



Universidad Nacional de San Luis
RECTORADO

"2026 - Año de la Grandeza Argentina"

"150° Aniversario de la Creación
de la Escuela Normal Juan Pascual Pringles"

"50 años por la Memoria, la Verdad y la Justicia. Nunca más"



SAN LUIS, 1 de abril de 2026.-

VISTO:

El EXPE: 791/2022 y EXPE: 4918/2024, en el cual obran las actuaciones vinculadas a la Pasantía de Posgrado y el Informe final de la misma, titulada: ESTUDIAR MEDIANTE RMN CARBOHIDRATOS OBTENIDOS DE LA FLORA DE SAN LUIS; y

CONSIDERANDO:

Que por EXPE 791/2022 se presentó la propuesta de Pasantía de Posgrado de la Lic. Lismet LAZO DELGADO, estudiante del Doctorado en Química; a realizarse en el Centro de Investigaciones de Hidratos de Carbono, UBA-CONICET, Buenos Aires; Cátedra de Química de Biomoléculas de la Facultad de Agronomía de la UBA (subsede de CIHIDECAR-CONICET, UBA) bajo la dirección de la Dra. Marina CIANCIA, DU N° 17046860.

Que a fs. 37 del EXPE 791/2022 obra el dictamen del Consejo Asesor de Posgrado de la Facultad de Química Bioquímica y Farmacia, en su sesión del 30 de agosto de 2022, consideró: "... *El plan de trabajo y el lugar de realización son adecuados, y la metodología a aplicar es inherente a la temática de tesis...*". Y recomendó la aprobación del Plan de Pasantía.

Que el Consejo de Posgrado de la Universidad Nacional de San Luis, en su sesión del 6 de diciembre de 2022, luego de analizar el expediente de referencia, acordó avalar el plan de la Pasantía de Posgrado y autorizó su realización (fs. 39 de EXPE 791/2022).

Que, finalizado el trabajo propuesto, se eleva el Informe de Pasantía de Posgrado de la Lic. Lismet LAZO DELGADO, DU N° 96086002 (EXPE 4918/2024).

Que la Comisión Asesora de Posgrado de la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia, en su reunión del 13 de mayo de 2024, evaluó el Informe de Pasantía y recomendó su aprobación.

Que el Consejo de Posgrado de la Universidad Nacional de San Luis, en su sesión del 21 de mayo de 2024, luego del análisis, acordó la aprobación del informe.

Que corresponde su protocolización.

Por ello, y en uso de sus atribuciones:

EL RECTOR DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN LUIS

RESUELVE:



Universidad Nacional de San Luis
RECTORADO

"2026 - Año de la Grandeza Argentina"

"150° Aniversario de la Creación
de la Escuela Normal Juan Pascual Pringles"

"50 años por la Memoria, la Verdad y la Justicia. Nunca más"



ARTÍCULO 1°.- Dar por aprobada la Pasantía de Posgrado ESTUDIAR MEDIANTE RMN CARBOHIDRATOS OBTENIDOS DE LA FLORA DE SAN LUIS; realizada por la Licenciada en Química Lismet LAZO DELGADO, DU N° 96086002, estudiante del Doctorado Química, llevada a cabo en CIHIDECAR (CONICET-UBA), Departamento de Biomoléculas de la Facultad de Agronomía de la UBA, bajo la dirección de la Dra. Marina CIANCIA, DU N° 17046860.

ARTÍCULO 2°.- Comuníquese, notifíquese, publíquese en el Digesto Administrativo de la Universidad Nacional de San Luis, insértese en el Libro de Resoluciones y archívese.

RC

Documento firmado digitalmente según Ordenanza Rectoral N° 15/2021 por: Rector GIL, Raúl Andrés - Secretaria Académica, de Innovación Educativa y Posgrado LORENZO, Rosa Alejandra.



Universidad Nacional de San Luis
RECTORADO

2026 – “Año de la Grandeza Argentina”

“150° Aniversario de la Creación de la Escuela Normal Juan Pascual
Pringles”

“50 años por la Memoria, la Verdad y la Justicia. Nunca más”

ANEXO

PASANTÍA DE POSGRADO

APELLIDO Y NOMBRE DE LA PASANTE: Lismet LAZO DELGADO

CARRERA DE POSGRADO: Doctorado en Química

UNIVERSIDAD DONDE CURSA LA CARRERA: Universidad Nacional de San Luis
(UNSL).

DENOMINACIÓN DE LA PASANTÍA: ESTUDIAR MEDIANTE RMN
CARBOHIDRATOS OBTENIDOS DE LA FLORA DE SAN LUIS.

FECHA DE INICIO: agosto 2023

DURACIÓN: 45 días.

APELLIDO Y NOMBRE DE LA DIRECTORA: Dra. Marina CIANCIA

INSTITUCIÓN LABORAL DE ORIGEN: Cátedra de Química de Biomoléculas de la Facultad
de Agronomía de la UBA

LUGAR DE REALIZACIÓN DE LA PASANTÍA: CIHIDECAR (CONICET-UBA),
Departamento de Biomoléculas de la Facultad de Agronomía de la UBA

FUNDAMENTACIÓN

Un paso decisivo en esta investigación, es la caracterización de los polisacáridos obtenidos. En estos casos la técnica de RMN es una herramienta muy poderosa, que nos permitirá dilucidar detalladamente las estructuras de dichos polisacáridos. La dilucidación de las estructuras químicas, el tipo de enlace y unión en el polisacárido es de vital importancia. La técnica de RMN es una de las más modernas y claves a la hora de definir los tipos de monosacáridos y como están unidos en el polisacárido. Nos hemos planteado realizar una colaboración con el grupo de RMN del Centro de Investigaciones de Hidratos de Carbono, UBA-CONICET, Buenos Aires, a cargo de la Dra. Cristina Matulewicz y la Dra. Marina Ciancia; mediante la realización una pasantía con los mismos, que nos permitirá obtener los conocimientos necesarios para la caracterización de biopolímeros, empleando esta técnica y aún más importante poder dilucidar sus estructuras a partir de los espectros obtenidos. Esperando que esta pueda contribuir a enriquecer nuestra investigación.

OBJETIVOS:



2026 – “Año de la Grandeza Argentina”

“150° Aniversario de la Creación de la Escuela Normal Juan Pascual Pringles”

“50 años por la Memoria, la Verdad y la Justicia. Nunca más”

Universidad Nacional de San Luis
RECTORADO

Estudiar mediante RMN los polisacáridos obtenidos de Chañar. Dilucidación de la estructura, al menos primaria, mediante RMN. Obtener conocimientos en temas relacionados a química de polisacáridos e hidratos de carbono en general.

PROGRAMA DETALLADO:

Caracterización de los polisacáridos mediante RMN: H1 , C13 y bidimensional. Acompañadas técnicas químicas que permitirán determinar la composición.

Determinación del contenido total de hidratos de carbono: Método de fenol-ácido sulfúrico (Dubois et al., 1956). Determinación del contenido de proteínas método de Lowry et al. (1951). Determinación del contenido de ácidos urónicos método de Filisetti-Cozzi y Carpita (1991); modificación al método de Blumenkrantz y AsboeHansen (1973).

Hidrólisis de los polisacáridos y reducción de monosacáridos a alditoles: Hidrólisis ácida total (Morrison, 1988). Hidrólisis reductiva total, siguiendo el método desarrollado por Stevenson y Furneaux (1991). Acetilación de los alditoles obtenidos por hidrólisis ácida total y posterior reducción. Acetilación de los alditoles obtenidos por hidrólisis reductiva total.

Cromatografía Gaseosa acoplada a masa, para identificar los azúcares neutros presentes en la muestra. Se realizan determinaciones de porcentaje y composición en hidratos de carbono.

Espectroscopía de RMN.

METODOLOGÍA SEGUIDA EN EL DESARROLLO DE LA PASANTÍA:

Determinación del contenido total de hidratos de carbono (HDC).

Método de fenol-ácido sulfúrico (Dubois et al., 1956).

La muestra (2 mg) en 5 ml de agua destilada. Se toman alícuotas de entre 50 y 150 μ l, en tubos de ensayo, llevando a 0,5 ml con agua destilada. A cada alícuota se le agregan 0,5 ml de solución de fenol 5% y se mezcla. Adicionar 2,5 ml de ácido sulfúrico concentrado. Agitar utilizando un vórtice y dejar que los tubos alcancen temperatura ambiente, medir la absorbancia a 490 nm. La cantidad de azúcar presente en la muestra se determinará por referencia a una curva patrón obtenida a partir de soluciones de galactosa (15 a 70 μ g/ml, aproximadamente).



2026 – “Año de la Grandeza Argentina”

“150° Aniversario de la Creación de la Escuela Normal Juan Pascual Pringles”

“50 años por la Memoria, la Verdad y la Justicia. Nunca más”

Universidad Nacional de San Luis
RECTORADO

Determinación del contenido de proteínas.

Siguiendo el método de Lowry et al. (1951), se prepararon las siguientes soluciones:

- Solución A: carbonato de sodio 2 % en NaOH 0,1 N
- Solución B: sulfato cúprico pentahidratado 0,5 % en tartrato de sodio y potasio 1 %.
- Solución C: 1 ml de solución B en 50 ml de solución A.

Se diluye la muestra en agua obteniendo una solución de no más de 500 μg de proteína/ml. Se toman alícuotas de 0,4 ml y se le agregan 2 ml de la solución C. Luego se mezcla y se dejó reposar durante 10 minutos a temperatura ambiente. Se agregan 0,2 ml de reactivo de Folin-Ciocalteu, diluido a la mitad antes de ser usado, y agitando inmediatamente, se espera durante 30 minutos antes de medir la absorbancia a 500 nm contra un blanco de agua destilada. Se utiliza como referencia soluciones de albúmina de suero bovino de concentración creciente (50-500 $\mu\text{g}/\text{ml}$).

Determinación del contenido de ácidos urónicos.

Método de Filisetti-Cozzi y Carpita (1991); modificación al método de Blumenkrantz y Asboe-Hansen (1973).

Se prepararon las siguientes soluciones: -Solución A (buffer pH 1,6): ácido sulfámico/sulfamato de potasio 4 M. Se disuelve, con agitación, 38,8 g de ácido sulfámico en agua, agregando luego KOH gota a gota hasta lograr la disolución. El pH de la solución se ajusta con HCl y se lleva a 100 ml con agua. -Solución B: ácido sulfúrico/tetraborato de sodio 0,0125 M. -Solución C: m-hidroxifenilo 0,15 % en NaOH 0,5 %. Se disuelven 4-5 mg de muestra en 2 ml de agua. Se toman alícuotas de 0,5 ml y se adicionan 40 μl de solución A. Luego de agitar, se llevan a baño de hielo y se le agregan 2,4 ml de solución B. Tras agitar nuevamente, los tubos se tapan y se colocan en un baño de agua a 100° C durante 20 minutos. Se llevan a temperatura ambiente en baño de hielo, tras lo cual se agregan 80 μl de solución C. Luego de un reposo de 10 minutos se mide la absorbancia a 525nm contra un blanco de agua



Universidad Nacional de San Luis
RECTORADO

2026 – “Año de la Grandeza Argentina”

“150° Aniversario de la Creación de la Escuela Normal Juan Pascual Pringles”

“50 años por la Memoria, la Verdad y la Justicia. Nunca más”

destilada y utilizando como referencia soluciones de D-glucuronolactona de concentraciones crecientes (10-80 µg/ml).

Hidrólisis de los polisacáridos y reducción de monosacáridos a alditoles

Hidrólisis ácida total (Morrison, 1988)

Entre 1 y 2 mg de muestra se hidrolizan en 1 ml de TFA 2 M, a 120° C durante 2 horas. Se evapora el TFA llevando a seco tras sucesivos agregados de agua. Se agrega 1ml de NH₃ 1 M y una punta de espátula de borohidruro de sodio, dejar al menos 2 horas a temperatura ambiente para permitir la reducción de los azúcares a alditoles. Llevar a pH 6 con ácido acético 50 %. Pasar la muestra por una columna cromatográfica con resina Amberlite IR-120 (H⁺). Los alditoles se eluyen con agua destilada. Se elimina el exceso de reactivo resultante agregando 0,5 ml de metanol y llevando a seco, repitiendo este paso 5 veces.

Hidrólisis reductiva total

El método desarrollado por Stevenson y Furneaux (1991) se utiliza para evitar la degradación de las unidades de 3,6-anhidrogalactosa, 1 a 3mg de muestra se colocan en 0,4 ml de TFA 3 M y 0,1 ml de solución acuosa de complejo 4-metilmorfolina borano (MMB) (80 mg/ml). A 80° C durante 10 a 20 minutos, hasta observar que el material se disuelve. Luego se adiciona nuevamente 0,1 ml solución de MMB y se calienta a 120° C durante 2 horas. Enfriar, agregar 0,2 ml de solución de MMB y se llevar a seco hasta eliminar el exceso de TFA.

Acetilación de los alditoles obtenidos por hidrólisis ácida total y posterior reducción.

La mezcla de alditoles se acetila con 0,5 ml anhídrido acético y 0,5 ml de piridina, a 100° C durante 45 minutos. La solución se deja enfriar y se extrae con 1ml de cloroformo/ agua (1:1). Se agita y se descartó la fase acuosa con pipeta Pasteur. Se realiza una segunda extracción idéntica a la primera. La fase clorofórmica se lava con 0,5 ml de solución saturada de



2026 – “Año de la Grandeza Argentina”

“150° Aniversario de la Creación de la Escuela Normal Juan Pascual Pringles”

“50 años por la Memoria, la Verdad y la Justicia. Nunca más”

Universidad Nacional de San Luis
RECTORADO

bicarbonato de sodio (3 lavados) y agua destilada (2 lavados). En cada paso se agita después del agregado y se descarta la fase acuosa. Luego se agrega sulfato de sodio anhidro para eliminar el agua presente en la fase clorofórmica. El sobrenadante se pasa a un vial donde es llevado a seco. Las muestras se almacenan a -20°C hasta ser analizadas por CG.

Acetilación de los alditos obtenidos por hidrólisis reductiva total.

La mezcla de alditos se acetilan con 0,2 ml anhídrido acético y 0,2 ml de TFA concentrado, a 50°C durante 20 minutos. La solución se deja enfriar y se extrae siguiendo el procedimiento descripto para el caso de la hidrólisis ácida total.

Cromatografía Gaseosa

Cromatógrafo Hewlett-Packard modelo 5890A, con detector de ionización de llama (FID), con una relación de split de 80:1, con nitrógeno como gas portador. Tiene un integrador Hewlett-Packard 3395. Columna capilar SP-2330 (Supelco), de 30 m de largo, 0,25 mm de diámetro interno y 0,20 μm de espesor de la fase líquida, con un flujo de gas portador de 1 ml/min y una presión de cabeza de 15 psi. Temperatura del inyector y del detector 240°C . Las condiciones cromatográficas para los alditos peracetilados obtenidos por hidrólisis ácida total o hidrólisis reductiva total son las siguientes: $200^{\circ}\text{C} \rightarrow (1^{\circ}\text{C}/\text{min}) \rightarrow 230^{\circ}\text{C}$. En el caso de los alditos acetilados obtenidos a partir de la hidrólisis de polisacáridos parcialmente metilados las condiciones son las: $160^{\circ}\text{C} \rightarrow (1^{\circ}\text{C}/\text{min}) \rightarrow 210^{\circ}\text{C} \rightarrow (2^{\circ}\text{C}/\text{min}) \rightarrow 230^{\circ}\text{C}$. 1° A partir de los cromatogramas obtenidos, se realiza la conversión de la información de áreas de pico a porcentajes molares de cada unidad, siguiendo el criterio de la teoría de respuesta efectiva (effective carbon response theory) (Sweet et al, 1975).

Espectroscopía de masa acoplada a cromatografía gaseosa

Espectrómetro de masa acoplado a un cromatógrafo gaseoso GCMSQP5050A (Shimadzu), potencial de ionización de 70eV y He como gas portador.



2026 – “Año de la Grandeza Argentina”

“150° Aniversario de la Creación de la Escuela Normal Juan Pascual Pringles”

“50 años por la Memoria, la Verdad y la Justicia. Nunca más”

Universidad Nacional de San Luis
RECTORADO

Espectroscopía de RMN

Espectrómetro Bruker AM 500 y espectrómetro Bruker Avance II 500 a 500.13 (1H) y 125.77 (13C) MHz, a temperatura ambiente. Se utiliza acetona como estándar interno (referido a Me₄Si), el grupo metilo de la acetona se calibra en 31.1 ppm en 13C y en 2.22 ppm en 1H. Las muestras (20 mg) se disuelven en 1 ml de agua deuterada y se liofilizan, a fin de intercambiar los protones de sus oxhidrilos. Luego se disuelven en D₂O (1 ml) y se centrifuga, se trasvasan las muestras a tubos de 5 mm de diámetro. En el caso de los espectros de RMN de 13C, los parámetros utilizados son los siguientes: tiempo de relajación máximo, ángulo de pulso de 90° y unos 40000 pulsos, sin tiempo entre pulsos. Para los espectros de RMN de 1H, se acumulan 300 pulsos, y para eliminar el pico de HOD se efectúa la secuencia de pulso 180°-τ-90°. Los experimentos en 2D se realizan utilizando los parámetros estándar del software de Bruker (Sanchez et al., 2021).

CRONOGRAMA

Actividad	1° Semana	2° S	3° S	4° S	5° S
Contenido Total HDC	-----				
Cont. de Proteínas		-----			
Cont. Ac. Uránicos			-----		
Hidrólisis Ácida Total	-----	-----			
Hidrólisis Reductiva Total	-----	-----			
Acetilación			-----	-----	
Cromatografía Gaseosa		-----	-----	-----	-----



2026 – “Año de la Grandeza Argentina”

“150° Aniversario de la Creación de la Escuela Normal Juan Pascual Pringles”

“50 años por la Memoria, la Verdad y la Justicia. Nunca más”

Universidad Nacional de San Luis
RECTORADO

RMN		-----	-----	-----	-----
-----	--	-------	-------	-------	-------

BIBLIOGRAFÍA:

DuBois, A. B., Botelho, S. Y., Bedell, G. N., Marshall, R., & Comroe, J. H. (1956). A rapid plethysmographic method for measuring thoracic gas volume: a comparison with a nitrogen washout method for measuring functional residual capacity in normal subjects. *The Journal of clinical investigation*, 35(3), 322-326.

Classics Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A., & Randall, R. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J biol Chem*, 193(1), 265-75.

Filisetti-Cozzi, T. M., & Carpita, N. C. (1991). Measurement of uronic acids without interference from neutral sugars. *Analytical biochemistry*, 197(1), 157-162.

Blumenkrantz, N., & Asboe-Hansen, G. (1973). New method for quantitative determination of uronic acids. *Analytical biochemistry*, 54(2), 484-489.

Morrison, W. R. (1988). Lipids in cereal starches: A review. *Journal of Cereal Science*, 8(1), 1-15.

Stevenson, T. T., & Furneaux, R. H. (1991). Chemical methods for the analysis of sulphated galactans from red algae. *Carbohydrate Research*, 210, 277-298.

Sweet, D. P., Shapiro, R. H., & Albersheim, P. (1975). Quantitative analysis by various GLC response-factor theories for partially methylated and partially ethylated alditol acetates. *Carbohydrate Research*, 40(2), 217-225.

Sánchez, R. A. R., Matulewicz, M. C., & Ciancia, M. (2021). NMR spectroscopy for structural elucidation of sulfated polysaccharides from red seaweeds. *International Journal of Biological Macromolecules*.

SISTEMA DE EVALUACIÓN:

Se solicitará la presentación de informe final.

FINANCIAMIENTO DE LA PASANTÍA



Universidad Nacional de San Luis
RECTORADO

2026 – “Año de la Grandeza Argentina”

“150° Aniversario de la Creación de la Escuela Normal Juan Pascual
Pringles”

“50 años por la Memoria, la Verdad y la Justicia. Nunca más”

FUENTES DE FINANCIAMIENTO:

COSTOS:

Alojamiento y transporte, financiado por proyecto UNSL PICT 2020- 0895, DR MASUELLI.

Los reactivos son provistos por la Dra. Marina Ciancia, CIHIDECAR-CONICET-UBA, [PIP 112-2015 01-00510 y P-UE-2016, CIHIDECAR]; y Universidad de Buenos Aires [UBACYT 20020170100292BA and 20020170100347BA].

Hoja de firmas