



ALMEJAS MEDICINALES

Área temática: Química



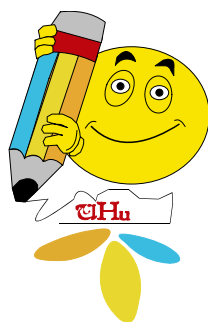
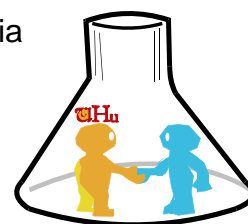
Centro Universitario donde se desarrolla el proyecto:

Centro de Investigación y Desarrollo de Recursos y Tecnologías Agroalimentarias (CIDERTA)



Equipo científico:

Inmaculada Giráldez Díaz, Titular de Universidad
Emilio Morales Carrillo de Albornoz, Titular de Universidad
M^a Jesús Vilchez Lobato, Coordinadora Técnica del Laboratorio de Investigación y Control Agroalimentario de la Universidad de Huelva (LICAH)
Gloria Blanco, Técnica de Laboratorio
Enrique Chaguaceda Garrido, Técnico de Laboratorio
Ana Teresa Cereceda Bachero, Profesora E. Secundaria
Itziar Delgado Ruiz, Profesora E. Secundaria
Elisa García Lorenzo
Paz Ruiz Azcona



Estudiante-investigador 1:

Estudiante-investigador 2:

Estudiante-investigador 3:

Estudiante-investigador 4:

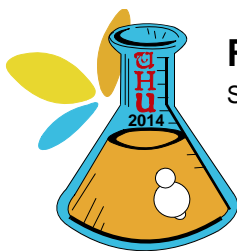
Estudiante-investigador 5:

Estudiante-Investigador 6:

Estudiante-Investigador 7:

Estudiante-Investigador 8

Monitor:



Recursos claves necesarios.

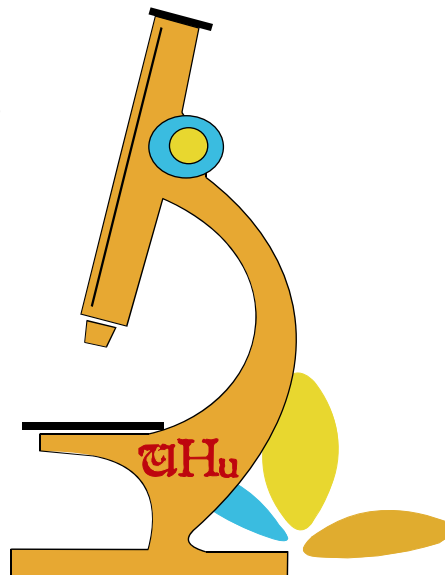
Se especifican los recursos técnicos y material fungible necesario para el desarrollo del proyecto

Reactivos:

Almejas *Ruditapes decussatus* (10 kilos),
Agua de mar sintética: Coral Marine Reef Salf (GroTech)
Microalgas (*Isochrysis galbana* clon T-Iso) liofilizadas (250 g)
Selenometilsecisteina (SeMetSeCys) (1g)
Selenito sódico (Na_2SeO_3) (10 g)
Seleniato sódico (Na_2SeO_4) (10 g)
Selenometionina (SeMet) (1 g)
Nitrógeno líquido, Argón, Ácido nítrico suprapur Merck (2L), Agua oxigenada suprapur Merck (2L), Agua Milli-Q, Guantes, Gafas, Batas

Material:

Cuadernillo para anotar los resultados que se obtendrán durante el taller y todas las observaciones, Bandejas para el cultivo de las almejas (10), Bombas de aire para acuarios (10), Botes de polipropileno de 5 ml para las muestras de almejas y para las disoluciones de las digestiones de las almejas, Papel resman, Balanza de precisión, Conductímetro, pHmetro, Termómetro, Probeta de 1 L, Jarras de plástico de 2 y 5 L, Batidora de brazo, Bisturís, Hojas de bisturís, Pinzas, Liofilizador, Molinillo de café, Espátulas, Pipetas Pasteur de plástico, Pipetas Pasteur de vidrio, Calibre, Tubos de centrifuga de teflón, Horno microondas, Matraces de 5, 10 y 25 mL, Pipetas de 1, 2 y 5 mL, Micropipetas 20-200 μL , 1-5 mL, ICP-MS, Conos para el ICP-MS, Microscopio electrónico, Microscopio óptico, Destilador, Alcoholímetro, Ordenador



Objetivo principal del proyecto

Desarrollar una experiencia de acumulación y biotransformación de compuestos de selenio en almeja fina cuando el aporte es mediante el agua. Las almejas finas se exponen a distintas concentraciones de especies de selenio tanto inorgánica como orgánica.

Los objetivos específicos de este proyecto serán:

1. Cultivar almejas *Ruditapes decussatus* enriquecidas con distintas especies de selenio cuando el aporte es a través del agua.
2. Tomar muestras y pretratar las muestras de almejas
3. Determinar el selenio total en las muestras de almejas mediante ICP-MS
4. Estudio morfológico y análisis de la distribución de Se en la almeja por Microscopía Electrónica

Descripción de la actividad y participación de los estudiantes

Los participantes del taller llevarán a cabo los siguientes experimentos:

1. Durante el tiempo que dura el taller los participantes cultivarán almejas enriquecidas con selenio cuando el aporte de selenio es a través del agua: Las almejas se expondrá a $750 \mu\text{g L}^{-1}$ de Se (IV), $750 \mu\text{g L}^{-1}$ de Se(VI), $5 \mu\text{g L}^{-1}$ SeMet y $5 \mu\text{g L}^{-1}$ SeMetSeCys, y un control ($0 \mu\text{g L}^{-1}$ Se) como Se en bandejas con 0.5 L de agua de mar por almeja (Figura 1).

El protocolo de exposición consistirá en contar el número de almejas muertas y en cambiar diariamente el agua limpiando las bandejas. Se muestreará cada 6 días. Se tomara 2 almejas de cada bandeja para el análisis de selenio. Se alimentaran con 0,25 mg por almeja de *Isochrysis galbana* clon T-Iso una vez a la semana

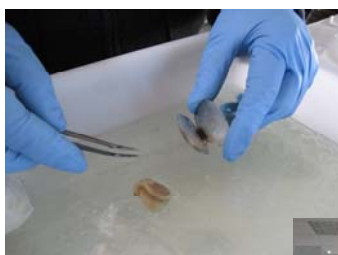


Figura 2.-
Pre-tratamiento de las
muestras de almejas



Figura 1.-
Cultivo de almejas enriquecidas con selenio

2. Pre-tratamiento de las muestra de las almejas: Las almejas muestreadas se abrirán con un bisturí para tomar el material biológico y se liofilizará (Figura 2). Posteriormente, el material biológico se molerá para obtener una muestra homogénea.

3. Determinación de la concentración total de selenio en las muestras de almejas: las muestras liofilizadas se someterá a una digestión ácida con HNO_3 y H_2O_2 y en digerido se determina el selenio total mediante ICP-MS (Figura 3).

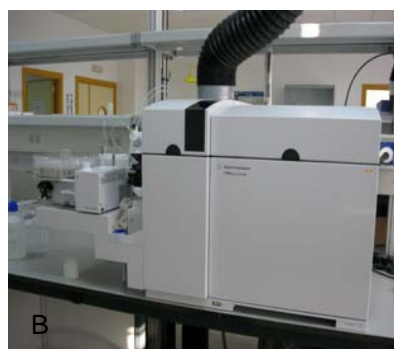


Figura 3.-
Determinación de selenio
total:
A) Digestión con
microondas;
B) determinación mediante
ICP-MS

4. Estudio de la distribución del Se en la almeja mediante Microscopía Electrónica

El Microscopio Electrónico de Transmisión es un tipo de microscopio que utiliza los electrones transmitidos por una muestra para generar una imagen con mayor aumento y resolución que un microscopio óptico convencional (Figura 4). En el Microscopio Electrónico de barrido ambiental las muestras húmedas, sustancias orgánicas o inorgánicas y no conductoras de electricidad pueden ser examinadas en su estado natural sin efectuar modificaciones o reparaciones.



Figura 4.-
Microscopio Electrónico de Transmisión

Se utilizarán ambos equipos para realizar un estudio morfológico y estudio de la distribución de Se en las almejas en distintos momentos de su crecimiento.

Referencias recomendadas

1. The Use of Transplanted *Venerupis decussata* to Evaluate the Pollution of Heavy Metals and Tributyltin in Marinas. J.L. Gómez-Ariza, I. Giráldez, D. Sánchez-Rodas, T. Acuña y E. Morales, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* (1999) 75: 107-120.
2. Uptake and Elimination of Tributyltin in Clams, *Venerupis decussata*. J.L. Gómez-Ariza, E. Morales e I. Giráldez, *Marine Environmental Research* (1999) 47:399-413.
3. Temporal Fluctuations of Tributyltin in the Bivalve *Venerupis decussata* at Five Stations in Southwest Spain. J.L. Gómez-Ariza, I. Giráldez y E. Morales, *Environmental Pollution* (2000) 108: 279-290.
4. Column-Switching System for Selenium Speciation by Coupling Reverse-Phase and Ion-Exchange High-Performance Liquid Chromatography with Microwave-Assisted digestion-Hydride Generation-Atomic Fluorescence Spectrometry. J.L. Gómez-Ariza, D. Sánchez-Rodas, M.A. Caro de la Torre, I. Giráldez y E. Morales, *Journal of Chromatography A* (2000) 889: 33-39.
5. Sample Treatment in Chromatography-based Speciation Analysis. J.L. Gómez-Ariza, E. Morales, I. Giráldez, D. Sánchez-Rodas, A. Velasco, *Journal of Chromatography A* (2001) 938: 211-224.
6. Trace element speciation for environment, food and health. Ed.: L. Ebdon, L. Pitts, R. Cornelis, H. Crews, O.F.X. Donard Ph. Quevauviller. The Royal Society of Chemistry (2001) I.S.B.N: 0-85404-459-0.
7. Pretreatment Procedure for Selenium Speciation in Shellfish using HPLC-MAD-HG-AFS. J.L. Gómez-Ariza, M. A. Caro de la Torre, I. Giráldez, D. Sánchez-Rodas, A. Velasco-Arjona and E. Morales, *Applied Organometallic Chemistry* (2002) 16: 265-270.
8. Speciation analysis of selenium compounds in yeasts using pressurised liquid extraction and liquid chromatography-microwave-assisted digestion-hydride generation-atomic fluorescence spectrometry. J.L. Gómez-Ariza, M.A. Caro de la Torre, I. Giráldez, E. Morales *Analytica Chimica Acta* (2004) 524: 305-314.
9. A simplified method for inorganic selenium and selenoaminoacids speciation based on HPLC-TR-HG-AFS. D. Sánchez-Rodas, F. Mellano, E. Morales, I. Giráldez, *Talanta* (2013) 106: 298-304.

10. Determination of selenomethionine and seleno-methyl-selenocysteine in biota by ultrasonic-assisted enzymatic digestion and multi-shot stir bar sorptive extraction–thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry. F. Mellano, M. Bujalance, I. Giráldez, P. Ruiz-Azcona, D. Sánchez-Rodas, E. Morales, *Journal of Chromatography A* (2013) 1300: 151-158.
11. Temporal fluctuation of metals in seawaters of the Piedras river estuary and the effect of copper on *Venerupis decussate* larvae, P. Ruiz-Azcona, O. Moreno, I. Palanco, I. Giráldez, A. Velasco, E. Morales, *Journal of Shellfish Research* (2013) 32: 291-296.
12. Especiación de compuestos no volátiles de selenio con detección mediante espectroscopía de fluorescencia atómica. Marco Antonio Caro de la Torre. Tesis doctoral (2004). Universidad de Huelva.
13. Especiación de selenio en biota mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas y cromatografía líquida-espectrometría de fluorescencia atómica. Fernanda Mellano. Tesis doctoral (2013). Universidad de Huelva.
14. <http://blog.salinasdelastur.es/video-almejas-medicinales-en-salinas-del-astur/>
15. <http://www.europapress.es/andalucia/sostenible-00672/noticia-cientificos-uhu-estudian-obtencion-almejas-medicinales-salinas-astur-20130117191718.html>
16. <http://andaluciainformacion.es/huelva/284360/investigadores-onubenses-obtienen-almejas-medicinales-que-previenen-el-cancer/>
17. <http://huelvabuenasnoticias.com/2013/02/17/un-proyecto-de-la-universidad-de-huelva-investiga-los-beneficios-de-las-almejas-medicinales-a-traves-del-aporte-de-selenio/>

Descripción de la sesión de presentación de resultados de los proyectos

La duración de este ensayo es superior a la duración del taller para cada grupo, por lo tanto el seguimiento del mismo podrá hacerse a través de las redes sociales.

La presentación de los resultados en el taller científico se llevará a cabo mediante una presentación en Power Point, dónde se describirá el proceso analítico utilizado en la determinación de selenio en almejas mediante ICP-MS en los distintos tratamientos de cultivo de almejas enriquecidas con selenio cuando el aporte de selenio es a través del agua como: Toma de las muestras de almejas, pretratamiento de las muestras de almejas (talla, peso, liofilización), proceso de digestión del tejido biológico así como la determinación de selenio total por ICP-MS y su morfología por microscopía óptica y electrónica. También, expondrán los resultados obtenidos durante el desarrollo del taller como: mortalidad, concentración de selenio y deformaciones de las almejas en los distintos tratamientos.