

AISLAMIENTO Y BÚSQUEDA DE ACTINOBACTERIAS DEL SUELO PRODUCTORAS DE ENZIMAS EXTRACELULARES Y COMPUESTOS CON ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA.

ISOLATION AND SCREENING OF SOIL ACTINOBACTERIA PRODUCERS OF EXTRACELLULAR ENZYMES AND COMPOUNDS WITH ANTIMICROBIAL ACTIVITY.

Héctor Manuel Medina Cuevas y Zahaed Evangelista Martínez¹*

Fecha de recepción 14 de octubre del 2010

Fecha de aceptación 10 de diciembre del 2010

RESUMEN

Las actinobacterias son un grupo de bacterias trascendente en la ecología del suelo porque llevan a cabo la función de reciclar la materia orgánica acumulada. Asimismo, son microorganismos importantes por la capacidad de producir una amplia gama de enzimas extracelulares y una gran variedad de metabolitos secundarios. El objetivo del estudio fue aislar y caracterizar actinobacterias de muestras de suelo de la Reserva de la Biósfera Los Petenes y probar su capacidad para producir compuestos con actividad antimicrobiana y producción de algunas enzimas extracelulares. De tres muestras de suelo tomadas del Centro de Investigación y Vida Silvestre Hampolol se aislaron 59 cepas de actinobacterias, de las cuales se caracterizaron 20. La mayoría de ellas presentaron actividad enzimática extracelular en placa del tipo proteasa y en orden descendente otras cepas presentaron actividad de arparaginasa, lipasa y naringinasa. De las 20 cepas probadas, 18 de ellas presentaron actividad contra bacterias y hongos patógenos. Estos resultados sugieren que los actinomicetos aislados pueden ser un recurso genético que debe

ser aprovechado industrialmente; asimismo el estudio ha generado nuevo conocimiento sobre la existencia de estos microorganismos en la Reserva de la Biósfera Los Petenes

PALABRAS CLAVE: Actinobacterias, los petenes, actividad antimicrobiana, enzimas extracelulares .

ABSTRACT

The Actinobacteria are a group of important bacteria for the soil ecology because they carried out the function of recycling the organic compounds. Moreover, they are important microorganisms by the ability of produce a broad spectrum of extracellular enzymes and secondary metabolites. The goals of this project were isolate and characterize Actinobacteria from the soil of Los Petenes Biosphere Reserve and evaluate the production of antimicrobial compounds and extracellular enzymes. From three soil samples of the Centro de Investigación y Vida Silvestre-Hampolol fifty nine Actinobacteria strains were isolated, of

¹ Dr. en C. Investigador CIATEJ, AC Unidad Sureste. Calle 30 No. 151 X 7 y 7A. Col. García Ginerés. Mérida, Yucatán. C.P. 97070. México. Tel. 999-9202671

*Autor para correspondencia: zevangelista@ciatej.net.mx

which 20 were studied in a detail. Most of them exhibited extracellular protease activity in plate followed by asparaginase, lipase and naringinase activity. Eighteen strains had activity against pathogenic bacteria and fungi. These preliminary results suggest that the isolated actinobacteria could be a genetic resource susceptible of industrial exploitation, furthermore the present project had been generated new knowledge about the existence of this group of micro-organisms and new species in the area of Los Petenes Reserve.

KEY WORDS: Actinobacteria, los petenes, antimicrobial activity, extracellular enzymes.

INTRODUCCIÓN

La ecología microbiana se enfoca al estudio de la diversidad y funcionalidad de las comunidades microbianas en los ambientes naturales y ambientes creados por el hombre. Desde hace algunos años se sabe que la mayoría de especies microbianas no crecen en el laboratorio, por lo que los estudios sobre la biodiversidad y biogeografía de los microorganismos de distintos ambientes ofrecen un gran potencial para descubrir nuevos productos naturales (Clark, 1996).

Las actinobacterias son un grupo importante de bacterias saprófitas y de crecimiento filamentoso que son capaces de producir una amplia variedad de enzimas extracelulares (León, 2007) y metabolitos secundarios de interés comercial e industrial (Berdy, 2005). Se ha evaluado que producen compuestos de uso biotecnológico como son

antibióticos, enzimas industriales (Bentley, 1997), agentes antitumorales (Cragg, 2005) y agentes inmunosupresores (Mann, 2001). De todos los metabolitos secundarios obtenidos de microorganismos, quizá los más importantes han sido aplicados en la salud humana, principalmente como agentes antibióticos (Nanjwade *et al.*, 2010).

Con base en lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue aislar y caracterizar actinobacterias de suelos de la Reserva de la Biosfera los Petenes, Campeche.

MATERIALES Y MÉTODOS

MUESTREO

Se tomaron 3 muestras compuestas de suelo dentro del área del Centro de Investigación y Vida Silvestre Hampolol, que se localiza dentro de la zona de la Reserva de la Biosfera Los Petenes. Cada una de las muestras analizadas se conformó a partir de 5 muestras de suelo tomadas en un diámetro de aproximadamente 5 metros. Estas muestras se homogenizaron y almacenaron en bolsas estériles hasta su posterior análisis en el laboratorio del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, Unidad Sureste.

ASLAMIENTO

10 gr de cada muestra se disolvieron en 90 ml de agua destilada estéril y se prepararon diluciones seriales que se inocularon en placas de agar ISP2, HVA (agar de ácidos húmicos-vitaminas) y agar AIA suplementados con Anfotericina B ($50 \mu\text{g ml}^{-1}$) y ácido nalidíxico ($12.5 \mu\text{g ml}^{-1}$), incubándolas a 29°C por 3-4 semanas. Cada una de las cepas obtenidas fue subcultivada por al menos 3

resiembras consecutivas en el medio ISP2 hasta obtener cultivos puros. Las cepas puras obtenidas que formaban esporas fueron puestas a producirlas en medio ISP2, pero aquellas que no formaron esporas se crecieron en medio líquido ISP1 para obtener micelio vegetativo. Todas las cepas se preservaron en glicerol al 20% a -20° C.

Evaluación de la actividad enzimática

A las cepas aisladas se les determinó en placa Petri actividad enzimática extracelular de lipasa, asparaginasa, naringinasa y proteasa. Estas pruebas se realizaron en placas de medio ISP9 complementadas con la fuente de carbono correspondiente a cada actividad enzimática, aceite de oliva, L-asparagina, naringina y gelatina, respectivamente.

Evaluación de la actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana de las cepas aisladas se hizo confrontando en placa Petri cada una contra las bacterias patógenas de *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, y los hongos *Fusarium sp.*, *Helminthosporium sp.* y *Candida albicans*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se aislaron 59 actinomicetos en los diferentes medios de cultivo empleados, de los cuales sólo 20 han sido caracterizados por su morfología, por la capacidad de utilizar diversos azúcares, por aspectos fisiológicos como la producción de melanina y degradación de fuentes de carbono más complejas producto de la producción de enzimas

extracelulares, y finalmente por su actividad antimicrobiana.

De las 20 cepas evaluadas por su actividad enzimática, se observó que todas produjeron algún tipo de enzima extracelular tal como sus hábitos lo sugieren. El 95 % de las cepas expresaron proteasas, el 60 % asparaginasas, un 30 % naringinasas, y un 15 % de las cepas produjeron lipasas (fig. 1). En el caso de la actividad proteolítica se observa halos claros del colorante utilizado alrededor de las cepas evaluadas como evidencia de que presentó actividad. En el caso de la actividad de asparaginasa la actividad enzimática se evidenció por la formación de un halo rojo formado alrededor de las colonias. La actividad lipolítica mostró halos fluorescentes de color naranja en aquellas cepas que presentaron la actividad de lipasa extracelular. Es importante señalar que algunas cepas expresaron más de dos actividades enzimáticas. Estos resultados son relevantes desde el punto de vista industrial, porque son enzimas que podrían ser utilizadas en la industria de los alimentos, farmacéutica, detergentes, panadería y papelería (León, 2007).

En lo que respecta a la producción de compuestos bioactivos que tuvieron actividad inhibitoria, se encontró que un gran número de las cepas aisladas presentaron actividad antimicrobiana en mayor o menor grado contra todas las cepas probadas (cuadro 1); algunas fueron específicas sobre un grupo de patógenos, pero otras presentaron una mayor cobertura de acción (ver figura 2), inhibiendo tanto a bacterias gram positivas como gram negativas. En este aspecto, desde hace algunos años se está en la búsqueda de organismos que produzcan

un compuesto que tenga la capacidad de actuar contra bacterias resistentes a antibióticos (Ceylan *et al.*, 2008).

Respecto a los hongos *Fusarium* y *Helminthosporium* es importante mencionar que un gran número de cepas produjeron algún compuesto bioactivo con la capacidad de inhibir el crecimiento de los hongos (Fig. 3). Los resultados obtenidos muestran que las cepas ACT15, ACT16 y ACT17 inhiben el crecimiento de ambos hongos. Lo interesante de estos resultados es que sugiere que algunas cepas pudieran producir más de un

compuesto con actividad antimicrobiana (Shiomi *et al.*, 1995). Este comportamiento ha sido ampliamente documentado, por ejemplo actualmente existe una expansión en el uso de actinobacterias como agentes de control biológico (González-Franco y Robles, 2009)

Estos resultados son interesantes si se considera que se requieren compuestos novedosos que actúen sobre las cepas patógenas que han desarrollado resistencia a los antibióticos usados en la actualidad, trátase de bacterias u hongos.

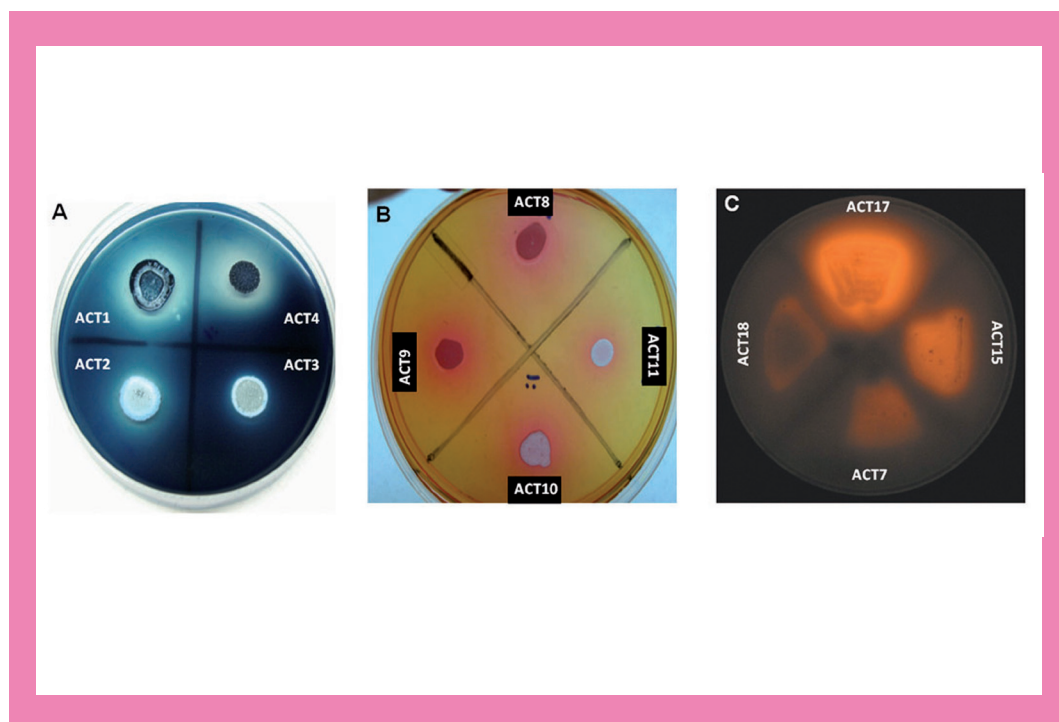


Figura 1. Actividad enzimática extracelular de algunas cepas de actinomicetos. A) Proteasa en agar ISP9+gelatina, halos claros de proteólisis. B) Asparaginasa en agar ISP9+L-asn+rojo fenol; halo rojo. C) Lipasa en agar ISP9+aceite de oliva+rodamin B, halos fluorescentes bajo luz UV.

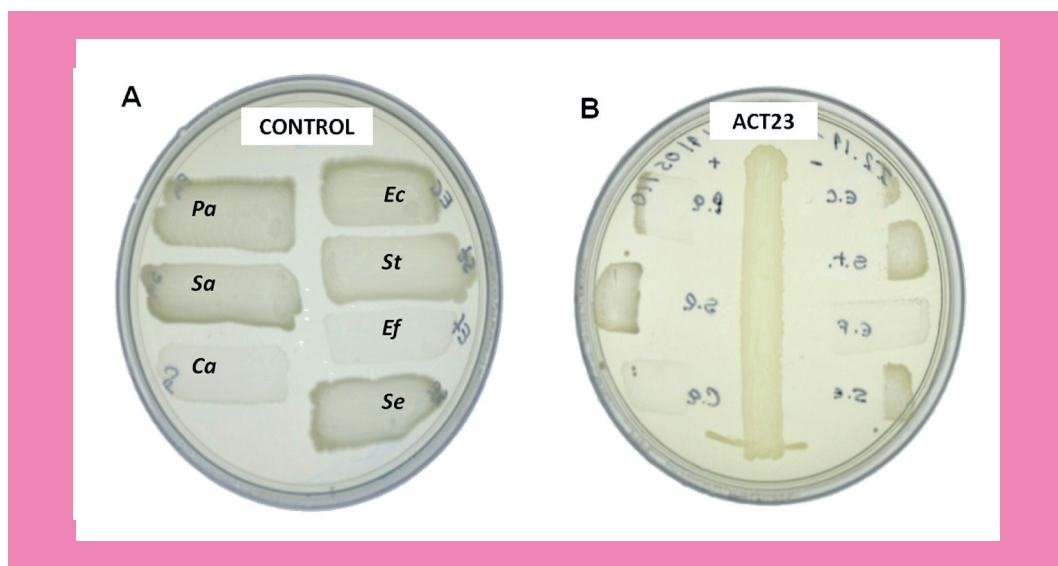


Figura 2. Actividad antibacteriana de algunas cepas de actinomicetos. A) Control bacterias patógenas; ver abreviaturas en cuadro 1. B) Act. Antibacteriana cepa ACT23, se observa inhibición de crecimiento; la posición de las bacterias patógenas corresponde al control.

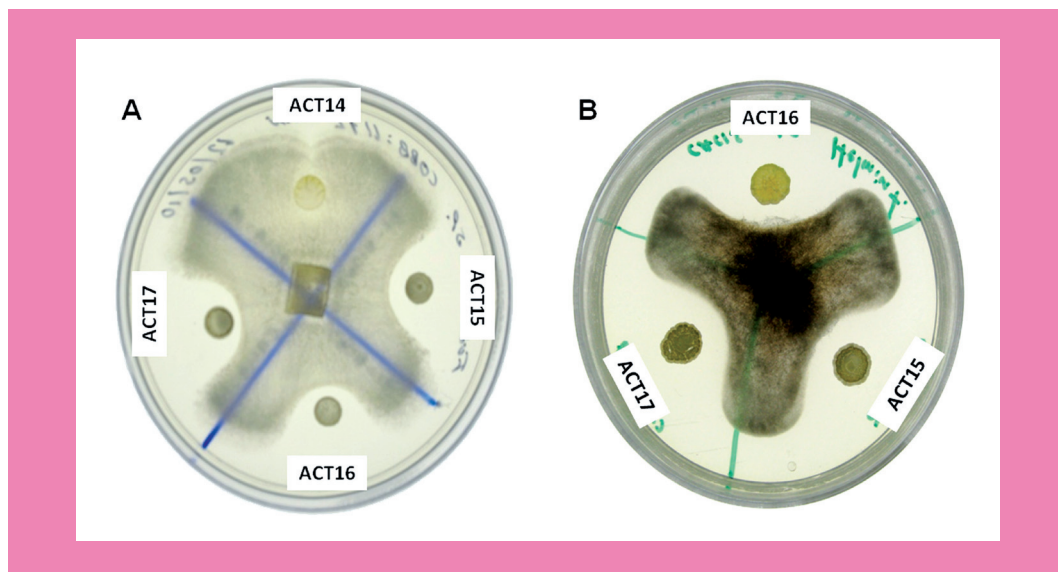


Figura 3. Actividad antifúngica de algunas cepas de actinomicetos. A) Actividad de cepa ACT14, ACT15, ACT16 y ACT17 contra *Fusarium* sp. B) Actividad de las cepas ACT15, ACT16 y ACT17 contra *Helminthosporium* sp. Halos inhibitorios se observan en ACT15, ACT16 y ACT17 para ambos casos.

Cuadro 1. Actividad antimicrobiana de los actinomicetos aislados de la Reserva de la Biosfera los Petenes, Campeche.

PATÓGENOS*		** Actividad Antimicrobiana de los Actinomicetos Aislados (ACT)																					
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14	15	16	17	18	19	20	23		
Gram -	<i>Ec</i>	-	-	+	+++	-	+++	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	-	+++			
	<i>Se</i>	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+++		
	<i>St</i>	-	-	-	++	-	+++	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+++		
Gram +	<i>Ef</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++		
	<i>Sa</i>	-	+++	+++	-	-	-	+++	-	-	-	-	+++	-	+++	+++	+++	-	+++	-	+++		
	<i>Pa</i>	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+++		
Hongos	<i>Fs</i>	-	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	+++	+++	+++	-	+++	-	+++		
	<i>Ca</i>	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	+++	-	+++		

* *Ec*, *Escherichia coli* ATCC-11775; *Se*, *Salmonella enteritidis* ATCC-33090; *St*, *Salmonella typhimurium* ATCC-14028; *Ef*, *Enterococcus faecalis* ATCC-29212; *Sa*, *Staphylococcus aureus* ATCC-25923; *Pa*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-27853; *Fs*, *Fusarium* sp. CDBB:1172; *Ca*, *Candida albicans*.

** Criterio de evaluación de actividad antimicrobiana

(-) Actividad nula

(+) Actividad baja (1-2 mm)

(+ +) Actividad media (3-6 mm)

(+++)Actividad alta (> a 6 mm)

CONCLUSIONES

Los actinomicetos aislados del suelo de la Reserva de la Biósfera Los Petenes y los que aún restan por caracterizarse, son un recurso natural que puede ser aprovechado industrialmente, pero se requieren estudios más exhaustivos para ello.

AGRADECIMIENTOS

El presente proyecto recibe apoyo del Fondo Mixto Conacyt-Gobierno del Estado de Campeche No. 96874. Participan: Dra. Ingrid Rodríguez Buenfil (CIATEJ-Unidad Sures-te) y Dr. Carlos Montalvo Romero (UNACAR).

BIBLIOGRAFÍA

Nanjwade, B.K., Chandrashekhara, S., Goudanavar, P.S., Shamarez, A.M., Manvi, F.V. 2010. Isolation and morphological characterization of antibiotic producing actinomycetes. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 9(3): 231-236

Berdy, J. 2005. Bioactive microbial metabolites. *J. Antibiot.* 58:1-26.

Bentley, R. 1997. Microbial secondary metabolites play important roles in medicine; prospects for discovery of new drugs. *Perspectives in Biology and medicine*. 40: 364-394.

Clark, A.M. 1996. Natural products as a resource for new drugs. *Pharmaceut. Res.* 13: 1133-1141.

Ceylan, O., G. Okmen, A. Ugur. 2008. Isolation of soil *Streptomyces* as source antibiotics active against antibiotic-resistant bacteria. *EurAsian Journal of BioSciences*. 2: 73-82.

González-Franco, A., L. Robles. 2009. Actinomycetes as biological control agents of phytopathogenic fungi. *Tecnociencia Chihuahua*. 2(3): 64-73.

León, M., Liza, L., Soto, I., Cuadra, D.L., Patiño, L. and Soto, R. 2007. Actinomicetes bioactivos de sedimento marino de la costa central del Perú. *Revista Peruana de Biología*. 14 (2):259-270.

Mann, J. 2001. Natural products as immunosuppressive agents. *Natutal Product Reports*. 18: 417-430.

Shiomi, K., Arai, N., Shinose, M., Takahashi, Y., Yoshida, H., Iwabuchi, J., Tanaka, Y. and Omura, S. 1995. New antibiotics phthoxazolins B, C and D produced by *Streptomyces* sp. KO-7888. *J. Antibiotics*. 48:714-719.

OPTIMIZACION FACTORIAL DE UN PROCESO A LA SOSA PARA OBTENER CELULOSA DE *Ricinus communis* Y SU APLICACIÓN EN PAPEL CORRUGADO.

FACTORIAL OPTIMISATION OF SODA PROCESS FOR OBTAIN CELLULOSE OF *Ricinus comunnis* AND HIS APPLICATION IN CORRUGATING PAPER

Teófilo Escoto García^{a*}, Sergio Morales Castro^b, Antonio Rodríguez Rivas^a, José Anzaldo Hernández^{a*}

Fecha de recepción 14 de octubre del 2010

Fecha de aceptación 10 de diciembre del 2010

RESUMEN

Se aplicó un proceso a la sosa para la obtención de celulosa para papel corrugado a partir del tallo de *Ricinus communis*, clasificada de acuerdo a Sánchez (2006) como una maleza vegetal. El estudio se llevó a cabo en dos etapas, en la primera, mediante un diseño factorial 23 y análisis estadístico (ANOVA), se encontraron las mejores condiciones de proceso para obtener celulosa. A la celulosa se le determinó el número de Kappa, % de rendimiento y las propiedades físico-mecánicas de acuerdo a métodos Tappi. En la etapa dos se seleccionaron los tratamientos T4, T7 y T8; se refinaron durante 12, 18 y 22 minutos, posteriormente se formaron hojas estándar para corrugar y evaluar sus propiedades de compresión CMT/T809, RCT/T818 y CCT/T824. Las características físico-mecánicas fueron mejores en el nivel de refinación 18 y 22 minutos. En las pruebas de compresión se observó que el tratamiento T8 con nivel de refinación de 18 minutos presentó mejor resistencia de compresión (CMT). Se puede decir que la celulosa de higuera al 100 % puede ser sugerida en la fabricación del papel ondulado.

PALABRAS CLAVE: Proceso alcalino, celulosa de *Ricinus comunnis*, cartón corrugado.

ABSTRACT

We applied a soda process for to obtain cellulose for corrugating paper from *Ricinus comunnis*, classified as weed plant according to Sánchez (2006). The study consisted in two stages, first one, by a factorial design 23 and statistical analysis (ANOVA), were found the best conditioning for obtaining cellulose process. Cellulose was determined by kappa number, percentage of yield and the physical – mechanical properties, according to the Tappi standard. In the stage two, treatments T4, T7 and T8 were selected and were refined for 12, 18 and 22 minutes, subsequently standard sheet were formed to corrugate and to evaluate their compression proprieties CMT/T809, RCT/T818 and CCT/T824. Physical - mechanical characteristic were better in the refining level of 18 y 22 minutes. In the compression test, was observed that treatment T8 whit refining level of 18 minutes

^a Departamento de Madera Celulosa y Papel (CUCEI), Universidad de Guadalajara Km. 15.5 Autopista Guadalajara – Nogales, Zapopan, Jal. México A.P. 52-93. Tel. 36820110 Fax 36820643

^b Tesista de Ingeniería Química, Facultad de Ciencias Químicas – DMCyP/CUCEI Universidad de Guadalajara

*Autor para correspondencia: tescoto@dmcp.cucei.udg.mx

presented better compression resistance (CMT). It can be said that the cellulose of *Ricinus communis* at 100 % may be suggested in the manufacture of corrugated paper.

KEY WORDS: Alkaline process, cellulose of *Ricinus communis*, corrugating paperboard.

INTRODUCCION

La higuierilla (*Ricinus communis* L.) esta clasificada de acuerdo a Sánchez (2006) como una (Euforbiáceas) originaria del norte de África, conocida en el resto del mundo como una maleza vegetal, de la cual se obtiene de su semilla el aceite de ricino (ácido ricinoleico); utilizado comúnmente por sus propiedades (alto peso molecular) para aceites de aviones e industria de los cosméticos. Sobre el cultivo del *Ricinus communis* y uso de su semilla existe mucha información, sin embargo sobre el aprovechamiento y aplicación del tallo de higuierilla para celulosa y papel, no se puede decir lo mismo; se encontraron algunos trabajos sobre esta temática, en donde Medina (1996) indica que esta planta tiene un potencial promisorio, como fuente de fibra para la elaboración de papel en países tropicales y con limitados recursos maderables. Por otro lado, los estudios anatómicos y morfológicos practicados por Agarwal (1992) muestran que esta planta no maderable, puede ser comparada abiertamente con las plantas maderables. Nagaty (1982) planteó un tratamiento alcalino, en donde el tallo de higuierilla fue sometido a un proceso a la sosa y luego a un proceso al

sulfato para obtener pulpa blanqueable, resultando con mejores características la pulpa tratada mediante el proceso al sulfato.

Respecto al papel corrugado Pouchelle (1986) y Balet (1987) mencionan que en cuanto a la obtención de pulpa celulósica para fabricar a nivel industrial, papel liner y papel ondulado normalmente se han usado fibras largas de coníferas o pinos, además de fibras cortas provenientes de maderas duras o latifoliadas como el eucalipto y pajas de avena y trigo.

En estudios preeliminares realizados en el Centro de investigación en recursos forestales y biotecnología ambiental del Departamento de madera celulosa y papel de la Universidad de Guadalajara, se planteó obtener celulosa para papel corrugado a partir del tallo de higuierilla (*Ricinus Communis*) mezclado con cartón reciclado y paja de trigo respectivamente, encontrándose, que la mezcla fibrosa con cartón reciclado no resultaron con las mejores características, con respecto a la mezcla fibrosa con paja de trigo. Con base en lo anterior se estableció para este trabajo, el desarrollo de una metodología mediante un diseño factorial, para tratar el tallo de higuierilla al 100 % por un proceso a la sosa para papel corrugado.

MATERIALES Y MÉTODOS

La estrategia metodológica se llevó a cabo en dos etapas; obtención y optimización de pulpa de higuierilla al 100 %, y la evaluación de los tratamientos óptimos. El proceso de cocción a la sosa para la obtención de celulosa se aplicó de acuerdo a un diseño factorial 2³ (Tabla 1).

Tabla 1. Condiciones del proceso de cocción.

Carga de astillas de <i>Ricinus communis</i> b.s.	100 g
Álcali Activo, sobre astilla b.s.	16 y 18%, NaOH
Relación: Licor/Madera	4/1
Temperaturas máximas de cocción	150 y 170 °C
Tiempo a temperatura máxima	100 y 140 min.

Tabla 2. Matriz del diseño factorial 2³ con sus niveles de experimentación.

Tratamiento experimental	NaOH (%)	Temperatura (°C)	Tiempo (minutos)
T 1	-1 (16)	-1 (150)	-1 (100)
T 2	+1 (18)	-1 (150)	-1 (100)
T 3	-1 (16)	+1 (170)	-1 (100)
T 4	+1 (18)	+1 (170)	-1 (100)
T 5	-1 (16)	-1 (150)	+1 (140)
T 6	+1 (18)	-1 (150)	+1 (140)
T 7	-1 (16)	+1 (170)	+1 (140)
T 8	+1 (18)	+1 (170)	+1 (140)

Los tratamientos se llevaron a cabo en un digestor con baño de aceite (fig.1). Las astillas de higuera cocidas (100 g) fueron desfibradas en un refinador de discos Sprouth Waldron, y posteriormente fueron depuradas en una criba de diafragma Lorentzen Wettre.

La evaluación de las pulpas se realizó mediante curvas de refinación (fig. 2 y 3) en Molino Jokro (ISO) con tiempos de 0', 6', 12' 18' y 22' y formación de hojas de papel estándar en equipo Tappi. Las resistencias físicas determinadas fueron: Ca-

libre (Tappi T-411), Porosidad (Tappi T-460), Resistencia al rasgado (Tappi T-414), Resistencia al doblez (Tappi T-423), Resistencia a la explosión (Tappi T-403) y Resistencia a la tensión (Tappi T-404).

En la segunda etapa se formaron hojas de 150 g/m² para papel corrugado y se aplicaron las pruebas de compresión lateral en anillo RCT/ T-818, compresión del medium CMT/T-809 y compresión lateral del corrugado CCT/ T-824.



Figura 1. Obtención de pulpa celulósica a partir de *Ricinus communis*.



Figura 2. Equipo usado para la refinación y formación de hojas.



Figura 3. Equipo utilizado para evaluar resistencias físico mecánicas.



Figura 4. Equipo utilizado para evaluar las resistencias en el corrugado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo al análisis estadístico del proceso de obtención sobre las propiedades físico-mecánicas; la temperatura tuvo mayor nivel de significancia en tensión, rasgado y explosión; para el número de kappa e índice de explosión, el tiempo de cocción no fue significativo (Fig. 5).

Respecto a pruebas físico-mecánicas en los tratamientos óptimos (tabla 3), para el índice de explosión el tratamiento T8 con 18 minutos de refinación reporta el valor más alto (5.33 kPa.m²/g), para el índice de tensión el tratamiento T8 con 22 minutos de refinación fue el mejor (76.29 N.m/g) y para el índice de rasgado el tratamiento T7 con 22 minutos de refinación fue mejor (10.17 mN.m²/g).

Con respecto a las pruebas de compresión; la prueba CMT en el tratamiento T8 con 18 minutos de refinación reporto el valor más alto (238.7 N) a diferencia de los otros dos tratamientos T4 con 22 minutos (215.8 N), y

T7 con 18 minutos (237.9 N). La prueba RCT presento su mejor resultado en el tratamiento T4 con 12 minutos (1.911 kN/m), contra T7 con 12 minutos (1.884 kN/m) y T8 con 18 minutos (1.804 kN/m). En la prueba CCT el tratamiento T7 con un tiempo de 22 minutos fue el valor mas alto (0.815 kN) seguido por T8 y T4, ambos valores registrados con un tiempo de 18 y 22 minutos respectivamente. En general, las mejores propiedades se obtuvieron en los tiempos de refinación de 18 y 22 minutos. En este caso los valores de compresión obtenidos en este trabajo fueron superiores (CMT 238.7 N, RCT 1.911 kN/m y CCT 0.815 kN), a los obtenidos por Fonseca (2006) y Fernández (2008); reportando valores para CMT de 73.3 a 217 N, RCT de 0.252 a 0.379 y CCT de 0.59 a 0.60 kN.

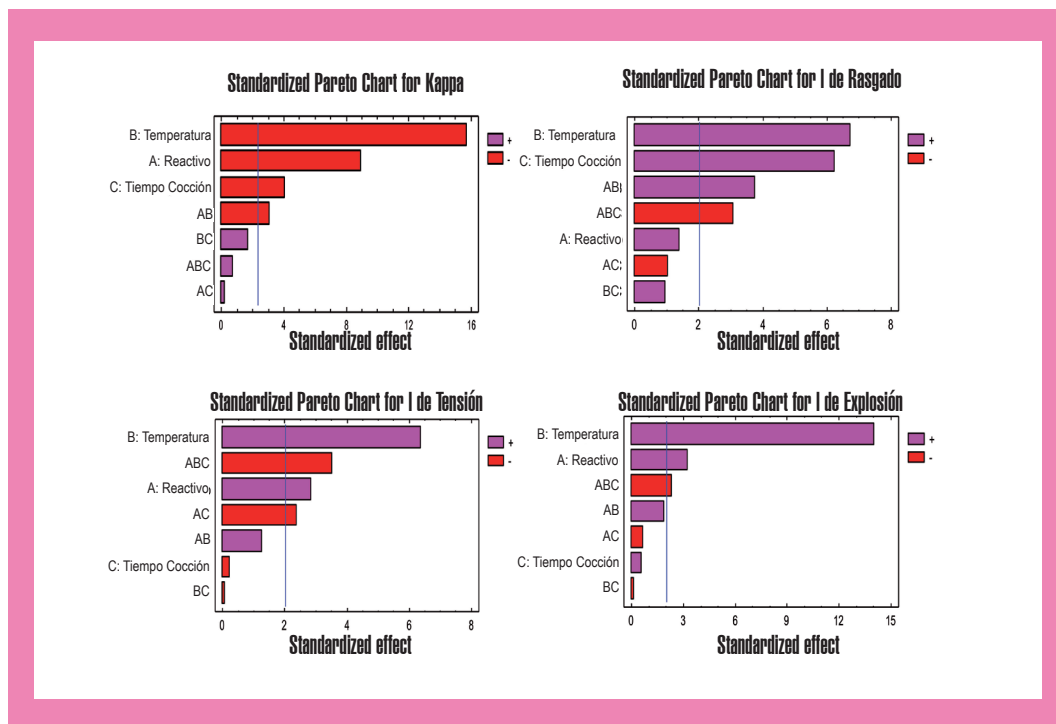


Figura 5. Efectos principales de la temperatura, % reactivo y tiempo.

Tabla 3. Propiedades físico-mecánicas y de compresión

Tratamiento No.	CMT N	CCT kN	RCT kN/m	Índice Tensión N.m/g	Índice Explosión kPa.m ² /g	Índice Rasgado mN.m ² /g
T4 (12 min.)	133.3	0.644	1.911	66.38	3.92	9.08
T4 (18 min.)	208.7	0.673	1.683	65.62	4.39	8.71
T4 (22 min.)	215.8	0.720	1.685	69.86	4.42	9.44
T7 (12 min.)	158.3	0.699	1.884	71.10	4.62	8.88
T7 (18 min.)	237.9	0.785	1.784	74.21	5.06	8.74
T7 (22 min.)	217.3	0.815	1.713	74.35	5.12	10.17
T8 (12 min.)	193.3	0.747	1.657	66.32	4.73	9.17
T8 (18 min.)	238.7	0.805	1.804	70.77	5.33	8.97
T8 (22 min.)	230.3	0.795	1.757	76.29	5.12	9.23

CONCLUSIONES

Con respecto al efecto de los factores sobre el proceso de cocción (tiempo, temperatura y % reactivo), la temperatura en nivel alto resultó ser el factor con mayor nivel de significancia sobre las propiedades de explosión, tensión y rasgado.

Las mejores propiedades fisicomecánicas y de compresión se encontraron en los tratamientos T8 con 18 y 22 minutos de refinación. En el caso de las pruebas de compresión se encontró que en la prueba CMT el tratamiento T8 con 18 minutos. Para la prueba RCT el mejor fue el tratamiento T4 con 12 minutos. Para la prueba CCT el tratamiento T7 con 22 minutos fue el valor más alto.

Con respecto al tratamiento de refinación, las mejores propiedades estructurales y funcionales se obtuvieron con un tiempo de refinación de entre 18 y 22 minutos. Los valores de las pruebas de compresión obtenidos en este trabajo fueron superiores (CMT 239 N, RCT 1.911 kN/m y CCT 0.82 kN) a los obtenidos en trabajos donde se mezclaron con fibras recicladas y plantas anuales, en donde se reportan valores para CMT desde 73 a 217 N, RCT desde 0.25 a 0.38 kN/m y CCT hasta 0.60 kN.

BIBLIOGRAFÍA

- Agarwal, A.; Bansal, A. and Ansari, A. 1992. Non-wood fibrous plants for pulp and paper manufacture (*Adhatoda vasica*, *Ipomea carnea* and *Ricinus communis* L.) chemical and anatomical studies. Birla Institute Technology. Sci., Pilani, India. *Chemica Acta Turcica* 20(3) pp. 253-58.
- Balet J.M. and Forcén J. Ma., 1987. Papel paja una opción válida para todo tipo de cajas (1er congreso de la AFCA 676.961.6, Marbella, España). La fabricación del papel paja para ondular. Comités Técnicos de Transformados Papeleros Cartón Ondulado 2, Asociación de Investigación Técnica de la Industria Papelera Española (AITI-PE). Madrid, España. pp. 270-276.
- Fernández dC. B.Ch., 2008. Optimización de mezclas de fibras no maderables; Higuierilla (*Ricinus communis* L.) y Paja de Trigo (*Triticum sativum*) para papel ondulado (medium), mediante proceso a la sosa. Tesis Licenciatura en Ingeniería Química, DMCyP Universidad de Guadalajara, México. pp. 52-61
- Escoto G. T., Fonseca J. A., Esquivel R. Ma. E., Rodríguez R. A., (2008); Estudio Preliminar del tallo de higuierilla (*Ricinus Communis* L.) y su aplicación como papel corrugado. Memorias del VI Congreso mexicano de recursos forestales, Morelia, México. P.p. 1-9
- Medina, J. and Ciaramello, D. 1996. Castor stems (*Ricinus communis* L.) as a source of chemical pulp for paper Inst. Agron. Campinas, Brazil. *Papel June* pp. 26-30.
- Nagaty A.; Ibrahim, S. and Mansour, O. 1982. Alkaline pulping of *Ricinus communis* and paper made there from. Cell. Paper Lab., Natl. Research Center; Cairo Egypt *Cellulose chemistry and technology* 16 (5), pp. 523-31.
- Pouchelle M. (1986) Tendencia actual de los métodos de producción del papel para acanalado. Comités Técnicos de Transformados Papeleros ALTIPE. Cartón Ondulado 1, Madrid, pp. 55 – 89.
- Sánchez Lupian L. E 2006; La higuierilla (*Ricinus communis* L.) Una alternativa de producción para los productores y el mercado energético CEIEGDRUS/ boletín estadístico del sector agropecuario Número 7, año 2 Agosto 2006 Pág. 2-3.

INSTRUCCIONES PARA AUTORES

UNACAR Tecnociencia, es una revista arbitrada de Ciencia y Tecnología de la Universidad Autónoma del Carmen (UNACAR), que recibe trabajos de investigación originales e inéditos, tanto en español como en inglés. Podrán ser enviados trabajos para su consideración bajo la normatividad de los presentes lineamientos, que sean producto del trabajo desarrollado por profesionales en distintas áreas del conocimiento y que quieran realizar la publicación y divulgación de sus resultados,

La redacción del artículo debe ser con un lenguaje adecuado, lo más simple posible para cubrir una mayor cantidad de lectores. Los tiempos deben ser en PASADO y siempre de manera impersonal, en la medida de lo posible se debe evitar la "voz pasiva" así como el uso de superlativos y de adjetivos calificativos.

El tipo de letra a utilizar para los manuscritos es Century gothic, tamaño 12. Los párrafos escritos a doble espacio. La extensión del trabajo no debe ser menor de 15 cuartillas y no exceder las 25, incluyendo los cuadros y figuras que se deseen anexar.

Al utilizar nombres científicos de plantas y animales, se deben basar en las Reglas Internacionales de Nomenclatura (cursivas). Cuando se cita por primera vez, se debe anotar necesariamente el nombre del autor; al citar los nombres comunes, es indispensable anotar el nombre científico bajo los términos descritos previamente, después es factible utilizar el nombre común toda vez que sea necesario. Todos los datos en el texto, figuras y tablas deben ser reportados en notación métrica y con la nomenclatura del Sistema Internacional de Unidades (SI). Usar índices negativos en vez de / y dejar un espacio entre símbolos, por ejemplo m s⁻¹ en vez de ms⁻¹ o m/s. Se pueden incluir entre paréntesis las unidades en el sistema inglés a continuación de las unidades en el sistema métrico. Las ecuaciones y fórmulas

deben ser numeradas por separado y seguir una secuencia dentro del texto. Todas las variables y símbolos especiales deben ser especificados y explicados, incluyendo las unidades correspondientes.

Podrán ser incluidas reseñas de libros publicados en editoriales de prestigio, preferentemente cuando en el libro, el colaborador haya tenido algún tipo de participación, o bien que los libros sean de excepcional interés para la ciencia, la docencia o la investigación.

Los manuscritos se pueden enviar en formato electrónico, en Word para Windows ©, o por mensajería en dos copias impresas, acompañados de un disco compacto que contenga la versión electrónica del trabajo, con todas las hojas numeradas, incluidos cuadros, figuras y fotografías que se deseen incluir. Se recibirán en la siguiente dirección:

Coordinación de Extensión de la Función
Universitaria
Dirección de Difusión Cultural
Avenida 56 No. 4
Colonia Benito Juárez C.P. 24180
Ciudad del Carmen, Campeche.
México
Tel. 01 (938) 3811018 ext. 1402

tecnociencia@delfin.unacar.mx
tecnociencia@pampano.unacar.mx

Los trabajos que se pueden someter a publicación son: Artículos en extenso, artículos científicos, artículos de revisión, catálogos (de especies, de acervos, etcétera), ensayos analíticos, notas Técnicas (notas cortas de investigación cuya extensión es menor que de las demás aportaciones), cartas al editor. Pueden ser trabajos sobre aspectos técnicos o cotidianos del quehacer universitario, anuncios de eventos académicos y

científicos que se desarrollarán en los ámbitos de la ciencia y la tecnología, o por la participación de la comunidad universitaria de cualquier institución.

GUÍA DE CONTENIDO DE LOS MANUSCRITOS
TÍTULO, no mayor de 15 palabras.

TÍTULO EN INGLÉS. Escribir solamente la traducción que debe ser directa del título original del español. El título en inglés se colocará justo antes del ABSTRACT.

, que contenga institución de adscripción, grado académico, direcciones electrónicas, teléfono y la dirección postal de la persona con la que la revista mantendrá contacto para cualquier aclaración con respecto al proceso de recepción, revisión, aceptación y publicación de los trabajos propuestos. Esta información la deberán enviar por separado.

RESUMEN. Descripción general del trabajo realizado, en donde se indique el sustento, los procedimientos y resultados a los que se llegaron en el desarrollo del trabajo; debe ser completamente acorde con las partes que constituyen el trabajo completo, pero solamente se debe dar una idea de lo desarrollado y no repetir lo que se encuentra en el trabajo realizado. El resumen en inglés será denominado ABSTRACT.

ABSTRACT debe tener la misma información que el resumen; ser la traducción directa, sin modificaciones y utilizando las denominaciones comunes en inglés, tanto de las personas, lugares o cosas a las que se hacen referencia en el texto, no la traducción literal de las palabras o expresiones y mantener el sentido original de un idioma al otro.

La extensión de cada uno debe ser mayor de 150 palabras y no exceder las 200. Incluir tanto en el resumen como en el **ABSTRACT** de 3 a 5 **PALABRAS CLAVE/ KEY WORDS**, que no se repitan en el título.

Los artículos redactados en el idioma in-

glés deberán tener el abstract y resumen en español.

INTRODUCCIÓN. En donde se describa el sentido de haber realizado el trabajo, su importancia, el sustento de la razón de haberlo desarrollado. Para terminar, al final de la introducción se recomienda mencionar el objetivo y en su caso la hipótesis, que se realizó. Su extensión debe ser acorde con la dimensión del trabajo y en esta parte se debe presentar el sustento teórico, técnico o científico, según sea el caso, con las citas y referencias bibliográficas realizadas de manera apropiada. Solamente en casos muy específicos el objetivo del trabajo puede estar separado de la Introducción.

NOTA IMPORTANTE. Las citas de los artículos o las referencias se deben hacer en el interior del texto, indicando siempre entre paréntesis al autor seguido con una coma y el año de publicación. Toda cita que aparezca en el texto necesariamente tiene que aparecer en la bibliografía, (Sawyer et al., 1994; García, 1988). A consideración del o los autores, el cuerpo del trabajo puede estar conformado con este capítulo y posteriormente abordar la parte de Resultados y Discusión, lo que se dejará a criterio del comité de arbitraje para su publicación en esta modalidad, aunque será necesario describir la metodología y el sustento teórico y técnico, que motivó el desarrollo del trabajo.

MATERIALES Y MÉTODOS. Se deben describir de forma detallada pero concreta, todos los pasos que se realizaron para desarrollar el trabajo de tal manera que bajo las mismas condiciones se pueda repetir por personas con la misma formación y entrenamiento en el área específica donde se desarrolló la investigación. Su extensión debe ser acorde con los resultados que se presentan, para

que este apartado no forme la parte fundamental del trabajo. Deberá incluir descripciones de sitio o área de estudio, diseño experimental, métodos y técnicas de laboratorio, así como análisis estadístico de los datos, o bien la descripción detallada del trabajo desarrollado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN. Se deben presentar en forma clara y contundente, con una adecuada interpretación, lo que se debe hacer de manera imparcial, ya que fueron los productos que se obtuvieron de la investigación realizada. No repetir ni explicar en el texto los resultados presentados en cuadros y figuras. Tampoco se permite que en el texto se haga referencia de lo que se puede observar en los cuadros y figuras. La discusión debe ser específica de los resultados obtenidos y explicar el significado de los mismos con situaciones similares de que se tenga referencia o bien contrastantes con resultados consultados previamente. Para poder debatir y rebatir resultados anteriores se debe contar con una base sólida de los resultados y haber comprobado fehacientemente que los resultados presentados al ser diferentes, tienen la suficiente base científica para considerarlos con otro sentido o interpretación. Debido a que se trata de la parte más importante del trabajo, su extensión puede variar, sin embargo, ha de tenerse en cuenta el número total de cuartillas que se enviarán para su revisión.

CUADROS Y FIGURAS. Enviar en archivo adjunto preferentemente en formatos de alta resolución. Todas las ilustraciones (fotografías, dibujos, esquemas, diagramas, mapas, gráficas y otros) se deberán considerar como FIGURAS, deben contener la leyenda correspondiente al pie de la misma (pie de figura). Es necesario citar la fuente de información de donde fue obtenida parcial o totalmente, si fuera el caso. Incluir en archivo anexo los datos de las gráficas. La numeración de los cuadros y las figuras en or-

dinal, con sangría francesa. Usar símbolos y abreviaciones para hacer más entendibles los cuadros y hacer las anotaciones correspondientes al pie del cuadro.

Todas las tablas, cuadros, listados e información parecida, serán denominados CUADROS. Deberán contener la leyenda que los describa como Título de cuadro, en la edición final se publicará al inicio del cuadro.

CONCLUSIONES. En las que se indiquen la trascendencia y las aportaciones que el trabajo representó para el conocimiento y desarrollo científico, en donde se deje ver que los resultados fueron demostrados y que en cualquier momento pueden ser comprobados

AGRADECIMIENTOS. Es un parámetro importante de evaluación, sobre todo si los trabajos son producto de apoyo institucional, sean nacional o internacional (ejemplos: FAO, ONU, CONACyT). Se deben hacer a personas, instituciones o cualquier otra instancia por los apoyos en el trabajo y soporte financiero, para el desarrollo y culminación del algún proyecto o parte que se esté presentando para su publicación.

BIBLIOGRAFÍA. Es la forma de hacer las citas de los trabajos bajo el siguiente formato. Acomodarse invariablemente en orden alfabético, de acuerdo con la letra del primer apellido del autor principal, autor o autores, siempre empezando con el apellido paterno; en caso de autores que utilicen dos apellidos, deberán estar unidos por un guión; inicial del o los nombres solamente; cada autor debe estar separado por un punto y coma y el último autor debe estar precedido por una "y" -en caso de artículos en español-, y por "and" en caso de artículos o publicaciones en inglés. El AÑO de la publicación seguido de "Un punto". EL TÍTULO DEL TRABAJO, completo, tal y como aparece en su forma original, pero en letras minúsculas excepto por la primera letra,

que deberá ser mayúscula. En caso de libros, nombre de la editorial, a partir de la segunda impresión y de las reediciones, especificar cada una de ellas. El país en donde fue publicado el libro, al final el número de páginas que tiene la obra en su totalidad. En cuanto a los capítulos de libro se sigue la misma secuencia de autor, año y título, para posteriormente indicar en cursivas "In:" el nombre de los autores o editores del libro, indicando las páginas que abarca el capítulo, exclusivamente, al igual que en los libros se deben dar los datos de la casa editorial. En caso de revistas, el nombre de la revista; para revistas internacionales, la abreviación de la misma basada en International List of Periodical Title Word Abbreviations. Solamente en casos muy especiales se incluirá el nombre de la revista completa, enseguida se anotará el volumen, el número del volumen en caso de que exista y las páginas que abarca el artículo

PARA LIBROS:

Sawyer, C.N.; McCarty, P.L. and Parkin, G.F. 1994. Chemistry for environmental engineering, 4th Ed. McGraw Hill, New York. 459 p.

García, E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen". 4ª Ed. Offset Larios. México, D. F. 217 p.

PARA CAPÍTULO DE LIBRO:

Bennarie, M.M. 1982. Air pollution modeling operations and their limits:51-98. In: Fronza, G. and Melli, P. (Eds.) Mathematical models for planning and controlling quality, , Pergamon Press, UK. 314 p.

PARA ARTÍCULOS EN REVISTAS:

García, R.; Torres, M. C.; Padilla, H.; Belmont, R.; Azpra, E.; Arcega-Cabrera, F. and Báez, A. 2006. Measurement of chemical elements in rain from Rancho Viejo, a rural wooded area in the state of Mexico, Mexico. Atmospheric Environ. 40(32)6088-6100.

Lekkas, T. and Gosh, C. D. 1996. Treatment of hazardous waste. Glob. Nest Int. J. 2(4)98-121.

PARA REFERENCIAS INCLUIDAS EN OTROS VOLUMENES, CONFERENCE PROCEEDINGS, ETC:

Cuzon, G.; Rosas, C.; Gaxiola, G.; Taboada, G. and Van Wormhoudt, A. 2000. Utilization of carbohydrates by shrimp. pp. 328-339. In: Cruz-Suárez, L.E.; Ricque-Marie, D.; Tapia-Salazar, M.; Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R. (Eds.). Avances en nutrición acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán.

Chester, R.; Nimmo, M.; Murphy, K. J. T. and Nicholas, E. 1990. Atmospheric trace metals transported to the western Mediterranean: data from a station on Cap Ferrat. pp. 597-612. In: Second EROS 2000 Workshop, Blanes, Spain, 6-9 February 1990. Water Pollution Research Reports. 20.

PARA REPORTES TÉCNICOS:

Lekkas, T. and Gosh, C.D. 1996. Survey of hazardous waste sources, Rep. No. 12345, U.S. EPA, Washington D.C. 105 p.

Con la finalidad de que los trabajos tengan una alta calidad, evitar hacer referencias de artículos o informes no publicados o citas de fuentes poco confiables, o de trabajos no publicados, se pueden incluir cuando exista una versión electrónica que se encuentre disponible y que pueda ser consultada, para verificar que el trabajo en cuestión ya ha sido aceptado. Evitar hacer citas de tesis. Dentro del cuerpo del trabajo se sugiere que no se hagan **CITAS DE CITAS**.

En caso de utilizar fuentes de información de páginas electrónicas, pueden ser de carácter oficial (por ejemplo INEG). En caso de que el número de citas sea mayor de 20, se permitirá incluir el 10% de las citas de páginas electrónicas.

Ya que el trabajo sea aceptado bajo las normas de la revista se procederá a realizar una **PRUEBA DE GALERA**, para la revisión final del autor que hizo el envío del artículo, en

caso de que el trabajo, no sea regresado en 10 días naturales, la revista no se hace responsable de las demoras que se originen para su publicación.

Los artículos que sean aceptados para su publicación en la Revista, serán Propiedad de la Universidad Autónoma del Carmen, en el momento en que la Institución emita la carta de aceptación, se solicitará que llenen el formato para ceder los derechos. En caso de que los autores quieran publicarlos en otro medio, se requiere del consentimiento por escrito del comité de publicaciones de la UNACAR.

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

UNACAR Tecnociencia official journal of the Universidad Autonoma del Carmen, can receive original and unpublished research works to be considered for publishing according to the following regulations, articles written by professionals on assorted knowledge areas willing to share their research results.

The paper should be, easy, brief and clear to read, in order to approach as many readers as possible and should be written in past tense, impersonalized. Passive voice, superlatives and qualifier adjectives should be avoided.

Drafts should be as follow: typewritten double-spaced, 12 Century gothic, 15 – 25 sheets of paper with tables and figures. The final paper for publication will have about 10 pages.

When names of animals or plants are used, they should be according to the International Rules of Nomenclature. At the time of quoting for the first time, the author's name is necessary. Common names should have its scientific one according to the regulation written before and then the common one can be used when necessary.

All data included in the text, figures and tables need to be reported in the International Unit System by using negative index not /, with an space between symbols, for instance $m\ s^{-1}$ is better than ms^{-1} , or m/s . Unit in English system could be used in parenthesis after the metric system units. Equations and formula should be numbered and in sequence in the text. Variables and symbols should be explained including their units.

It may include commentaries of books edited by publishers of prestige, preferably when the contributor has had some par-

ticipation in the book, or the book has exceptional interest to science, teaching or research.

Drafts may be sent electronically, by mail, written original and two copies, with the electronic version. The pages, tables and figures, to be included, should be numbered. Manuscripts will be sent to:

Coordinación de la Función de Extensión
Universitaria
Dirección de Difusión Cultural
Avenida 56 No. 4
Col. Benito Juárez C.P. 24180
Ciudad del Carmen, Campeche. México
Phone number 01(938) 3811018 ext.
1042

tecnociencia@pampano.unacar.mx
tecnociencia@delfin.unacar.mx

Drafts that can be submitted are: scientific articles, catalogs (of species, of stores, etc.) essays, technical notes (research notes but briefer than the others). Letters to the editor, they can be general works about technical or daily aspects in university, or academic and scientific advertisement to be carried out in Technology or by any other aspects of the science and technology.

GUIDELINES

TITLE, needs to be no more than 15 words.

The TITLE must be written in both languages, SPANISH and ENGLISH, direct translation from one language to the other.

NAME(S) AND ADDRESS(ES) OF THE AUTOR(S).

Names, nationalities, academic level, e-mails, telephone number, institution of adscription and current address of the person

who the journal will be in touch with to clarifications, with regard to reception, checking, approval, and publication of the work.

ABSTRACT. General description of the work, where the support, methods and results reached in the article are shown. It should be according to the parts that the complete work includes, but just an idea of the developed work not what is in the content. The abstract in Spanish will be called 'SUMMARY'.

SUMMARY, should contain the same information as the ABSTRACT, direct translation, having the same sense or expressions of the words from one language into the other, about people, places or things mentioned in the text, not the literal translation. The editor board may offer support for the translation into the Spanish language.

Each one, summary and abstract should have at least 150 words and no more than 200. Summary and abstract should have from 3 to 5 'KEY WORDS'.

INTRODUCTION. It should describe the importance, the reason and support of developing the work. At the end of the introduction, it is recommended to say the goal or hypothesis made. The objective may be separated of the introduction just in specific cases.

IMPORTANT NOTE. References should be cited in the text by author and year of publication in brackets. References in the text should be also in the bibliography.

The author will decide if the main body may be formed with this chapter and then the results and discussion parts, but it will be part of the committee's criterion to publish it in this form, however the methodology and the theoretical and technical support of the research, should be described.

MATERIALS AND METHODS. This section should be sufficiently detailed but brief, to enable the experiments or techniques used to be reproduced by people with the same training area. Its length should be according to the results, not the essential part of the work.

RESULTS AND DISCUSSIONS. They should be clear and with an appropriate interpretation attached to the results of the research. It shouldn't repeat or explain the results through the tables and figures, the discussion should be just about the results gotten and it should explain their meaning with similar or opposite situations they have revised previously. To debate or refute previous results, they should have basis and prove scientifically, if they are different, that they can be considered with other sense or interpretation. Due to this is the most important part of the work, its length may vary, it may just be taken into account the total number of pages for its checking.

TABLES AND FIGURES. There should be considered as figures all the pictures, draws, sketches, diagrams, maps, graphs, and others. They should have its respective inscription at the bottom of the figure, quote the source where it was taken partial or totally. There should be included in another file all the information about the graphs.

Tables and figures must be serially numbered in ordinal numeral. Symbols and abbreviations may be used to make the charts more understanding and given a short caption at the bottom of the chart.

All the tables, charts, lists or similar, will be referred in the text as Tables. They must have a brief descriptive heading which in the final edition will be published at the beginning of the table.

CONCLUSIONS. It should show the importance and contribution of the work to knowled

ge and scientific development, where it shows that the results were demonstrated and the possibility of being proven at any time.

ACKNOWLEDGEMENTS. It is an important part, more if there are sources of institutional, national or international support agencies (for example, FAO, UN, CONACyT). They should be done to people, institutions or any other for the support in the work or for financial support in the development and ending of the project or any part of the work to be published.

BIBLIOGRAPHY. References should be arranged alphabetically by main author's names. If the author has two last names, they should be joined by a dash (-), each author will be separated by a semicolon (;) and the last author by "and", after that the year of publication, the title of the work literally, in lower case except the first word. In books and editorial publishers, second and later editions, must specify the country where it was issued, and at the end the total number of pages of the work. For chapters, the same order must be followed, author's name, year and title, then authors or editors' names in italics, the total number of pages of the chapters, and the publishing house in case of books. For journals, the name of the journal, for international magazines, this name should be abbreviated according to the International List of Periodical Title Word Abbreviations. The complete name of the journal will be used just in special cases, the volume (if the case), number of the issue, and the pages the article contains. Each reference should be given as in the following examples:

FOR BOOKS:

Sawyer, C.N.; McCarty, P.L. and Parkin, G.F. 1994. *Chemistry for environmental engineering*, 4th

Ed. McGraw Hill, New York. 459 p.

García, E. 1988. *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen*. 4^a Ed. Offset Larios. México, D. F. 217 p.

FOR BOOK'S CHAPTER:

Bennarie, M.M. 1982. Air pollution modeling operations and their limits:51-98. In: Fronza, G. and Melli, P. (Eds.) *Mathematical models for planning and controlling quality*, Pergamon Press, UK. 314 p.

FOR ARTICLES IN JOURNALS:

García, R.; Torres, M. C.; Padilla, H.; Belmont, R.; Azpra, E.; Arcega-Cabrera, F. and Báez, A. 2006. Measurement of chemical elements in rain from Rancho Viejo, a rural wooded area in the state of Mexico, Mexico. *Atmospheric Environ.* 40(32)6088-6100.

Lekkas, T. and Gosh, C. D. 1996. Treatment of hazardous waste. *Glob. Nest Int. J.* 2(4)98-121.

FOR REFERENCES INCLUDED IN OTHER PUBLICATIONS, CONFERENCE PROCEEDINGS, ETC:

Cuzon, G.; Rosas, C.; Gaxiola, G.; Taboada, G. and Van Wormhoudt, A. 2000. Utilization of carbohydrates by shrimp. 328-339. In: Cruz-Suárez, L.E.; Ricque-Marie, D.; Tapia-Salazar, M.; Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R. (Eds.). *Avances en nutrición acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán.

Chester, R.; Nimmo, M.; Murphy, K. J. T. and Nicholas, E. 1990. Atmospheric trace metals transported to the western Mediterranean: data from a station on Cap Ferrat. pp. 597-612. In: *Second EROS 2000 Workshop*, Blanes, Spain, 6-9 February 1990. *Water Pollution Research Reports*. 20.

FOR TECHNICAL REPORTS

Lekkas, T. and Gosh, C.D. 1996. Survey of hazardous waste sources. Rep. No. 12345, U.S. EPA, Washington D.C. 105 p.