



TECNOLOGÍA *en marcha*

Contenido

Enfermedades de transmisión sexual y salud sexual del costarricense.

Tema II. Sífilis y gonorrea

Sexually Transmitted Diseases (STDs) and Sexual Health in Costa Rica

Topic II. Syphilis and Gonorrhoea

William Gutiérrez-Sandí, Jorge Chaverri-Murillo,

Jorge Eduardo Navarro-Cruz 3

Comparación interlaboratorial de medición de energía eléctrica 2014

2014 Electrical Energy Measurement Interlaboratory Comparison

Saúl Magaña-Godoy, Isabel Castro-Blanco, Harold Sánchez-Vargas 16

Estudio sobre la concentración de nitratos en los principales acuíferos del Valle Central de Costa Rica, periodos 1989-2005 y 2006-2015

Nitrate concentration within the principal aquifers in the Central Valley of Costa Rica, 1989-2005 to 2006-2015

Darner A. Mora-Alvarado, Nuria Alfaro-Herrera, Carlos Felipe

Portuguez-Barquero. 34

Degradación de bromacil mediante la cepa IT-01 de *Penicillium* spp. y su aplicación en un biofiltro a escala laboratorio

Bromacil degradation by IT-01 strain *Penicillium* spp. and its application in a laboratory scale biofilter

Emmanuel Campos-Vargas, Kenia Calvo-Romero,

Virginia Montero-Campos 47

Evaluación de la genética del gato doméstico (*Felis catus*) mediante genes del pelaje en Sahagún, Córdoba, Colombia

Evaluation of the genetics of domestic cats (*Felis catus*) through genes associated with coat in Sahagún, Córdoba, Colombia

Luis Alfonso Causil-Vargas, Enrique Pardo-Pérez,

Yonairo Manuel Herrera-Benavides 57

Identificación de secuencias génicas relacionadas con la ruta metabólica de síntesis de glicósidos en *Stevia rebaudiana*

Stevia rebaudiana genetic-sequences identification related with the glycosides synthesis pathway

Karol Jiménez-Quesada, Adriana Álvarez-Figueroa, Giovanni Garro-Monge..... 67

Producción heteróloga y caracterización bioquímica del procoagulante humano Factor VIII para ensayos de cristalización de macromoléculas proteicas

Heterologous production and biochemical characterization of human pro-coagulation Factor VIII for crystallization screening of protein macromolecules

Erick Hernández-Carvajal, Silvia Arce-Solano, Didier Mena-Aguila, Pablo Fuentes-Prior..... 78

Diseño de un sistema de adquisición de datos para fotogrametría con vehículos aéreos no tripulados (UAV)

Design of a Data Acquisition System for Photogrammetry with Unmanned Aerial Vehicles (UAVs)

Sergio Arriola-Valverde, Andrés Barahona-Contreras, Cornelia Miller-Granados, Renato Rimolo-Donadio 92

Estimación del potencial metanogénico de la codornaza considerando las variables de dilución, adición de nutrientes y codigestión

Estimation of the methanogenic potencial of codornaza considering the variables of dilution, nutrients addition and codigestion

Teresa Salazar-Rojas, María Porras-Acosta, Nicolás Vaquerano-Pineda, Alexia Quirós-Rojas 102

Situación actual de la gestión de los materiales de construcción en Costa Rica

Actual situation of construction materials management in Costa Rica

Lilliana Abarca-Guerrero, Ana Grettel Leandro-Hernández..... 111

Evaluación de tecnologías de sensores para la detección temprana de incendios forestales

Actual situation of construction materials management in Costa Rica

Néstor Hernández-Hostaller..... 123

Acciones para la Generación de un Manual de Organización Comunitaria: El Caso del Área Urbana de Montería

Actions for the generation of a community organization manual: the case of the urban area Montería

Jorge Villadiego-Lorduy, Dennis Huffman-Schwocho, Yhonathan Mendez-Nobles, Stalyn Guerrero-Gomez, Luis Javier Rodríguez-Vargas..... 139

Enfermedades de transmisión sexual y salud sexual del costarricense.

Tema II. Sífilis y gonorrea

Sexually Transmitted Diseases (STDs) and Sexual Health in Costa Rica

Topic II. Syphilis and Gonorrhea

William Gutiérrez-Sandí¹, Jorge Chaverri-Murillo²,
Jorge Eduardo Navarro-Cruz³

Fecha de recepción: 23 de mayo de 2016
Fecha de aprobación: 2 de agosto de 2016

Gutiérrez-Sandí, W; Chaverri-Murillo, J; Navarro-Cruz, J.
Enfermedades de transmisión sexual y salud sexual del
costarricense. Tema II. Sífilis y gonorrea. *Tecnología en
Marcha*. Vol. 29-4. Octubre-Diciembre 2016. Pág 3-15.

DOI: 10.18845/tm.v29i4.3033



- 1 Estudiante de Licenciatura en Medicina y Cirugía, Universidad Internacional de las Américas, San José. Costa Rica. Correo electrónico: wgutierrez@hotmail.com
- 2 Médico Asistente del Servicio de Infectología, Hospital Rafael Á. Calderón Guardia (HRCG), San José. Director de la Cátedra de Medicina Interna, UNIBE. HRCG. Profesor de Pregrado, Facultad de Medicina, Universidad de Costa Rica. Profesor de Postgrado en Infectología, Universidad de Costa Rica. Costa Rica. Correo electrónico: jorge.chaverri@ucr.ac.cr
- 3 Jefe de Servicio de Ginecología-Oncología, Hospital Rafael Á. Calderón Guardia (HRCG). Director de la Cátedra de Ginecología y Obstetricia, Universidad Internacional de las Américas. Costa Rica. HRCG. Profesor de Pregrado, Facultad de Medicina, Universidad Internacional de las Américas. Costa Rica. Correo electrónico: jnavarrocruz@gmail.com

Palabras clave

Enfermedades de transmisión sexual; Organización Mundial de la Salud; Organización Panamericana de la Salud; Ministerio de Salud; Vigilancia Epidemiológica; Sida; VIH; manifestaciones sífilis; manifestaciones gonorrea; *Treponema pallidum*; *Neisseria gonorrhoeae*; infecciones; bacterias; salud pública.

Resumen

Son muy diversas las causas que pueden causar la aparición de una enfermedad de transmisión sexual. Entre las más comunes están las bacterias, que pueden transmitirse por contacto sexual (sea vaginal, anal u oral).

En esta segunda entrega sobre la salud sexual de los costarricenses se analiza el comportamiento de dos enfermedades de alta prevalencia y que en muchas ocasiones se acompañan de otras de transmisión sexual. Dichas patologías son sífilis, ocasionada por la espiroqueta *Treponema pallidum*, y gonorrea causada por *Neisseria gonorrhoeae*, que es un diplococo gram negativo.

En este artículo se analiza el comportamiento de estas patologías a nivel regional en América Latina y su comportamiento a nivel local en Costa Rica. No es necesario que el lector sea experto en el tema, pues se parte de la definición de la patología, sus síntomas, métodos de diagnóstico, así como los posibles tratamientos.

Se muestran los resultados obtenidos por la unidad de vigilancia del Ministerio de Salud de Costa Rica, de manera que es posible observar y analizar el comportamiento de estas dos enfermedades en el país entre los años 2002 y 2012.

Aunque los tratamientos utilizados para combatirlas son de uso común en los centros de atención de los niveles II y III del sistema de salud pública costarricense, es difícil erradicarlas como enfermedades comunes de transmisión sexual.

Keywords

Sexually Transmitted Diseases (STDs); World Health Organization (WHO); Pan American Health Organization (PAHO), Ministry of Health; Epidemiological Surveillance; AIDS; HIV; Syphilis Manifestations; demonstrations gonorrhea; *Treponema pallidum*; *Neisseria gonorrhoeae* infections; bacteria; Public Health.

Abstract

They are very diverse causes that can generate the appearance of an STD, including bacteria are common and they can be transmitted by sexual contact, including vaginal, anal and oral sex.

In this second installment on the sexual health of Costa Ricans the behavior of two major diseases analyzed, and which often are accompanied by other sexually transmitted diseases. Syphilis these diseases are caused by the *Treponema pallidum* and gonorrhea caused by *Neisseria gonorrhoeae* is a gram negative diplococcus.

The report of this release analyzes the behavior of these diseases at the regional level in Latin America and behavior locally, in Costa Rica. Not be required to make the reader a person skilled in the subject, because it starts from the definition of the disease, ETS symptoms, methods of diagnosis and possible treatments for it.

Following, the results obtained by the monitoring unit of the Ministry of Health of Costa Rica, so it is possible to observe and analyze the behavior of the disease in the country between 2002 - 2012.

Although the treatments used for the disease are commonly used in care facilities Level II and Level III Public Health System in Costa Rica, it has been difficult to eradicate as common sexually transmitted diseases in the country.

Introducción

Las causas que pueden generar la aparición de una enfermedad de transmisión sexual (ETS) son diversas; las bacterias están entre las comunes y pueden transmitirse por contacto sexual, incluyendo el sexo vaginal, anal y oral como lo menciona Gonçalves, (2007).

La sífilis, ocasionada por la bacteria *Treponema pallidum*, y la gonorrea, causada por *Neisseria gonorrhoeae*, que es un diplococo gram negativo, se encuentran entre las enfermedades más comunes en el ámbito hospitalario. Dichas patologías son de reporte obligatorio por parte de los profesionales en salud.

En este segundo reporte se analiza el comportamiento de estas patologías a nivel regional en Latinoamérica y el comportamiento de la sífilis congénita en el caso de Costa Rica (PAHO 2007a, 2007b). El lector podrá hacer un recorrido metódico con respecto a la revisión de las patologías bajo estudio. Se inicia con la definición de la patología, los agentes etiológicos, sus síntomas, métodos de diagnóstico, así como posibles tratamientos.

En la actualidad se dispone de tratamiento eficaz contra algunas ETS. Tres ETS bacterianas (clamidiasis, gonorrea y sífilis) y una parasitaria (tricomoniasis) generalmente son curables con los eficaces regímenes de antibióticos de dosis única existente. Sin embargo, la resistencia a los antimicrobianos de las ETS, en particular la gonorrea, ha aumentado rápidamente en los últimos años y ha limitado las opciones de tratamiento (WHO, 2015).

El desarrollo de una menor sensibilidad de la gonorrea a la opción terapéutica de “última línea” (cefalosporinas e inyectables), junto con la resistencia a los antimicrobianos revelada anteriormente con respecto a las penicilinas, sulfamidas, tetraciclinas, quinolonas y macrólidos, la convierten en un organismo polifarmacorresistente (WHO, 2015).

Ante esta situación, los gobiernos intentan responder de la mejor manera, dado que las personas que necesitan servicios de detección y tratamiento de ETS deben afrontar numerosos problemas. En muchos países, los servicios de ETS se proporcionan separadamente y no están disponibles en el ámbito de la atención primaria de salud, la planificación familiar y otros servicios sanitarios ordinarios.

Las poblaciones marginadas son las que registran las tasas más altas de ETS (VIH/Sida, sífilis, gonorrea, etc.). Estas incluyen a trabajadores comerciales del sexo, hombres que tienen sexo con hombres, consumidores de drogas intravenosas, privados de libertad, poblaciones nómadas y adolescentes.

Sífilis

Agente etiológico y generalidades

A menudo se confunde la sífilis con otras enfermedades, ya que presenta una sintomatología muy variada.

Periodo de incubación

El periodo de incubación de la sífilis es de 10 a 90 días. Después de dos a seis semanas aparece la lesión primaria, que con frecuencia conlleva adenopatías regionales.

Diagnóstico

El diagnóstico se hace por medio de la identificación de *T. pallidum* mediante microscopía de campo oscuro (considerado un método clásico y en parte en desuso); también se puede hacer usando pruebas serológicas como anticuerpos monoclonales dirigidos contra antígenos de *T. pallidum* marcados con fluoresceína, detección de ADN de *T. pallidum* y pruebas serológicas no treponémicas como el VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) o RPR (Rapid Plasma Reaction).

Manifestaciones clínicas

Puede ser que la enfermedad se desarrolle de manera asintomática, pero si no es tratada oportunamente puede llegar a comprometer la calidad de vida del paciente, conforme avanza.

- *Fase primaria:* Esta fase suele estar marcada por la aparición de una lesión ulcerada conocida como chancro. Es una lesión redondeada, pequeña e indolora y pueden presentarse una o varias lesiones. El tiempo promedio de aparición de este primer síntoma es de 21 días y puede variar desde los 10 a los 90 días.
- *Fase secundaria:* Esta fase se caracteriza por irritaciones (mancha o máculas) en piel y mucosas. Esta irritación generalmente no produce prurito. Lo usual es que la lesión aparezca en forma de puntos rugosos, de color rojo o marrón rojizo, tanto en las palmas de las manos como las plantas de los pies, aunque también pueden aparecer en otras zonas de la piel. Además, el paciente puede presentar fiebre, dolor de garganta, cefalea, pérdida del cabello, pérdida de peso, astenia y adinamia. Se caracteriza porque ocurre antes de un año después de la primoinfección.
- *Fase terciaria:* Comienza con la desaparición de los síntomas de la fase secundaria. En esta fase la sífilis puede lesionar órganos internos como cerebro, nervios, ojos, corazón, vasos sanguíneos, hígado, huesos y articulaciones. Suele ocurrir más de un año después de la primoinfección y en casos en los que se omita el tratamiento oportuno.

Mecanismos de transmisión

La sífilis se contagia principalmente por contacto sexual, por contacto de la piel con la ligera secreción que generan los chancros o por contacto con los clavos sifilíticos de la persona infectada: al practicar sexo oral sin preservativo, al besar una boca con chancros, por inoculación accidental, o puede ser transmitida de la madre al hijo a través de la placenta o del canal de parto.

Tratamiento

Sífilis primaria y secundaria

La penicilina benzatínica es el fármaco más utilizado para tratar la sífilis precoz. Una sola dosis de 2.4 millones de unidades consigue la curación de más del 95% de los casos de sífilis primaria. Como la eficacia del antibiótico puede ser algo menor en sífilis secundaria, algunos médicos aconsejan aplicar en este periodo de la enfermedad una segunda dosis de 2.4 millones de unidades una semana después de la primera inyección. Las personas con sífilis precoz e infectadas por el VIH pueden tener síntomas de recidiva después del tratamiento con penicilina benzatínica.

Como el riesgo de recidivas neurológicas puede ser mayor en los sujetos infectados por el VIH, algunos expertos recomiendan analizar el líquido cefalorraquídeo (LCR) de los sujetos seropositivos al VIH (especialmente en aquellos sujetos en los que el conteo de linfocitos CD4 es inferior a las 250 células/ml) para indicar el tratamiento apropiado de las neurosífilis si se encuentra cualquier signo de sífilis del sistema nervioso central. En el caso de pacientes con VIH, se recomienda la aplicación de tres dosis (Barnes, Harrison VOL. 01, 2011). En los pacientes con sífilis precoz que son alérgicos a la penicilina se aconseja un ciclo terapéutico de dos semanas con tetraciclina o doxiciclina. En Costa Rica, y en general en América, la tetraciclina está en desuso y ya no se encuentra en el comercio. El antibiótico azitromicina tiene efectividad menor. (pero es la única opción disponible para las mujeres embarazadas en las que no es posible la desensibilización con penicilina) y la ceftriaxona es aún menos efectivo. Las pautas terapéuticas con doxiciclina, azitromicina y ceftriaxone son menos eficaces que aquellas con penicilina benzatínica, en primera instancia no se cuenta con estudios comparativos y por otro lado su alta tasa de efectos secundarios de tipo gastrointestinal son un problema para cumplir bien el tratamiento. Pocos estudios sugieren que la ceftriaxona (1 g/día por vía intramuscular o intravenosa durante 8 a 10 días) y la azitromicina (una sola dosis oral de 2 g) son eficaces contra la sífilis temprana.

Los regímenes no penicilínicos mencionados no han sido evaluados satisfactoriamente en personas infectadas con VIH, por lo que deben usarse con precaución (Barnes, Harrison VOL. 01, 2011).

Sífilis latente tardía y sífilis tardía

Si se encuentran alteraciones del LCR, se debe aplicar el tratamiento de la neurosífilis. La pauta que se aconseja para la sífilis latente tardía con líquido cefalorraquídeo normal, para la sífilis cardiovascular y para la sífilis tardía benigna (gomos) es la penicilina benzatínica, 2,4 millones de unidades por vía intramuscular una vez a la semana durante tres semanas seguidas (7.2 millones de unidades en total). La doxiciclina o la tetraciclina (durante cuatro semanas) constituyen otra alternativa válida en los pacientes con alergia a la penicilina que presentan sífilis latente o sífilis tardía con LCR normal (Barnes, Harrison VOL. 01, 2011).

Las personas infectadas con VIH y alérgicas a la penicilina que muestran sífilis latente o tardía deben ser desensibilizadas y recibir dicho antibiótico si no se tiene seguridad del cumplimiento del régimen no penicilínico. La respuesta clínica obtenida con el tratamiento solamente médico en la sífilis cardiovascular no es óptima porque el aneurisma aórtico y la insuficiencia aórtica no pueden corregirse con el tratamiento antibiótico. El manejo de la neurosífilis en todos los casos de pacientes no alérgicos a la penicilina debe hacerse con penicilina cristalina, con al menos 24 millones de UI por día IV x 10-14 días. La penicilina benzatínica no alcanza concentraciones satisfactorias en el sistema nervioso central (Barnes, Harrison VOL. 01, 2011).

Gonorrea

Agente etiológico y generalidades

Conocida como blenorrea o uretritis gonocócica, es una enfermedad que afecta los tejidos mucosos de los órganos sexuales externos y los órganos urinarios principalmente, aunque también puede afectar otras partes del organismo. Como ya se mencionó, esta enfermedad es producida por la bacteria Gram negativa *N. gonorrhoeae*, comúnmente conocida como gonococo.

Periodo de incubación

Su periodo de incubación es de 2 a 8 días.

Diagnóstico

El diagnóstico de la infección gonocócica en varones se hace rápidamente, mediante la tinción de Gram del exudado uretral. La detección de diplococos gramnegativos intracelulares es muy específica y sensible en el diagnóstico de la uretritis gonocócica, pero la sensibilidad para el diagnóstico de cervicitis gonocócica es de solo un 50%. En este último caso, se podría recurrir a un cultivo en un medio especial, el cual puede alcanzar una sensibilidad de 80-90%.

Manifestaciones clínicas

En el hombre, la enfermedad se inicia con escozor en el conducto uretral al orinar, acompañado de secreción purulenta, amarillenta al principio y luego verdosa y sanguinolenta; el conducto uretral se inflama progresivamente. Cuando la enfermedad avanza, pueda atacar la próstata, vesículas seminales y testículos, un compromiso severo de las gónadas podría incluso llevar a la esterilidad. También puede alcanzar la vejiga y producir una inflamación severa. La omisión del tratamiento en individuos susceptibles puede llevar a la invasión de órganos de la cavidad abdominal o la diseminación hematógena que puede causar artritis migratorias (Barnes, Harrison VOL. 01, 2011).

En la mujer, la infección invade el cuello del útero, hay una secreción purulenta, escozor al orinar, irritación del cérvix uterino, la vulva y la vagina y se acompaña de flujo maloliente. La bacteria puede desplazarse al útero y desde allí a las trompas uterinas, en donde puede ocurrir inflamación y formación de un tejido cicatrizal, que puede llevar a la obstrucción y finalmente a la esterilidad. Si esta enfermedad no se trata rápidamente mediante el suministro de antibióticos, se pueden producir daños graves en el organismo, como enfermedad pélvica inflamatoria (que puede comprometer la fertilidad de la mujer) o infecciones del sistema nervioso central, corazón, hígado y articulaciones, entre otros.

Mecanismos de transmisión

Entre los principales mecanismos de transmisión se pueden mencionar los siguientes con lo mencionan Chacón (2009) y el Harrison, Principios de medicina Interna, volumen 1, parte 8 en su sección de Enfermedades infecciosas (Barnes, 2011):

- La vía sexual, que es la principal fuente de contagio.
- La madre puede transmitirla al recién nacido, ocasionándole la conjuntivitis gonocócica cuando este pasa por el canal de parto.
- Debido a la anatomía femenina, puede haber propagación del exudado cervical al recto, ocasionado gonorrea anorrectal.
- Esta también puede presentarse en las prácticas de sexo anal.
- La exposición sexual bucogenital, que puede llevar a la gonorrea faríngea.

El adulto puede autoinocularse la región ocular a partir de la zona genital infectada, originando la gonorrea ocular.

Tratamiento

Para el tratamiento de la gonorrea se ha establecido el siguiente esquema: cefpodoxima, 400 mg oral, o ceftriaxona, 125 mg IM, o fluoroquinolona (ejemplo ciprofloxacina, 500 mg oral). La

doxiciclina es el tratamiento de segunda elección, pues la cefpodoxina presenta problemas de disponibilidad en América.

Materiales y métodos

Para efectos de este trabajo de investigación y revisión bibliográfica, se hizo una recolección de fuentes primarias y secundarias. Para ello se utilizaron varios instrumentos básicos de recolección de información que se usan en las actividades de investigación.

Recolección de datos de fuentes primarias

Se procedió a buscar toda la información de manera personal en el servicio de vigilancia epidemiológica del Ministerio de Salud de Costa Rica. Además, se contó con la asesoría de profesionales en salud que se desempeñan como médicos asistentes y/o epidemiólogos y mantienen una estrecha relación con el área de infecciones.

Recopilación de datos de fuentes secundarias

Como segunda fuente para la recopilación de datos de esta investigación se utilizó internet, ya que esta herramienta sirvió para acceder a información y estudios realizados por la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Organización Panamericana de la Salud (OPS), el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC), el Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud (INCIENSA), la sección de Vigilancia Epidemiológica del Ministerio de Salud de Costa Rica; así como a estudios realizados por sociedades internacionales relacionadas con el manejo de las infecciones de transmisión sexual.

Instrumentos de medición para la recolección de datos

Se utilizaron algunos instrumentos de medición con el fin de poder recopilar y analizar la información. Entre ellos, los siguientes:

- *Entrevista.* Se realizó una entrevista con expertos en epidemiología y enfermedades infecciosas, de manera que los temas por revisar tuviesen una orientación dirigida.
- *Instrumentos para la recopilación de datos.* Con estos instrumentos se elaboró una base de datos con las estadísticas generadas por la OMS, la OPS y la sección de Vigilancia Epidemiológica del Ministerio de Salud de Costa Rica. A partir de esa información se hizo un análisis en línea descendente, partiendo de lo más general (estado de la enfermedad a nivel global) a lo más particular (estado de la enfermedad en Costa Rica). Dicho análisis comprende el decenio 2002-2012.
- *Resultados.* Por último, se integró la información de manera que el lector pueda tener de manera filtrada y a nivel de comprensión básica, sin tener que ser un profesional del área de la salud, las limitaciones y problemática actual con respecto a las ETS bajo estudio en Costa Rica para el periodo de tiempo indicado en los resultados de la unidad de Vigilancia Epidemiológica del Ministerio de Salud; y más en específico para las enfermedades de la sífilis y gonorrea.

Levantamiento de datos y discusión de resultados

Magnitud del problema a nivel regional. Estado de las ETS (sífilis y/o gonorrea) en América Latina

Los datos reportados en la presente sección proceden del informe: *Salud en las Américas: 2007* de la Pan American Health Organization (PAHO, 2007b). La información presentada fue

seleccionada de acuerdo con la línea de publicación presentada. Entre 1999 y 2003, en un centro centinela en Chile hubo 10.525 consultas por ETS, de las cuales el 22% de los pacientes fueron diagnosticados con condiloma, el 10,4% con sífilis latente y el 10,1% con gonorrea. En Nicaragua se dio una situación similar con respecto a los casos de gonorrea y sífilis presentados por pacientes con ETS entre los años 2000 y 2002. En Barbados, como resultado de una encuesta en 2004 en adultos, se encontró que 14,3% de ellos estaba infectado por gonorrea o clamidiasis.

En Estados Unidos, el comportamiento fue contrario al presentado en los países latinoamericanos, ya que los casos de sífilis primaria y secundaria descendieron entre 1990 y 2000. No obstante, el número de casos anuales de sífilis aumentó durante el período 2000-2002 y siguió incrementándose desde 2002 (6.862 casos) hasta el final de 2003 (7.177 casos). Encuestas realizadas para determinar la prevalencia de sífilis entre diferentes poblaciones con mayor riesgo han demostrado que los grupos vulnerables en América Latina son afectados en gran medida por las ETS. Por ejemplo, en 2003 la prevalencia de sífilis en Paraguay fue del 4,33% entre los donantes de sangre y del 6% entre las embarazadas, en comparación con una tasa de prevalencia alta de 37,4% entre las trabajadoras comerciales del sexo. En 2004, una encuesta conducida por el Ministerio de Salud de Guyana encontró que 27% de las trabajadoras del sexo tenían sífilis, como lo mostró el reporte de la PAHO (2007b). Durante 2003, los países latinoamericanos y del Caribe notificaron un número total de 15.570 casos de sífilis congénita. Sin embargo, para ese mismo año la OPS estimó que se habrían presentado 110.000 casos debido al alto nivel de subnotificación de los casos de sífilis congénita.

En Venezuela, el número de casos se incrementó de 50 en 2000 a 135 en 2002 y en Brasil la tasa de sífilis congénita por cada 1000 nacidos vivos aumentó de 1 en 2001 a 1,5 en 2003. La cobertura y el acceso a los servicios de tamizaje y tratamiento de sífilis siguen siendo temas importantes de salud pública en la región, aun en los países que han ampliado sus servicios para prevenir la transmisión materno-infantil del VIH (por ejemplo, en 2003 solo 17,3% de las embarazadas diagnosticadas con sífilis recibieron tratamiento, aun cuando la tasa de cobertura de tamizaje de sífilis en Brasil es del 56,5%) (PAHO, 2007b).

En los países donde los casos de sífilis congénita se notifican anualmente, se observa una tendencia al incremento. La prevalencia de sífilis entre las embarazadas y la incidencia de sífilis congénita se resumen en el cuadro 1.

Reporte epidemiológico de las ETS: sífilis y gonorrea en Costa Rica

Sífilis congénita

La sífilis gestacional (SG) y la sífilis congénita (SC) son un grave problema de salud pública, que afecta en forma directa a las mujeres y los recién nacidos. Existe un tratamiento asequible, eficaz y de bajo costo para estas enfermedades. Se calcula que cada año hay más de 12 millones de nuevas infecciones por *T. pallidum*, de las que más de dos millones se producen en mujeres embarazadas (WHO, 2015).

Ante esta situación, la OPS comenzó a tomar medidas para impulsar la iniciativa regional para la eliminación de la transmisión materno-infantil del VIH y sífilis congénita en América Latina y el Caribe para el año 2015.

Para cumplir con dicha iniciativa en el plazo estipulado, Costa Rica elaboró el “Plan Estratégico Nacional para la eliminación de la transmisión materno-infantil del VIH y de la Sífilis Congénita”, que se comenzó a poner en práctica en las zonas de mayor incidencia.

Situación epidemiológica

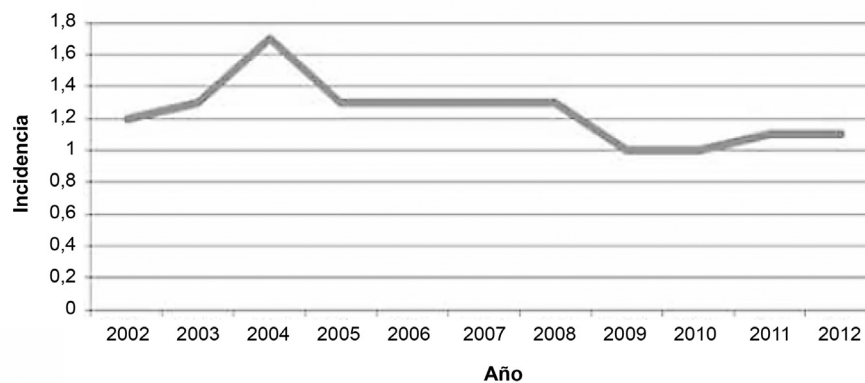
En el periodo 2002-2013 se registraron 1091 casos de sífilis congénita, a partir del año 2005 y hasta 2009 se observa una disminución en la incidencia de casos. A partir de 2009 los cambios en la incidencia no tienen significancia estadística.

Cuadro 1. Prevalencia de sífilis en mujeres embarazadas y de sífilis congénita en países informantes de Latinoamérica y el Caribe, 2004

País	Año	Prevalencia de sífilis en mujeres embarazadas (%)	Sífilis congénita (por 1.000 nacidos vivos)	Método
Bahamas	2004	2,4	1,3	Rutina
Belice	2004	1,5	0,13	Rutina
Bolivia	2004	4,9	12	Encuesta
Brasil	2004	1,6	4	Rutina
Costa Rica	2004	NA	1,3	Rutina
Cuba	2003	1,8	0	Rutina
Ecuador	2002	NA	1,11	Rutina
El Salvador	2003	6,2	0,9	Rutina
Haití	2004	4,2	NA	Encuesta
Honduras	2003	3,5	2,5	Rutina
Jamaica	2003	NA	0,7	Rutina
México	2004	0,62	0,06	Rutina
Nicaragua	2004	NA	0,06	Rutina
Panamá	2004	0,4	0,1	Rutina
Paraguay	2003	6,3	1,9	Rutina
Perú	2004	1	1,7	Rutina

Fuente: Ministerios de Salud de los países y Consejo de Población de Bolivia.

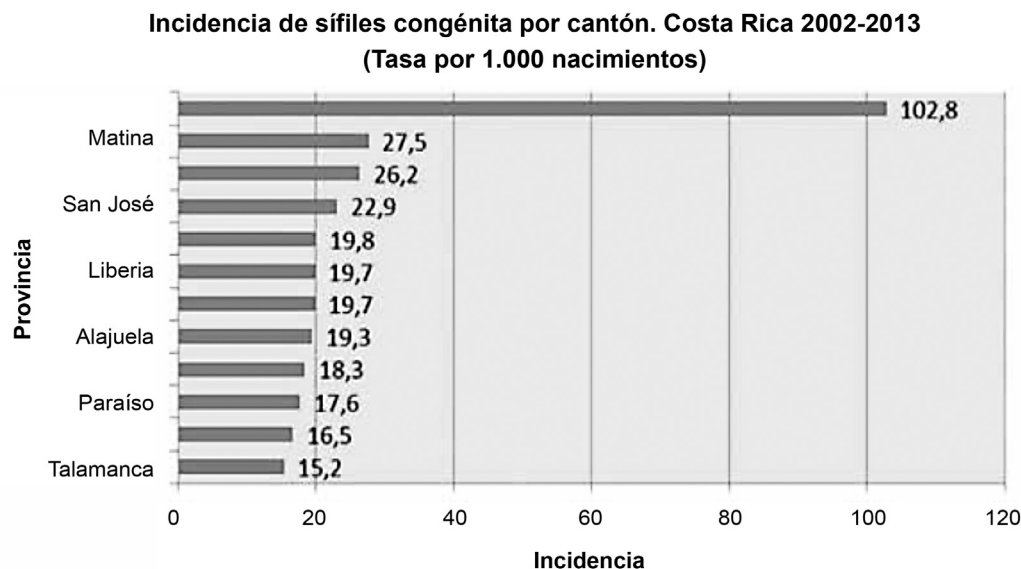
Incidencia de sífilis congénita por año de ocurrencia. Costa Rica 2002-2012
(Tasa por 1.000 nacimientos)



Fuente: Vigilancia de la Salud, Ministerio de Salud.

Figura 1. Incidencia de sífilis congénita por año de ocurrencia. Costa Rica 2002-2012

De acuerdo con el Ministerio de Salud (2014), no hay diferencias en la distribución por sexo, la relación hombre-mujer es de 1 a 1 y el 97,0% de los casos se presentó en niños(as) menores de un año. La provincia de Limón registró la incidencia más alta, con 34,6% de los casos del país para el periodo en estudio, como se muestra en la figura 2 y el cuadro 2 (Binasss, 2012). El cantón de Matina es donde se observa la mayor incidencia de sífilis congénita a nivel del país.



Fuente: Vigilancia de la Salud, Ministerio de Salud.

Figura 2. Incidencia de sífilis congénita por cantón. Costa Rica 2002-2013

El patrón espacial cantonal muestra zonas de mayor riesgo hacia los puertos en los cantones de Limón y Puntarenas y el área metropolitana (San José), como se observa en el cuadro 2 y la figura 2. En algunos cantones la inmigración ha tenido un papel importante en el aumento de incidencia de las Enfermedades de Transmisión Sexual, entre ellos San José. Esta situación ha generado un mayor riesgo de contraer enfermedades de transmisión sexual por la alta interacción entre personas de diferentes contextos sociales y ambientales; (Ministerio de Salud (2014). Esta distribución espacial en el periodo analizado posiblemente evidencia la importancia de los determinantes socioeconómicos y socioculturales (Planes M. et al. 2004) relacionados con la movilidad poblacional. Según el Índice de Desarrollo Social (IDS) cantonal (MIDEPLAN, 2013), el 37,0% (30/81) de los cantones indicados en el cuadro 2 los cuales muestran con un menor desarrollo relativo y en un nivel muy bajo. Agrupando los cantones en el periodo analizado (2002-2013), el 12,3% (10/81) supera la tasa nacional de incidencia de SC (14.9 casos por 1000 nacimientos). El cantón de Limón supera en siete veces el valor de la tasa nacional (Ministerio de Salud, 2014).

Gonorrea

En el período de estudio se registraron un total de 5,541 casos, de los cuales el 82,9% (4,596) corresponde a hombres, lo que evidencia una clara afectación diferencial por sexo, asociada principalmente a una construcción de la masculinidad que propicia una vida sexual riesgosa y

poco responsable que, aunada a una escasa oferta de salud sexual, se traduce en una serie de implicaciones en la salud de los hombres y de sus parejas, como se muestra en la figura 3.

Cuadro 2. Incidencia de Sífilis Congénita según cantón y IDS. Costa Rica 2002-20013 (Tasa/1000 nacimientos).

Cantón	Tasa	IDS
Limón	102,79	27,3
Matina	27,48	26,6
Puntarenas	26,23	39,2
Tarrazú	23,03	32,6
Siquirres	21,03	33,1
Corredores	19,80	25,1
Guácimo	19,69	35,1
Parrita	17,61	28,7
Upala	15,74	22,5
Talamanca	15,17	0

Fuente: Vigilancia de la Salud, Ministerio de Salud.

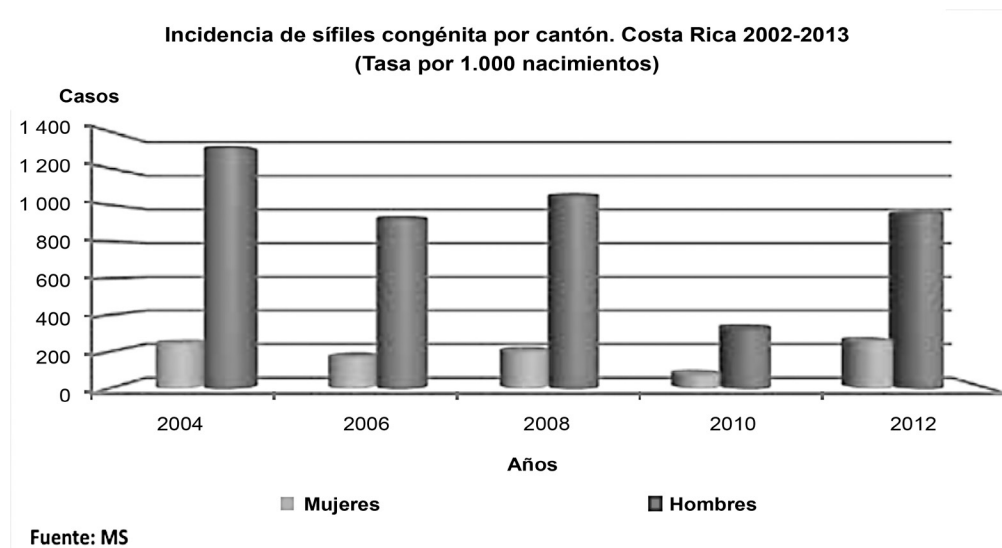


Figura 3. Casos de gonorrea según sexo. Costa Rica 2004-2006. Fuente: Vigilancia de la Salud, Ministerio de Salud, Costa Rica.

Al analizar la tasa de incidencia por sexo de acuerdo con el reporte (Ministerio de Salud, 2014), se observa que la brecha entre mujeres y hombres disminuye considerablemente a partir del año 2008. Esta reducción de la brecha obedece principalmente a una disminución de los casos en hombres, dado que los casos en mujeres se han mantenido bastante estables, a excepción del año 2010, cuando la campaña de prevención sobre ETS implementada por la

Caja Costarricense de Seguro Social (CCSS) tuvo un efecto positivo en la disminución de los casos a nivel nacional. No obstante, como lo muestra la figura 4, en 2012 se experimenta un claro repunte, posicionándose nuevamente en los niveles presentados en años anteriores.

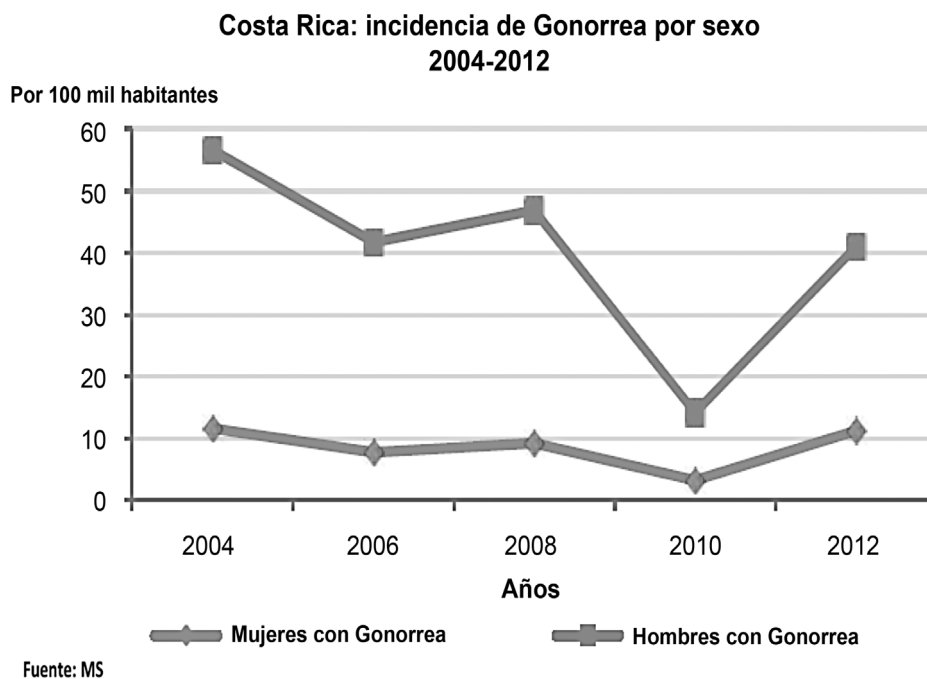


Figura 4. Incidencia de gonorrea por sexo. Costa Rica 2004-2012. *Fuente:* Vigilancia de la Salud, Ministerio de Salud, Costa Rica.

Las campañas de prevención de ETS desarrolladas por la CCSS fueron declinadas (primero se redujo su presupuesto y después se eliminaron) por recortes presupuestarios solicitados a la institución. El dato anterior fue corroborado por el director del Hospital Rafael Ángel Calderón Guardia, Dr. Lemos Pires.

Conclusiones

Después del VIH/Sida, la sífilis y la gonorrea son las dos ETS bacterianas más conocidas por la población y que representan un gran impacto para el sistema de salud. Dicha condición es similar en otros países de América Latina, en donde la sífilis congénita tiene un gran impacto en la tasa de natalidad.

La SG y la SC son un grave problema de salud pública pues tienen un doble impacto en el sistema de salud, ya que afectan en forma directa a las mujeres y los recién nacidos. La cantidad de pacientes estimados por los estudios de vigilancia epidemiológica supera los 12 millones de nuevas infecciones por *T. pallidum* cada año; de las cuales más de dos millones se producen en mujeres embarazadas y, por ende, corresponden a SG.

Las organizaciones internacionales que velan por el control de las enfermedades infecciosas y de transmisión sexual tomaron medidas para impulsar iniciativas a nivel regional, con el fin de mantener en condición endémica los casos y que dichas infecciones no que se convirtiesen en una situación pandémica a nivel de Latinoamérica.

Aunque los datos recolectados en el curso del estudio permiten analizar el comportamiento de la población costarricense con respecto a la cantidad de nuevos casos (para la gonorrea y para la sífilis de la población de neonatos), así como la incidencia de las patologías generadas por *T. pallidum* y *N. gonorrhoeae*, en el reporte del Ministerio de Salud obtenido no existe una segmentación que permita conocer el mecanismo de contagio de cada caso en particular. Sin embargo, esa información está disponible para estudios epidemiológicos a través de la boleta V.E. 01, para la declaración obligatoria de las enfermedades.

Con respecto a la gonorrea, es una patología que en la última década presenta un descenso, que posiblemente sea atribuible a una mayor educación de la población y al uso de mecanismos de protección para evitar el contagio de ETS.

Como se mencionó al inicio de este documento, estas dos ETS cuentan con un tratamiento conocido, accesible y eficaz en la mayoría de los casos. Sin embargo, el mal uso que se hace de los antibióticos por parte de los pacientes puede crear resistencia a algunas de las cepas, lo que podría conllevar un serio problema de salud pública.

Referencias

- Binasss. (2012). *Análisis de Indicadores de Género y de Salud en Costa Rica 2012*. Obtenido de http://www.paho.org/cor/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=301&Itemid=
- CCSS (Caja Costarricense de Seguro Social). (2005). *Manual de Consejería en Salud Sexual y Reproductiva para funcionarios en Atención de Adolescentes con énfasis en VIH/SIDA*. San José: CCSS, Departamento de Salud.
- CCSS (Caja Costarricense de Seguro Social). (2013). *Informe Estadístico Anual 2013*. San José: Departamento de Información Estadística de los servicios de Salud, CCSS.
- Cortés, A., et al. (2000). Instrumento de trabajo para el estudio de las enfermedades de transmisión sexual y VIH/SIDA en adolescentes. *Revista Cubana Medicina Trop.*, 52(1), 48-54.
- Costa Rica. OPS. (2010). *Reporte de Indicadores de Salud*. Obtenido de http://www.paho.org/saludenlasamericas/index.php?id=31&option=com_content
- Gonçalves, S., Castellá, J. & Carlotto, M.S. (2007). Predictores de Conductas Sexuales de Riesgo entre Adolescentes. *Revista Interamericana de Psicología/Interamerican Journal of Psychology*, 41(2), 161-166.
- Chacón, Tania et al. (2009). . ETS Y SIDA en adolescentes: descripción, prevención y marco legal. *Med. leg. Costa Rica*, 26(2). Obtenido de http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152009000200008
- Letvin, N.L. & Walker, B.D. (2003). Immunopathogenesis and immunotherapy in AIDS virus infections. En: Estado de la Nación, *Compendio Estadístico 2007*. Obtenido de <http://www.estadonacion.or.cr/InformesPDF/XInforme/Compendio.pdf>.
- Ministerio de Salud. (2014). *Análisis de Situación de Salud Costa Rica*. Obtenido de <http://www.ministeriodesalud.go.cr/index.php/vigilancia-de-la-salud/analisis-de-situacion-de-salud/2618-analisis-de-situacion-de-salud-en-costa-rica/file>
- Planes, M. et al. (2004). Prevención de la transmisión sexual del VIH en adolescentes. *C. Med. Psicosom*, 71/72, 76-85.
- PAHO (Pan American Health Organization). (2007a). Salud en las Américas 2007. Vol. I-Regional. Publicación Científica y Técnica No. 622. Obtenido de http://www.paho.org/cor/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=256&Itemid=
- PAHO (Pan American Health Organization). (2007b). Salud en las Américas 2007. Vol. II-PAÍSES. Publicación Científica y Técnica No. 622. Obtenido de http://www.paho.org/cor/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=257&Itemid=
- Barnes PJ, Longo DL, Fauci AS, et al, editores. Harrison principios de medicina interna. Parte 8. Enfermedades Infecciosas. Vol 1. 18ª ed. México: McGraw-Hill; 2012. pp. 1007-1766.
- WHO (World Health Organization). (2015). *Infecciones de transmisión sexual*. Obtenido de <http://www.who.int/media-centre/factsheets/fs110/es/>

Comparación interlaboratorial de medición de energía eléctrica 2014

2014 Electrical Energy Measurement Interlaboratory Comparison

Saúl Magaña-Godoy¹, Isabel Castro-Blanco², Harold Sánchez-Vargas³

Fecha de recepción: 26 de noviembre de 2015

Fecha de aprobación: 7 de marzo de 2016

Magaña-Gogoy, S; Castro-Blanco, I; Sánchez-Vargas, H. Comparación interlaboratorial de medición de energía eléctrica 2014. *Tecnología en Marcha*. Vol. 29-4. Octubre-Diciembre 2016. Pág 16-33.

DOI: 10.18845/tm.v29i4.3034

-
- 1 Laboratorio Metrológico de Variables Eléctricas - Instituto Costarricense de Electricidad. Costa Rica. Correo electrónico: smaganag@ice.go.cr
 - 2 Laboratorio Metrológico de Variables Eléctricas - Instituto Costarricense de Electricidad. Costa Rica. Correo electrónico: bcastro@ice.go.cr
 - 3 Laboratorio Metrológico de Variables Eléctricas - Instituto Costarricense de Electricidad. Costa Rica. Correo electrónico: hsanchez@ice.go.cr



Palabras clave

Comparación interlaboratorial; medición de energía eléctrica; patrón viajero; calibración.

Resumen

En este trabajo se describe y presentan los resultados de una comparación de medición de energía eléctrica entre laboratorios, que se llevó a cabo en Costa Rica y Panamá en 2014. El laboratorio piloto fue el Laboratorio Metrológico de Variables Eléctricas (LMVE) del Instituto Costarricense de Electricidad (ICE) como instituto designado en Costa Rica para Electricidad, Magnetismo, Tiempo y Frecuencia. La comparación tuvo como participantes a seis laboratorios secundarios de Costa Rica y al Centro Nacional de Metrología de Panamá (CENAMEP AIP).

Keywords

Interlaboratory comparison; electrical energy measurement; traveler standard; calibration.

Abstract

This paper presents the results of an Electrical Energy Measurements Interlaboratory Comparison, conducted in Costa Rica and Panamá in 2014, by the Instituto Costarricense de Electricidad (ICE)-Laboratorio Metrológico de Variables Eléctricas (LMVE) as a designated NMI in Costa Rica for Electricity, Magnetism, Time and Frequency. The comparison involved six participating laboratories from Costa Rica, the NMI of Panama CENAMEP AIP.

Introducción

El Laboratorio Metrológico de Variables Eléctricas (ICE-LMVE), como laboratorio nacional designado en Electricidad, Magnetismo, Tiempo y Frecuencia, de acuerdo con el Convenio de Entendimiento Bilateral entre el Laboratorio Costarricense de Metrología (LACOMET) y el Instituto Costarricense de Electricidad (ICE) [2], llevó a cabo una comparación de calibración de medidores y patrones de energía eléctrica. La actividad se realizó entre los meses de junio y diciembre de 2014.

La comparación de energía eléctrica entre laboratorios se efectuó con el propósito de comparar las capacidades de medición de los laboratorios que ofrecen calibraciones de medidores de energía eléctrica a sus clientes o las utilizan en sus procesos, para mejorar sus métodos de calibración y su aseguramiento metrológico [3]. Además, también se busca ampliar la colaboración a nivel metrológico entre laboratorios que realizan calibraciones en energía eléctrica y el ICE-LMVE.

El LMVE fue el laboratorio piloto para la comparación. Cada participante fue responsable de realizar su propia estimación de la incertidumbre de medición, utilizando métodos coincidentes con los descritos en la GUM. [5]

El cuadro 1 muestra los laboratorios participantes y los contactos técnicos.

Programación y logística de la comparación

Para la circulación del patrón de energía se propuso un circuito de traslado adecuado entre los laboratorios participantes y el laboratorio piloto, con el fin de obtener una inspección del valor del patrón de manera periódica durante la movilización a lo largo de la ronda de la comparación.

Cuadro 1. Laboratorios participantes y contactos técnicos.

Laboratorio	Contacto	Teléfono
CNFL - Laboratorio de Medidores LASIMEE	Rodrigo Espinoza Porras	(+506) 2295-1541
JASEC, Laboratorio de Medidores	Marco Centeno Masís	(+506) 2550-6829
ICE, Laboratorio de Medidores LABCAME	José Francisco Carballo Alvarez	(+506) 2236-4068
CENAMEP AIP, Centro Nacional de Metrología de Panamá – Laboratorio Primario de Energía y Potencia (E2)	Julio González	(+507) 517-3100
CENAMEP AIP, Centro Nacional de Metrología de Panamá – Laboratorio Secundario de Energía y Potencia (E0)	Cándido Montero	(+507) 517-3100
ICE, Laboratorio de Calibración de Magnitudes Eléctricas LACAME	William Bonilla Martin Maricel Cordero Gómez	(+506) 2001-5962 (+506) 2001-5982
ICE, Laboratorio de Eficiencia Energética LEE	Heyleen Villalta Maietta Mauricio Sibaja Amador	(+506) 2000-4129
ELVATRON, Centro de Servicios Técnicos de Elvatrón S.A.	Oscar Sibaja Seravalli	(+506) 2242-9960, Ext. 315

La modalidad de circulación del patrón fue de tipo estrella: distribución del patrón a cada participante y retorno al piloto a lo largo de la ronda. Se consideró, como parte del tiempo de medición de cada laboratorio, el tiempo requerido para la estabilización y mediciones, así como el tiempo para el adecuado transporte.

El cuadro 2 muestra las fechas de las mediciones realizadas por los participantes en la comparación. También se aprecian las mediciones que el ICE-LMVE efectuó al inicio y al final de la comparación.

La programación inicial se vio ligeramente afectada en las últimas fechas de medición entre CENAMEP e ICE-LMVE, debido al tiempo que tomó el traslado del patrón viajero y las gestiones de aduanas de Panamá y Costa Rica. Las características técnicas del patrón viajero se mantuvieron estables durante este período, lo que permite establecer una comparación válida.

Patrón viajero

El patrón viajero que se utilizó fue un patrón de energía marca Radian Research Inc, modelo RM-11-07, número de serie 506216. [6], [7]

Descripción de las condiciones de operación del RM-11-07:

- Tensión de entrada (Línea - neutro): 60 V a 600 V (autorrango), monofásico.
- Corriente de entrada 0.2 A a 50 A, monofásico.
- Temperatura 20 °C a 30 °C,
- Humedad relativa 0% a 95%,
- Frecuencia 59 Hz a 61 Hz,
- Alimentación auxiliar 120 V ó 240 V.

Cuadro 2. Programa de mediciones realizadas.

Laboratorio	Fecha de medición	Fecha de transporte
ICE-LMVE	2013-12-06 a 2014-07-10	2014-07-11
CNFL	2014-07-14 a 2014-07-18	2014-07-21
ICE-LMVE	2014-07-22 a 2014-08-07	2014-08-08
JASEC	2014-08-11 a 2014-08-15	2014-08-18
ICE-LMVE	2014-08-19 a 2014-08-28	2014-08-29
LABCAME	2014-09-01 a 2014-09-05	2014-09-08
ICE-LMVE	2014-09-09 a 2014-09-11	2014-09-12
LACAME	2014-09-16 a 2014-09-19	2014-09-22
ICE-LMVE	2014-09-23 a 2014-09-25	2014-09-26
ELVATRON	2014-09-29 a 2014-10-03	2014-10-06
ICE-LMVE	2014-10-07 a 2014-10-09	2014-10-10
LEE	2014-10-13 a 2014-10-17	2014-10-20
ICE-LMVE	2014-10-21 a 2014-10-23	2014-11-10
CENAMEP	2014-11-28 a 2014-12-22	2015-01-08
ICE-LMVE	2015-01-21	--

Los siguientes accesorios fueron parte del equipamiento utilizado para las mediciones:

- Un adaptador tipo *socket*, marca WECO, AL001202, para la conexión del circuito de corriente entre las mesas de pruebas y el RM-11-07.
- Un comparador, marca Radian Research Inc, modelo RM-110, serie 107273. Este dispositivo se utilizó para dividir los pulsos de salida del RM-11-07 y adaptarlos a una frecuencia compatible con las mesas de pruebas. [8]
- Un dispositivo emisor luminoso, marca Radian Research Inc, modelo RM-1P. Este toma la salida de pulsos del comparador RM-110 y emite un pulso de señal luminosa (visible o infrarroja) por cada pulso eléctrico recibido. Este dispositivo se utilizó alineado con la cabeza lectora de la mesa de pruebas (para las mediciones de mesas de pruebas).
- Un sujetador metálico para el posicionamiento del dispositivo emisor RM-1P.
- Dos cables con terminales tipo BNC – BNC.
- Un cable para alimentación auxiliar del RM-11-07 a 120 V.
- Dos terminales tipo “banana – Ojo abierto”, para la conexión de la tensión de medición en el patrón viajero RM-11-07.
- Un adaptador de tensión, para la alimentación auxiliar del RM-110, 120 V.

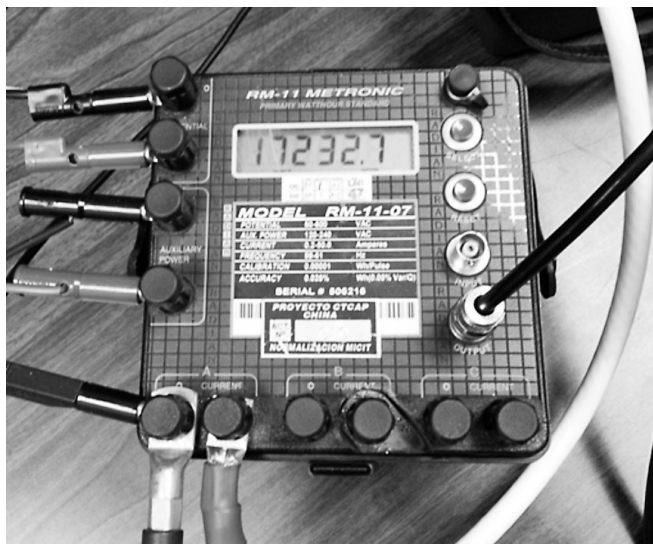


Figura 1. Patrón viajero, RM-11-07.

El patrón de energía y los accesorios viajaron en una caja de protección destinada para su traslado. Cada participante usó sus procedimientos normales para el traslado y entrega del equipo.



Figura 2. Caja de protección utilizada para el transporte.

Mensurando

La magnitud a medir correspondió a energía eléctrica activa AC a 60 Hz, reportándose el error medido y su incertidumbre (con un nivel de confianza de 95%) asociada en unidades porcentuales (%). Dichos valores se reportaron relativos a la energía activa (Wh/Wh) o a la energía aparente (Wh/VAh), según los procedimientos de cada participante.

Puntos de medición

Los puntos de medición de esta comparación se muestran en los cuadros 4 y 5:

Cuadro 4. Puntos de medición, laboratorios con patrones de energía, 60 Hz.

Tensión (V)	Corriente (A)	Factor de potencia (f.p.)
120	5	1
120	5	0.5 adelanto (capacitivo)
120	5	0.5 atraso (inductivo)

Cuadro 5. Puntos de medición, laboratorios con mesas de pruebas, 60 Hz.

Tensión (V)	Corriente (A)	Factor de potencia (f.p.)
108	30	1
120	0.25	1
120	2.5	1
120	5	1
120	5	0.5 adelanto
120	5	0.5 atraso
120	15	1
120	30	1
120	50	1
132	30	1

Método de medición

El método de medición del ICE-LMVE, y el utilizado por los participantes en este ejercicio, corresponde a la medición de energía por comparación. Se compara el valor de energía medido por el objeto bajo prueba (patrón viajero) y el valor de energía medido o generado por el patrón de referencia del laboratorio.

EI LMVE

La comparación contó con dos modalidades de medición con las cuales los participantes realizaron sus mediciones, a saber: laboratorios con patrones de energía eléctrica y laboratorios con mesas de pruebas de medidores de energía eléctrica.

Los laboratorios con patrones realizaron su medición comparando el patrón viajero con su patrón de referencia. Por su parte, los laboratorios con mesas de pruebas utilizaron los accesorios provistos por ICE-LMVE para adaptar el patrón viajero RM-11-07 al sistema de medición de las mesas, con el objetivo de que este arreglo les permitiera realizar la medición de forma equivalente a la que efectúan con los medidores tipo *socket*.

Resultado de mediciones

En este apartado se presentan los resultados de los laboratorios participantes en la comparación. En los cuadros de resultados se muestran el error de medición reportado por cada laboratorio, la incertidumbre expandida reportada y el *Error Normalizado* (E_n) para cada laboratorio. El error normalizado se calculó a partir de la siguiente expresión [4]:

$$E_n = \frac{|E_L - E_{LMVE}|}{\sqrt{U_L^2 + U_{LMVE}^2}} \quad (1)$$

donde:

E_{LMVE} Error del laboratorio ICE-LMVE

E_L Error reportado por el participante

U_{LMVE} Incertidumbre expandida del ICE-LMVE

U_L Incertidumbre expandida reportada por el participante

Como se indicó anteriormente, cada participante fue responsable de proveer su propia estimación de la incertidumbre de la medición, por lo que el formulario de presentación no les exigía incluir el cálculo y el análisis de la incertidumbre total, sino una descripción de las fuentes de incertidumbre que cada uno tomó en cuenta para su respectivo análisis y estimación. La mayoría de los laboratorios participantes presentaron las siguientes fuentes de incertidumbre: *Certificado de calibración del patrón de referencia, especificaciones del patrón a un año o estimación de la estabilidad del patrón, repetibilidad de las mediciones, resolución y efectos térmicos de las condiciones ambientales.*

Los valores de referencia de la comparación corresponden a las mediciones hechas por el ICE-LMVE, entidad que ha participado en comparaciones internacionales del Sistema Interamericano de Metrología (SIM). [1], [9]

Los cuadros y gráficos con los resultados de la comparación, para un factor de potencia igual a 1, muestran a todos los laboratorios juntos, tanto los relativos a energía activa como aparente, debido a su equivalencia. Mientras que para el factor de potencia 0.5 adelanto/atraso, se muestran los resultados de forma separada, los relativos a energía activa y a energía aparente.

En esta comparación, la incertidumbre de medición asociada al resultado del ICE-LMVE corresponde a su CMC publicada y el alcance vigente de acreditación. [10]

Laboratorios con patrones

Los resultados de medición y la incertidumbre estimada de los laboratorios con patrones se muestran en los cuadros 6 a 10.

Cuadro 6. Resultados de laboratorios con patrones, 120 V, 5 A, f.p. 1. El error y su incertidumbre asociada en unidades porcentuales (%).

Laboratorio	Error	U (k = 2)	E_n
ICE-LMVE	-0.001	0.029	-
Lab2	0.0198	0.0567	0.32
CENAMEP AIP	-0.0027	0.0058	0.07
Lab4	-0.004	0.031	0.08
Lab5	-0.0072	0.023	0.18
Lab6	0.017	0.078	0.21

Cuadro 7. Resultados de laboratorios con patrones, 120 V, 5 A, f.p. 0.5 adelanto. El error y su incertidumbre asociada en unidades porcentuales (%), son relativos a la energía activa.

Laboratorio	Error	U (k = 2)	E _n
ICE-LMVE	0.012	0.029	-
Lab2	0.0476	0.0734	0.45
Lab4	0.007	0.031	0.12
Lab5	0.0024	0.034	0.22
Lab6	0.053	0.240	0.17

Cuadro 8. Resultados de laboratorios con patrones, 120 V, 5 A, f.p. 0.5 atraso. El error y su incertidumbre asociada en unidades porcentuales (%), relativos a la energía activa.

Laboratorio	Error	U (k = 2)	E _n
ICE-LMVE	-0.008	0.029	-
Lab2	0.0154	0.0666	0.32
Lab4	-0.005	0.031	0.06
Lab5	-0.0082	0.028	0.01
Lab6	0.037	0.240	0.18

Cuadro 9. Resultados de laboratorios con patrones, 120 V, 5 A, f.p. 0.5 adelanto. El error y su incertidumbre asociada en unidades porcentuales (%), relativos a la energía aparente.

Laboratorio	Error	U (k = 2)	E _n
ICE-LMVE	0.010	0.029	-
CENAMEP AIP	0.0087	0.0058	0.06

Cuadro 10. Resultados de laboratorios con patrones, 120 V, 5 A, f.p. 0.5 atraso. El error y su incertidumbre asociada en unidades porcentuales (%), relativos a la energía aparente.

Laboratorio	Error	U (k = 2)	E _n
ICE-LMVE	-0.007	0.029	-
CENAMEP AIP	-0.0053	0.0058	0.05

En las figuras 3 a 7 se presentan los gráficos con los resultados de los laboratorios que midieron con patrón:

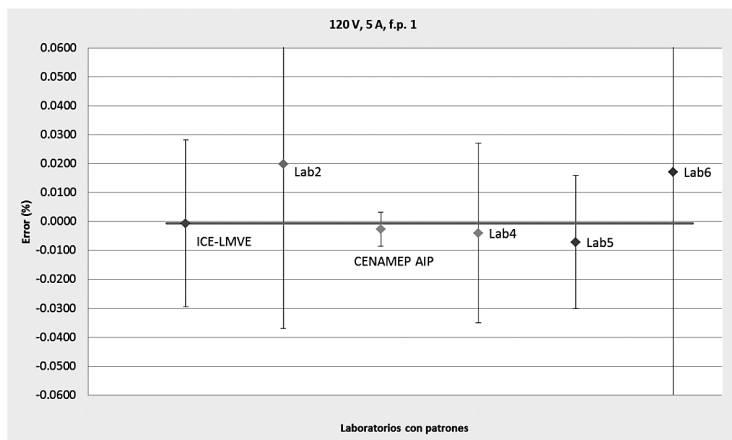


Figura 3. Resultados de laboratorios con patrones, 120 V, 5 A, f.p. 1, 60 Hz.

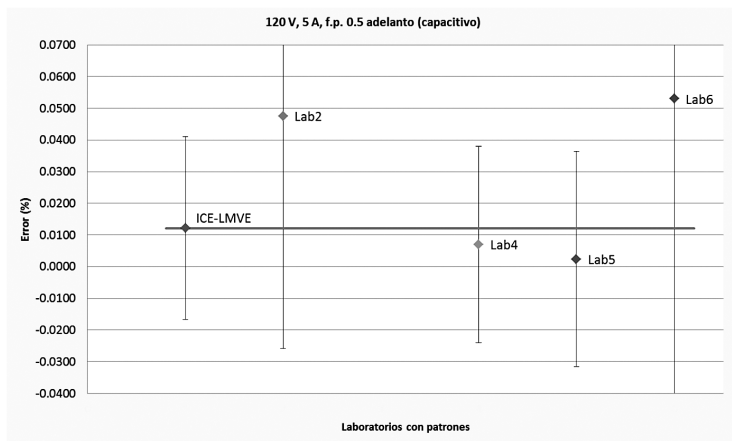


Figura 4. Resultados de laboratorios con patrones, 120 V, 5 A, f.p. 0.5 adelanto, 60 Hz, valores relativos a la energía activa.

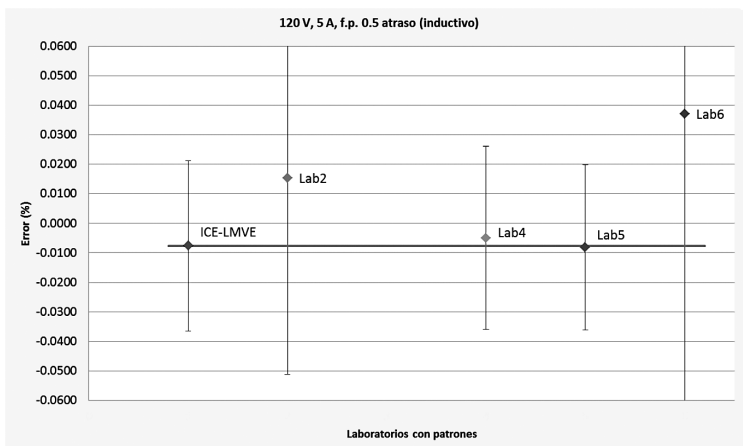


Figura 5. Resultados de laboratorios con patrones, 120 V, 5 A, f.p. 0.5 atraso, 60 Hz, valores relativos a la energía activa.

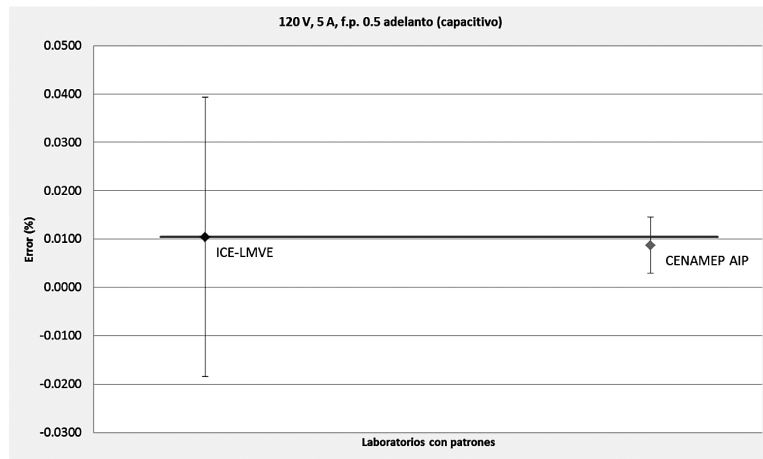


Figura 6. Resultados de laboratorios con patrones, 120 V, 5 A, f.p. 0.5 adelanto, 60 Hz, valores relativos a la energía aparente.

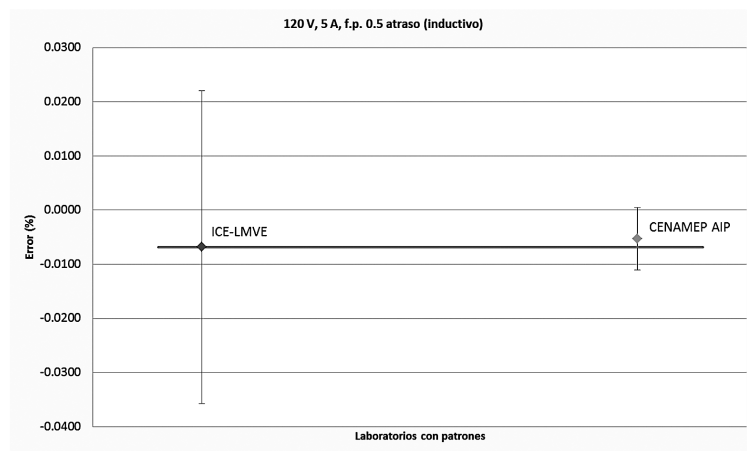


Figura 7. Resultados de laboratorios con patrones, 120 V, 5 A, f.p. 0.5 atraso, 60 Hz, valores relativos a la energía aparente.

Laboratorios con mesas de pruebas

Los resultados de medición y la incertidumbre estimada de los laboratorios con mesas de pruebas se muestran en los cuadros 11 a 22.

Cuadro 11. Resultados de laboratorios con mesas de pruebas, 108 V, 30 A, f.p. 1. El error y su incertidumbre asociada en unidades porcentuales (%).

Laboratorio	Error	U (k = 2)	E_n
ICE-LMVE	0.000	0.029	-
Lab2	-0.0208	0.0052	0.72
Lab3	-0.0373	0.058	0.58
Lab4	-0.003	0.069	0.04
CENAMEP AIP	0.000	0.015	0.01

Cuadro 12. Resultados de laboratorios con mesas de pruebas, 120 V, 0.25 A, f.p. 1. El error y su incertidumbre asociada en unidades porcentuales (%).

Laboratorio	Error	U (k = 2)	E _n
ICE-LMVE	-0.002	0.029	-
Lab2	-0.0302	0.0112	0.92
Lab3	-0.0358	0.058	0.53
Lab4	-0.022	0.069	0.27
CENAMEP AIP	-0.001	0.015	0.02

Cuadro 13. Resultados de laboratorios con mesas de pruebas, 120 V, 2.5 A, f.p. 1. El error y su incertidumbre asociada en unidades porcentuales (%).

Laboratorio	Error	U (k = 2)	E _n
ICE-LMVE	-0.003	0.029	-
Lab2	-0.0321	0.0052	0.98
Lab3	-0.0377	0.058	0.53
Lab4	-0.023	0.069	0.26
CENAMEP AIP	-0.001	0.015	0.08

Cuadro 14. Resultados de laboratorios con mesas de pruebas, 120 V, 5 A, f.p. 1. El error y su incertidumbre asociada en unidades porcentuales (%).

Laboratorio	Error	U (k = 2)	E _n
ICE-LMVE	-0.001	0.029	-
Lab2	-0.0280	0.0061	0.93
Lab3	-0.0319	0.058	0.48
Lab4	-0.012	0.069	0.15
CENAMEP AIP	0.005	0.015	0.17

Cuadro 15. Resultados de laboratorios con mesas de pruebas, 120 V, 5 A, f.p. 0.5 adelante. El error y su incertidumbre asociada en unidades porcentuales (%), relativos a la energía activa.

Laboratorio	Error	U (k = 2)	E _n
ICE-LMVE	0.012	0.029	-
Lab2	-0.0092	0.0102	0.69
Lab3	-0.0236	0.058	0.55
Lab4	-0.003	0.069	0.20

Cuadro 16. Resultados de laboratorios con mesas de pruebas, 120 V, 5 A, f.p. 0.5 atraso. El error y su incertidumbre asociada en unidades porcentuales (%), relativos a la energía activa.

Laboratorio	Error	U (k = 2)	E _n
ICE-LMVE	-0.008	0.029	-
Lab2	-0.0383	0.0109	0.99
Lab3	-0.0347	0.058	0.42
Lab4	-0.029	0.069	0.29

Cuadro 17. Resultados de laboratorios con mesas de pruebas, 120 V, 5 A, f.p. 0.5 adelante. El error y su incertidumbre asociada en unidades porcentuales (%), relativos a la energía aparente.

Laboratorio	Error	U (k = 2)	E _n
ICE-LMVE	0.010	0.029	-
CENAMEP AIP	-0.004	0.015	0.44

Cuadro 18. Resultados de laboratorios con mesas de pruebas, 120 V, 5 A, f.p. 0.5 atraso. El error y su incertidumbre asociada en unidades porcentuales (%), relativos a la energía aparente.

Laboratorio	Error	U (k = 2)	E _n
ICE-LMVE	-0.007	0.029	-
CENAMEP AIP	0.014	0.015	0.64

Cuadro 19. Resultados de laboratorios con mesas de pruebas, 120 V, 15 A, f.p. 1. El error y su incertidumbre asociada en unidades porcentuales (%).

Laboratorio	Error	U (k = 2)	E _n
ICE-LMVE	0.000	0.029	-
Lab2	-0.0255	0.0051	0.86
Lab3	-0.0391	0.058	0.60
Lab4	-0.015	0.069	0.19
CENAMEP AIP	-0.007	0.015	0.21

Cuadro 20. Resultados de laboratorios con mesas de pruebas, 120 V, 30 A, f.p. 1. El error y su incertidumbre asociada en unidades porcentuales (%).

Laboratorio	Error	U (k = 2)	E _n
ICE-LMVE	0.001	0.029	-
Lab2	-0.0214	0.0050	0.78
Lab3	-0.0352	0.058	0.56
Lab4	-0.003	0.069	0.05
CENAMEP AIP	0.000	0.015	0.04

Cuadro 21. Resultados de laboratorios con mesas de pruebas, 120 V, 50 A, f.p. 1. El error y su incertidumbre asociada en unidades porcentuales (%).

Laboratorio	Error	U (k = 2)	E _n
ICE-LMVE	-0.001	0.029	-
Lab2	-0.0205	0.0079	0.64
Lab3	-0.0356	0.058	0.53
Lab4	-0.011	0.069	0.13
CENAMEP AIP	0.002	0.015	0.11

Cuadro 22. Resultados de laboratorios con mesas de pruebas, 132 V, 30 A, f.p. 1. El error y su incertidumbre asociada en unidades porcentuales (%).

Laboratorio	Error	U (k = 2)	E _n
ICE-LMVE	-0.002	0.029	-
Lab2	-0.0195	0.0076	0.59
Lab3	-0.0355	0.058	0.52
Lab4	-0.005	0.069	0.04
CENAMEP AIP	0.000	0.015	0.05

En las figuras 8 a 19 se presentan los gráficos con los resultados de los laboratorios con mesas de pruebas:

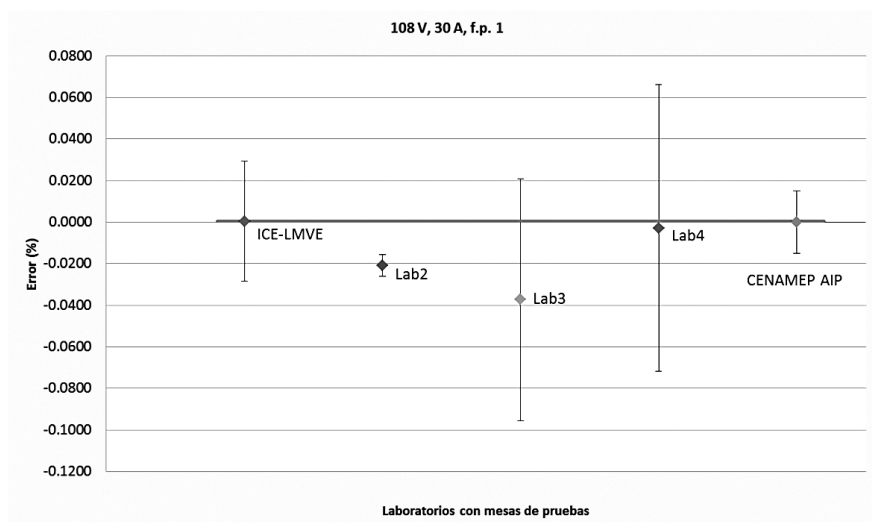


Figura 8. Resultados de laboratorios con mesas de pruebas, 108 V, 30 A, f.p. 1, 60 Hz.

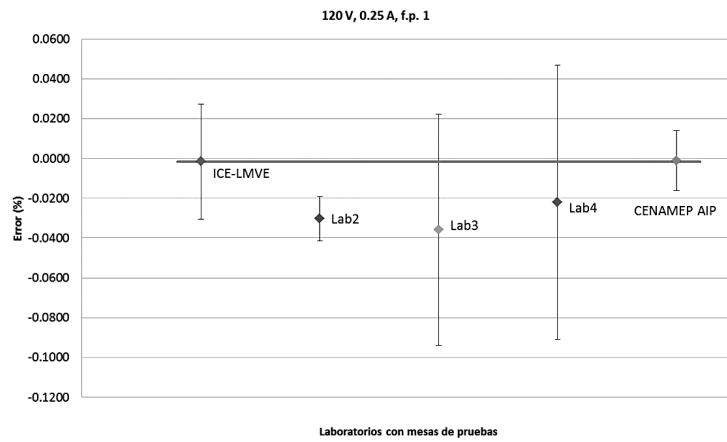


Figura 9. Resultados de laboratorios con mesas de pruebas, 120 V, 0.25 A, f.p. 1, 60 Hz.

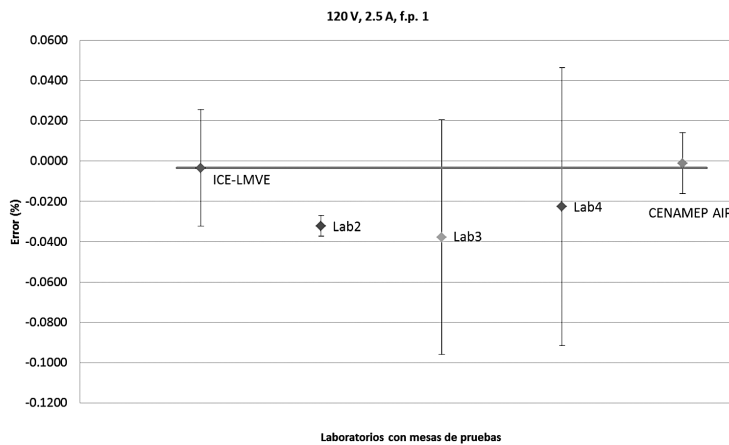


Figura 10. Resultados de laboratorios con mesas de pruebas, 120 V, 2.5 A, f.p. 1, 60 Hz.

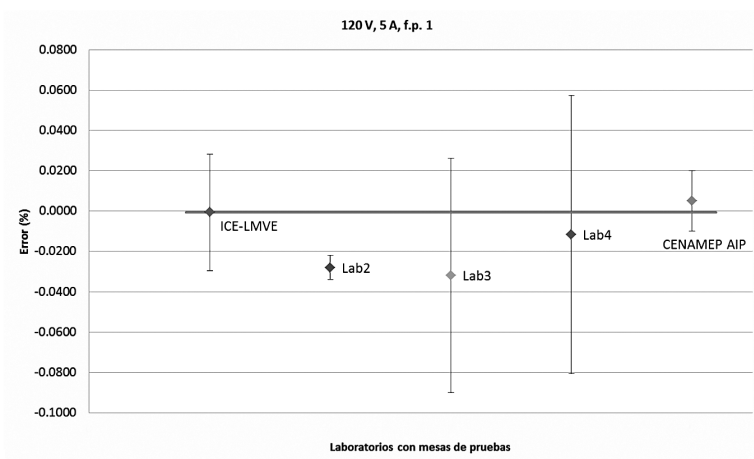


Figura 11. Resultados de laboratorios con mesas de pruebas, 120 V, 5 A, f.p. 1, 60 Hz.

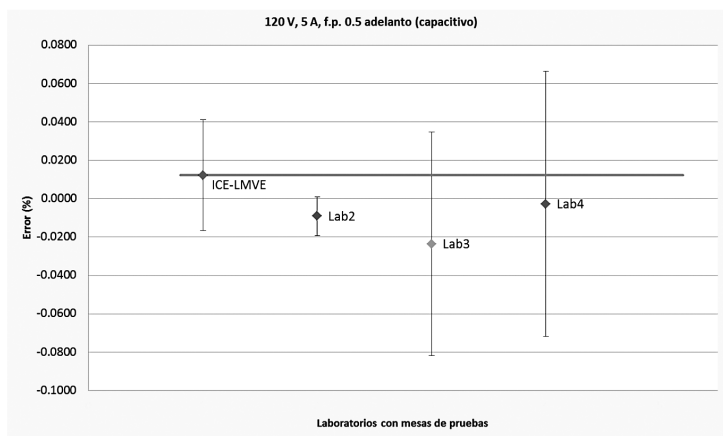


Figura 12. Resultados de laboratorios con mesas de pruebas, 120 V, 5 A, f.p. 0.5 adelanto, 60 Hz, relativos a la energía activa.

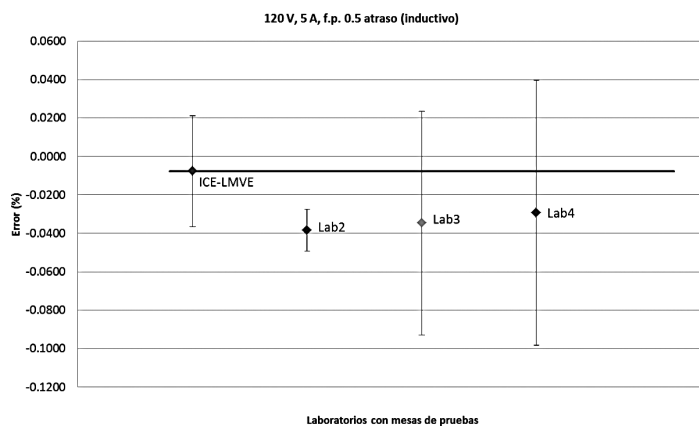


Figura 13. Resultados de laboratorios con mesas de pruebas, 120 V, 5 A, f.p. 0.5 atraso, 60 Hz, relativos a la energía activa.

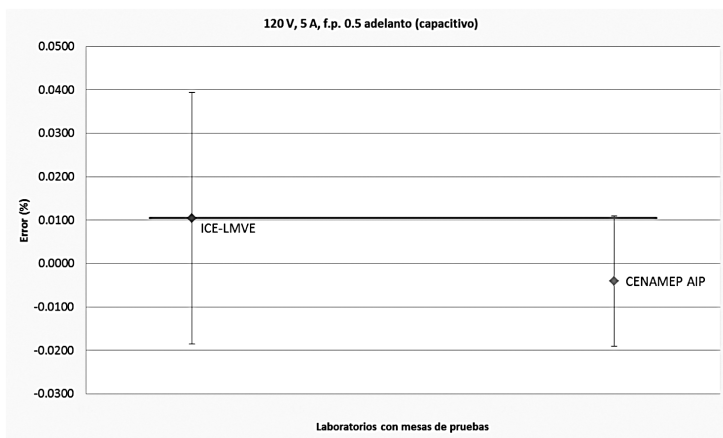


Figura 14. Resultados de laboratorios con mesas de pruebas, 120 V, 5 A, f.p. 0.5 adelanto, 60 Hz, relativos a la energía aparente.

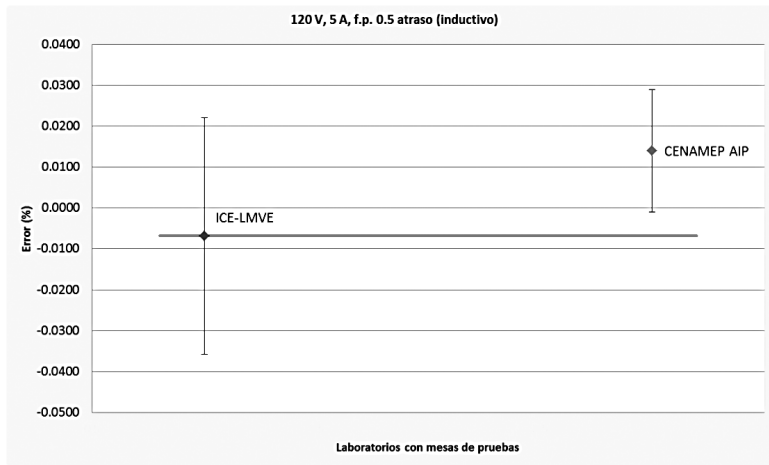


Figura 15. Resultados de laboratorios con mesas de pruebas, 120 V, 5 A, f.p. 0.5 atraso, 60 Hz, relativos a la energía aparente.

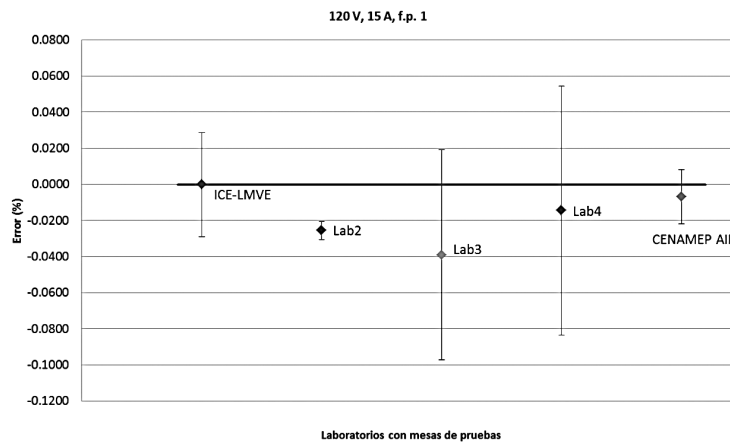


Figura 16. Resultados de laboratorios con mesas de pruebas, 120 V, 15 A, f.p. 1, 60 Hz.

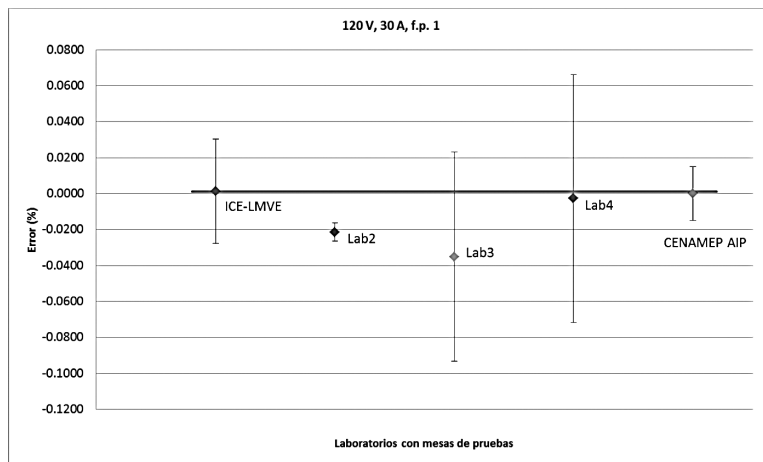


Figura 17. Resultados de laboratorios con mesas de pruebas, 120 V, 30 A, f.p. 1, 60 Hz.

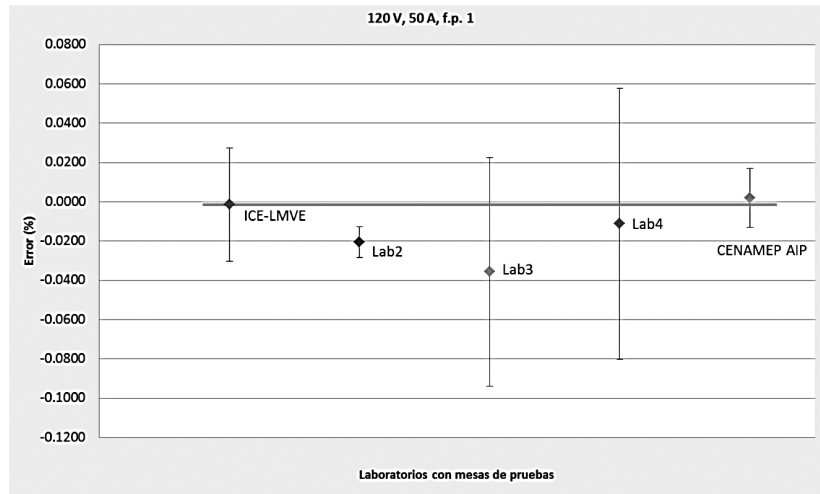


Figura 18. Resultados de laboratorios con mesas de pruebas, 120 V, 50 A, f.p. 1, 60 Hz.

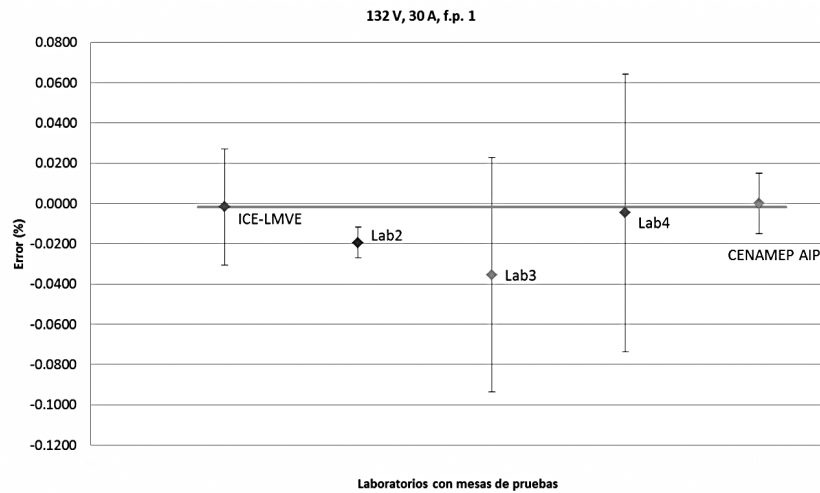


Figura 19. Resultados de laboratorios con mesas de pruebas, 132 V, 30 A, f.p. 1, 60 Hz.

Conclusiones y recomendaciones

Los resultados de esta comparación indican que los valores de error y su incertidumbre asociada se traslapan entre ellos, mostrando que los sistemas de medición arrojan resultados compatibles.

En los resultados de *laboratorios que utilizaron patrones*, al evaluar el error normalizado para cada participante, se tiene que este es menor a 1.

En los resultados de *laboratorios con mesas de pruebas*, la evaluación del error normalizado muestra que los participantes obtuvieron un valor menor a 1.

Como parte de los puntos de mejora en los siguientes ejercicios de comparación, se contemplará que cada laboratorio reporte su cálculo de incertidumbre detallado y las unidades relativas utilizadas en el cálculo de error e incertidumbre.

Se considera que este ejercicio cumplió el objetivo trazado de poder brindar una herramienta para reforzar el aseguramiento de los resultados y la gestión de calidad a nivel metrológico en Costa Rica, Panamá y la región. Así mismo, complementa los esfuerzos de cooperación entre los laboratorios participantes y el ICE-LMVE.

Referencias

- Carranza, R., Campos, S., Castruita, A., Sánchez, H., Nelson, T., Ribeiro, A., So, E., Di Lillo, L., Spaggiari, A., Slomovitz, D., Izquierdo, D., Faveiro, C., Postigo, H., Díaz, H., González, J. & Zipaquirá, A. (febrero, 2015). Final report: Key comparison of 50/60 Hz power SIM.EM-K5. *Metrología*, 52, 01002. Obtenido de <http://iopscience.iop.org/0026-1394/52/1A/01002>
- Laboratorio Costarricense de Metrología, Laboratorios Designados: Laboratorio Metrológico de Variables Eléctricas, ICE. Designación en Electricidad, Magnetismo, Tiempo y Frecuencia. Obtenido de <http://www.lacomet.go.cr/index.php/lacomet/laboratorios-designados>
- INTECO (Instituto Costarricense de Normas Técnicas). (2009). *INTE ISO/IEC 17043:2010 Evaluación de la conformidad – Requisitos generales para ensayos de aptitud*, San José: INTECO.
- Izquierdo, D., Faveiro, C., Slomovitz, D., Ihlenfeld, W.G.K., Di Lillo, L., Laiz, H., Garcia, R., Franco, A.M.R. & Debatin, R.M. (mayo 2006). *Intercomparación Multilateral de Potencia Eléctrica, entre los Laboratorios Nacionales de Alemania, Argentina, Brasil y Uruguay*. *IEEE Latin American Transactions*, 4, 177-183. Obtenido de http://ieeexplore.ieee.org/xpl/articleDetails.jsp?arnumber=4472111&sortType%3Dasc_p_Sequence%26filter%3DAND%28p_IS_Number%3A4472103%29
- Joint Committee for Guides in Metrology. (septiembre, 2008). *Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement*. JCGM 100:2008. Obtenido de <http://www.bipm.org/en/publications/guides/gum.html>.
- Centro Español de Metrología. *Vocabulario Internacional de Metrología Conceptos fundamentales y generales, y términos asociados (VIM)*. JCGM 200:2012. Obtenido de <http://www.cem.es/sites/default/files/vim-cem-2012web.pdf>
- Radian Research Inc. (1998). *RM-11 Primary metronomic standard, Operation Manual*. (Rev004-1/98). Obtenido de <http://www.radianresearch.com/manuals/>
- Radian Research Inc. (1998). *RM-110 Automated Comparator, Operation Manual*. (Rev003-2/98). Lafayette, Indiana: Radian Research Inc.
- Sánchez, H., Cioffi, J., Laiz, H., Bennett, D., Ferreira, H., Ortega, R., Oldham, N. & Parker, M. (diciembre 2000). *SIM Comparison of Electrical Units*. *Metrologia* 2000. Obtenido de http://www.nist.gov/manuscript-publication-search.cfm?pub_id=17128
- Calibration and Measurement Capabilities Electricity and Magnetism*. Costa Rica, ICE-LMVE (Instituto Costarricense de Electricidad, Laboratorio Metrológico de Variables Eléctricas). Obtenido de http://kcdb.bipm.org/AppendixC/country_list_search.asp?CountSelected=CR&sservice=EM/AC.7.1

Estudio sobre la concentración de nitratos en los principales acuíferos del Valle Central de Costa Rica, periodos 1989-2005 y 2006-2015

Nitrate concentration within the principal aquifers in the Central Valley of Costa Rica, 1989-2005 to 2006-2015

Darner A. Mora-Alvarado¹, Nuria Alfaro-Herrera², Carlos Felipe Portuguez-Barquero³

Fecha de recepción: 26 de enero de 2016
Fecha de aprobación: 3 de marzo de 2016

Mora-Alvarado, D; Alfaro-Herrera, N; Portuguez-Barquero, C. Estudio sobre la concentración de nitratos en los principales acuíferos del Valle Central de Costa Rica, periodos 1989-2005 y 2006-2015. *Tecnología en Marcha*. Vol. 29-4. Octubre-Diciembre 2016. Pág 34-46.

DOI: 10.18845/tm.v29i4.3035

1 MQC/MSc. en Salud Pública. Director del Laboratorio Nacional de Aguas. Costa Rica. Correo electrónico: dmora@aya.go.cr

2 Licenciada en Química/MSc. Administración de Servicios de Salud Pública. Costa Rica. Correo electrónico: nalfaro@aya.go.cr

3 Licenciado en Gestión Ambiental. Laboratorio Nacional de Aguas. Costa Rica. Correo electrónico: fportuguez@aya.go.cr



Palabras clave

Acuífero; agua; calidad; contaminación; nitratos.

Resumen

En este artículo se presentan los resultados de un análisis de las concentraciones de nitratos en 24 fuentes de agua de los acuíferos de Barva, Colima Superior y Colima Inferior, Costa Rica, en el periodo 2006-2015, compararlos con un trabajo similar realizado en el periodo 1989-2005 e identificar el cumplimiento del valor máximo permisible de 50 mg/L estipulado en el Reglamento para la Calidad del Agua Potable de Costa Rica y sus tendencias. Se analizaron cerca de 2.500 datos históricos del Programa de Vigilancia y Control de la Calidad del Agua del Laboratorio Nacional de Aguas del Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados. Los resultados indican que las 24 fuentes son potables por nitratos y cumplen con el valor máximo permisible, con promedios inferiores a 25 mg/L, excepto La Libertad y el pozo Belén 3, y que el acuífero más vulnerable a la contaminación es Colima Superior. El punto de muestreo con mayor tendencia a la contaminación es la fuente de La Libertad, con 26,3 mg/L y 30,30 mg/L en los periodos 1989-2005 y 2006-2015, respectivamente. Se debe continuar con el monitoreo frecuente de estas fuentes y aplicar la legislación vigente, para proteger las zonas de recarga de estos tres importantes acuíferos.

Keywords

Aquifer; contamination; nitrates; quality; water.

Abstract

The study seeks to analyse the nitrate concentrations in 24 water sources within the aquifers of Barva, Colima Superior and Colima Inferior, from 1989 to 2005 and 2006 to 2015, in order to verify that these nitrate concentrations are in compliance with the maximum allowable value stipulated on the current Drinking Water Quality Regulation (50 mg/L). About 2,500 water samples were analysed from 1989 to 2015 in 24 water sources (i.e. headwaters and water wells) within the aquifers Barva, Colima Superior and Colima Inferior. The National Laboratory of Waters (Laboratorio Nacional de Aguas, LNA) provided all the nitrate dataset by means of the Drinking Water Control and Vigilance Programme. The 24 water sources presented drinking water quality regarding the nitrate values. The nitrate average was lower than 25 mg/L for the water sources, except for the headwater La Libertad and the well Belén 3. Colima Superior was the most vulnerable aquifer, and La Libertad (Colima Superior aquifer) was the sampling point with higher risk of nitrate pollution showing 26.3 mg/L, for 1989-2005, to 30.3 mg/L, for 2006-2015. Frequent monitoring of the 24 water sources within the aquifers Barva, Colima Superior and Colima Inferior should be done for establishing the baseline.

Introducción

El Valle Central de Costa Rica comprende las principales ciudades de las provincias de San José, Cartago, Alajuela y Heredia, en donde se concentra un 54% de la población del país (2.600.000 habitantes). Este crecimiento poblacional ha estado acompañado de una mayor demanda de los servicios básicos (agua potable, alcantarillado sanitario, recolección y tratamiento de desechos sólidos, electricidad y otros). La densidad urbanística, aunada a la expansión del desarrollo industrial, ha causado un deterioro persistente en el ambiente. En

el caso de los servicios de agua para consumo humano, el suministro en estas zonas está a cargo de la Empresa de Servicios Públicos de Heredia (ESPH), los municipios, los comités de acueductos rurales (CAAR), las asociaciones administradoras de acueductos rurales (ASADAS) y el Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados (AyA) (Mora & Portuguez, 2005).

En términos generales, estos entes operadores se abastecen en un 65% mediante aguas subterráneas y en un 35% de fuentes superficiales (AyA, OMS/OPS, 2002). La dependencia de fuentes subterráneas (pozos y nacientes) se ha incrementado desde 1970, debido a su buena calidad y a los bajos costos de tratamiento y operación. La gran mayoría de las fuentes subterráneas proviene de tres acuíferos principales y de gran importancia: Barba, Colima Superior y Colima Inferior. En razón de la situación mencionada anteriormente, estos acuíferos han sido estudiados por varios investigadores desde principios de la década de los 70 (SENARA-BGS, 1985; Foster, Ventura & Hirato, 1987; Gómez, 1987; SENARA-BGS/AyA, 1988; Arredondo, 1995). En estos estudios se ha analizado su hidrogeología, zonas de recarga, vulnerabilidad, calidad del agua y potencial hídrico.

Con respecto a la calidad físicoquímica y microbiológica de estas aguas, estudios realizados por el Laboratorio Nacional de Aguas (LNA) del AyA y el Laboratorio de Hidrogeología de la Universidad Nacional (UNA), han evidenciado una persistente presencia de nitratos, sobre todo en las fuentes de agua abastecidas por los acuíferos Barva y Colima Superior. A principios del mes de abril de 2005 la Licda. Jenny Reynolds, de la UNA, hizo públicos los resultados de una investigación titulada *Contaminación de aguas subterráneas: nitratos* (Reynolds, 2005), cuyos datos causaron gran preocupación entre la población del Valle Central. Los iones nitrato y nitrito son excelentes indicadores del efecto que tiene el uso de fertilizantes nitrogenados y tanques sépticos en el suelo, lo que favorece el traslado de los compuestos nitrogenados hacia los acuíferos.

Estos datos hicieron ver la necesidad de identificar las zonas de recarga de los acuíferos y el tipo de geología y permeabilidad de los suelos, para ubicarlas en los planes de desarrollo regionales y determinar en qué lugares se puede utilizar tanques sépticos para disponer las excretas. En concreto, los contenidos de nitratos en las aguas son un excelente indicador del uso de los suelos en determinadas zonas geográficas del país (OMS, 1995) (WHO, 1996).

Los nitratos y nitritos son iones presentes en la naturaleza que forman parte del ciclo del nitrógeno. Su distribución es muy variada, ya que se encuentran en el aire, el suelo, los alimentos y el agua. Como nitrógeno atmosférico, las concentraciones promedio normales son de 0,1 a 0,4 mg/m³, aunque en algunos países industrializados se han reportado valores promedio mensuales de 14 mg/m³; en estos mismos lugares el agua de lluvia alcanza valores de 5 mg/L. Sin embargo, la mayor fuente de nitratos son los alimentos; las carnes aportan de 2,7 a 945 mg/Kg y los vegetales contienen de 200 a 2.500 mg/Kg; por ejemplo, las lechugas y las espinacas tienen concentraciones de 2.500 mg/Kg (Pacheco & Cabrera, 2003). En las aguas superficiales, los valores oscilan entre 0 a 5 mg/L, mientras que en las aguas subterráneas varían de 0 a 9 mg/L, en forma natural. No obstante, en algunos casos se han observado valores que alcanzan varios centenares de mg/L de nitrato, debido al abuso en el uso de fertilizantes nitrogenados y a la lixiviación de la materia fecal de los animales y del propio ser humano (Lilia, 1997).

El valor máximo permisible, según el Reglamento para la Calidad del Agua Potable de Costa Rica (Presidencia de la República de Costa Rica, 2005), es de 50 mg/L como nitrato. Este mismo valor es el indicado por la Organización Mundial de la Salud (World Health Organization, 2004). Con respecto a los efectos de los nitratos sobre la salud humana, los estudios han demostrado que estos iones no son cancerígenos (Coss, 2004; Mora, 2003). Sin embargo, algunos estudios epidemiológicos sugieren una relación entre el consumo de nitratos en

alimentos como embutidos y el cáncer gástrico, pero investigaciones más profundas no han confirmado estos resultados.

Lo que sí se ha comprobado es que las altas concentraciones de nitratos en las aguas para consumo humano pueden inducir la enfermedad denominada metahemoglobinemia en niños lactantes, la cual disminuye su capacidad de captar oxígeno a nivel de glóbulos rojos (Rapaport, 1977).

Es a la luz de estas observaciones, y debido a la importancia de los nitratos como trazadores de los usos del suelo y su impacto sobre la calidad de las aguas, que se realizó esta investigación. Como parte de ella, se analizaron las concentraciones de nitratos (mg/L) en 24 fuentes de agua de los acuíferos de Barva, Colima Superior y Colima Inferior en el periodo 2006-2015, y se compararon los resultados con el trabajo realizado en el periodo 1989-2005; además, se identificó su grado de cumplimiento con el valor máximo permisible indicado por el Reglamento para la Calidad del Agua Potable de Costa Rica.

Materiales y métodos

Esta investigación utilizó como base el “Estudio sobre la contaminación por nitratos en los principales acuíferos del Valle Central de Costa Rica 1989-2005” (Arellano, Ramos, Vázquez, Vargas & Mora, 2005), que describe las concentraciones de nitratos en dichos acuíferos durante 17 años. Esta información se complementó con otro estudio que cubre el periodo 2006-2015; es decir, con ambas investigaciones se cubren 27 años de datos, lo que permite evaluar las tendencias de la presencia de nitratos en las fuentes de agua estudiadas. A continuación se indican los pasos que se siguieron durante el presente estudio.

Caracterización de la geología e hidrogeología del Valle Central

La caracterización de la geología e hidrogeología del Valle Central se realizó mediante el análisis de diferentes estudios elaborados desde la década de los 70; además, se aprovechó la experiencia de los profesionales del AyA en este campo.

Identificación y selección de las fuentes de agua representativas de los acuíferos del Valle Central

De conformidad con las características hidrogeológicas del Valle Central, se identificaron los pozos y manantiales representativos de cada uno de los acuíferos estudiados y se seleccionaron las fuentes, con el fin de estudiar la evolución de la contaminación por nitratos en los tres acuíferos.

Datos históricos de las fuentes de agua

Los datos históricos de los análisis de nitratos fueron aportados por el Programa de Vigilancia y Control de la Calidad del Agua del AyA, planificado y ejecutado anualmente por el LNA y procesados mediante promedios aritméticos anuales.

Muestreos y análisis de laboratorio actualizados

Las muestras y análisis de nitratos en mg/L se realizaron mediante las siguientes técnicas de laboratorio durante los 27 años de estudio.

Método de electrodo específico

Para aplicar esta técnica se utiliza un equipo Orion modelo 701 A/digital Fonalizen. Este método se aplicó de 1989 a 1997.

Método HPLC

Desde 1998 y hasta la fecha, para la cuantificación de nitratos se utiliza el método de cromatografía iónica. A partir de 2008, el LNA acreditó el muestreo y los análisis de nitratos con la Norma INTE-ISO/IEC 17025: 2005 ante el Ente Costarricense de Acreditación (ECA).

Comparación de los resultados promedio de nitratos

El procesamiento de los 2,500 datos de nitratos, determinados tanto para el periodo 1989-2005 como 2006-2015, permite obtener datos promedio para cada una de las fuentes estudiadas, hacer una comparación entre ellos e identificar su comportamiento.

Limitaciones del estudio

La principal limitación en este estudio es la variabilidad de las técnicas utilizadas en la cuantificación de nitratos, mencionadas anteriormente. Estas dos técnicas se han utilizado en los últimos 24 años e introducen un sesgo en el análisis de la evaluación de los datos, debido a que cada una tiene su propia incertidumbre.

Análisis de resultados

Geología del Valle Central de Costa Rica

Formación Colima

La Formación Colima aflora a lo largo del río Virilla y algunos de sus afluentes; es cortada por numerosas perforaciones profundas a lo largo del Valle Central. Está constituida por al menos siete coladas andesíticas. El espesor promedio de esta formación es de 100 m y el volumen total de unos 35 km³ (Kussmaul, 2000). Dataciones radiométricas indican edades de entre 787.000 y 340.000 años (Marshall & Idleman, 1999). Las lavas inferiores son traquiandesitas y andesitas porfíricas con fenocristales de plagioclasa, augita, hipersteno, magnetita y esporádicamente olivino, dentro de una matriz de textura intersertal. La colada superior es afírica, con un porcentaje bajo de fenocristales, dentro de una matriz fluidal que se manifiesta por pequeñas vesículas alargadas (Kussmaul, 1988).

De acuerdo con Echandi (1981) y SENARA-BGS (1985), en esta formación se definen el Miembro Belén, formado por varias capas de composición andesítica separadas por capas de toba lítica; el Miembro Puente de Mulas, que son tobas e ignimbritas con estructuras columnares y un espesor máximo conocido de 38 m; el Miembro Linda Vista, que consiste de dos capas lávicas de composición andesítica de textura brechosa o masiva fracturada, separadas por una capa de toba fina meteorizada de 10 m de espesor en promedio; la capa superior tiene unos 110 m de espesor máximo y la inferior 55 m. Es probable que estas lavas sean el producto de efusiones a lo largo de fisuras con dirección NE-SO hasta E-O, ya que su extensión lateral es muy grande. Su composición química es diferente a la de la lava de los estratovolcanes de la Cordillera Central, asemejándose más a la Formación Tiribí que la sobreyace.

Formación Tiribí

Definida Formación Tiribí por Echandi (1981) y está subdividida en los miembros denominados Nuestro Amo, Electriona y La Caja. Sobre la Formación Colima yace una capa de pómez de un espesor máximo de 3 m, producto de una gran explosión volcánica, seguida por depósitos de flujos piroclásticos con un espesor promedio de 45 m, una extensión de unos 500 km² y un volumen total de 25 km³. Aparentemente, se trata del depósito de un solo flujo piroclástico que presenta diferentes facies y grados de soleamiento. La parte inferior muchas veces está

soldada, con grandes fiamas de vidrio negro dentro de una matriz gris claro. La facies de mayor extensión y espesor es el depósito de un flujo de escorias y cenizas con bombas de hasta 1,8 m de diámetro. Generalmente, en la parte superior se encuentra una capa de ceniza de color gris, a veces muy soldada. El espesor de los flujos piroclásticos, el diámetro de las bombas escoriáceas y la frecuencia de las facies soldadas aumentan hacia el oeste, lo cual indica que pueden provenir de los volcanes de la Cordillera Central (Denyer & Arias, 1991). Por dataciones y su posición estratigráfica por encima de las lavas de la Formación Colima, se estima que las erupciones que produjeron estos depósitos ocurrieron hace menos de 400.000 años.

Formación Barva

Dentro de esta formación volcánica se definen varios miembros. El Miembro Bermúdez constituye lavas andesíticas fracturadas con variaciones abruptas de espesor relacionadas con las depresiones topográficas; su espesor es de hasta 85 m. Los miembros Porrosatí y Carbonal son arenas volcánicas gruesas y tobas arcillosas meteorizadas de hasta 20 m de espesor, los miembros Los Ángeles y Los Bambinos son lavas de unos 35 m de espesor localizadas en la parte superior de la formación, y el Miembro Cráter corresponde a los piroclastos más recientes, con espesores de 10 m. (Kussmaul, 1988) llama lavas postavalancha a las coladas de basalto y andesitas basálticas de Ciruelas y Cebadilla de la parte occidental del Valle Central; se localizan a unos 30 km del volcán Barva, el más cercano, por lo que se cree que provienen de erupciones fisurales.

Depósitos cuaternarios sin diferenciar

Al pie de los volcanes actuales se acumularon depósitos de lahares con espesores de hasta 60 m, compuestos por bloques de lava de hasta 1 m de diámetro, englobados en una matriz arenosa-arcillosa. Todo el Valle Central fue cubierto por depósitos de ceniza provenientes del volcán Irazú, que localmente alcanzan espesores de 20 m. Existen también depósitos de aluviones con granulometrías desde arenas finas hasta bloques, con mala selección y en general espesores de 5 m o menos.

Hidrogeología del Valle Central de Costa Rica

Acuífero Colima

El acuífero Colima se divide en Colima Inferior, Puente de Mulas, Colima Superior y La Libertad, que afloran en varios tramos del cañón del río Virilla. Son acuíferos fracturados y se encuentran en depósitos volcánicos. El acuífero Colima Inferior está cubierto por coladas de lava andesítica, separadas entre sí por capas de tobas que actúan como acuitardos que separan los acuíferos. Las capas de lava presentan permeabilidad por fracturas o por sus características brechosas. Las lavas del acuífero Colima Inferior producen pozos de hasta 60 L/s de agua de buena calidad. Origina manantiales que descargan en el río Virilla, al oeste de San Antonio de Belén (Vargas, 2000), de hasta 300 L/s. Este acuífero se localiza en las lavas superiores del Miembro Belén. El Miembro Puente de Mulas actúa como un acuitardo con una generada percolación vertical, que produce un confinamiento de los acuíferos inferiores en algunos sectores.

El acuífero Colima Superior se divide en Colima Superior y La Libertad. El primero se origina en una capa de lava inferior de 55 m de espesor, con una muy buena permeabilidad por fracturas y partes brechosas. Se extiende desde el cañón del río Virilla y produce numerosos manantiales de hasta 300 L/s al sur de Santo Domingo de Heredia y Alajuela, Las Ánimas y Puente de Mulas. Su profundidad varía entre 80 y 100 m y los pozos que lo captan pueden rendir caudales de hasta 100 L/s de agua de buena calidad. El acuífero superior La Libertad es una colada de lava andesítica de 110 m de espesor, que forma un acuífero colgado y produce manantiales de 100 L/s en los ríos Tibás y Virilla. Ambos están separados por una capa de toba que actúa

como acuitardo y pertenecen al Miembro Linda Vista de la Formación Colima. El AyA extrae del acuífero Colima 1.280 L/s en el campo de pozos de La Valencia, 650 L/s del manantial de Puente de Mulas y 250 L/s de Potrerillos (Ramírez, 2002).

Acuífero Barva

Este acuífero se origina en las escorias y lavas fracturadas de la Formación Barva y está cubierto por cenizas. El nivel de las aguas subterráneas muestra fluctuaciones de hasta 7 m, que coinciden con las variaciones pluviométricas estacionales (ONU, 1973). Algunos manantiales importantes de este acuífero son Ojo de Agua (375 L/s), Echeverría (125 L/s), Conafruit (100 L/s), Belén (60 L/s) y Cebadilla (60 L/s). Cada miembro de la Formación Barva tiene características hidrogeológicas específicas. El Miembro Bermúdez origina el acuífero Barva Inferior, que descarga en numerosos manantiales que abastecen la ciudad de Heredia y otras poblaciones de la parte norte del río Virilla. Con una buena permeabilidad en las partes brechosas y en las fracturas, los pozos rinden caudales de hasta 20 L/s. Por su parte, los miembros Porrosatí y Carbonal actúan como acuitardos de gran extensión, donde subyacen los acuíferos locales Barva Superior y cubren al acuífero Barva Inferior.

El acuífero Barva Superior está conformado por los miembros Los Ángeles y Los Bambinos. Son acuíferos discontinuos y colgados de poca extensión; su permeabilidad se da en las fracturas y brechas de las coladas y los manantiales aparecen en las partes inferiores. Por sus características litológicas y la poca cobertura de materiales de baja permeabilidad, este acuífero es muy vulnerable a la contaminación bacteriológica y físicoquímica. Utilizando el método para la determinación del índice de vulnerabilidad de un acuífero conocido como DI-O-S, la zona norte del acuífero Barva se considera de alta vulnerabilidad a la contaminación, debido a los depósitos piroclásticos permeables que la cubren, como también a las lavas fracturadas que aumentan el grado de incidencia de contaminantes, principalmente en la parte norte del Valle Central. Por otro lado, la vulnerabilidad es media en las zonas de Heredia, Santo Domingo, San Pablo, San Antonio y San Juan de Tibás, donde existen coberturas de tobas de baja permeabilidad y se consideran de baja vulnerabilidad las zonas con importantes espesores e impermeabilidades bajas de las rocas.

Identificación y selección de fuentes de agua para evaluar los contenidos de nitratos

En los cuadros 1 y 2 se presentan las fuentes de agua evaluadas en los periodos 1989-2005 y 2006-2015, respectivamente.

Cuadro 1. Identificación y selección de manantiales y pozos representativos de cada acuífero del Valle Central. Estudio 1989-2005.

Nombre del acuífero	Tipo de fuente	Nombre de la fuente
Barva	Manantial	Cervecería Costa Rica
	Manantial	Ojo de Agua
	Manantial	Echeverría Katadín
Colima Superior	Pozo	W1
	Pozo	W2
	Pozo	W4
	Pozo	W7
	Pozo	Belén 1
	Pozo	Belén 2

Continúa...

Nombre del acuífero	Tipo de fuente	Nombre de la fuente
	Pozo	Belén 3
	Pozo	San Antonio 1 (CNP1)
	Pozo	San Antonio 2 (CNP 2)
	Pozo	Rivera Nuevo
	Manantial	La Libertad
	Manantial	Puente de Mulas
	Manantial	Fuente Zamora
Colima Inferior	Pozo	W3
	Pozo	W5
	Pozo	W6
	Pozo	W8
	Pozo	W9
	Pozo	W10
	Pozo	W12
	Pozo	W13
	Pozo	W14
	Pozo	W15
	Manantial	Potrerrillos

Cuadro 2. Identificación y selección de manantiales y pozos representativos de cada acuífero del Valle Central. Estudio 2006-2015.

Nombre del acuífero	Tipo de fuente	Nombre de la fuente
Barva	Manantial	Ojo de Agua
Colima Superior	Pozo	W1
	Pozo	W2
	Pozo	W4
	Pozo	W7
	Pozo	Belén 1
	Pozo	Belén 2
	Pozo	Belén 3
	Pozo	San Antonio 1 (CNP1)
	Pozo	San Antonio 2 (CNP 2)
	Manantial	La Libertad
	Manantial	Puente de Mulas
Manantial	Fuente Zamora	
Colima Inferior	Pozo	W3
	Pozo	W5
	Pozo	W6
	Pozo	W8
	Pozo	W10

Continúa...

Nombre del acuífero	Tipo de fuente	Nombre de la fuente
Barva	Manantial	Ojo de Agua
	Pozo	W12
	Pozo	W13
	Pozo	W14
	Pozo	W15
	Manantial	Potreriillos

La figura 1 permite esquematizar la ubicación geográfica, en la parte alta del Valle Central, de algunas de las fuentes seleccionadas en este trabajo.

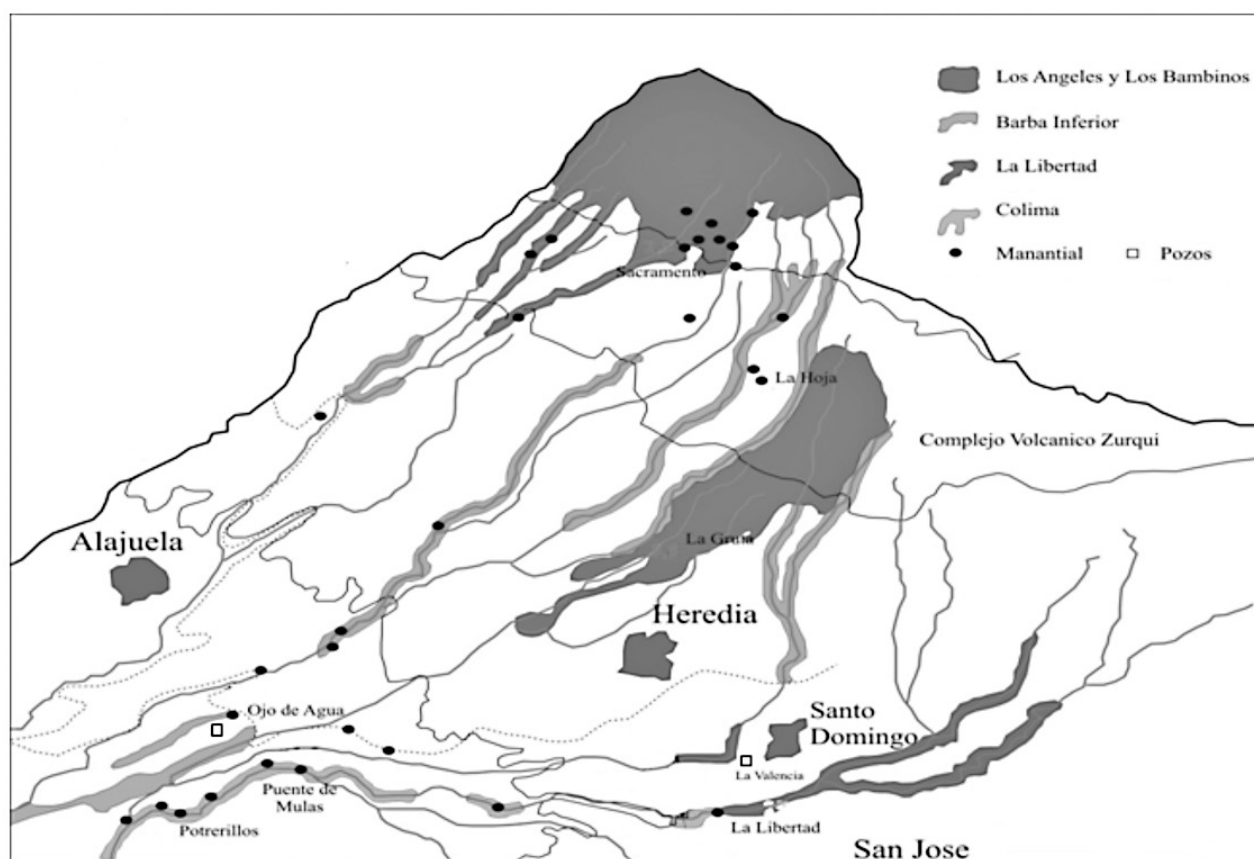


Figura 1. Ubicación geográfica de las fuentes de agua utilizadas en el presente estudio, periodos 1989-2005 y 2006-2015. Fuente: Arellano et al. (2005).

Evaluación de las concentraciones de nitratos en las fuentes seleccionadas

Promedio de los datos históricos de nitratos

En el cuadro 3 y la figura 2 se pueden apreciar y comparar los datos promedio de las concentraciones de nitratos en las fuentes estudiadas en ambos periodos.

Cuadro 3. Datos promedio de nitratos en mg/L en las fuentes de agua de los acuíferos del Valle Central de Costa Rica, periodos 1989-2005 y 2006-2015.

Fuente	Nitratos en mg/L Periodo 1989-2005	Nitratos en mg/L Periodo 2006-2015	Diferencia
Puente de Mulas	22,0	21,70	-0,30
La Libertad	26,3	30,30	4,00
Ojo de Agua	19,4	20,89	1,49
Potrillos	12,5	10,29	-2,21
Belén 1	16,10	14,93	-1,17
Belén 2	27,60	17,67	-9,93
Belén 3	31,70	28,92	-2,78
Pozo San Antonio 1 (CNP)	17,80	20,22	2,42
Pozo San Antonio 2 (CNP)	17,70	20,10	2,40
Pozo W1	10,00	12,07	2,07
Pozo W2	21,80	22,78	0,98
Pozo W3	9,60	10,20	0,60
Pozo W4	22,80	21,47	-1,33
Pozo W5	4,90	5,26	0,36
Pozo W6	8,4	6,58	-1,82
Pozo W7	17,10	18,09	0,99
Pozo W8	6,90	6,06	-0,84
Pozo W9	10,40	11,94	1,54
Pozo W10	6,10	6,33	0,23
Pozo W12	16,50	17,73	1,23
Pozo W13	6,80	6,56	-0,24
Pozo W14	10,10	10,01	-0,09
Pozo W15	8,70	8,01	-0,69
Pozo Zamora	20,30	23,61	3,31

Fuente: Laboratorio Nacional de Aguas, AyA.

Nota: Las 24 fuentes de abastecimiento cumplen con el valor máximo permisible de 50 mg/L de nitratos, de acuerdo con el Reglamento para la Calidad del Agua Potable.

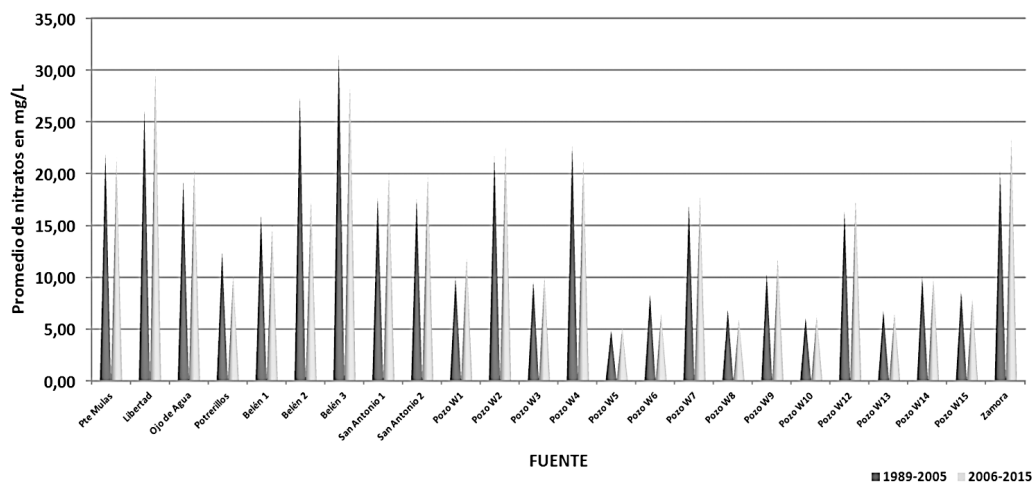


Figura 2. Valores promedio de la concentración de nitratos en las fuentes de agua del Valle Central, periodos 1989-2005 y 2006-2015. Fuente: Laboratorio Nacional de Aguas, AyA.

Comparación entre las concentraciones de nitratos en ambos periodos

Los promedios de las concentraciones de nitratos del periodo 1989-2005 y el periodo 2006-2015 demuestran que:

- a. Todas las 24 fuentes de agua, representativas de los tres acuíferos, tienen concentraciones de nitratos inferiores a 50 mg/L, lo que las califica como de calidad potable.
- b. De las 24 fuentes estudiadas, las que presentan una mayor tendencia al incremento son La Libertad y Pozo Zamora, con un incremento de 4,00 y 3,31 puntos, respectivamente, entre los promedios de ambos periodos; las otras 23 fuentes de agua mantienen concentraciones muy semejantes en ambos periodos.
- c. Las nacientes de la fuente La Libertad (Colima Superior) es la de mayor concentración de nitratos, con 26,3 mg/L en el periodo 1989-2005 y 30,30 mg/L entre 2006 y 2015.
- d. La fuente Ojo de Agua, representante del acuífero Barva, mantiene un comportamiento estable en la concentración de nitratos, oscilando entre 19,4 mg/L y 20,89 mg/L en ambos periodos de estudio, respectivamente.
- e. Los pozos W5, W6, W8, W10, W13 y W15, representantes del acuífero Colima Inferior, son los que tienen menores concentraciones de nitratos, con menos de 10 mg/L de promedio en ambos periodos.
- f. De las 12 fuentes analizadas pertenecientes al acuífero Colima Superior, cinco presentan un aumento superior a dos puntos entre los promedios de ambos periodos evaluados. Cabe mencionar que la fuente Belén 2, perteneciente al mismo acuífero, presenta una disminución de 9,93 puntos entre el promedio de 1989-2005 y el de 2006-2015, una situación que resulta inexplicable sin la realización de estudios más profundos y específicos.

Conclusiones y recomendaciones

El análisis de los resultados de nitratos de los últimos 27 años en las 24 fuentes de agua estudiadas, como representativas de los tres principales acuíferos del Valle Central, permite hacer las siguientes conclusiones y recomendaciones:

Conclusiones

Los valores obtenidos de las 24 fuentes de agua estudiadas muestran concentraciones de nitratos inferiores a 50 mg/L, lo cual las califica como de calidad potable.

Esta realidad es contraria a la hipótesis establecida por los estudios de Reynolds (2005), quien indicaba que la tendencia de la contaminación con nitratos en los tres acuíferos sería de aumento, estimando que para el año 2015 algunas fuentes, como Ojo de Agua y La Libertad, superarían los 50 mg/L de nitratos (Mora, 2005).

Nuestros estudios demuestran que ninguno de los puntos de muestreo superó el valor indicado por el Reglamento para la Calidad del Agua Potable y que, por el contrario, mantienen valores relativamente constantes entre los periodos 1989-2005 y 2006-2015.

El acuífero que presenta mayor vulnerabilidad a la contaminación antropogénica es Colima Superior, ya que cinco de las 12 fuentes evaluadas presentaron incrementos importantes (>2 puntos), en el promedio entre el periodo 1989-2005 y 2006-2015.

Recomendaciones

Es necesario continuar con el monitoreo de estas 24 fuentes de agua, con el propósito de valorar las tendencias de concentración de nitratos en los tres acuíferos. Dicho monitoreo lo continuará realizando el LNA.

El Estado, mediante las instituciones y ministerios respectivos, debe proteger las zonas de recarga de estos importantes acuíferos, con el objetivo superior de garantizar la cantidad y calidad del agua para las presentes y futuras generaciones.

Referencias

- Arellano, F., Ramos, V., Vázquez, M., Vargas, C. & Mora, D. (2005). *Estudio sobre la contaminación por nitratos en los principales acuíferos del Valle Central Costa Rica*. San José: Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados.
- Arredondo, S. (1995). *Delimitación de zonas de protección de los acuíferos en el área de influencia de Belén, Heredia*. San José: SENARA.
- AyA, OMS/OPS. (2002). *Agua potable y saneamiento de Costa Rica: análisis sectorial*. San José.
- Coss, A. (2004). Pancreatic cancer and drinking water and dietary sources of nitrate and nitrite. *American Journal of Epidemiology*, 159(7), 693-701.
- Denyer, P. & Arias, O. (1991). Estratigrafía de la region central de Costa Rica. *Geología de América Central*, 12, 1-59.
- Echandi, E. (1981). *Unidades volcánicas de la vertiente norte del río Virilla*. San José: Universidad de Costa Rica.
- Foster, S., Ventura, M. & Hirato, R. (1987). *Contaminación de las aguas subterráneas: un enfoque ejecutivo de la situación de América Latina y el Caribe en relación con el suministro de agua potable*. Lima: OMS/OPS/CEPIS.
- Gómez, A. (1987). *Evaluación del potencial de los acuíferos y diseño de las captaciones de aguas subterráneas en la zona de Puente de Mulas, Heredia, Costa Rica*. San José: Universidad de Costa Rica.
- Kussmaul, S. (1988). Comparación petrológica entre el piso volcánico del Valle Central y de la cordillera central de Costa Rica. *Ciencia y Tecnología*, 12 (1-2), 109-116.
- Kussmaul, S. (2000). *Estratigrafía de las rocas ígneas en geología de Costa Rica*. Cartago, C.R.: Editorial Tecnológica de Costa Rica, pp. 63-86.
- Lilia, A. (1997). *Introducción a la Toxicología Ambiental*. México: OMS/OPS.
- Marshall, J. & Idleman, B. (1999). *40 Ar/39 Ar age constraints on quaternary landscape evolution of the central volcanic arc and Orotina debris fan, Costa Rica*. Costa Rica: Abstrac GSA Annial Metting No. 06426.

- Mora, D. (2003). Evolución de algunos aspectos epidemiológicos y ecológicos del cancer gástrico en Costa Rica. *Revista Costarricense de Salud Pública*, año 13, no. 21, 7-18.
- Mora, D. (2005). *Análisis cronológico de forma y fondo de las informaciones periodísticas sobre el contenido de nitratos en los acuíferos del Valle Central*. Acueductos y Alcantarillados, Laboratorio Nacional de Aguas, Tres Ríos, La Unión, Cartago, Costa Rica, AyA.
- Mora, D. & Portuguez, F. (2005). *Situación de cobertura y calidad del agua para consumo humano en Costa Rica al año 2004*. Acueductos y Alcantarillados, Laboratorio Nacional de Aguas, Tres Ríos, La Unión, Cartago, Costa Rica, AyA.
- OMS (Organización Mundial de la Salud). (1995). *Guías para la calidad del agua potable*. 2 ed. (Addendum al vol. 1).
- ONU (Organización de las Naciones Unidas). (1973). *Investigaciones de aguas subterráneas en zonas seleccionadas*. New York.
- Pacheco, J. & Cabrera, A. (2003). *Fuentes principales de nitrato en aguas subterráneas*. *Ingeniería*, 7(2), 47-54.
- Presidencia de la República de Costa Rica. (3 de mayo, 2005). Reglamento para la calidad del agua potable. *La Gaceta* N° 84.
- Ramírez, A.A. (2002). *Mapa de vulnerabilidad hidrogeológica de una parte del Valle Central de Costa Rica*. *Geología de América Central*, 27, 53-60.
- Rapaport, S. (1977). *Introducción a la hematología*. 1 ed. Barcelona.
- Reynolds, J. (2005). *Contaminación de aguas subterráneas: nitratos*. Heredia, C.R.: Laboratorio de Hidrogeología Ambiental, Universidad Nacional.
- SENARA/BGS. (1985). *Mapa hidrogeológico del Valle Central, Costa Rica, escala 1:50 000*.
- SENARA-BGS/AyA. (1988). *Continuación de la investigación hidrogeológica de la zona norte y este del Valle Central 1984-1987. Informe final*. San José.
- Vargas, A. (2000). Acuíferos. En P. Denyer y S. Kussmaul (Comps.), *Geología de Costa Rica* (pp. 425-441). Cartago, C.R.: Editorial Tecnológica de Costa Rica.
- WHO (World Health Organization). (1996). *Guidelines for drinking water quality. Health criteria and other supporting information*. Geneva.
- WHO (World Health Organization). (2004). *Guidelines for drinking water quality*. 3 ed., vol. 1. Geneva.

Degradación de bromacil mediante la cepa IT-01 de *Penicillium* spp. y su aplicación en un biofiltro a escala laboratorio

Bromacil degradation by IT-01 strain *Penicillium* spp. and its application in a laboratory scale biofilter

Emmanuel Campos-Vargas¹, Kenia Calvo-Romero²,
Virginia Montero-Campos³

Fecha de recepción: 8 de febrero de 2016
Fecha de aprobación: 2 de junio de 2016

Campos-Vargas, E; Calvo-Romero, K; Montero-Campos, V. Degradación de bromacil mediante la cepa IT-01 de *Penicillium* spp. y su aplicación en un biofiltro a escala laboratorio. *Tecnología en Marcha*. Vol. 29-4. Octubre-Diciembre 2016. Pág 47-56.

DOI: 10.18845/tm.v29i4.3036



- 1 Ingeniero Ambiental. Ambientica Consulting, Costa Rica. Correo electrónico: ecampos@ambienticacr.com
- 2 Estudiante del Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica. Correo electrónico: tau_ke17@hotmail.com
- 3 Microbióloga, Ph.D en Ciencias Naturales. Docente en Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica. Correo electrónico: vmontero@itcr.ac.cr

Palabras clave

Bromacil; biofiltro; esponja; *Penicillium* spp.

Resumen

El bromacil es un pesticida que se ha encontrado en fuentes de abastecimiento de agua en Costa Rica. Se ha estudiado su degradación en matriz acuosa, principalmente con métodos fotoquímicos. En este artículo se presentan los resultados de un estudio que evaluó la degradación de bromacil por un hongo filamentoso identificado como cepa IT-01 del género *Penicillium* spp, aislado de suelo contaminado con el herbicida. Se estudió y valoró la eficiencia de remoción del bromacil en un biofiltro a escala laboratorio. Las pruebas se realizaron en el laboratorio de Ingeniería Aplicada de la carrera de Ingeniería Ambiental y el Centro de Investigación y de Servicios Químicos y Microbiológicos (CEQIATEC) del Tecnológico de Costa Rica. La eficiencia de remoción del pesticida al utilizar el microorganismo en un medio acuoso suspendido fue del 50% en 72 horas; sin embargo, al fijarse el hongo en esponja marina y utilizarse en un biofiltro, se obtuvo una eficiencia promedio del 80%, en un tiempo de 18 a 39 segundos. Durante los ensayos del biofiltro se evaluó el tipo de esponja marina como medio de soporte, el efecto de la inoculación del medio filtrante y el tiempo de retención hidráulico. Utilizando el software Minitab, se determinó, con un 95% de confianza, que la inoculación del medio fue el único parámetro que afectó significativamente la eficiencia de remoción del bromacil.

Keywords

Bromacil; biofilter; sponge; *Penicillium* spp.

Abstract

Bromacil is a pesticide that has been found in water sources in Costa Rica and its degradation in aqueous matrix has been studied mainly by photochemical methods. This article exposes the Bromacil degradation by a filamentous fungus identified as strain IT-01 *Penicillium* spp, isolated from contaminated soil and its application in a laboratory scale biofilter. The tests were made at Applied Environmental Engineering laboratories and the Center for Research and Chemical-Microbiological Services at Costa Rican Institute of Technology. The removal efficiency using the microorganism in an aqueous suspended medium was 50% in 72 hours; however, adhering the fungus and used in a marine sponge in biofilter it was obtained a removal efficiency of 80% with retention times from 18 to 39 seconds. During the biofilter tests: the type of marine sponge as a supporting mean, the effect of inoculation of the filter medium and the hydraulic retention time were evaluated. Through Minitab software, it was determined at 95% confidence that the inoculation of the medium was the only parameter that significantly affects the efficiency of removal for this pollutant.

Introducción

La contaminación del recurso hídrico se ha relacionado a nivel mundial con el uso agrícola extensivo de plaguicidas (Anju, Ravi & Bechan, 2010). En Costa Rica, el servicio de agua potable para 6000 personas se vio afectado por la presencia del herbicida bromacil en acuíferos del Caribe (Boeglin, 2010; Ruepert et al., 2005). Ante esto, el Servicio Nacional de Acueductos y Alcantarillados debió solventar la problemática llevando cisternas con agua potable al lugar afectado durante un tiempo indeterminado (Agüero, 2007), lo que implicó un alto costo para

la institución. En otras partes del mundo, como Estados Unidos (Pfeuffer, 2011; Zhang et al., 1997), Holanda (Schipper & Vissers, 2008) y España (Hernández et al., 2008) también se han detectado trazas de este pesticida en aguas de potencial consumo humano.

El bromacil se caracteriza por su alta solubilidad en agua, una bioacumulación ligera, alta movilidad ambiental y una vida media en el ambiente de 60 días. La Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA) lo considera ligeramente tóxico y se han evidenciado efectos crónicos –como daño en los testículos, hígado y tiroides– en animales de laboratorio. En algunos países existen límites máximos recomendados para la presencia de bromacil en las aguas de consumo humano: 90 µg/L en Estados Unidos, 0,1 µg/L en la Unión Europea y 300 µg/L en Australia (Cruz, 2010).

Debido a la importancia de este herbicida como contaminante ambiental, se han realizado estudios con el objetivo de evaluar su degradación, tales como los de Kalyani (Kalyani, 1993) se logró la fotodegradación a partir de la irradiación con luz ultravioleta del 90% de bromacil en una disolución acuosa de 25 mg/L. Por otra parte, su degradación usando métodos biológicos únicamente se ha estudiado en suelo mediante la aplicación de bacterias (Carl, 1973; Rasul & Cortez, 1988), por lo que la biodegradación de este contaminante en agua resulta un proceso innovador.

La biorremediación es una técnica que involucra el uso de microorganismos vivos con el fin de descomponer sustancias químicas presentes en el ambiente (Crawford & Rosenberg, 2013). La biofiltración está relacionada con estos procesos de biorremediación y consiste en el uso de organismos metabólicamente activos, que se fijan en medios de soporte con el fin de tratar aguas de consumo humano, mostrándose como una opción efectiva (Benner et al., 2013; Yu, Shi, Wei, Ye & Shuting, 2009). Esta tecnología se ha estudiado con biofiltros de carbón activado para remover compuestos orgánicos y subproductos de la cloración (Carlson & Amy, 2000; Liao et al., 2015; Norton & LeChevallier, 2000; Young-Song, Yoon-Jin & Sang-ho, 2007).

Aspectos de diseño como la carga hidráulica (CH) y el tiempo de retención (TR) resultan importantes en la remoción de contaminantes. Carlson y Amy (2000) reportan que la CH no afecta significativamente la remoción de compuestos orgánicos pero el TR sí. Sin embargo, Young-Song et al. (2007) determinaron que existe una mayor eficiencia en la remoción de compuestos orgánicos en biofiltros con bajas CH y altos TR.

En la literatura no existe evidencia de que se hayan utilizado procesos de biofiltración para remover el bromacil de aguas para consumo humano. El objetivo de esta investigación fue evaluar la utilización de una cepa de hongo escogida, altamente eficiente en un prototipo de biofiltro a escala para la remoción de bromacil en disoluciones de este contaminante en agua. La remoción fue valorada en aspectos como medio de soporte y TR.

Metodología

La investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Ingeniería Aplicada de la Carrera de Ingeniería Ambiental y el Centro de Investigación y de Servicios Químicos y Microbiológicos de la Escuela de Química (CEQIATEC) del Tecnológico de Costa Rica (TEC).

Aislamiento y evaluación de un microorganismo para la remoción de bromacil

Se recolectó una muestra de tierra contaminada con plaguicidas de una finca piñera localizada en la zona Sur del país, la cual se mezcló al 10% m/v en agua peptonada.

Se preparó agar recuento estándar y una disolución de bromacil de 800 mg/L en agua destilada estéril. Se inocularon ocho placas de Petri con la solución de tierra y se les vertió 0,10 ml de

la disolución del plaguicida. Se probaron dos tratamientos, las primeras cuatro réplicas se mantuvieron a temperatura ambiente y las restantes se incubaron a 35 °C por cinco días.

Luego de la determinación de la resistencia del hongo al plaguicida se traspasó el microorganismo obtenido de los cultivos a un medio sin bromacil para luego identificarlo en el microscopio. Se preparó un medio agar papa dextrosa acidificado y se mantuvo el hongo por pasajes en un medio nuevo cada tres meses.

Se preparó un inóculo de esporas en agua esterilizada en un rango de (4,0-8,0) x10⁵ esporas/mL, las cuales se cultivaron en un caldo enriquecido con los nutrientes descritos en el Cuadro 1. A partir de este se realizaron medios por duplicado con concentraciones de 20,0, 30,0 y 40,0 µg/L de bromacil y se agregó 1,00 mL de inóculo a cada uno.

Cuadro 1. Medio de cultivo para el hongo.

Nutrientes	Concentración (g/L)
KH ₂ PO ₄	2,0
MgSO ₄	2,0
NH ₄ NO ₃	2,0
FeSO ₄	1,0
ZnSO ₄	5,0
NaCl	2,0
Extracto de levadura	2,0

Se colocaron caldos inoculados con el hongo en una incubadora con agitación a 35 °C y 100 rpm durante tres días, con el objetivo de permitir la formación de pellets. Se tomó una muestra diaria de cada medio y se analizó la variación de la concentración del contaminante.

Selección del medio de soporte

Se realizó la valoración de dos medios, para lo cual se estableció un diseño factorial de 2², cuyos factores eran tipo de esponja (sintética y natural) e inóculo (presencia y ausencia de pellets del hongo) con seis réplicas, siendo la variable de respuesta el porcentaje de remoción de bromacil.

Los tratamientos se prepararon en buretas de 50 mL, llenando un volumen de 23 mL. Para el primer tratamiento se utilizaron (4.23±0.01) g de esponja natural sin inocular, en el segundo se requirieron (6.50±0.01) g de esponja sintética sin inocular. Para el tercero y cuarto tratamiento se utilizaron (4.18±0.01) g de esponja natural y (6.58±0.01) g de esponja sintética, respectivamente, y se adicionaron 46 pellets distribuidos de manera uniforme en cada esponja.

Se llenaron las buretas con el caldo descrito en el cuadro 1 hasta su máxima capacidad y se mantuvieron a temperatura ambiente por catorce días, con el fin de permitir el crecimiento de biomasa. Posteriormente, se pasó agua destilada en la bureta, luego se pasó una disolución con las condiciones descritas en el cuadro 2 y se tomaron seis réplicas para cada tratamiento.

Cuadro 2. Condiciones de la disolución de bromacil

Parámetro	Promedio	Mínimo	Máximo
Turbiedad (NTU)	*ND	*ND	*ND
pH	6,42	5,98	6,78
Concentración de bromacil ($\pm 0,9 \mu\text{g/L}$)	71,9	53,9	79,6
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	22,5	21,0	23,1

*ND: No detectable por el equipo utilizado.

Ensayos en biofiltro de laboratorio

El biofiltro consiste de un tanque de almacenamiento de 20 L, un tubo de desagüe, una carcasa de material acrílico transparente, dos lechos filtrantes distribuidos en recipientes cilíndricos metálicos, válvulas y un dispersor para una distribución de caudal influente constante y homogéneo. En la figura 1 se muestra un esquema de la planta utilizada y en el cuadro 3 los parámetros de diseño asociados a ella.

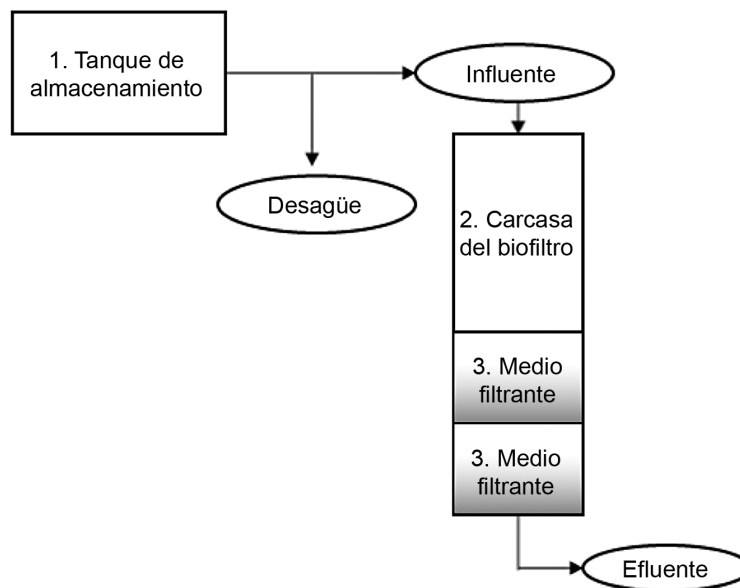


Figura 1. Esquema del biofiltro.

Se prepararon dos medios filtrantes –L1 y L2– con una relación de volumen 2:1 esponja marina natural inoculada y arena. Para cada medio se utilizaron $(61,00 \pm 0,01)$ g y $(60,90 \pm 0,01)$ g de esponja, respectivamente; cada esponja se inoculó con pellets y se mantuvo en un recipiente con el caldo descrito en el cuadro 1 hasta su máxima capacidad a temperatura ambiente durante 14 días. La arena utilizada presentó las siguientes características: solubilidad en ácido clorhídrico menor al 5%, tamaño efectivo de 0,5 mm y una gravedad específica de 0,4.

Se pasó un caudal de $0,25 \text{ m}^3/\text{h}$ constante de una disolución con las características del cuadro 2 para cada lecho y se midió el porcentaje de remoción de bromacil, el tiempo de retención y la velocidad de filtración. Se obtuvieron seis réplicas para cada lecho filtrante. En el cuadro 3 se observan algunos parámetros de diseño aplicados en el experimento.

Cuadro 3. Parámetros de diseño del biofiltro.

	L1	L2
Diámetro del filtro (m)	0,190	0,190
Largo del filtro (m)	0,800	0,800
Diámetro del lecho filtrante (m)	0,187	0,187
Largo del lecho filtrante (m)	0,110	0,220
Tiempo de retención (s)	18,04	39,64
Velocidad de filtración (m/h)	22	20
Carga hidráulica (m ³ /m ² h)	8,8	8,8

Para determinar la eficiencia del sistema, se llevó a cabo la cuantificación del bromacil mediante un equipo de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) marca Agilent Technologies, modelo 1260 Infinity, con un límite de cuantificación de 7.7 µg/L y un límite de detección de 2.3 µg/L. Se utilizó una columna de cromatografía de fase reversa marca Aligent, modelo Eclipse Plus C18, a una temperatura constante de 25 °C. La fase móvil consistió en un flujo de 0,7 mL/min de una disolución de acetonitrilo al 10% y 0,3 mL/min de acetonitrilo grado HPLC. Se inyectaron muestras de 50 µL prefiltradas con membranas de 0.45 µm. Se utilizó un detector de arreglo de diodos a 215 nm de longitud de onda.

Los análisis de turbiedad se efectuaron mediante un turbidímetro portátil marca Orbeco, modelo TB200, y el pH se determinó mediante un pHmetro marca Hanna, modelo HI 98128. Estos análisis se realizaron posteriormente a la preparación de disoluciones.

Para la identificación del hongo del microorganismo se utilizó un microscopio de barrido electrónico marca Hitachi, modelo TM-300 del laboratorio Institucional de Microscopia.

Resultados y discusión

Aislamiento y evaluación de un microorganismo para la remoción de bromacil

Se observó el crecimiento de un solo tipo de hongo a partir del quinto día en las ocho placas cultivadas. Se evidenció que la temperatura fue un factor de poca importancia durante el aislamiento, ya que para ambos tratamientos (con una temperatura ambiente de 17-23 °C y una temperatura constante de 35 °C) aparecieron colonias del hongo simultáneamente al quinto día. Para identificar el hongo se observó un conidióforo ramificado típico del género *Penicillium* spp., tal y como se muestra en la figura 2.



Figura 2. Conidióforo de *Penicillium* spp. observado por microscopía electrónica de escaneo.

Se evaluó la capacidad de remoción de bromacil por parte del hongo aislado en tres medios acuosos con concentraciones de 20, 30 y 40 µg/L. En la figura 3 se muestra la variación en la eficiencia de remoción respecto al tiempo. Cuando se alcanzaron las 72 horas, se evidenció una degradación superior al 50% del contaminante en el medio, lo cual hizo posible valorar su uso en un biofiltro.

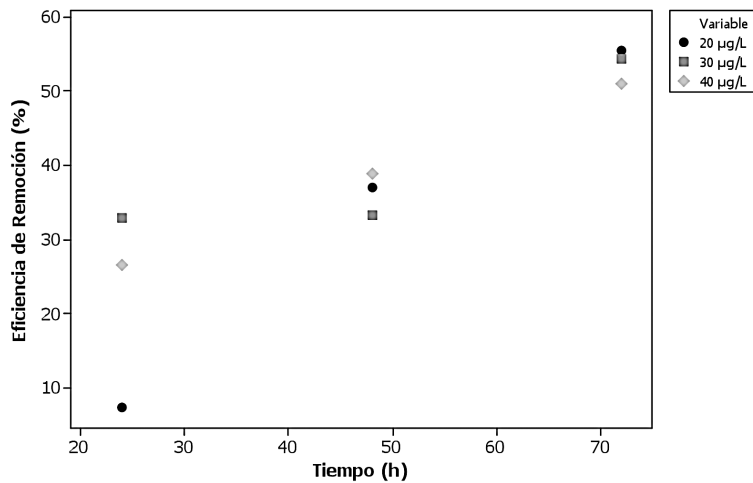


Figura 3. Variación de la eficiencia de remoción de bromacil en tres medios acuosos de diferente concentración.

Selección del medio de soporte

Se evaluaron dos medios de soporte en buretas: esponja marina de origen natural y esponja marina de origen sintético. Ambas esponjas inoculadas removieron entre 95-97% de bromacil al pasar una disolución preparada con las características físicoquímicas presentadas en el cuadro 2; la figura 4 muestra la eficiencia promedio de remoción para cada tratamiento. Se determinó que las esponjas que no fueron inoculadas removieron por simple adsorción en promedio menos del 50% del contaminante. El tiempo de retención en las buretas varió entre 8.50 y 10.25 minutos para la esponja sintética y entre 2.30 y 6.20 minutos para la esponja natural. Estas variaciones se debieron a las condiciones de empaquetamiento presentadas por las buretas.

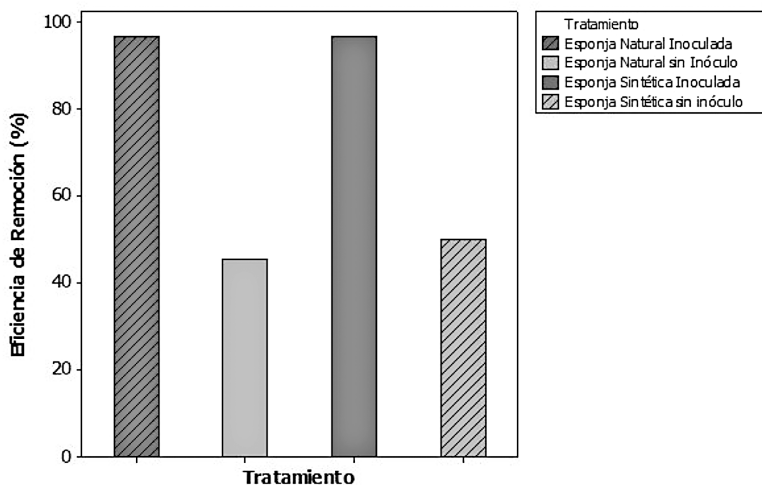


Figura 4. Eficiencia de remoción para cada tipo medio filtrante.

En la figura 5 se muestra el gráfico de Pareto estandarizado con un 95% de confianza para este experimento. Este demuestra que tanto el tipo de esponja como su interacción con el inóculo no producen un efecto significativo en la remoción. Además, se determinó que la presencia del inóculo es el único factor que genera un aumento significativo en la remoción del herbicida.

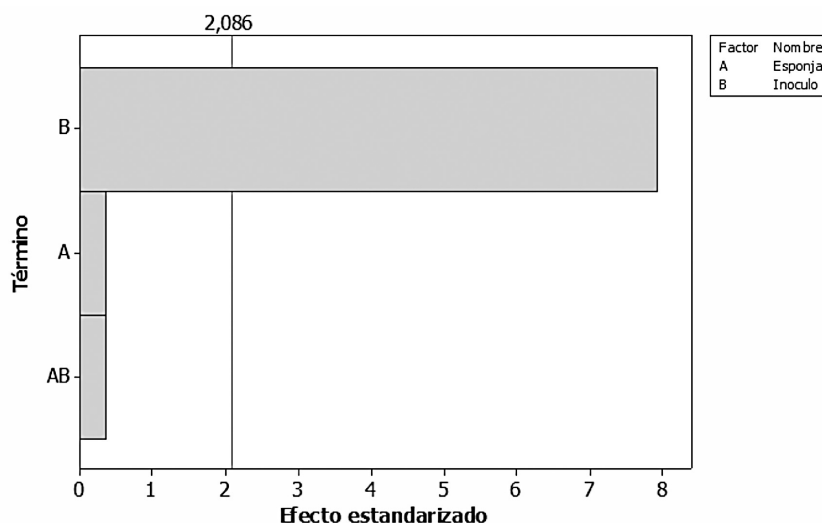


Figura 5. Gráfico de Pareto estandarizado para el experimento con medios de soporte.

Ensayos en biofiltro de laboratorio

Se realizaron pruebas de remoción de bromacil en un prototipo de biofiltro para dos lechos filtrantes –L1 y L2– con las características de diseño que se muestran en el cuadro 3. En el primer lecho se determinó una eficiencia de remoción promedio del 80% y para el segundo lecho la eficiencia promedio fue del 81%. Por lo tanto, se comprobó que los tiempos de retención asociados a cada lecho no causaron una variación significativa en la eficiencia de remoción.

Conclusiones

Se demostró que el hongo filamentoso *Penicillium* spp. es capaz de degradar más del 50% de bromacil de medios acuosos con concentraciones de entre 20.0 y 40.0 µg/L en periodos de 72 horas. Esta degradación resulta rápida al compararse con la vida media del contaminante en el ambiente, pero poco efectiva al utilizarse como sistema de tratamiento en un medio suspendido.

Se determinó que la eficiencia de remoción del contaminante aumenta al fijarse a un medio de soporte y el tiempo requerido es menor al compararse con la remoción producida por el microorganismo suspendido en un caldo.

Se comprobó que el tipo de esponja marina –natural o sintética– tiene poca importancia como medio de soporte en la eficiencia de remoción del plaguicida. Sin embargo, su inoculación es fundamental para el aumento de la eficiencia de remoción.

Durante la experimentación en el prototipo de biofiltro se comprobó que los tiempos de retención y longitudes de los lechos filtrantes utilizados son factores poco significativos en las eficiencias de remoción; lo realmente importante en la eficiencia de remoción es su inoculación o sea el trabajo realizado por el microorganismo.

Agradecimientos

A la Vicerrectoría de Investigación y Extensión por el financiamiento como proyecto estudiantil

Al personal del Centro de Investigación y de Servicios Químicos y Microbiológicos- CEQIATEC: Master Noemí Quirós, Sr Humberto Meza del Laboratorio de Cromatografía.

Al Ing Luis Fernando Alvarado del Laboratorio Institucional de Microscopia Electrónica.

Referencias

- Agüero, M. (15 agosto, 2007). AyA repartirá agua a pueblos afectados por contaminación. San José. Obtenido de http://www.nacion.com/nacional/servicios-publicos/AyA-repartira-pueblos-afectados-contaminacion_0_921707963.html
- Anju, A., Ravi, S.P. & Bechan, S. (2010). Water Pollution with Special Reference to Pesticide Contamination in India. *Scientific Research*, 2, 432-448. <http://doi.org/10.4236/jwarp.2010.25050>
- Benner, J., Helbling, D., Kohler, H.-P., Wittebol, J., Kaiser, E., Prasse, C. & Boon, N. (2013). Is biological treatment a viable alternative for micropollutant removal in drinking water treatment processes? *Water Research*, 47, 5955-5976. <http://doi.org/doi:10.1016/j.watres.2013.07.015>
- Boeglin, N. (2010). *Nivel de cumplimiento de decisiones judiciales en materia ambiental relativas a la protección del recurso hídrico* (p. 26). San José. Obtenido de http://www.estadonacion.or.cr/files/biblioteca_virtual/016/nicolas_boeglin.pdf
- Carl, D. (1973). *Degradation of Bromacil Terbacil, 2,4d and Antrazine and Antrazinein soil and pure culture and their effect on microbial activity*. University of California Riverside.
- Carlson, K. & Amy, G. (2000). The Importance of Soluble Microbial Products (SMPS) in Biological Drinking Water Treatment. *Water Research*, 34(4), 1386-1396. Obtenido de [http://www.researchgate.net/profile/Ken_Carlson4/publication/248329084_The_importance_of_soluble_microbial_products_\(SMPs\)_in_biological_drinking_water_treatment/links/546df4b90cf2bc99c21504bb.pdf](http://www.researchgate.net/profile/Ken_Carlson4/publication/248329084_The_importance_of_soluble_microbial_products_(SMPs)_in_biological_drinking_water_treatment/links/546df4b90cf2bc99c21504bb.pdf)
- Crawford, R. & Rosenberg, E. (2013). Bioremediation. En *The Prokaryotes* (4 ed. (pp. 295-304). Berlin. [http://doi.org/DOI 10.1007/978-3-642-31331-8_30](http://doi.org/DOI%2010.1007/978-3-642-31331-8_30)
- Cruz, E. (2010). BROMACIL. Obtenido de <http://www.plaguicidasdecentroamerica.una.ac.cr/index.php/base-datos-menu/78-bromacil>
- Hernández, F., Marín, J., Pozo, Ó., Sancho, J., López, F. & Morell, I. (2008). Pesticide residues and transformation products in groundwater from a Spanish agricultural region on the Mediterranean Coast. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 88, 409-424. [http://doi.org/DOI: 10.1080/0306731070124772](http://doi.org/DOI:10.1080/0306731070124772)

- Kalyani, H. (1993). *Photodegradation of Bromacil and Terbacil by Ultraviolet Radiation*. Florida Atlantic University.
- Liao, X., Chen, C., Zhang, J., Dai, Y., Zhang, X. & Xie, S. (2015). Operational performance, biomass and microbial community structure: impacts of backwashing on drinking water biofilter. *Environmental Science Pollution Research*, 22, 546-554. <http://doi.org/10.1007/s11356-014-3393-7>
- Norton, C. & LeChevallier, M. (2000). A Pilot Study of Bacteriological Population Changes through Potable Water Treatment and Distribution. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 268-276. Obtenido de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC91817/>
- Pfeuffer, R. (2011). South Florida Water Management District ambient pesticide monitoring network: 1992 to 2007. *Environmental Monitoring Assessment*, 182, 485-508. <http://doi.org/DOI 10.1007/s10661-011-1892-2>
- Rasul, G. & Cortez, L. (1988). Degradation of Bromacil by a *Pseudomonas* sp. *Applied and Environmental Microbiology*, 53(9), 2203-2207.
- Ruepert, C., Castillo, L.E., Bravo, V. & Fallas, J. (2005). *Vulnerabilidad de las aguas subterráneas a la contaminación por plaguicidas en Costa Rica* (p. 57). Heredia, C.R.: Obtenido de http://kioscosambientales.ucr.ac.cr/index.php?option=com_remository&Itemid=68&func=fileinfo&id=52
- Schipper, P. & Vissers, M. (2008). Pesticides in groundwater and drinking water wells; overview of the situation in the Netherlands. *Water Science Technology*, 57(8), 1277-1286. <http://doi.org/10.2166/wst.2008.255>.
- Young-Song, K., Yoon-Jin, L. & Sang-ho, N. (2007). Evaluation of a pilot scale dual media biological activated carbon process for drinking water. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 24(253-260).
- Yu, X., Shi, X., Wei, B., Ye, L. & Shuting, Z. (2009). PLFA profiles of drinking water biofilters with different acetate and glucose loadings. *Ecotoxicology*, 18, 700-706. <http://doi.org/DOI 10.1007/s10646-009-0346-x>
- Zhang, M., Geng, S., Ustin, S. & Tanji, K. (1997). Pesticide occurrence in groundwater in Tulare County, California. *Environmental Monitoring and Assessment*, 45, 101-127.

Evaluación de la genética del gato doméstico (*Felis catus*) mediante genes del pelaje en Sahagún, Córdoba, Colombia

Evaluation of the genetics of domestic cats (*Felis catus*) through genes associated with coat in Sahagún, Córdoba, Colombia

Luis Alfonso Causil-Vargas¹, Enrique Pardo-Pérez²,
Yonairo Manuel Herrera-Benavides³

Fecha de recepción: 22 de febrero de 2016
Fecha de aprobación: 13 de mayo de 2016

Causil-Vargas, L; Pardo-Pérez, E; Herrera-Benavides, Y.
Evaluación de la genética del gato doméstico (*Felis catus*)
mediante genes del pelaje en Sahagún, Córdoba, Colombia.
Tecnología en Marcha. Vol. 29-4. Octubre-Diciembre 2016.
Pág 57-66.

DOI: 10.18845/tm.v29i4.3037



¹ Departamento de Biología de la Universidad de Córdoba, Montería, Colombia.
Correo electrónico: luiscausilvargas@gmail.com

² Departamento de Biología de la Universidad de Córdoba, Montería, Colombia.
Correo electrónico: kikepardoperez@gmail.com

³ Laboratorio de Parasitología Veterinaria, Universidad de Córdoba, Montería, Colombia.
Correo electrónico: yonairo@yahoo.es



Palabras clave

Frecuencias alélicas; flujo génico; equilibrio Hardy-Weinberg; *Felis catus*.

Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar la estructura genética en poblaciones de gato doméstico (*Felis catus*) mediante marcadores que codifican la coloración y el diseño y longitud del pelaje en Sahagún, Córdoba, Colombia. Mediante observaciones directas en recorridos por las zonas urbanas pertenecientes a seis barrios de Sahagún, entre mayo y agosto de 2015, se muestrearon aleatoriamente 153 gatos adultos, utilizando la nomenclatura recomendada por el Committee on Standardized Genetic Nomenclature for Cats (1968), atendiendo a los marcadores fenotípicos: *O*: Orange; *a*: Non-agouti; *Tb*: Tabby blotched; *d*: No diluido; *l*: Pelo largo; *s*: Manchado de blanco; *W*: Dominante blanco. Se midieron: frecuencia alélica, flujo génico y equilibrio Hardy-Weinberg a través del programa PopGene 1.31; la estructura genética mediante el programa FSTAT v. 2.9.3.2. El marcador *Manchado de blanco* fue el de mayor frecuencia, el *Dominante blanco* presentó los valores más bajos de las frecuencias alélicas, se obtuvo escasa diferenciación genética entre las poblaciones y un elevado flujo génico; se observó un exceso de heterocigotos a nivel poblacional y a nivel total, no hubo equilibrio Hardy-Weinberg en todas las poblaciones con relación a los marcadores *Orange* y *Manchado de blanco*; y se evidenció selección natural y artificial para estos marcadores.

Keywords

Allele frequencies; gene flow; Hardy-Weinberg equilibrium; *Felis catus*.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the genetic structure in populations of cat domestic (*Felis catus*) using markers that encode color, design and length of coat in Sahagún, Córdoba, Colombia. By direct observations during the journey at urban zones belonging to six Sahagún neighborhoods, a total amount of 153 adult cats were randomly studied between months of May and August 2015, using the nomenclature recommended by the Committee on Standardized Genetic Nomenclature for Cats (1968), according to phenotypic markers: *O*: Orange; *a*: Non-agouti; *Tb*: Blotched tabby; *d*: Dilution; *l*: Long hair; *s*: Spotting White; *W*: Dominant White. Were measured: allele frequencies, gene flow and Hardy-Weinberg equilibrium were calculated through POPGENE 1.31 program; genetic structure using FSTAT v. 2.9.3.2 program. The *Spotting White* gene showed the highest frequency, the dominant white marker, presented the lowest values of allele frequencies, low genetic differentiation among populations was obtained and high gene flow; an excess of homozygotes was observed to subpopulations and population level. In any population no Hardy-Weinberg equilibrium was found in relation to the Orange and Spotting white markers, and also evidenced natural selection and artificial selection for these markers.

Introducción

La variabilidad de colores del pelaje en los gatos domésticos (*Felis catus*) obedece a un proceso de desarrollo y funcionamiento de las estructuras implicadas en la formación o génesis del pigmento. Este proceso está regulado por una serie de genes y normalmente conduce al desarrollo del denominado de tipo salvaje (atigrado). Cualquier otra variación del color en

el pelaje es causada por mutaciones y obedece a una serie de genes que codifican para coloraciones que van desde el blanco hasta el naranja. Las frecuencias de alelos mutantes y silvestres de los genes que codifican la coloración del pelaje son específicas de cada población y reflejan sus estructuras genéticas (Kholin, 2012). Los colores y patrones del pelaje son muy variables en los gatos y son determinados, principalmente, por varios genes que se expresan siguiendo las características de la herencia mendeliana (Gershony, 2014).

La forma en que se han distribuido las poblaciones de gatos domésticos alrededor del mundo a lo largo de la historia está altamente relacionada con movilizaciones antrópicas, lo que se denomina la hipótesis de migración histórica (Ruiz-García et al., 2005). Se han analizado varias poblaciones en distintas partes del mundo desde la perspectiva de la genética de poblaciones biogeográficas, utilizando las características que codifican para la longitud, la distribución, la coloración del pelaje y anomalías esqueléticas. Aunque la mayoría de los estudios de las poblaciones de gatos se han realizado en Europa, en América Latina, específicamente en Colombia, se han reportado varias investigaciones sobre la genética de poblaciones de esta especie.

Ruiz-García y Álvarez (2003) estudiaron seis poblaciones latinoamericanas de gatos, incluyendo la ciudad de Bogotá, utilizando marcadores que codifican características morfológicas del pelaje y marcadores moleculares nucleares microsátélites, concluyendo que la evolución global de los marcadores utilizados obedecería a presiones naturales y no a eventos selectivos. Por otro lado, Pardo et al. (2014), en un estudio en Montería, Colombia, de la estructura genética en una población de gatos domésticos mediante marcadores del pelaje, encontraron bajos niveles de variabilidad genética tanto a nivel global como poblacional; pese a esto, los marcadores *Orange* y *Manchado de blanco* evidenciaron ausencia de equilibrio. Peña-Cruz et al. (2015), en un estudio genético-poblacional de gatos domésticos realizado en la ciudad de Cali, hacen el primer reporte para Colombia de los alelos *inhibitor* y *ticked abyssinian*. Pardo et al. (2015) evaluaron la diversidad genética en poblaciones de gatos domésticos de Lorica, donde el marcador *Orange* evidencia altas frecuencias alélicas y una selección natural y artificial debido a presiones antrópicas. Montes-Díaz et al. (2015) reportaron selección natural y artificial de los marcadores *non-Agouti* y *Tabby abyssinian* en la población de Cartagena.

La variación fenotípica en la hibridación de especies o subespecies es una condición para que los investigadores de vida silvestre identifiquen poblaciones parentales y sus híbridos en el campo; por tal razón, los marcadores fenotípicos, especialmente los relacionados con la coloración del pelaje (Devillard, 2014), constituyen una valiosa herramienta cuando se analiza la estructura genética de las poblaciones en medios naturales, debido a su gran contenido informativo, fácil manipulación y rápida obtención de resultados.

Las frecuencias de estos marcadores genéticos comúnmente usados para dichos estudios poblacionales podrían verse afectadas por variables ambientales, selección natural, selección artificial y/o los efectos migratorios que caracterizan la historia del establecimiento de las poblaciones humanas (Ruiz-García & Álvarez, 2008). Por esta razón, la presente investigación tuvo como finalidad conocer el grado de diversidad y estructura genética en poblaciones de *Felis catus* mediante marcadores que codifican el pelaje en Sahagún, Córdoba, Colombia.

Materiales y métodos

Sitio de estudio

El estudio se realizó en la zona urbana de Sahagún (8° 56' 58" latitud Norte y 75° 26' 52" longitud Oeste, con una temperatura promedio de 28 °C). Se muestrearon los barrios Bosque Barají, Santa Lucía, Alfonso López, Venecia, Camilo Torres y Belalcázar.

Obtención de datos

Se realizaron muestreos aleatorios entre los meses de Mayo y Agosto del año 2015. Mediante excursiones urbanas y observación directa, se realizó una clasificación fenotípica de cada uno de los individuos adultos encontrados en Sahagún; no se tuvieron en cuenta gatos callejeros y cada ruta se utilizó solo una vez, a fin de evitar el remuestreo, atendiendo a la presencia o ausencia de los marcadores autosómicos *Non-agouti(a)*; *Blotched tabby (Tb)*; *Dilution (d)*, *Pelo largo (l)*; *Manchado de blanco (S)* y *Dominante blanco (W)* y el locus ligado al sexo *O (Orange)*; por último, se tomaron registros fotográficos de cada individuo. De igual manera, se realizó una encuesta sobre sexo, edad raza, origen y preferencias antrópicas; se construyó una base de datos y los resultados se analizaron con varios estadísticos.

Diseño estadístico

La estimación de las frecuencias alélicas de cada marcador, el coeficiente de diferenciación genética (G_{ST}) y flujo génico (Nm); se estimaron a través del programa PopGene 1.31 (Yeh, 1999). El equilibrio Hardy-Weinberg fue probado mediante un chi-cuadrado; la distancia genética entre las poblaciones, el índice de diversidad genética correspondientes a la heterocigosidad esperada (H_e), fueron calculadas siguiendo los parámetros de Nei (1972); y la estructura genética de las poblaciones, fue calculada atendiendo a los índices de fijación propuestos por Wright: F_{IS} , F_{IT} y F_{ST} se calcularon mediante el programa FSTAT v. 2.9.3.2 (Goudet, 2001). La elaboración del dendrograma que representa los valores estimados de distancia genética se realizó a través del método UPGMA (Unweighted Pair Group Methodwith Arithmetic Mean), empleando el programa MEGA 5.2 (Tamura, 2011).

Resultados y discusión

Se muestreó un total de 153 individuos, de los cuales el 42,2% eran machos y el 57,8% hembras. Estos porcentajes de sexos encontrados, distribuidos entre las seis subpoblaciones muestreadas de la ciudad, podrían indicar un buen tamaño de muestra para la realización del estudio.

Frecuencias alélicas

El cuadro 1 contiene las frecuencias alélicas para cada subpoblación. Se puede observar que el marcador *Manchado de blanco* es el más frecuente, especialmente en las subpoblaciones de Belalcázar ($q= 0.7500$), Santa Lucía ($q= 0.6667$) y Venecia ($q= 0.6500$). Este hecho podría estar relacionado con diversos factores, tales como: el continuo y rápido crecimiento poblacional de gatos domésticos, lo cual incrementa considerablemente el flujo genético, aumentando así los niveles de panmixia; factores ambientales como las altas temperaturas podrían favorecer tanto la presencia como el aumento de individuos portadores de dicho marcador (Eizirik, 2010). Y, por último, las preferencias antrópicas por razones estéticas también podrían estar relacionadas con el aumento en la frecuencia alélica de este gen (Pardo et al., 2015), lo cual fue evidenciado por la favorabilidad detectada al realizar el estudio, revelando una posible selección artificial.

Cuadro 1. Frecuencias alélicas de cada marcador en las poblaciones estudiadas.

Poblaciones	Locus						
	O	a	Tb	d	l	s	W
Bosque Barají	0.3500	0.4000	0.5821	0.3567	0.1002	0.4520	0.0000
Venecia	0.3023	0.4022	0.5900	0.7558	0.1500	0.6500	0.0000
Alfonso López	0.3333	0.4444	0.6804	0.2200	0.1250	0.1111	0.0556
Santa Lucía	0.2500	0.4167	0.2500	0.3333	0.0833	0.6667	0.0000
Camilo Torres	0.5301	0.0034	0.5100	0.0241	0.0008	0.5000	0.0000
Belalcázar	0.6000	0.4899	0.4500	0.0467	0.2659	0.7500	0.0000
Total	0.3942	0.3594	0.5087	0.2894	0.1208	0.5216	0.0093

O: Orange; a: Non-agouti; Tb: Tabby blotched; d: Dilution; l: Pelo largo; s: Manchado de blanco; W: Dominante blanco

Un aspecto importante de destacar es que la frecuencia del gen *Orange* fue alta ($p= 0.3942$) en comparación con las reportadas por otros autores (Ruiz-García & Álvarez, 2003, 2008; Ruiz-García et al., 2005, Peña-Cruz et al., 2014). En ambientes urbanos, donde las densidades poblacionales son altas, los individuos que portan el marcador *Orange* podrían ser favorecidos, ya que tienden a ser altamente sociables con otras especies, principalmente la humana; esto hace suponer que los gatos domésticos portadores de este gen están mejor adaptados a las condiciones imperantes de una localidad con alta presión demográfica y ese podría ser un factor de selección sobre otros que no lo portan (Schmidt, 2009; Kaelin & Barsh, 2013). Por otra parte, el marcador *Orange*, además de estar ligado al cromosoma X, también es epistático sobre el *Non agouti*, (Schmidt, 2009); esta correlación negativa podría aumentar indirectamente las frecuencias de este marcador.

Por su parte, el marcador *Dominante blanco*, que es epistático y responsable del color blanco en la totalidad del cuerpo del animal, solo se registró en una de las subpoblaciones, Alfonso López, siendo este el marcador menos frecuente en la población de Sahagún. Esto podría ser atribuido a que los individuos de color blanco tienden a desarrollar complicaciones auditivas (David, 2014), lo que coloca en desventaja selectiva a aquellos que porten este marcador. Este hecho podría ocasionar la muerte a una edad temprana, disminuyendo notablemente el número de animales blancos y, por consiguiente, su frecuencia alélica.

La presencia de todos los marcadores estudiados en la población de gatos domésticos de Sahagún evidencia la gran variedad de genes disponibles en la zona. Esto podría explicarse por el hecho de que se trata de un sitio de interconexión con la troncal de oriente que viene desde el interior del país, y con la vía a la capital de Córdoba, favoreciendo el movimiento de migrantes y aumentando de forma considerable el flujo génico de personas e indirectamente de los gatos domésticos.

Hardy-Weinberg

Con respecto al test de equilibrio de Hardy-Weinberg (cuadro 2), a nivel global, las poblaciones reportaron ausencia de equilibrio para los marcadores *O* (*Orange*) y *S* (*Manchado de blanco*). Una de las razones que explicarían la desviación de equilibrio es la relación directa entre las

poblaciones de gatos y las poblaciones antrópicas, puesto que los seres humanos han jugado un papel significativo en el establecimiento y mantenimiento de la variación del color del pelaje en los animales domésticos, debido a que tienen preferencias por coloraciones exóticas y variantes blancas (Linderholm & Larson, 2013). Esto indicaría que la estructura actual de colores en poblaciones de gatos domésticos podría ser el resultado de continuas presiones selectivas que han reducido la frecuencia de alelos silvestres y han inducido el aumento de mutantes, lo que ha favorecido algunas características fenotípicas más que otras. Además, las alternativas del marcador *Orange* conocidas como *carey* y *calicó* son preferidas por los habitantes del lugar, debido a que su pelaje presenta tres colores (hembras heterocigotas); esto se constató durante el muestreo y podría explicar el exceso de heterocigotos evidenciados en los índices de fijación F_{IS} , F_{IT} y F_{ST} (cuadro 3).

Otro aspecto que podría afectar esta desviación es la cercanía geográfica entre las subpoblaciones estudiadas, lo que causa un aumento considerable del flujo génico entre ellas, dado que la existencia de un constante intercambio de genes previene eventos de endogamia al interior de las poblaciones y demuestra que los apareamientos fueron aleatorios (Siepielski, 2013), provocando, por lo tanto, un aumento de genotipos heterocigotos en la población, lo que conduce a una desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg.

Cuadro 2. Equilibrio de Hardy-Weinberg para los marcadores Orange (O) y Manchado de blanco (s).

Población	Marcador	Chi-cuadrado	Grados de libertad	P valor
Sahagún	O	57, 515	2	0.0005
	S	18.5604	2	0.0000
O: Orange; S: Manchado de blanco				

Estructura poblacional

Los valores negativos de F_{IS} en todos los marcadores que muestra el cuadro 3 evidencian un exceso de heterocigotos de los individuos con respecto a cada población y, por lo tanto, se asume ausencia de consanguinidad, con valores que oscilan entre -0.0138 para el marcador *Dominante blanco* y -0.2989 para el gen *Orange*. Con relación al estadístico F_{IT} , en promedio se obtuvo un exceso de heterocigotos de los individuos con respecto a la población total, abarcando valores de -0.0042 a -0.4860 para los marcadores *Dominante blanco* y *Manchado de blanco*, respectivamente. Por otro lado, el valor promedio de F_{ST} resultó ser bajo, lo que indica poca diferenciación génica entre las poblaciones.

El exceso de heterocigotos obtenidos a través de los distintos índices de fijación (F_{IS} y F_{IT}) muestra que estos presentan una estructura casi homogénea. Esto podría estar relacionado con la cercanía geográfica de las poblaciones, lo que ocasionaría un aumento del flujo génico entre ellas. Los dueños de las mascotas no solo se desplazan por toda la ciudad, sino que también llegan de otros lugares llevando consigo animales domésticos; por esta razón, se podría intuir que el flujo génico de estas poblaciones de gatos es generalmente alto y era de esperarse que las frecuencias alélicas de los genes evaluados no hayan diferido sustancialmente entre las subpoblaciones urbanas en Sahagún, lo que fue confirmado por el estadístico F_{ST} , ya que todas las zonas analizadas se comportan como una sola población.

El valor de F_{ST} muestra que los barrios no se comportan como poblaciones independientes, lo cual puede demostrarse por el dominio antrópico en la generación de descendientes con paternidades simultáneas de gatos domésticos, aumentando así el flujo genético dentro de las poblaciones, disminuyendo la endogamia e incrementando la panmixia. Asimismo, no existen barreras que limiten el flujo de los gatos, por medio del movimiento de sus dueños de un lado al otro de la ciudad; debe aclararse que el valor del F_{ST} se debe al sistema de apareamiento y no a la subdivisión poblacional (Ruiz-García & Álvarez, 2008; Rosenfeld, 2010).

Cuadro 3. Valores de los estadísticos F para cada marcador en la población global.

Marcadores	F_{IT}	F_{ST}	F_{IS}
O	-0.3279	-0.0022	-0.2989
a	-0.2895	-0.0018	-0.2846
Tb	-0.4380	-0.0578	-0.2026
d	-0.3890	-0.0675	-0.2987
l	-0.3670	-0.0045	-0.2661
s	-0.4860	-0.0178	-0.1407
W	-0.0042	-0.0088	-0.0138
Promedio	-0.3289	0.0229	-0.2150
O: Orange; a: Non-agouti; Tb: Blotched tabby; d: Dilution; l: Pelo largo; s: Manchado de blanco; W: Dominante blanco			

Diferenciación genética y flujo génico

El nivel de diferenciación genética en la población de gatos domésticos de Sahagún fue muy bajo (cuadro 4). Esto indica que aproximadamente el 6,7% de la variación detectada se debe a diferencias entre las subpoblaciones; por lo tanto, los seis barrios no fueron significativamente diferentes para los marcadores estudiados y esto sugiere que todas ellas se comportan como una sola población. El valor de flujo génico permite suponer que las poblaciones mantienen un grado de intercambio genético, asumiéndose un total de dos migrantes por generación; además, la cifra obtenida resultó ser mayor que 1, lo que indica que las subpoblaciones (barrios) se encuentran muy relacionadas genéticamente y se comportan como una sola población, la deriva génica es despreciable y el flujo génico hace que todas las poblaciones evolucionen de manera cohesiva como un conjunto, situación a la que se atribuye la aproximación de todas las poblaciones desde el punto de vista estructural (Pardo, 2015).

Distancia genética

La distancia genética de Nei (1972) entre las poblaciones mostró a Venecia y Santa Lucía como las más cercanas (cuadro 5), mientras Bosque Barají y Belalcázar resultaron ser las de mayor diferencia génica. La población de Alfonso López presentó los mayores valores de distancia genética en comparación con el resto de las poblaciones. Los bajos valores de distancias

podrían obedecer a la cercanía geográfica, lo que explicaría el hecho de que no hay una diferenciación entre las subpoblaciones, sugiriendo análisis generales y no de subestructura poblacional.

Cuadro 4. Coeficiente de diferenciación genética (G_{ST}) y flujo génico (Nm) en Sahagún.

G_{ST}	Nm
0.067	2,38

Cuadro 5. Matriz de distancia genética (Nei, 1972) entre las poblaciones.

	1	2	3	4	5	6
1	-----					
2	0,052	-----				
3	0,037	0,011	-----			
4	0,044	0,004	0,014	-----		
5	0,628	0,613	0,581	0,636	-----	
6	0,696	0,660	0,665	0,692	0,015	-----

1: Bosque Barají, 2: Venecia, 3: Alfonso López, 4: Santa Lucía, 5: Camilo Torres, 6: Belalcázar

En el dendograma UPGMA elaborado a partir de los valores de distancia genética de Nei (1972) para las seis subpoblaciones de Sahagún (figura 1), se evidencia la similitud genética entre Venecia y Santa Lucía, a las cuales se asocia Alfonso López; asimismo, las poblaciones Camilo Torres y Belalcázar forman otra asociación. Esa agrupación estaría relacionada con la antigüedad de los barrios, pues en subpoblaciones cercanas las presiones evolutivas ejercen presiones similares y se esperaría que fueran más parecidas entre sí que con subpoblaciones más contemporáneas.

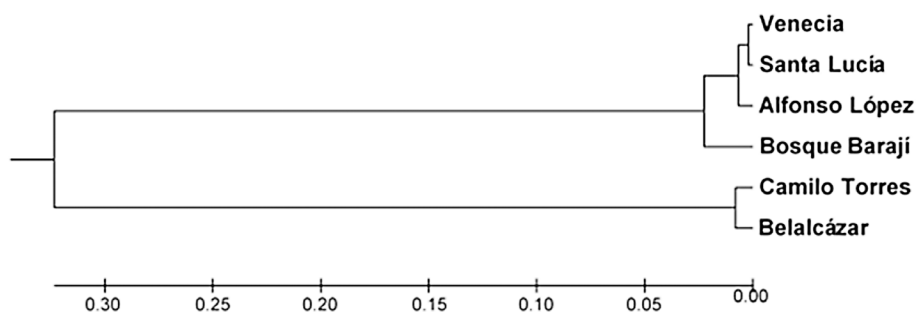


Figura 1. Dendograma construido con el método UPGMA basado en la distancia genética de Nei (1972) de poblaciones de *Felis catus* en Sahagún.

Conclusiones

El marcador con la mayor frecuencia fue *Manchado de blanco*, debido a que podría estar siendo favorecido por las elevadas temperaturas y las preferencias antrópicas por razones estéticas. Esto evidencia una posible selección artificial, no solo por este marcador, sino también por el marcador *Orange*, debido a que las hembras heterocigotas (tricolor) son preferidas frente a otros individuos que portan otros marcadores, de tal manera que sus frecuencias aumentaron progresivamente. La presencia de todos los genes estudiados en la población de gatos de Sahagún muestra la gran variedad de genes disponibles en la zona. La diversidad genética total encontrada en el lugar fue moderada. La mayor parte de la diversidad génica se encontró dentro de las poblaciones y poca entre las poblaciones, lo cual evidencia que las poblaciones locales comparten una gran proporción de la diversidad total, razón por la cual se comportan como una sola. Se encontró, además, ausencia del equilibrio de Hardy-Weinberg para los alelos *O* (*Orange*) y *S* (*Manchado de blanco*); esta desviación podría estar relacionada con una posible presión selectiva, antrópica y natural en estos marcadores.

Referencias

- David, V.A., Menotti-Raymond, M., Wallace, A.C., Roelke, M., Kehler, J., Leighty, R. & Schäffer, A.A. (2014). Endogenous retrovirus insertion in the KIT oncogene determines white and white spotting in domestic cats. *G3: Genes | Genomes | Genetics*, 4(10), 1881-1891.
- Devillard, S., Jombart, T., Léger, F., Pontier, D., Say, L. & Ruetten, S. (2014). How reliable are morphological and anatomical characters to distinguish European wildcats, domestic cats and their hybrids in France? *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 52(2), 154-162.
- Eizirik, E., David, V.A., Buckley-Beason, V., Roelke, M.E., Schäffer, A.A., Hannah, S.S. & Menotti-Raymond, M. (2010). Defining and mapping mammalian coat pattern genes: multiple genomic regions implicated in domestic cat stripes and spots. *Genetics*, 184(1), 267-275.
- Gershony, L., Penedo, M., Davis, B., Murphy, W., Helps, C. & Lyons, L. (2014). Who's behind that mask and cape? The Asian leopard cat's Agouti (ASIP) allele likely affects coat colour phenotype in the Bengal cat breed. *Animal genetics*, 45(6), 893-897.
- Goudet, J. (2001). FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3).
- Kaelin, C.B. & Barsh, G.S. (2013). Genetics of pigmentation in dogs and cats. *Annu. Rev. Anim. Biosci.*, 1(1), 125-156.
- Kholin, S. (2012). New data on coat color mutant gene frequencies in domestic cats of the European part of Russia (the City of Kamyschin). *Russian Journal of Genetics*, 48(7), 751-754.
- Linderholm, A. & Larson, G. (2013). *The role of humans in facilitating and sustaining coat colour variation in domestic animals*. Paper presented at the Seminars in Cell & Developmental Biology. Vol. 24, No. 6, pp. 587-593). Academic Press.
- Montes-Díaz, Y., Barrios, Y.C. & Pardo-Pérez, E. (2015). Análisis de la variabilidad genética de las poblaciones de gatos domésticos (*Felis catus*) mediante genes del pelaje en Cartagena, Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 39(153), 503-513.
- Nei, M. (1972). Genetic distance between populations. *American naturalist*, 283-292.
- Pardo, E., Causil, L. & Rodríguez, A. (2015). Estudio de la diversidad genética de gato doméstico (*Felis catus*) mediante genes asociados al color del pelaje en Lorica-Córdoba, Colombia. *Arch. Zootec*, 64, 389-395.
- Pardo, E., Morales, J. & Cavadia, T. (2014). Estudio de la diversidad genética de la población de gato doméstico (*Felis catus*) en Montería, Colombia. *Bistua Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*, 12(2), 35-47.
- Peña-Cruz, A.F., Arango, S.S., Montoya, A.P., Bedoya, M., Ortiz, A.R., Vasquez, J.O. & Guzmán, A. (2015). Análisis genético de la población de gatos del norte y sur de Cali, Colombia. *Acta Biológica Colombiana*, 20(1), 109-116.
- Rosenfeld, C.S. (2010). Animal models to study environmental epigenetics. *Biology of reproduction*, 82(3), 473-488.
- Ruiz-García, M. & Álvarez, D. (2003). Posible origen europeo de seis poblaciones latinoamericanas de gatos y no existencia de paralelismo con el modelo colonizador británico al utilizar genes del pelaje y microsatélites. *Acta Zool. Mexicana*, 89, 261-286.

- Ruiz-García, M. & Álvarez, D. (2008). A biogeographical population genetics perspective of the colonization of cats in Latin America and temporal genetic changes in Brazilian cat populations. *Genetics and Molecular Biology*, 31(3), 772-782.
- Ruiz-García, M., Álvarez, D. & Shostell, J.M. (2005). Population genetic analysis of cat populations from Mexico, Colombia, Bolivia, and the Dominican Republic: identification of different gene pools in Latin America. *Journal of Genetics*, 84(2), 147-171.
- Schmidt-Küntzel, A., Nelson, G., David, V.A., Schäffer, A.A., Eizirik, E., Roelke, M.E. & Menotti-Raymond, M. (2009). A domestic cat X chromosome linkage map and the sex-linked orange locus: mapping of orange, multiple origins and epistasis over nonagouti. *Genetics*, 181(4), 1415-1425.
- Siepielski, A.M., Gotanda, K.M., Morrissey, M.B., Diamond, S.E., DiBattista, J.D. & Carlson, S.M. (2013). The spatial patterns of directional phenotypic selection. *Ecology letters*, 16(11), 1382-1392.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. & Kumar, S. (2011). MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular biology and evolution*, 28(10), 2731-2739.
- Yeh, F., Yang, R. & Boyle, T. (1999). *Microsoft Windows-based freeware for population genetic analysis. Release 1.31*. University of Alberta, Edmonton.

Identificación de secuencias génicas relacionadas con la ruta metabólica de síntesis de glicósidos en *Stevia rebaudiana*

Stevia rebaudiana genetic-sequences identification
related with the glycosides synthesis pathway

Karol Jiménez-Quesada¹, Adriana Álvarez-Figueroa²,
Giovanni Garro-Monge³

Fecha de recepción: 27 de noviembre de 2015
Fecha de aprobación: 15 de marzo de 2016

Jiménez-Quesada, K; Álvarez-Figueroa, A; Garro-Monge, G.
Identificación de secuencias génicas relacionadas con la ruta
metabólica de síntesis de glicósidos en *Stevia rebaudiana*.
Tecnología en Marcha. Vol. 29-4. Octubre-Diciembre 2016.
Pág 67-77.

DOI: 10.18845/tm.v29i4.3038



- 1 Centro de Investigación en Biotecnología (CIB), Instituto Tecnológico de Costa Rica.
Correo electrónico: kjimenez@itcr.ac.cr
- 2 Centro de Investigación en Computación (CIC), Instituto Tecnológico de Costa Rica.
Correo electrónico: aalvarez@itcr.ac.cr
- 3 Centro de Investigación en Biotecnología (CIB), Instituto Tecnológico de Costa Rica.
Correo electrónico: ggarro@itcr.ac.cr

Palabras clave

Factor de transcripción; glicósidos; región promotora; sitio de unión al ADN; transcriptómica.

Resumen

Las plantas medicinales forman parte de la cultura de los pueblos desde tiempos inmemorables, pero los estudios sobre los procesos de síntesis de sus metabolitos secundarios son insuficientes. Por tanto, las tecnologías de transcriptómica y metabolómica han ganado credibilidad como opciones biológicamente más certeras para la caracterización del material vegetal, incluyendo estudios muy específicos en términos de expresión génica.

Esta investigación tuvo por objetivo la búsqueda de genes de ruta de síntesis de glicósidos en *Stevia rebaudiana*, así como el análisis de regiones promotoras, para establecer relaciones entre sitios de interacción en el ADN y proteínas de anclaje reguladoras de la transcripción de *Arabidopsis thaliana*. Se secuenció una muestra de ARN mensajero a partir de tejidos de hoja de *S. rebaudiana* y se alineó contra las secuencias génicas reportadas. Algunos de los genes seleccionados se encontraron menos representados en el transcriptoma, lo que podría ser un indicador de la producción controlada de glicósidos regulada por ciertos genes; esto concuerda con los estudios correlativos, que han puesto de manifiesto la importancia de los genes SrCPPS, SrKS y SrKO en la regulación del contenido de glicósidos. El aprovechamiento de estos resultados involucra el estudio de los estímulos a los factores de transcripción que regulan la expresión génica dentro de la ruta metabólica de interés, como la respuesta al estrés hídrico y altos niveles de salinidad.

Keywords

DNA binding site; glycosides; promoter region; transcription factor; transcriptomic.

Abstract

Medicinal plants are part of world culture since immemorial times, but studies about the processes of secondary-metabolites synthesis, are insufficient. Therefore, transcriptomics and metabolomics technologies have gained credibility as more accurate biologically options for characterization of plant material, including very specific studies in terms of gene expression. This research aimed to search in databases, glycosides synthesis pathway related genes in *Stevia rebaudiana*, and the analysis of promoter regions, to establish relationships between DNA interaction sites and transcription regulation proteins in *Arabidopsis thaliana*. A sample of mRNA was sequenced from *S. rebaudiana* leaf and was aligned against gene sequences reported. Some of the selected genes were found underrepresented in the transcriptome, which would signal the controlled production of glycosides regulated by certain genes; this is consistent with the correlative studies that have shown the importance of SrCPPS, SRKs, SrKO genes in regulating the content of glycosides. The use of these results involves the study of the stimuli to transcription factors that regulate gene expression in the metabolic pathway of interest, as the response to water stress and high levels of salinity.

Introducción

Los numerosos estudios sobre especies medicinales aún son pocos en comparación con todo lo que falta por conocer acerca de los procesos de síntesis de metabolitos secundarios, tanto

en términos de las rutas metabólicas y enzimas involucradas como de los factores internos y externos que afectan su acumulación (Crispin & Wurtele, 2013). En consecuencia, recientemente se ha adicionado la secuenciación y análisis de transcriptomas, ya sea por mapeo contra un genoma o bien mediante el ensamblaje *de novo*, como una estrategia innovadora para generar información sobre la expresión de genes de ruta como de regulación (Sitakanta et al., 2006).

En *Stevia rebaudiana* se han identificado más de 100 compuestos, siendo los más conocidos los esteviol glucósidos, que comprenden el esteviósido, los rebaudiosidos A, B, C, D, E y F y dulcósido A, compuestos de sabor dulce, cuyas concentraciones varían ampliamente dependiendo del genotipo y el medio ambiente de producción de la planta (Karaköse et al., 2011; Puri et al., 2011; Wölwer, 2012).

En la ruta metabólica de síntesis de glicósidos en esta especie participan numerosos genes y enzimas, algunos de los cuales han podido ser identificados y caracterizados. Entre estos destacan los denominados SrDXS, SrDXR, SrCPPS, SrKS, SrKO y las tres glucosiltransferasas (UGTs) SrUGT85C2, SrUGT74G1 y SrUGT76G1; además, recientemente se dio la clonación de otros siete genes, SrMCT, SrCMK, SrMDS, SrHDS, SrHDR, SrIDI y SrGGDPS. Para los 15 genes anteriores se ha realizado el respectivo análisis de su expresión dentro de la ruta de esteviol glicósidos (Kumar et al., 2012). Una mejor comprensión de la regulación genética de las vías de biosíntesis podría ser muy útil para manipular el rendimiento de compuestos edulcorantes en *Stevia* (Guleria & Kumar, 2011; Urban et al., 2013).

Muchos de los compuestos bioactivos de las plantas medicinales se han descrito con detalle gracias a las herramientas de la biología molecular y la bioinformática, que facilitan la identificación de los genes implicados en el metabolismo de compuestos, ya sea de los que participan en la conversión de un compuesto a otro (genes de biosíntesis) o de aquellos que participan en la regulación de la ruta metabólica (genes de regulación) (Muir et al., 2001).

La naturaleza modular de los factores de transcripción ha llevado a la idea de que se puede ejercer un control en la expresión de estos a través de la ingeniería de proteínas, para regular a su vez la expresión del gen o genes de ruta deseados. De manera que coordinar el control de la transcripción de genes de biosíntesis ha surgido como un enfoque eficaz para la producción de metabolitos secundarios en plantas (Sitakanta et al., 2006).

El objetivo de esta investigación fue la búsqueda de posibles mecanismos de regulación de los factores de transcripción, con el fin de ejercer un control que a la vez pueda incidir en el incremento de la expresión de los genes de síntesis de glicósidos.

Materiales y métodos

El presente trabajo se realizó en el Centro de Investigación en Biotecnología (CIB) del Tecnológico de Costa Rica (TEC) en Cartago, Costa Rica.

Identificación de secuencias génicas reportadas para *S. rebaudiana*:

La identificación de las secuencias génicas reportadas para la especie *S. rebaudiana* se hizo empleando la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI). La búsqueda se centró en identificar enzimas participantes en la ruta metabólica de síntesis de glicósidos con o sin regiones promotoras descritas.

Análisis de regiones promotoras, identificación de sitios de unión al ADN y relación con factores de transcripción:

Las secuencias génicas reportadas como regiones promotoras en *S. rebaudiana* fueron analizadas mediante la herramienta Database of Plant Cis-acting Regulatory DNA Elements (PLACE, 2014, Higo et al., 1999) para predecir sitios de unión de factores de transcripción al ADN, que se ubican en los genes de estevia seleccionados. Posteriormente, se empleó la herramienta Plant Interactome Database (Center for Cancer Systems Biology, Dana-Farber Cancer Institute, Harvard Medical School) creada para la especie *Arabidopsis thaliana*, para relacionar dichos sitios de unión al ADN, con secuencias codificantes de factores de transcripción de *A. thaliana*.

Secuenciación y análisis de transcriptoma

Material biológico

El material biológico utilizado en la extracción de ARN total correspondió a clones de plantas jóvenes de *S. rebaudiana* cuyo origen se encuentra en la comunidad El Millón, en Pococí, Limón, Costa Rica. Para la extracción se utilizaron hojas procedentes del segundo y tercer nudo de plantas seleccionadas al azar, mezcladas en una sola muestra.

Extracción de ARN total.

La extracción de ARN total se hizo a partir de 150 mg de muestra de hoja, siguiendo el protocolo *Total RNA Isolation from Plant*, del NucleoSpin RNA Plant kit marca Macherey-Nagel®. La muestra de ARN se cuantificó con el equipo NanoDrop Lite® y se verificó la presencia de ARN mediante una electroforesis en gel de agarosa al 1,3% durante 45 min a 80 V. Para la precipitación de la muestra se agregó 0.1 V de acetato de sodio 3M a pH 7-8 y 2 V de etanol absoluto.

Secuenciación del ARN

La secuenciación fue realizada por la empresa Axeq Technologies, con el equipo Illumina HiSeq 2000 Sequencer. El *software* utilizado fue el Illumina Pipeline (CASAVA) v1.8.2.

Análisis de calidad de la secuenciación

La calidad de los fragmentos de secuenciación se verificó con las herramientas Fastqc (Babraham Institute) y RobiNA (Lohse et al., 2010). Se realizaron cortes tipo *clipping* de la base 1 a la base 15 empleando la herramienta FastX-Toolkit (Hannon Lab) y cortes tipo *trimming* eliminando colas con calidad inferior a 30% con RobiNA; el filtrado de fragmentos inferiores a las 70 bases también se hizo con esa herramienta.

Alineamiento de genes contra el transcriptoma

El alineamiento de fragmentos se realizó contra los genes participantes en la ruta metabólica de síntesis de glicósidos usando la herramienta RobiNA.

Resultados

Identificación de secuencias génicas reportadas para *S. rebaudiana*:

La búsqueda bioinformática de genes de *S. rebaudiana* determinó que existen al menos 20 genes de la ruta de síntesis de glicósidos descritos para esta especie (cuadro 1). La función asociada a dichos genes se muestra en el cuadro 2.

Cuadro 1. Genes de *Stevia rebaudiana* reportados en el National Center for Biotechnology Information.

Nº de gen	Nombre del gen	Accesión	Promotor descrito	Accesión del promotor
1	UDP-glicosiltransferasa 79A2	AY345985.1	No	-
2	UDP- glicosiltransferasa 89B2	AY345983.1	No	-
3	UDP- glicosiltransferasa 88B1	AY345981.1	No	-
4	UDP- glicosiltransferasa 73E1	AY345979.1	No	-
5	UDP- glicosiltransferasa 76H1	AY345977.1	No	-
6	UDP- glicosiltransferasa 85A8	AY345975.1	No	-
7	UDP- glicosiltransferasa 85C1	AY345984.1	No	-
8	UDP- glicosiltransferasa 91D1	AY345980.1	No	-
9	UDP-glicosiltransferasa 71E1	AY345976.1	No	-
10	4-difosfocitidil-2-C-metil-D-eritritol kinasa	DQ269453.5	Si	FJ755687.1
11	IPP/DMAPP sintasa (ispH)	DQ269451.4	Si	FJ755690.1
12	geranilgeranil difosfato sintasa	DQ432013.3	Si	FJ755692.1
13	copalil pirofosfato sintasa (Cpps1)	AF034545.1	No	-
14	kaureno sintasa (KS22-1)	AF097311.1	No	-
15	kaureno sintasa (KS1-1)	AF097310.1	No	-
16	ácido ent-kaurenoic 13-hidroxilasa (KA13H)	DQ398871.3	Si	FJ755693.1
17	UDP-glicosiltransferasa 85C2	AY345978.1	No	-
18	UDP-glicosiltransferasa 74G1	AY345982.1	No	-
19	UDP-glicosiltransferasa 76G1	AY345974.1	No	-
20	NADPH citocromo P450 reductasa	DQ269454.4	Si	FJ755694.1
21	Actina	AF548026	No	-

Fuente: NCBI (2014).

Análisis de regiones promotoras, elementos en *cis* y factores de transcripción

De los sitios identificados como posibles sitios de anclaje de factores de regulación de la transcripción, se seleccionaron aquellos descritos en la especie modelo *A. thaliana* (cuadro 3).

Cuadro 2. Función de 20 genes descritos en el National Center for Biotechnology Information para la especie *Stevia rebaudiana* y su relación con la síntesis de glicósidos.

Gen	Función	Nº de reacción catalizada en la ruta metabólica
1 al 9	Síntesis de UDP-glicosiltransferasas	No definido
10	Síntesis de 4-(Citidina5'difosfo)-2-metil-D-eritritol 2-fosfato a partir de 4-(Citidina5'difosfo)-2-metil-D-eritritol	4
11	Isomerización de dimetilalil difosfato a isopentenildifosfato	8
12	Síntesis de geranylgeranyl difosfato a partir de dimetilalil difosfato	9
13	Ciclación de geranyl geranyl pirofosfato (ggpp) en copalil pirofosfato (cpp)	10
14 y 15	Síntesis de (-)-kaureno por ionización dependiente de la ciclación del copalil difosfato	11
16	Síntesis de esteviol (ent-kaur-16-en-13-ol-19-oic ácido) por hidroxilación del ácido ent-kaurenoico (ent-kaur-16-en-19-oic ácido) con la participación de NADPH y oxígeno molecular	13
17	Síntesis de esteviolmonósido a partir de esteviol	14
18	Síntesis de esteviósido a partir de esteviobiósido	16
19	Síntesis de rebaudiósido A a partir de esteviósido	17
20	No definida	No definido

Fuente: NCBI (2014), Kumar et al. (2012).

Cuadro 3. Función de 11 sitios de regulación de la transcripción descritos en *Arabidopsis thaliana* y sus proteínas de anclaje.

Nombre de los sitios en cis seleccionados	Función de los sitios en cis	Factor de regulación relacionado	Accesión factor de transcripción
ABRELATERD1 (S000414)	Respuesta a la deshidratación por activación de una proteína quinasa dependiente de ácido fosfatídico	Arabidopsis thaliana 3'-phosphoinositide-dependent protein kinase 1	NM_203001.3
ACGTATERD1 (S000415)	Respuesta temprana a la deshidratación por la Clp proteasa como subunidad reguladora dependiente de ATP	Arabidopsis thaliana chaperone protein ClpD	NM_124486.2 (3202 pb)
ARR1AT (S000454)	Regulador de respuesta por activación transcripcional mediante proteína reguladora dependiente de citoquinina	Arabidopsis thaliana AT3G16857	AK316883.1 (2346 pb)
DRECRTCOREAT (S000418)	Respuesta temprana a la deshidratación por acción de una histidina quinasa y un dominio de respuesta regulatoria	Arabidopsis thaliana ethylene receptor	NM_105305.4

Continúa...

Nombre de los sitios en cis seleccionados	Función de los sitios en cis	Factor de regulación relacionado	Accesión factor de transcripción
EVENINGAT (S000385)	Control circadiano de la expresión	--	--
LTRECOREATCOR15 (S000153)	Respuesta a bajas temperaturas	--	--
MYB2CONSENSUSAT (S000409)	Sitios de reconocimiento del factor de transcripción MYB que posee un dominio de unión de ADN MYB R2R3 y es conocido por regular la expresión de genes de respuesta a deshidratación y salinidad	Arabidopsis thaliana R2R3 MYB DNA binding domain transcription factor	NM_130287.2
MYBCORE (S000176)	Respuesta a estrés hídrico y estímulo a auxina, etileno, ácido jasmónico, ácido salicílico y sal	Arabidopsis thaliana myb domain protein 14	NM_128674.3
MYCATERD1 (S000413)	Respuesta temprana a la deshidratación	-	-
MYCATRD22 (S000174)	Respuesta a la deshidratación, estrés oxidativo, ABA relacionado con síntesis de triptófano	Arabidopsis thaliana transcription factor MYC2	NM_102998.3
MYCCONSUSAT (S000407)	Sitios de reconocimiento del factor de transcripción bHLH de desarrollo morfológico de hoja	Arabidopsis thaliana transcription factor EGL1 mRNA	NM_001198373.1

Fuente: Interactome (2014), NCBI (2014), PLACE (2014).

Secuenciación y análisis de transcriptoma

Las condiciones de la muestra de ARN total a partir de muestras de hoja, previamente a su secuenciación, se resumen en una concentración de 84,6 ng/ µl, OD_{260/280} 1.9 y RIN de 9.3.

Los datos de secuenciación se dividieron en dos librerías tipo *paired-end*, cada una con 28 360 329 fragmentos, con una proporción de guanina-citosina de 52,7%. El porcentaje de fragmentos con calidad Sanger superior a 30% fue de 88,81%. Del total de 56 720 658 fragmentos generados con la secuenciación, 53 998 440 fragmentos pasaron el sistema implementado con la eliminación de bases de baja calidad (27 627 790 en la librería 1 y 26 236 583 en la librería 2).

La calidad de los fragmentos de la librería 1 fue superior al 30% en su totalidad, incluyendo el rango de la desviación estándar. En la librería 2 la calidad promedio también fue superior al 30% y los valores de la desviación estándar superiores al 25% (figura 1).

Alineamiento de genes contra el transcriptoma:

El alineamiento entre los fragmentos de secuenciación correspondientes a los ocho genes de ruta metabólica de síntesis de glicósidos en *S. rebaudiana* se presenta en el cuadro 4.

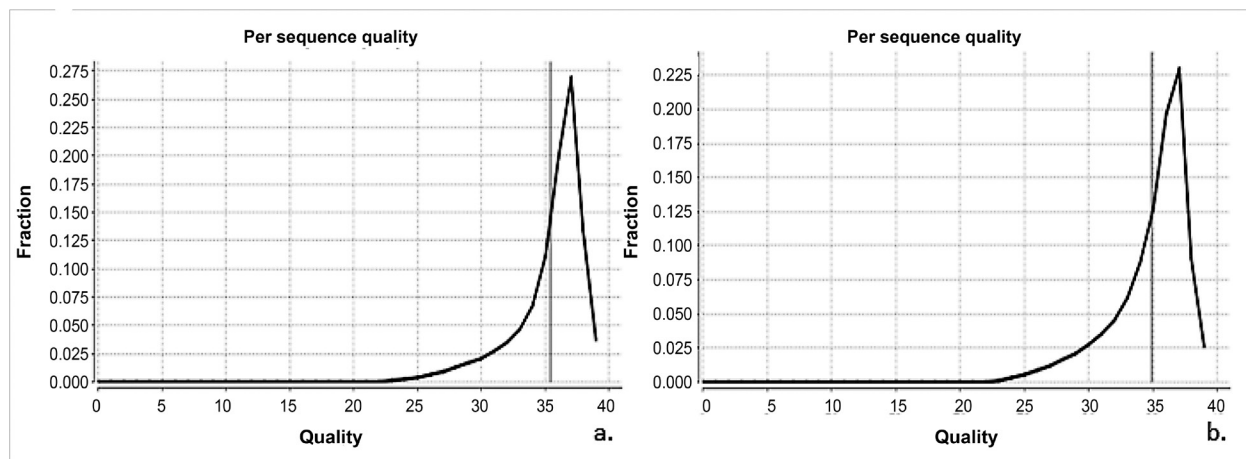


Figura 1. Distribución de la calidad a lo largo de los fragmentos amplificados de ADN copia de *Stevia rebaudiana* con secuencias depuradas: a. Librería 1, b. Librería 2. Fuente: RobiNA (2014).

Cuadro 4. Alineamiento de ocho genes descritos para *Stevia rebaudiana* contra el transcriptoma de esta misma especie.

Nº de gen	Nº de nucleótidos del gen (pb)	Nº de fragmentos alineados	Nº mínimo de nucleótidos alineados	% de alineamiento
13	2590	6 547	458 290	0.02
14	2792	170	11 900	0.00
15	3117	230	16 100	0.00
16	1678	384	26 880	0.00
17	1586	4479	313 530	0.02
18	1555	521	36 470	0.00
19	1616	1407	98 490	0.01
21	1396	1347	94 290	0.01

Fuente: RobiNA (2014).

Discusión

En total se identificaron 20 genes de *S. rebaudiana*, los cuales pudieron ser relacionados con la ruta metabólica de síntesis de glicósidos, de acuerdo con la función descrita en la base de datos del NCBI así como aquella descrita en la investigación que Kumar et al. (2012) han desarrollado, documentando comportamientos fisiológicos y describiendo genes para esta especie.

De los 20 genes de estevia descritos en las bases de datos, únicamente de cinco de ellos se conocía la región promotora, que fue analizada para determinar los posibles sitios de anclaje a ADN por parte de proteínas de regulación. En 2013 se realizó un estudio similar (Kumar & Guleria, 2012), para determinar los sitios en cis correspondientes a las cajas TATA y GATA, con la finalidad de evaluar la producción de glicósidos ante estímulos lumínicos en estevia.

En relación con las regiones promotoras descritas en *S. rebaudiana*, la herramienta de análisis seleccionada generó predicciones acerca de la posible ubicación de las cajas TATA, GATA y CAAT; además, también se pudo señalar la ubicación de posibles sitios de anclaje a otros factores de regulación como los factores de transcripción.

La selección de los sitios de interés se efectuó mediante una discriminación de acuerdo con su descripción para la especie modelo *A. thaliana*, específicamente para tejidos de hoja. Esto se debe justamente a que la complejidad de las interacciones que ocurren entre el ADN y las proteínas reguladoras de la transcripción depende de los diferentes tejidos del organismo, sus tipos celulares, estadios de desarrollo, estados fisiológicos y condiciones ambientales y/o hormonales (Carlberg & Molár, 2014; Ceunen & Geuns, 2013; Latchman, 2003; Zhang, 2003).

Por la razón anterior es que también se escogieron sitios promotores que se relacionaran con respuestas típicas en hojas, como ante condiciones de estrés hídrico y deshidratación, principalmente porque las hojas se encargan del proceso de fotosíntesis y respiración, durante los cuales puede darse la pérdida de agua a través de los estomas (Audersik et al., 2008). De igual manera, se escogieron sitios que se vincularan con respuesta a niveles de salinidad y ataque de insectos, porque la literatura reporta investigaciones al respecto en estevia, cuyo objetivo ha sido comprender y relacionar la síntesis de compuestos bioactivos como los glicósidos, según diversos estímulos ambientales.

En este estudio, una vez establecida la función concreta de los factores de regulación seleccionados de *A. thaliana*, se determinó que solo tres de ellos correspondieron a factores de transcripción propiamente dichos, estos fueron proteínas con dominios MYC y MYB. Las proteínas MYB se relacionan con la respuesta de estrés de las plantas, como exposición a luz ultravioleta, heridas, estrés anaeróbico y entrada de patógenos (Singh et al., 2002). Las proteínas MYC se relacionan con la diferenciación de las células epidérmicas y patrones de tricomas, actuando como cofactores con otras proteínas (Schwechheimer et al., 1998).

Tras el final de la etapa de búsqueda de genes, se continuó con el proceso de secuenciación del transcriptoma. Si bien la estrategia para medir la expresión génica es la comparación del transcriptoma contra un genoma de referencia, muchas veces, dependiendo del organismo en estudio, esta aproximación se dificulta cuando no se cuenta con un genoma de referencia conocido o este está parcialmente descrito (Grabherr et al., 2011). Una de las estrategias propuestas para solventar este problema es la comparación de los fragmentos o los transcriptomas ensamblados *de novo*, contra organismos modelo filogenéticamente cercanos (Hornett & Wheat, 2012). Los niveles de expresión génica para cada unidad de ARN pueden aproximarse de acuerdo con el número de fragmentos secuenciados que se alinean con un genoma de referencia, relacionándolos directamente con niveles de abundancia (Trapnell et al., 2010).

Con el análisis de calidad de la secuenciación de estevia se eliminaron 2 722 218 fragmentos, lo que representa casi un 5% del total secuenciado. Un 5% representa un porcentaje bajo, por lo que se reafirma la idea de que la secuenciación realizada fue de alta calidad. Además se verificó que todos los fragmentos restantes presentaban una calidad promedio superior al 30% y una longitud de entre 70 y 80 bases.

En el análisis de alineación entre los ocho genes de estevia y el transcriptoma, todos los genes de ruta metabólica de síntesis de glicósidos estaban presentes en la muestra de ARN secuenciada, ya que, aunque se considera que un mapeo es válido si se genera más de un 80% de alineamiento contra un transcriptoma y que con menos de un 50% cuestiona si los fragmentos representan un transcriptoma incompleto o son contaminación de la muestra (Lin, 2013)., esto únicamente es válido cuando el mapeo se realiza contra la totalidad de un genoma,

pero en este caso no, porque se trabajó con genes de entre 2000 y 3000 pb; por tanto, los bajos porcentajes de alineación son esperables y justificados.

Es decir, el resultado obtenido en esta sección fue positivo para la comprobación molecular de síntesis de compuestos bioactivos (glicósidos) en la muestra de hoja trabajada. Ahora, con base en el principio de que la expresión de un gen puede relacionarse con estos datos de alineación obtenidos, es importante notar que algunos de los genes seleccionados se encontraron menos representados en el transcriptoma, lo cual puede ser un indicador de lo que algunos autores describen como la producción controlada de glicósidos dada por ciertos genes.

Con respecto a lo expuesto con anterioridad, los genes 14, 15, 16, al alinear con un menor número de fragmentos, podría considerarse que su expresión en la muestra era menor en comparación con los demás genes. Esto concuerda con los estudios correlativos entre las enzimas de ruta, que han puesto de manifiesto la importancia de los genes denominados como SrCPPS (13), SrKS (14 y 15), SrKO en la regulación del contenido de glicósidos (Kumar et al., 2012). En esta investigación, el paso de copalil difosfato a kaureno, de kaureno a ácido kaureonico y de este último a esteviol fueron los pasos más regulados.

Referencias

- Audesirk, T., Audesirk, G. & Byers, B. (2008). *Biología: la vida en la Tierra*. Trad. de A. Flores. 8 ed. México D.F.: Prentice-Hall, Interamericana.
- Carlberg, C. & Molnár, F. (2014). *Mechanisms of Gene Regulation*. Londres: Springer Science.
- Ceunen, S. & Geuns, J. (2013). Spatio-temporal variation of the diterpene steviol in *Stevia rebaudiana* grown under different photoperiods. *Phytochemistry*, 89, 32-38.
- Crispin, M. & Wurtele, E. (2013). Use of Metabolomic and Transcriptomics to Gain Insights into the Regulation and Biosynthesis of Medicinal Compounds: *Hypericum* as a Model. En Chandra et al., *Biotechnology for Medicinal Plants: Micropropagation and Improvement*. Berlín: Springer.
- Grabherr, M.G. et al. (2011). Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome. *Nature Biotechnology*, 29(7), 644-653.
- Guleria, P. & Kumar, S. (2011). Identification of miR414 and Expression Analysis of Conserved miRNAs from *Stevia rebaudiana*. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 9(6), 211-217.
- Higo, K., Ugawa, Y., Iwamoto, M. & Korenaga, T. (1999). Plant cis-acting regulatory DNA elements (PLACE) database. *Nucleic Acids Res*, 27(1), 297-300.
- Hornett, E. & Wheat, C. (2012). Quantitative RNA-Seq analysis in non-model species: assessing transcriptome assemblies as a scaffold and the utility of evolutionary divergent genomic reference species. *BMC Genomics*, 13, 361-377.
- Karaköse, H., Rakesh, J. & Kuhnert, N. (2011). Characterization and Quantification of Hydroxycinnamate Derivatives in *Stevia rebaudiana* Leaves by LC-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 10143-10150.
- Kumar, H., Kaul, K., Bajpai-Gupta, S., Kumar, V. & Kumar, J. (2012). A comprehensive analysis of fifteen genes of steviol glycosides biosynthesis pathway in *Stevia rebaudiana* (Bertoni). *Gene*, 492, 276-284.
- Kumar, S. & Guleria, P. (2012). Steviol Glycosides from *Stevia*: Biosynthesis Pathway Review and their Application in Foods and Medicine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52, 988-998.
- Latchman, D. (2003). *Eucaryotic Transcription Factors*. 4 ed. San Diego: Academic Press.
- Lin, J. (2012). NGS Impacts and Key Concepts. Consultado en: http://training.bioinformatics.ucdavis.edu/docs/2012/05/RNA_downloads/RNAIntro.pdf
- Lohse, M., Nunes-Nesi, A., Krueger, P., Nagel, A., Hannemann, J., Giorgi, F., Childs, L., Osorio, S., Walther, D., Selbig, J., Sreenivasulu, N., Stitt, M., Fernie, A. & Usadel, B. (2010). Robin: An intuitive wizard application for R-based expression microarray quality assessment and analysis. *Plant Physiology*, 153, 642-51.
- Muir, S., Collins, G., Robinson, S., Hughes, S., Bovy, A., Ric De Vos, C., Tunen, A. & Verhoeyen, M. (2001). Overexpression of petunia chalcone isomerase in tomato results in fruit containing increased levels of flavonols. *Natural Biotechnology*, 19, 470-474.

- Database of Plant Cis-acting Regulatory DNA Elements (PLACE). (2014). Consultado en: <http://www.dna.affrc.go.jp/PLACE/>
- Puri, M., Sharma, D. & Tiwari, A. (2011). Downstream processing of stevioside and its potential applications. *Biotechnology Advances*, 29, 781-791.
- Schwechheimer, C., Zourelidou, M. & Bevan, M. (1998). Plant Transcription Factor Studies. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 49, 127-150.
- Sitakanta, P., Claire, X., Kong, Q., Shen, K. & Yuan, L. (2006). Directed evolution of plant basic helix-loop-helix transcription factors for the improvement of transactivational properties. *Biochimica et Biophysica, Acta* 1759, 308-318.
- Trapnell, C., Williams, B., Pertea, G., Mortazavi, A., Kwan G., van Baren, M., Salzberg S., Wold, B. & Pachter, L. (2010). Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoforms switching during cell differentiation. *Nat Biotechnol*, 28(5):511-515.
- Urban, J., Carakostas, M. & Brusick, D. (2013). Steviol glycoside safety: Is the genotoxicity data base sufficient? *Food and Chemical Toxicology*, 51, 386-390.
- Wölwer, U. (2012). The Leaves of *Stevia rebaudiana* (Bertoni). Their Constituents and the Analyses Thereof: A Review. *J. Agric. Food Chem.*, 60, 886-895.
- Zhang, J. (2003). Overexpression analysis of plant transcription factors. *Current Opinion in Plant Biology*, 6, 430-440.

Producción heteróloga y caracterización bioquímica del procoagulante humano Factor VIII para ensayos de cristalización de macromoléculas proteicas

Heterologous production and biochemical characterization of human pro-coagulation Factor VIII for crystallization screening of protein macromolecules

Erick Hernández-Carvajal¹, Silvia Arce-Solano², Didier Mena-Aguilar², Pablo Fuentes-Prior³

Fecha de recepción: 6 de abril de 2016

Fecha de aprobación: 28 de junio de 2016

Hernández-Carvajal, E; Arce-Solano, S; Mena-Aguilar, D; Fuentes-Prior, P. Producción heteróloga y caracterización bioquímica del procoagulante humano Factor VIII para ensayos de cristalización de macromoléculas proteicas. *Tecnología en Marcha*. Vol. 29-4. Octubre-Diciembre 2016. Pág 78-91.

DOI: 10.18845/tm.v29i4.3039

1 Centro de Investigación en Biotecnología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica.
Correo electrónico: erhernandez@itcr.ac.cr

2 Centro de Investigación en Biotecnología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica.

3 Institut d'Investigació Biomèdica, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona, España.



Palabras clave

Enfermedad cardiovascular; trombina; FVIII; cristalización de proteínas; difracción de rayos X.

Resumen

A pesar de la relevancia médica y el impacto económico en los sistemas de salud, las enfermedades cardiovasculares, tales como infartos cardíacos y accidentes cerebrovasculares, siguen siendo la principal causa de morbilidad y mortalidad en los países en vías de desarrollo. Esto se debe a que las bases estructurales y funcionales de los procesos de formación de los coágulos sanguíneos o trombos solo se conocen de forma incompleta. La trombina juega un papel esencial en estos procesos y los fundamentos atómico-moleculares de su interacción con otros factores que participan en el proceso de coagulación son poco conocidos, en particular el reconocimiento de importantes sustratos como los factores V y VIII, así como el receptor de plaquetas PAR1. Dada la importancia de estos factores, en esta investigación se produjeron fragmentos del factor VIII humano (FVIII) y se caracterizaron bioquímicamente para realizar ensayos de cristalización de complejos FVIII·Trombina. Para ello, (1) se sobreexpresaron heterológicamente los conectores ácidos entre los dominios del factor VIII (denominados FVIIIa1, FVIIIa2 y FVIIIa3), (2) se purificaron y caracterizaron estos fragmentos recombinantes, (3) se formaron sus complejos con la trombina y (4) se inició la búsqueda de las condiciones de cristalización de estos complejos proteicos. La producción del FVIII, y en particular la determinación de las condiciones en las que crecen cristales del tamaño y calidad apropiados, son un auténtico cuello de botella en los estudios de estructura-función, por ello se considera que la optimización de estos procesos permitirá obtener un mayor número de cristales de proteína de calidad adecuada para futuros estudios de difracción de rayos X.

Keywords

Cardiovascular disease; thrombin; FVIII; protein crystallization; X-ray diffraction.

Abstract

In spite of their medical relevance and economic impact on public health service systems, cardiovascular diseases, among them myocardial and cerebral infarctions, remain the main cause of morbidity and mortality in developed and developing countries. One of the main reasons for this situation is the incomplete structural and functional knowledge of the processes that ultimately lead to blood clot formation. Thrombin plays a key role in these processes, but its molecular interactions with other clotting factors are still only poorly understood, in particular those with critically important substrates such as factor VIII and the thrombin receptor on platelets, PAR1. Given the importance of these clotting factors, we have produced and characterized factor VIII fragments (FVIII) to search for crystallization conditions of FVIII·Thrombin complexes. To achieve our aims, we (1) overexpressed the acidic inter-domain linkers of human factor VIII (FVIIIa1, FVIIIa2 and FVIIIa3), as heterologous proteins; (2) purified and characterized these recombinant forms, (3) formed the binary protein complexes between thrombin and these recombinant fragments, and (4) started crystallization trials of these complexes. The FVIII production, and in particular, the identification of conditions in which crystals of appropriate size and quality for structure determination grow, are a “bottleneck” in structure-and-function projects. Therefore, the optimization of these processes will allow us to obtain well-ordered protein crystals for X-ray diffraction studies.

Introducción

Las enfermedades cardiovasculares continúan siendo la causa principal de morbilidad y mortalidad en los países desarrollados y su incidencia es aún mayor en aquellos en vías de desarrollo (Nichols, 2012). El evento común que desencadena las dos manifestaciones clínicas más frecuentes y dañinas de las dolencias del sistema circulatorio -la isquemia cardíaca (o infarto) y la enfermedad cerebrovascular (o ictus)- es la formación de coágulos sanguíneos (trombos) que interrumpen el suministro de oxígeno y nutrientes al corazón y al cerebro, respectivamente. A pesar de la importancia médica de estas patologías, las bases estructurales y funcionales de estos procesos no se conocen por completo, por lo que una comprensión profunda de los mecanismos que conducen a la formación del coágulo de fibrina es fundamental para obtener una imagen detallada de los eventos patofisiológicos asociados con la generación de los trombos. Esta información es también fundamental para interpretar las consecuencias de las mutaciones identificadas en pacientes con hemofilia o con trombosis, y para avanzar hacia el tratamiento personalizado de las enfermedades cardiovasculares, redundando así, a mediano o largo plazo, en importantes beneficios sanitarios y económicos.

El proceso de coagulación de la sangre ocurre como resultado de una compleja red de proteínas activadas de forma concertada, progresiva y estrictamente regulada, que incluyen varios lazos de retroalimentación positiva y negativa. Estos lazos son esenciales para una rápida -pero controlada- formación del coágulo, desencadenada por estímulos fisiológicos en los vasos sanguíneos dañados (por ejemplo, al sufrir una herida en la piel). Entre las proteínas más importantes que participan en este proceso se encuentra la trombina, que pertenece a la familia de las proteasas serínicas similares a la tripsina. Su precursor, la protrombina, se sintetiza en el hígado y se secreta al torrente sanguíneo. Esta proteasa se considera uno de los factores de la coagulación más importantes porque juega un papel clave en la activación de varias moléculas esenciales para la formación del coágulo, principalmente el fibrinógeno, el factor XIII y los receptores activados por proteasas (PARs) en la superficie de las plaquetas. Asimismo, la trombina inicia uno de los más importantes lazos de retroalimentación positiva al modular su propia generación activando los cofactores procoagulantes V (FV) y VIII (FVIII) (Davie *et al.*, 1991).

Los cofactores procoagulantes FV y FVIII son grandes glicoproteínas multidominio que comparten una organización de dominios A1-A2-B-A3-C1-C2. Polipéptidos relativamente largos y ricos en residuos ácidos llamados a1, a2 y a3 conectan los dominios del FVIII A1-A2, A2-B y B-A3, respectivamente, dando una organización de dominios que se puede representar como A1-(a1)-A2-(a2)-B-(a3)-A3-C1-C2. De forma similar, la estructura de dominios del FV se puede describir como A1-A2-(a2)-B-(a3)-A3-C1-C2. Ambos cofactores son activados por la trombina mediante proteólisis limitada de enlaces peptídicos específicos. En el caso del FVIII humano, la trombina hidroliza los enlaces Arg³⁷²-Ser³⁷³ entre las regiones a1 y A2, Arg⁷⁴⁰-Ser⁷⁴¹ entre el conector a2 y el dominio B, y Arg¹⁶⁸⁹-Ser¹⁶⁹⁰ en la frontera a3-A3, generándose el heterotrímero A1/A2/A3-C1-C2 y liberando el altamente glicosilado dominio B (ver figura 1).

El reconocimiento y procesamiento de muchos sustratos fisiológicamente relevantes de la trombina requiere interacciones iniciales con regiones positivamente cargadas presentes en la superficie de esta proteasa, y distantes del sitio activo, conocidas como exositos I y II. El exosito I es esencial para el reconocimiento de sustratos (fibrinógeno, PARs, FV, FVIII), el receptor endotelial trombomodulina y diversos inhibidores como la hirudina (Corral-Rodríguez *et al.*, 2011; Gandhi *et al.*, 2010; Fuentes-Prior *et al.*, 2000). Por otra parte, el exosito II es el sitio de unión del sulfato de heparán y la heparina, así como nuevamente de los cofactores V y VIII (Corral-Rodríguez *et al.*, 2011, Segers *et al.*, 2007; Myles *et al.*, 2002).

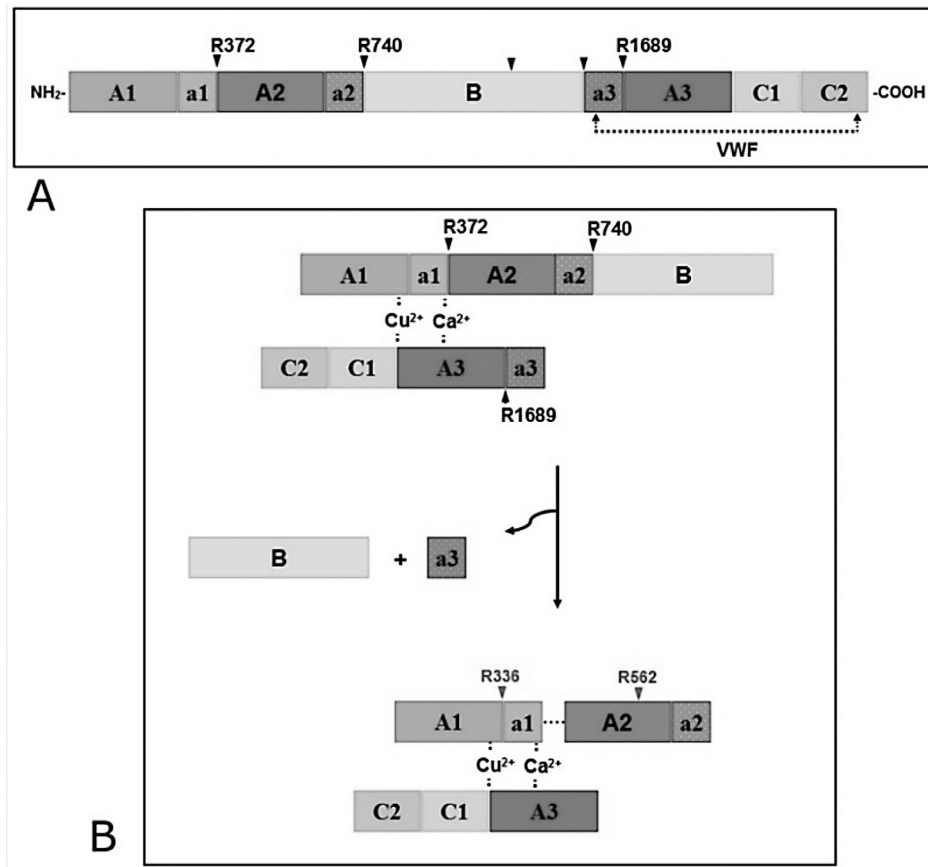


Figura 1. Representación esquemática del mecanismo de activación del factor VIII. Los factores V y VIII son activados por proteólisis limitada efectuada principalmente por la trombina, en presencia de fosfolípidos. **A.** Estructura del FVIII inactivo con los dominios globulares A1, A2, A3, B, C1 y C2, así como los conectores interdominios a1, a2 y a3. Estos conectores son regiones ricas en residuos ácidos que preceden a los sitios de corte y activación de la trombina. Dos flechas en el dominio B indican los sitios de corte reconocidos por las endoproteasas intracelulares que dan origen al heterodímero del FVIII. Se muestra también la zona de interacción con su proteína transportadora, el factor de von Willebrand (vWF). **B.** La trombina hidroliza los enlaces Arg³⁷²-Ser³⁷³, Arg⁷⁴⁰-Ser⁷⁴¹ y Arg¹⁶⁸⁹-Ser¹⁶⁹⁰ en el heterodímero del FVIII (R372, R740 y R1689, respectivamente, indicados con flechas). Como consecuencia de estas reacciones se libera el dominio B y el conector a3 de la molécula precursora, dando origen al heterotrímero activo, el FVIIIa, compuesto ahora por los dominios A1, A2, y una cadena formada por los módulos A3, C1 y C2. Este heterotrímero se asocia por interacciones electrostáticas (interlineado) y es estabilizado por iones Cu⁺²⁺ y Ca²⁺. Las flechas rojas indican los sitios de corte de la proteína C activada (APC), que conducen a la disociación del dominio A2 y con ello a la pérdida de la función activadora del cofactor.

Estudios bioquímicos previos sugieren que la activación de los cofactores V y VIII por la trombina requiere de interacciones entre los exositos I y II y los conectores ácidos (a1, a2, a3) que preceden a los residuos de corte (figura 1A), ya que estos contactos permiten orientar los enlaces peptídicos a hidrolizar dentro del sitio activo de la trombina, en una conformación óptima para la catálisis (Newell & Fay 2008; Segers *et al.*, 2007; Myles *et al.*, 2002). Sin embargo, el conocimiento acerca de las bases atómico-moleculares de estas interacciones es todavía muy limitado y permanece casi sin explorar. Esta información estructural y funcional es esencial para obtener una comprensión profunda de los procesos que conducen a la formación de trombos.

Por esta razón, para estudiar las interacciones moleculares entre el FVIII humano y la trombina, se sobreexpresaron de forma heteróloga en *Escherichia coli* los conectores interdominios

ácidos del factor VIII (FVIIIa1, FVIIIa2 y FVIIIa3). Esto permitió obtener los fragmentos proteicos recombinantes suficientes para evaluar su calidad y pureza, y realizar ensayos preliminares para la búsqueda de las condiciones de cristalización de complejos binarios específicos de FVIII con trombina.

Materiales y métodos

Clonaje de los conectores interdominios del FVIII humano

Las secuencias de los conectores del FVIII, junto a algunas de sus características fisicoquímicas relevantes, se muestran en el cuadro 1. Los fragmentos FVIII (330-372), FVIII (712-740) y FVIII (1649-1689), en adelante llamados FVIIIa1, FVIIIa2 y FVIIIa3, incluyen una cola de histidinas en el extremo N-terminal que facilita su purificación por cromatografía de afinidad. Se trabajó también con variantes del FVIII con mutaciones puntuales del conector, FVIIIa1 (R372Q, G373P) y FVIIIa3 (R1689Q).

Cuadro 1. Secuencias y características fisicoquímicas básicas de los fragmentos derivados del factor VIII humano. Se incluye el peso molecular (P_m) expresado en daltons (Da), el punto isoeléctrico teórico (pI) y la absorbancia teórica para una solución de 1 g/L de la proteína pura a 280 nm (Abs 0,1%). Los parámetros se calcularon utilizando las herramientas ProtParam del servidor de ExpASY (www.expasy.org/tools) (Wilkins *et al.*, 1999).

Fragmento	Secuencia de aminoácidos	P_m (Da)	pI	Abs ²⁸⁰ 0,1%
FVIIIa1 (330-372)	ASHHHHHHPPEPQLRMKNNEEAEDYDDDLTDSMDVVRFDNNSPSFIQIRGSGC	6404.7	4.51	0.233
FVIIIa2 (712-740)	ASHHHHHHGDKNTGDYEDSYEDISAYLLSKNNAIEPRGSGC	4726.9	5.75	1.261
FVIIIa3 (1649-1689)	ASHHHHHHGEITRRTLQSDQEEIDYDDTISVEMKKEDFDIYDEDENQSPRGSGC	6284.5	4.54	0.474

Los conectores FVIIIa1, FVIIIa2 y FVIIIa3 fueron clonados en el vector pET-3a, respectivamente. Con cada plásmido se transformaron, mediante choque térmico, diferentes cepas competentes de *E. coli* [BL21(DE3), BL21(DE3) pLysS y BL21(DE3) pLysE] por triplicado. Las cepas transformadas se incubaron en placas Petri con agar LB, ampicilina (100 ug/mL) y/o cloranfenicol (34 ug/mL) y se incubaron durante toda la noche a 37 °C.

Para verificar la transformación se realizaron extracciones de ADN de plásmido a partir de precultivos de al menos tres colonias transformadas, empleando el kit comercial GeneJet Plasmid Miniprep Kit (Fermentas #K0503). Las muestras se cuantificaron en un espectrofotómetro (NanoDrop™ Lite) y se visualizaron en un gel de agarosa al 1%. Las muestras por triplicado se enviaron a secuenciar a MacroGen (Maryland, Estados Unidos).

Sobreexpresión y purificación de los fragmentos recombinantes

A partir de las muestras confirmadas por secuenciación de ADN, se seleccionó una única colonia y se inoculó en 50 mL de medio LB con los antibióticos correspondientes. El cultivo se incubó durante la noche a 37 °C con agitación constante a 225 rpm. Al día siguiente, los 50 mL del precultivo se inocularon en 0.5 litros de medio LB con antibióticos, en un matraz de 2

litros, a 37 °C con agitación constante a 225 rpm. Una vez alcanzado el valor OD entre 0.4-0.6 para la absorbancia a 600 nm, se realizó la inducción adicionando IPTG a una concentración final de 0.55 mM. Se incubó a 37 °C durante seis horas con agitación constante a 225 rpm, se centrifugaron las células cultivadas a 4500 g durante 20 minutos y el sedimento obtenido se congeló a -20 °C.

La extracción de las proteínas sobreexpresadas en *E. coli* se realizó mediante lisis celular por congelación/descongelación, agregando tampón de lisis (40 mM Tris pH 8.0, 100 mM NaCl, 20 mM MgCl₂, 1 mM PMSF, 1mM beta-mercaptoetanol, 0.5 ug/mL ADNasa). Se incubó durante 30 minutos en rotor y luego se realizaron dos ciclos de congelación/descongelación. Seguidamente, se centrifugó a 12000 g durante 30 minutos a 4 °C para separar la fracción soluble de la insoluble. A partir de la fracción soluble se efectuó la purificación de la proteína de interés mediante incubación con la resina de afinidad Ni-NTA acoplada a agarosa (Qiagen). La suspensión con resina se trasvasó a una columna, se recuperó la fracción no unida a la resina, se realizaron dos lavados con 30 mM imidazol, 50 mM NaH₂PO₄, 300 mM NaCl, pH 8.0. Finalmente, se realizó la elución del material unido de forma específica a la resina empleando 500 mM imidazol, 50 mM NaH₂PO₄, 300 mM NaCl, pH 8.0. Las muestras purificadas se evaluaron mediante SDS-PAGE al 12%.

La autenticidad y pureza de los fragmentos recombinantes purificados se comprobó mediante espectrometría de masas (MALDI TOF/TOF). Se evaluó la masa de cada uno de los fragmentos recombinantes sin digerir y digeridos con las endoproteinasas Asp-N o tripsina (Roche-Diagnostics), según correspondía. Los resultados de espectrometría de masas se analizaron con el programa ProteinPilot.

Cristalización de los fragmentos recombinantes purificados con trombina humana

Para la búsqueda de las condiciones de cristalización, los fragmentos del FVIII purificados se incubaron durante 30 minutos a temperatura ambiente con trombina- α humana (Haematologic Technologies, Inc.), previamente dializada contra el tampón HEPES/NaCl pH 6.0. Los complejos respectivos se prepararon con un exceso molar del fragmento recombinante del sustrato (2:1) en el mismo tampón y se concentraron a 2.5 mg/mL utilizando dispositivos Amicon Ultra-15 con poro nominal de 3kDa (Millipore). Se empleó la técnica de difusión de vapor utilizando la modalidad de gota colgante (*hanging drop*) en placas para cristalización (ComboPlates™, Greiner). Se evaluaron los kits de cristalización: Structure Screen, Morpheus y ProPlex (Molecular Dimensions), para un total de 292 condiciones de cristalización evaluadas. Se mezcló 1 μ L de disolución concentrada de proteína con 1 μ L de solución de cristalización y se incubó a 20 °C. Las gotas fueron periódicamente inspeccionadas utilizando un estereoscopio MEIJI EMZ-TR (Meiji Techno Corporation).

Resultados

Clonaje y sobreexpresión de los fragmentos recombinantes del FVIII

El análisis del clonaje y de la secuencia de los plásmidos de expresión conteniendo los conectores FVIIIa1, FVIIIa2 y FVIIIa3, y sus variantes, se confirmó mediante secuenciación de ADN luego de comparar la secuencia teórica de cada uno de los plásmidos codificantes *in silico* con el electroferograma de secuenciación respectivo. Como ejemplo, en las figuras 2 y 3 se muestra la secuenciación de ADN y la traducción *in silico* del FVIIIa3.

Posteriormente, los primeros experimentos de sobreexpresión de los fragmentos se llevaron a cabo en medio de cultivo LB con la cepa BL21 (DE3) de *E. coli* a 37 °C, y se evaluaron los resultados después de la inducción a las 2, 4, 6, 8 y 12 h. Se comprobó que a tiempos

superiores a las seis horas de inducción no había un incremento proporcional en los niveles de sobreexpresión, y además se comenzaban a detectar productos de degradación del conector. También se hicieron experimentos de expresión en las cepas de *E. coli* BL21, pLysS y pLysE, para determinar si con ellas aumentaba la cantidad del fragmento recombinante obtenido. Sin embargo, la sobreexpresión de los conectores a1, a3 y sus respectivas variantes tuvieron rendimientos similares en las tres cepas, y en todas ellas el fragmento se expresaba soluble (datos no mostrados). Consecuentemente, en los experimentos de sobreexpresión que se realizaron de forma rutinaria para estos conectores se trabajó con la cepa *E. coli* BL21(DE3) pLysS.

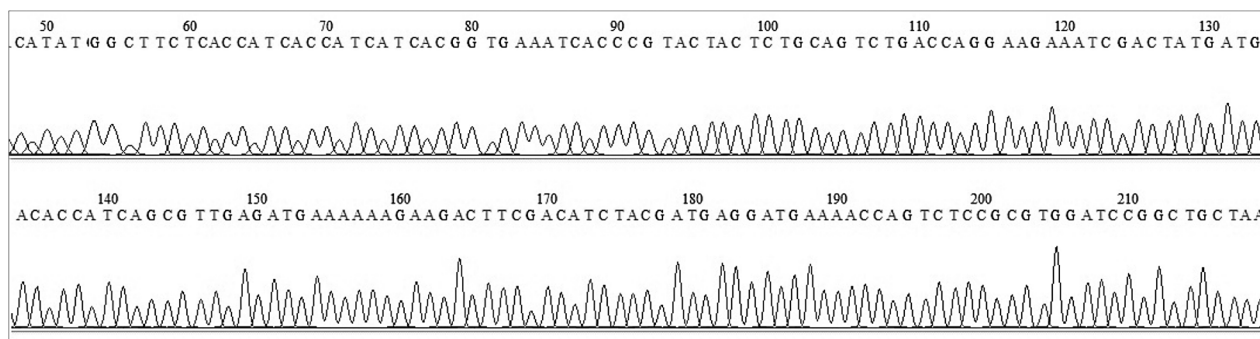


Figura 2. Electroferograma de la secuenciación del FVIIIa3. Se muestra únicamente el rango de nucleótidos donde se encuentra la secuencia del gen que codifica para el conector del factor FVIIIa3. La secuenciación fue realizada por la empresa Macrogen y se visualizó utilizando el software BioEdit (versión 7.1.9).

```

gcttctcaccatcaccatcatcacggtgaaatcaccctactactctgcagcttgaccag
A S H H H H H H G E I T R T T L Q S D Q
gaagaaatcgactatgatgacaccatcagcgttgagatgaaaaagaagacttcgacatc
E E I D Y D D T I S V E M K K E D F D I
tacgatgaggatgaaaaccagctctccgcgtggatccggctgctaa
Y D E D E N Q S P R G S G C -
    
```

Figura 3. Traducción in silico de la secuencia nucleotídica a los residuos aminoácidos correspondientes del FVIIIa3. Se presenta en letra minúscula la secuencia de nucleótidos (tripletas) que codifican para el conector interdominio FVIIIa3 y en letra mayúscula los aminoácidos respectivos para cada codón. La traducción se realizó utilizando la herramienta ExPASy (<http://web.expasy.org/translate/>).

Extracción, purificación e identidad de los fragmentos del FVIII

Una vez extraídas las proteínas por medio de la técnica de congelación/descongelación, se procedió a trabajar con la fracción soluble obtenida. Los fragmentos se purificaron por cromatografía de afinidad por metal con Ni-NTA, eluyendo de la resina de afinidad con 500 mM de imidazol, obteniéndose un considerable grado de pureza (figura 4).

El rendimiento promedio de recuperación del fragmento recombinante FVIIIa1 fue de 0,5 mg de proteína a partir de 1 litro de cultivo bacteriano, mientras el del FVIIIa3 fue de 0,4 mg. Los productos obtenidos fueron analizados por espectrometría de masas en modo negativo, identificando la presencia del fragmento FVIIIa1 y el fragmento FVIIIa3 según correspondía

y confirmando su pureza, al observar un pico de masa de 6404.55 Da y de 6284.44 Da, respectivamente (datos no mostrados).

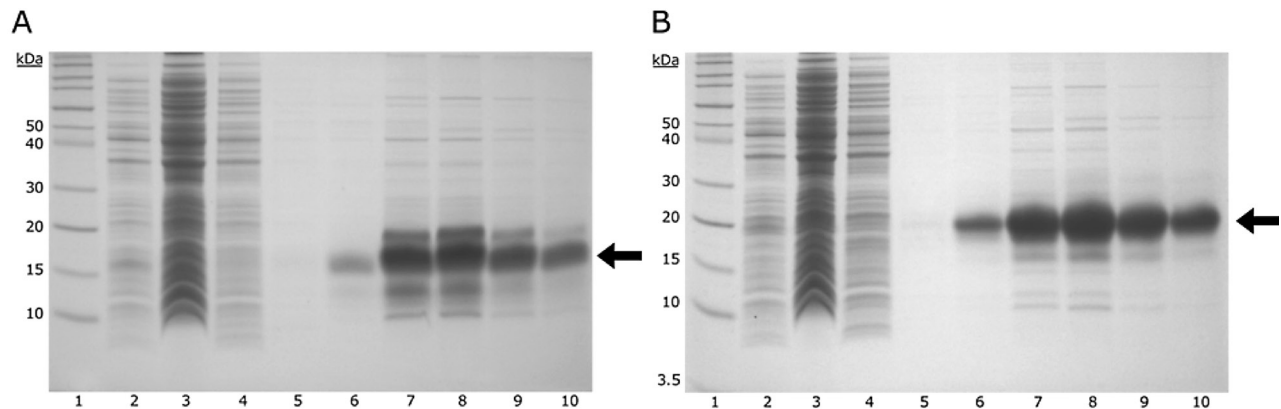


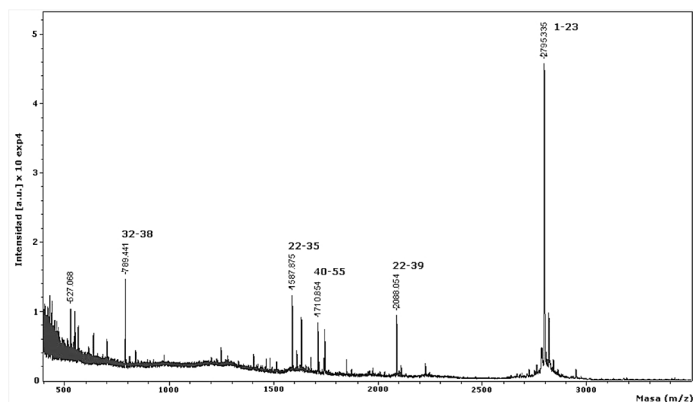
Figura 4. Análisis por SDS-PAGE de la expresión heteróloga y la purificación del conector FVIIIa1 (A) y FVIIIa3 (B). Se evaluaron los niveles de proteína expresados durante las seis horas de inducción tras añadir 0.55 mM IPTG al cultivo bacteriano. El carril 1 corresponde al marcador de peso molecular (*Novex Sharp*). En el carril 2 se muestra una alícuota de las células totales; en el carril 3 se visualiza la fracción de proteínas no unidas a la resina de afinidad Ni-NTA; en los carriles 4 y 5 se presentan alícuotas de lavados sucesivos con 30 mM de imidazol; mientras que en los carriles 6 a 10 se muestran las fracciones de eluciones sucesivas de la resina con 500 mM de imidazol, donde se evidencia el fragmento de interés purificado (indicado con una flecha).

Comprobación de la secuencia de los conectores FVIIIa1 y FVIIIa3 mediante digestión enzimática

Además, la identidad de los fragmentos FVIIIa1 y FVIIIa3 purificados se confirmó por espectrometría de masas a partir de fragmentos generados mediante digestión con la endoproteinasa Asp-N o tripsina, respectivamente. Las masas obtenidas se compararon con las masas teóricas según PeptideMass de ExPASy (Wilkins *et al.*, 1999) y con mMass 3.9.0 (Strohalm *et al.*, 2008). Se comprobó la presencia de picos con relaciones m/z correspondientes a las masas teóricas de los fragmentos monocargados generados (figuras 5 y 6).

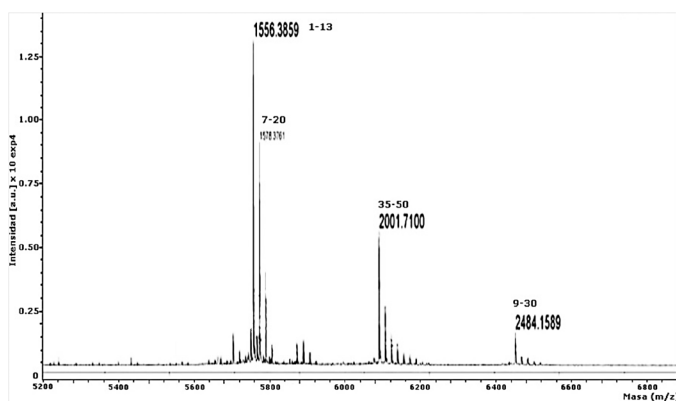
Expresión y purificación del fragmento FVIIIa2

En ensayos preliminares se expresó el fragmento FVIIIa2 en las diferentes cepas de *E. coli* indicadas anteriormente y a temperaturas de 28, 30, 34 y 37 °C durante seis horas de inducción. Los mejores resultados se obtuvieron con la cepa BL21(DE3) al inducir a 30 °C durante seis horas. Sin embargo, la mayor parte del fragmento se encontró en la fracción insoluble, por ello, el sedimento obtenido tras la centrifugación se incubó en tampón Tris/NaCl que contenía concentraciones crecientes de úrea (2, 4, 6 y 8 M). Al analizar las fracciones correspondientes por SDS-PAGE, se observó que el fragmento de interés se extraía mayoritariamente en 4 y 6 M de úrea. La purificación del fragmento FVIIIa2 se realizó unificando los extractos obtenidos de las disoluciones de 4 y 6 M de úrea y empleando la resina Ni-NTA agarosa. Las fracciones correspondientes se evaluaron mediante SDS-PAGE al 12% (datos no mostrados). El rendimiento promedio de recuperación del conector FVIIIa2 fue de ~0.2 mg de proteína a partir de 1 litro de cultivo bacteriano, y las muestras se debieron mantener en tampón Tris/NaCl con 2 M de úrea. No se continuó trabajando con este fragmento debido a que las altas concentraciones de úrea interfieren en los ensayos de cristalización.



Posición	Masa teórica (Da)	Masa experimental (Da)	Secuencia del fragmento recombinante
1-23	2795.9452	2795.335	ASHHHHHHPEEPQLRMKNNEEAE
22-39	2088.8703	2088.054	AEDYDDDLTDSEMDVVR
40-55	1711.7889	1710.854	DDDNSPSFIQIRGSGC
22-35	1587.5639	1587.875	AEDYDDDLTDSEMD
32-38	789.8923	789.441	SEMDVVR

Figura 5. Verificación de la identidad del fragmento recombinante FVIIIa1. El conector FVIIIa1 purificado fue digerido con la endoproteinasa Asp-N y los péptidos resultantes se analizaron por espectrometría de masas en modo reflector con polaridad negativa. En el espectro mostrado se identifican los picos correspondientes a las masas que se indican en la tabla correspondiente, donde aparecen las masas teóricas calculadas con PeptideMass (www.expasy.org/tools/peptide-mass.html) (Wilkins *et al.*, 1999) y con mMass 3.9.0 (Strohalm *et al.*, 2008). Se verificó la secuencia completa del fragmento FVIIIa1 a partir de la posición 1 (A/a) hasta la 55 (C/c) del fragmento recombinante.



Posición	Masa teórica (Da)	Masa experimental (Da)	Secuencia del fragmento recombinante
9-30	2484.5634	2484.1589	GEITRRTLQSDQEEIDYDDTIS
35-50	2001.0055	2001.7100	KEDFDIYDEDENQSPR
7-20	1577.6804	1578.3761	HHGEITRRTLQSDQ
1-13	1556.6298	1556.3859	ASHHHHHHGEITR

Figura 6. Verificación de la identidad del fragmento FVIIIa3. La proteína recombinante purificada fue digerida con tripsina, y los péptidos resultantes se analizaron por espectrometría de masas en modo reflector con polaridad positiva. En el espectro mostrado se identifican los picos correspondientes a las masas que se indican en la tabla correspondiente, donde aparecen las masas teóricas calculadas con PeptideMass y con mMass.

Cristalización de los complejos proteicos

En la búsqueda de las condiciones de cristalización de los fragmentos purificados FVIIIa1, FVIIIa3 y sus variantes -acomplejados con trombina humana-, se evaluaron 296 tampones de cristalización distintos con el objetivo de encontrar condiciones que favorezcan la formación de cristales proteicos de calidad. A partir del complejo FVIIIa1 (R372Q, G373P)·Trombina se observó crecimiento de cristales en la condición 1-33 de Structure Screen a los ocho días (figura 7). Uno de los cristales obtenidos mide aproximadamente 44 μm de largo por 6 μm de ancho (figura 7A), y al repetir la condición para aumentar el número de cristales se obtuvieron varios con dimensiones de 20 μm x 14 μm y con un mayor grosor (figura 7B), lo que podría permitir recolectar un mejor conjunto de datos de difracción.

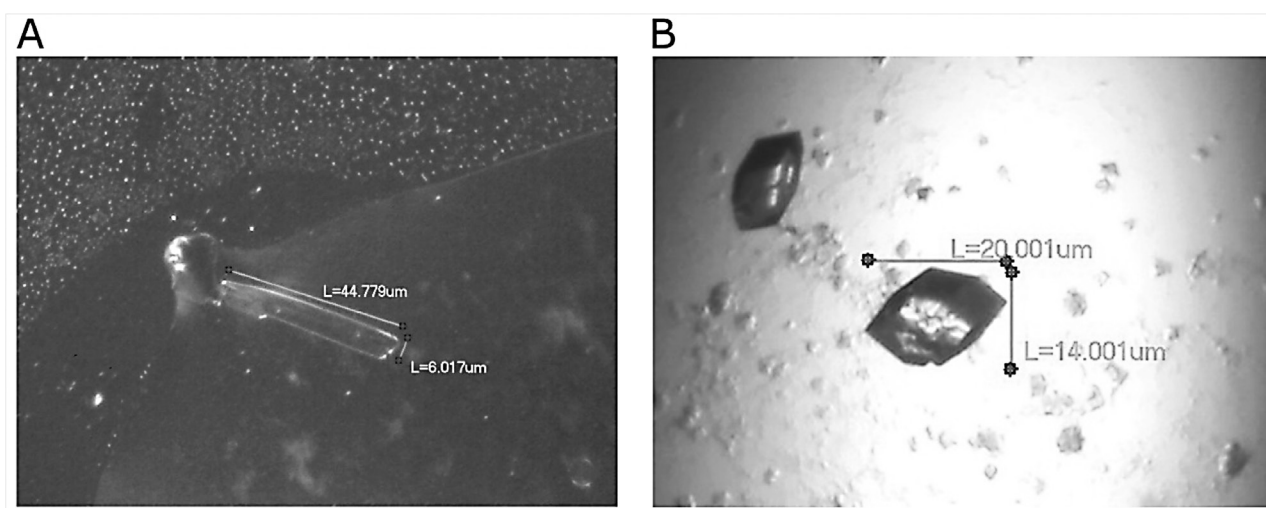


Figura 7. Cristales obtenidos de la variante del FVIIIa1 (R372Q, G373P) en complejo con trombina. A. Cristal de proteína obtenido en la condición 1-33 de Structure Screen (Molecular Dimensions) conteniendo 0.2 M de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.1 M de Tris pH 8.5 y 30% p/v de PEG 4000. B. La repetición de la misma condición permitió obtener cristales más pequeños, pero más gruesos. Imágenes capturadas con la cámara HDCE-II, empleando el programa Scopelimage 9.0, en un estereoscopio MEIJI EMZ-TR (Meiji Techno Corporation).

Discusión

Sobreexpresión heteróloga de los conectores ácidos FVIIIa1, FVIIIa2 y FVIIIa3

Al iniciar la presente investigación se partió de la hipótesis de que los interconectores de los dominios A1-A2, A2-B y B-A3 del factor VIII de la coagulación son importantes tanto para la activación del cofactor como para la actividad del FVIII dentro del complejo X-asa (Corral-Rodríguez *et al.*, 2011, Newell & Fay 2007; Yuan *et al.*, 2005), lo que se evidencia por el alto grado de conservación entre diferentes especies de mamíferos (figura 8) tanto para el conector FVIIIa1 que incluye los residuos Pro³³⁰-Arg³⁷² (figura 8A), como el FVIIIa2 con los residuos Asp⁷¹²-Arg⁷⁴⁰ (figura 8B) y el FVIIIa3 que contiene la región Glu¹⁶⁴⁹-Arg¹⁶⁸⁹ (figura 8C). Estos conectores preceden a los sitios de corte reconocidos por la trombina que son relevantes fisiológicamente, Arg³⁷²-Ser³⁷³, Arg⁷⁴⁰-Ser⁷⁴¹ y Arg¹⁶⁸⁹-Ser¹⁶⁹⁰, respectivamente.

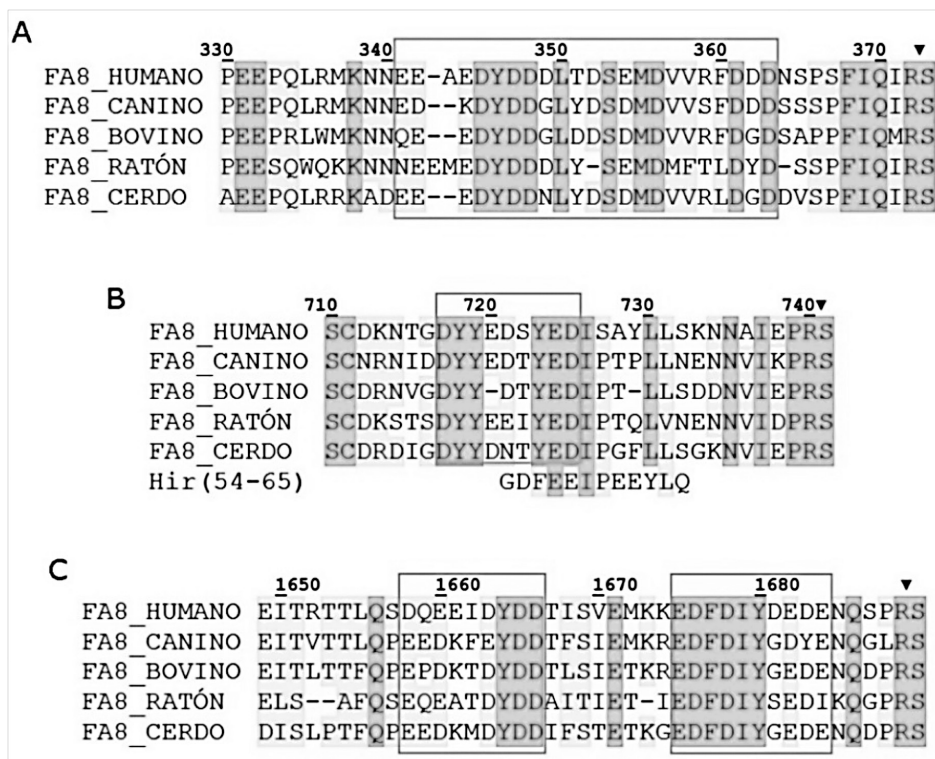


Figura 8. Alineamientos múltiples de los conectores del FVIII de diferentes especies de mamíferos. Se presentan las secuencias de las regiones FVIIIa1 (A), FVIIIa2 (B) y FVIIIa3 (C). La numeración corresponde al FVIII humano maduro. Los residuos estrictamente conservados en cada uno de los conectores se muestran con fondo gris oscuro; otros residuos bien conservados o reemplazados conservativamente están sombreados en gris claro. Las regiones ricas en aminoácidos de carácter ácido o aromático se muestran dentro de un recuadro y el sitio de corte por la trombina se indica con un triángulo invertido. En el panel **B** se presenta la secuencia del extremo C-terminal de la hirudina (Hir-C) debajo de las secuencias del conector FVIIIa2 topológicamente equivalentes. En **C**, nótese que el conector FVIIIa3 presenta dos regiones diferenciadas ricas en aminoácidos de carácter ácido. Los alineamientos se generaron con T-Coffee (Notredame *et al.*, 2000; Poirot *et al.*, 2003).

La activación del FVIII mediada por la trombina es fundamental para los procesos procoagulantes, de ahí la importancia de estudiar las interacciones trombina-FVIII. Resultados publicados sobre la interacción de los residuos Glu⁶⁶⁶-Glu⁶⁷² del conector a2 del FV con el exosito I de la trombina (Corral- Rodríguez *et al.*, 2011) evidencian la importancia de regiones ricas en residuos ácidos y aromáticos en estas interacciones. Por otra parte, otros investigadores han reportado que los residuos ácidos Glu⁷²⁰-Asp⁷²⁵ del conector FVIIIa2 (Newell & Fay, 2008) son importantes para la activación del FVIII mediada por la trombina. Esta información previa, junto con la característica de que cada uno de los conectores del FVIII contiene regiones ricas en residuos ácidos que les confieren cargas netas negativas, sugiere que estos conectores interactúan con los exositos básicos I y II de la trombina para presentar los sitios de corte y activación del cofactor en el centro activo de la proteasa.

Estas observaciones nos llevaron a estudiar la formación de complejos de los conectores ácidos del FVIII con la trombina. Para cumplir este objetivo, se clonaron, sobreexpresaron y purificaron los tres conectores del FVIII, así como sus variantes puntuales. Aunque los constructos iniciales utilizados en estos estudios se optimizaron de forma similar, se observaron diferencias significativas en la solubilidad de los fragmentos recombinantes. Por ejemplo, los conectores a1 y a3 y sus respectivas variantes se lograron extraer con buen rendimiento en la fracción soluble a partir de la sobreexpresión en células de *E. coli*, probablemente debido a que son cadenas

polipeptídicas relativamente cortas, carentes de elementos de estructura secundaria y con un notable carácter polar (45-46% de los residuos). Mientras que el FVIIIa2 se extrajo en tampones conteniendo 4-6 M de úrea, probablemente este fragmento recombinante tiende a agregar debido a su menor porcentaje de residuos polares (38% vs 45-46%).

Al evaluar las proteínas recombinantes mediante SDS-PAGE, se observó que para todos los casos tanto del FVIIIa1 como del FVIIIa3 y sus respectivas variantes, cuyo peso molecular teórico está entre aproximadamente 6.4 y 6.3 kDa, migraron a la misma distancia aproximada que la banda de 20 kDa del marcador de peso molecular utilizado. Estudios han demostrado que los múltiples residuos ácidos presentes en una proteína son capaces de neutralizar parte de las cargas negativas (aún en geles desnaturalizantes), disminuyendo de manera considerable la migración en el gel de poliacrilamida (Shi *et al.*, 2012, Rath *et al.*, 2009). Debido a lo anterior, la identidad de estas proteínas se confirmó mediante espectrometría de masas analizando los fragmentos completos, así como cada uno de los picos generados por la digestión limitada. A partir de estos últimos se logró obtener la secuencia experimental de cada fragmento y se identificó una alta homología con el Factor VIII de la coagulación de *Homo sapiens* (Uniprot: P00451) con un porcentaje de confianza del 99%. Estos resultados de expresión, purificación e identificación confirman que es posible expresar de forma heteróloga estos fragmentos del FVIII, en cantidades y con un nivel de pureza adecuados para estudios bioquímicos y de cristalización.

Búsqueda de condiciones de cristalización de los conectores del FVIIIa1, FVIIIa3 y sus variantes respectivas, unidos a la trombina

La sobreexpresión en *E. coli* de los fragmentos FVIIIa1 (337-372), FVIIIa3 (1649-1689), así como de los mutantes FVIIIa1 (R372Q, G373P) y FVIIIa3 (R1689Q), permitió obtener suficiente cantidad de proteínas con una alta calidad y grado de pureza, lo cual es casi siempre el cuello de botella para poder realizar estudios de cristalización y cristalografía debido a la gran cantidad de proteínas que se requieren (Rupp, 2009).

Nuestros resultados previos con los experimentos de *band shift* de los conectores FVIIIa1 y FVIIIa3 que evidencian la interacción con la trombina (datos no mostrados), nos motivaron a buscar condiciones de cristalización de complejos de estos fragmentos del FVIII con la proteinasa, con el objetivo de obtener cristales de calidad, para posteriormente resolver las estructuras 3D de dichos complejos. Sin embargo, según nuestra experiencia con trabajos previos en la resolución de estructuras 3D (Hernández-Carvajal, 2013), se decidió modular el sitio de corte y activación de los conectores para favorecer la forma acomplejada con la trombina. Para ello se realizaron mutaciones dirigidas en las posiciones P₁ y P_{1'}, sobre los residuos de arginina y serina, los cuales fueron reemplazados por glutamina y prolina, respectivamente. Dado que la glutamina tiene una cadena lateral no cargada y la prolina dificulta a las proteasas serínicas procesar los enlaces Xxx-Pro, se espera que estos cambios favorezcan la formación de complejos más estables entre la trombina y sus sustratos.

Los cristales conseguidos están siendo almacenados para realizar experimentos de difracción de rayos X en los sincrotrones ALBA (Barcelona, España) o ESRF (Grenoble, Francia), para evaluar el resultado de esta estrategia y tratar de resolver la estructura tridimensional del complejo.

Conclusiones

Se sobreexpresaron heterológicamente en *E. coli* y se purificaron los fragmentos del FVIII humano correspondientes a los conectores FVIIIa1, FVIIIa2 y FVIIIa3, así como las variantes FVIIIa1

(R372Q, G373P) y FVIIIa3 (R1689Q), evidenciando la capacidad de producir suficiente proteína para ensayos bioquímicos y de cristalización.

Se realizó la búsqueda de condiciones de cristalización, obteniéndose cristales del complejo Trombina·FVIIIa1 (R372Q, G373P) en la condición Structure Screen 1-33 que contiene 0.2 M de $MgCl_2 \cdot 6 H_2O$, 0.1 M de Tris pH 8.5 y 30% p/v de PEG 4000.

Agradecimientos

Agradecemos al Programa de Pasantías para Movilidad Estudiantil FEES-CONARE y a la Rectoría del TEC, por apoyar económicamente la estancia de S.A.S. en el Biomolecular NMR Laboratory en el Hospital de San Raffaele (Milán, Italia). A la Vicerrectoría de Investigación y Extensión del TEC por el financiamiento de este proyecto (VIE CF 1510030).

Referencias

- Corral-Rodriguez, M.A., Bock, P.E., Hernandez-Carvajal, E., Gutierrez-Gallego, R. & Fuentes-Prior, P. (2011). Structural basis of thrombin-mediated factor V activation: the Glu666-Glu672 sequence is critical for processing at the heavy chain-B domain junction. *Blood*, *117*, 7164-73.
- Davie, E.W., Fujikawa, K. & Kisiel, W. (1991). The coagulation cascade: initiation, maintenance, and regulation. *Biochemistry*, *30*, 10363-70.
- Fuentes-Prior, P., Iwanaga, Y., Huber, R., Pagila, R., Rumennik, G., Seto, M., Morser, J., Light, D.R. & Bode, W. (2000). Structural basis for the anticoagulant activity of the thrombin-thrombomodulin complex. *Nature*, *404*, 518-25.
- Gandhi, P.S., Chen, Z. & Di Cera, E. (2010). Crystal structure of thrombin bound to the uncleaved extracellular fragment of PAR1. *J Biol Chem*, *285*, 15393-8.
- Hernández-Carvajal, E. (2013). *Estudios de estructura y función de las interacciones de la trombina con sustratos fisiológicos*. Tesis de Doctorado en Biomedicina. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Barcelona.
- Myles, T., Yun, T.H. & Leung, L.L. (2002). Structural requirements for the activation of human factor VIII by thrombin. *Blood*, *100*, 2820-6.
- Newell, J.L. & Fay, P.J. (2007). Proteolysis at Arg740 facilitates subsequent bond cleavages during thrombin-catalyzed activation of factor VIII. *J Biol Chem*, *282*, 25367-75.
- Newell, J.L. & Fay, P.J. (2008). Acidic residues C-terminal to the A2 domain facilitate thrombin-catalyzed activation of factor VIII. *Biochemistry*, *47*, 8786-95.
- Nichols, M., Townsend, N., Luengo-Fernandez, R., Leal, J., Gray, A., Scarborough, P. & Rayner, M. (2012). European Cardiovascular Disease Statistics 2012. European Heart Network, Brussels, European Society of Cardiology, Sophia Antipolis.
- Notredame, C., Higgins, D.G. & Heringa, J. (2000). T-Coffee: A novel method for fast and accurate multiple sequence alignment. *J Mol Biol*, *302*, 205-17.
- Poirot, O., O'Toole, E. & Notredame, C. (2003). Tcoffee@igs: A web server for computing, evaluating and combining multiple sequence alignments. *Nucleic Acids Res*, *31*, 3503-6.
- Rath, A., Glibowicka, M., Nadeau, V., Chen, G. & Deber, C. (2009). Detergent binding explains anomalous SDS-PAGE migration of membrane proteins. *PNAS*, *106*, 1760-65.
- Rupp, B. (2009). *Biomolecular crystallography: principles, practice and application to structural biology*. Garland Science.
- Segers, K., Dahlback, B., Bock, P.E., Tans, G., Rosing, J. & Nicolaes, G.A. (2007). The role of thrombin exosites I and II in the activation of human coagulation factor V. *J Biol Chem*, *282*, 33915-24.
- Shi, Y., Mowery, R., Ashley, J., Hentz, M., Ramirez, A., Bilgicer, B., Slunt-Brown, H., Borchelt, D. & Shaw, B. (2012). Abnormal SDS-PAGE migration of cytosolic proteins can identify domains and mechanisms that control surfactant binding. *Protein Science*, *21*, 1197-1209.

- Strohalm, M., Hassman, M., Kosata, B. & Kodicek, M. (2008). mMass data miner: an open source alternative for mass spectrometric data analysis. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 22, 905-8.
- Wilkins, M.R., Gasteiger, E., Bairoch, A., Sanchez, J.C., Williams, K.L., Appel, R.D. & Hochstrasser, D.F. (1999). Protein identification and analysis tools in the ExPASy server. *Methods Mol Biol*, 112, 531-52.
- Yuan, Q.P., Walke, E.N. & Sheehan, J.P. (2005). The factor IXa heparin-binding exosite is a cofactor interactive site: mechanism for antithrombin-independent inhibition of intrinsic tenase by heparin. *Biochemistry*, 44, 3615-25.

Diseño de un sistema de adquisición de datos para fotogrametría con vehículos aéreos no tripulados (UAV)

Design of a Data Acquisition System for Photogrammetry with Unmanned Aerial Vehicles (UAVs)

Sergio Arriola-Valverde¹, Andrés Barahona-Contreras², Cornelia Miller-Granados³, Renato Rimolo-Donadio⁴

Fecha de recepción: 20 de abril de 2016

Fecha de aprobación: 7 de julio de 2016

Arriola-Valverde, S; Barahona-Contreras, A; Miller-Granados, C; Rimolo-Donadio, R. Diseño de un sistema de adquisición de datos para fotogrametría con vehículos aéreos no tripulados (UAV). *Tecnología en Marcha*. Vol. 29-4. Octubre-Diciembre 2016. Pág 92-101.

DOI: 10.18845/tm.v29i4.3040

1 Escuela de Ingeniería Electrónica, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Laboratorio PRIAS del Centro Nacional de Alta Tecnología (CeNAT-CONARE), Costa Rica. Correo electrónico: sarriola@itcr.ac.cr

2 Laboratorio PRIAS del Centro Nacional de Alta Tecnología (CeNAT-CONARE), Costa Rica.

3 Laboratorio PRIAS del Centro Nacional de Alta Tecnología (CeNAT-CONARE), Costa Rica.

4 Escuela de Ingeniería Electrónica, Instituto Tecnológico de Costa Rica.



Palabras clave

Erosión; fotogrametría; sistema de adquisición de datos; sistema de comunicación; vehículos aéreos no tripulados (UAV).

Resumen

Este trabajo detalla el diseño e implementación de un sistema de adquisición de datos para un Sistema Aéreo no Tripulado (UAV), capaz de registrar en forma sistemática la información proveniente de sensores y dispositivos de imagen, manteniendo una referencia espacial y temporal precisa. El objetivo es emplear este sistema para recopilar información que posteriormente se procesa con técnicas fotogramétricas para crear modelos de elevación digital de alta resolución que permitan evaluar la cantidad de suelo erosionado en un cierto intervalo temporal. Dicha solución busca mejorar a futuro la cuantificación y el entendimiento de los procesos de erosión con respecto a las metodologías tradicionales que se usan en Costa Rica.

Keywords

Erosion; photogrammetry; acquisition data system; communication system; Unmanned Aerial Vehicle (UAV).

Abstract

This paper describes the design and implementation of an acquisition system for an unmanned aerial system (UAV), capable of systematically register information from sensors and imaging devices with a precise spatial and temporal reference. The goal is to use the collected data with photogrammetric techniques in order to generate high-resolution digital elevation models that allow the evaluation of soil erosion over certain time intervals. This solution seeks to improve the quantification and understanding of erosion processes with respect to traditional methods employed in Costa Rica.

Introducción

La erosión en los suelos costarricenses afecta aproximadamente al 74% de los terrenos dedicados a actividades agrícolas (Sibello Hernández, 2013). Estos suelos están severamente degradados, principalmente por malas prácticas agrícolas que incluyen el uso excesivo de fertilizantes, pesticidas y herbicidas, aunado a la alta deforestación, lo cual tiene un alto impacto ambiental, económico y social. El arrastre de sedimentos, además, contamina cauces de agua y hábitats naturales conexos, como arrecifes, ocasionando la disminución del cauce y afectando actividades como la generación de energía eléctrica.

Para cuantificar la erosión existen numerosas metodologías, tales como estacas graduadas, estaciones de aforo y parcelas de escorrentía (Morales, 1996). Las parcelas de escorrentía, en particular, se caracterizan por requerir de una sección de terreno donde se construye una parcela con dimensiones que varían según las condiciones del mismo. Dichas parcelas están conformadas por un sistema colector encargado de captar el material erosionado y por un sistema de almacenamiento al que llegará el agua de escorrentía (Kass, Faustino & Tineo, 1994).

En Costa Rica se utilizan frecuentemente las parcelas de escorrentía, pero esta actividad tiene una serie de desventajas, como el uso ineficiente del suelo, el alto costo de construcción y los elevados gastos de operación y mantenimiento. Sumado a esto, la recolección de los datos suele realizarse de forma manual y los resultados usualmente tienen escasa precisión (Morales, 1996; Hudson, 1997).

Como solución alternativa, las técnicas fotogramétricas con sistemas aéreos no tripulados (UAV, por sus siglas en inglés) tienen un alto potencial, por la posibilidad que ofrecen de elaborar mapas tridimensionales con suficiente precisión (de unos pocos centímetros) para cuantificar la cantidad de terreno erosionado en un determinado lapso de tiempo (Eisenbeiß , 2009). En la actualidad, esta alternativa es objeto de una investigación conjunta del Laboratorio PRIAS del Centro Nacional de Alta Tecnología (CeNAT) y el Tecnológico de Costa Rica (TEC), con la participación de las escuelas de Ingeniería Agrícola e Ingeniería Electrónica.

Se espera que la fotogrametría UAV brinde una resolución y flexibilidad suficiente para monitorizar procesos de erosión en diferentes lugares, sin alterar las parcelas agrícolas con cultivos de bajo porte.

En la figura 1 se ilustra el proceso de fotogrametría con vehículos aéreos no tripulados. El levantamiento fotogramétrico consiste básicamente en la captura de imágenes con una ruta de vuelo que cubre todo el terreno en estudio, con un cierto porcentaje de traslape entre las imágenes, mientras se registra el tiempo y la posición exacta desde donde se tomó cada imagen. Esta información es necesaria para el procesamiento posterior de la información y la generación de un modelo de elevación digital que permita cuantificar la erosión a lo largo de un determinado período.

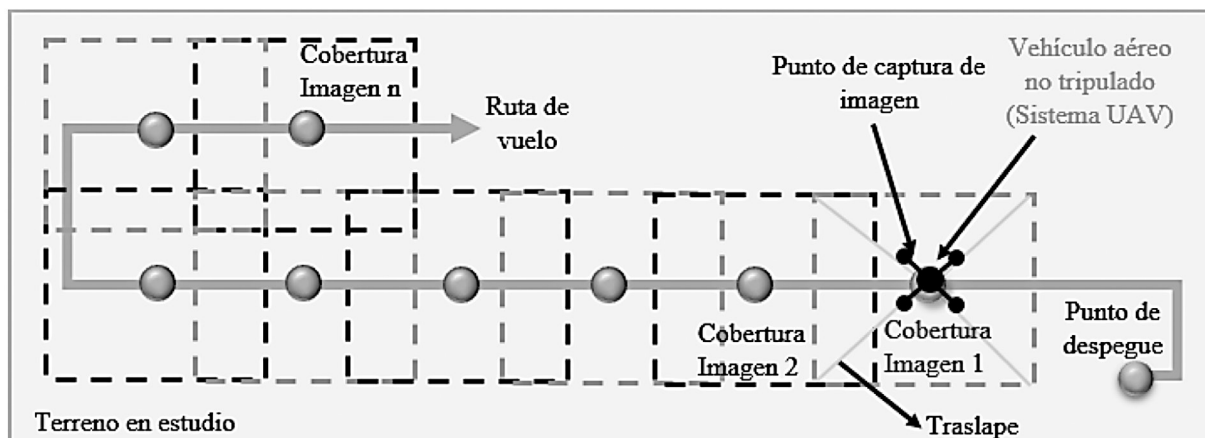


Figura 1. Esquema básico de la realización de un levantamiento fotogramétrico con sistemas aéreos no tripulados.

Para la captura de las imágenes con fines fotogramétricos existen diversas técnicas. En este caso, se consideran los sistemas UAV debido a su bajo costo relativo en comparación con otras soluciones que emplean aviones tripulados o tomas satelitales, y por la alta resolución espacial que se logra al volar a baja altura (por debajo de los 100 metros sobre el nivel del terreno). Los UAV poseen un sistema de vuelo automatizado, conocido también como piloto automático, capaz de planificar la misión de vuelo con la mínima intervención humana, lo que permite definir las rutas de vuelo más precisamente.

Este trabajo se centró en el diseño de un sistema independiente de adquisición que permita la generación de una base de datos relacionada con las imágenes adquiridas por medio de una cámara digital a bordo del UAV, que registre la ubicación espacial (ángulos de elevación y altura) y la posición geográfica (latitud y longitud) al momento de realizar la captura. El desarrollo de dicho sistema busca facilitar la toma de datos para el análisis de erosión mediante el empleo de técnicas fotogramétricas. Este artículo presenta parte del trabajo desarrollado como proyecto de graduación para optar por el grado académico de Licenciatura en Ingeniería Electrónica (Arriola, 2015).

Diseño del sistema de adquisición de datos

Actualmente existen sistemas comerciales capaces de desarrollar técnicas fotogramétricas utilizando UAV, sin embargo, estas soluciones se basan muchas veces en sistemas cerrados que ofrecen poca flexibilidad en la obtención de la información y tienen un costo elevado. Además, los sistemas disponibles no están diseñados específicamente para cuantificar la erosión de los suelos.

Es por ello que se plantea el desarrollo de un sistema de adquisición de datos capaz de registrar en un formato estándar, de valores separados por comas (CSV, por sus siglas en inglés), información tal como la posición y el tiempo para cada imagen registrada. Dicha información debe incluir la orientación de la nave dada por los ángulos de navegación cabeceo (*pitch*), alabeo (*roll*), quiñada (*yaw*), latitud, longitud, altura, fecha y hora. Como el objetivo es registrar imágenes con esta información asociada al momento de la toma, el sistema debe permitir controlar la obturación de una cámara fotográfica para poder sincronizar el registro y las lecturas de los sensores requeridos (esto se detalla más adelante).

Como primera etapa del proceso de diseño, además de la especificación de la información a registrar, se tomaron en cuenta otros factores, que incluyen la flexibilidad del sistema para futuras mejoras, bajo peso, bajo consumo eléctrico, así como un mínimo costo de implementación. Mediante una metodología modular se planteó un concepto de diseño que representa toda la conformación del *hardware* y la interacción de todos los módulos con la unidad central de procesamiento. En la figura 2 se muestra dicho concepto para el sistema de adquisición de datos. A continuación, se explica la implementación y el contenido de cada subsistema, lo cual es el resultado de un intenso proceso de evaluación y selección, el cual se detalla en Arriola Valverde (2015), (2015 a) y (2015 b).

Módulo de sensores

El módulo de sensores está constituido por un acelerómetro, un giroscopio, un magnetómetro y un barómetro, todos con una resolución de 16 bits, conformando lo que se conoce como una unidad de medición inercial (IMU, por sus siglas en inglés). En este diseño se utilizó el módulo marca YSTD modelo GY-89, que brinda la información de orientación espacial a partir de componentes en ejes coordenados (X,Y,Z). Mediante el protocolo de comunicación I²C, la información del sensor es enviada a la unidad central de procesamiento, donde se calculan y almacenan los ángulos de navegación (*pitch*, *roll*, *yaw*) (Arriola-Valverde, 2015); El IMU además permite registrar la altitud y temperatura.

Módulo GPS

Mediante un módulo receptor GPS comercial marca Adafruit, modelo MTK 3339, se obtiene información proveniente de la red de satélites: latitud, longitud, dilución de precisión horizontal (HDOP, por sus siglas en inglés) y el parámetro “*fix*”, el cual indica si existe enlace de comunicación entre el módulo con GPS con algún satélite disponible.

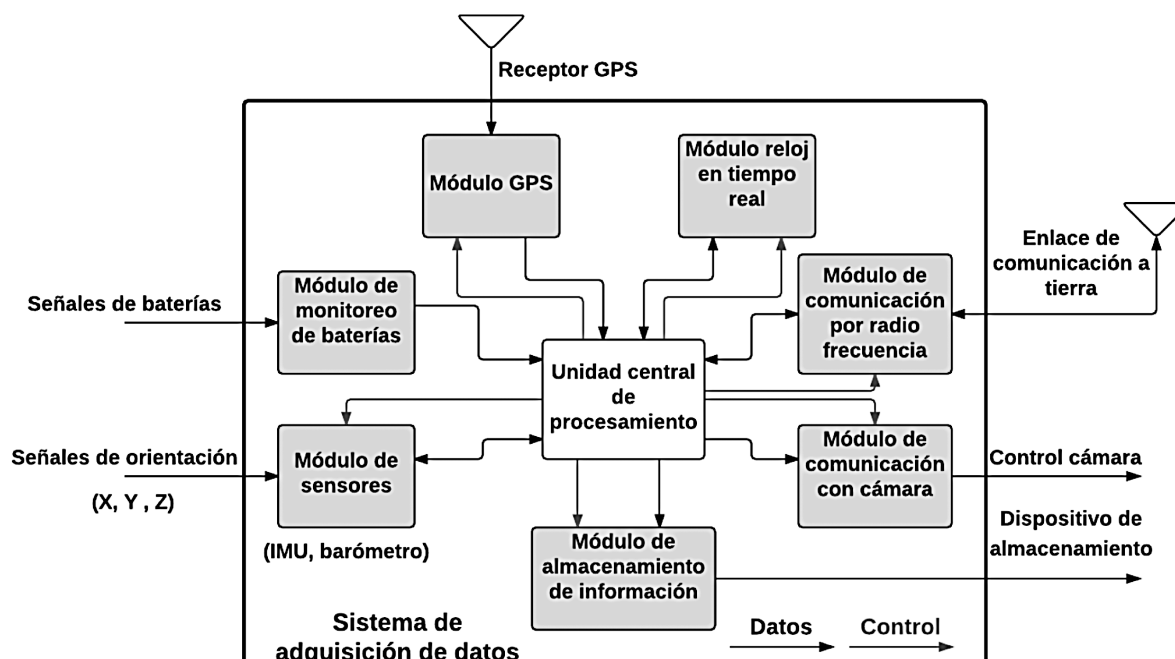


Figura 2. Diagrama de bloques del diseño modular para el sistema de adquisición de datos.

Módulo de comunicación con cámara

La obturación de la cámara fotográfica, marca SONY, modelo NEX5, se controla a través de un enlace inalámbrico infrarrojo desde la unidad central de procesamiento. Las capturas fotográficas se pueden realizar con una frecuencia programable por el usuario desde la estación de monitoreo central en tierra. La implementación específica se resolvió con un fotodiodo infrarrojo, ya que la cámara tiene la opción de ser controlada por este medio.

Módulo de comunicación por radiofrecuencia

Mediante un enlace de comunicación por radiofrecuencia, implementado con los módulos comerciales marca Xbee, modelo S1 PRO, el sistema de adquisición de datos puede establecer comunicación desde el UAV con un computador (estación de monitorización central en tierra). Esto permite el envío completo de la información referente al estado de carga eléctrica, posicionamiento, orientación y control del dispositivo de imagen durante el vuelo, la cual es desplegada a través de la interfaz gráfica en un computador.

Módulo de monitoreo de baterías

Los UAV están sustentados en su mayoría por baterías del tipo polímero de litio (LiPo, por sus siglas en inglés), que se utilizan porque tienen una capacidad de entrega de corriente alta. Por recomendación de los fabricantes en términos de seguridad y vida útil, las baterías no pueden ser descargadas por debajo del 20% de su capacidad, por lo que es necesario monitorearlas durante los vuelos. Este módulo cuenta con un arreglo de divisores resistivos que permiten medir la señal proveniente de las celdas eléctricas de la batería LiPo, con el objetivo acondicionar la entrada al convertidor analógico-digital (ADC, por sus siglas en inglés) de la unidad central de procesamiento. La estimación de carga eléctrica es realizada por la unidad central de procesamiento y posteriormente es enviada por radiofrecuencia a la estación de monitoreo central en tierra, donde se visualiza mediante una interfaz gráfica. Si bien los sistemas

de control de UAV normalmente tienen este monitoreo, se ha detectado que no siempre son lo suficientemente confiables, por lo que se agregó esta funcionalidad a fin de tener redundancia durante la operación del sistema UAV.

Módulo reloj en tiempo real

A partir de un módulo *real time clock* marca Sparkfun, modelo DS1307, se mantiene una referencia temporal independiente en un formato de horas:minutos:segundos con día/mes/año. A pesar de que esta información se puede obtener del GPS, se incluyó este módulo para tener redundancia en caso de que la señal del GPS no sea estable.

Módulo de almacenamiento de información

Este módulo almacena en un medio extraíble tipo microSD toda la información proveniente de los sensores, GPS y reloj en tiempo real con un formato CSV preestablecido. Cada trama de información almacenada está relacionada con la imagen obtenida por el cámara digital en ese ciclo.

Unidad central de procesamiento

La plataforma de *hardware* marca Arduino, modelo ADK 2560, es la encargada de adquirir y registrar la información proveniente de todos los dispositivos interconectados a ella y controla la obturación de la cámara fotográfica. Del mismo modo, esta unidad se encarga de controlar el almacenamiento de los datos y la interfaz de comunicación con la estación en tierra. En Arriola Valverde (2015) se pueden encontrar referencias detalladas de los componentes y detalles técnicos de la implementación.

Descripción del algoritmo de control

El algoritmo de control se implementó en el lenguaje de programación de alto nivel llamado *Processing*, que es utilizado por los compiladores de las tarjetas de desarrollo marca Arduino. Este entorno tiene disponible múltiples bibliotecas de código abierto, lo que facilita y acelera los desarrollos basados en esta plataforma. Este algoritmo es el encargado de controlar todos los procesos necesarios para llevar a cabo la adquisición, el registro, la captura de imagen y la comunicación con una estación de monitoreo central.

En cuanto a su estructura, el algoritmo se inicia con la configuración del *hardware* mediante la definición de bibliotecas propias para los sensores utilizados, declaraciones de clases, variables globales, constantes y la habilitación de todos los protocolos de comunicación con sus respectivas velocidades. Seguidamente, se realiza el proceso de adquisición de datos, mediante lecturas de los módulos de *hardware*. Por último, se registra y almacena la información y se envía mediante un enlace de radiofrecuencia a una estación de monitoreo central. En la figura 3 se muestran los diagramas de flujo del código de inicialización y adquisición. Un mayor detalle de la programación se puede encontrar en Arriola Valverde (2015).

Implementación y validación del sistema de adquisición de datos

En este apartado se muestra la implementación física y la validación realizada al sistema de adquisición de datos, donde se evaluó la integración de todos los módulos descritos en la sección 2. En la figura 4 se muestra el prototipo implementado del sistema de adquisición de datos.

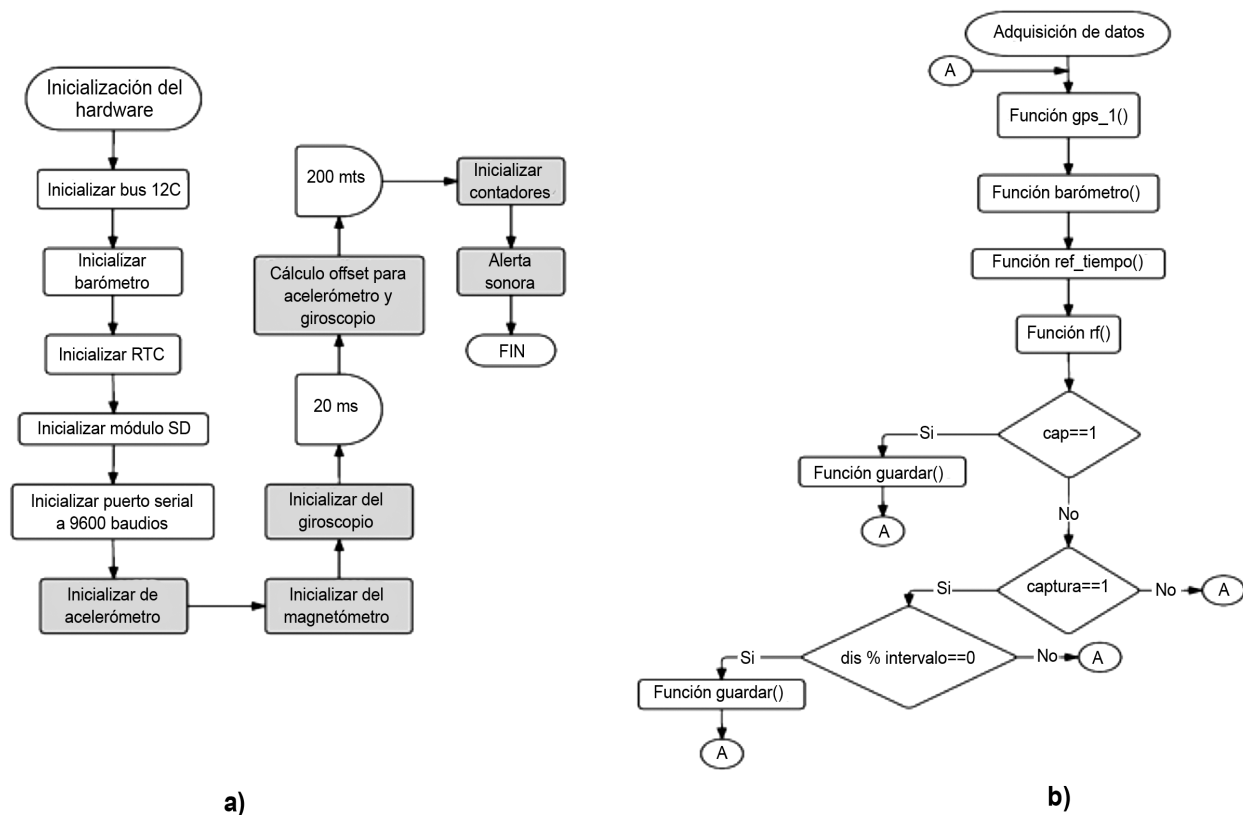


Figura 3. a) Diagrama de flujo para el algoritmo de inicialización del *hardware*. b) Diagrama de flujo para el algoritmo de adquisición de datos.

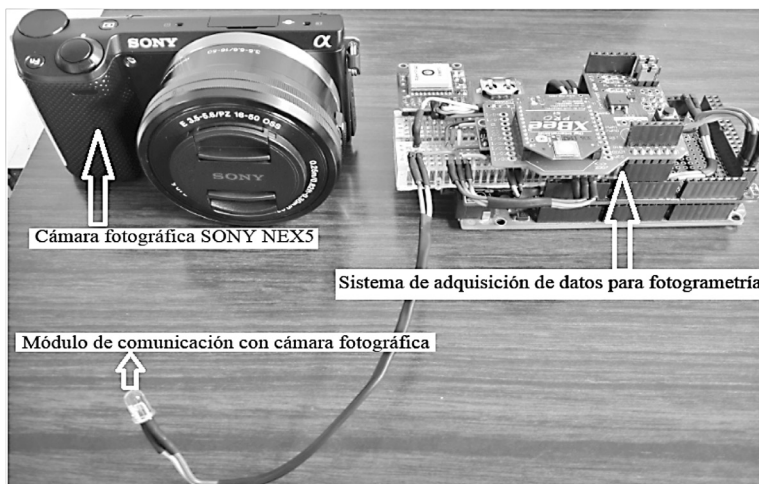


Figura 4. Prototipo del sistema de adquisición de datos para fotogrametría.

La metodología modular empleada representó un consumo de *hardware* en la unidad central de procesamiento de aproximadamente un 13%. Para obtener esa aproximación se cotejó la utilización de los pines de la tarjeta Arduino ADK 2560. A nivel de software, mediante herramientas de visualización que ofrece el compilador de la tarjeta Arduino, se obtuvieron las

estadísticas de consumo del microcontrolador, que fueron de un 15% de la memoria flash y un 27% de la memoria dinámica total.

Mediante un oscilograma se determinó que la unidad central de procesamiento le toma aproximadamente 930 ms adquirir y registrar información georreferenciada y temporizada proveniente de todos los sensores y el receptor GPS. Este tiempo se vio limitado principalmente por el receptor GPS, ya que requiere 860 ms para actualizar la información de latitud, longitud, altura y HDOP.

Los procesos que involucran el almacenamiento y la captura de una imagen requieren aproximadamente unos 200 ms adicionales, que comprenden el envío del comando de obturación vía infrarrojo a la cámara fotográfica y el respaldo de la información en el medio extraíble microSD con el formato de registro CSV. Con ello se obtiene un tiempo total de unos 1.13 segundos; por último, si se adiciona el tiempo del envío de la información por radiofrecuencia a la estación de monitoreo central, se necesitan unos 1480 ms para completar un ciclo; es decir, el proceso de tomar una imagen con la cámara, registrar y almacenar la información proveniente de los sensores.

Para visualizar la información en tiempo real, se desarrolló una interfaz gráfica en Matlab basada en Arias et al. (2014). Mediante el enlace de radiofrecuencia a 2,4 GHz, la interfaz original permite desplegar la carga eléctrica disponible para baterías tipo LiPo con un máximo de seis celdas eléctricas. También se incorpora un panel informativo donde se despliegan valores tales como latitud, longitud, *pitch*, *roll*, *yaw*, velocidad, altura, temperatura, satélites y HDOP; además, se incluye un panel de control para monitorear la adquisición de información y capturas de imágenes.

Utilizando la interfaz gráfica antes mencionada, se caracterizó el enlace de comunicación de radiofrecuencia a 2.4 GHz con el prototipo final, logrando una conexión estable con el sistema de adquisición de datos hasta una distancia de 170 metros, aproximadamente. Esta distancia se logró con módulos de 60mW que poseen antenas tipo *patch* (Arriola Valverde, 2015; Arias et al, 2014).

En cuanto a la autonomía eléctrica del sistema de adquisición de datos, se determinó un consumo máximo de corriente eléctrica de 190 mA. Si se alimenta el sistema a través de una batería tipo LiPo de 7.8 V con una capacidad de 2200 mAh, la autonomía eléctrica sería de aproximadamente 12 horas (con una única carga de batería).

Dado que los sistemas aéreos no tripulados comerciales poseen una autonomía de 15 a 20 minutos, debido principalmente al consumo de los motores, se concluye que el sistema de adquisición de datos no tiene un consumo comparativamente significativo.

El peso del prototipo es de 124 g y esto se determinó con una balanza marca Torrey, serie L-EQ, e incluye el peso de la tarjeta de desarrollo, el alambrado y los módulos de sensores. Esto representa una carga bastante liviana para un UAV que sea capaz de cargar la cámara digital convencional, los cuales soportan típicamente cargas superiores a 800 gramos.

Como se mencionó anteriormente, la información georreferenciada y temporizada es registrada con un formato tipo CSV, que permite su postprocesamiento de forma simple. En la figura 5 se incluye una muestra del registro obtenido para una captura de 13 fotografías.

	Latitud	Longitud	Pitch	Roll	Yaw	Vel	Temp	Altura	Fecha	Hora
Foto 1	9.949527	84.124809	0.23	-0.30	148.72	0.31	31.60	1079.40	10/5/2015	14:2:31
Foto 2	9.949527	84.124809	0.23	-0.19	147.95	0.31	31.60	1079.40	10/5/2015	14:2:34
Foto 3	9.949525	84.124809	-0.26	-0.25	147.54	0.24	31.70	1079.40	10/5/2015	14:2:37
Foto 4	9.949525	84.124809	-0.19	-0.23	150.54	0.19	31.70	1079.40	10/5/2015	14:2:40
Foto 5	9.949527	84.124809	-0.22	0.17	150.84	0.19	31.70	1079.40	10/5/2015	14:2:43
Foto 6	9.949525	84.124809	-0.25	-0.22	147.57	0.19	31.80	1079.40	10/5/2015	14:2:45
Foto 7	9.949530	84.124832	0.06	-0.12	147.42	0.19	31.80	1079.60	10/5/2015	14:2:48
Foto 8	9.949537	84.124763	-0.27	-0.04	148.42	1.72	31.80	1079.30	10/5/2015	14:2:51
Foto 9	9.949541	84.124748	-0.16	-0.20	148.91	0.30	31.80	1079.30	10/5/2015	14:2:54
Foto 10	9.949541	84.124748	-0.18	-0.21	148.48	0.33	31.80	1079.40	10/5/2015	14:2:57
Foto 11	9.949539	84.124748	-0.02	-0.22	148.77	0.50	31.80	1079.40	10/5/2015	14:3:0
Foto 12	9.949541	84.124755	0.17	-0.20	147.87	0.50	31.80	1079.40	10/5/2015	14:3:2
Foto 13	9.949537	84.124763	-0.17	-0.21	148.47	0.43	31.80	1079.40	10/5/2015	14:3:5

Figura 5. Muestra del registro obtenido por el sistema de adquisición de datos.

Para la reconstrucción fotogramétrica del espacio a analizar y la generación del modelo de elevación digital (DEM) se deberá utilizar una herramienta de *software* capaz de efectuar procesamiento de imágenes y que permita asociar la información georreferenciada de cada imagen para obtener un modelo en 3D lo suficientemente preciso. Existen varios paquetes comerciales para realizar esta tarea, tales como Erdas, Agisoft Photoscan o Pix4D. Típicamente, además de la georreferenciación en la toma de datos desde el UAV, un modelo 3D con alta resolución requiere la utilización de puntos de control tomados en tierra con un GPS diferencial o RTK (Arriola Valverde, 2015). Esto tiene el propósito de mejorar la precisión global de la ubicación de las fotos para así poder generar un DEM de alta resolución (de unos pocos centímetros a fracciones de centímetro por pixel).

Conclusiones

En este trabajo se reporta el diseño e implementación de un sistema de adquisición de datos capaz de registrar y almacenar información georreferenciada y temporizada en sincronía con una cámara fotográfica. El sistema también tiene la capacidad de establecer conexión mediante un enlace de radiofrecuencia con una estación de monitoreo central en tierra, en la cual se puede visualizar la información en tiempo real en un computador a través de una interfaz gráfica.

El empleo de una metodología modular con componentes “*open hardware*” y “*open software*” permitió el desarrollo de un concepto de diseño escalable, que facilitó la creación de los algoritmos de control con el fin de llevar a cabo todos los procesos necesarios para obtener imágenes con información georreferenciada a intervalos mínimos de 1.5 segundos, aproximadamente.

El sistema de adquisición de datos consume en operación una potencia aproximada de 964 mW y pesa unos 130 gramos, lo que representa un consumo y peso mucho menores en comparación con el que aportan otros componentes del sistema UAV. Se espera utilizar, en un futuro, este prototipo en los levantamientos fotogramétricos que se realizan como parte del proyecto de investigación conjunta del TEC y el PRIAS.

Agradecimientos

Se agradece la contribución para el desarrollo de este trabajo a las ingenieras M. Sc. Karolina Villagra Mendoza y M.Sc. Natalia Gómez Calderón, profesoras e investigadoras de la Escuela de Ingeniería Agrícola del ITCR. Además, se extiende el agradecimiento a los miembros e

investigadores del Laboratorio PRIAS: Silvia Ordoñez Salazar, Christian Vargas Bolaños, Heileen Aguilar Arias, Meybell Carranza Solano, Lloyd Foster Burr y Daniel Flores Cordero. Por último, se agradece al investigador Rodolfo Mora Zamora, miembro del Colaboratorio Nacional de Computación Avanzada (CNCA) del CeNAT, por su apoyo y sugerencias en el planteamiento del problema. El desarrollo de este trabajo fue apoyado por el programa de becas CeNAT.

Bibliografía

- Arias Valverde, J.P., Camacho Mora, A. & Ramírez Villalobos, E. (2014). *Medidor de celdas LiPo*. Reporte de Laboratorio. Cartago, C.R.: Tecnológico de Costa Rica.
- Arriola Valverde, S.A. (2015). *Diseño de un Sistema de Adquisición de Datos para un Vehículo Aéreo no Tripulado (UAV)*. Proyecto de Graduación. Cartago, C.R.: Tecnológico de Costa Rica.
- Arriola Valverde, S.A. (2015 a). *Manual de inicialización y software de un sistema de adquisición de datos para un vehículo aéreo no tripulado*. Cartago, C.R.: Tecnológico de Costa Rica.
- Arriola Valverde, S.A. (2015 b). *Manual de software para de un sistema de adquisición de datos para un vehículo aéreo no tripulado*. Cartago, C.R.: Tecnológico de Costa Rica.
- Eisenbeiß , H. (2009). UAV Photogrammetry. Disertación doctoral. Zurich, Suiza: ETH ZURICH.
- Hudson, N. (1997). *Medición sobre el terreno de la erosión del suelo y de la escorrentía*. Roma: Silsoe Associates.
- Kass, D., Faustino, J. & Tineo, A. (1994). Balance de N,P,Ca y Mg, para tres ciclos de rotación de frijol-maíz con prácticas de conservación de suelos en tierras de ladera, Turrialba, Costa Rica. Turrialba, C.R. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza CATIE.
- Morales, C.F. (Noviembre, 1996). Evaluaciones en la parcela de escorrentía y erosión. Lima. Perú: Universidad Nacional Agraria de la Molina.
- Sibello Hernández, R.Y. (2013). *Cuantificación de la erosión de los suelos en zonas de interés económico y ambiental de la provincia de Cienfuegos, Cuba, utilizando cesio-137 como radiotrazador*. Cienfuegos, Cuba: Universidad de Alicante.

Estimación del potencial metanogénico de la codornaza considerando las variables de dilución, adición de nutrientes y codigestión

Estimation of the methanogenic potencial of cordornaza considering the variables of dilution, nutrients addition and codigestion

Teresa Salazar-Rojas¹, María Porrás-Acosta², Nicolás Vaquerano-Pineda³, Alexia Quirós-Rojas⁴

Fecha de recepción: 21 de noviembre de 2015
Fecha de aprobación: 14 de febrero de 2016

Salazar-Rojas, T; Porrás-Acosta, M; Vaquerano-Pineda, N; Quirós-Rojas, A. Estimación del potencial metanogénico de la codornaza considerando las variables de dilución, adición de nutrientes y codigestión. *Tecnología en Marcha*. Vol. 29-4. Octubre-Diciembre 2016. Pág 102-110.

DOI: 10.18845/tm.v29i4.3041

- 1 Profesora e investigadora de la Escuela de Química, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica. Correo electrónico: tsalazar@itcr.ac.cr
- 2 Profesora e investigadora de la Escuela de Química, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica. Correo electrónico: mporras@itcr.ac.cr
- 3 Profesor e investigador de la Escuela de Electromecánica, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica. Correo electrónico: nvaquerano@itcr.ac.cr
- 4 Estudiante carrera de Ingeniería Ambiental, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Correo electrónico: alexiaqui.10@gmail.com



Palabras clave

Potencial metanogénico; codornaza; codigestión.

Resumen

El biogás ha ido ganando importancia como un combustible CO_2 -neutral por sus bajas emisiones de CO_2 . El biogás puede usarse para el calentamiento y/o la producción de electricidad o como aditivo para mejorar el combustible para los vehículos. Este artículo detalla la estimación del potencial metanogénico de la codornaza tomando en consideración las variables de dilución, adición de nutrientes y codigestión, con base en la medición del biogás por el método de desplazamiento de líquido y el empleo de la codornaza en codigestión con desecho de banano.

Los resultados obtenidos al diluir la muestra indican que de las tres diluciones realizadas para el sustrato de codornaza, la correspondiente al 40% presentó el mayor volumen de producción de metano. Las diluciones experimentales garantizan que el potencial de biogás del sustrato no sea subestimado debido a la sobrecarga o por la inhibición del potencial. Al efectuar la adición de nutrientes para la producción de biogás, estos ayudaron a obtener una mayor cantidad de metano acumulado. Sin embargo, esta variable demostró no ser fundamental para alcanzar un buen rendimiento en la producción de metano con el sustrato experimentado. Además, la codornaza mostró ser muy buen sustrato para la codigestión con desecho de banano.

Keywords

Methanogenic potential; codornaza; codigestion.

Abstract

The biogas has gain relevance over the years as a CO_2 neutral fuel option due to its low CO_2 emissions. It is used for heating and energy generation or could also be used as an additive for car fuel. This article details the estimate of the methanogenic potential of the codornaza taking into account dilution, addition of nutrients and codigestion variables; based on the measurement of the biogas by the water displacement methodology and the use of codornaza in codigestion with banana waste.

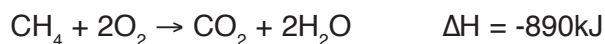
The results gathered after diluting the samples showed that, among the three diluted samples from the codornaza substrate, the dilution at 40% generated the highest production of methane.

Experimental dilutions guarantee that the biogas potential from the substrate won't be underestimated due to overload or inhibition from the potential. By adding nutrients to the biogas production process, they helped to obtain a higher volume of methane gas. However, this variable was proven not to be fundamental to obtain a good performance in the methane production with the substrate used. Moreover, the codornaza proved to be a good substrate for the codigestion of banana waste.

Introducción

El biogás ha ido ganando importancia como un combustible CO_2 -neutral por sus bajas emisiones de CO_2 . El biogás puede utilizarse para el calentamiento y/o la producción de electricidad o como aditivo para mejorar el combustible para vehículos (Angelidaki et al., 2007).

El biogás es un gas más liviano que el aire (su densidad es de 0,94 kg/m³), tiene una temperatura de inflamación de alrededor de 700°C. Está compuesto por metano (CH₄) (50%-70%), dióxido de carbono (CO₂) (30%-50%), ácido sulfhídrico (H₂S) (0,1%-1%) y nitrógeno (N₂) (0,5%-3%). Su calidad está directamente asociada a la cantidad de metano que contenga, ya que cuanto mayor sea el porcentaje de este gas, mayor poder calorífico tendrá (López, 2013). Por tanto, la molécula de metano es la que reviste principal interés debido a su alto poder calórico ante la oxidación:



Las bacterias metanogénicas, encargadas de la producción de metano, pertenecen al dominio Archaea. Las arqueobacterias metanogénicas se distinguen de otros microorganismos porque producen metano como producto metabólico principal (Martínez, 2004). Existen varios grupos de bacterias metanogénicas que se diferencian entre sí por su morfología; se pueden encontrar bacilos y cocos filamentosos, agrupados en cadenas, diplococos, tetradas y racimos. Pueden desarrollarse a temperaturas que van desde 38 °C hasta 75°C y su afinidad al Gram es variable. Su metabolismo se caracteriza por integrar las vías biosintéticas y bioenergéticas para la producción de ATP. En condiciones de ausencia de hidrógeno, oxidan compuestos para la obtención de electrones (Acuña, Ángel, Borray, Corrales & Sánchez, 2008).

Estos microorganismos metanogénicos se encuentran en ambientes anaerobios, como el sedimento de las aguas de los ríos, lagos y lagunas, principalmente, y en el tracto gastrointestinal de algunos animales. El intervalo de valores de pH en el que se desarrollan es de 6.5 a 7.8 y el intervalo de temperatura es de 30-40 °C para los microorganismos mesofílicos y de 45-65 °C para los termofílicos (Martínez Gutiérrez, 2004).

Varios autores han establecido que la degradación microbiana relacionada con la digestión anaerobia puede acelerarse (en tiempo o en aumento de tasas de producción de biogás) si se suministran las condiciones favorables. Entre dichas condiciones se pueden mencionar la adecuada presencia de nutrientes, en particular la adición de metales como micronutrientes o de sales como el cloruro férrico, pH y humedad apropiados (Márquez, Sánchez, Alfaro & Cortés, 2009). También es relevante la medición de las variables de operación para controlar y proveer un ambiente adecuado en un proceso de fermentación o digestión (Salazar-Rojas & Porras-Acosta, 2014).

Entre los sustratos estudiados para la producción de biogás se encuentran desde residuos de alimentos hasta boñiga de animales vacunos, porcinos y aves domésticas. Un tipo de ave doméstica que ha ido incursionando en el mercado nacional es la codorniz, cuya clasificación taxonómica la define como un ave terrestre perteneciente al grupo de las gallináceas, familia Phasianoidea y especie *Coturnix coturnix*.

Las codornaza es el resultado del aprovechamiento de los excrementos de las codornices para utilizarlos en procesos productivos de diferente tipo, por ejemplo, como abono de cultivos (composta) y como alimento de animales (rumiantes, cerdos y peces) mezclado con melaza y concentrados.

Una prueba de actividad metanogénica específica (AME) da conocer la capacidad de los microorganismos metanogénicos, que se encuentran en la biomasa para producir metano y CO₂ a partir de ácidos grasos volátiles (Méndez, et al, 2007).

La AME se expresa generalmente en gramos de DQO por gramos de sólidos volátiles por día (g DQO_{CH₄}/g SV.d) y se calcula según (Cimochoicz, Rybicka, & Rybicki, 2013) de la siguiente manera:

$$AME = \frac{24}{SV \times V_R \times f_1} \times \frac{d(V_{CH_4})}{dt}$$

Donde:

SV = Masa de los sólidos volátiles en la muestra por litro de agua en el reactor (g/l).

VR = Volumen líquido efectivo en el reactor (l).

f1 = Factor de conversión para gramos de DQO removida por unidad de volumen de metano (ml CH₄/g DQO).

d (VCH₄)/dt = tasa máxima de producción de metano (ml CH₄/d).

La tasa máxima de producción de metano se obtiene a partir de la pendiente máxima de la curva de producción del gas durante el período de incubación de la muestra y que corresponda al consumo mínimo de 50 % del sustrato añadido (Aquino et al., 2007, citado por Flores, (2014)).

El objetivo general de esta investigación fue determinar la producción de metano a partir de codornaza, considerando las variables de dilución, adición de nutrientes y codigestión.

Materiales y método

Sustrato e inóculo

El sustrato utilizado es codornaza y desecho de banano (en una proporción de 90% cáscara y 10% fruto), que se caracterizaron de acuerdo con la metodología que se presenta en el cuadro 1.

Cuadro 1. Caracterización de la codornaza y el desecho de banano.

Muestras	Parámetros	Metodología
Codornaza y Desecho de banano	Humedad Fósforo Nitrógeno Sólidos volátiles pH	<i>Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.</i> 22 ed. 2012 APHA-AWWA-WEF; y los métodos del ASTM-11 (<i>Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists.</i> 15 ed. D 2974. <i>Standard Test Methods for Moisture, Ash and Organic Matter of Peat and Other Organic Soils.</i> Utilización de pH metro marca Hanna Instruments.

Montaje del experimento

Los digestores anaeróbicos del experimento se elaboraron a partir de kitsatos de vidrio con volúmenes de 500 ml. Los kitsatos se sellaron con tapón de hule y se aseguraron con parafina. Los digestores anaeróbicos fueron operados en un sistema por lote y a una temperatura controlada en baño maría de (33±1) °C. El biogás formado se midió mediante el método de desplazamiento de líquido, utilizado por algunos autores (López, 2013), el biogás generado se pasó por trampas de gas, una contenía una disolución de NaOH y fenolftaleína y la otra agua y anaranjado de metilo. Las trampas se conectaron entre sí con mangueras y para una mayor seguridad y evitar presiones negativas, se utilizan prensas. Una foto del montaje experimental se muestra en la figura 1.



Figura 1. Diagrama del montaje experimental.

Diseño experimental

Este estudio se realizó por duplicado en tres variables: dilución del sustrato, adición de micronutrientes y codigestión, cada una evaluada en tiempos diferentes. Se efectuaron mediciones del desplazamiento del gas tres veces al día durante 15 días, ya que se observó una detención de la producción entre los días 12-14, además, se agitaron las muestras durante un minuto antes de hacer las mediciones de desplazamiento.

Chernicharo (2007) menciona que las bacterias metanogénicas pueden conseguir estabilidad para la formación de metano en un rango más amplio (6,0-8,0 unidades); deben evitarse los valores menores a 6,0 y superiores a 8,3 para prevenir la completa inhibición, sin embargo, no fue necesario realizar un ajuste de pH por el grado de basicidad misma de la codornaza.

Prueba de dilución de sustrato: Se colocaron en los biorreactores diluciones de 10%, 25% y 40% de la codornaza. En las tres diluciones se adicionaron micronutrientes.

Prueba de micronutrientes: Se realizaron pruebas de producción de biogás con y sin micronutrientes para la dilución de 25% de la codornaza. Se prepararon disoluciones madres de NH_4Cl , NaCl , $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, agregando en volúmenes de 10ml/L, 2ml/L, 1ml/L, 1ml/L y 1ml/L, respectivamente, según la metodología descrita por Angelidaki et al. (2009).

Prueba de codigestión: Se prepararon sustratos con 50% de codornaza/desecho de banano y se llevaron a diluciones de 25% y 40%; a ambas se les agregaron micronutrientes.

Resultados y discusión

En el cuadro 2 se muestran los resultados obtenidos de la caracterización del sustrato codornaza.

Efecto de la dilución en la producción de biogás

La cantidad de sustrato que se añade a un biorreactor es uno de los parámetros operacionales que se debe vigilar en la producción de biogás, ya que en la mayoría de los casos se requiere dilución. Las diluciones experimentales garantizan que el potencial de biogás del sustrato no sea subestimado debido a la sobrecarga o la inhibición del potencial (Angelidaki et al., 2009). Para la realización de esta prueba se obtuvo que de las tres diluciones para el sustrato de la codornaza, la dilución del 40% presentó el mayor volumen de producción de metano, seguido por la del 25%, mientras que la cantidad más pequeña correspondió a la del 10% (figura 2).

Cuadro 2. Composición química del sustrato utilizado en las pruebas metanogénicas.

Parámetro	Dato
Humedad (% m/m)	22,4 ± 1,8
SSV (% m/m) ¹	82 ± 3
DQO (mg/L) ²	17984 ± 2657
Fósforo total (% m/m)	0,082 ± 0,001
Nitrógeno total (% m/m)	0,0345 ± 0,0004
pH	8,0 ± 0,5

Nota: ¹SSV: sólidos suspendidos volátiles; ²DQO: Demanda química de oxígeno.

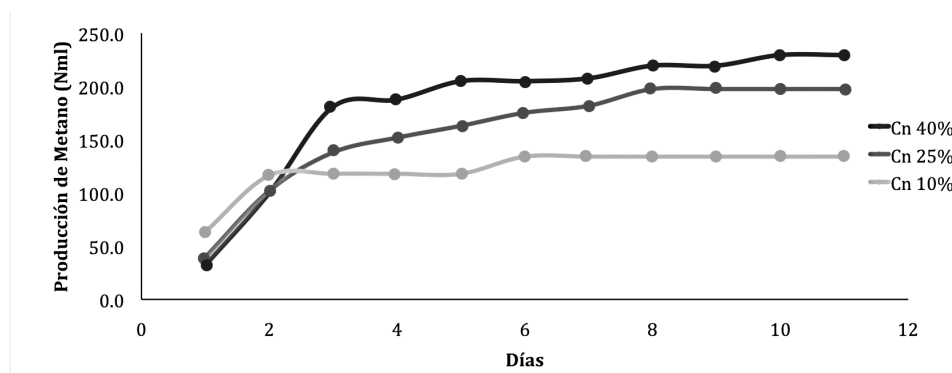


Figura 2. Volumen acumulado de metano según razón de sustrato al 15%, 25% y 50%.

Para el cálculo de AME (cuadro 3), se obtuvo igualmente un mayor valor para la dilución del 40% y un valor bastante similar para las diluciones del 25% y 10%.

Cuadro 3. Producción de metano generado por la codornaza en diferentes concentraciones.

Sustrato	L CH ₄ /g SV
40%	0,117
25%	0,089
10%	0,090

Efecto de la adición de nutrientes para la producción de biogás

Debido a la falta de algunos nutrientes en ciertos sustratos, es necesario agregar nutrientes y micronutrientes para lograr la función óptima de los microorganismos anaerobios (Lindorfer, Pérez López, Resch, Braun & Kirchmayr, 2007). En el caso de la codornaza, como se muestra en la figura 3, las adiciones de nutrientes no presentaron mayor impacto en la producción diaria de metano. Sin embargo, a la hora del cálculo de AME se obtuvo un valor un poco más alto para el sustrato con nutriente (cuadro 4).

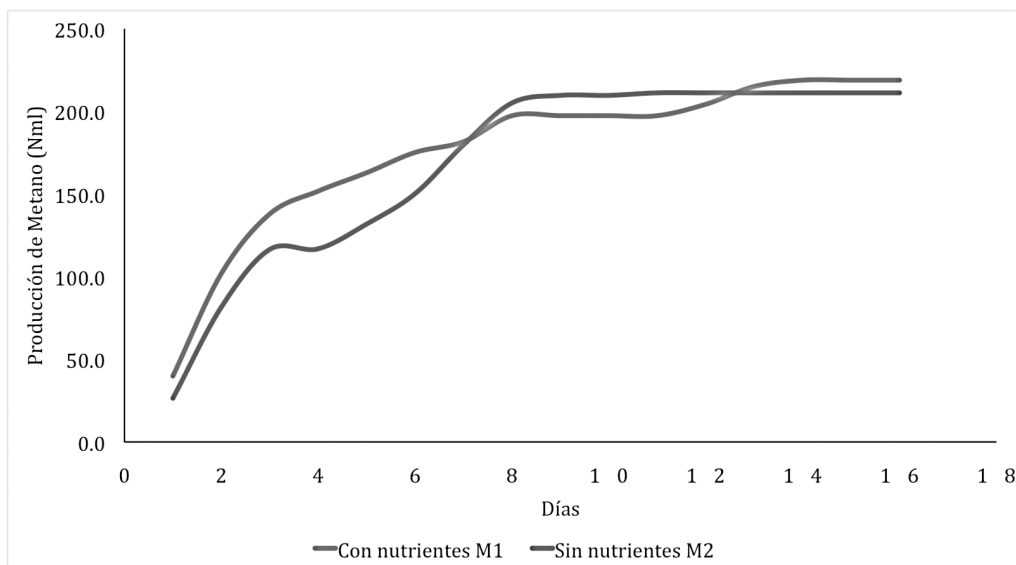


Figura 3. Volumen acumulado de sustrato con nutrientes (M1) y sin nutrientes (M2).

Cuadro 4. Producción de metano generado por la codornaza con y sin adición de nutrientes.

Sustrato	L CH ₄ / g SV
Con nutrientes	0,0897
Sin nutrientes	0,0797

Prueba con codigestión

Para el sustrato utilizado en la codigestión con la codornaza se obtuvieron los resultados que se muestran en el cuadro 5.

Cuadro 5. Parámetros químicos del desecho de banano utilizado en la codigestión con codornaza.

Parámetro	% (m/m)
pH	5,3 ± 0,1
SV	98 ± 1
Humedad	37,51 ± 1,93
Fósforo	0,0237 ± 0,0001
Nitrógeno	0,0156 ± 0,0004

Como puede observarse, el contenido de nitrógeno y el pH del desecho de banano son bastante bajos, sin embargo, al realizar la codigestión con la codornaza (cuadro 1), ambos parámetros fueron estabilizados para obtener condiciones requeridas para la digestión.

Se obtuvo una mayor producción de metano con la dilución al 40% (figura 4), sin embargo, su AME fue ligeramente menor a la de la del 25% (cuadro 6).

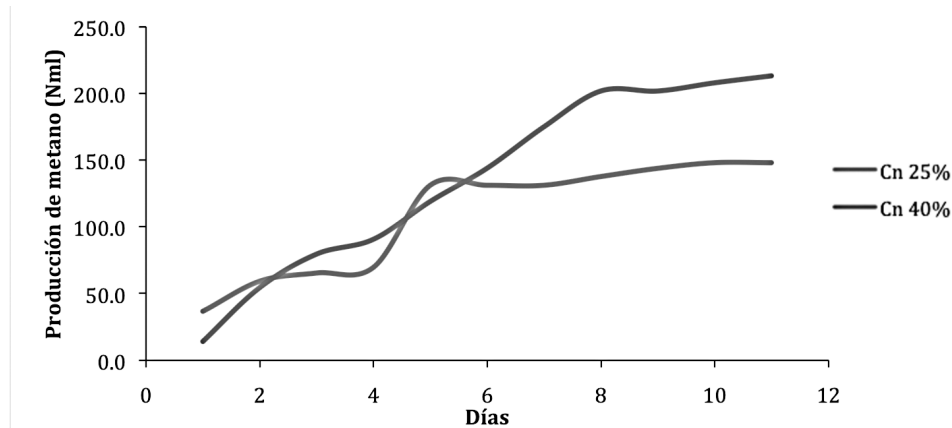


Figura 4. Volumen acumulado en la codigestión con diluciones del 25% y el 40%.

Comparando los valores de AME para la codornaza sola (cuadro 3) y utilizando la codigestión (codornaza/desecho de banano) (cuadro 6), se puede apreciar una disminución en los valores por el efecto de la codigestión. Sin embargo, se observa un efecto positivo ya que se logra la digestión del desecho de banano, que no solo contiene más celulosa y, por lo tanto, es más difícil de descomponer que la codornaza, sino que también presenta el problema de tener un pH bajo, lo cual dificultaría su digestión por sí solo.

Cuadro 6. Producción de metano generado por la codornaza en diferentes concentraciones.

Sustrato	L CH ₄ /g SV
25%	0,0807
40%	0,0746

Conclusiones

- Se determinó que, para la codornaza, la dilución del 40% es la que genera mayor producción de metano.
- El dato mayor de AME obtenido para la codornaza fue de 0,117 L CH₄/g SV.
- La variable de nutrientes demostró no ser fundamental para obtener un buen rendimiento en la producción de metano con el sustrato experimentado.
- La codornaza resultó ser muy buen sustrato para la codigestión con el desecho de banano, debido a su aporte en nitrógeno y neutralización del pH.

Recomendaciones

Se recomienda probar la codornaza en codigestión con otros desechos que, al tratarse individualmente, presenten el problema de acidificación del medio.

Referencias

- Acuña, P., Ángel, L., Borray, E., Corrales, L. & Sánchez, L. (2008). Aislamiento e identificación de microorganismos del género *Methanococcus* y *Methanobacterium* de cuatro fuentes de Bogotá D.C. *NOVA-Ciencias Biomédicas*, 6(10), 156-161.
- Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campos, J.L., Guwy, A. J. & Lier, J.B. Van. (2009). Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Water Science & Technology - WST*, 59(5), 927-934. doi:10.2166/wst.2009.040
- Chernicharo, C.A. (2007). Principios do tratamento biológico de águas residuárias. Vol. 5: Reatores anaeróbios (p. 245). Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Universidad Federal de Minas Gerais.
- Flores, D. (2014). Potencial metanogénico de residuos lignocelulósicos específicos disponibles en las fincas agrícolas costarricenses para cogeneración. Instituto Tecnológico de Costa Rica.
- Hilbert, A. (s.f.). *Manual para la producción de biogás*. Castelar, Argentina: Instituto de Ingeniería Rural, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.
- Lindorfer, H., Pérez López, C., Resch, C., Braun, R. & Kirchmayr, R. (2007). The impact of increasing energy crop addition on process performance and residual methane potential in anaerobic digestion. *Water Science & Technology*, 56(10), 55-63. doi:10.2166/wst.2007.728
- López, G. (2013). Método no convencional de medición de gases en la digestión anaerobia. Centro de Investigaciones y Desarrollo Científico, Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Colombia.
- Márquez, L., Sánchez, J., Alfaro, R. & Cortés, R. (2009). Inclusión de un inóculo para promover la metanización de residuos sólidos urbanos. *Biológicas*, 36(11), 29-36.
- Martínez Gutiérrez, E. (2004). *Estudio molecular de las poblaciones de un lodo anaerobio en condiciones desnitrificantes y metanogénicas*. Universidad Autónoma Metropolitana, México.
- Méndez, R., Vidal, G., Lorber, K., & Márquez, F. (2007). *Producción Limpia en la Industria de Curtiembre*. (U. de S. de Compostela, Ed.). Santiago de Compostela, España.
- Salazar-Rojas, T. & Porras-Acosta M. (2014). *Diseño de biorreactor a partir de un autoclave en desuso*. *Tecnología en Marcha*, ISSN-0379-3982, ISSN-E 22153241.

Situación actual de la gestión de los materiales de construcción en Costa Rica

Actual situation of construction materials management in Costa Rica

Lilliana Abarca-Guerrero¹, Ana Grettel Leandro-Hernández²

Fecha de recepción: 6 de noviembre de 2015
Fecha de aprobación: 14 de febrero de 2016

Abarca-Guerrero, L.; Leandro-Hernández, A. Situación actual de la gestión de los materiales de construcción en Costa Rica. *Tecnología en Marcha*. Vol. 29-4. Octubre-Diciembre 2016. Pág 111-122.

DOI: 10.18845/tm.v29i4.3042



- 1 Centro de Investigación en Protección Ambiental, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica. Correo electrónico: labarca@itcr.ac.cr
- 2 Centro de Investigación en Vivienda y Construcción, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica. Correo electrónico: gleandro@itcr.ac.cr

Palabras clave

Composición; cantidad; residuos construcción; causas.

Resumen

La industria de la construcción se considera un pilar en la economía de los países, ya que provee vivienda, edificaciones e infraestructura a una población en crecimiento y un proceso de urbanización continua, especialmente en el mundo en desarrollo. Sin embargo, este sector también es un gran consumidor de recursos naturales y produce una cantidad significativa de residuos.

Los datos sobre la generación de residuos del sector de la construcción en Costa Rica son escasos. Por lo tanto, se realizó un estudio con la finalidad de desarrollar una línea de base sobre las cantidades y composición de estos materiales, y determinar los motivadores y las barreras para lograr una actividad más sostenible.

Se llevó a cabo una encuesta mediante cuestionarios, entrevistas y visitas de campo. De acuerdo con los resultados, los residuos se componen básicamente de madera, suelo, restos de tuberías, láminas de techo corrugado, alambres, materiales de embalaje (papel, plástico, cartón), cemento, hormigón, bloques, pinturas y escombros. Las cantidades (ya sea en volumen o peso) se desconocen, ya que la mayoría de las empresas no mantiene un registro de tales datos.

Con base en los resultados obtenidos, se estableció un indicador de generación de residuos con un valor de 100 kg/m². Esta cifra es alta si se compara con los valores reportados por la literatura para los países desarrollados. Este alto valor podría explicarse por la falta de información sobre el impacto ambiental de la actividad de la construcción, el desconocimiento de tecnologías, la falta de fiscalización gubernamental y la ausencia de incentivos de mercado, entre otros factores que reducirían el impacto medioambiental del sector.

Keywords

Composition; quantity; construction waste; causes.

Abstract

The construction industry is considered a pillar in the economy of nations. It provides housing, buildings and infrastructure for a growing population and continued urbanization, especially in developing countries. However, this sector is known as a major consumer of natural resources producing a significant amount of construction and demolition waste.

The data, on the situation of construction waste generation is scarce in Costa Rica. Therefore, the aim of the study is to develop a baseline on the quantities and composition of the waste generated during the construction process, as well as the motivators and barriers to achieve a more sustainable activity.

In order to achieve the objective, a survey was done by means of a questionnaire and interviews including construction site visits. According to the results, construction waste is composed of wood, soil, rest of piping materials, corrugated sheet, metal wires, packaging materials (paper, plastic, cardboard), cement, concrete, cement blocks, paints and debris. The quantities, either by volume or weight are unknown due to the lack of records kept by the companies.

An indicator related to construction waste generation was determined as 100 kg/m². This value is high compared to the ones reported in literature for developed countries which could be explained as due to the lack of knowledge on technologies and information on the environmental impact of their activities by the construction companies, the absence of enforcement procedures, and market incentives for a more sustainable activity.

Introducción

El sector de la construcción aporta un alto porcentaje del producto interno bruto (PIB) en las naciones en vías de desarrollo, suministrando empleo a un grupo importante de la población (Ngowi, 2002). La industria interviene, entre otros, en la construcción de edificios, carreteras, represas, ferrocarriles, oleoductos e incluso estaciones espaciales, pero también contribuye a la degradación ambiental.

Se estima que el sector de la construcción es responsable del 12-16% del consumo de agua, el 25% de la madera extraída, el 30-40% del consumo de energía y el 40% de materiales vírgenes utilizados (Macozoma, 2002). El 57% de los residuos sólidos de construcción y demolición (C&D) en sitios de disposición final provienen de la construcción (cuadro 1), ruido, polvos, emisiones gaseosas (Lu & Yuan, 2011), el 20-30% de gases de efecto invernadero, el 15% de los materiales solicitados para la construcción se convierten en residuos, cambios en el uso de la tierra que incluyen remoción de flora, degradación estética, oportunidades para la corrupción y riesgos para la seguridad y la salud de los trabajadores del sector (UNEP, 2003).

Debido al alto impacto ambiental del sector, la industria ha sido criticada y forzada a promover la sostenibilidad. Varios autores consideran que el sector construcción ha sido lento en responder a esas demandas ambientales en comparación con otro tipo de industrias. Además, indican que la presión de los habitantes aumenta y la legislación ambiental es cada vez más estricta. La industria actual no solamente debe entregar productos de calidad, a tiempo y con un costo justo, sino que debe hacerlo apegada a valores ambientales.

Cuadro 1. Porcentaje de residuos de la construcción en sitios de disposición final.

País	Residuos de C&D (% por peso)	Referencia
Países Bajos	26	Bossink y Brouwers, 1996
Hong Kong	44	Hong Kong EPD, 2000
Inglaterra y Gales	42,2	Lawson y Douglas, 2001
Kuwait	15-30	Kartam et al., 2004
Taiwán	15-20	Taiwan EPA, 1999
Estados Unidos de América	20-29	Bossink y Brouwers, 1996; Mincks, 1994; Peng et al., 1994; Rogoff y Williams, 1994; Apotheker, 1990
Australia	20-30	Craven et al., 1994
Alemania	19	Brooks et al., 1994
Finlandia	13-15	Heino, 1994
Japón/Tokio	57	Kennedy et al., 2007
Mundo	13-29	Bossink y Brouwers, 1996

La construcción en Costa Rica

la industria de la construcción en Costa Rica hace un aporte significativo a la economía del país. De acuerdo con los informes de la Cámara Costarricense de la Construcción (CCC, 2014), la tasa de crecimiento ha sido una de las más dinámicas en los últimos años. Al mismo tiempo, el sector genera una gran cantidad de residuos que tienen un impacto importante en el medio ambiente.

La población de las zonas urbanas ha crecido del 30% al 60% desde el año 1950 hasta la fecha (INEC, 2013), lo que es un indicador claro de la necesidad de viviendas y comercios, principalmente en la Gran Área Metropolitana (GAM). La figura 1 muestra los diferentes tipos de construcción realizados en 2014, excluyendo actividades de infraestructura. En la variable “otros” se incluyen obras complementarias, turísticas, deportivas, sanitarias, salud, agroindustriales y religiosas (CFIA, 2014).

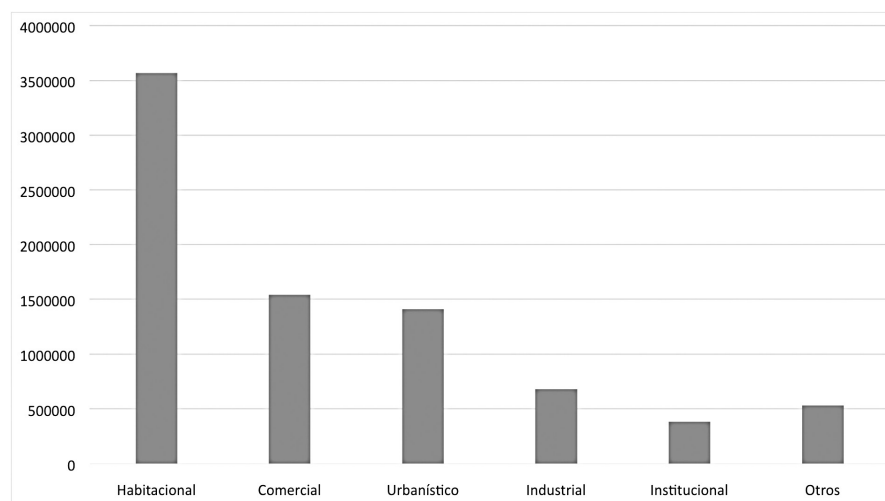


Figura 1. Tipo de construcciones (m²) en Costa Rica en 2014 (CFIA, 2014).

La revisión de la literatura mostró que existen pocos estudios relacionados con la composición de los residuos de la construcción, el índice de generación y las causas de ello. Ramírez (1995) y Villalobos (1995) reportan indicadores de generación de residuos de 300-700 kg/m² y 11-25 kg/m², respectivamente. Un estudio realizado por Leandro (2008) muestra que los proyectos investigados generaron un promedio de aproximadamente 115 kg/m².

Este artículo presenta los resultados de un estudio cuyo objetivo fue determinar la cantidad y composición de los residuos de la construcción. Además, se incluyen las causas de la producción de residuos investigando los procesos de diseño y construcción. El análisis se limita a empresas registradas en la base de datos del Colegio Federado de Ingenieros y Arquitectos (CFIA).

Metodología de la investigación

Análisis de la literatura

La revisión de la literatura proporcionó las variables a ser analizadas. Varios autores han escrito acerca de la composición de los residuos y las causas de su generación (Bossink & Brouwers, 1996; van Egmond, 1999; Bolaños, 2012).

Recolección y tratamiento de datos

Los datos se recolectaron mediante encuestas al personal de empresas constructoras, entrevistas estructuradas, visitas a sitios de construcción y una discusión con un panel de expertos, quienes validan la información recopilada.

La encuesta se construyó sobre la base de la información recopilada durante el estudio de la literatura. Contiene 12 preguntas que cubren diversos temas: la cantidad de residuos, la composición y las fuentes de su generación (Kuijsters, 2004). Incluye además una combinación de escalas de calificación, preguntas de opción múltiple y preguntas abiertas. Se pidió que las respuestas se basaran en proyectos actuales o recientemente terminados. Se utiliza la medida de 5 puntos en la escala tipo Likert con valores: nunca, ninguno (1) siempre, todos (5) (Matell & Jacoby, 1971); valores de mediciones reales, escala binaria (sí/no) (Ekere et al., 2009) e información general sobre la empresa y la persona que responde.

Antes de la recolección de datos, se evaluó el instrumento de la encuesta con siete ingenieros experimentados en ingeniería en construcción del Centro de Investigación en Vivienda y Construcción del Tecnológico de Costa Rica. El objetivo fue determinar la claridad y validez del instrumento (De Vellis, 1991). Estos investigadores también aportaron variables para su estudio en el contexto costarricense (Dillman, 1978). La encuesta se envió por medios electrónicos, ya que este método presenta ventajas tales como el menor costo de envío o el pago a las y los entrevistadores, entrega la herramienta en cuestión de segundos y la investigación muestra que los encuestados pueden responder más honestamente que con las encuestas en papel o entrevistas. Las desventajas son que la población y la muestra se limitan a aquellos que tienen acceso a la computadora y a la red en línea y los encuestados que completan el cuestionario requieren más instrucción y orientación (CSU, 2012).

La información recibida se almacenó en una base de datos SQL Server 2005. Se hicieron esfuerzos para asegurar altas respuestas de los encuestados. Estas incluían una carta de presentación personalizada, una declaración de estricta confidencialidad de la información suministrada, una llamada telefónica a todos los que no respondieron después de una semana del envío por correo electrónico inicial. Asimismo, se analizaron las razones de la no respuesta. Los datos recogidos se estudiaron mediante el paquete estadístico para Ciencias Sociales (SPSS), versión 14.0 para Windows. Por último, se utilizaron técnicas descriptivas para analizar la información recopilada.

Las entrevistas se realizaron con personas clave de diferentes organizaciones relacionadas con el sector de la construcción. El objetivo fue enriquecer los datos de la encuesta para garantizar la posterior elaboración e interpretación de los resultados obtenidos. Se entrevistaron 31 personas, correspondientes a 20 trabajadores en sitio de obra, tres investigadores de instituciones educativas, tres empresas constructoras, dos miembros de la CCC y el CFIA, una agencia gubernamental, un contratista y una organización ecologista.

Se hicieron cinco visitas de campo después de recibir las respuestas de la encuesta y las entrevistas. El objetivo fue hacer preguntas semiestructuradas para obtener información general y específica sobre las prácticas de gestión de residuos en el lugar.

El panel de expertos se realizó con el objetivo de explorar el significado de los resultados de las encuestas, entrevistas y visitas de campo y permitió analizar los puntos de vista de los participantes sobre los temas presentados y obtener una visión más amplia de sus opiniones (Abarca-Guerrero, 2008; ODI, 2009).

Resultados y discusión

Empresas participantes

La encuesta fue respondida por un total de 30 empresas, pero se descartó una porque poseía información incompleta. La tasa de respuesta efectiva es del 7% (29/419). Las respuestas provienen de empresas pequeñas, medianas y grandes, de acuerdo con nuestra definición (cuadro 2).

Cuadro 2. Tamaño de las empresas que responden (van Twillert, 2007; Abarca-Guerrero et al., 2008a)

Número de empleados	Tamaño	Número de empresas
<10	Micro	0
11-25	Pequeña	11
25-100	Mediana	9
>100	Grande	9
Total		29

Las empresas que respondieron no representan todo el espectro de las firmas de construcción existentes en Costa Rica. El sector se compone principalmente de micro, pequeñas y medianas empresas (Mipymes). Las microempresas, con 10 o menos empleados, constituyen el 30% del número total de empresas (Bolaños, 2010) que no participaron en la encuesta, ya que trabajan principalmente en el mercado informal y no están registradas en la base de datos del CFIA.

Es importante analizar el nivel educativo de los obreros de la construcción, ya que los programas de capacitación y educación podrían potencialmente mejorar los procesos productivos a través de buenas prácticas en el manejo de materiales y residuos (Osmani et al., 2008). El estudio determinó el nivel general de educación de los supervisores (capataces de las obras) en las empresas que respondieron. Los resultados del cuadro 3 muestran que casi dos tercios de los supervisores tienen educación primaria o secundaria hasta el tercer año (nueve años de educación). La última columna presenta el número de empresas con un cierto nivel de educación con su más alto grado.

Cuadro 3. Nivel educativo máximo de los empleados de las empresas que respondieron (van Twillert, 2007; Abarca-Guerrero et al., 2008a).

Nivel educativo	No. de supervisores	% de supervisores	Máximo
Primaria	110	45	3
Tercer año de secundaria	49	20	3
Secundaria completa	39	16	6
Secundaria vocacional completa	20	8	1
Preuniversitaria completa	14	6	4
Universitaria completa	11	4	6
Sin educación	0	0	0
Adicional (capacitación especial)	2	1	1
Total	246	100	24

El análisis de los datos muestra que el sector es muy intensivo en el uso de mano de obra, con niveles divididos entre un grupo pequeño de trabajadores con niveles de educación superior, compuesto principalmente por ingenieros y gerentes con posiciones permanentes, y un grupo más grande de trabajadores con baja educación, quienes en su mayoría son contratados temporalmente y con salarios mínimos.

Residuos de la construcción

Los materiales más importantes que se utilizan para la construcción de los cimientos, la estructura y el techo en Costa Rica reportados en la literatura son madera, metales como el acero, el hierro y el zinc, arena, cemento y piedra para hormigón (van Egmond, 1999; Bolaños, 2012). Su uso y origen se presentan en el cuadro 4.

Cuadro 4. Materiales más importantes utilizados en el sector de la construcción en Costa Rica (van Twillert, 2007; Abarca-Guerrero et al., 2008a).

Material	Uso	Origen
Arena	Materia prima	Costa Rica
Cemento	Materia prima	Costa Rica
Piedra (1, 1,9, 2,5 y 3,7 cm)	Materia prima	Costa Rica
Concreto	Piso y paredes	Manufacturado en Costa Rica
Block	Paredes	Manufacturado en Costa Rica
Madera (aserrada)	Marcos, puertas estructuras en madera	Costa Rica
Acero/hierro	Acero estructural	Importado (principalmente de EE.UU.)
Láminas corrugadas	Techo	Importado (principalmente de EE.UU.)

Los residuos que las empresas reportan como mayoritarios se resumen en la figura 2. Estos consisten, en primer lugar, de madera (limpia y mezclada con cemento), la cual se utiliza como formaleta, vigas, pisos, marcos de ventanas, puertas, techos y otras aplicaciones de acabado. A menudo estas aplicaciones se producen en el lugar. El metal es la segunda categoría de material reportado; este residuo proviene de los materiales de tuberías (suministro de agua), piezas de láminas onduladas de techo de hierro recubierto con zinc y piezas de acero reforzado. Se desconoce el tamaño de los flujos ya que las empresas, en la mayoría de los casos, no mantienen un registro de la cantidad de residuos. Estos hallazgos están de acuerdo con los reportados por Leandro (2008) e Hidalgo (2007).

El estudio buscó obtener información cuantitativa sobre la cantidad de residuos que se producen en la actividad. Los datos se solicitaron en términos del tamaño de los proyectos, el peso de los residuos, el número y volumen de los camiones que los transportan o algún otro indicador utilizado por las compañías. Desafortunadamente, las empresas no pudieron entregar valores confiables, ya que, en general, no disponen de esa información, puesto que no es obligatorio llevar tales controles (cuadro 5).

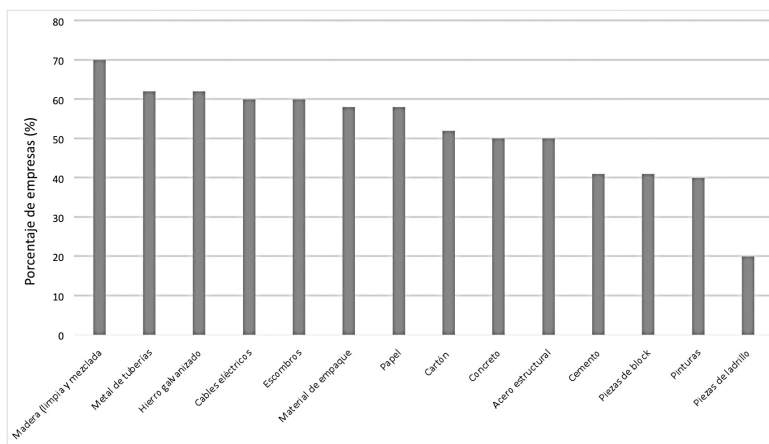


Figura 2. Residuos de la construcción reportados por las firmas participantes (van Twillert, 2007; Abarca-Guerrero et al., 2008a).

Cuadro 5. Residuos generados por proyecto (van Twillert, 2007; Abarca-Guerrero et al., 2008a)

Proyecto	Área (m ²)	Residuos (m ³)	Número de camiones	kg	kg/m ²
1	100	24	4	43 200	168
2	195	36	3	64 800	129
3	1504	15	3	27 000	7
4	83	6	1	10 800	50
5	1000	100	8	180 000	70

Nota: el valor de densidad promedio utilizado para los escombros utilizado es de 700 kg/m³. Este valor se tomó de los valores de los sitios de construcción en los Países Bajos (Kenniscentrum InfoMil, 2007).

Las respuestas muestran que la mayoría de las empresas (83%) que participaron en la encuesta no guardan un registro de la cantidad total de residuos que generan y en el 22% de los casos no conocen su destino final. Cuatro de las cinco visitas in situ ilustran este hecho. Las obras de construcción visitadas y las entrevistas con los supervisores claramente confirmaron estos hallazgos. Esta falta de conocimiento sobre la cantidad de residuos es una causa de la generación, ya que las empresas no son conscientes de la situación y no toman medidas para mejorar sus prácticas, aumentar su productividad y disminuir los impactos ambientales negativos.

Durante el panel de expertos se indicó que la capacitación de estos trabajadores se lleva a cabo en el lugar de trabajo de manera informal. Es común contratar inmigrantes no calificados de los países vecinos, que en muchos casos tienen un estatus ilegal. Se puede esperar que la mayoría de los trabajadores con talento sin un título se promuevan desde las bases y poco a poco se desplacen hacia tareas más administrativas.

El desarrollo de un plan de gestión de residuos (WMP, por sus siglas en inglés) por parte de las empresas pone el tema en el mapa, por lo que es el primer paso para identificar si existe un problema potencial en este aspecto (Poon et al., 2004). Este tema se investigó y los resultados se presentan en el cuadro 6. Pocas empresas (13%) cuentan con un plan de gestión o con

un empleado encargado de garantizar un manejo eficiente de los residuos y responsable al comienzo de los proyectos. El 13% de las empresas informó que tienen ambos (plan y empleado) pero el 74% de las firmas encuestadas no tiene un plan ni empleado responsable. Esta situación refleja el hecho de que en las empresas de construcción en Costa Rica aún no se han institucionalizado prácticas más amigables con el ambiente.

Cuadro 6. Uso de un plan o encargado de residuos (van Twillert, 2007; Abarca-Guerrero et al., 2008a).

	Número de empresas	Porcentaje de empresas
Plan solamente	1	3
Empleado solamente	3	10
Ambos	4	13
Ninguno	22	74
Total	30	100%

Fase de diseño y construcción

El estudio sobre las causas de la generación de residuos contempló dos fases diferentes de un proyecto constructivo: diseño y construcción. El conocimiento de las causas es esencial y se utilizó la información proporcionada por Bossink y Brouwers (1994) y datos adicionales proporcionados por los encuestados.

El cuadro 6 muestra las variables que influyen en la generación de residuos, tanto reportadas en la literatura como encontradas durante la recolección de datos en esta investigación.

Conclusiones y recomendaciones

Este artículo reporta los resultados de un estudio cuyo objetivo fue determinar la composición y cantidad de los residuos de la construcción. Además, incluye las causas de la producción de residuos investigando dos fases del proceso constructivo: diseño y construcción. El análisis se limita a empresas registradas en la base de datos del CFIA.

El análisis de la composición y la cantidad de residuos generados en la actividad de la construcción revela lo siguiente:

- Las categorías más importantes de residuos generados son: madera limpia y mezclada, metal proveniente de tuberías, pedazos de hierro galvanizado para techos, cables eléctricos, escombros, materiales de empaque, papel, cartón, concreto, acero estructural, cemento, piezas de block, restos de pinturas y piezas de ladrillo.
- La cantidad de residuos reportados por las empresas participantes de la encuesta muestra grandes discrepancias. Esta situación demuestra la falta de información que manejan las empresas, lo que da como resultado un desconocimiento del nivel del problema.
- Las causas reportadas de la generación de los residuos han sido agrupadas según lo siguiente: diseño, gestión de los procesos, gestión de los materiales, operación y otros. No todas ellas tienen el mismo peso, algunas se presentan más con más frecuencia, mientras que otras ocurren raramente.

Se recomienda lo siguiente:

- Este estudio únicamente reporta los residuos ordinarios producidos durante la construcción de alguna edificación; asimismo, se recomienda analizar los residuos peligrosos.
- Realizar un proyecto piloto para analizar la composición de los residuos, y su cuantificación.

- Priorizar las causas de la generación de residuos, estableciendo los más importantes de acuerdo con el agrupamiento realizado en este estudio.
- Este estudio tuvo la participación de un grupo pequeño de empresas constructoras. Se recomienda ampliar su número en un futuro estudio sobre la priorización de las causas de generación de residuos.
- El sector de la construcción tiene un alto potencial de realizar mejoras en sus procesos para lograr el objetivo de la sostenibilidad. Por lo anterior, es importante continuar con los estudios para lograr un mejoramiento en la productividad del sector desde la perspectiva de gestión de materiales y del recurso humano.

Cuadro 6. Variables que causan la generación de residuos en la construcción (van Twillert, 2007; Abarca-Guerrero, 2007; Abarca-Guerrero et al., 2008a,b; 2009).

Variables	Valor promedio	Fase del proceso
Productos en el mercado cuyas unidades no son estándares (pulgadas, centímetros, varas)	2.30	Diseño
Daños provocados por un proveedor de otros servicios	1.93	Operación
Falta de conocimiento de los diseñadores de productos opcionales existentes en el mercado	1.77	Diseño
Falta de conciencia ambiental de la mano de obra	1.73	Gestión de materiales
Modificaciones al diseño original durante el proceso constructivo	1.72	Diseño
Falta de información en los planos	1.52	Diseño
Uso de materiales incorrectos que deben ser reemplazados	1.37	Gestión del proceso
Errores de proveedores o de operarios	1.29	Operación
Mal clima	1.23	Otros
Cantidad de material requerida poco clara debido a falta de planeamiento	1.17	Operación
Errores de compra (mucho, poco)	1.17	Gestión del proceso
Contrato incompleto al inicio del proyecto	1.10	Diseño
Selección de productos de baja calidad	1.10	Diseño
Retrasos en información al contratista de las especificaciones técnicas de los materiales a utilizar	1.10	Operación
Los materiales llegan muy mal empacados	1.10	Gestión de materiales
Daños durante el transporte	1.07	Gestión de materiales
Almacenamiento inapropiado	1.07	Gestión de materiales
Mal funcionamiento del equipo	1.00	Operación
Incapacidad de comprar pequeñas cantidades	1.00	Gestión del proceso
Errores en el contrato	0.77	Diseño
Accidentes en el sitio por negligencia	0.72	Operación

Nota: El valor promedio se calcula sumando los valores de la multiplicación de la frecuencia de respuestas de la variable correspondiente y el valor de cada opción.

Agradecimientos

Las autoras agradecen al estudiante Hijman van Twillert por su apoyo en la recolección de la información, así como a los directores del grupo de investigación PEBE de la Universidad Tecnológica de Eindhoven, Países Bajos.

Referencias

- Abarca-Guerrero, L. (2007). Assessment of construction waste management practice: a case study in Costa Rica. En *Proceedings of Kalmar ECO-TECH'07: International Conference on Technologies for Waste and Wastewater Treatment, Energy from Waste, Remediation of Contaminated Sites and Emissions Related to Climate*. Kalmar, Suecia: University of Kalmar, 26-28 noviembre, 2007.
- Abarca-Guerrero, L. (2008). *Construcción sostenible en Costa Rica: Hacia un modelo de gestión de materiales de la construcción para la reducción de residuos*. Presentación oral Congreso de Ingeniería Civil, Costa Rica.
- Abarca-Guerrero, L., Scheublin, F.M., van Egmond-de Wilde de Ligny, E.L.C. & Lambert A.J.D. (2008a). *Sustainable Construction: Towards a strategic approach to construction material management for waste reduction*. 10th PhD symposium of the Research School Integral Design Structures. Delft: Technische Universiteit. Obtenido de www.osbouw.nl/phd_projects_2008/Abarca_2008.pdf.
- Abarca-Guerrero, L., Scheublin F.M. & van Egmond-de Wilde de Ligny E.L.C. (2008b). Sustainable construction in Costa Rica: Towards a strategic approach to construction material management for waste reduction. En *Proceedings BuHu 8th International Postgraduate Research Conference* (pp. 452-462). Prague, Czech Republic. ISSN: 1759-0574. ISSN: 1759-0574.
- Abarca-Guerrero, L., Scheublin, F.M., van Egmond-de Wilde de Ligny E.L.C. & Lambert, A.J.D. (2009). Metabolism of materials by the construction sector in developing countries: Costa Rica as case study. En *Proceedings of Third CIB International Conference on Smart and Sustainable Built Environments*. SASBE 2009. Delft, The Netherlands.
- Apotheker, S. (1990). Construction and demolition debris-The invisible waste stream. *Resource Recycling*, 9(12), 66-74.
- Bolaños, F. (2010). *Discusión sobre el tamaño de las empresas constructoras*. Colegio Federado de Ingenieros y Arquitectos (CFIA). Comunicación personal.
- Bolaños, F. (2012). *Discusión sobre los materiales utilizados en el sector de la construcción y las causas que afectan la generación de residuos*. Colegio Federado de Ingenieros y Arquitectos (CFIA). Comunicación personal.
- Bossink, B.A.G & Brouwers, H.J.H. (1996). Construction waste: quantification and source evaluation. *J. of Construction Engineering and Management*, 122(1), 55-60.
- Brooks, K.A., Adams, C. & Demsetz, L.A. (1994). Germany's construction and demolition debris recycling infrastructure: What lessons does it have for the US? En *First Conference of CIB TG 16* (pp. 647-656). Gainesville, Fla.
- CCC (Cámara Costarricense de la Construcción). (2014). *Comunicación personal*.
- CFIA (Colegio Federado de Ingenieros y Arquitectos). (2014). *Estadísticas*. Obtenido de http://www.cfia.or.cr/descargas_2015/estadisticas/estadisticas%202013-2014.pdf.
- Craven, E.J., Okraglik, H.M. & Eilenberg, I.M. (1994). Construction waste and a new design methodology. En *First Conference of CIB TG 16* (pp. 89-98). Gainesville Fla.
- CSU (Colorado State University). (2012). *Electronic Survey*. Obtenido de <http://writing.colostate.edu/guides/page.cfm?pageid=1406>.
- De Vellis, R.F. (1991). *Scale Development: Theory and Applications*. Newbury Park, CA: Sage Publications.
- Dillman, D.A. (1978). *Mail and telephone surveys: the total design method*. New York: Wiley.
- Ekere, W., Mugisha, J. & Drake, L. (2009). Factors influencing waste separation and utilization among households in the Lake Victoria crescent, Uganda. *Journal of Waste Management*, 29(12), 3047-3051.
- Heino, E. (1994). Recycling of construction waste sustainable construction. En *First Conference of CIB TG 16* (pp. 565-572). Gainesville Fla.
- Hong Kong EPD (Hong Kong Environmental Protection Department). (2000). *Statistics Data*. Hong Kong SAR. Obtenido de <http://www.epd.gov.hk/epd>.
- INEC (Instituto Nacional de Estadística y Censos) (2013). *Estadísticas*. Obtenido de <http://www.inec.go.cr/Web/Home/pagPrincipal.aspx#>.



- Kartam, N., Al-Mutairi, N., Al-Ghusain, I. & Al-Humoud, J. (2004). Environmental management of construction and demolition waste in Kuwait. *Journal Waste Management*, 24(10), 1049-1059.
- Kennedy, C., Cuddihy, J. & Engel-Yan, J. (2007). The changing metabolism of cities. *Journal of Industrial Ecology*, 11(2), 43-59.
- Kenniscentrum InfoMil, (2007). Estadísticas. Obtenido de <http://www.wwww.infomil.nl>
- Kuijsters, A. (2004). *Environmental response of the Chilean building sector*. MSc. Tesis, Eindhoven University of Technology, Países Bajos.
- Lawson, N. & Douglas, I. (2001). Recycling construction and demolition waste – A UK perspective. *Environmental Management Health*, 12(2), 146-157.
- Leandro, A.G. (2008). Manejo de desechos de residuos de la construcción. *Tecnología en Marcha*, 21(4), 60-63.
- Macozoma D. (2002). *International Report on Construction Site Waste Management and Minimisation*. International Council for Research and Innovation in Building and Construction.
- Matell, M.S. & Jacoby, J. (1971). Is there an optimal number of alternatives for Likert scale items? I. Reliability and validity. *Educational and Psychological Measurement*, 31(3), 657-674.
- Mincks, W.R. (1994). The construction contractor's waste management plan: optimizing control and cost. Sustainable construction. En *First Conference of CIB TG 16* (pp. 765-774). Gainesville Fla.
- Ngowi, A. (2002). Challenges facing construction industries in developing countries. *Building Research & Information*, 30(3), 149-151.
- ODI (Overseas Development Institute) (2009). *Research tools: Focus group discussions*. Obtenido de <http://www.odi.org.uk/publications/5695-focus-group-discussion>.
- Peng, C.-L., Grosskopf, K.R. & Kibert, C.J. (1994). Construction waste management and recycling strategies in the United States. Sustainable Construction. En *First Conference of CIB TG 16* (pp. 689-696). Gainesville Fla.
- Poon, C.S., Yu, A.T.W., Wong, Z.W. Cheung, E. (2004). Management of construction waste in public housing projects in Hong Kong. *Construction Management and Economics*, 22(7), 675-679.
- Ramírez, M. (1995). *Impacto físico y financiero de la generación de desechos sólidos en la construcción de dos proyectos hoteleros*. Tesis Lic., Universidad de Costa Rica.
- Rogoff, M.J. & Williams, J.F. (1994). *Approaches to implementing solid waste recycling facilities*. Park Ridge, N.J.: Noyes Publication.
- Taiwan EPA (Taiwan Environmental Protection Agency). (1999). *Annual Report on disposal of solid and liquid wastes*. Taiwán.
- UNEP (United Nations Environment Program). (2003). *Sustainable building and construction: facts and figures*. September, pp. 5-8.
- van Egmond-de Wilde de Ligny, E. (1999). *Technology mapping for technology management*. PhD Dissertation, Delft University of Technology, Netherlands.
- van Twillert, H. (2007). *Costa Rican Construction Sector Waste Management Assessment*. M. Sc. Eindhoven University of Technology.
- Villalobos A.J. (1995). *Estudio de Generación de Desechos en la Construcción de Viviendas de Mampostería*. Tesis Lic., Universidad de Costa Rica.

Evaluación de tecnologías de sensores para la detección temprana de incendios forestales

Current situation of construction materials management in Costa Rica

Néstor Hernández-Hostaller¹

Fecha de recepción: 23 de noviembre de 2015
Fecha de aprobación: 21 de marzo de 2016

Hernández-Hostaller, N. Evaluación de tecnologías de sensores para la detección temprana de incendios forestales. *Tecnología en Marcha*. Vol. 29-4. Octubre-Diciembre 2016. Pág 123-138.

DOI: 10.18845/tm.v29i4.3043



¹ Doctorado en Ciencias Naturales para el Desarrollo (DOCINADE) con énfasis en Tecnologías Electrónicas Aplicadas. Escuela de Ingeniería electrónica. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica. Correo electrónico: nhernandez@itcr.ac.cr

Palabras clave

Detección temprana; variables física y química; ionización; efecto fotoacústico; Absorción IR.

Resumen

Los incendios forestales son fuegos sin control que se extienden libremente en el bosque. Las labores para el manejo y control del fuego forestal incluyen la detección como un primer paso. La importancia de lograr la detección temprana de incendios forestales (DTIF) radica en que se facilita eliminarlos a un bajo costo, antes de que se quemen grandes extensiones de bosque. La DTIF está concebida para dar la alarma cuando se ha iniciado el fuego, y es por esta razón que se deben utilizar sensores para las variables indicadoras de la existencia del fuego: la variable química (emisiones de humo, CO, CO₂, CH₄) y la variable física (radiación infrarroja y el calor).

Las características de los sensores utilizados son determinantes para descubrir el inicio del fuego en tiempo real, así como para mejorar la escalabilidad, disminuir el costo de la red de sensores, y lograr la DTIF en forma práctica.

Los sensores para las emisiones infrarroja y térmica (variable física) tienen una alta sensibilidad que facilitan la detección desde gran distancia, pero al utilizarlos en tierra la desventaja es que el follaje y obstáculos del terreno atenúan y dispersan la emisión infrarroja y se requiere el emplazamiento de torres para mejorar la línea de vista.

Los sensores de las emisiones químicas tienen ventajas para la detección terrestre del inicio del fuego (las emanaciones del fuego en el bosque se difunden por el aire y pueden llegar a los rincones del bosque), no necesitan línea de vista y tampoco estar ubicados a gran altura, además el mercado ofrece soluciones para la detección del fuego que podrían adaptarse para utilizarlas dentro del bosque (por ejemplo sensores con alta sensibilidad y de costo variable, sistemas para la detección óptica del humo y sistemas multicriterio que disminuyen las falsas alarmas). Sus desventajas son que algunos sensores consumen energía de calentamiento (para elevar la temperatura y poder detectar el gas CO o CO₂) y que se pueden dañar al sobrepasar los valores límites (de concentración de gas o humedad relativa). Además, la concentración de humo y gas cerca del punto de detección se reduce debido a la dispersión en el bosque y esto afecta el rendimiento de los sensores que requieren de una cantidad mínima de ppm o de porcentaje de oscurecimiento)

Las emisiones o variables químicas (CO, humo y CO₂) son detectadas principalmente mediante dos estrategias:

- La respuesta de estas variables a fenómenos físicos (absorción de IR, dispersión IR, ionización, efectos fotoacústicos)
- La interacción de estas variables con el material del sensor utilizado (absorción, reacción química o una combinación de ambas).

Keywords

Early detection; physical and chemical variables; ionization; photoacoustic effect; IR absorption.

Abstract

Wildfires are uncontrolled fires spreading freely in the forest. The work for the management and control of forest fire include detection as a first step. The importance of achieving early detection of forest fires (FFED) yields in the cost reduction. The FFED is designed to give the alarm when the fire starts, using sensors for variables indicating the existence of fire, for instance, smoke (chemical variables emissions, CO, CO₂, CH₄) and physical variables (infrared radiation and hot).

The characteristics of the sensors used are crucial to discover the onset of fire in real time, to improve scalability, reduce the cost of the sensor network, achieving early fire detection. Sensors for infrared and thermal emissions (physical variable) are highly sensitive to facilitate detection from distance, but when used on land the disadvantage is that the foliage and terrain obstacles attenuate and scatter the infrared emission and requires towers to improve visibility.

Sensors for chemical emissions have advantages for terrestrial onset of fire detection (emissions from forest fire spread through the air and can reach the corners of the forest), they do not need line of sight nor to be placed as large height. The market also offers solutions for fire detection that could be adapted for use within the forest (eg sensors with high sensitivity and variable cost), optical detection systems for smoke and multi systems that reduce false alarms. The disadvantages; of those sensors is that they require heating energy (to raise the temperature and to detect CO or CO₂ gas) and can be damaged by exceeding the limit values (gas concentration or relative humidity). Moreover, the concentration of smoke and gas near the point of detection is diminished due to the dispersion in the forest (this affects the performance of the sensors that require minimal ppm or% obscuration)

Emissions or chemical variables (CO, smoke and CO₂) are detected primarily through two strategies:

- The response of these variables to physical phenomena (IR absorption, scattering IR, ionization, photoacoustic effects)
- The interaction of these variables with the sensor material used (absorption, chemical reaction or a combination of both).

Introducción

A diferencia de las quemas prescritas, los incendios forestales son fuegos sin control que se extienden libremente en el bosque [1] y constituyen un flagelo ambiental porque destruyen flora, fauna y ambiente y su efectos varían según sean las condiciones ambientales, el tipo de flora que se quema y la velocidad del viento, pero siempre dejan grandes áreas quemadas. Por ejemplo, el área quemada (en el mundo) entre 2000 y 2009 debido a estos incendios fue de alrededor de diez millones de hectáreas, y han sucedido aún en regiones consideradas de solvencia económica y tecnológica (Australia, Arizona, California, Corea del Sur, Canadá, Europa) las cuales, aunque gozan de estas ventajas, no han podido solucionar estos problemas, a pesar de que se utilizan estrategias y tecnologías actualizadas para combatirlos [2]–[4].

El cuadro 1 presenta datos de promedios de área afectada en estas regiones cuyo efecto inmediato contribuye a la desaparición del bosque [5] con las consiguientes consecuencias ambientales. En Costa Rica, entre 1998 y 2006, los incendios forestales afectaron 35428ha y en 2007 al menos 6203ha según información de la Comisión Nacional sobre Incendios Forestales (CONIFOR) del Ministerio de Ambiente, Energía y Telecomunicaciones (MINAET) [6].

Cuadro 1. Reporte de incendios y área afectada en diferentes regiones y países.

Región o país y período	Cantidad de incendios (y algunos costos reportados)	Área afectada (ha)
Australia (Febrero 2009) [7]	Suma de 13 diferentes regiones	370,611
Arizona (promedio anual 2000-2009) [8]	70,862	6,422,780
California (promedio anual 2005-2009) [9]	7,311	255,260
Corea del Sur (Promedio anual 98-05) [2]	402 (\$9.197 mill./año)	3.666
Canadá 2003-2006 [10]	8433 (\$532.4 mill.)	651,240
Portugal*	25000	157,066
España*	19000	125,687
Francia*	5000	22,935
Italia*	8000	85,047
Grecia*	2000	50,782

*Promedio anual 2000-2008 [11], [12]

Las labores para el manejo y control del fuego forestal comprenden la detección como un primer paso [13], y las actividades de vigilancia y alerta permanente para detectarlos forman parte de las labores de protección ambiental. Actualmente se utilizan diferentes métodos para la detección del fuego forestal que los cuales se enriquecen con los avances tecnológicos, en particular de la electrónica, la computación y las comunicaciones inalámbricas.

El presente documento tiene como objetivo identificar y analizar los requerimientos principales que deben tener los sensores utilizados para lograr la detección temprana de incendios forestales mediante redes inalámbricas de sensores *RfidS*, con especial atención en su aplicación en países en vías de desarrollo. El artículo está organizado de la siguiente forma:

En la sección 1 se describe la importancia de la detección temprana de incendios forestales (*DTIF*) y la necesidad de utilizar los sensores que faciliten esta operación en las labores de manejo y control del fuego forestal. En la sección 2 se presenta un análisis de la influencia de las variables físicas y químicas y de los sensores utilizados para lograr la *DTIF* en tiempo real, la escalabilidad de la red y el costo de la misma. En la sección 3 se analizan los requerimientos de los sensores para facilitar la *DTIF* en tiempo real, escalable, a bajo costo y en forma práctica. En la sección 4 se hace una evaluación de la tecnología de sensores para *DTIF* señalando ventajas y desventajas tanto de los sensores de variable química como los de variable física. En la sección 5 se presentan los métodos utilizados para la detección de fuego mediante las emisiones o variables químicas (CO , humo y CO_2), las cuales son detectadas mediante dos estrategias: la respuesta de estas variables a fenómenos físicos (absorción de IR, dispersión IR, ionización, efectos fotoacústicos), y la interacción (absorción, reacción química o una combinación de ambas) de estas variables con el material del sensor utilizado. En la sección 6 se dan las conclusiones de los temas analizados. Posteriormente se analizan las ventajas y desventajas al utilizar tanto los sensores de variable física como los de variable química. Por último, se plantea la decisión de utilizar uno u otro tipo de sensor para realizar la *DTIF*.

Importancia de la detección temprana de incendios forestales.

La importancia de una la detección temprana de los incendios forestales radica en que se evita la quema de grandes extensiones de bosque, que desaparecen o requieren mucho tiempo para recuperarse.

La detección del fuego en el bosque es el primer paso en las labores de manejo y control de incendios forestales [14] y para ello se utilizan medios terrestres, aéreos y satelitales. Sin embargo, la detección temprana por cualquiera de los métodos mencionados es un objetivo primordial, y se debe lograr al inicio del fuego, antes de que éste adquiera dimensiones perjudiciales al extenderse a causa del follaje, la acción del viento, tras lo cual será difícil de sofocar. Si la detección del incendio forestal se hace en forma tardía, se requerirán mayores recursos tanto materiales como humanos, de acuerdo a la gravedad de la situación y de la categoría o nivel con que se clasifique el incendio, lo cual encarece la actividad de protección del bosque. Es importante, por lo tanto, investigar y proponer métodos nuevos o mejorados para facilitar y abaratar la detección temprana de incendios forestales.

Relevancia de la tecnología de sensores para la DTIF.

Los sensores para la detección de fuego en el bosque son utilizados para facilitar el estado de alerta cuando se presentan condiciones ambientales críticas ($HR < 30\%$, $T > 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, $V_{\text{viento}} > 30\text{ kph}$) las cuales favorecen la aparición y la dispersión acelerada de fuego en el bosque convirtiéndolo en un incendio forestal, como se comenta en [15]–[17]. Sabiendo que cualquier incendio forestal se inicia como un fuego de pequeña proporción, estos sensores facilitan la *DTIF* con un bajo costo, en tiempo real y escalable.

Sensores y variables para facilitar la DTIF.

Los sensores utilizados en la detección de fuego en el bosque corresponden a diferentes variables, unas relacionadas directamente con la existencia y dispersión del fuego y otras vinculadas a las condiciones ambientales críticas para su posible aparición.

Las variables indicadoras de la existencia del fuego son de naturaleza química, como las emisiones de humo y gases como el CO , CO_2 , HC_4 [18]–[20], y de naturaleza física como la radiación infrarroja y el calor [21]–[24].

Las variables relacionadas con la posible aparición del fuego son de naturaleza meteorológica (como velocidad del viento, humedad relativa, presión atmosférica, temperatura ambiente), ambiental (como el follaje combustible y su distribución), topográfica (como la inclinación o pendiente del bosque) tal y como se muestra en la figura 1. Mediante estas variables se puede estimar la probabilidad de la aparición de fuego en el bosque [25]–[28]

La *DTIF* está concebida para dar la alarma cuando se ha iniciado el fuego, y es por esta razón que se deben utilizar sensores para las variables indicadoras de la existencia del fuego, esto es, sensores para la variable química (emisiones de humo, CO , CO_2 , CH_4) y para la variable física (radiación infrarroja y el calor).

Las características de los sensores utilizados son determinantes para descubrir el fuego en su inicio en tiempo real, para mejorar la escalabilidad, disminuir el costo de la red de sensores, y lograr la detección en forma práctica.

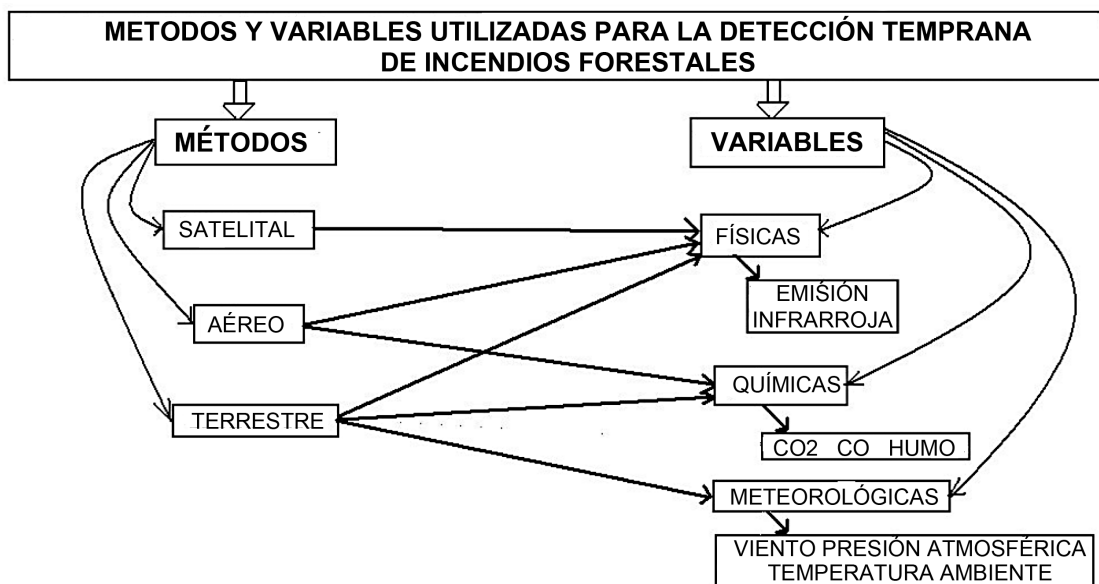


Figura 1. Métodos y variables utilizadas para la monitorización del fuego en el bosque.

Requerimientos de los sensores para facilitar la DTIF en tiempo real, escalable, a bajo costo y en forma práctica.

Desde la perspectiva del sensor se puede asegurar que:

El concepto de tiempo real se puede hacer mas efectivo con la siguiente estrategia:

- Utilizando sensores con un umbral absoluto bajo que permita descubrir el fuego al inicio cuando tiene poca intensidad, según sean las condiciones de detección en ambientes naturales que mencionan Calle y Casanova [24] y Arrúe et al [29], [30].
- Logrando acercarse al sensor al lugar donde comenzó el fuego, pues la probabilidad de descubrirlo en su inicio es mayor si la distancia a éste es menor como indican Rego y Catry para la vigilancia desde torres de observación [31]. La cercanía al punto de inicio del fuego se puede lograr desplegando una alta densidad de sensores como lo reportan Yu et al [32], y además se puede disminuir la influencia de las fuentes de falsas alarmas que mencionan Ollero et al [29], [30] y Schroeder [33].
- Disminuyendo el tiempo que requiere el sensor en hacer el descubrimiento verdadero del fuego, el tiempo de transmisión de los datos del sensor y del procesamiento en el centro de análisis respectivo [29], [32], [34]–[36].

La escalabilidad se puede hacer mas efectiva con la siguiente estrategia:

- Al utilizar sensores que permitan la detección individual a la mayor distancia del punto de inicio del fuego [37] dentro del escenario real que presenta el bosque y poder cubrir con cada sensor la mayor área de bosque.
- Diseñar el despliegue del conjunto de sensores que asegure más área de cobertura por el conjunto [27], [28], [38] dentro del escenario real que presenta el bosque, asegurándose de no perder la efectividad de la cobertura que consiste en que cada punto del área esté dentro del radio de detección del sensor como lo mencionan Jin et al [39].

El menor costo se hace más efectivo con la siguiente estrategia:

- Al disminuir la relación costo-diseño electrónico de cada sensor [28], [38]–[41]. Algunas detalles y análisis de diseño lo ofrecen Szewczyk et al [42].
- Al reducir la relación costo-captura y procesamiento de los datos del sensor [43].
- Al disminuir la relación costo-captura y transmisión de datos del sensor [28], [38].
- Al disminuir la relación costo-umbral del sensor [44].
- Al disminuir la relación costo-distancia de detección/área cubierta del sensor [28], [38].
- Al disminuir la relación costo-despliegue de los sensores [27], [38], [45].
- con el acceso fácil a los componentes en el mercado [40], [46], [47] (utilizando COTS)
- Al disminuir la relación costo-vida útil del sensor [48].
- Al disminuir la relación costo-mantenimiento y operación del sensor como lo reportan Solima et al en la detección del fuego en el bosque [49] y como analizan Buratti et al para diferentes escenarios de aplicación de la RIdS [50] y como lo mencionan Yick et al [51] con respecto al consumo energético.

La forma práctica para facilitar la DTIF incluye la estrategia de utilizar sensores de baja potencia.

- Al considerar sensores de baja potencia para ahorrar la capacidad energética de la batería que lo alimenta, y mantener el presupuesto energético del nodo sensorial lo más bajo posible.
- El uso de sensores de baja potencia permite monitorear el ambiente las 24 horas del día, aún cuando el nodo esté en el modo dormido [52]–[54].

Evaluación de la tecnología de sensores para DTIF

De acuerdo a lo expuesto anteriormente en la sección 3 se pueden señalar ventajas y desventajas tanto de los sensores de variable química como física.

Sensores para las emisiones infrarroja y térmica (variable física)

La utilización de sensores de emisión infrarroja y térmica, e imágenes de humo es un método ampliamente comentado en la literatura científica [33], [55]–[61]. Estos sensores presentan ventajas y desventajas como como se explica a continuación:

Ventajas:

- Tienen alta sensibilidad lo que les permite una gran distancia de detección apta para utilizarlas en el método aéreo, satelital o en torres de observación pero están sujetos a la pérdida de las señales infrarrojas en la atmósfera y el espacio libre [24], [33], [47]
- La utilización de cámaras infrarrojas o visuales se ubica dentro de la observación anterior, y el mercado ofrece productos variados y de bajo costo.

Desventajas:

- La ventaja señalada para estos sensores disminuye al utilizarlos en tierra, pues el follaje y los obstáculos del terreno atenúan la emisión infrarroja en los momentos en que nace el fuego, justo cuando se requiere lograr la DTIF.

- Para el mejor aprovechamiento de los sensores es necesario emplazar de torres para aumentar la altura de su ubicación y así tener línea de vista y poder disminuir el efecto del follaje y los obstáculos (aunque esto encarece el método), o bien valerse de la detección aérea o satelital, que son métodos que no aportan una DTIF efectiva [32].
- Se necesita el procesamiento de imagen correspondiente lo que va en detrimento del costo y la DTIF en tiempo real [62].

Sensores de emisiones químicas

Para utilizar sensores de emisiones químicas producto del fuego (CO, CO₂ y humo) se requiere de tomar en cuenta el ambiente donde funcionarán, y las características más importantes que se requieren de los mismos, las cuales se mencionan en [46], [47] y son:

- Tiempo de respuesta corto, bajo costo, alta selectividad, alta sensibilidad a la detección del gas, largo tiempo de vida útil, dimensiones pequeñas, baja deriva de la variable de salida con el tiempo, bajo consumo de potencia, libre de la interferencia de gases atmosféricos, facilidad para detectar el mal funcionamiento [65], [66]

Para la aplicación en la detección de fuego en el bosque, estas características dan a estos sensores las siguiente ventajas y desventajas:

Ventajas:

- Se pueden utilizar para la detección terrestre del fuego en su inicio, pues las emisiones se difunden por el aire y pueden llegar a los rincones del bosque, no necesitan línea de vista ni ubicarse a gran altura [30].
- Para las variables químicas el mercado ofrece sensores de buena sensibilidad y costo variable [67], [68]. Entre los fabricantes están Figaro, Hanwei, Microsens, Alphasense, General Electric, SENCERA, NICERA, CAPTEUR.
- El mercado ofrece sistemas para protección contra fuego en espacios cerrados, cuyas normas de instalación y desempeño se mencionan en [69], y su adaptación para emplearlos en la DTIF puede ser objeto de investigación.
- El mercado ofrece sensores y sistemas para la detección óptica del humo en espacios cerrados, y es importante investigar su utilización en espacios abiertos como el bosque.
- El sensor genera cambios de voltaje en los terminales de salida ante la presencia de la variable química, por lo que el procesamiento de la información es mas simple que un procesamiento de imagen [70].
- Antes de que se presenten concentraciones que lleguen al límite máximo soportado por los sensores, ya se habrán detectado concentraciones menores del gas, propias del umbral de detección del inicio del fuego, y esta es la condición básica para la DTIF.

Desventajas:

- Algunos sensores requieren de calentamiento para elevar la temperatura y poder detectar el gas, lo que implica consumo de energía.
- Los sensores de CO o CO₂ se pueden dañar si se sobrepasan los valores límites de funcionamiento dados por el fabricante (como se advierte en [60] para la potencia de calentamiento y en [59] para la exposición a ambientes corrosivos)
- Los sensores de gas tienen un límite máximo de humedad relativa a la que deben estar expuestos, lo que requiere alguna estructura de protección adecuada cuando se utilizan en el bosque como mencionan Bayo et al [44].

- La concentración de humo y gas se ve disminuida en el punto de detección debido a la dispersión en el bosque, y esto afecta el rendimiento de los sensores que requieren de una determinada cantidad de ppm y un porcentaje de oscurecimiento mínimo [61], [62] para lograr la *DTIF* al inicio del fuego. Estos requerimientos estimulan la investigación con el fin de aumentar la concentración de humo en forma indirecta en el punto de detección.

DetECCIÓN DE ALGUNOS COMPONENTES DE LAS EMISIONES QUÍMICAS DEL FUEGO FORESTAL.

Para la facilitar la *DTIF* es importante la investigación para adaptar en espacios abiertos como el bosque, los métodos que ya se han desarrollado para detectar fuego en espacios cerrados, principalmente los que se obtienen con facilidad en el mercado.

Detectores de partículas de humo

Los métodos para la detección de fuego utilizando las emisiones o variables químicas (CO , humo y CO_2) están muy desarrollados para espacios cerrados (como hogares y edificios) y en el mercado se venden sistemas de bajo costo. Las variables mencionadas son detectadas mediante dos estrategias:

- la respuesta de estas variables a fenómenos físicos (absorción de IR, dispersión IR, ionización, efectos fotoacústicos)
- la interacción de estas variables con el material del sensor utilizado (adsorción, reacción química o una combinación de ambas).

Uno de los objetivos de la investigación es utilizar en espacios abiertos los sistemas conocidos que se utilizan en espacios cerrados, y aprovechar las ventajas que poseen, su costo razonable y su disponibilidad en el mercado, para tener éxito en la detección temprana de incendios forestales (*DTIF*) .

La detección de partículas de humo (aerosoles) en los sistemas comerciales se lleva a cabo, principalmente, mediante dos métodos: la ionización y el método óptico (o fotoeléctrico) [71], [72]. La detección de emisiones como el CO y el CO_2 o humo se logra con los métodos anteriores, y también se utilizan sensores electroquímicos y métodos electroacústicos.

El método de ionización utiliza un elemento radiador de partículas alfa (Americio 241) o partículas beta (níquel 63) [73] que ionizan el aire. Se tiene una cámara donde se confinan las partículas alfa y donde el aire está ionizado, situación que se aprovecha para producir una corriente eléctrica en ese aire, entre los electrodos. Cuando las partículas de humo ingresan a la cámara entran en contacto con el aire ionizado, obstaculizando la movilidad de los iones y esto provoca que la corriente se altere, y esta variación de corriente es la que se utiliza para dar la alarma que indica la presencia de humo (ver fig. 2).

El método fotoeléctrico se vale de un haz de luz infrarroja como medio de detección. Una forma de aplicar este método (NDIR, no dispersivo) consiste en proyectar el haz desde la fuente emisora de luz hasta el receptor, previendo que ante la presencia del humo o algún gas, la luz se vuelva opaca y alguna longitud de onda sea absorbida [74], y llegue con menor intensidad al receptor, disparándose la alarma (fig. 3a). Otra manera sería ubicar el emisor y el receptor desalineados (por ejemplo, en ángulo recto) de tal forma que la luz infrarroja no llegue al receptor en condiciones normales (rayo directo o direccionado), y ante la presencia del humo la luz se refleja y se dispersa al chocar con las partículas, llegando al receptor lo cual permite disparar la alarma (fig. 3b).

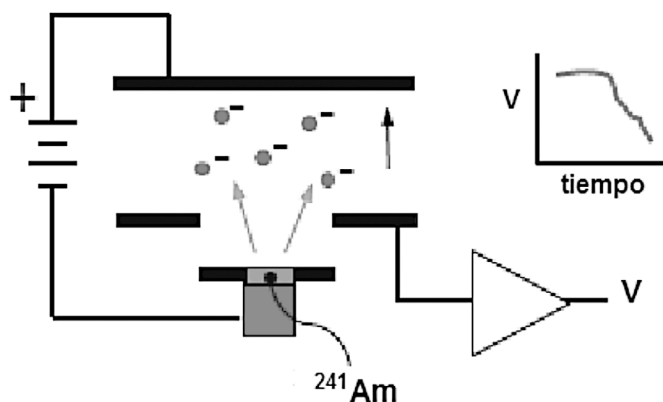


Figura 2. Detección de humo mediante la ionización.

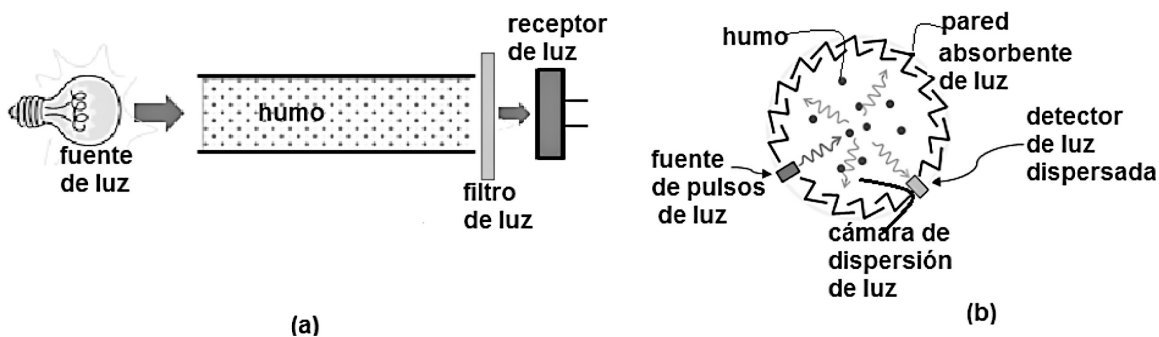


Figura 3. Detección fotoeléctrica de humo. a) versión no dispersiva de la luz NDIR. b) versión dispersiva de la luz DIR.

El método fotoacústico es una variante del método no dispersivo (NDIR) que incorpora un micrófono sensible a ondas de presión provenientes de la cámara de detección del gas. Estas ondas se producen debido a que el gas absorbe la longitud de onda de la luz, se energiza y esto hace que cambie su densidad periódicamente (de acuerdo a la presencia o ausencia de la luz), lo que produce la onda de presión sobre el micrófono (fig. 4).

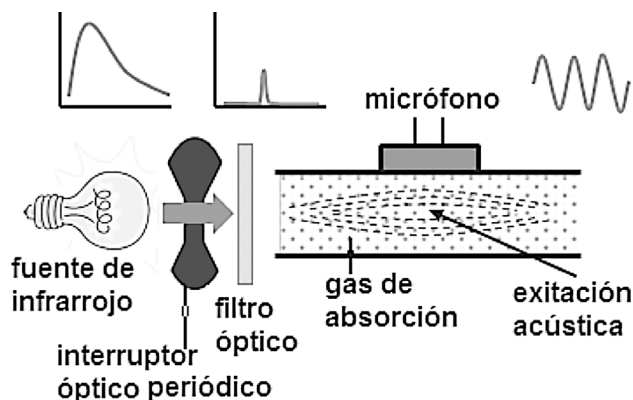


Figura 4. Esquema de detección optoacústico.

En el caso de recurrir a la interacción entre la variable química (analito) con el material del sensor, ésta puede ser pasiva o activa. La interacción es pasiva si ocurre a temperatura ambiente y activa si necesita calentamiento. El esquema conceptual se presenta en la figura 5.

Para la interacción activa se utilizan sensores cuya base activa es un granulado de óxido metálico (desarrollado por Naoyoshi Taguchi en 1968), con óxido de estaño (SnO_{2-x}) como material preferido, el cual es semiconductor tipo n, y presenta una ligera deficiencia de oxígeno dentro del granulado. Cuando este material se calienta y entra en contacto con el ambiente, se donan cargas negativas al oxígeno adsorbido y se forma una superficie enriquecida y cargada negativamente, y también resulta una carga espacial positiva en el granulado, creándose una barrera de potencial que dificulta el flujo eléctrico entre los granos. La presencia de gases como el monóxido de carbono (CO) o el metano (CH_4) que pueden ser oxidados (o sea, son vapores reductores) tiende a disminuir la barrera de potencial al reaccionar con la superficie, facilitando la conducción eléctrica en el sensor. La aplicación de calor produce que la reacción ocurra a mayor velocidad (mayor conducción), y la selectividad se define de acuerdo a la temperatura de operación y el material del sensor. Se logra una alta sensibilidad a bajas concentraciones de químicos, sin embargo depende en gran medida de la humedad. Las principales ventajas incluyen bajo costo, tamaño reducido y una operación prolongada hasta por 10 años para la detección de CO. Las desventajas incluyen la poca selectividad química, la sensibilidad a las condiciones de temperatura y la humedad, y el consumo de energía para el calentamiento.

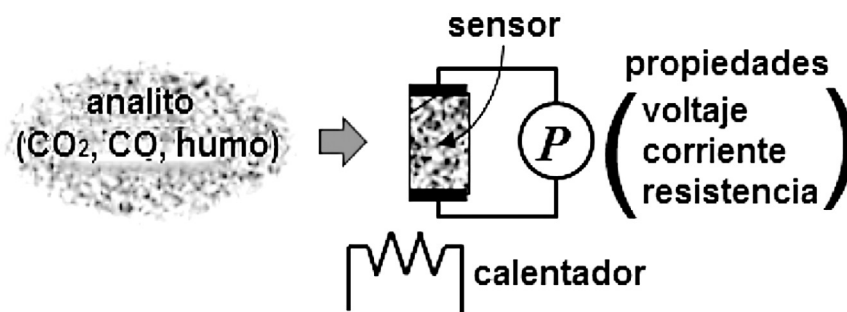


Figura 5. Detección de emisiones del fuego.

Los sensores electroquímicos miden los resultados de la reacción química entre dos electrodos, esto incluye la oxidación (pérdida de electrones) y la reducción (ganancia de electrones) en uno u otro electrodo. El proceso comprende el movimiento de iones a través de un electrolito (conductor iónico) que conecta los electrodos (pueden ser más de dos electrodos para controlar mejor el proceso), los cuales alimentan la circuitería externa para medir la corriente o el voltaje que se producen (y que permiten determinar la concentración del gas). Se usan ampliamente en la detección de CO y su operación se extiende por seis o siete años. La corriente producida es proporcional a la concentración de CO, tienen dimensiones reducidas, bajo consumo de potencia, bajo costo, alta sensibilidad y buena selectividad para el CO (baja sensibilidad para otros gases). La principal desventaja es que para la calibración y la operación necesitan un gas de prueba para la validación. Un ejemplo de este sensor es el *Figaro TGS 5042*. En la figura 6 se muestra un esquema y la respuesta del sensor mencionado a una concentración escalonada a pasos de 5ppm de CO y a una concentración única de 20ppm [71] Las reacciones químicas que genera la corriente son: $\text{CO} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CO}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$ en el ánodo, y $\text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$ en el cátodo.

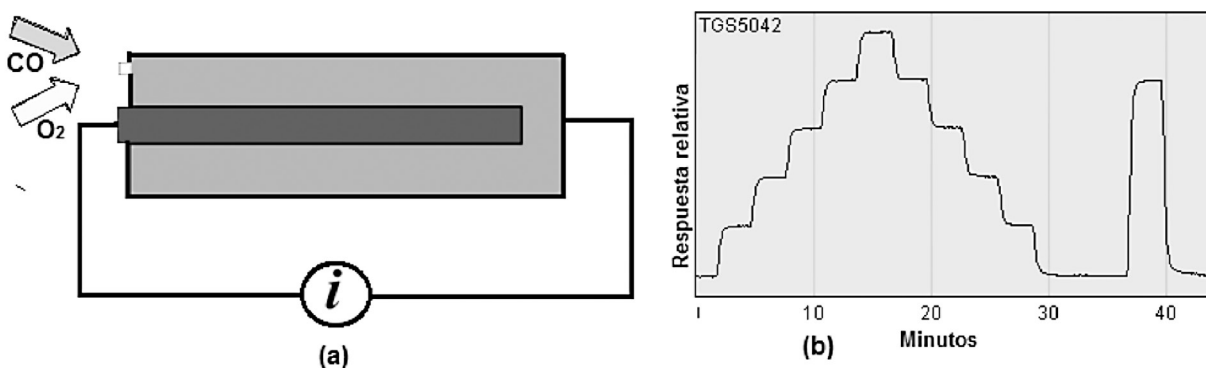


Figura 6. (a) Esquema de un sensor electroquímico. (b) Respuesta relativa del sensor Figaro TGS5042 a concentraciones escalonadas de 5ppm CO y a una concentración de 20ppm [71].

En cuanto al consumo de potencia de este tipo de sensores A. Somov et al [75], [76] proponen la energización de un sensor de gases producidos en la etapa inicial del fuego producto de la pirólisis, mediante una señal PWM aplicada al sensor, y reportan que el mejor resultado se obtiene con un ciclo del 70-80% para lograr una temperatura de 450°C y la mejor sensibilidad, y mejorando el consumo de potencia en un factor de 3 (desde 100mW hasta 30mW). Bayo et al [44] proponen un nodo energizado con una señal PWM con un ciclo de trabajo de 33%, para medir humo mediante la refracción óptica producida por las partículas, y otras variables ambientales útiles para la detección de fuego en el bosque. Estos autores reportan 3 niveles de consumo: 108µW para la condición dormido del nodo, 165mW para la condición de medición y 159mW para la transmisión de datos.

También se investigan sensores basados en semiconductores *MOSFET* [77] siendo la modificación más simple la supresión de la puerta. Un *OGFET* (Open Gate Fet) es un transistor FET sin puerta que se expone a una atmósfera gaseosa, y la corriente del drenador varía en función de la presión parcial de los gases. Una versión mejorada es el *ADFET* (Adsorption FET) en el cual la capa de óxido tiene un grosor de 5nm, y responde a concentración de gases como el CO con un momento dipolar permanente [78]

Actualmente se encuentran sistemas multicriterio (Mcfca) para detección de fuego que integran los métodos señalados anteriormente (NDIR para CO y CO₂ combinados con detectores de humo) para lograr mayor eficacia en la detección al inicio del fuego y disminuir las falsas alarmas [64].

Es importante resaltar que la respuesta de los sensores comentados a la presencia de las emisiones del fuego depende de la concentración, o de la velocidad de llegada de las mismas al punto de contacto con el sensor para concretar la detección.

Conclusiones

De acuerdo a las observaciones hechas en la sección 3, la selección de los sensores utilizados para realizar la DTIF debe hacerse para obtener resultados positivos en tiempo real, escalable, a bajo costo y en forma práctica. El tiempo real se logra con sensores de umbral absoluto bajo que permitan descubrir el fuego al principio, cuando tiene poca intensidad y acercando el sensor al lugar de origen del fuego. La escalabilidad se logra utilizando sensores que permitan la detección individual a la mayor distancia del fuego y diseñando un despliegue del conjunto de sensores que asegure mas área de cobertura. La reducción del costo se logra al disminuir

los costos del diseño electrónico, de la captura y procesamiento de los datos del sensor, de la captura y transmisión de los datos del sensor, del umbral del sensor, de la distancia de detección y área cubierta del sensor, del despliegue de los sensores, de la vida útil del sensor, de su mantenimiento y operación del sensor, y utilizando componentes de fácil acceso en el mercado. La forma práctica incluye utilizar sensores de baja potencia para mantener el presupuesto energético del nodo sensorial lo más bajo posible y de esta manera ahorrar la capacidad energética de la batería para que dure las 24 horas.

De acuerdo a las observaciones de la sección 4.1, la ventaja de los sensores para las emisiones infrarroja y térmica (variable física) es que tienen una alta sensibilidad (que permite la detección desde larga distancia), La desventaja consiste en que el follaje y los obstáculos del terreno atenúan la emisión infrarroja en los momentos en que nace el fuego (justo cuando se requiere lograr la *DTIF*), y para aprovecharlos mejor se requiere el emplazamiento de torres para tener línea de vista, y el procesamiento de la imagen correspondiente (esto va en detrimento del costo y la *DTIF* en tiempo real).

De acuerdo a las observaciones de la sección 4.2 al utilizar sensores de emisiones químicas producto del fuego (CO , CO_2 y humo), las características más importantes que estos deben mostrar son:

- tiempo de respuesta corto, bajo costo, alta selectividad, alta sensibilidad a la detección del gas, largo tiempo de vida útil, dimensiones pequeñas, baja deriva de la variable de salida con el tiempo, bajo consumo de potencia, libre de la interferencia de gases atmosféricos, facilidad para detectar el mal funcionamiento.

Si en la detección de fuego en el bosque se cumplen estas demandas, los sensores contarán con las siguientes ventajas:

- Se pueden utilizar para la detección terrestre del fuego en su inicio (pues las emisiones del fuego en el bosque se difunden por el aire y pueden llegar a los rincones del bosque), no necesitan línea de vista ni ubicarse a gran altura. El mercado ofrece sensores para las variables químicas de buena sensibilidad y de costo variable, así como sistemas para protección contra fuego en espacios cerrados cuyas normas de instalación y desempeño han sido probadas y refinadas, además de sensores y sistemas para la detección óptica del humo (la adaptación de ambos sistemas para emplearlos en la *DTIF* debe ser objeto de investigación). El sensor genera cambios de voltaje en los terminales de salida ante la presencia de la variable química (por lo que el procesamiento de la información es más simple que un procesamiento de imagen), y antes de que se presenten concentraciones que lleguen al límite máximo soportado por los sensores, ya se habrán detectado concentraciones inferiores del gas (propias del umbral de detección del inicio del fuego, y esta es la condición básica para la *DTIF*).

Las desventajas más notorias consisten en que algunos sensores requieren de calentamiento para poder detectar el gas (lo que implica consumo de energía), y se pueden dañar si se superan los valores límites de operación especificados por el fabricante (para CO o CO_2). Tienen un límite máximo para la humedad relativa a la que deben estar expuestos (por esto se requiere alguna estructura de protección adecuada cuando se usan en el bosque). La concentración de humo y gas se reduce en el punto de detección, debido a la dispersión en el bosque (esto afecta el rendimiento de los sensores que requieren de una cantidad de ppm y porcentaje de oscurecimiento mínimos para lograr la *DTIF* al inicio de fuego).

Esta situación estimula la investigación para aumentar la concentración en forma indirecta en el punto de detección y también el uso de sensores de variable química para lograr la *DTIF*.



Referencias

- [1] Fco. Rodríguez y Silva, «EMPLEO DE QUEMAS PRESCRITAS EN LA PREVENCIÓN DE INCENDIOS FORESTALES, APLICACIÓN A LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DE ANDALUCÍA.», presentado en Jornada de Prevención de Incendios Forestales, TSI Montes Jornada de Prevención de Incendios Forestales, p. 1 de 15.
- [2] Byungrak Son, «A Design and Implementation of Forest-Fires Surveillance System based on Wireless Sensor Networks for South Korea Mountains», *IJCSNS*, vol. VOL.6, n.º No.9B, sep. 2006.
- [3] M. D. J. . B. C. Arrue and A. Ollero, «DISTRIBUTED INTELLIGENT AUTOMATIC FOREST-FIRE DETECTION SYSTEM», *INNOCAP'99, 28th of 29th of April, Grenoble*.
- [4] «News and commentary about wildland fire»,. [En línea]. Disponible en: <http://wildfiretoday.com/>. [Accedido: 11-nov-2010].
- [5] «Forest Loss, United Nations System, Wide- Earth Watch.» [En línea]. Disponible en: <http://earthwatch.unep.net/emergingissues/forests/forestloss.php>. [Accedido: 23-nov-2010].
- [6] Ministerio de Ambiente, Energía y Telecomunicaciones (MINAET), Costa Rica, «CONIFOR. Estrategia Nacional de manejo del fuego 2006-2010.» [En línea]. Disponible en: 2010http://www.sirefor.go.cr/estadisticas_incendios.html. [Accedido: 23-nov-2010].
- [7] Chis Taylor, «Victorian 2009 February fires»,. 25-oct-2009. [En línea]. Disponible en: <http://www.wilderness.org.au/files/2009-black-saturday-fires-report-taylor.pdf>.
- [8] National Interagency Fire Center., «http://www.nifc.gov/fire_info/nfn.htm». [En línea]. Disponible en: http://www.nifc.gov/fire_info/nfn.htm. [Accedido: 25-oct-2009].
- [9] «California Department of Forestry and Fire Protection». [En línea]. Disponible en: http://cdfdata.fire.ca.gov/incidents/incidents_stats. [Accedido: 25-oct-2009].
- [10] «BC Ministry of Forest and Range. Fire Review of Okanagan Mountain Fire». [En línea]. Disponible en: <http://bcwildfire.ca/History/LargeFires.htm>. [Accedido: 15-mar-2012].
- [11] «BC Ministry of Forest and Range. Fire Review of Okanagan Mountain Fire.» [En línea]. Disponible en: <http://bcwildfire.ca/History/LargeFires.htm>. [Accedido: 25-oct-2009].
- [12] «Forest Fires in Europe 2008, reporte No. 9», *JRC Scientific and Technical Reports. Pag 9*. [En línea]. Disponible en: <http://effis.jrc.ec.europa.eu/reports/fire-reports>. [Accedido: 28-oct-2009].
- [13] «Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Manejo del fuego, Directrices de carácter voluntario para el manejo del fuego»,. [En línea]. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/j9255s/j9255s00.pdf>. [Accedido: 23-nov-2010].
- [14] Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, p 33, «Manejo del fuego, Directrices de carácter voluntario para el manejo del fuego, Documento de Trabajo FM/17/S. FAO, Roma, Itália, 2008»,. [En línea]. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/j9255s/j9255s00.pdf>. [Accedido: 23-nov-2010].
- [15] D. D. Wade, J. Lundsford, y U. Forest, «Fire as a forest management tool : Prescribed burning in the southern United States».
- [16] T. Mathewson, «Introduction to Wildland Fire Behavior, S-190».
- [17] B. Ground, «Fire Weather Case Study - Mann Gulch Fire , Montana», *Weather*, n.º February, pp. 1–10, 2007.
- [18] R. D. O. Ñ, A. I. Miranda, y D. V. Sandberg, «Author â€™ s personal copy Author â€™ s personal copy», *Management*, vol. 8, n.º X, 2009.
- [19] S. P. U. Ñ, W. M. Hao, y S. Baker, «Chapter 4 Chemical Composition of Wildland Fire Emissions», vol. 8, n.º 08, 2009.
- [20] J. Contreras-moctezuma, «GASES DEL HUMO DE INCENDIOS EN BOSQUES DE Pinus hartwegii», n.º 1990, 1998.
- [21] D. B. Wright y T. Yotsumata, «REAL TIME IDENTIFICATION AND LOCATION OF FOREST FIRE HOTSPOTS FROM GEO-REFERENCED THERMAL IMAGES».
- [22] J. San-Miguel-Ayanz y N. Ravail, «Active Fire Detection for Fire Emergency Management: Potential and Limitations for the Operational Use of Remote Sensing», *Natural Hazards*, vol. 35, n.º 3, pp. 361–376, jul. 2005.
- [23] N. El-sheimy y B. Wright, «Real-time Airborne Mapping System for Forest Fire Fighting (F 3) System F 3 System ' s Components», *Engineering*, n.º April, pp. 381–383, 2004.
- [24] A. Calle y J. L. Casanova, «Forest Fires and Remote Sensing», 1998.

- [25] M. D. J. R, B. C. Arrue, y A. Ollero, «DISTRIBUTED INTELLIGENT AUTOMATIC FOREST-FIRE DETECTION SYSTEM», n.º 3.
- [26] R. Schönig, A. Bachmann, y B. Allgöwer, «GIS-based Framework for Wildfire Risk Assessment Final Report», *Assessment*, n.º February, 1997.
- [27] M. Hefeeda y M. Bagheri, «Wireless Sensor Networks for Early Detection of Forest Fires», *System*, n.º August 2003, 2007.
- [28] M. Hefeeda y M. Bagheri, «Forest Fire Modeling and Early Detection», *Science*, vol. 7, n.º August 2003, pp. 169–224, 2009.
- [29] B. C. Arrue, a. Ollero, y J. R. Matinez de Dios, «An intelligent system for false alarm reduction in infrared forest-fire detection», *IEEE Intelligent Systems*, vol. 15, n.º 3, pp. 64–73, may 2000.
- [30] A. Ollero y J. R. M. Dios, «INTEGRATED SYSTEMS FOR EARLY FOREST-FIRE DETECTION», *Fire Research*, vol. II, n.º November, pp. 1977–1988, 1998.
- [31] F. C. Rego y F. X. Catry, «Modelling the effects of distance on the probability of fire detection from lookouts», *International Journal of Wildland Fire*, vol. 15, n.º 2, p. 197, 2006.
- [32] L. Yu y N. Wang, «Real-time Forest Fire Detection with Wireless Sensor Networks», *Science And Technology*, pp. 1214–1217, 2005.
- [33] Dave Schroeder, «Evaluation of three wildfire smoke detection systems», pp. 1–8, 2003.
- [34] I. Grubišvič, D. Kolarič, y K. Skala, «Intelligent algorithm for smoke extraction in autonomous forest fire detection».
- [35] «WILDFIRE DETECTION USING LMS BASED ACTIVE LEARNING B . Ugur Toreyin , A . Enis Cetin Department of Electrical and Electronics Eng .», *Electronics*, pp. 1–4.
- [36] Y. Hongyan, G. Shuqin, H. O. U. Ligang, W. Jinhui, y W. U. Wuchen, «RESEARCH OF FIRE DETECTING SYSTEM BASED ON ZIGBEE WIRELESS NETWORK», *Engineering and Technology*, vol. 11, n.º 9, pp. 3457–3462, 2011.
- [37] J. Lloret, M. Garcia, D. Bri, y S. Sendra, «A wireless sensor network deployment for rural and forest fire detection and verification.», *Sensors (Basel, Switzerland)*, vol. 9, n.º 11, pp. 8722–47, ene. 2009.
- [38] M. Bagheri y C. Science, «EFFICIENT K-COVERAGE ALGORITHMS FOR WIRELESS SENSOR NETWORKS AND THEIR APPLICATIONS TO EARLY DETECTION OF FOREST», 2007.
- [39] Z. Jin, Y. Jian-Ping, Z. Si-Wang, L. Ya-Ping, y L. Guang, «A Survey on Position-Based Routing Algorithms in Wireless Sensor Networks», *Algorithms*, vol. 2, n.º 1, pp. 158–182, feb. 2009.
- [40] R. L. Kremens, A. J. Gallagher, y A. Seema, «Low Cost Autonomous Field-Deployable Environment Sensors», *Electronics*.
- [41] L. Zhang, G. Wang, y E. C. Paris, «Design and Implementation of Automatic Fire Alarm System based on Wireless Sensor Networks», *Processing*, vol. 2, pp. 410–413, 2009.
- [42] R. Szewczyk *et al.*, «An Analysis of a Large Scale Habitat Monitoring Application», *Information Systems*, 2004.
- [43] L. Angeles, «Overview of Sensor Networks», *Time*, n.º August, pp. 41–49, 2004.
- [44] a. Bayo, D. Antolín, N. Medrano, B. Calvo, y S. Celma, «Early detection and monitoring of forest fire with a wireless sensor network system», *Procedia Engineering*, vol. 5, pp. 248–251, ene. 2010.
- [45] X. Xu y S. Sahni, «Approximation Algorithms For Wireless Sensor Deployment», *Science*, pp. 1–10, 2006.
- [46] Y. Hongyan, G. Shuqin, H. O. U. Ligang, W. Jinhui, y W. U. Wuchen, «RESEARCH OF FIRE DETECTING SYSTEM BASED ON ZIGBEE WIRELESS NETWORK», *Engineering and Technology*, vol. 11, n.º 9, pp. 3457–3462, 2011.
- [47] B. Son, Y. Her, y J. Kim, «A Design and Implementation of Forest-Fires Surveillance System based on Wireless Sensor Networks for South Korea Mountains», *Journal of Computer Science*, vol. 6, n.º 9, pp. 124–130, 2006.
- [48] M. Bahrepour, N. Meratnia, P. Havinga, y P. S. Group, «AUTOMATIC FIRE DETECTION : A SURVEY FROM», *Structure*, 2007.
- [49] H. Soliman, K. Sudan, y A. Mishra, «A smart forest-fire early detection sensory system: Another approach of utilizing wireless sensor and neural networks», *2010 IEEE Sensors*, pp. 1900–1904, nov. 2010.
- [50] C. Buratti, A. Conti, D. Dardari, y R. Verdona, «An overview on wireless sensor networks technology and evolution.», *Sensors (Basel, Switzerland)*, vol. 9, n.º 9, pp. 6869–96, ene. 2009.



- [51] J. Yick, B. Mukherjee, y D. Ghosal, «Wireless sensor network survey», *Computer Networks*, vol. 52, n.º 12, pp. 2292–2330, ago. 2008.
- [52] José Rafael Lajara Vizcaíno, «Modelado y optimización de energía en redes de sensores inalámbricas para la medida de parámetros medioambientales», Universidad Politécnica de Valencia, 2014.
- [53] H. Karl y A. Willig, *Protocols and architectures for wireless sensor networks*. Hoboken, NJ: Wiley, 2005.
- [54] C. S. Raghavendra, K. M. Sivalingam, y T. F. Znati, Eds., *Wireless sensor networks*. Boston: Kluwer Academic Publishers, 2004.
- [55] N. Fujiwara y K. Terada, «Extraction of a Smoke Region Using Fractal Cording», *Fire Prevention*, vol. 2004, pp. 659–662, 2004.
- [56] D. Kim y Y.-F. Wang, «Smoke Detection in Video», *2009 WRI World Congress on Computer Science and Information Engineering*, pp. 759–763, 2009.
- [57] F. Gómez-Rodríguez B.C. Arrue A. Ollero, «Smoke monitoring and measurement.pdf».
- [58] H. Maruta, Y. Kato, A. Nakamura, y F. Kurokawa, «Smoke detection in open areas using its texture features and time series properties», *Industrial Electronics*, n.º ISIE, pp. 1904–1908, 2009.
- [59] D. Stipanovič, T. Jakovčič, y T. Jakovčič, «HISTOGRAM-BASED SMOKE SEGMENTATION IN FOREST FIRE DETECTION SYSTEM c , SMOKE c IN FOREST FIRE DETECTION», *Technology*, vol. 38, n.º 3, pp. 237–244, 2009.
- [60] B. Uč, «WAVELET BASED REAL-TIME SMOKE DETECTION IN VIDEO», *Computer*, pp. 2–5.
- [61] Yudaya R. Sivathanu L.K.Tseng, «fire detection using near IR radiation and source temperature discrimination.pdf».
- [62] N. Architecture, «Wildfire smoke-detection algorithms evaluation», *Fire Research*, 2010.
- [63] W. L. Grosshandler, «A Review of Measurements and Candidate Signatures for Early Fire Detection», *Fire Research*, 1995.
- [64] Jacob Y. Wong, «Multi-Criteria Fire Alarm», *Research paper*.
- [65] SENSOR SYSTEM, «BEAM1224 (S) Reflected Type Beam Smoke Detector», vol. 1224, pp. 4–5.
- [66] PINNACLE, «The Smoke Detector for Critical Applications», *Ultra High Sensitivity Laser Smoke Detector*.
- [67] Capteur, «General information on the Capteur NGL07 Carbon Monoxide sensors», *Carbon monoxide sensor*, pp. 1–13.
- [68] Microsens SA, «MSG5-3001 Carbon Monoxide Gas Sensor».
- [69] Underwriters Laboratories, «Carbon Monoxide Alarm Considerations for Code Authorities», pp. 1–3.
- [70] Figaro Co., «1-Series 8-Series gas sensor», *Structure*, pp. 1–8.
- [71] D. Wolf, M. Wise, y Oak Ridge National Laboratory, «Home Smoke Alarms. A Technology Roadmap», n.º March, 2012.
- [72] M. Ahrens, «Home Smoke Alarms: The Data as Context for Decision», *Fire Technology*, vol. 44, n.º 4, pp. 313–327, feb. 2008.
- [73] C. Nacional y D. E. C. D. E. Trabajo, «NTP 215 : Detectores de humos», 1986.
- [74] N. Infrared y InternationalLight Technologies, «Visible / IR Lamps for NDIR Gas Sensors».
- [75] A. Somov *et al.*, «Combustible Gases and Early Fire Detection : an Autonomous System for Wireless Sensor Networks», *Interface*, pp. 85–93.
- [76] A. Somov, «Power Management and Power Consumption Networks», *Response*, n.º December, 2009.
- [77] D. Gutmacher, C. Foelmlí, W. Vollenweider, U. Hoefler, y J. Wöllenstein, «Comparison of gas sensor technologies for fire gas detection», *Procedia Engineering*, vol. 25, pp. 1121–1124, 2011.
- [78] R. Pallás Areny, *Sensores y acondicionadores de señal*. España; México: Marcombo Alfaomega, 2007.

Acciones para la Generación de un Manual de Organización Comunitaria: El Caso del Área Urbana de Montería

Actions for the generation of a community organization manual: the case of the urban area Montería

Jorge Villadiego-Lorduy¹, Dennis Huffman-Schwocho², Yhonathan Mendez-Nobles³, Stalyn Guerrero-Gomez⁴, Luis Javier Rodríguez-Vargas⁵

Fecha de recepción: 20 de enero de 2016

Fecha de aprobación: 2 de abril de 2016

Villadiego-Lorduy, J; Huffman-Schwocho, D; Mendez-Nobles, Y; Guerrero-Gomez, S; Rodríguez-Vargas, L. Acciones para la Generación de un Manual de Organización Comunitaria: El Caso del Área Urbana de Montería. *Tecnología en Marcha*. Vol. 29-4. Octubre-Diciembre 2016. Pág 139-153.

DOI: 10.18845/tm.v29i4.3044



1 Docente interno del programa de ingeniería sanitaria y ambiental. Universidad Pontificia Bolivariana. Seleccional Montería, Colombia. Correo electrónico: villalord15@yahoo.es

2 Profesor titular del programa de Doctorado en Ciencias Naturales para el Desarrollo. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica. Correo electrónico: d_huffman@yahoo.com

3 Universidad Pontificia Bolivariana. Departamento de Córdoba, Montería, Colombia. Correo electrónico: yhonattan.mendez@upb.edu.co

4 Fundación Salud Mental Para Todos. Departamento de Córdoba, Montería, Colombia. Correo electrónico: guerrerostalyn@hotmail.com

5 Meridiano de Córdoba. Departamento de Córdoba, Montería, Colombia. Correo electrónico: luisitos@hotmail.com



Palabras clave

Juntas de acción comunal; asociaciones comunales; perfiles; percepciones; manual de organización.

Resumen

El propósito de este artículo fue proponer un manual para las organizaciones comunitarias del área urbana de la ciudad de Montería partiendo del desarrollo de tres objetivos específicos, el primero encaminado a diagnosticar el estado actual de las organizaciones comunitarias a partir del análisis de las mismas y de las percepciones que poseen algunos actores sociales e institucionales, el segundo propósito consistente en determinar los elementos constitutivos del manual y por último, la generación del manual en sí. De la fase diagnóstica, se señala que por una parte el nivel de formación de los líderes comunales es deficiente, un 56% solo tiene estudios básicos. Adicionalmente, las organizaciones comunales carecen del enfoque y conocimiento de la gestión ambiental local, también la percepción que se tiene desde lo público y lo privado acerca de este tipo de instituciones no es muy favorable, sin omitir que las JAC son consideradas como parte de la maquinaria politiquera de la región. Así mismo, como principales debilidades al interior de sus estructuras se encuentran la falta de compromiso y responsabilidad de los miembros para con éstas. Dentro de los elementos constitutivos del manual se identificaron 6 componentes, dos de carácter complementario (Ciclo Planear, Hacer, Verificar y Actuar, además de los enfoques: sistémico, holístico y de desarrollo sostenible) y cuatro como ejes centrales (perfil del territorio, estructura comunitaria, cualificación a organizaciones sociales y mediación para la solución de problemas ambientales). Desde el análisis de los elementos en cuestión se procedió a generar el manual con todas las relaciones dadas para cada uno de ellos.

Keywords

Community action; community associations; profiles; perceptions; organizational manual.

Abstract

The purpose of this paper was to propose a manual for community organizations of the urban area of the city of Montería, from the development of three specific objectives, the first aimed at diagnosing the current state of community organizations from the analysis of the organization itself and perceptions of some social and institutional actors, the second of determining the constituent elements of the manual and finally the generation of the manual itself. Phase diagnosed States that on the one hand the level of training of community leaders is poor, only 56% have basic studies. On the other hand, community organizations lack focus and knowledge of local environmental management and the perception that it's from public and private about this type of institutions is not very favorable, without omitting the JAC are considered part of the politiquera machinery in the region. Also, as major weaknesses within their structures are the lack of commitment and responsibility of members to with them. And four as central (profile of the territory structure: Within the constituent elements of the manual six components, two complementary (systemic, holistic and sustainable development cycle Plan-Do-Check-Act, in addition to approaches) were identified Community, social skills and mediation organizations to solve environmental problems). From the analysis of the elements in question it proceeded to build the manual with all relationships given for each of them.

Introducción

La organización comunitaria puede definirse como la forma de estructurarse una comunidad para enfrentar los problemas que les perturben. Ross (1978, p 65) define la organización comunitaria como el medio por el cual una comunidad identifica sus necesidades y objetivos jerarquizándolos, procura los recursos para tratarlos y realiza acciones al respecto. Según el Instituto de Formación Permanente (INSFOP) y el Programa Especial para la Seguridad Alimentaria Nutricional Nacional (PESANN/FAO, 2008, p 10) definen que “Organización comunitaria: Es cuando un grupo de personas se unen para ver los problemas que les afectan en su comunidad y le buscan soluciones”. Así mismo señalan que en un grupo organizado que busca la solución a problemas que los aquejan deben tener en cuenta dos aspectos fundamentales: 1) Perseguir los mismos objetivos y 2) los mismos intereses. Tal como lo afirman Mecer y Adrina (2004, p 293) “Una base fundamental para la integración, la cohesión y la acción conjunta, es la existencia de objetivos, aspiraciones, problemas y necesidades comunes”. Particularmente, existen dos tipos de organizaciones comunitarias: Sociales y productivas. Las sociales se organizan con el fin de darle solución a los problemas existentes en una comunidad, las organizaciones de carácter productivo son creadas para obtener recursos económicos a partir de la fabricación de determinados productos.

Por otra parte, la importancia de que las comunidades se organicen radica en que mediante su organización y teniendo en cuenta los valores y capacidades de los miembros que la integran se le pueden dar solución a los problemas y necesidades que existan en sus territorios. Entre las ventajas existentes al organizarse una comunidad se encuentran: 1) La utilización y el esfuerzo de los recursos colectivos, 2) el desarrollo de líderes, 3) oportunidades para la gestión de proyectos entre otras mas (INSFOP y PESANN/FAO 2008, p 11). No se puede olvidar que así como es de importante organizarse socialmente, también la participación comunitaria es un elemento clave y articulador para el funcionamiento eficiente de una estructura comunitaria y por ello siempre debe ser considerado en el proceso de organización y posterior al mismo.

Desde el punto de vista jurídico, la acción comunal en Colombia o sus primeros intentos se remontan a la ley 19 de 1958; pero el gran salto ocurre con la constitución política de 1991 debido a que esta permitió la participación ciudadana en las decisiones públicas colocando a disposición de las comunidades mecanismos para la participación tanto a nivel individual como comunitario. Actualmente, la ley 743 de 2002 y el decreto 2350 de 2003 reglamentan lo relacionado con la constitución de organismos comunales. Para Duque y Gaitan (2001, p 45) el contexto social, económico, político y cultural en el cual se encuentra inmerso el país ha reflejado en los últimos 15 años, una tendencia muy fuerte al reconocimiento de lo comunitario como elemento del desarrollo local, regional y nacional. Montería no es ajena a este contexto, a nivel del área urbana, existen organizaciones tanto sociales como productivas, sin embargo el interés del estudio se centró en las de tipo social enmarcándose en la figura de Juntas de Acción comunal (JAC) las cuales se agremian en Asociaciones comunales de juntas (Asocomunales)⁶.

La ciudad en su cabecera municipal cuenta con 159 Juntas de Acción Comunal (JAC) y dos asociaciones comunales, sin embargo carecen de procesos serios de planificación para el desarrollo sostenible de los territorios y más aun de una guía que les permita organizarse teniendo en cuenta las particularidades de sus comunidades y sitios donde se encuentran asentadas. Para ello, se propuso formular un manual de organización comunitaria soportado

6 En el primer grado de organizaciones sociales se encuentran las Juntas de Acción Comunal (JAC), asociada a los barrios, en segundo grado están las asociaciones comunales de juntas (asocomunales), delimitadas municipalmente, integradas por las JAC urbanas y rurales de un municipio, en tercer grado siguen las federaciones, conformadas por todas las asocomunales de un departamento, y por último se cuenta con las confederaciones que están estructuradas a escala nacional e integradas por todas las federaciones del territorio Colombiano.



en cuatro elementos e igual número de fases: Perfil ambiental, Estructura de la organización, Cualificación y Mediación para la solución de problemas. Asociado al manual se cuenta con dos elementos complementarios, uno relacionado con los enfoques que se deben tener en cuenta a la hora de organizar a las comunidades, y otro asociado al mejoramiento continuo. Todo el trabajo se desarrolló partiendo del establecimiento del perfil de las organizaciones sociales existentes (JAC), y de las percepciones que poseen algunos actores sociales e institucionales sobre las organizaciones comunitarias. Sobre el análisis del perfil y las percepciones se identificaron los fundamentos constitutivos y se elaboró el manual para las organizaciones comunales pertenecientes al área urbana de la ciudad.

Materiales y métodos

Para el desarrollo de esta investigación se definieron dos tipos de métodos: El primero de corte explicativo. Desde este método, se buscó responder como se han dado los procesos de organización comunitaria al interior de la ciudad teniendo en cuenta ciertos eventos sociales, políticos y económicos que han determinado la configuración actual de la estructura comunitaria en la cabecera municipal, además de los perfiles de las organizaciones comunales existentes, como de las percepciones de los actores sociales e institucionales que se encuentran inmersos en procesos de organizaciones comunales.

El segundo método, de corte estadístico descriptivo se desarrolló mediante estimaciones porcentuales y valores absolutos a partir de los datos obtenidos con la aplicación de un cuestionario (validado mediante un panel de expertos). El instrumento fue diseñado para obtener información del perfil de la organización comunitaria definiendo el enfoque de la organización, tipo de estructura, tiempo de estar desarrollando actividades comunitarias, papel de la organización dentro de la comunidad entre otras variables. Ligado a esto se complementó la aplicación del cuestionario con una entrevista semiestructurada realizada a actores tanto del sector público como privado, se tuvo en cuenta desde lo público a funcionarios de la alcaldía y de la gobernación de Córdoba encargados de manejar tal temática (se entrevistó un individuo para cada dependencia). Desde lo social se consultó a 2 (dos) líderes comunitarios que por el trabajo implementado con las comunidades se han convertido en referentes, al igual que a 2 (dos) representantes de ONGs que se han articulado a este tipo de actividades comunitarias desde vieja data. Se señala que al igual que el cuestionario, el formato de entrevista también se validó mediante un panel de expertos.

Para determinar el tamaño de muestra se partió de una población universo de 159 organizaciones, para un tamaño de muestra de 18 Juntas de Acción Comunal encuestando para el perfil de la organización a un miembro de la mesa directiva preferiblemente el presidente de la institución. El diseño muestral implementado fue de tipo aleatorio simple. El software con el que se trabajó el análisis estadístico descriptivo fue R versión 3.0.2. Los datos estadísticos obtenidos con los instrumentos se consolidaron en una matriz implementada en el software Excell 2007.

Particularmente, para la formulación de este manual de organización comunitaria, se tuvieron en cuenta diversos trabajos de organizaciones sociales (Manual de fortalecimiento para las organizaciones sociales (Ministerio de Desarrollo Social, 2015) - Organización comunitaria (INSFOP - PESANN/FAO, 2008) – La Agenda 21 y los procesos de participación social (Marchioni, 2002) – El desarrollo comunitario (Chacon, 2010); entre otros estudios) con el fin de que dicho documento respondieran a un contexto socioambiental en particular y al fomento de un desarrollo sostenible en el área de estudio.

Ubicación del área de estudio

Montería se halla ubicada a los 8°46'10" de longitud Norte, a 75°53'00" de longitud Oeste con respecto al meridiano de Greenwich; a una altura de 20 metros sobre el nivel del mar. Limita al Norte con el municipio de Canalete, Los Córdoba, Puerto Escondido, San Pelayo y Cereté, al Sur con las municipalidades de Tierralta y Valencia, al Oriente con Planeta Rica y San Carlos y al Occidente con el departamento de Antioquia (Consúltese figura 1).



Figura 1. Ubicación geográfica de Montería. Fuente: Google Earth, 2015.

Resultados y discusión

Perfiles y percepciones

Montería es una ciudad de grado intermedio con una población proyectada a junio 30 de 2015 de 441 301 habitantes (Departamento Nacional de Estadísticas, 2015). Urbanísticamente consta de 5 (cinco) piezas: Centro, Sur, Norte, Oriental y Occidental y cuenta con 9 comunas distribuidas a lo largo de toda su área urbana (Villadiego et al, 2014). Desde el punto de vista de organizaciones comunitarias, la urbe cuenta con dos grandes asociaciones comunales que agrupan a las Juntas de Acción comunal (JAC). La primera Asocomunal, cuenta con el mayor número de asociados 189, puesto que agremia a las JAC tanto urbanas como rurales. La segunda conocida como Asocomuseis tiene dentro de sus agregados aproximadamente a 14 entidades pertenecientes únicamente al casco urbano⁷. En total, en la cabecera de la ciudad existen legalmente constituidas y registradas en la Secretaria departamental del interior y la participación ciudadana 159 Juntas de Acción Comunal⁸ (consulte cuadro 1).

7 Los datos de las juntas de acción comunal registradas en las asociaciones comunales existentes fueron aportados por los líderes de cada una de estas organizaciones.

8 Se aclara que la diferencia numérica entre los vinculados de las JAC pertenecientes a las asociaciones comunales y los que aparecen en la Secretaria departamental del interior y la participación ciudadana radica en quien hace el registro legal de la organización es la secretaria como tal y una vez hecho el debido proceso la JAC o las JAC inscritas son autónomas o no de pertenecer a alguna asocomunal.

Cuadro 1. Padrón de organizaciones comunitarias.

Padrón de Organizaciones Comunitarias	
Asociaciones comunales	Total vinculados JAC
Asocumunal	189
Asccomuseis	14
Juntas de acción comunal (JAC)	Total vinculados JAC
JAC área urbana	159
JAC área rural	103

Fuente: Secretaria Departamental del Interior y Participación Ciudadana, Noviembre de 2015.

Geográficamente, la mayor parte de las Juntas de Acción Comunal (JAC) del área urbana de la capital Cordobesa se concentran en sectores muy populares (Se estima que un 95% de estas organizaciones están distribuidos en barrios como Canta Claro, Villa Jiménez, Paz del Norte, Mocari, Camilo Torres, Santander, Santa Fe, La Granja, Edmundo López, Los Robles del Norte, El Paraíso, Galilea, El Dorado, Pastrana Borrero, La Vid; entre otros tantos vecindarios con características socioeconómicas iguales). El nivel de formación de los líderes de este tipo de corporaciones está marcado por la desigualdad, tan solo un 38% (7 individuos) tienen un nivel educativo universitario, contra un 56% (10 personas) con una formación meramente básica que va de primaria a secundaria culminada, solo un 6% tienen estudios técnicos (Consúltese figura 2). La baja formación académica de los líderes que están al frente de las JAC puede influir en la capacidad de comprensión de sus realidades, sobre todo en el no desarrollo de competencias, por un lado de pensamiento crítico como las propuestas por Facione (2007), por otra parte de tipo argumentativa y propositivas en la búsqueda de soluciones a problemas ambientales locales. Se resalta que a pesar que más del 50% no posee un nivel de educación superior, hay algunas personas que con el paso del tiempo han ido ganado experiencia y conocimiento de la letra menuda en temas de organizaciones comunales; no obstante, mejorar el nivel de formación de las personas es prioritario a la hora de incorporarse a la vida como ciudadanos y al seno de una comunidad política (Calvo, 2003, p10). Es necesario aumentar el nivel de formación de los líderes comunales con el fin de contribuir al fortalecimiento de los procesos comunales al interior y exterior de las organizaciones.

Las JAC que trabajan en el perímetro urbano de la ciudad lo hacen desde un enfoque netamente social (Se calculó basado en los datos obtenidos con la aplicación del instrumento que un 94% de estas asociaciones desarrolla sus actividades bajo este enfoque). Por lo tanto, las Juntas de Acción Comunal carecen de un enfoque ambiental que les permita integrar lo social con lo económico y lo natural (Consúltese figura 3), bajo una visión holística y sistémica que como mínimo permita alcanzar la sostenibilidad ambiental y contribuya al desarrollo sostenible del territorio, es decir, a través de la interacción eficiente de dichas esferas se pueda llegar al tan anhelado desarrollo sostenible en sus diferentes escalas territoriales: Local, regional, nacional y global. La misma problemática ambiental demanda organizaciones sociales que fomente la gestión ambiental en la búsqueda de soluciones para la misma.

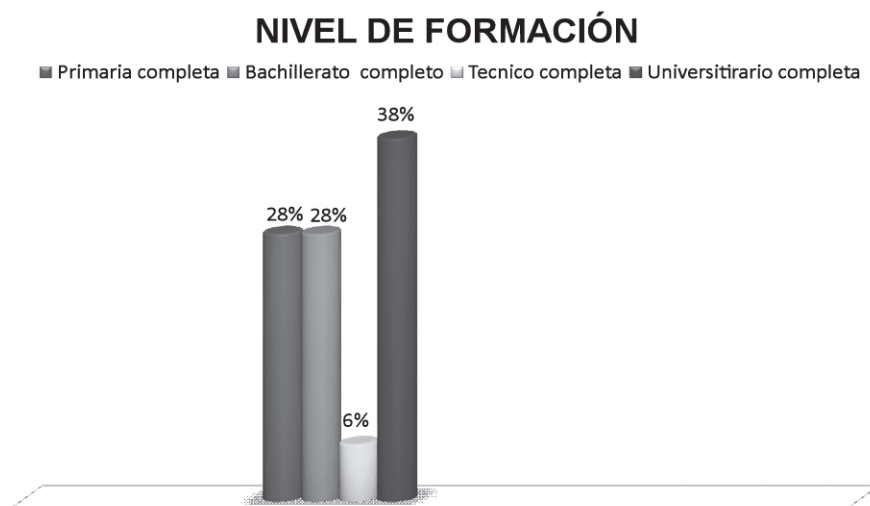


Figura 2. Nivel de formación. Fuente: Elaboración propia.

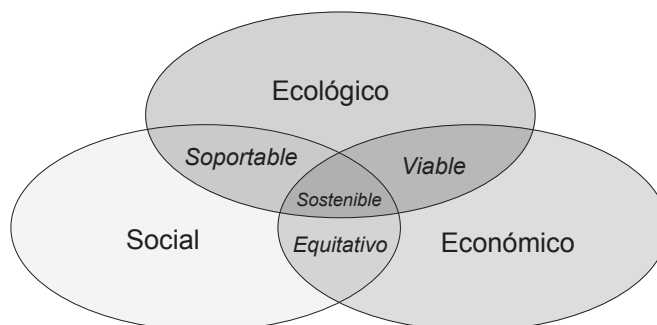


Figura 3. Esquema del desarrollo sostenible. Fuente: Dréo, Johann. 2006.

Está claro que las JAC desconocen la importancia de aplicar un enfoque de carácter ambiental a su organización, tanta es la falencia en el tema que el 72% de los presidentes encuestados aseguran que no realizan un diagnóstico o perfil ambiental de sus comunidades, entonces surge la pregunta ¿Cómo pueden estas organizaciones sociales plantear soluciones a sus necesidades y a los problemas y conflictos ambientales presentes en su sector si no conocen el estado actual en que se encuentran?, queda en duda la calidad de los “diagnósticos” que han realizado el restante 22%”, pues al estar en tales comunidades se visibiliza una cantidad de problemas socioambientales, que a la luz de un perfil ambiental bien elaborado, ya se habrían podido plantear una serie de soluciones para éstos. Igualmente son pocos los proyectos ambientales que las JAC desarrollan o han desarrollado desde su constitución legal, apenas el 39% adelanta o ha adelantado y muy esporádicamente algún proyecto de corte ambiental, entre los que se resalta la limpieza de canales, arborización y campañas educativas. Mucho peor aún, una comunidad que desconozca los mecanismos de participación ciudadana, que básicamente son las herramientas con las que cuenta para hacer valer sus derechos, es una organización indefensa, fácil de someter y manipular. El 67% de los encuestados no tienen conocimiento ni han hecho uso de estos instrumentos legales tan elementales en la gestión comunitaria y sobre todo en la gestión ambiental comunitaria donde se tiene que velar por un ambiente sano. El 94% de las personas a las que se les encuestó afirman que el gobierno no les ha brindado apoyo o cualificación en lo referente al desarrollo comunitario, no se sienten

fuertes en la temática. Esencialmente la estructura organizativa al interior de las JAC es de tipo vertical (78% presentan esta estructura) dejando la mayor responsabilidad en el presidente de la organización y restando importancia a la ayuda que otros miembros pudieran prestar (consulte cuadro 2).

Cuadro 2. Matriz del perfil de la organización. Fuente: Elaboración propia.

PERFIL DE LA ORGANIZACIÓN					
Preguntas	Respuestas				
	Ambiental (0%)	Social (94%)	Político (6%)	Indígena (0%)	Afro (0%)
¿Cuál es el enfoque de su organización?					
¿Desarrollaron algún diagnóstico previo de las condiciones socioeconómicas y ambientales de las comunidades pertenecientes a la organización?	Si (28%)			No (72%)	
¿Cómo define la estructura de su organización?	Vertical (78%)			Horizontal (22%)	
¿ Los integrantes de la organización tienen conocimientos sobre mecanismos de participación ciudadanada?	Si (33%)			No (67%)	
¿La organización recibe ayuda o cualificación por parte del estado en temas de desarrollo comunitario?	Si (6%)			No (94%)	
¿La organización adelante o ha adelantado proyectos de gestión o educación ambiental en las comunidades que la integran?	Si (39%)			No (61%)	

Al preguntarles ¿Cuál era el procedimiento que desarrollaron para organizarse a nivel comunitario? la respuesta dada fue unificada, el primer paso fue la realización de reuniones para socializar la idea de constituir la JAC, seguidamente la postulación de candidatos para los diferentes cargos y comités, después la elaboración de estatutos y su posterior registro ante la Cámara de Comercio y la Secretaria del Interior y la Participación Ciudadana. También se puede indicar que las Juntas de Acción Comunal de la Ciudad se originan mas por cuestiones pasionales que por verdaderos procesos de planificación que conlleven a originar estructuras sociales eficientes y resilientes al tiempo, no se les da la verdadera importancia que tienen para construir un tejido ambiental en los territorios. Los principales motivos que señalan para organizarse a nivel comunitario se centran en la obtención de beneficios para las comunidades y tener representatividad ante el gobierno local y las instituciones del estado.

El papel de las JAC ante las comunidades y según las opiniones dadas por sus representantes legales, es el de gestionar proyectos y dar orientaciones a las poblaciones frente alguna situación problemica. Así mismo, como principal estrategia o mecanismo para la solución de problemas, hacen énfasis en la ejecución de reuniones; sin embargo existen otros mecanismos o estrategias que podrían tenerse en cuenta y ser mucho más eficiente que las simples reuniones, como el desarrollo de metodologías que podrían incluir: analizar, evaluar y reducir el problema, buscar la raíz del problema, evaluar métodos y acciones de solución, desarrollar un plan de acción, documentar y efectuar seguimiento y evaluación al problema. Las personas o colectivos que no desarrollan competencias en el análisis y la solución de problemas terminan

experimentando tal como señala Guerra (sf) el fenómeno de visión de túnel, que no es más que centrarse solo en el problema y no en la solución o soluciones para el mismo.

Dentro de las principales debilidades que presentan las JAC como organización se tiene la falta de compromiso y responsabilidad de sus afiliados, aseguran los líderes entrevistados que son pocos los miembros que trabajan de verdad por el bien de las comunidades, como principal amenaza que rodea a este tipo de instituciones, todos y absolutamente todos los presidentes de junta consideraron a la politiquería como su primer enemigo, para que las JAC puedan gestionar acciones que favorezcan a los barrios deben estar teñidas de algún color político, sin esta cualidad el apoyo no será suficiente para el desarrollo de proyectos locales. Seguidamente el respaldo a cabalidad por parte de las empresas del sector privado no se da de forma eficiente, por ello muchas de las gestiones terminan siendo inconclusas. Para algunos miembros de las asociaciones comunales resaltan como fortalezas la constancia y empeño de algunos líderes para continuar desarrollando actividades comunitarias a pesar de lo mal pago, por un lado de las comunidades beneficiadas, y por otro de los politiqueros de turno. El espíritu de superación que tienen los integrantes de las JAC es visto por sus cabezas visibles como una oportunidad para fortalecer a nivel estructural a dichas organizaciones sociales, así como el interés de servir a las comunidades para mejorar las condiciones de vida y su entorno.

En cuanto al tema de las percepciones que poseen algunos actores sociales e institucionales que pertenecen al sector público y privado referente a 9 ítems relacionados con organizaciones comunales. Al preguntársele a los encuestados acerca de si desde su organización que estrategias de planeación, instrumentación de políticas, funciones, actividades y medidas de gestión ambiental comunitaria, aplicaban o si fomentaban el trabajo mancomunadamente con las asocomunales para la solución de la problemática ambiental local, se podría decir que las opiniones no variaron mucho en términos de que es muy poco lo que se ha hecho tanto en el sector público como privado para implementar o fomentar políticas o acciones de gestión ambiental, sólo la alcaldía de Montería a derivado “proyectos sostenibles” para poblaciones de alto impacto en el marco del plan 2032 (“Ciudad sostenible”).

Tanto los actores públicos como privados consideran que las organizaciones sociales (JAC - Asocomunales) si pueden ser medios o elementos claves para la solución de la problemática ambiental local, puesto que a través de estas entidades se pueden generar acciones desde la gestión ambiental para solucionar los problemas ambientales presentes en las comunidades; sin embargo al preguntarles acerca de que percepción tenían acerca de las organizaciones comunitarias que fomentan la gestión ambiental local las opiniones estuvieron divididas y centradas en dos consideraciones: 1) No favorable debido a que por lo menos a nivel del área urbana de Montería son muy pocas las JAC que fomentan la gestión ambiental y no son generadoras de soluciones a problemas ambientales, además de ser poco visibles, 2) Favorable debido a que creen que por el hecho de fomentar la gestión ambiental local ya en si es algo positivo, no obstante la gran mayoría de entrevistados señalan que las organizaciones sociales que fomentan la gestión ambiental pueden tener un mayor impacto de tipo positivo y más funcionales que las que no trabajan desde este marco debido a que éstas se convierten en elemento generadores de posibles soluciones a los problemas presentes en los territorios (Ver matriz de percepciones y creencias aquí <https://goo.gl/Y5gssM>).

En el mismo orden de ideas, al preguntárseles que si tenían conocimiento de experiencias exitosas que se hubiesen llevado a cabo de organizaciones comunales que fomentan la gestión ambiental a nivel local, fueron muy pocas las que señalaron salvo las Juntas de Acción Comunal del barrio la Pradera, Santander y Buenavista que han hecho campañas de arborización, educación ambiental y aplicación de mecanismos de participación ciudadana para solucionar problemas de tipo ambiental. Llama mucho la atención que a la hora de preguntarles qué



elementos tendrían en cuenta para la formulación de un manual de organización comunitaria, los entrevistados coincidieron en que la cualificación era un aspecto fundamental para las organizaciones comunales, indicando temas que van desde mecanismos de participación ciudadana, estructura organizacional hasta la protección del ambiente, entre otros más.

Hubo consenso total al consultárseles acerca de que si creían que las Juntas Comunales se encontraban estacadas en temas tan claves para el desarrollo comunitario como lo son el empoderamiento y la apropiación. La respuesta fue un sí rotundo y asocian este estancamiento a la politiquería que permea todas las organizaciones comunitarias, así mismo también estuvieron de acuerdo al preguntarles si consideraban que las JAC hacían parte de la maquinaria politiquera de la ciudad, su respuesta fue que se encontraban de acuerdo con la afirmación, dentro de los factores que apuntan a que se de este fenómeno se indican:

- Bajo nivel económico y educativo de los miembros de las JAC y de las comunidades donde están se encuentran.
- Líderes comunitarios corruptos que buscan sus propios intereses.

En síntesis, la percepción que poseen las personas desde lo público y lo privado ya sea que estas se desenvuelvan desde el marco de la gestión ambiental o no es poco favorable. No se perciben como estructuras sociales serias capaces de gestionar el desarrollo sostenible local, sino como asociaciones serviles a los intereses políticos de los caciques locales, perdiendo totalmente la finalidad para la que fueron creadas, es decir buscar soluciones a las problemáticas de sus comunidades. Así mismo, es casi nulo el enfoque ambiental para el accionar de estas organizaciones, carecen de conocimientos acerca del ambiente y como realizar gestiones o ante que establecimientos solicitar acciones encaminadas a la protección del entorno donde habitan.

Manual de organización comunitaria

Un manual es un documento guía que contiene los pasos para llevar a cabo una acción de forma adecuada. En el caso del manual propuesto (Consúltese figura 4), lo que se buscó fue establecer la forma en la que debería estructurarse eficientemente una organización de tipo comunitaria en el área urbana de Montería. Para ello, se definieron cuatro elementos claves y articuladores asociados a igual número de fases, y dos elementos complementarios al manual, el primer elemento complementario hace alusión al ciclo PHVA (Planear, Hacer, Verificar y Actuar) enmarcado en la mejora continua tanto del manual en sí como de la organización comunitaria. Según Rincón (1998, p51) el PHVA es un concepto gerencial que dinamiza la relación entre el hombre y los procesos y busca controlarlos mediante el establecimiento de estándares. El concepto de PHVA conduce a mejorar continuamente los procesos de cualquier organización (Moreira, 2006). Por otra parte, uno de los principales problemas de las organizaciones de tipo social en el casco urbano es que no generan procesos de mejora continua ni al interior ni al exterior de la organización, convirtiéndose en estructuras poco funcionales y resilientes a los cambios socioambientales que ocurren hoy; sin omitir la ausencia de un documento guía basado en las realidades y particularidades de las comunidades que contribuya a su organización eficiente.

El segundo elemento complementario hace mención a los enfoques que se deben tener en cuenta a la hora de estructurar la organización social basándose en la respectiva aplicación del manual en cuestión. Para Villadiego et al (2013, p94) el enfoque comunitario busca involucrar a las personas en el análisis de los problemas ambientales de sus territorios. Así mismo, desde el enfoque sistémico y según Covas (2004, p3) todo los problemas medioambientales tienen necesariamente una constitución sistémica, al considerarlo como un todo organizado,

compuesto por partes que interactúan entre sí. El enfoque de desarrollo sostenible permite entender la interrelación entre los diferentes componentes del ambiente: Social, económico y natural y a concretar las potencialidades de una región.

Como elementos fundamentales a considerar en el documento se tuvo en primera instancia el establecimiento de un perfil ambiental del territorio donde se encuentran las comunidades que desean organizarse. Lo anterior, se relaciona con el desarrollo de la fase diagnóstica a fin de tener una radiografía en tiempo real del estado actual del territorio: Llámese barrio, comuna, etc. En el perfil ambiental se analizan variables relacionadas con los aspectos socioeconómicos de las poblaciones interesadas en estructurarse comunitariamente e incluye la identificación y análisis de la problemática ambiental existente. Para Prado (2005) un perfil proporciona a una organización (llámese gobierno, municipalidad, instituciones y/o a la sociedad civil organizada) los lineamientos necesarios para el tratamiento del ambiente, así como los objetivos y políticas para desarrollar acciones mancomunadas entre cada uno de los actores existentes en esa organización.

Secuencialmente, a partir del perfil y su fase diagnóstica se desarrolla lo que es la estructura de la organización comunitaria, esto involucra la definición de la política y enfoques sobre los que trabajará la organización, su visión, misión y objetivos los cuales son componentes claves en toda estructura organizativa, especialmente en las de tipo comunal. Enz et al (2012) recomienda que a la hora de formular una misión se den respuestas a interrogantes como ¿Quiénes somos?, ¿Qué hacemos?, ¿Cómo vamos a hacerlo? ¿Con que actores debemos relacionarnos?. Igualmente importante es definir la estructura jerárquica de la organización comunitaria, es decir la forma en que se comunicaran, la definición de las responsabilidades y la autoridad al interior de la misma. Existen dos tipos de estructura jerárquica: Horizontal y Vertical. Las Juntas de Acción Comunal (JAC) en Montería presentan una estructura de tipo vertical, es decir hay una cabeza visible y sobre esta reposa la mayor responsabilidad y la toma de decisiones. Este tipo de jerarquía les quita protagonismo y responsabilidades a otras figuras que integran las juntas comunales. Lo ideal sería una redistribución de responsabilidades entre todos los miembros de la institución.

De igual forma, la definición de las líneas de acción de la organización comunal permite establecer con claridad las áreas de trabajo a ejecutar, especificando las mismas y permitiendo la creación de redes de trabajo colaborativo que faciliten mediante estructuras especializadas el desarrollo de éstas. Por último, una vez definido cada uno de los puntos arriba mencionados es cuando debería darse paso a la constitución jurídica legal de la organización ante la cámara de comercio y su respectivo registro en la Secretaría Departamental del Interior y la Participación Ciudadana. Por lo general, y como se menciono anteriormente, las organizaciones comunitarias en la ciudad surgen más por cuestiones pasionales que por procesos de planificación con un fuerte componente de gestión ambiental local y sostenible. En pocas palabras las JAC nacen en papel y mueren en papel a los pocos minutos de ser registradas. Comienzan por el último paso propuesto aquí para lograr una estructura organizativa eficiente, la elaboración de estatutos, y muy seguramente copiados de otra JAC, después realizan el registro de la misma ante cámara de comercio.

Los procesos de cualificación en una estructura organizativa les permiten ser más competitivas y estar actualizado sobre las realidades que los rodean, Por ello el tercer elemento del manual formulado es la cualificación. Es necesario y vital que las organizaciones comunales se cualifiquen periódicamente sobre todo en temas tan básicos y vitales como: 1) Mecanismos de participación ciudadana, 2) Formulación y gestión de proyectos, 3) Política, gobernabilidad del territorio y gestión ambiental local, 4) Desarrollo, organización, empoderamiento y apropiación

comunitaria, 5) Tecnologías de la Información y las Comunicaciones y 6) Solución de conflictos entre otros temas.

La fase de cualificación se estructura teniendo en cuenta tanto el perfil ambiental como la estructura organizativa para una vez finalizada llegar a cuarta fase del manual y último elemento a considerar, concretado en la mediación para la solución a los problemas y necesidades de las comunidades. Esto comprende tres aspectos: 1) alternativas de solución a los problemas identificados en el perfil ambiental, 2) evaluación y viabilización de las alternativas propuestas y 3) implementación de soluciones a los problemas de las comunidades. Por último, y como señala Marchoni (2007) el proceso comunitario sea de organización, desarrollo o ambos, solo avanzará si hay voluntad tanto política (que incluye administradores y población) como técnico-científica (por parte de los recursos) debido a que el futuro cada vez se hace más complejo y se necesitara más conocimientos y ciencia aplicadas para brindar mejores condiciones de vida a las comunidades.

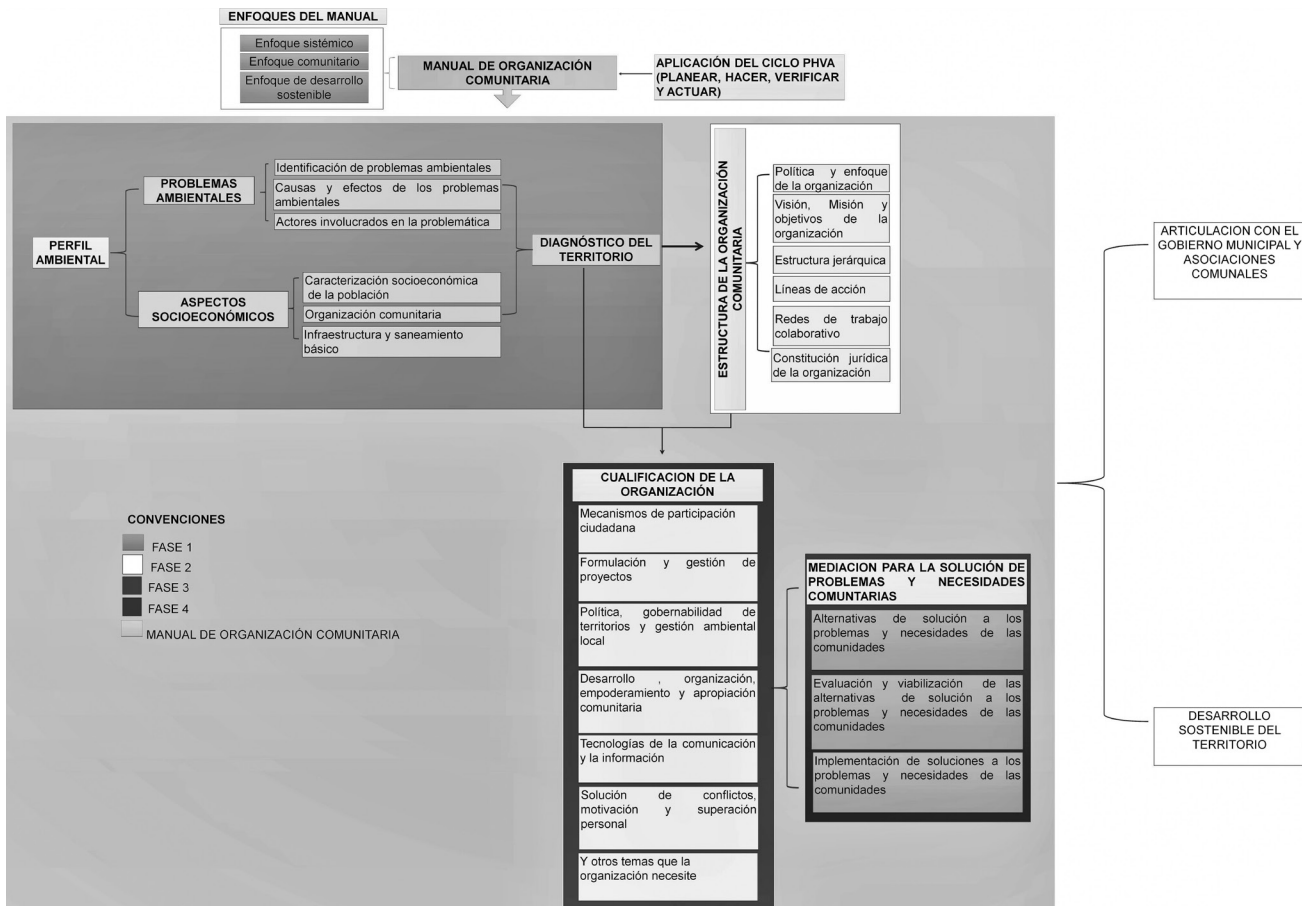


Figura 4. Manual de organización comunitaria propuesta. Fuente: Elaboración propia a partir de literatura especializada.

Ventajas del manual

1. El manual se construyó teniendo en cuenta las percepciones y diagnóstico realizado de las JAC a fin de que éste respondiera al contexto en el que se desarrolla las organizaciones sociales del área urbana de Montería.
2. Se consideraron para la elaboración del manual tanto el enfoque holístico como el de

desarrollo sostenible a fin contribuir con la gestión ambiental local impulsada desde las JAC.

3. Se busca que el manual sea resiliente en el tiempo, es decir, se incluyó un componente de mejora continua con el ciclo PHVA.
4. El manual propende porque sean las comunidades el actor central, que se apropien del mismo y a partir de su implementación generen soluciones a los problemas presentes, indiferentemente de cuáles de los demás actores involucrados participen, sobre todo los estatales.
5. El manual busca contribuir, en primera instancia a la organización comunitaria proambiental en el territorio y como segunda medida a la sostenibilidad ambiental del territorio.

Conclusiones

Las JAC son estructuras sociales fundamentales para alcanzar el desarrollo sostenible de una ciudad o poblado, a partir del estudio realizado se obtuvieron las siguientes conclusiones:

- Los individuos que integran las juntas de acción comunal son personas que se caracterizan por los bajos ingresos económicos y nivel de educación, pocas oportunidades de empleo y de desarrollo personal. Pertenecen en su mayoría estratos socioeconómicos bajos.
- Es prioritario que se trabaje de manera articulada entre las Juntas de Acción Comunal en pro de la búsqueda de soluciones a las problemáticas locales de la ciudad, tanto a nivel urbano como rural, enmarcado lo anterior en el concepto de que los problemas ambientales y el ambiente como tal no tienen límites político-administrativos. Así mismo, el intercambio de experiencias es un factor enriquecedor para que se mejora la forma de accionar en de este tipo de organizaciones y a su vez de retroalimentarse como estructuras claves del territorio para alcanzar la sostenibilidad ambiental.
- Una de las principales debilidades que presentan las juntas de Acción Comunal del área urbana de Montería (sin omitir las organizaciones de carácter rural), es que éstas se forman mas como una acción pasional y espontánea de organizar un grupo que responda a fines politiqueros, y no como una estructura diseñada sobre un diagnostico que caracterice a la comunidad en sí y a los individuos que la conformaran y sobre todo a los problemas ambientales y las necesidades a las cuales se les debe dar solución. La finalidad de las JAC es contribuir al desarrollo sostenible y a la eficiente gestión ambiental del territorio y los líderes de las organizaciones no tienen claridad al respecto de lo que involucra en si alcanzar el desarrollo sostenible y la gestión ambiental territorial.
- La estructura organizativa de las Juntas de Acción Comunal es de orden vertical, es decir la mayor responsabilidad se centra sobre una cabeza visible, restando importancia a otros individuos que hacen parte de la organización y al papel que pudieran desarrollar al interior y exterior de la misma. Los procesos de cualificación en este tipo de organizaciones son muy pobres, sobre todo en lo relacionado a la formulación de proyectos y a la capacidad para la gestión de los mismos.
- Elementos como el perfil del territorio, la estructuración de las organizaciones a partir del perfil ambiental, la cualificación de los integrantes de las organizaciones comunales (sobre todo en temas tan fundamentales hoy día como el desarrollo sostenible, los mecanismos de participación ciudadana, la formulación de proyectos y su gestión y las TIC, la construcción de redes ambientales, estructura organizacional, etc) y la mediación para la solución de problemas y necesidades son factores altamente relevantes a la hora de diseñar un manual de organizaciones comunitarias eficiente.

Recomendaciones

Dentro de las principales recomendaciones que se pueden hacer a partir del estudio se indican las siguientes:

- Establecer los perfiles ambientales de las JAC del área urbana de Montería a fin de conocer el estado actual en que se encuentran las comunidades pertenecientes a estas organizaciones sociales.
- Generar estructuras sociales con un fuerte apoyo político y técnico científico que sean resilientes a los cambios sociales y que realmente propendan por el desarrollo sostenible y la gestión ambiental local de los territorios que estas ocupan.
- Fomentar espacios de discusión a nivel de las comunidades en pro de la solución de los problemas ambientales locales y a la vez cualificar a las comunidades acerca de lo que es en si una Junta de Acción Comunal y el verdadero fin que esta persigue. En lo posible, a partir de las estructuras sociales generadas con las JAC construir redes ambientales como herramienta para la solución de los problemas socioambientales presentes en sus áreas de acción.
- Evitar al máximo que las estructuras politiqueras de la región permeen este tipo de organizaciones sociales. Para ello es necesario como se mencionó anteriormente generar espacios de discusión y cualificación a nivel de comunidades y a su vez implementar el manual en cada una de las Juntas de Acción Comunal de la ciudad.
- Es necesario generar procesos de desarrollo comunitario a fin de mejorar la calidad de vida de las poblaciones presentes en el área urbana. Lo antes mencionado en función del trabajo en equipo y el trazado de metas y objetivos a corto, mediano y largo plazo.

Referencias

- Calvo, C. 2003. ¿Por qué y cómo educar? Paideía y política en Aristóteles (En línea). **Revista Δάμων**, n. 30, p. 9-21. Consultado en dic 9 de 2015. Disponible en: <http://revistas.um.es/daimon/article/viewFile/14281/13761>
- Chacon, M. 2010. El desarrollo comunitario (En línea). Revista innovación y experiencias educativas. N° 29. Consultado en Diciembre 9 de 2015. Disponible en http://www.csicsif.es/andalucia/modules/mod_ense/revista/pdf/Numero_29/M_DOLORES_CHACON_1.pdf
- Covas, O. (2004). La educación ambiental a partir de tres enfoques: Comunitario, sistémico e interdisciplinario (En línea). Revista Iberoamericana de Educación, 34, 1-7. Consultado en dic 9 de 2015. Disponible en: http://www.rieoei.org/rie_contenedor.php?numero=eduamb5&titulo=Educaci%F3n%20Ambiental%20a%20partir%20de%20tres%20enfoques:%20comunitario,%20sist%E9mico%20e%20interdisciplinario
- Departamento Nacional de Estadísticas (DANE), 2015. Proyecciones Municipales y departamentales de población 2006 - 2020. Consultado en Nov 19 de 2015. Disponible en: http://www.dane.gov.co/files/investigaciones/poblacion/proyepobla06_20/ProyeccionMunicipios2005_2020.xls
- Duque, P; y Gaitán, C. 2001. Una Mirada Prospectiva a las Metodologías de Intervención Comunitaria, Responsabilidad de Todos. Consejo Nacional de Trabajo Social. Bogotá, Colombia. p. 45
- Enz, A; Franco, V; & Spagnuolo, V. (2012). Manual de comunicación para organizaciones sociales: hacia una gestión estratégica y participativa. Buenos Aires: Comunia Asociación Civil
- Facione, P.2007. Pensamiento Crítico: ¿Qué es y por qué es importante? (En Línea). Consultado en dic 9 de 2015. Disponible en: www.eduteka.org/PensamientoCríticoFacione.php
- Guerra, G. sf. La solución de problemas (En Línea). Consultado en dic 9 de 2015. Disponible en: https://portal.uc3m.es/portal/page/portal/cultura_y_deporte/eses/historico/1415/orientacion3/bienestar_emocional/gestion_emociones/Soluci%F3n%20de%20problemas.PDF
- Instituto de Formación Permanente (INSFOP) y el Programa Especial para la Seguridad Alimentaria Nutricional Nacional (PESANN/FAO), 2008. Organización comunitaria (en línea). Consultado en Nov 19 de 2015. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-as496s.pdf>

- Marchioni, M. 2002. Las Agendas 21 y la evolución de los procesos de participación social. Sostenibilidad ¿para qué y para quién? (En línea). Revista *Sostenible* Núm. 4. Consultado en dic 9 de 2015 Disponible en: <http://www.raco.cat/index.php/Sostenible/article/view/261899>
- Marchioni, M. 2007. Organización y desarrollo de la comunidad: La intervención comunitaria en las nuevas condiciones sociales (en línea). Consultado en Diciembre 9 de 2015. Disponible en http://extension.uned.es/archivos_publicos/webex_actividades/4698/acomunitariaponencia13b.pdf
- Mercer, H; y Ruiz, A. 2004. Community participation in health management: an evaluation of the UNI Program experience, Interface – Comunic; Saúde (En línea). Educ., v.8, n.15, p.289-302 Consultado en nov 19 de 2015. Disponible en <http://www.scielosp.org/pdf/icse/v8n15/a08v8n15.pdf>
- Moreira, M. 2006. La gestión por procesos en las instituciones de información (En línea). Acimed; Vol 14 (5). Consultado en dic 9 de 2015. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/aci/vol14_5_06/aci11506.htm_
- Prado, F. (2000). Perfil ambiental de Santa Cruz de la Sierra, Bolivia. Editor Gobierno Municipal de Santa Cruz de la Sierra, SINPA, Número 13, 79 pp. Consultado en dic 9 de 2015. Disponible en <http://repub.eur.nl/pub/32228/SINPA%2013%20Prado%20F%20%282000%29%20Perfil%20Ambiental%20de%20Santa%20Cruz%20de%20la%20Sierra.pdf>
- Rincón, R. 1998. Los indicadores de gestión organizacional: una guía para su definición (En línea). Revista Universidad EAFIT, v. 34, n. 111, p. 43-59. Consultado en dic 9 de 2015. Disponible en: <http://publicaciones.eafit.edu.co/index.php/revista-universidad-eafit/article/view/1104/996>
- Ross, M. 1978. Organización comunitaria colección asistencia social. Madrid: Federación Española de Escuelas de la Iglesia de Asistentes Sociales, p. 65
- Villadiego, J et al. 2013. Aspectos teóricos a considerar para la generación de un modelo no formal y participativo de educación ambiental orientado a la protección y conservación de los humedales Bañó y Los Negros (En línea). Revista Tecnología en Marcha, v. 26, n. 4, p. pág. 92-99, Consultado en dic. 12 de 2015. Disponible en: http://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/1587
- Villadiego, J, et al. 2014. Dinámica espacial e impactos económicos de los usos del suelo: Estudio de caso aplicado al cantón norte de Montería, Colombia. Editorial Académica Española. ISSN 978-3-8443-4484-4. p137. Alemania.

La revista *Tecnología en Marcha* es publicada por la Editorial Tecnológica de Costa Rica, con periodicidad trimestral. Su principal temática es la difusión de resultados de investigación en áreas de Ingeniería. El contenido de la revista está dirigido a investigadores, especialistas, docentes y estudiantes universitarios de todo el mundo.

1. Los artículos deberán ser originales, inéditos y no pueden participar simultáneamente en otros procesos de publicación.
2. La extensión de los trabajos debe oscilar entre 10 y 20 páginas de 21,59 x 27.94 cm (8,5 x 11 pulgadas). Se debe presentar en un documento de Microsoft Word, con interlínea de espacio y medio, en una columna, en letra Times 12 pts.
3. Los títulos de los artículos deben ser sencillos, claros, cortos y estar en español e inglés.
4. Es necesario indicar claramente el nombre y los dos apellidos del autor, nacionalidad, profesión, teléfonos, correo electrónico, dirección exacta, lugar de trabajo y país de origen de dicha entidad.
5. Las palabras clave deben presentarse en español y en inglés. Además, el resumen debe estar compuesto por 250 palabras y aparecer en ambos idiomas.
6. Las imágenes se deben enviar en un archivo aparte del documento principal. En caso de ser escaneadas, la resolución mínima es de 300 ppi. Los formatos permitidos son: .jpg, .tiff, .eps, .psd y .ai.
7. Las fórmulas y ecuaciones matemáticas deben realizarse con el editor de ecuaciones de Word.
8. En lo pertinente, se usará el Sistema Internacional de Unidades.
9. La bibliografía debe aparecer al final del documento, ordenada según su aparición en el documento y utilizar el formato IEEE.
10. Los documentos deberán enviarse a las direcciones electrónicas editorial@itcr.ac.cr o alvarez@itcr.ac.cr
11. La Comisión editorial no dará trámite de edición al artículo que no cumpla con estos requisitos.

Nota importante

Los originales serán sometidos a un proceso editorial que se desarrollará en varias fases. En primer lugar, serán objeto de una evaluación preliminar por parte de los miembros del Comité Editorial, quienes determinarán la pertinencia de su publicación. Una vez establecido que cumple con los requisitos temáticos y formales indicados en estas instrucciones, será enviado a dos pares académicos externos para decidir en forma anónima (doble ciego) si debe publicarse, si necesita cambios o si se rechaza. En caso de que ambos llegaran a discrepar, el artículo será enviado a un tercer evaluador, para tomar la decisión. Los resultados del dictamen académico serán inapelables en todos los casos. En caso de que el artículo sea aprobado para su publicación, el autor autoriza a la Editorial Tecnológica de Costa Rica para que lo incluya en la revista y pueda editarlo, reproducirlo, distribuirlo, exhibirlo y comunicarlo en el país y en el extranjero mediante medios impresos y electrónicos bajo la licencia *Creative Commons*.

Instructions to publish in **TECNOLOGÍA** *en marcha*

The journal *Tecnología en Marcha* is published by the Editorial Tecnológica de Costa Rica every three months. It focuses mainly in disseminating the results of research of engineering areas. The journal's contents are intended for researchers, experts, teachers and university students around the world.

1. All articles must be originals, unpublished, and cannot be simultaneously used in other processes.
2. Papers may be 10-20 pages long (8.5 x 11 in, or 21.59 x 27.94 cm). All documents must be submitted in MS Word, 1.5 line spacing, using Times 12 pts. font and in one column.
3. Article titles must be simple, clear, short, and be included in both Spanish and English.
4. The name and (two) last names of the author should be clearly indicated, along with their profession, telephone numbers, email, physical address, place of work (organization, department, school), and where the organization is based.
5. The key words must be included in both Spanish and English. Furthermore, the abstract must be 250 words long, and should also be submitted in both languages.
6. The images must be delivered in a separate document. If scanned, the minimum resolution is 300 ppi. The formats allowed are .jpg, .tiff, .eps, .psd, and .ai.
7. Mathematical equations and formulas must be done with MS Office's Equation Editor.
8. Where necessary, use the International System of Units.
9. Bibliography will be included at the end of the document, arranged order based on IEEE format.
10. Papers should be sent to the following emails: editorial@itcr.ac.cr, or alamirez@itcr.ac.cr
11. The Editorial Committee will only consider for publication the articles meeting the above requirements.

Important note

All originals will be subject to an editorial process consisting of several phases. First, a preliminary assessment will be done by members of the Editorial Committee, the Director, and the editors, who will jointly determine whether the article would make a relevant publication. After determining that an article meets the thematic and formal requirements established in these Instructions, it will be sent to two outside academic peers who will decide anonymously (double-blind) whether it should be published, if it needs any changes, or whether it should be turned down. In case of disagreement between these peers, the article will be sent to a third evaluator in order to reach a decision. In no case may the results of this decision be appealed. If the article is accepted for publication, the author authorizes the Editorial Tecnológica de Costa Rica to edit, reproduce, distribute, exhibit and communicate at the country and abroad through print media and electronic equipment under the *Creative Commons* license.

Cronograma 2016

	Vol. 29-1	Vol. 29-2	Vol. 29-3	Vol. 29-4	Vol. 30-1	Vol. 30-2	Vol. 30-3
Recepción de artículos	Mayo - julio 2015	Agosto - octubre 2015	Noviembre 2015 - enero 2016	Febrero - abril 2016	Mayo - julio 2016	Agosto - octubre 2016	Noviembre 2016 - enero 2017
Evaluación de expertos y aprobación	Agosto - setiembre 2015	Noviembre - diciembre 2015	Febrero - marzo 2016	Mayo - Junio 2016	Agosto - setiembre 2016	Noviembre - diciembre 2016	Febrero - marzo 2017
Revisión de estilo y corrección	Octubre 2015	Febrero 2016	Abril 2016	Julio 2016	Octubre 2016	Enero 2017	Abril 2017
Diagramación y correcciones finales	Enero 2016	Marzo 2016	Mayo - junio 2016	Agosto - setiembre 2016	Noviembre - diciembre 2016	Febrero - marzo 2017	Mayo - junio 2017
Publicación del número	Febrero 2016	Mayo 2016	Julio 2016	Octubre 2016	Febrero 2017	Abril 2017	Julio 2017