del DFIG y su convertidor de potencia. Sin embargo, carece de toda la parte aerodinámica-mecánica de los aerogeneradores reales. Para paliar esta carencia se ha desarrollado una capa software adicional implementada en Simulink, la cual permite emular el comportamiento mecánico del aerogenerador.

El modo de funcionamiento de todo aerogenerador es dependiente de la intensidad de la velocidad del viento. Fundamentalmente se distinguen tres regiones de operación: En la región I (zona Maximumpowerpoint tracking (MPPT)) el aerogenerador opera a potencia mecánica subnominal y el objetivo es extraer toda la energía posible para cada velocidad de viento con objeto de mejorar la eficiencia. En la región III (zona nominal) el viento ha alcanzado una velocidad lo suficientemente alta para que la potencia producida se encuentre en niveles nominales. El objetivo en esta zona es mantener ese nivel de producción energética ante cualquier perturbación del viento para evitar posibles sobrecargas y fatigas estructurales. La región II es una región de transición entre ambas zonas.

Metodología

A partir del sistema emulado comentado en el apartado anterior, se pasa a describir de manera escueta las etapas en las que se ha dividido el trabajo realizado.

Para la parte de modelado se ha diseñado un bloque Simulink que emula las condiciones mecánicas y aerodinámicas de un modelo de aerogenerador acorde a las características reales de la planta 1 kW. Para emular las condiciones aerodinámicas se ha tenido en cuenta ciertos parámetros del aerogenerador emulados, como pueden ser el radio del rotor, el ángulo de paso de pala, la velocidad del viento, etc, además de conceptos fundamentalmente aerodinámicos como el límite de Betz [5], coeficiente de velocidad específica, y curvas de superficie del coeficiente de potencia C_p desarrolladas en [6]. Para emular las condiciones mecánicas se ha tenido en cuenta el modelo matemático del mecanismo de rotación tomando como referencia algunos modelos reportados en la literatura [7], simplificando el modelo inicial de dos masas a un modelo de una masa más simple. El viento es emulado por la superposición de cinco componentes: valor promedio, una componente rampa, una componente de ráfaga, una componente de ruido o turbulencia y una componente sinusoidal.

La implementación del control sobre la planta consta de diferentes lazos. Control en la zona nominal con el diseño de un controlador en Simulink y una búsqueda de control óptimo sobre el par aerodinámico a través del ángulo de paso de pala. Para ello se realiza varios tipos de controladores (PI, MPC) teniendo en cuenta o no la perturbación del viento. Se implementan los controladores PI y MPC con y sin feedforward en Simulink, buscando la mejor parametrización posible de los parámetros (K_p , T_i) y (N_c , N_p , λ , δ) que obtengan un índice IAE lo más bajo posible, gracias a la utilización de la herramienta PID Tuner de Matlab y de los algoritmos genéticos de la toolbox de Matlab Optimtool. Control en la región de MPPT en el que para cada velocidad de viento se establece una determinada velocidad angular en el eje de alta y

Sección 5. Ingeniería y tecnología - Capítulo 31. Diseño de un sistema de control multivariable para un DFIG

baja velocidad para conseguir producir la máxima potencia posible en ese punto de operación. Esto se consigue modificando el par electromagnético del Inverter (tensión que se aplica al rotor del DFIG). Control de la potencia reactiva generada en el estator (Q_s) y en el rotor (Q_r) a través de lazos de control con la herramienta PID Tuner de Matlab. Control sobre la tensión que se genera a través del estator a la hora de conectar el DFIG a la red para que la tensión esté en sincronía en frecuencia, fase y amplitud con la tensión de la red a través del control de la amplitud (V_r) y frecuencia (f_r) de la tensión aplicada al rotor.

Presentación de resultados

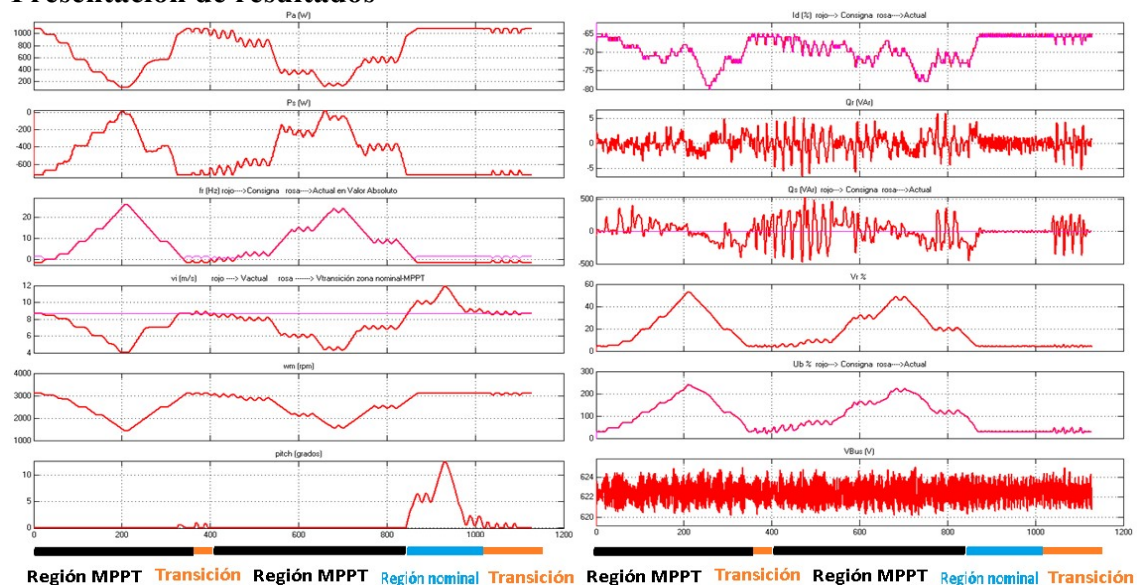


Figura 1. Control descentralizado en la planta experimental

Se realiza un ensayo (Figura 1) en el que sometemos el modelo de la planta ante un viento que recorra todas las regiones de operación.

En la primera parte (0- 350 s) y tercera parte del ensayo (400- 850 s) nos movemos dentro de la región MPPT. Principalmente actúa el control sobre el par electromagnético buscando los MPPT para cada velocidad de viento. En la segunda parte (380- 400 s) y quinta parte (1000-1150s) del ensayo nos movemos en una zona de transición entre la región MPPT y la nominal. El control sobre el par aerodinámico actúa de manera intermitente alternándose con el controlador sobre el par electromagnético buscando los MPPT. En la cuarta parte (850-1000s) del ensayo nos movemos dentro de la región nominal. Principalmente actúa el control sobre el par aerodinámico buscando no sobrepasar la potencia aerodinámica para cada velocidad de viento a través de la variable pitch (emulada). Además, se puede observar un buen control de Q_s y Q_r .

Conclusiones

En este trabajo se ha construido un banco de pruebas que permite emular el funcionamiento de un aerogenerador VS-VP experimental de tecnología similar a los

Sección 5. Ingeniería y tecnología - Capítulo 31. Diseño de un sistema de control multivariable para un DFIG

equipos de mediana y gran potencia, y sobre el cual es posible aplicar diferentes estrategias de control y extrapolar los resultados hacia otros equipos de mayor potencia. Como muestra el ensayo de la figura 1, queda reflejado que la planta es controlada eficazmente siguiendo las referencias asignadas por los controladores para cualquier velocidad de viento. En cuanto a la búsqueda de un controlador óptimo en la zona nomina, tras sintonizar los parámetros de los controladores individualmente ha quedado de manifiesto que para el aerogenerador diseñado, los mejores controladores que obtiene un IAE más bajo son el PI con feedforward y MPC Matlab toolbox optimizando en un 29% dicho índice al tradicional PI.

La beca cursada a dado pie a la participación del alumno en el congreso “XXXVIII Jornadas de Automática” con artículo y póster.

Bibliografía

- [1] AEE (2015), Eólica'15, Asociación Empresarial Eólica.
- [2] Vaheeshan, J., Vihirthanath, V., Abeyaratne, S. G., Atputharajah, A., & Ramatharan, G. (2011). Wind Turbine Emulator. In: 6th IEEE International Conference on Industrial and Information Systems (ICIIS), 511-516.
- [3] Pena, R., Clare, J.C., Asher, G.M., Doubly-fed induction generator using back-to-back PWM converters and its application to variable-speed wind-energy generation, IEE Proc.-Electr. Power Appl., vol. 143, No. 3, May 1996, pp. 231–241.
- [4] A. Sajadi, à. Rosáaniec, M. Káos, P. Biczal, and K. A. Loparo, An emulator for fixed pitch wind turbine studies, Renewable Energy, 2016, vol. 87, issue P1, 391-402
- [5] M. González, F. Vázquez, and F. Morilla, Control Multivariable Centralizado con Desacoplo para Aerogeneradores de Velocidad Variable, Revista Iberoamericana de Automática e Informática Industrial RIAI, 2010, vol: 7, Issue: 4, Page: 53-64.
- [6] Khan, M.J. & Iqbal, M.T., Analysis of a small wind-hydrogen stand-alone hybrid energy system, Applied Energy, Elsevier, 2009, vol. 86(11), pages 2429-2442, November.
- [7] B. Boukhezzar, L. Lupu, H. Siguerdidjane, M. Hand, Multivariable control strategy for variable speed, variable pitch wind turbines, Renew. Energy, 32 (8) (2007), pp. 1273-1287

Sección 5. Ingeniería y tecnología - Capítulo 32. Morteros industriales realizados con aguas procedentes de EDAR

David Motos Pérez, Álvaro Romero Esquinas y José María Fernández Rodríguez

Capítulo 32. Morteros industriales realizados con aguas procedentes de EDAR

Universidad de Córdoba. Escuela Politécnica Superior de Belmez. Departamento de Química Inorgánica e Ingeniería Química.

Dirección: Avenida de la Universidad s/n, Belmez. E-mail: p22moped@uco.es

Resumen

En la situación de crecimiento mundial actual, la industria de la construcción también debe contribuir a la búsqueda de un mundo más sostenible, por ello este estudio busca reducir el consumo de agua potable. La investigación consta del estudio de tres morteros, elaborados con la misma dosificación, constituidos por aguas diferentes; uno con agua bruta de entrada en una EDAR, otro con el agua efluente de esa misma EDAR, y el último fabricado con una mezcla de agua 50% de cada una de las anteriores. Además, se analizaron las características de las tres aguas del presente estudio que según la EHE-08 cumplen los requerimientos para su utilización en la elaboración de morteros. Los resultados fueron comparados con un mortero de referencia fabricado con agua potable. Los resultados obtenidos para los tres morteros son todos muy próximos, lo que indica que estas aguas procedentes de EDAR pueden ser utilizadas satisfactoriamente.

Fundamento y presentación de resultados

Dado el enorme crecimiento global tanto demográfico como tecnológico y teniendo en cuenta que el hormigón, compuesto por una mezcla de materiales ampliamente presentes en la naturaleza y que debido a su versatilidad, altas resistencias mecánicas y relativo bajo costo, es el material de construcción más usado a nivel mundial para satisfacer las necesidades inherentes a esa evolución, hasta el punto de ser el material más consumido después del agua [1], nace la necesidad de reducir el consumo de agua potable. Este estudio se centra en estudiar una alternativa a la utilización del agua potable en la construcción y así aumentar la disponibilidad de este recurso para otros usos de primera necesidad.

Se investiga la influencia de las características del agua en el comportamiento de morteros para posibilitar la utilización de aguas de “menor calidad” en la elaboración de estos. Así, se utilizaron tres aguas:

- ARB: Agua bruta que entra en EDAR.
- AR: Agua depurada que sale de EDAR
- ARM: Agua compuesta por mezcla 50% que entra a EDAR y 50% que sale de EDAR.

Sección 5. Ingeniería y tecnología - Capítulo 32. Morteros industriales realizados con aguas procedentes de EDAR

Se analizaron las características principales de las distintas aguas, para determinar si su utilización está permitida en la elaboración de morteros según la EHE-08. En estudios previos se demostró que la utilización de agua efluente, de una planta de depuración de una industria pesada, que se encontraba por encima de los límites que la instrucción EHE-08 establecía, resultó incluso más favorable para las características de un hormigón que el agua potable [2]. En la tabla 1 se muestran los resultados obtenidos para las distintas concentraciones, incluyendo además de las aguas anteriormente descritas, el agua potable de referencia y los límites que establece la EHE-08.

Tabla 1. Caracterización de aguas

Parámetro	Límite EHE-08	AP	AR	ARB	ARM
pH	≥ 5	7,3	7,9	7,8	6,8
Cloruros (ppm)	15.000	16	69	47	40
Sulfatos (ppm)	1.000	63	117	104	111
Residuo seco (ppm)	1.000	126	725	755	580

Como se comprueba en la tabla anterior, no existe una correlación entre las características del agua de mezcla y las aguas primitivas que la compone, además se observa que los parámetros de todas las aguas están muy por debajo de los límites establecidos por la norma, y que a su vez el agua potable es la que posee unos parámetros aparentemente más ventajosos.

En cuanto a la elaboración de los morteros, todos fueron elaborados con la misma dosificación, una parte de cemento por cada cuatro partes de arena, sin utilización de filler.

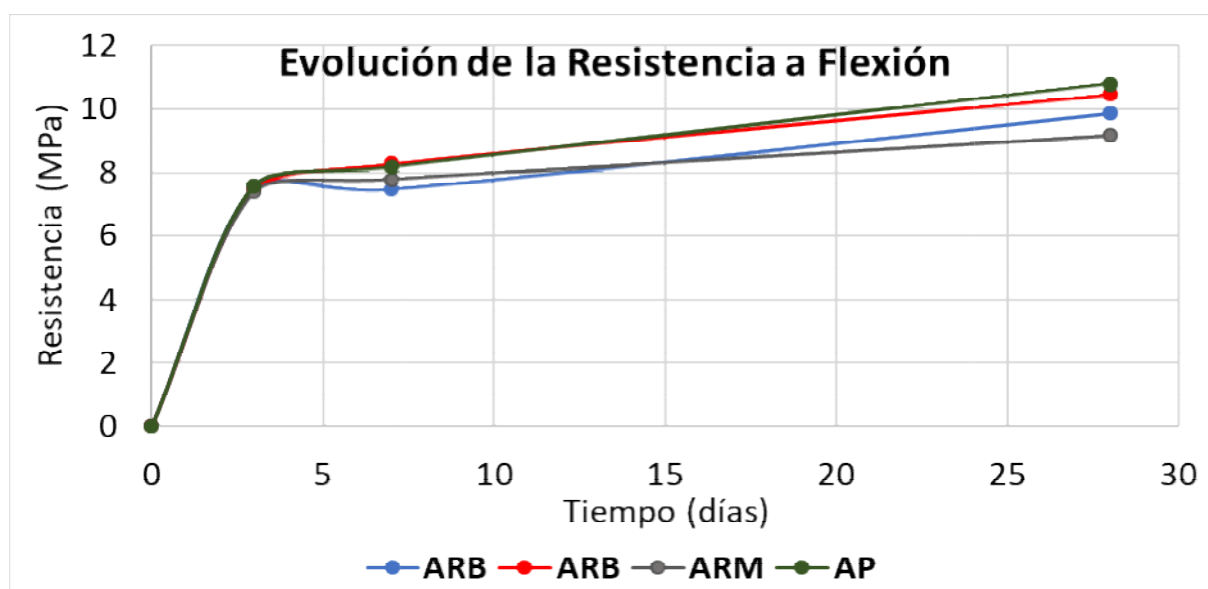


Figura 1. Evolución de la resistencia a flexión

La denominación de cada probeta va a concordar con la denominación del agua de amasado utilizada para su elaboración.

Sección 5. Ingeniería y tecnología - Capítulo 32. Morteros industriales realizados con aguas procedentes de EDAR

La figura 1, muestra la evolución de la resistencia a flexión de las distintas probetas ensayadas, así como la figura 2 indica la evolución de la resistencia a compresión de cada una de estas.

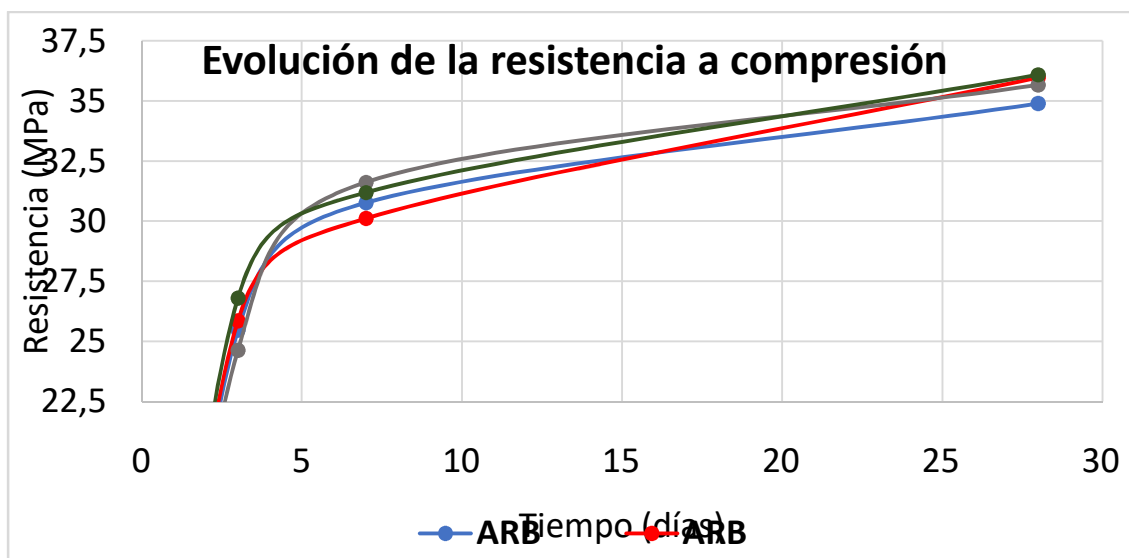


Figura 2. Evolución de la resistencia a compresión

Como se contempla en las figuras anteriores no se puede concluir que los distintos parámetros del agua tengan una correspondencia fehaciente con el comportamiento del mortero elaborado con estas [3]. Si se puede concluir que la resistencia a 28 días se ve disminuida muy ligeramente conforme aumenta la contaminación del agua de amasado empleada para su fabricación [4], aunque cabe destacar que a 7 días la resistencia a compresión del mortero con agua de mezcla es incluso superior a la resistencia del mortero referencia.

Los valores de comportamiento son muy próximos, incluso con los morteros fabricados con el agua que entra a la EDAR, resultados que a su vez son muy interesantes ya que en lugares donde el agua potable es un recurso muy escaso podría suponer una ventaja a la hora de utilizar morteros fabricados con agua bruta. Así se abre una línea de investigación para estudiar también su posible utilización en hormigones.

Bibliografía

- [1] Informe del desarrollo sustentable, Cemex, 2006.
- [2] Noruzman, AinulHaezah, et al. Characteristics of treated effluents and their potential applications for producing concrete. *Journal of environmental management*, 2012, vol. 110, p. 27-32.
- [3] Ghair, Ayoup M., et al. Influence of grey water on physical and mechanical properties of mortar and concrete mixes. *Ain Shams Engineering Journal*, 2016.
- [4] Al-jabri, K. S., et al. Effect of using wastewater on the properties of high strength concrete. *Procedia Engineering*, 2011, vol. 14, p. 370-376.

Juan Antonio Muñoz Navarro

Capítulo 33. Modelizar el fuego: los Incendios Forestales y su propagación

Universidad de Córdoba. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y de Montes. Departamento de Ingeniería Forestal.

Dirección: Francisco Rodríguez y Silva. E-mail: o12munaj@uco.es

Resumen

Los Incendios Forestales constituyen un fenómeno natural que ha sufrido una importante proliferación con la aparición del ser humano (~2000%) y se prevé que continúen aumentando ante el cambio climático y las tendencias actuales de la sociedad. Un mayor conocimiento de sus mecanismos de propagación y sus efectos sobre el entorno permite realizar una toma de decisiones tanto en la prevención como en la extinción más acorde a la realidad, con el beneficio que esto conlleva para el medio natural, la sociedad y la seguridad de las personas involucradas. En la presente comunicación se exponen algunos de los resultados obtenidos durante las quemaduras controladas experimentales en alta intensidad realizadas en los parajes de Los Boquerones (Córdoba), El Cinchal (Cádiz) y el Campus de Rabanales (Córdoba), detallándose el efecto que el fuego provoca sobre la meteorología local (temperatura, humedad relativa y velocidad y dirección del viento). También se ofrece una relación entre las características de las masas de coníferas, el efecto del viento y la propagación de los incendios. Estos estudios se adscriben al proyecto RTA 2014-00011-C06-03 titulado “Reducción de la Severidad del Fuego Mediante Nuevas Herramientas y Tecnologías de Gestión Integrada de la Protección contra los Incendios Forestales (GEPRIFF)”.



Fundamentos

Los Incendios Forestales constituyen un fenómeno de gran importancia, tanto por sus efectos ecológicos sobre el medio natural como por el elevado impacto económico que presentan (~700M € tan solo en labores de extinción). Este fenómeno ha ocurrido a lo largo de la historia de nuestro planeta de manera natural, lo que ha implicado la adaptación de las especies; la proliferación del hombre por el planeta ha provocado, sin embargo, un fuerte incremento del número de incendios forestales por causas humanas, llegando a suponer en términos generales un incremento del 2000% en el número de sucesos. Esto se ha visto agravado por i) el cambio climático y por ii) los cambios en la sociedad, que tiende al éxodo rural, dando lugar a un abandono de las actividades tradicionales del monte y a una acumulación de materiales vegetales combustibles. La lucha contra los Incendios Forestales se encauza en tres líneas: la concienciación social, la prevención forestal y la extinción del propio incendio. En el marco de la II convocatoria de becas “Semillero de Investigación” y relacionado con el proyecto RTA 2014-00011-C06-03 titulado “Reducción de la Severidad del Fuego Mediante Nuevas Herramientas y Tecnologías de Gestión Integrada de la Protección contra los Incendios Forestales (GEPRIF)” el autor de la presente comunicación ha profundizado en las dos últimas de estas tres líneas durante la colaboración con el Laboratorio de Incendios Forestales (LABIF) de la Universidad de Córdoba mediante el estudio del rozamiento de las masas de coníferas sobre la velocidad del viento (Coeficiente de Fricción o WAF), con el subsiguiente efecto en las velocidades de propagación del incendio y el estudio del efecto de la energía desprendida por el propio incendios sobre la meteorología del entorno.

Metodología

Se han perseguido dos propósitos con dos líneas metodológicas diferenciadas:

- a) Estudio del rozamiento de las masas de coníferas sobre la velocidad del viento. Se realizó una caracterización minuciosa de las masas forestales en parcelas modelo de la Sierra de Los Filabres (Almería) y se correlacionó con las velocidades del viento monitorizadas en diversos puntos de dichas parcelas.
- b) Estudio del efecto de las masas de aire sobre el comportamiento del fuego y viceversa. El efecto de las masas de aire sobre el comportamiento de un frente de llamas, así como el estudio del efecto de la energía desprendida por un frente de llamas sobre las masas de aire se ha realizado mediante la distribución a distintas alturas y en distintos puntos del espacio de estaciones meteorológicas durante el desarrollo de quemas controladas experimentales con el apoyo del Plan INFOCA.

Resultados

- a) El estudio del efecto de las distintas características de las masas de coníferas sobre la proporción entre el viento general y el viento a ras de suelo (altamente influyente en la propagación del fuego) muestra diversas relaciones, destacándose la relación logarítmica respecto a la densidad de las copas de los árboles (Figura 1).

Estas relaciones suponen una herramienta útil para el gestor forestal de cara a la planificación de la prevención contra incendios y el dimensionamiento de los aprovechamientos forestales. Este estudio fue publicado en el 7º Congreso Forestal Español [1].

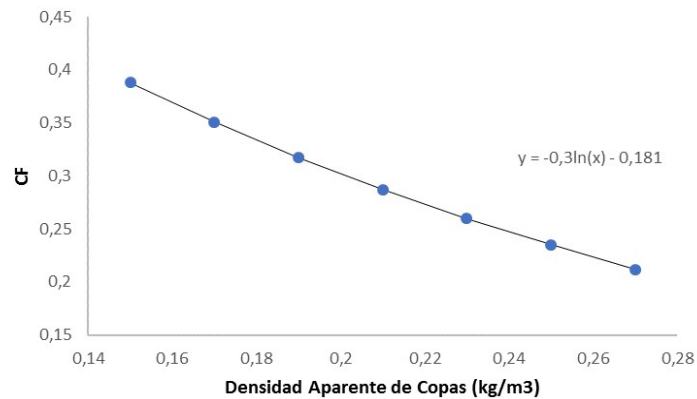


Figura 1. Relación entre la densidad de las copas ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$) en el eje de abscisas y el coeficiente de fricción en el eje de ordenadas (adimensional). $R^2 = 0,89$. $\varepsilon = 0,06(\pm 0,03)$.

- b) El estudio del efecto de la energía desprendida por un Incendio Forestal muestra para el caso de estudio cómo el fuego genera su propio clima a medida que evoluciona, interactuando con el entorno, produciendo variaciones en la temperatura (Figura 2), humedad relativa y velocidad del viento. El fuego se comporta como un centro de bajas presiones, que calienta el aire que le rodea y lo hace ascender (Figura 3). Este fenómeno genera unas corrientes de succión hacia el incendio, para ocupar el aire que anteriormente se encontraba allí.

Sección 5. Ingeniería y tecnología - Capítulo 33. Modelizar el fuego: los Incendios Forestales y su propagación

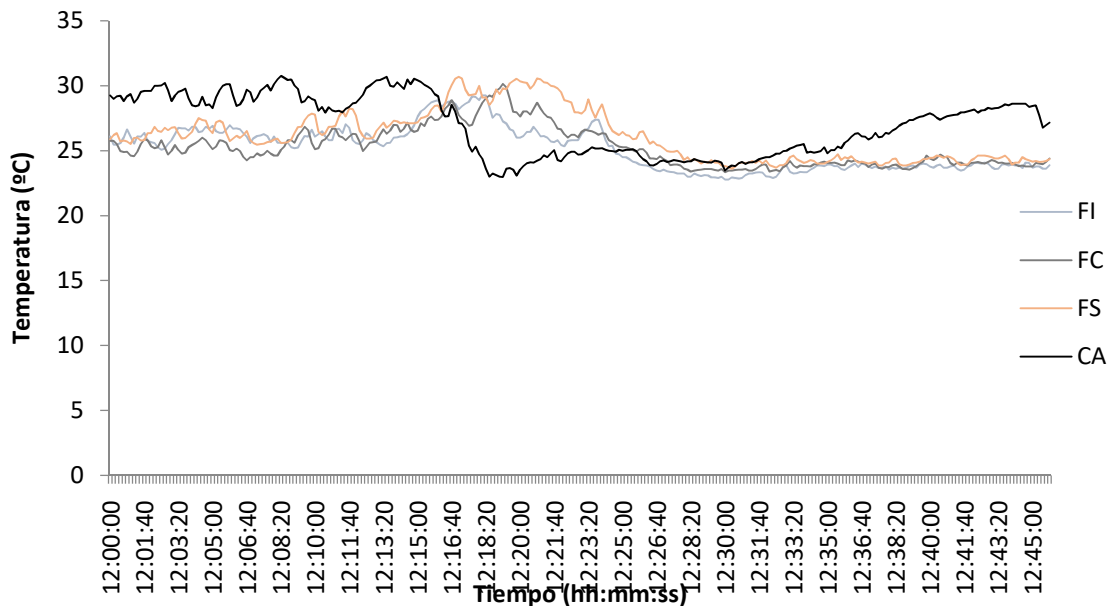


Figura 2. Variación de la temperatura (°C) a nivel del suelo a lo largo de la duración del experimento en la parte inferior del flanco (FI), en la parte media del flanco (FC), en la parte superior del flanco (FS) y en la cabeza de la propagación (CA).

De cara a las temperaturas, en el flanco, la temperatura sube rápidamente (12:15) para caer progresivamente hacia la temperatura original al disolverse la columna de humo (11:28). Por su parte, en la cabeza a nivel del suelo se sufre al inicio un calentamiento debido a la ascensión del aire caliente pegado a la ladera (12:16), hasta que el aumento de la energía liberada es capaz de consolidar una columna convectiva, despegando el aire caliente de la ladera y produciéndose una succión de aire frío a ras de suelo, puesto que el aire caliente se encuentra en altura. Es por ello que se produce un descenso en los registros tomados en divisoria, coincidente con los máximos de temperatura en el resto de puntos. La

extinción del frente de llamas (11:28) produce una disipación del fenómeno. En términos generales se puede indicar que la quema creó su propio ambiente de fuego, con un ascenso del aire caliente hacia las capas superiores, generando una columna convectiva de entidad y produciendo un enfriamiento del aire en la parte inferior de la parcela. Se pudo apreciar una diferencia máxima



Figura 3. Columna convectiva en la quema experimental de Los Boquerones (Córdoba)

de 15 grados entre los registros de una y otra estación durante el desarrollo de la columna de humo.

En la humedad relativa el efecto de la succión del frente y ascenso del aire caliente por medio de la columna convectiva adquirió mayor importancia. Se constató un cambio en la cabeza de la propagación desde aproximadamente el 30% a más del 75%. Las oscilaciones de la humedad fueron periódicas en cabeza, no siendo la humedad regular o constante como las estaciones de flanco. La dirección del viento muestra una homogeneización distendida en el tiempo, por la cual las estaciones en el flanco se alinean con el frente de llamas cuando este sobrepasa su posición. Más especial es la situación de la estación en la divisoria o cabeza, respecto a las estaciones de flanco. En este caso, se presenta un mayor retraso temporal y los cambios son más acusados, indicando más claramente la posición de la columna convectiva al verse afectada por una de las corrientes de aire frío que alimentan la reacción de combustión debido a la succión del fuego como centro de bajas presiones, puesto que el aire caliente ha ascendido configurando la columna convectiva.

Conclusiones

El estudio en profundidad tanto de los incendios forestales en sí mismos, como de los elementos del entorno que influyen en su propagación es clave para minimizar los daños y perjuicios futuros. En este sentido, la relación entre el coeficiente de fricción y las características de la masa permitirá a los gestores forestales realizar una prevención más efectiva en materia de incendios forestales, permitiendo evitar la ocurrencia de fenómenos altamente exotérmicos de incendios de copa. El estudio de la meteorología del incendio y la interrelación que presenta con el propio incendio es clave para poder predecir, en un futuro, la ocurrencia de fenómenos extremos que pongan en riesgo la vida de los combatientes y de la población en general.

Bibliografía

[1] J.R. Molina, J.A. Muñoz, F. Rodríguez y Silva, 7º Congreso Forestal Español (2017). Análisis integral de la apertura de masas arbóreas: densidad aparente de copas versus velocidad del viento a media llama.

