

ISSN 1810-634X

REVISTA de la SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ

(Hasta junio del 2003 (Nº2), llevaba el nombre de Boletín de la Soc. Química del Perú)

Indizada en Chemical Abstracts,
EBSCO, SciELO y Latindex

VOLUMEN 75 Nº 1 ENERO - MARZO 2009



REVISTA TRIMESTRAL

INSTITUCIÓN CIENTÍFICA FUNDADA EN 1933

LIMA , PERÚ

SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ
CONSEJO DIRECTIVO
(marzo 2009 - marzo 2011)

Presidenta	: Ing. Quím. Flor de María Sosa Masgo
Vice-Presidente	: Dr. Emilio Guija Poma
Secretario General	: Ing. Quím. Manuel Otiniano Cáceres
Tesorera	: Ing. Quím. Ana María Osorio Anaya
Secretaria del Consejo	
Directivo	: Quím. María Angélica Best de Rodríguez
Directora de Biblioteca	: Dra. Luz Oyola de Bardales
Director Administrativo	: Quím. Neptalí Ale Borja
Vocales	: Dr. José Amiel Pérez
	: Quím. Lucía Mondragón Hernández
	: Ing. Carlos Velazco Verástigue
	: Dra. María Luisa Castro de Esparza
	: Dra. María del Rosario Sun Kou
	: M. Sc. Jorge Eduardo Loayza Pérez
	: Quím. Farm. Gabriela Soriano Chávez
	: Quím. Lizardo Visitación Figueroa

Comisión de Economía y Finanzas

Presidente: Dr. José Amiel Pérez

Comisión de Publicaciones

Presidente: Dr. Mario Ceroni Galloso

Comisión de Actuaciones Científicas

Presidenta: Dra. Ana María Muñoz Jáuregui

**INSTITUCIONES Y EMPRESAS PROTECTORAS DE LA
SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ**

CORPORACIÓN INFARMASA S.A.

H.W. KESSEL S.A.

LABORATORIO DANIEL ALCIDES CARRIÓN S.A.

MERCK PERUANA S.A.

UNIÓN DE CERVECERÍAS PERUANAS BACKUS & JHONSTON S.A.

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA - UNMSM

UNIVERSIDAD NORBERT WIENER

ORO ANDINO S.A.

REVISTA
de la
SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ
(Rev Soc Quím Perú)
ISSN 1810 - 634X
Revista Trimestral

DIRECTOR: Mario Ceroni Galoso Univ. Nac. Mayor San Marcos, Perú
EDITOR: Luis Valles Fernández Univ. Nac. Ingeniería, Perú
EDITOR ASOCIADO: Naldo Balarezo Genstein Univ. Per. Cayetano Heredia, Perú.

COMISIÓN DE PUBLICACIONES

Ena Cárcamo Aranda Univ. Nac. San Marcos, Perú
Edith López Moreno Inst. Per. Energía Nuclear, Perú.
Ana María Osorio Anaya Univ. Nac. Mayor San Marcos, Perú.

Comisión Revisora (árbitros)

Beyer, Lothar	Angulo Cornejo, Jorge
Universidad de Leipzig - Alemania	Univ. Nac. Mayor de San Marcos - Perú
Calvo Buendía, Eduardo	Korswagen Ederi, Richard
Univ. Nac. Mayor de San Marcos - Perú	Pontificia Universidad Católica del Perú
Chávez Orellana, Haydee	Picasso, Gino
Univ. Nac. San Luis Gonzaga - Perú	Universidad Nacional de Ingeniería - Perú
García Herbosa, Gabriel	Rueda Sánchez, Juan Carlos
Universidad Burgos - España	Pontificia Universidad Católica del Perú
Gamboa Fuentes, Nadia	Rabinovich Jaitin, Daniel
Pontificia Universidad Católica del Perú	University of N. Carolina, USA
Guija Poma, Emilio	Gorriti, Carlos
Universidad Científica del Sur - Perú	Universidad Privada Antenor Orrego - Perú
Muñoz Jáuregui, Ana María	Troncoso Corzo, Luzmila
Universidad San Martín de Porres	Facultad de Medicina UNMSM - Perú
Lock Sing, Olga	Gutiérrez Correa, Marcel
Pontificia Universidad Católica del Perú	Universidad Nacional Agraria La Molina - Perú

Revista indizada en el Chemical Abstracts y en Latindex

Sede: Av. Nicolás de Araníbar 696 Santa Beatriz – Lima 01

Casilla Postal 14-0576 – Lima 14 Perú

Teléfono (511) 472-3925 Fax: (511) 265-9049

e-mail: revsqp@gmail.com / sqperu@gmail.com

Portal web: www.sqperu.com

Ley 26905 – Hecho el depósito legal a la Biblioteca Nacional del Perú
Certificado N° 95-1567

Vol 75

ENERO - MARZO, 2009

N°1

En el Perú: N° suelto S/.15

Suscripción anual: S/. 60.00

En el extranjero: Suscripción anual: \$50.00

CONTENIDO

(Vol 75 N° 1 - 2009)

- Editorial	1
Trabajos originales	
- Preparación, caracterización y evaluación de películas de quitosano provenientes de calamar gigante (<i>Dosidicus gigas</i>) para uso médico, por Lina Belén Fuentes Yalli, Ana Pastor de Abram.	3
- Síntesis de una nueva serie de pirroles vía cicloadición, por Angelina Hormaza, Óscar Felipe Arbeláez Pérez.	12
- Estudio del efecto de la fuerza iónica en la adsorción de fenol con arcillas organofílicas. Equilibrio y cinética, por María del Rosario Sun – Kou, José Carlos Lazo.	17
- Poliésteres insaturados a partir de desechos de PET, por Mariela Elgegren Lituma, Javier Nakamatsu Kuniyoshi.	26
- Application marine seaweeds as lead (II) biosorbents: analysis of the equilibrium state, por Norma T. Cuizano, Bertha P. Llanos, Abel E. Navarro.	33
- Fraccionamiento químico de carbono orgánico y su relación con la actividad microbológica, biomasa microbiana y cantidad de ADN en suelos cacaoteros venezolanos, por Arnaldo J. Armado M., Froilán Contreras, Pablo García Lugo.	44
- Estudio químico de los tallos de <i>Cinchona pubescens</i> Vahl, por Elena Cándor Cuyubamba, Brás H. de Oliveira, Karen Loayza Ochoa, Víctor Reyna Pinedo.	54
- Adsorción de fenol con carbones activados, preparados a partir de pepas de nispero de palo, por activación química, por Gloria Ana Delgadillo Gamboa, María del Rosario Sun Kou.	64
- Caracterización de antocianinas de los frutos de <i>Berberis boliviana</i> Lechler, por Carla del Carpio Jiménez, Carlos Serrano Flores, Mónica Giusti.	76
- Estudio de las propiedades termomecánicas de películas biodegradables a base de mezclas de gelatina y PVA, por Mendieta-Taboada, Óscar; Sobral, Paulo José do A.; Carvalho, Rosemary A.; Habitante, Ana Mónica Q. B.	87
Review	
- Biotransformación de compuestos aromáticos sustituidos mediante hongos filamentosos fitopatógenos de los géneros <i>Botryodiplodia</i> y <i>Colletotrichum</i> , por Rodrigo Velasco B., Diego L. Montenegro M., John F. Vélez S., Carlos M. García P., Diego L. Durango R.	94
Enseñanza de la química	
- Utilización de metodologías didácticas en la titulación de Ingeniero Técnico Industrial, especialidad Química Industrial, por Teresa Pardo Vicente, Enrique Ballester Sarrias.	112
- La educación de jóvenes y adultos, y la enseñanza de la química en Mato Grosso, Brasil, por Irene Cristina de Mello, Marcel Thiago Damasceno Ribeiro.	123
- Uso de la metodología de aprendizaje basado en problemas (ABP) para el aprendizaje del concepto de periodicidad química en un curso de Química General, por Patricia Morales Bueno.	130
- Modificación de técnicas didácticas en una asignatura de Química Orgánica, por María Luisa Gabernet Martí, Teresa Pardo Vicente, María Dolores Esteve Rodríguez.	140
Informaciones	
- La Sociedad Química del Perú es reconocida como Entidad perceptora de donaciones.	146
- Deceso del Ing. Dr. Carlos Rodríguez Pichiling.	146
- Nuevo Consejo Directivo de la SQP.	147
- SciELO Perú.	147
- X Jornadas de Bromatología y Nutrición.	148

Revista Arbitrada

Derechos Reservados : prohibido el uso total o parcial del material de esta revista sin indicar la fuente de origen.

Nota: Las referencias comerciales que aparecen en los trabajos no constituyen una recomendación de la Sociedad Química del Perú.

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

La Revista de la Sociedad Química del Perú publica trabajos originales e inéditos de carácter científico, tecnológico y técnico en el campo de las ciencias químicas. La Revista acepta, preferentemente, los trabajos que expresen resultados valiosos, producto de las investigaciones científicas básicas o aplicadas, así como los de divulgación que, por su importancia y la claridad de su exposición, constituyan un material valioso para la comunidad científica y tecnológica. Busca también promover la investigación entre los jóvenes profesionales, publicando resúmenes de las mejores tesis de graduados universitarios o futuros profesionales.

Está dirigida a los investigadores y público interesado en la especialidad de las ciencias químicas. Se pone énfasis para su difusión en los centros académicos superiores.

La Revista, en formato impreso o electrónico, está dividida en las siguientes secciones: artículos de investigación, comunicaciones cortas, cartas al editor, artículos de revisión, educación química y de divulgación. Adicionalmente, la sección de informaciones está reservada a la SQP. Todos los artículos son revisados por la Comisión de Publicaciones, el corrector de estilo y por los árbitros que se designen.

Los artículos de investigación son el resultado de un trabajo experimental o teórico, producto de una investigación científica o tecnológica, que aporta un nuevo conocimiento. Se recomienda una extensión cercana a las 12 páginas a espacio simple.

Las comunicaciones cortas son trabajos cuya extensión no debe ser mayor a 4 páginas a espacio simple, escritas bajo las mismas características que un artículo de investigación. Están referidas a trabajos cortos concluidos, pero en los que hay urgencia en su publicación.

Las cartas al editor son comunicaciones que brindan la oportunidad para discutir, criticar o ampliar algunos puntos sobre los trabajos publicados en la Revista. Su extensión no debe exceder una hoja a espacio simple.

Los trabajos de revisión se basan en recopilaciones bibliográficas de temas en los que el autor tiene amplia experiencia. Se recomienda una extensión cercana a las 16 páginas a espacio simple. La Comisión de Publicaciones encomendará estos trabajos a especialistas en la materia.

Los artículos de enseñanza de la química son aquellos que proporcionan, en especial a los profesores y alumnos, una nueva visión, interpretación o aclaran los conceptos, teorías o experimentos químicos. Los requisitos que deben tener son: originalidad, importancia pedagógica, relevancia y claridad. Se recomienda una extensión cercana a las 12 páginas a espacio simple.

Las notas informativas corresponden a temas que no están relacionados a una investigación, pero son artículos que merecen ser divulgados, por ser de gran interés para la comunidad química. Se recomienda una extensión cercana a las 10 páginas a espacio simple.

Los autores de los trabajos publicados son los únicos responsables de la autenticidad y opiniones expresadas en los mismos. Todos los autores de un artículo deberán firmar una carta de presentación del trabajo como garantía de haber participado activamente en la investigación y redacción del artículo. Todas las comunicaciones entre la Comisión de Publicaciones y el autor principal se realizarán vía correo electrónico. El autor principal deberá responder los correos electrónicos en un plazo que no exceda los cinco días.

Los autores enviarán sus artículos impresos y en formato electrónico (diskette, disco compacto o al correo electrónico revsqp@gmail.com) a la Comisión de Publicaciones, junto con una carta dirigida al editor y abonarán 10 dólares por concepto de gastos administrativos, como adelanto del pago de la publicación, no reembolsables.

La publicación de cada trabajo está sujeta al pago siguiente: Cuando todos los autores son socios, US \$ 20; cuando todos los autores no son socios, US \$ 40; si entre los autores hay socios y no socios, US \$ 30; cuando los autores residen en el extranjero, US \$ 80. Cuando el número de autores es superior a 3 se pagará, además, US \$ 10 por cada autor en exceso.

Formato para los artículos

1. El texto completo debe ser escrito en formato Microsoft Word, tamaño de página A4. Márgenes: izquierdo 3 cm, derecho 3 cm, superior 3 cm, inferior 3 cm. Espacio 2, fuente Times New Roman, estilo de fuente regular (salvo indicación contraria), color de fuente negro (texto y gráficos) y tamaño de fuente 12. Se imprimirá de manera vertical. Todo el texto, excepto el título, debe estar alineado a la derecha y a la izquierda (usar la opción "justificar").
2. Los idiomas de publicación son español e inglés.
3. El título del trabajo, que debe ser **breve y claro**, en español e inglés (este último antes del abstract) se escribe con tamaño de fuente 16, centrado y en negrita. Los nombres completos de los autores aparecerán a continuación con tamaño de fuente 12; el autor principal se identificará con un asterisco. Las instituciones de las que proceden los autores se escriben con tamaño de fuente 10 e irán a pie de página, donde también sólo el autor principal se identificará con un asterisco y colocará su correo electrónico, justo después de la dirección postal completa de su institución.
4. Se presentarán dos resúmenes, uno en español y otro en inglés (abstract), con una extensión aproximada entre 50 y 200 palabras. Las palabras Resumen y Abstract se escriben con tamaño de fuente 14, centrado y en negrita. Además, después del Resumen se deberá incluir entre 3 y 6 palabras clave, en español y en inglés. Tanto palabras clave como key words se escriben a la izquierda del texto, con el tamaño de fuente 12 y en negrita.
5. Deberá respetarse las normas internacionales referentes a la nomenclatura, símbolos y sistemas de medida. Los nombres científicos van en cursiva (italica).
6. En caso de artículos originales y comunicaciones cortas, el texto debe contener las siguientes secciones: Introducción, Parte Experimental, Resultados y Discusión, Conclusiones, Agradecimientos y Referencias. Estos títulos se escriben con tamaño de fuente 14, en negrita y centrados. Las cartas al editor, artículos de revisión, enseñanza de la química y notas informativas, tendrán las secciones que el autor crea más conveniente.
7. Las tablas, figuras y esquemas, que no deben ser mayores a una página A4, tienen numeración arábiga seguido de punto y se escriben en negrita. A continuación se coloca la leyenda que explique su significado. La numeración y leyenda de una tabla, cuyo formato debe ser básico 1, se colocan en la parte superior, a diferencia de las figuras y los esquemas en los que se ubican en la parte inferior.
8. Las tablas, fotos, figuras y esquemas deben estar incluidos en el documento de Microsoft Word.

Las referencias se citan en el texto correlativamente como superíndice. El número de estas referencias no debe ser excesivo, fluctúan entre 7 y 15. La sección Referencias se escribe con tamaño de fuente 14, centrado y en negrita. Las abreviaturas de la revista se escribirán según el Chemical Abstracts Service Source Index (<http://www.cas.org/sent.html>) y **Lis or Journals Indexed in Index Medicus**. Las referencias citadas se escribirán con el tamaño de fuente 10 y se seguirá el estilo de Vancouver. Se pueden descargar ayudas para escribir artículos del portal www.sqperu.com

Editorial

La Revista de la Sociedad Química del Perú 75 Aniversario

Las instituciones y revistas científicas tienen vida efímera en nuestro país, es el comentario generalizado; afortunadamente eso no es cierto en el caso de la Sociedad Química del Perú que en octubre del 2008 celebró a lo grande su 75 aniversario, y decimos a lo grande pues organizamos el Congreso Iberoamericano de Química al que concurren más de 800 profesionales del país y de diversos países de nuestro continente y del continente europeo, y en el que se presentaron cientos de trabajos científicos por reconocidos investigadores de la academia y del sector productivo en los más variados temas del quehacer químico. Fue una fiesta iberoamericana de la química, de grata recordación para quienes estuvimos y de gran aprendizaje para las decenas de estudiantes que con todo entusiasmo aprovecharon, además de los conocimientos químicos, conocer lo impactante que es nuestro Machu Picchu y tantos otros regalos de nuestros antepasados que, a no dudarlo, supieron usar la química. Debemos mencionar que somos la Sociedad Química más antigua de América Latina.

Cuando el grupo de profesionales químicos peruanos, allá en el año 1933, tuvieron la visión de crear la Sociedad Química del Perú, acordaron también crear una revista periódica que llevase los modestos frutos del trabajo personal de sus miembros al conocimiento de todos y que sirviera para fomentar la investigación científica y como lazo de unión entre nosotros y con los centros superiores nacionales y extranjeros, y así en Julio de 1934 se publicó el primer número del Boletín de la Sociedad Química del Perú, llevando este nombre hasta junio del 2003 en que se cambió por Revista de la Sociedad Química del Perú. Asimismo la carátula actual reemplazó a la original en los inicios del año 1998.

Desde 1934 la Revista de Química del Perú se ha publicado trimestralmente y en forma ininterrumpida gracias al esfuerzo de las casi 40 Comisiones de Publicaciones que se han sucedido a lo largo de sus 75 años, y obviamente a la contribución de los cientos de investigadores que han aportado con sus resultados. Ellos han hecho posible la publicación de aproximadamente 1800 artículos científicos de los cuales alrededor del 13,3% corresponden a comunicaciones sobre Química General, Físico Química y Química Inorgánica; 14,8% a Química Orgánica; 12,9% a Química Analítica; 24,9% a Bioquímica, Bromatología, Toxicología; 13,8% a Productos Naturales y Química Industrial, y 19,5% a temas diversos, entre ellos dos tópicos de alto interés en las dos últimas décadas, la Ciencia de los Materiales y el Medio Ambiente. En relación a los autores, tomando al azar publicaciones de 17 años (1983 a 1999), en los 440 artículos publicados participan 1145 autores, de los cuales el 38,3% son de Perú, 19,3% de Argentina, 19,2% de España, 5,0% de Chile, 5,0% de Alemania, el porcentaje restante corresponde a autores de diversos países: India, Egipto, México, Italia, Francia, entre otros.

En las páginas de la Revista de Química, se incluyen asimismo los resúmenes de trabajos publicados por otras revistas científicas, comentarios de libros de química, notas de laboratorio, etc., y en su sección Informaciones y Notas de la Sociedad se incluyen noticias de las actividades más importantes de la institución y del mundo científico.

Considero interesante comentar sobre la editorial del primer número, de julio de 1934; en ella se lee "No pretendemos engañarnos sobre el valor intrínseco efectivo de la mayor parte de los ensayos que recoja en sus páginas el Boletín de la Sociedad Química, pues hechas las

excepciones de escasos maestros, casi todos somos principiantes en la ardua tarea de la investigación de la verdad. Pero este defecto, causado por variadas circunstancias raciales, de educación y de ambiente social, tiene alguna vez que ser vencido; y para ello es preciso que dejando la cobardía a un lado, nos resignemos a las inevitables caídas de un chiquillo que aún no siente seguro sus músculos, pero que está decidido a caminar.” ¡Qué dirían los fundadores de nuestra querida Sociedad, quienes como lo indican en esta editorial publicaron con decisión, aunque con un poco de temor, el primer Boletín, el que ahora a sus 75 años tiene difusión mundial, llega a todos los centros de investigación y principales bibliotecas nacionales y extranjeras!!. Su canje se realiza con cerca de 200 revistas similares y está indizada en Chemical Abstract, Latindex, EBSCO y SciELO, y a partir del año 2007 se encuentra disponible en versión electrónica.

En otra parte de la editorial se dice “ la Sociedad Química tiene enorme tarea a realizar: carecemos de legislación sobre productos alimenticios y farmacéuticos- ya que la copia fiel o alterada de tal o cual país extranjero no puede considerarse apropiada-; nos faltan fijar los métodos analíticos oficiales- ya que la reglamentación francesa o americana conduce a errores completos en la práctica; la enseñanza de la química en los colegios y aún Universidades y Escuelas Superiores deja mucho que desear, ya por falta de material de enseñanza o por deficiencia de los programas oficiales o por incompetencia pedagógica de los que enseñan...”. En estos aspectos, en mi opinión, nos falta mucho por hacer, y seguirá siendo un reto para las futuras generaciones!!.

Mucho se ha discutido sobre la escasa producción de los peruanos y ello es bastante cierto, pero mi quehacer como docente universitaria por casi cuatro décadas me hace ver con bastante optimismo que en la actualidad hay un cambio, que hay un aumento de la investigación científica en estos últimos años, probablemente porque las universidades han comprendido que su labor no es sola de transmitir conocimientos sino de generarlos, quizás porque hay mayores posibilidades de contar con subvenciones de organismos extranjeros, o porque más docentes universitarios han alcanzado las maestrías y doctorados convirtiéndose en impulsores de las investigaciones, o porque nuestro país está en un momento oportuno de desarrollar nuevas industrias, de darle valor agregado a sus recursos naturales, etc., etc. Las razones son muchas. Es importante que el estudiante y sus profesores culminen su investigación con la publicación respectiva. Muchas veces es difícil. Me consta. No es fácil redactar. Afortunadamente en estos últimos años también se dan cursos de redacción científica, inclusive de cómo colocar las referencias bibliográficas. La tesis es indispensable para la graduación, pero también lo es su publicación en una revista especializada para dar a conocer a la comunidad científica los nuevos hallazgos, positivos o negativos.

No puedo dejar de mencionar los difíciles momentos por los que la Sociedad Química ha pasado, muchas veces sin los recursos suficientes para cubrir los costos de impresión, pero el esfuerzo y tesón de los editores y de las diferentes comisiones y con el esporádico apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología del Perú lograron siempre cumplir con el compromiso, algunas pocas veces con un ligero retraso. Vaya para todos ellos nuestra gratitud por “quemarse las pestañas” en la revisión de los machotes, en “perseguir a los autores” para que cumplan con las instrucciones y hagan las correcciones solicitadas; en “perseguir a las imprentas” para la entrega oportuna de los ejemplares. Lo digo por la experiencia que me cupo al editar una revista universitaria durante 20 años.

Dra. Olga Lock Sing de Ugaz
Ex Presidenta SQP (1996-1999)

PREPARACIÓN, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE PELÍCULAS DE QITOSANO PROVENIENTE DE CALAMAR GIGANTE "*Dosidicus gigas*" PARA USO MÉDICO

Lina Belén Fuentes Yalli*^a, Ana Pastor de Abram^a

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue el de desarrollar películas de quitosano proveniente de desechos del calamar gigante "*Dosidicus gigas*", evaluar sus propiedades físicas, mecánicas, biocompatibilidad y de bioadhesión para su uso como apósitos en el tratamiento de heridas por quemaduras.

Las propiedades mecánicas, bioadhesivas, grado de transmisión de vapor de agua (TVA) y de biocompatibilidad se estudiaron de acuerdo a la norma chilena NCh1151.Of76, y las normas internacionales ASTM D 5458-95, ASTM D 1653-93 y ASTM F 719-81, respectivamente.

Las películas de quitosano-NaOH (QNO-NaOH) y de complejo quitosano-alginato (CPEQA) mostraron baja irritación, además de adecuada permeabilidad, lo cual las hace aptas para ser utilizadas como apósitos.

Palabras clave: quitosano, películas de quitosano, complejo polielectrolito, apósito.

PREPARATION, CHARACTERIZATION AND CHITOSAN FILMS EVALUATION FROM GIANT SQUID "*Dosidicus gigas*" FOR MEDICAL USE

Lina Fuentes Yalli*^a, Ana Pastor de Abram^a

ABSTRACT

The objective of this study was to develop chitosan films from of squid giant "*Dosidicus gigas*" waste, and to evaluate their physical, mechanical, biocompatibility and bioadhesive properties as wound dressings.

The mechanical properties, bioadhesives, degree of water vapor transmission (TVA) and biocompatibility were studied according to NCh1151.Of76 chilean and international standards ASTM D 5458-95, ASTM D 1653-93 and ASTM F 719 -81, respectively.

The film chitosan-NaOH and chitosan-alginate complex showed low irritation, as well as adequate permeability, which makes them suitable for use as wound dressings.

Key words: Chitosan, chitosan films, polyelectrolyte complex, wound dressing

INTRODUCCIÓN

En la actualidad los polímeros naturales o biopolímeros son utilizados como biomateriales, siendo uno de los más importantes el quitosano,¹ polisacárido catiónico lineal compuesto por unidades de β -(1-4)-2-desoxi-2-amino-D-glucopiranososa (D-glucosamina) (GlcN) y β -(1-4)-2-desoxi-2-acetamido-D-glucopiranososa (N-acetyl - D- glucosamina) (GlcNAc); derivado

^a Sección Química, Pontificia Universidad Católica del Perú, Av. Universitaria cuadra 18 s/n, Lima 23, Perú, lfuentes@pucp.edu.pe

por desacetilación de quitina: poli [β -(1-4)-2 acetamida-2-desoxi-D-glucopiranosas]; esta última es la segunda sustancia polimérica natural más abundante en la naturaleza después de la celulosa; se obtiene por métodos químicos de los exoesqueletos de crustáceos y de la concha caliza (pluma) de moluscos.²

El quitosano tiene aplicaciones farmacéuticas como matriz de liberación prolongada de drogas y en terapia génica, aplicaciones biomédicas como material bioadhesivo, fungistático, hemostático y como apósito para el tratamiento de quemaduras.

En el tratamiento de heridas por quemaduras se aplican vendajes húmedos denominados apósitos, que deben comportarse como piel alcanzando un 85% de humedad y buena permeabilidad, otorgándole, además, condiciones para repararla sin alteraciones. El quitosano ha mostrado buenos resultados facilitando la cicatrización y mejorando las funciones de las células inflamatorias.¹

El quitosano puede asociarse a sustancias cargadas negativamente, incluidas proteínas, polisacáridos aniónicos y ácidos nucleicos presentes en la piel; posee propiedades hemostáticas y antimicrobianas, es biocompatible, clínicamente ha demostrado no producir reacciones alérgicas después de su implantación, inyección o aplicación tópica. Es biodegradable en los mamíferos, se degrada y reabsorbe *in vivo*. Forma películas con buenas propiedades mecánicas y de permeabilidad; a pH neutro o básico posee grupos amino libres, a pH ácido se encuentra protonado y es soluble en agua.¹

PARTE EXPERIMENTAL

El quitosano empleado fue obtenido a partir de plumas de *Dosidicus gigas* (“pota”). Se aisló quitina la cual se desacetiló. Adicionalmente se empleó alginato Sigma-Aldrich Inc. Alg3500 (3.500 cP, 2%), ácido acético glacial (Merck), ácido láctico (Merck), etanol (Merck), gentamicina 0,3% (Laboratorio Chile, Chile), NaOH (Merck) y suero fisiológico (NaCl 0,9%. Laboratorios Sanderson S.A., Chile).

Para purificarlo se disolvió en ácido acético 1% v/v, se precipitó con NaOH 1M, se filtró, lavó y liofilizó. Se determinó el grado de desacetilación (GD) por RMN-¹H (Bruker, 300 MHz) según Lavertu y col.³; el peso molecular (PM) por viscosimetría relacionando el PM con la ecuación de Mark-Houwink.⁴ El contenido de cenizas, humedad y material insoluble se determinó gravimétricamente;⁴ el contenido de nitrógeno por el método Kjeldahl,⁵ la cristalinidad por difracción de rayos X (X Bruker D8 Advance),⁶ con ángulo de difracción de 2,5° a 40°.

Preparación de películas de quitosano y de cpeqa

Soluciones de QNO al 0,8% p/v en ácido láctico al 1% p/v se microfiltraron (filtro 0,45 μ m Sartorius, SM16249) a presión de 40 psi. Se determinó el pH (Potenciómetro Hanna Instruments HI 8417) y turbidez (turbidímetro Hanna Instruments, HI 93703, EE.UU.). Se moldearon 15 mL de la solución sobre placas Petri de diámetro 8,8 cm, las cuales fueron secadas por más de 18 horas. Se midió el pH por incubación en agua por 24 horas a 40 °C. Algunas películas fueron sumergidas por 5 minutos en 100 mL de NaOH 0,1 M, lavadas 3 veces en 100 mL de agua – etanol (20:80), luego secadas por 18 horas a 30 °C.

Las películas de complejo polielectrolito quitosano – alginato (CPEQA), se prepararon según Cárdenas y col.⁷ con modificaciones. Se mezcló QNO filtrado (0,8% p/v en ácido láctico) y alginato (0,8% p/v) 1:1 dejándose reaccionar 1 hora con agitación constante, vertida en placas Petri y se secó por 24 horas a 30 °C, obteniéndose películas de CPEQA, con apariencia similar a la clara de huevo revuelta.

Las películas fueron cortadas de acuerdo con las dimensiones requeridas en los ensayos y se almacenaron en ambiente controlado a 21 ± 1 °C y $50 \pm 2\%$ HR.

Evaluación de las películas

Determinación de las propiedades mecánicas

Se evaluó el Alargamiento Porcentual (A%) y el Esfuerzo de Tracción en el Corte (ETC) en N mm^{-2} , de acuerdo con la norma Oficial Chilena NCh1151.Of.76,⁸ equivalente a la norma ISO R1184-1970, con pequeñas modificaciones.⁹

Determinación de propiedades bioadhesivas

Se utilizó la norma ASTM D5458-95¹⁰ con algunas variaciones.⁹ Se determinó la fuerza máxima de desprendimiento ($F_{\text{máx}}$) y el trabajo de desprendimiento (T_{des}) necesarios para retirar la película de la piel de ensayo.

Determinación del grado de transmisión de vapor de agua (TVA)

El TVA se determinó según la norma ASTM D1653-93 – Método de la copa húmeda.¹¹ El procedimiento se repitió 4 veces para cada tipo (películas lavadas y sin lavar de quitosano y películas de CPEQA).

Biocompatibilidad de las películas-test de irritación primaria dérmica

Se utilizaron películas de QNO-NaOH y de CPEQA preparadas bajo campana de flujo laminar clase II, en condiciones asépticas, con material esterilizado en autoclave.

Este test se realizó en conejos con la norma ASTM F 719– 81¹² con algunas modificaciones.⁹ Los estudios se realizaron en el Instituto de Salud Pública de Chile (ISP). Los resultados se evaluaron según los índices de la tabla 1. (ASTM F 719 – 81) para eritema y edema.

El índice promedio de irritación primaria (PII Promedio) fue calculado sumando los promedios de puntajes para eritema y edema de las zonas con y sin abrasión para cada muestra ensayada (tabla 2).¹³

Tabla 1. Tabla de puntuación utilizada para los ensayos de irritación primaria.

Puntaje	Eritema	Edema
0	Sin eritema	Sin edema
1	Eritema levemente perceptible	Edema levemente perceptible
2	Eritema definido	Edema leve,
3	Eritema moderado a severo	Edema moderado
4	Eritema severo y con llagas	Edema severo

Tabla 2. Interpretación de puntajes para el ensayo de irritación primaria

Valor	Interpretación
0 – 1,9	No irritante
2,0 – 3,9	Medianamente irritante
4,0 – 8,0	Demasiado irritante

Análisis estadístico de datos

Se utilizó el método one-way ANOVA del software ORIGIN. (Varianza *t de Student*, indicador de diferencias significativas $p \leq 0,05$) para evaluar las diferencias entre grupos. Los resultados se muestran como: promedio \pm desviación estándar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las condiciones óptimas para la obtención de QNO de pota se presentan en la tabla 3.

Tabla 3. Condiciones de obtención de quitosano

Condición	[NaOH] %	Tiempo (min)	Relación w/v	Temperatura °C
DP	8	120	1:10	60
DA	40	240	1:10	60
Desproteización: DP			Desacetilación: DA	

Caracterización de quitosano

El QNO ensayado tiene PM promedio de 980 kDa adecuado para la formación de CPEQA; el GD fue de 90%, esto le confiere una adhesión suficiente para su uso como apósito y una buena solubilidad en medio ácido, para facilitar la formación de películas con buenas características.

Para evaluar la cristalinidad se comparó el espectro del QNO de pota con el del QNO estándar Sigma de configuración α (figuras 1 y 2). Se encontró diferencias, primero en la posición del ángulo 2θ para el QNO de pota a $10,68^\circ$ y $20,14^\circ$ mientras que el Sigma está a $10,08^\circ$ y $19,94^\circ$. Estos valores confirman que nuestro QNO no es de configuración α . El QNO de pota posee mayor cristalinidad al tener mayor intensidad debido al ordenamiento de las cadenas en configuración β .

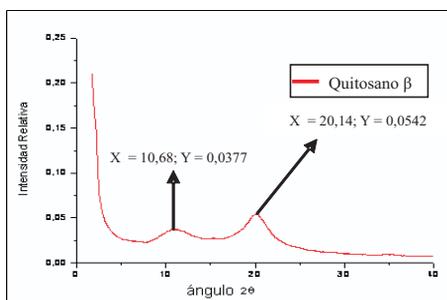


Figura 1. Espectro DRX QNO pota (β) Picos de los ángulos 2θ a $10,68^\circ$ de intensidad 0,0377, y a $20,14^\circ$ de intensidad 0,0542.

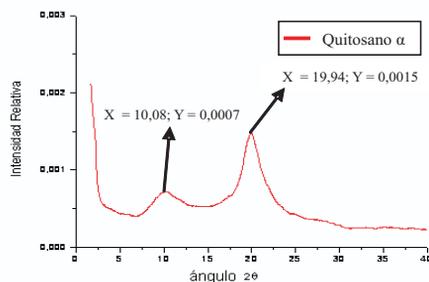


Figura 2. Espectro DRX QNO (α) Picos de los ángulos 2θ a $10,08^\circ$ de intensidad 0,0007, y a $19,94^\circ$ e intensidad 0,0015.

Películas de quitosano y cpeqa

El QNO se disolvió fácilmente en ácido láctico pues forma una sal soluble por las interacciones electrostáticas entre el grupo amino protonado del quitosano y el ion carboxilato del ácido láctico.

Se usó ácido láctico por ser biocompatible, de baja toxicidad, intermediario en procesos de fermentación de azúcares y poseer mejores características para la formación de películas.¹⁴

Las soluciones filtradas de QNO y de alginato son transparentes, con pH muy diferentes de $2,86$ y $6,45$ (*t-student*; $p \leq 0,05$; $n=3$), respectivamente. Presentan baja turbidez de $3,02 \pm 0,10$ y $4,48 \pm 0,15$ FTU, respectivamente, asegurando pureza y transparencia.

Las películas de QNO son transparentes, suaves, compactas, homogéneas e incoloras; con pH $2,9 \pm 0,02$ semejante al de sus soluciones ($2,86 \pm 0,01$), presentan espesores de 35 ± 1 μm .

Las películas tratadas con NaOH son insolubles en agua debido a la neutralización del grupo amino protonado del QNO formando bases libres de QNO insoluble y la sal sódica de lactato; estas películas tratadas se mantuvieron transparentes, incoloras, pero rugosas; su pH varió hasta un valor de $5,47 \pm 0,06$; con espesores de $33 \pm 1 \mu\text{m}$, de apariencia menos uniforme que las de QNO. Las películas de CPEQA fueron heterogéneas, rugosas y opacas de espesores $66 \pm 5 \mu\text{m}$, con $\text{pH } 5,52 \pm 0,03$, similar al de las películas de quitosano tratadas con NaOH (*t-student*; $p \leq 0,05$, $n=3$).

Cuando se forma un complejo polielectrolito con quitosano, el grupo amino del quitosano genera enlaces de hidrógeno con los grupos presentes en la gelatina, rompiéndose el enlace de hidrógeno como resultado de la estructura amorfa del mismo. Esta disminución de la cristalinidad se refleja en la opacidad confirmando que el enlace de hidrógeno entre gelatina y quitosano muestra buena compatibilidad.

Las películas de QNO fueron neutralizadas con el fin de obtener películas con pH similar a la piel humana.

Evaluación de las películas de quitosano y cpeqa

Propiedades mecánicas

Las películas de QNO resultaron ser significativamente más elásticas que las películas de QNO-NaOH con valores de $65,81 \pm 7,08 \%$ y $31,89 \pm 1,46\%$, respectivamente (*t-student*; $p \leq 0,05$, $n=5$). La disminución de la elasticidad se debería a la reducción del ion lactato plastificante durante el lavado. Ambas son más elásticas que las películas del CPEQA.

Las películas de QNO - NaOH y QNO resultaron ser más resistentes, con valores de ETC de $30,09 \pm 2,84 \text{ N mm}^{-2}$ y $29,36 \pm 4,50 \text{ N mm}^{-2}$, respectivamente, contra $10,11 \pm 1,78$ de las películas de CPEQA. Los resultados se muestran en tabla 4 y figuras 3 y 4.

Otros estudios ¹ muestran resultados diferentes al nuestro; estas diferencias dependen de la especie de origen, del PM y del GD así como del proceso de fabricación, de las condiciones ambientales de las pruebas y de la velocidad de análisis.

Películas	A%	ETC	F _{máx} (N)	T _{des} (N mm)
QNO	$65,81 \pm 7,08$	$29,36 \pm 4,50$	$0,20 \pm 0,01$	$0,19 \pm 0,02$
QNO-NaOH	$31,89 \pm 1,46$	$30,09 \pm 2,84$	$0,24 \pm 0,04$	$0,25 \pm 0,04$
CPEQA	$3,70 \pm 0,60$	$10,11 \pm 1,78$	$0,16 \pm 0,02$	$0,07 \pm 0,01$

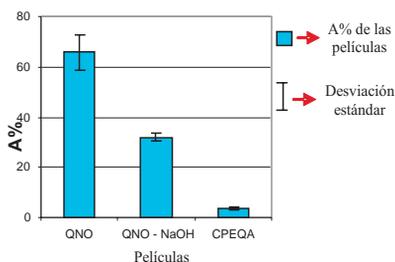


Figura 3. Comparación del A% A 20 mm/min norma Chilena Oficial NCh1151 ($n=5$).

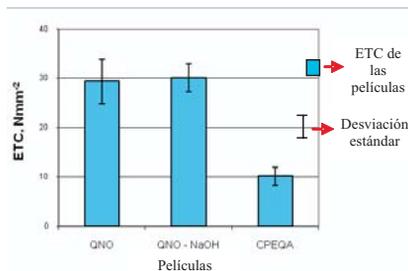


Figura 4. Comparación del ETC A 20 mm/min norma Chilena Oficial NCh1151 ($n=5$).

Propiedades de bioadhesión

Las propiedades intrínsecas importantes de los polímeros son: PM, concentración del polímero, flexibilidad de las cadenas poliméricas y grupos químicos, los cuales determinan las propiedades de bioadhesión debido a que los polímeros pueden formar sobre la piel, uniones electrostáticas o secundarias como puentes de hidrógeno y fuerzas de van der Waals. Por otro lado, los factores ambientales, pH, tiempo de contacto y grado de hinchamiento, afectan significativamente las propiedades de bioadhesión.¹

Los resultados se muestran en la tabla 4 y figura 5.

La humedad relativa de trabajo (HR) de la piel de cerdo fue de $21 \pm 0,89\%$ ($n=10$). Se trabajó a este valor de % HR muy estable. La piel de cerdo guarda gran similitud con la piel humana siendo adecuada para estudios de bioadhesión *in vitro* además de su disponibilidad y bajo costo.¹⁵

Las películas de QNO-NaOH tienen mejores propiedades de bioadhesión que las no tratadas, con F_{\max} de $0,24 \pm 0,04$ N y un T_{des} de $0,25 \pm 0,04$ N mm contra un F_{\max} de $0,20 \pm 0,01$ N y un T_{des} de $0,20 \pm 0,01$ N mm respectivamente, estas diferencias no son significativas para el F_{\max} (*t-student*; $p \leq 0,05$, $n=5$).

Las películas de QNO-NaOH presentan mayor rugosidad permitiendo buen contacto con la piel a pesar de no estar totalmente ionizadas. Las películas de QNO poseen grupos catiónicos que interactúan con la superficie de la piel cargada negativamente, dándole características bioadhesivas.

Las propiedades de bioadhesión de los complejos son inferiores a los de las películas de QNO y QNO-NaOH con valores de F_{\max} de $0,16 \pm 0,02$ N y un T_{des} de $0,07 \pm 0,01$ N mm (*t-student*; $p \leq 0,05$, $n=5$), debido a las uniones quitosano alginato reduciendo las interacciones electrostáticas y probablemente estableciendo débil unión a la piel de cerdo a través de puentes de hidrógenos u otras uniones más débiles, quedando grupos amino protonados en la molécula del QNO.

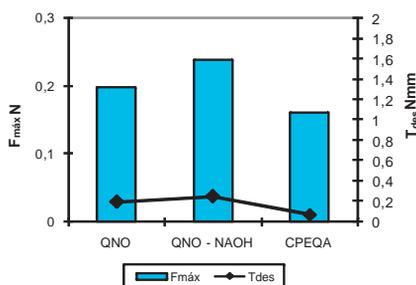


Figura 5. (F_{\max}) y (T_{des}) de las películas.

Las barras indican los valores de F_{\max} de cada tipo de película y la línea el T_{des} de cada una de ellas. Ensayo a velocidad de 5 mm/min.

El alto PM del QNO influyó en estas propiedades: a mayor PM, mayor polimerización y, por lo tanto, mayor posibilidad de formación de puentes de hidrógeno aumentando la bioadhesión. A diferentes % HR de la piel de cerdo se observa que una mayor humedad otorgaría una mayor bioadhesión.

La mayoría de los apósitos utilizados actualmente contienen algún adhesivo; el apósito al ser retirado se adhiere a la herida arrancando el epitelio recientemente formado, causando dolor, retrasando el proceso de curación y, aumentando la formación de cicatrices.

Los resultados de esta propiedad en películas preparadas de QNO, QNO-NaOH y CPEQA, indican que no sería necesaria la adición de adhesivos en ellas.

Nuestras películas muestran pequeña adhesión, calidad importante para ser usadas como apósitos; por tanto podrían ser retiradas de la piel sin ningún trauma para el paciente.

Grado de transmisión de vapor de agua, TVA

Se usaron los datos de agua evaporada entre los días 7 y 12, por presentar mejor linealidad, figura 6. Los valores obtenidos de TVA se muestran en la tabla 5 y figura 6.

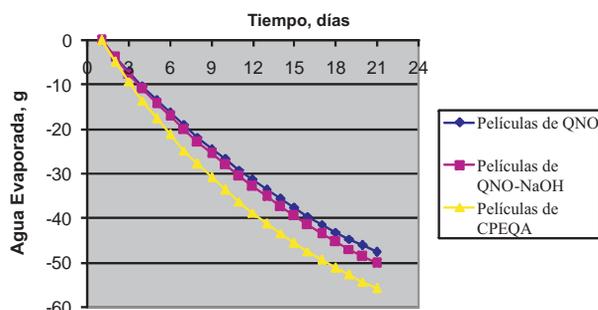


Figura 6. Cinética de evaporación del agua a través de las películas. Pérdida de peso (g) en función del tiempo.

Tabla 5. Propiedades de permeabilidad de las películas

Películas	Agua Total Evaporada (g)	TVA ($\text{g m}^{-2}\text{h}^{-1}$)	TVA ϵ ($\text{mm g m}^{-2}\text{h}^{-1}$)
QNO	47,64 \pm 4,68	20,35 \pm 2,33	0,71 \pm 0,08
QNO-NaOH	50,14 \pm 2,93	21,24 \pm 0,69	0,70 \pm 0,02
CPEQA	55,86 \pm 1,61	23,29 \pm 0,37	1,54 \pm 0,02

Las películas del CPEQA son significativamente más permeables al vapor de agua que las de QNO y QNO-NaOH, con valores de TVA de 23,29 \pm 0,37 contra 20,35 \pm 2,33 y 21,24 \pm 0,69 respectivamente (*t-student*; $p < 0,05$; $n = 4$).

El TVA ϵ informa de la influencia de los espesores sobre el TVA. No existen diferencias significativas (*t-student*; $p < 0,05$; $n = 4$) entre las películas de QNO y QNO-NaOH 0,71 \pm 0,08 y 0,70 \pm 0,02, respectivamente, sugiriendo que la disminución en el espesor de las tratadas con NaOH, aumenta la resistencia a la transferencia debido a su rugosidad.

Por otro lado, el TVA ϵ del CPEQA 1,54 \pm 0,02 es mayor que los de las películas de QNO y QNO-NaOH (*t-student*; $p < 0,05$; $n = 4$), debido a que posee mayor porosidad.

Un apósito debe acelerar la curación de heridas mediante la prevención de la pérdida de fluidos para mantener un buen ambiente fisiológico; como la superficie de una quemadura contiene agua y exudados, es necesario evaporarlos a través del apósito para que éste se adhiera a la superficie de la herida y para que el exudado no se acumule entre la herida y el mismo, evitando de esta manera infección, daño de los tejidos y retraso del proceso de curación. Esto significa que un apósito ideal debería controlar la pérdida por evaporación de agua de la superficie de la herida. El TVA de la piel normal es de 8 – 21 $\text{g m}^{-2}\text{h}^{-1}$. Los apósitos deben tener valores del mismo orden.

Todas las películas mostraron valores de TVA cercanos y mayores a los de la piel; su hidrofiliidad permite que las moléculas de agua interactúen con la matriz polimérica. Nuestras películas tienen capacidad para prevenir la acumulación de fluidos en heridas con exudados medios a altos, evitando la deshidratación total de la herida y manteniendo un ambiente húmedo.

Biocompatibilidad -test de irritación primaria dérmica (PII)

Evalúa la aceptabilidad del organismo a las películas, reconociendo para esto, el nivel de irritación al contacto con la piel del conejo con y sin abrasiones.

Las películas de QNO sin lavar no fueron ensayadas debido a su pH ácido. Se usaron películas neutralizadas a pH similares a la piel humana y las del CPEQA. En la tabla 6 se muestran los valores del PII promedio.

Tabla 6. Valores de formación de eritema, edema y PII promedio de las películas

Películas	Eritema	Edema	PII Promedio	Interpretación
QNO-NaOH	0,167 ± 0,333	0	0,167 ± 0,333	No irritante
CPEQA	0,167 ± 0,279	0	0,167 ± 0,279	No irritante
Control	0	0	0	No irritante

El PII promedio considera la suma de los promedios de la formación de eritema y edema.

Las películas de QNO-NaOH y CPEQA presentan mínima formación de eritema, sin edema, con valores iguales y cercanos a cero, haciéndolas ideales para su uso como apósito.

CONCLUSIONES

El quitosano proveniente de *Dosidicus gigas*, “pota”, posee características valiosas para uso biomédico al tener una estructura cristalina ordenada tipo β -quitosano; sus soluciones son muy transparentes con mínimo contenido de cenizas, material insoluble y nitrógeno proteico.

Las películas de QNO para uso médico deben tratarse con NaOH para alcanzar pH cercano a la piel humana. Este tratamiento las compacta disminuyendo levemente su flexibilidad y aumentando la resistencia.

El CPEQA producto de la interacción electrostática entre el residuo de glucosamina del QNO y el grupo carboxilato del alginato, se moldeó en películas de estructura compacta de mayor rigidez que las de QNO. La mínima bioadhesión en estos materiales se debió a la neutralización de las cargas positivas del QNO por parte del alginato.

Las películas de QNO y QNO-NaOH mostraron buenas propiedades mecánicas, bioadhesivas y de permeabilidad. Las películas de CPEQA, fueron menos resistentes, flexibles y bioadhesivas.

Las películas de QNO-NaOH y de CPEQA mostraron baja irritación (cercana a cero), además de una adecuada permeabilidad, lo cual las hace aptas para ser utilizadas como apósitos gracias a su biocompatibilidad ya que mantienen un ambiente húmedo que promueve la curación de quemaduras.

AGRADECIMIENTO

Esta investigación fue posible gracias al apoyo de la Dirección Académica de Investigación (DAI)-PUCP, al Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, CYTED, y a la Universidad de Chile.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pastor de Abram A. Editor. Quitina y Quitosano: Obtención, Caracterización y Aplicaciones. Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima: CYTED; 2004.
2. ASTM F 2103-01. Standard guide for characterization and testing of chitosan salts as starting materials intended for use in biomedical and tissue-engineered medical product applications. American Society for Testing and Materials, Philadelphia. 2001.
3. Lavertu M, Xia A, Serreqi A, Berrada M, Rodrigues A, Wang D. et. al. A validated ¹H NMR method for the determination of the degree of deacetylation of chitosan. *J Pharm Biomed Anal* 2003; 32 (6): 1149-1158.
4. Wei Wang, Shuqin Bo, Shuqing Li, Wen Qin. Determination of the Mark-Houwink equation for chitosans with different degrees of deacetylation. *Int J Biol Macromol* 1991; 13 (5): 281-285.
5. ASTM E 258-67 (Reapproved 1987). Standard test method for total nitrogen in organic materials by modified kjeldahl method. American Society for Testing and Materials, Philadelphia. 311-313 (1987).
6. Mingyu Cheng, Jinguang Deng, Fei Yang, Yandao Gong, Nanming Zhao, Xiufang Zhang. Study on physical properties and nerve cell affinity of composite films from chitosan and gelatin solutions. *Biomaterials* 2003; 24(17): 2871-2880.
7. Cárdenas A, Argüelles W, Goycoolea F, Huiguera I. and Peniche C. Diffusion through membranes of the Polyelectrolyte Complex of Chitosan and Alginate. *Macromol Biosci* 2003; 3 (10): 535-539.
8. Norma Oficial Chilena NCh1151.Of76. Láminas y películas plásticas – Determinación de las propiedades de tracción. 1999.
9. Fuentes Yalli L. Preparación, caracterización y evaluación *in vitro* e *in vivo* de películas de quitosano para su aplicación como apósito en heridas por quemaduras. [Tesis de Maestría]. Lima, Perú: Pontificia Universidad Católica del Perú; 2007.
10. ASTM D 5458-95. Standard test method for peel cling of stretch wrap film. American Society for Testing and Materials, Philadelphia. 1-8 (2001).
11. A.S.T.M D 1653 – 93 (Reapproved 1999). Standard test methods for water vapor transmission of organic coating films. American Society for Testing and Materials, Philadelphia. 1-4 (1999).
12. A.S.T.M F 719 - 81 (Reapproved 1996). Standard practice for testing biomaterials in rabbits for primary skin irritation. American Society for Testing and Materials, Philadelphia. 178-179 (1998).
13. Mazzanti G, Daniele C, Tita B, Vitali F, Signore A. Biological evaluation of a polyvinyl siloxane impression material. *Dent Mater* 2005; 21 (4): 371-374.
14. Khan, TA, Peh KK and Chang HS. Mechanical, bioadhesive strength and biological evaluations of chitosan films for wound dressing, *J. Pharm. Pharm Sci* 2000; 3 (3): 303-311.
15. Sullivan T, Eaglstein W, Davis S. and Mertz P. The pig as a model for human wound healing. *Wound Repair Regen* 2001; 9(2): 66-76.

SÍNTESIS DE UNA NUEVA SERIE DE PIRROLES VÍA CICLOADICIÓN

Angelina Hormaza.; Oscar Felipe Arbeláez Pérez*¹.

RESUMEN

A través de un mecanismo concertado de cicloadición 1,3-dipolar y bajo condiciones básicas y anhidras se sintetizó una nueva serie de derivados pirrólicos a partir de precursores carbonílicos α,β -insaturados (chalconas) y el synthon nitrogenado tosilmetilisocianuro (TOSMIC). Los materiales de partida, cetonas aromáticas, -insaturadas, se obtuvieron por medio de la condensación de Claisen-Schmidt entre las respectivas acetofenonas y benzaldehídos sustituidos en *meta* posición; el TOSMIC es un precursor comercialmente disponible. La caracterización espectroscópica, tanto de los precursores como de las moléculas objetivo, se realizó a través de técnicas convencionales como la resonancia magnética nuclear (¹H- y ¹³C-RMN) y espectroscopía de infrarrojo.

Palabras clave: Pirroles, compuestos carbonílicos α,β -insaturados, TOSMIC,

SYNTHESIS OF A NEW SERIE OF PYRROLE VIA CYCLOADDITION

ABSTRACT

Through the concerted 1,3-dipolar cycloaddition mechanism and in basic and anhydrous conditions a new series of derivatives pyrroles was synthesized of α,β -unsaturated carbonylic compounds (chalcones) and the nitrogenated synthon Tosylmethylisocyanide (TOSMIC). The starting materials, α,β -unsaturated carbonylic compounds, were obtained through Claisen-Schmidt condensation from the respective acetophenones and benzaldehydes substituted in *meta* position; the TOSMIC is a precursor commercially available. The spectroscopic characterization of both the precursor of the target molecules was performed using the conventional techniques as nuclear magnetic resonance (¹H- y ¹³C-RMN) and infrared spectroscopy.

Key words: Pyrrole, α,β -unsaturated carbonylic compounds TOSMIC.

INTRODUCCIÓN

Los compuestos heterocíclicos han alcanzado en los últimos años gran importancia debido a su posible actividad biológica. En particular, se ha encontrado en los derivados del anillo pirrólico una valiosa herramienta para la producción de moléculas con un alto potencial biológico y/o farmacológico. Dentro de la actividad biológica exhibida por compuestos pirrólicos y aprovechada en la medicina, se suman propiedades tan interesantes como las de tipo anticonvulsivo, antiinflamatorio y analgésico. Asimismo, han sido catalogados como potenciales agentes antivirales, vasorelajantes y anticancerígenos. Estas interesantes propiedades han estimulado el desarrollo de efectivas estrategias sintéticas para su obtención, las cuales, partiendo de diferentes precursores permiten obtener el anillo pirrol con una estructura particular, donde los sustituyentes imprimen la posible actividad a las moléculas.

¹ Escuela de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia – Sede Medellín. Calle 59ª No.63-20, Medellín –Colombia, ahormaza@unal.edu.co; oscarfelipe3@yahoo.es

La síntesis de los derivados pirrólicos se puede llevar a cabo mediante diversas metodologías; las más empleadas utilizan como precursores compuestos dicarbonílicos, alquinos, alquenos y compuestos carbonílicos α,β -insaturados, entre otros materiales.

Una de las metodologías más ampliamente utilizada en la síntesis de derivados pirrólicos incluye el uso del tosilmetilisocianuro, comúnmente denominado TOSMIC, synthon nitrogenado de diversa y poderosa utilidad en síntesis orgánica. Las aplicaciones de esta molécula se basan en la transferencia del fragmento $C_\alpha NC_\alpha$ a sustratos insaturados, entre los cuales se encuentran alquenos, alquinos y compuestos carbonílicos α,β -insaturados, entre otros (figura 1).

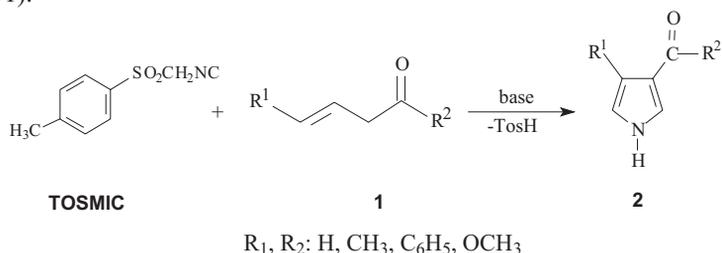


Figura 1. Síntesis de derivados pirrólicos a partir de TOSMIC y precursores Michael

Las variaciones a esta metodología han incluido la adición de sustituyentes sobre el synthon nitrogenado TOSMIC y la utilización de cetonas aromáticas α,β -insaturadas con sustituyentes en posición *para*, así como también diferentes compuestos carbonílicos α,β -insaturados, como materiales de partida para la síntesis de diferentes derivados pirrólicos.

Debido al potencial que presentan este tipo de compuestos, se realizó la síntesis de una nueva serie de compuestos pirrólicos **6a-g**, a partir de la reacción de cicloadición 1,3 dipolar entre compuestos carbonílicos **5a-g** y TOSMIC, para los cuales se espera que exhiban una actividad biológica y/o farmacológica similar a la descrita para moléculas estructuralmente análogas o que alternativamente representen un valioso material de partida para la generación de sistemas con mayor potencial.

PARTE EXPERIMENTAL

La obtención de los precursores, **5a-g**, se llevó a cabo mediante la reacción de condensación Claisen-Schmidt entre las acetofenona **3a-g** y benzaldehídos **4a-g** con los respectivos sustituyentes en posición *meta* (figura 2).

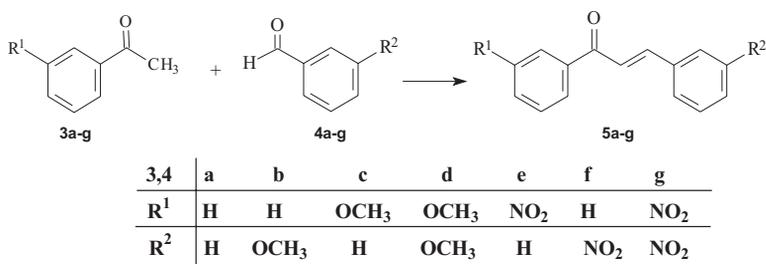


Figura 2. Obtención de precursores carbonílicos α,β -insaturados **5a-g**

La reacción se efectuó en un medio básico (NaOH 1,5 N), se controló con cromatografía de capa fina (TLC). La optimización se alcanzó con modificación de la relación molar y tiempo de reacción.

En la preparación de los compuestos pirrólicos **6a-g** (figura 3) se utilizó como base hidruro de sodio (NaH), la relación molar entre el precursor carbonílico α,β -insaturado y TOSMIC es de 1:1,3; en tanto que la relación TOSMIC:NaH fué de 1:0,8; el solvente utilizado fue éter etílico / dimetilsulfóxido 3:1. Al igual que en la obtención de precursores, el seguimiento de la reacción se realizó mediante CCF.

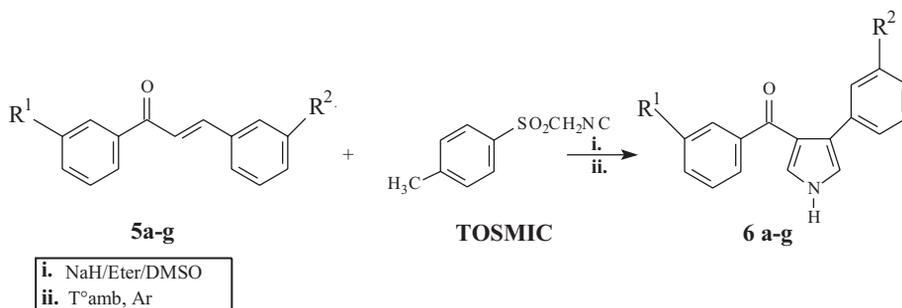


Figura 3. Obtención de derivados pirrólicos a partir de chalconas y TOSMIC

La separación y purificación de los productos se realizó mediante cromatografía de columna para los productos líquidos, mientras que para los compuestos sólidos se implementó la recristalización en metanol:acetato de etilo en proporción 1:1

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La síntesis de las moléculas objetivo **6a-g** (tabla 1) fue alcanzada a través de un mecanismo concertado de cicloadición 1,3 dipolar, en el cual el synthon nitrogenado TOSMIC, generado *in situ* actúa como la especie 1,3 dipolar y la parte olefínica del compuesto carbonílico como el dipolarófilo, obteniendo seis nuevos pirroles **6b-g**. Las condiciones óptimas de reacción se alcanzaron con modificación de tiempo de reacción; en la tabla 1 se detallan los datos experimentales básicos de dichos compuestos.

Tabla 1. Datos experimentales de los compuestos **6a-g**

Compuesto	Punto fusión (°C)	% Rendimiento	Tiempo Rxn (min)
a	230	88	90
b	228	80	90
c	226	75	100
d	240	80	120
e	242	65	200
f	226	63	200
g	235	65	180

La tabla 1 muestra mayores tiempos de reacción y menores porcentajes de eficiencia para aquellos compuestos que presentan dentro de su estructura el grupo electrón atractor (NO_2).

Con respecto a la caracterización espectroscópica de la nueva serie de pirroles **6a-g**, la elucidación estructural se realizó mediante espectroscopía de IR, y espectroscopía de resonancia magnética nuclear ^1H -y ^{13}C RMN.

Los espectros de infrarrojo para estos compuestos mostraron, en general, las siguientes señales características: a 1685 cm^{-1} y 1715 cm^{-1} (flexión $\text{C}=\text{O}$), 3321 cm^{-1} – 3200 cm^{-1} (flexión N-H) que confirma la presencia del grupo amino y con ello la presencia del anillo pirrol; también señales entre 2822 – 3090 cm^{-1} características de la tensión C-H y las bandas entre 733 y 880 cm^{-1} corresponden a las señales aromáticas.

En el espectro ^1H -RMN (figura 4), tomado en DMSO_{d_6} , el cual corresponde al compuesto **6d** de la serie, aparecen dos siguletes ($\delta = 3,77\text{ ppm}$ y $\delta = 3,71\text{ ppm}$) que integran cada uno para tres protones correspondientes a los grupos metoxi de cada anillo. Una señal en $\delta = 11,65\text{ ppm}$ que por su desplazamiento químico corresponde al protón del grupo N-H perteneciente al anillo pirrólico y señales entre $\delta = 7,36\text{ ppm}$ y $\delta = 6,73\text{ ppm}$, las cuales son características de un sistema aromático.

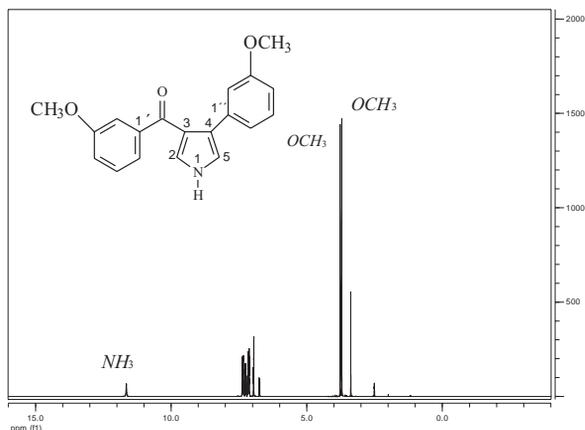


Figura 4. Espectro ^1H RMN compuesto **6d** tomado en DMSO_d

La característica particular del espectro de ^1H -RMN para toda la serie es la desaparición de los protones vinílicos (H_a y H_b) que se registraban claramente en el espectro de sus respectivos precursores carbonílicos como un doble doblete.

Las señales más importantes en el espectro de ^{13}C -RMN de la serie muestran la presencia del el grupo carbonilo entre $\delta = 190,54\text{ ppm}$ y $\delta = 195,20\text{ ppm}$. La asignación de las señales se facilitó por comparación con información disponible con moléculas estructuralmente similares. Los desplazamientos químicos para los carbonos más representativos concuerdan con los resultados predichos para esta molécula.

CONCLUSIONES

-La condensación de Claisen-Schmidt entre acetofenonas y benzaldehídos *meta* sustituidos permitió obtener de forma eficiente una serie de seis nuevas chalconas **5b-g**; dichos compuestos carbonílicos α,β -insaturados fueron implementados como material de partida

para la síntesis de los correspondientes derivados pirrólicos **6b-g** a través de la versátil metodología de cicloadición 1,3-dipolar, con la participación del auxiliar sintético nitrogenado TOSMIC.

-La elucidación estructural de los precursores **5a-g** y de las moléculas objetivo **6b-g** fue alcanzada mediante diversas técnicas como la espectroscopía de infrarrojo y resonancia magnética nuclear, (^1H - y ^{13}C), obteniendo señales para los principales grupos funcionales presentes en las moléculas sintetizadas; los valores encontrados concuerdan con los reportados para compuestos similares reportados en la literatura de investigaciones anteriores.

Debido a la analogía estructural que presentan los compuestos sintetizados con moléculas para las cuales se ha registrado una importante actividad biológica, se recomienda realizar dicha evaluación con los derivados pirrólicos **6a-g** sintetizados con el propósito de determinar el efecto ejercido por los diferentes sustituyentes sobre esta actividad, especialmente sobre su capacidad antifúngica.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a la Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín, al Sistema Nacional de Laboratorios de la Sede Medellín, así como a la División de Investigación de la Sede – Medellín, DIME, por el apoyo económico a través del Proyecto con código 20101007131.

REFERENCIAS

1. (a) Garcia, M.; Torroba, T. *Molecules* 2005, 10, 318-320; (b) Rollas, S.; Küçükgülzel, G. *Molecules* 2007, 12, 1910-1939; (c) Huang, J.; Chen, H.; Chen, R. *Chinese Chemical Letters* 2002, 13, 125 – 128; (d) Costa, S.; Batista, R.; Sousa, A.; Raposo, M. *Materials Science Forum* 2006, 514, 147-15.
2. Mohamed, M.; Rashad, A.; Zaki, M.; Fatahala, S. *Acta Pharm.*, 2005, 55, 237–249.
3. Xiao, S.; Wang, Y. *Chinese Chemical Letters* 2003, 14, 893-896.
4. Cyr, D.; Martin, N.; Arndtsen, B. *Organic letters* 2007, 9, 449-452.
5. (a) Harrak, Y.; Rosell, G.; Daidone, G.; Plescia, S.; Schillaci, D.; Pujol, M. *Biorganic and Medicinal Chemistry*. 2007, 15, 4876-4890; (b) Mamardashvilli, Z.; Kluyeva, M.; Golubchicov, O. *Substituted pyrroles Molecules*. 2000, 5, 89-92.
6. (a) Binder, J.; Kirsch, S.; *Organic Letters* 2006, 8, 2151-2153; (b) Hrnčarikova, K.; Vegh, D. *Molecules*. 2003, 8, 536-540.
7. Jiang, S.; Lu, H.; Liu, S.; Zhao, Q.; He, Y.; Debnath, A.; *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2004, 48, 4349-4359.
8. Ferlin, M.; Chiarelto, G.; Antonucci, L.; Caparrotta, L.; Frolidi, G. *European Journal of Medicinal Chemistry* 2002, 37, 427-434.
9. (a) Rochais, C.; Lisowski, V.; Dallemagne, P.; Rault, S. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 2006, 14, 8162-8175; (b) Malinka, W.; Redzicka, A.; Lozach, O. *Farmaco*. 2004, 59, 457-462.
10. Jursic, B. *Journal of Molecular Structure* 1996, 365, 55-61.
11. Dijkstra, H.; Have, R.; Van Leussen, A. *J. Org. Chem.*, 1998, 63, 5332-5338.
12. Tandon, V.; S. Rai, S. *Journal of Sulfur Chemistry* 2003, 24, 307 – 385.
13. Howing, H.; Van Leusen, A. *J. Heterocyclic Chem.*, 1981, 18, 1127-1132.
14. A, Hormaza.; Sanchez, C.; Suarez, E. *European Journal of Chemistry* In press
15. A, Hormaza.; Sanchez, C.; Suarez, E.; Vanegas, N. *Revista colombiana de Química* In press.

ESTUDIO DEL EFECTO DE LA FUERZA IÓNICA EN LA ADSORCIÓN DE FENOL CON ARCILLAS ORGANOFÍLICAS. EQUILIBRIO Y CINÉTICA

*María del Rosario Sun-Kou*¹, José Carlos Lazo¹*

RESUMEN

Se estudió el efecto de la fuerza iónica en el proceso de adsorción de fenol con arcillas organofílicas así como la cinética de reacción. Para el estudio de la fuerza iónica se evaluó la capacidad de adsorción de fenol de tres arcillas organofílicas, -preparadas por intercambio catiónico con sales de amonio cuaternario- en presencia de NaCl en soluciones cuya concentración de fenol varió en el rango de 50-800 ppm y la proporción de sal fue 2, 12 y 20% (w/v), respectivamente. Todas las arcillas intercambiadas exhibieron una alta capacidad de adsorción respecto a la arcilla sin modificar, y además, en todos los casos se encontró una mayor adsorción de fenol conforme mayor fue la cantidad de sal iónica disuelta en solución. Los mejores resultados se obtuvieron con las arcillas intercambiadas con tetrametilamonio (TMA) y hexadeciltrimetilamonio (HDTMA), con porcentajes de adsorción máximos de 76 y 72%, respectivamente. El estudio cinético mostró una buena correspondencia de los resultados experimentales con el modelo de pseudo segundo orden.

Palabras clave: arcillas organofílicas, fuerza iónica, adsorción, fenol.

STUDY OF STRENGTH IONIC EFFECT IN ADSORPTION OF PHENOL WITH ORGANOPHILIC CLAYS. EQUILIBRIUM AND KINETIC

ABSTRACTS

The effect of the ionic strength on the adsorption of phenol by organophilic clays and the kinetic of reaction were studied. It was evaluated the sorption capacity of three organophilic clays –they were obtained by cationic interchange with ammonium salts- in presence of NaCl. Adsorption isotherms were obtained in the range 50-800 ppm of phenol concentration and the amount of salt in the solution ranged between 2-20 % (w/v). All bentonites exchanged with the organic cations reported a higher adsorption of phenol than the one obtained with unmodified bentonite. In all the cases, phenol adsorption onto organoclays increased with the concentration of ionic salt in solution. Bentonite interchanged with tetramethylammonium (TMA) and hexadecyltrimethylammonium (HDTMA) showed greater adsorption capacities with maximum adsorption percentage of 76 and 72%, respectively. Conclusively, the kinetics study demonstrated a strong correspondence with the pseudo second order mechanism for the three organoclays.

Key words: organophilic clay, ionic strength, adsorption, phenol.

¹ Sección Química, Departamento de Ciencias, Pontificia Universidad Católica del Perú, Av. Universitaria 1801, Lima 32, Perú. E-mail: msun@pucp.edu.pe.

INTRODUCCIÓN

El fenol es una molécula aromática ampliamente utilizada en muchas industrias, tales como la de elaboración de resinas y pinturas, en plantas petroquímicas y en la industria maderera. El fenol y sus derivados son considerados como compuestos altamente dañinos para los seres vivos por sus propiedades corrosivas y mutágenas, incluso a bajas concentraciones. La Agencia para la Protección del Ambiente de Estados Unidos (EPA) recomienda una cantidad permisible máxima de fenol de 1mg/L o 1 ppm en agua residuales¹. Debido a la necesidad de investigar la efectividad de materiales adsorbentes de bajo costo, las arcillas organofílicas han sido estudiadas y clasificadas en los últimos años como potenciales materiales adsorbentes de diferentes compuestos tóxicos^{2,3}. Estos adsorbentes se obtienen mediante un proceso de intercambio catiónico en el cual, los cationes intercambiables de la arcilla natural (Na^+ , Ca^{2+} , K^+ , Mn^{2+}), son sustituidos por cationes cuaternarios de sales de amonio. Dicho proceso permite cambiar las propiedades intrínsecas de la arcilla, convirtiéndola de un material hidrofílico a hidrofóbico.

Muchos estudios se han desarrollado a fin de investigar cómo mejorar la capacidad de adsorción de las arcillas organofílicas; algunos de estos estudios se han centrado en el efecto de la fuerza iónica^{4,5}. Sin embargo, es reducida la información disponible sobre el efecto de la cantidad de sales iónicas en la solución, y casi no hay información sobre como es afectada la cinética de adsorción con la presencia de dichas sales. Nuestros resultados muestran que la presencia de sales iónicas en solución incrementa en forma significativa la capacidad de remoción de fenol de las arcillas. Sin embargo, ni el mecanismo de adsorción ni la cinética de la reacción se ven modificados por la presencia de dichas sales.

PARTE EXPERIMENTAL

Preparación de los adsorbentes:

La síntesis de las arcillas organofílicas ha sido descrita en una publicación previa⁶, en resumen: Se suspendió 20g de arcilla purificada en 2L de agua destilada con agitación magnética constante por 2 horas. Una vez suspendida la arcilla, se agregó un equivalente a 1,5 CEC (el equivalente a la Capacidad de Intercambio Catiónico de la arcilla fue 60mmol/100g) de la sal de amonio respectiva (99,99% Sigma-Aldrich). El proceso de intercambio catiónico se llevó a cabo por 12 horas a 25°C, luego se filtró al vacío y lavó repetidamente con agua destilada hasta no detectar iones haluro con nitrato de plata; posteriormente el material se secó por dos días a 60°C; seguidamente se molió y tamizó en malla número 100 (150µm de diámetro de partícula). Las sales de amonio empleadas para modificar la arcilla natural fueron: tetrametilamonio (TMA); hexadeciltrimetilamonio (HDTMA) y benciltrietilamonio (BTEA).

Preparación de las soluciones fenólicas:

Se preparó suficiente cantidad de solución stock de fenol (MERCK, 99,9% pureza) de 1000 mgL⁻¹. Las soluciones para todos los ensayos de adsorción se prepararon por dilución de la solución stock hasta obtener la concentración deseada.

Adsorción de fenol en las arcillas organofílicas. Efecto de la fuerza iónica:

Los ensayos de adsorción se llevaron a cabo a 25°C, con soluciones de fenol cuyas concentraciones variaban desde 50 a 800 mgL⁻¹. El tiempo de contacto entre adsorbente y adsorbato fue de 6 horas en agitación constante (500 rpm). La masa de adsorbente fue de 500

mg y el volumen de la solución 50 mL en todos los casos. Para el estudio de la fuerza iónica se utilizó NaCl como electrolito, y se obtuvo cuatro isotermas de adsorción para cada adsorbente, variando la cantidad de electrolito en proporciones de 0, 2, 12 y 20% (w/v), respectivamente. La cuantificación de fenol fue de acuerdo al método descrito por Gales y Booth⁷, el cual se basa en la medida de absorbancia a 510 nm del complejo formado por el fenol y la 4-aminoantipirina en medio básico; para la evaluación se utilizó un espectrofotómetro UV-Visible, Perkin Elmer modelo Lambda 2. Se elaboraron curvas de calibración en todos los casos.

Estudio de la cinética de reacción:

A fin de determinar la cinética de adsorción se realizó ensayos de adsorción en donde la concentración de fenol fue de 800 mg/L; el volumen de solución fue de 500 mL y la cantidad de adsorbente fue 5 gramos, en orden de mantener constante la relación adsorbente/solución. El tiempo total de cada ensayo fue de 90 minutos, y las alícuotas respectivas fueron tomadas cada 5 minutos. Los datos obtenidos fueron ajustados y correlacionados según el modelo pseudo segundo orden, de acuerdo con el procedimiento descrito en la bibliografía⁸. Como electrolitos se utilizó NaCl y CaCl₂ en cantidades de 12 % (w/v).

Procesamiento de datos:

La capacidad de adsorción (q) de las arcillas se determinó mediante la correlación: $q = V(C_i - C_e) / m$, donde C_i es la concentración inicial de fenol (mgL^{-1}), C_e es la concentración de fenol en el equilibrio (mgL^{-1}), V es el volumen de solución en litros, m es la masa de adsorbente expresada en gramos y " q " es la capacidad de adsorción (mg g^{-1}).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de la fuerza iónica

Las figuras 1, 2, 3, y 4 muestran las isotermas de adsorción de fenol obtenidas para cada una de las arcillas estudiadas, variando la fuerza iónica de la solución, usando para ello NaCl como electrolito, y en proporciones de 0, 2, 12 y 20% (w/v), respectivamente.

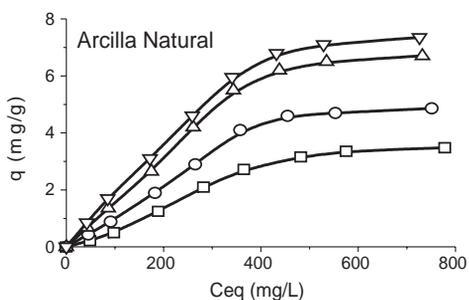


Figura 1: Isoterma de adsorción de la arcilla natural. Efecto de la fuerza iónica. 0% NaCl, O 2% NaCl, Δ 12% NaCl, 20% NaCl en w/v respectivamente)

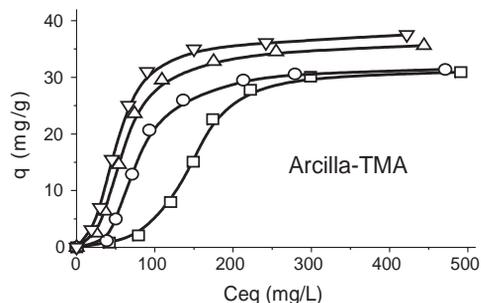


Figura 2: Isoterma de adsorción de la arcilla-TMA. Efecto de la fuerza iónica. (□ 0% NaCl, O 2% NaCl, Δ 12% NaCl, 20% NaCl en w/v respectivamente)

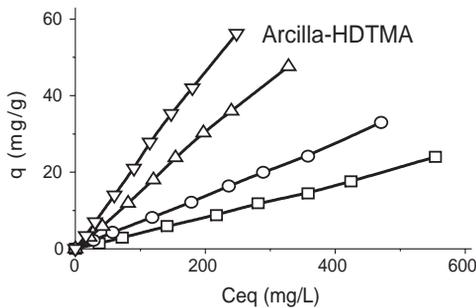


Figura 3: Isoterma de adsorción de la arcilla-HDTMA. Efecto de la fuerza iónica. (\square 0% NaCl, \circ 2% NaCl, Δ 12% NaCl, 20% NaCl en w/v respectivamente)

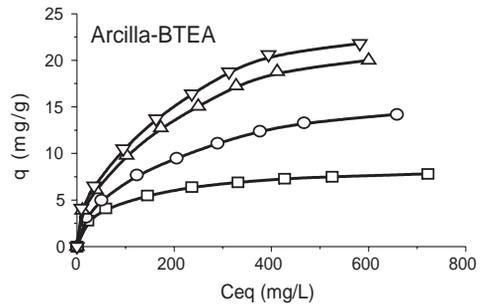


Figura 4: Isoterma de adsorción de la arcilla-BTEA. Efecto de la fuerza iónica. (\square 0% NaCl, \circ 2% NaCl, Δ 12% NaCl, 20% NaCl en w/v respectivamente)

De las figuras 1 a 4 puede observarse que la cantidad de fenol adsorbido en cada una de las arcillas estudiadas aumentó significativamente en presencia NaCl en la solución, y al mismo tiempo, se observa que a mayor cantidad de electrolito disuelto en la solución mayor es la cantidad de fenol adsorbido, independientemente de la naturaleza de los cationes orgánicos cuaternarios. La explicación a estos resultados está en que la adición de electrolitos a las soluciones puede producir un efecto de “*salting-out*” – un fenómeno bien conocido en el cual la solubilidad en agua de un compuesto no-electrolito disminuye cuando un electrolito es añadido a la solución – en el proceso de adsorción. El efecto de “*salting-out*” puede ser descrito de la siguiente manera: La ionización del NaCl en la solución en equilibrio interactúa por medio de fuerzas intermoleculares con las moléculas de agua formando esferas de hidratación, las cuales pueden disminuir en una medida macroscópica, el volumen de la solución acuosa, en un proceso conocido como electrostricción⁹ – fenómeno atribuido a una propiedad de los compuestos dieléctricos o no conductores eléctricos, el cual permite cambiar su forma original bajo la aplicación de un campo eléctrico. Estas moléculas de agua no están completamente libres, tienen una movilidad restringida y no tienen la suficiente capacidad de interactuar con las moléculas de fenol. Como consecuencia, mientras mayor cantidad de sal iónica es añadida a la solución acuosa, menor es la cantidad de moléculas de agua que se mantienen libres para acomodar al soluto orgánico. Esto puede reducir la solubilidad del fenol en la solución y de esta forma intensificar el proceso de difusión de éste hacia la fase orgánica de las arcillas. Resultados similares fueron publicados por El-Nahhal^{4,10}, en sus estudios de adsorción de fenantreno y acetocloro con arcillas organofílicas en presencia de NaCl. En estos trabajos se presenta una descripción cuantitativa del impacto de la cantidad de sal en el proceso de adsorción dada por:

$$[\text{salt}] \log C_s - \log C_{s0} = [\text{salt}] K_s \quad (1)$$

Donde, C_{so} y C_s son la cantidad adsorbida de fenol ($\mu\text{g/g}$) en agua destilada y en agua con presencia de electrolitos, respectivamente; $[\text{salt}]$ es la concentración de electrolito ($\mu\text{g/L}$) durante el proceso de adsorción, y K_s es la constante de “salting-out”. La tabla 1 muestra los valores de K_s a bajas y altas concentraciones de fenol en solución a diferentes cantidades de NaCl en la solución.

Tabla 1: Valores de K_s para las arcillas estudiadas a diferentes concentraciones de fenol y a diferentes porcentajes de sal iónica en solución.

[NaCl]	fenol 50ppm			fenol 400ppm		
	2%	12%	20%	2%	12%	20%
Arcilla Natural	2,64	2,83	2,93	3,61	3,74	3,78
Arcilla-TMA	3,07	3,40	3,49	4,42	4,47	4,49
Arcilla-HDTMA	3,35	3,45	3,53	4,21	4,39	4,46
Arcilla-BTEA	3,50	3,59	3,61	4,05	4,18	4,21

De la tabla 1 puede observarse que, entre las tres arcillas organofílicas, es la intercambiada con el catión BTEA la que muestra mayores valores de K_s cuando la concentración de fenol es baja (50ppm). En contraste, para altas concentración de fenol (400ppm), los valores de K_s para la arcilla-BTEA son claramente menores a los valores de K_s para las arcillas-TMA y -HDTMA, respectivamente. En todos los casos, los valores de la constante de “salting-out” de la arcilla natural son los más bajos. Existen dos posibles explicaciones para esta observación. Por un lado, la diferencia entre las áreas superficiales en las arcillas intercambiadas⁶. Después del proceso de intercambio catiónico, el área superficial de la arcilla-TMA se incrementa de 30 m^2/g a 144 m^2/g , mientras que la arcilla-BTEA se incrementa sólo hasta 34 m^2/g ; la rápida saturación y la progresiva disminución en la capacidad de adsorción que muestra esta última arcilla puede explicarse en parte por la diferencia entre las áreas. En el caso de la arcilla-HDTMA, la disminución en el área superficial de 30 m^2/g a 12 m^2/g no tiene un efecto significativo debido a que el proceso de adsorción ocurre a través de un mecanismo de partición. La segunda explicación posible para este comportamiento, es la posible formación de dímeros¹¹ en la superficie de la arcilla-BTEA. Estos complejos positivamente cargados pueden bloquear el acercamiento entre los anillos fenilos de los cationes orgánicos de las arcillas y las moléculas de fenol, reduciendo de esta manera la adsorción. En consecuencia, a mayores concentraciones de fenol, mayor cantidad de moléculas de fenol permanecen en la solución incapaces de ser adsorbidas por la arcilla-BTEA.

Estudio cinético

A fin de investigar la cinética del mecanismo de adsorción de fenol en las arcillas organofílicas, fueron obtenidas las constantes de velocidad según los modelos de pseudo primer y pseudo segundo orden. El primero de ellos conocido también como ecuación de Lagergren¹² puede ser expresado por la fórmula:

$$\log (q_e - q) = \log (q_e) - k_{ad} t / 2.303 \quad (2)$$

Donde “ q ” (mg/g) es la cantidad de fenol adsorbida al tiempo “ t ” (min), q_e la cantidad de fenol adsorbida en el equilibrio y k_{ad} es la constante de velocidad para pseudo primer orden (min^{-1}).

La cinética de adsorción también puede ser descrita por la ecuación de pseudo segundo orden¹³, la cual está dada por:

$$t/q = 1/k_2 q_e^2 + t/q_e \quad (3)$$

Donde k_2 es la constante de velocidad para una adsorción de pseudo segundo orden ($\text{g mg}^{-1} \text{min}^{-1}$). Ambos modelos asumen que la principal fuerza responsable de la adsorción es la diferencia de concentraciones de adsorbato que existen entre la solución y la superficie del adsorbente. Las figuras 5 y 6 muestran los gráficos de $\log(q_e - q)$ y t/q respecto al tiempo t , respectivamente. Los coeficientes de correlación así como los parámetros de velocidad son dados en la tabla 2. Se puede observar una aparente correspondencia lineal con ambos modelos. Sin embargo, a pesar de la linealidad que muestra la ecuación de Lagergren, debemos considerar a la cinética de pseudo primer orden de cuestionable validez, dado que los valores de “ q_e ” obtenidos de los gráficos se desvían entre -23% a 28% respecto a los valores obtenidos en forma experimental en nuestros ensayos preliminares (datos no mostrados). Este observación sugiere que es el mecanismo de pseudo segundo orden el predominante y que la etapa limitante en la cinética de adsorción está por la quimisorción de las moléculas de fenol en la superficie de las arcillas organofílicas. De la tabla 2 no se observan cambios significativos entre los valores de k_{ad} del modelo de Lagergren para las mismas arcillas sin importar la cantidad de NaCl y CaCl₂ en solución. Este hecho tiende a reforzar la idea que el modelo de pseudo primer orden no describe la cinética de adsorción de un modo adecuado. Una observación interesante es el hecho que para las tres arcillas intercambiadas con sales de amonio se tiene que los valores de k_2 disminuyen considerablemente cuando NaCl y CaCl₂ están presentes en la solución. Es probable que esta reducción en la constante de velocidad de adsorción explique la tardía aparición de los “platos” en las isotermas de adsorción; es decir, el mayor tiempo que se necesita para llegar a la condición de equilibrio a concentraciones altas de fenol. Esto se deba, quizá, a la saturación de los sitios de adsorción de las arcillas por las moléculas de fenol y agua.

Tabla 2: Parámetros cinéticos según el modelo de pseudo segundo orden

	Modelo Lagergren		pseudo-segundo orden	
	$k_{ad} \text{ (min)}^{-1}$	R^2	$k_2 \text{ (mg/g)}^{-1} \text{(min)}^{-1}$	R^2
Arcilla Natural				
0% sal iónica	0,037	0,997	0,0012	0,999
12% NaCl	0,028	0,998	0,0040	0,997
12% CaCl ₂	0,035	0,998	0,0036	0,995
Arcilla -TMA				
0% sal iónica	0,025	0,996	0,0015	0,999
12% NaCl	0,025	0,999	0,0006	0,998
12% CaCl ₂	0,028	0,998	0,0007	0,998

continua Tabla 2 ...

... sigue

Arcilla-HDTMA				
0% sal iónica	0,028	0,997	0,0011	0,997
12% NaCl	0,025	0,996	0,0008	0,997
12% CaCl ₂	0,030	0,998	0,0007	0,999
Arcilla-BTEA				
0% sal iónica	0,037	0,998	0,0010	0,997
12% NaCl	0,033	0,996	0,0009	0,997
12% CaCl ₂	0,035	0,999	0,0006	0,996

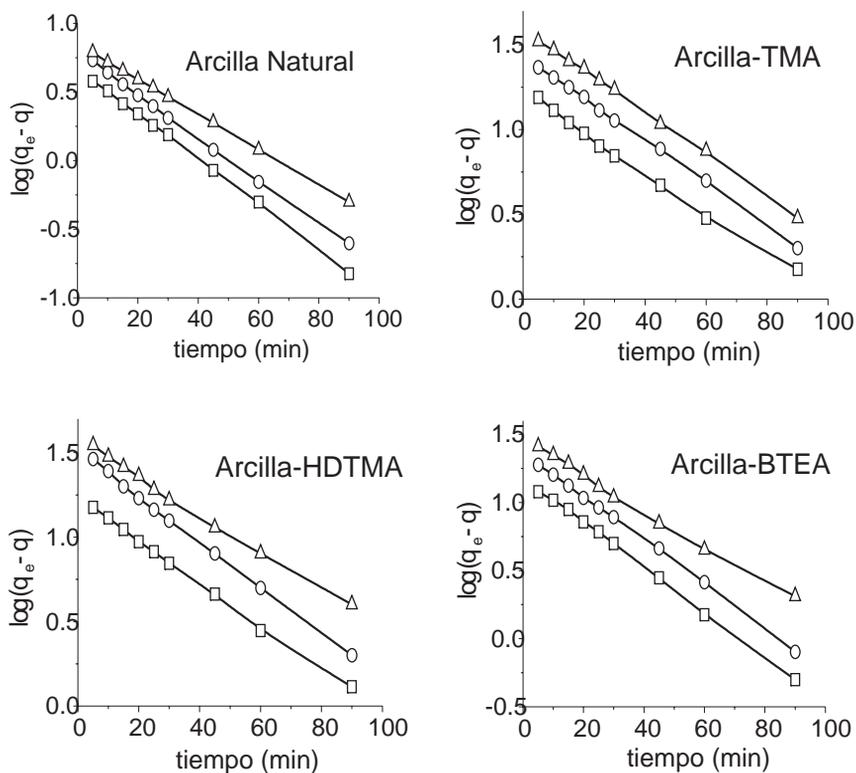


Figura 5: Pseudo primer orden para las arcillas estudiadas. Efecto de la fuerza iónica (□ 0% sal iónica, O 12% CaCl₂, Δ 12% NaCl en w/v).

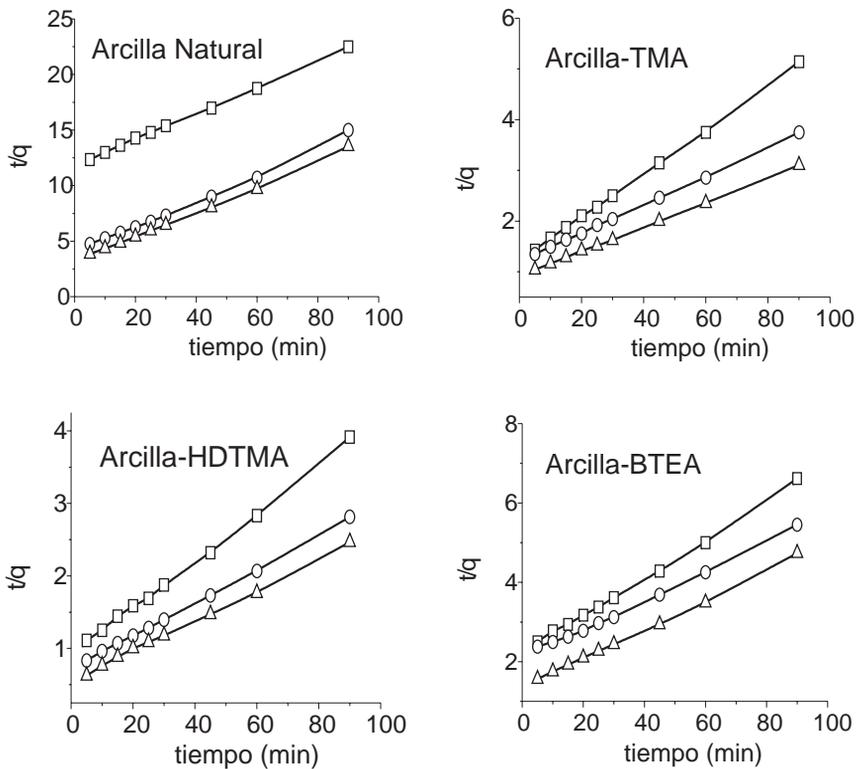


Figura 6: Pseudo segundo orden para las arcillas estudiadas. Efecto de la fuerza iónica (\square 0% sal iónica, \circ 12% CaCl_2 , Δ 12% NaCl en w/v).

CONCLUSIONES

- Las arcillas organofílicas presentan una mayor retención de fenol comparadas con la arcilla natural y de éstas la arcilla intercalada con hexadeciltrimetilamonio (HDTMA) presenta la mayor capacidad de adsorción.
- La presencia de electrolitos en solución aumenta significativamente la capacidad de adsorción de fenol, tanto de la arcilla natural como de las modificadas por un proceso conocido como *electrostriction*. Al mismo tiempo, a mayor cantidad de electrolito presente en solución, mayor es la cantidad de fenol removido de la solución.
- El mecanismo de adsorción es concordante con el modelo cinético de pseudo segundo orden. Los menores valores obtenidos de k_2 explican el mayor tiempo que requieren las isothermas para alcanzar la condición de equilibrio termodinámico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Jung Min-Woo, Ahn Kyu-Hong, Lee Yonghun, Kim Ki-Pal, Rhee Jae-Seong, Park Jung Tae, Paeng Ki-Jung., *Microchemical Journal* 2001, 70 (2), 123-131.
2. Smith, J., Jaffe, P., Chiou, C., *Environ. Sci. Technol.* 1990, 24, 1167-1172.
3. Burns, S. E., Upson, R. T., *J. Colloid Interface Sci.* 2006, 297 (1), 70-76.
4. El-Nahhal, Y., Safi, J.M., *J. Colloid Interface Sci.* 2004, 269 (2), 265-273.
5. Stapleton, M., Sparks, D., Dentel, S., *Environ. Sci. Technol.* 1994, 28, 2330-2335.
6. Lazo, J., Navarro, A., Sun-Kou, M., Llanos, B., *Rev. Soc. Quím. Perú*, 2008, 74, 1, 3-19.
7. Gales, M.E., Booth, R.L., *American Water Works Association* 1976, 68. 540.
8. Ho, Y. S., McKay, G., *Chem. Eng. J.* 1998, 70, 115-124.
9. Schwarzenbach, P., Gschwend, M., Imboden, M. "Environmental Organic Chemistry", Wiley, pp 143-149, New York, 1993.
10. El-Nahhal, Y., Lagaly, G., Rabinovitz O., *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53, 1620-1624.
11. Nir, S., Undabeytia, T., Yaron-Marcovich, D., El-Nahhal, Y., Polubesova, T., Serban, C., Rytwo, G, Lagaly, G., Rubin, B., *Environ. Sci. Technol.* 2000, 34, 1269-1274.
12. Lagergren, S. 1898. Zur theorie der sogenannten adsorption gelöster stoffe. *Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar.* 24 (4), 1- 39.

POLIÉSTERES INSATURADOS A PARTIR DE DESECHOS DE PET

Mariela Elgegren Lituma*^a, Javier Nakamatsu Kuniyoshi^a

RESUMEN

Los desechos plásticos son una potencial fuente de compuestos orgánicos útiles. En este trabajo se llevó a cabo la despolimerización de desechos de poli(tereftalato de etileno), PET, con etilenglicol. El producto obtenido, tereftalato de bis (2-hidroxietileno), BHET, se polimerizó junto con anhídrido maleico y etilenglicol para formar una resina de poliéster insaturado. El progreso de la reacción de polimerización se monitoreó mediante la medición del número ácido y por espectroscopía de ¹H-RMN.

Palabras clave: PET, reciclaje, despolimerización, poliéster insaturado.

UNSATURATED POLYESTERS FROM PET WASTE

ABSTRACT

Plastic waste can become an interesting source of useful organic compounds. This work presents the study of the depolymerization of polyethylene terephthalate with ethylene glycol. The main product, bis(hydroxyethyl) terephthalate, BHET, was isolated and subsequently polymerized with maleic anhydride and ethylene glycol to form an unsaturated polyester resin. The polymerization reaction was followed by quantification of the acid value and ¹H-NMR spectroscopy.

Key words: PET, recycling, depolymerization, unsaturated polyester.

INTRODUCCIÓN

El poli(tereftalato de etileno), conocido por el acrónimo de PET, es un poliéster saturado utilizado generalmente en la elaboración de botellas de plástico descartables. Actualmente, los desechos de estas botellas constituyen un problema medioambiental debido a la gran cantidad acumulada ya que, a pesar de no ser un material nocivo, poseen gran resistencia a la degradación. Debido a esto, es importante desarrollar métodos para el reciclaje de este material, entre los cuales se encuentran el reciclaje mecánico y el químico.

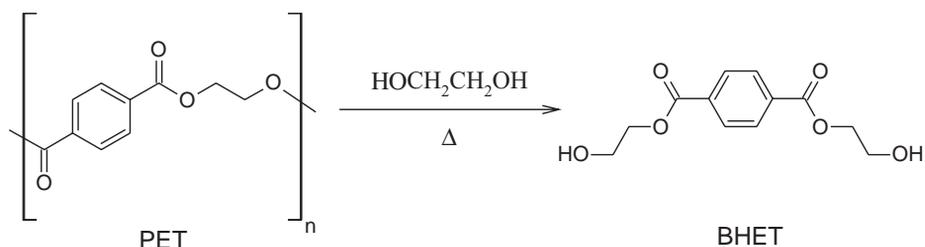
El reciclaje químico, en este caso, se presenta como una alternativa viable para el tratamiento de desechos de PET. Este método presenta la ventaja que hace posible la obtención de materias primas orgánicas que posteriormente podrán ser usadas para producir nuevamente PET u otros materiales con distintas propiedades.¹

De los procesos químicos estudiados para la despolimerización de PET, la metanólisis, la hidrólisis y sobre todo la glicólisis, son los procesos más utilizados.^{1, 2} Sin embargo, la metanólisis e hidrólisis se llevan a cabo a condiciones de presión y temperatura mayores que en el caso de la glicólisis, y además, debido a las condiciones ácidas o básicas de la hidrólisis, ésta puede generar problemas ambientales.²

En el caso de la glicólisis, el proceso más estudiado es el llevado a cabo con etilenglicol (EG), ya que el producto principal es el monómero tereftalato de bis(2-hidroxietileno) (BHET) que puede ser utilizado directamente para la síntesis de PET o de resinas de poliéster insaturado.^{2,3,4}

^a Departamento de Ciencias, Facultad de Ciencias e Ingeniería,
Pontificia Universidad Católica del Perú. Av. Universitaria 1801, Lima 32, Perú.

* a20032080@pucp.edu.pe



Las resinas de poliéster insaturado son líquidos muy viscosos que tienen la característica de poder entrecruzar sus cadenas mediante la adición de un monómero vinílico obteniéndose de este modo productos sólidos termoestables.⁵

Para la obtención de resinas de poliéster insaturado, se sintetiza un poliéster lineal de bajo peso molecular que contiene insaturaciones (dobles enlaces carbono-carbono). El anhídrido maleico es el monómero más utilizado para introducir la insaturación a la cadena debido a su alta reactividad. Adicionalmente, la reacción también se lleva a cabo con etilenglicol y ácido adípico, el cual permite aumentar la separación de las insaturaciones y por lo tanto disminuir la fragilidad del producto final.^{5,6}

El avance de la reacción de polimerización puede ser monitoreado mediante la determinación del número ácido de la resina (mg KOH/g muestra), además se utiliza espectroscopía IR, ¹H-RMN y ¹³C-RMN para su caracterización.^{6,7}

Posteriormente a la síntesis del poliéster insaturado, el curado de la resina produce el entrecruzamiento de los dobles enlaces del poliéster lineal con la ayuda de un monómero vinílico. En esta etapa, además, es necesaria la adición de un catalizador y un iniciador que permita la reacción de entrecruzamiento.⁵

PARTE EXPERIMENTAL

Despolimerización del PET

La despolimerización de desechos de botellas de PET se realizó con etilenglicol (relación PET/EG de 1/16 en masa) utilizando 0,4% de acetato de zinc (en relación al peso de PET) como catalizador. La reacción se llevó a cabo con un sistema de reflujo, bajo atmósfera de nitrógeno y agitación constante durante dos horas. La caracterización del producto obtenido se realizó mediante medición del punto de fusión (equipo Fisher – Johns) y por espectroscopía ¹H-RMN (Bruker AC 300MHz) utilizando DMSO-d₆ como solvente.

Síntesis del poliéster insaturado

La síntesis del poliéster insaturado se llevó a cabo mediante una reacción con el producto de la despolimerización de PET, el BHET, anhídrido maleico (AM) y etilenglicol bajo atmósfera de nitrógeno y agitación constante. La relación entre hidroxilo/carboxilo (OH/COOH) fue de 1,2/1 y se utilizaron acetato de calcio y óxido de antimonio (III) como catalizadores.^{5,8} El agua producida por condensación de los reactivos y el etilenglicol en exceso se destilaron y se colectaron en un balón acoplado al sistema de reacción. La síntesis se realizó hasta alcanzar un número ácido alrededor de 50 mg KOH /g muestra (entre 4 a 5 horas de reacción) medido según norma ASTM D3644-06. A lo largo de este tiempo, se incrementó la temperatura progresivamente a 80°C, 120°C, 160°C y hasta 190°C dejando reaccionar la mezcla por 30 minutos con cada temperatura. Adicionalmente, a modo de comparación, se realizó una

reacción sólo entre anhídrido maleico y etilenglicol en idénticas condiciones.

Ambas reacciones se monitorearon mediante la cuantificación del número ácido de la resina (mg KOH / g muestra) titulando una muestra disuelta en acetona con una solución etanólica de KOH 0,03M. Paralelamente, se tomaron muestras de resina para su análisis por espectroscopía $^1\text{H-RMN}$ (Bruker AC 300MHz) utilizando acetona- d_6 como solvente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Despolimerización de PET

El producto obtenido de la despolimerización de PET fue principalmente el monómero tereftalato de bis (2-hidroxi-etileno) o BHET. Dependiendo del tipo de muestra (desechos de botella), el rendimiento varía entre 50% y 70%. El punto de fusión de los cristales de BHET fue de 108-109°C (106-109°C según Sigma-Aldrich). El espectro $^1\text{H-RMN}$ del BHET se muestra en la figura 1 y en él se distinguen los distintos protones, δ_{H} : 3,69-3,73 (m, 4, CH_2), 4,29-4,33 (t, 4, CH_2), 4,95-4,99 (t, 2, OH), 8,12 (s, 4, Ar).

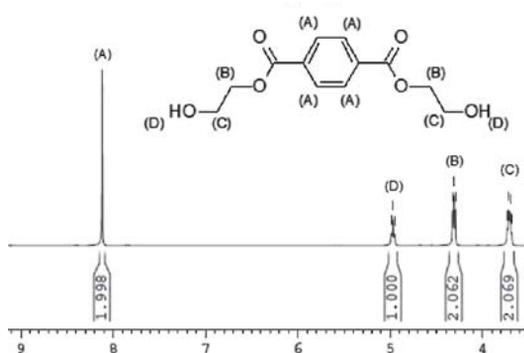


Figura 1. Espectro $^1\text{H-RMN}$ (DMSO-d_6 , 300MHz) de BHET.

Síntesis de poliéster insaturado

Polimerización de AM y EG

La figura 2 muestra la disminución del número ácido conforme avanza la reacción entre el anhídrido maleico y el etilenglicol.

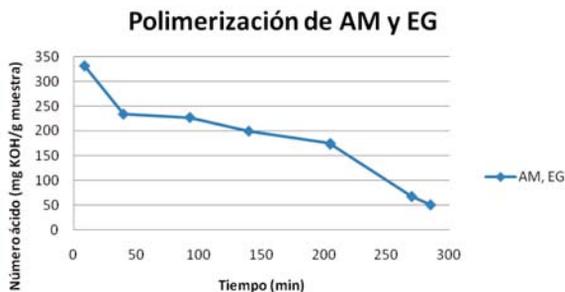


Figura 2. Valores de número ácido para la reacción entre AM y EG.

Los espectros de $^1\text{H-RMN}$ de las muestras a 9 y 285 minutos, tomadas a lo largo de la reacción aparecen en la figura 3. Las asignaciones de los picos se encuentran en la tabla 1.

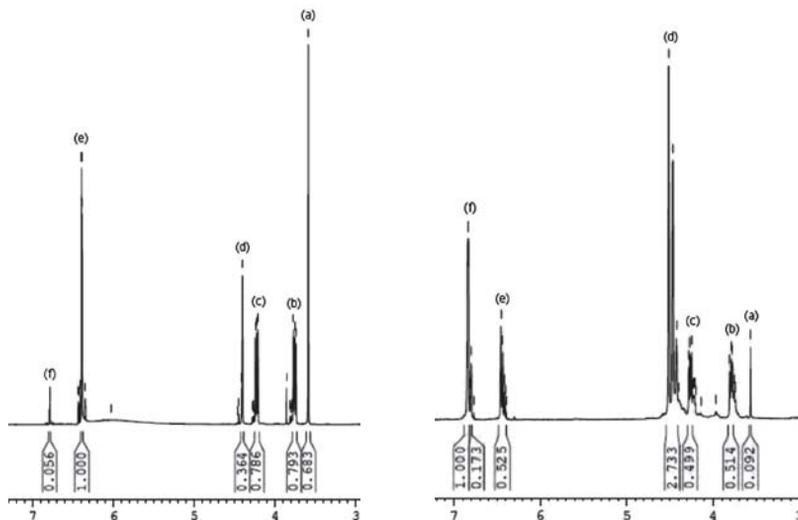


Figura 3. Espectros de $^1\text{H-RMN}$ (acetona- d_6 , 300MHz) de reacción entre AM y EG. Muestra a 9 minutos (izquierda) y a 285 minutos (derecha). Ver tabla 1 para asignaciones de señales.

Tabla 1. Asignaciones de señales a hidrógenos en la estructura del producto de la polimerización de AM y EG.

	Estructura	Desplazamiento inicio de reacción (ppm)	Desplazamiento fin de reacción (ppm)
(a)		3,588	3,565
(b)		3,741-3,813	3,739-3,791
(c)		4,212-4,28	4,214-4,28
(d)		4,404-4,463	4,397-4,513
(e)		6,389-6,438	6,396-6,456
(f)		6,791-6,796	6,770-6,840

En la figura 3 se observa que la intensidad de la señal de los protones del grupo alqueno *trans* aumenta y la del grupo alqueno *cis* disminuye conforme avanza la reacción (de la muestra a 9 minutos a la muestra a 285 minutos), esto es debido a que la conformación *trans* es más estable. Se observa además, que los protones del metileno (CH_2) que se encuentran entre dos grupos funcionales éster aumentan su intensidad, ya que al formarse las cadenas del polímero se tendrán más protones de este tipo. Del mismo modo, se aprecia la disminución de la intensidad de la señal de los hidrógenos metilénicos correspondientes al etilenglicol (monómero sin reaccionar). A lo largo del tiempo, las moléculas del glicol reaccionan y por lo tanto la cantidad del etilenglicol disminuye, lo que se refleja en la intensidad de los picos.

Polimerización de BHET, AM y EG

En la figura 4 se muestra la variación del número ácido correspondiente a la reacción entre anhídrido maleico, tereftalato de bis (2-hidroxi-etileno) y etilenglicol. Como es de esperar, también se observa la disminución del número ácido a lo largo del tiempo.

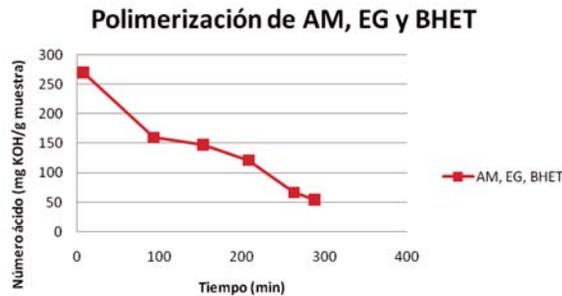


Figura 4. Valores de número ácido para la reacción entre MA, BHET y EG.

Los espectros ^1H -RMN de la muestra a 8 y 288 minutos para esta reacción de polimerización se muestran en la figura 5.

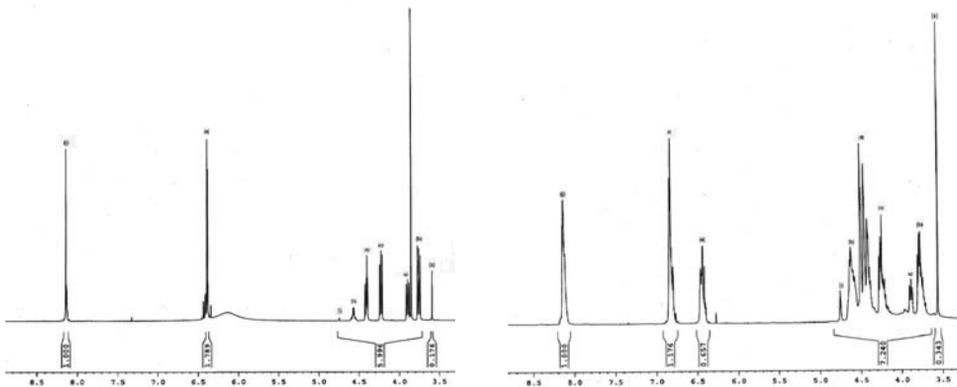


Figura 5. Espectro ^1H -RMN (acetona- d_6 , 300MHz) de la reacción entre BHET, MA y EG. Muestra a 8 minutos (izquierda) y a 288 minutos (derecha). Ver tabla 2 para asignaciones de señales.

De la figura 5, se distinguen, además de los mismos protones identificados de la reacción entre AM y EG, cuatro tipos de protones adicionales, debido a la incorporación del BHET.

Tabla 2. Asignaciones de señales a hidrógenos en la estructura del producto de la polimerización de BHET, MA y EG.

	Estructura	Desplazamiento inicio de reacción (ppm)	Desplazamiento fin de reacción (ppm)
(g)		3,883-3,915	3,874-3,906
(h)		4,547-4,585	4,582-4,641
(i)		4,747	4,756
(j)		8,125-8,145	8,122-8,153

Finalmente, se observó que los poliésteres formados, en ambos casos, fueron altamente viscosos, opacos y con una ligera tonalidad amarilla.

CONCLUSIONES

La despolimerización de PET con etilenglicol, a las condiciones descritas, produce principalmente el monómero tereftalato de bis (2-hidroxi-etileno) (BHET), el cual fue caracterizado mediante la medición de su punto de fusión y por espectroscopía de $^1\text{H-RMN}$. La reacción entre anhídrido maleico y etilenglicol, y entre BHET, AM y EG, forma una resina de poliéster insaturado. Ambas reacciones fueron monitoreadas por la cuantificación del número ácido y por espectroscopía de $^1\text{H-RMN}$. De esta manera, se muestra un ejemplo de la utilidad y potencial del reciclaje químico de materiales de desecho para la obtención de compuestos orgánicos útiles.

BIBLIOGRAFÍA

1. Paszun, D.; Spychaj, T.; Chemical Recycling of Poly(ethylene terephthalate); *Industrial and Engineering Chemistry Research*; **1997**; 36: 1373-1383.
2. Xi, G.; Lu, M.; Sun, C.; Study on depolymerization of waste polyethylene terephthalate into monomer of bis(2-hydroxyethyl terephthalate); *Polymer Degradation and Stability*; **2005**; 87: 117-120.
3. Shukla, S.; Kulkarni, K.; Depolymerization of Poly(ethylene terephthalate) Waste; *Journal of Applied Polymer Science*; **2002**; 85: 1765-1770.
4. Baliga, S.; Wong, W.; Depolymerization of Poly(ethylene Terephthalate) Recycled from Post-Consumer Soft-Drink Bottles; *Journal of Polymer Science*; **1989**; 27: 2071-2082.

5. Feldman, D.; Barbalata, A.; Synthetic polymers: technology, properties, applications; Chapman and may: Lodon; **1996**; 202-211.
6. Mangeng, L.; Sangwook, K.; Unsaturated Polyester Resins Based on Recycled PET: Preparation and Curing Behavior; *Journal of Applied Polymer Science*; **2001**; 80: 1052-1057.
7. Spyros, A.; Characterization of Unsaturated Polyester and Alkyd Resins Using One- and Two- Dimensional NMR Spectroscopy; *Journal of Applied Polymer Science*; **2003**; 88: 1881-1888.
8. Sandler, S.; Sourcebook of advance polymer laboratory preparations; Academic Press: San Diego; **1998**; 27.

APPLICATION OF MARINE SEAWEEDS AS LEAD (II) BIOSORBENTS: ANALYSIS OF THE EQUILIBRIUM STATE

Norma A. Cuizano¹, Bertha P. Llanos¹, Abel E. Navarro^{2*}

ABSTRACT

Through the use of non-living biomass, the brown seaweeds *Lessonia nigrescens* Bory and *Macrocystis integrifolia* Bory were evaluated as adsorbents for the removal of lead (II) ions from aqueous solutions at room temperature. The effects of initial pH, mass of adsorbent, initial concentration of the metal, ionic strength and particle size were examined in batch experiments; pH exhibited a strong response to the levels of the lead (II) in the aqueous chemistry. Yet at the same time, and due to due to competition for the adsorption sites, and undesirable increase in ionic strength during the adsorption process was revealed. Moreover, in the equilibrium state, the mathematical adsorption model of Langmuir efficiently describes the competitive adsorption mechanism by both algae. The calculated parameters show a high adsorbent/adsorbate affinity, highlighting their potential utilization in the elimination of lead (II) from residual waters.

Key words: Alga, lead (II), adsorption isotherm, pH, alginate, biosorption.

INTRODUCTION

Lead's attributes have been well established for more than 5000 years, with its toxicity determined by greek, roman and arabian cultures. For example, the Roman Empire reported many chronic health problems due to the intensive use of lead-based households items and other common devices made of the metal. Also, many painters, among them Goya, suffered lead-poisoned as a consequence of their daily contact with lead-based paints. The air of major cities has been contaminated through the use of combustible fuels which have in the past contained high levels tetraethyllead, commonly used to prevent another form of pollution: motor noise. As measures have been taken to reduce additives in many countries around the world, positive results have followed.

In addition to environmental lead pollution, another source of lead poisoning in humans comes from diet. Fortunately, ingestion permits minimal absorption due to the easy formation of insoluble compounds such as phosphates $Pb_3(PO_4)_2$, or basic carbonate $Pb_3(CO_3)_2(OH)_2$.

A portion of absorbed lead eventually accumulates in the bones, where it acts as a detoxifying agent.

Acute and chronic poisoning in humans can produce nausea and lack of appetite in addition to kidney malfunction and nerve damage. Incidents of these ailments increase when patients lack sufficient amounts of calcium and iron in their diets¹.

Numerous conventional methods have been utilized in the removal of heavy metals from wastewaters. They include chemical precipitation, electrochemical deposition and ionic exchange. However, these techniques require costly investments for industries employing

¹ Departamento de Química, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia, L31, Lima, Perú.

² Graduate School of Arts and Science, Department of Chemistry, New York University, 10003, New York, NY, United States.

them and involve complicated post-treatment of by-products^{2,3}. Biosorption is an area of research that offers benefits to both industries and government alike, because it is considered a so-called “clean” technology utilized in the elimination of toxic metals from liquid effluents resulting from industrial production⁴⁻⁶. Since 1987, Peru has increased the extractive production of almost all of its metals of economic importance: Cu, Pb, Zn, Ag, Au, Sn and Mo. As a result, Peru is one of the world's leading producers of tin, copper and gold^{7,8}. Consequently, waste volumes of the mining industry also pose an increase in pollution risk of water sources.

Biosorption follows principles rooted in organic, inorganic, analytical and physical chemistry. The process of interaction between biological and naturally-occurring materials with metals can be described by adequate mathematical models in equilibrium and thermodynamic studies^{9,10}.

This present work proposes the use of brown marine seaweed in the removal of lead (II) ions. Marine seaweed has previously demonstrated a high affinity towards heavy metals by other research groups¹¹⁻¹³. Some of which have utilized fungi, bacteria, yeast and other adsorbents to accomplish the same purpose¹⁴⁻¹⁷. However, very few have to date laid out the obtained equilibrium parameters required for their future use in scaled-up processes. In building on these studies, we continue investigating the marine algae *Lessonia nigrescens* Bory and *Macrocystis integrifolia* Bory, whose acid-base properties were elaborated upon in previous studies¹⁸ as a pollutant-filter in lead-contaminated runoff.

MATERIALS AND METHODS

Reagents and solutions

Stock solutions of 1000 ppm were prepared by dissolving $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (analytical grade, MERCK) in 1 L of deionized water. Solutions of varying concentrations were produced through dilution of the stock solution until the desired concentration was reached. All the dilutions were prepared with type I water, purified by reverse osmosis using a Barnstead/Thermolyne purifier (Dubuque IA) D2714 that provides water with a maximum conductivity of 18 m Ω .

The initial pH of each solution was adjusted to the required values by adding aliquots of 0.1N HCl and 0.1N NaOH upon contact with the adsorbent.

Adsorbents

The brown marine seaweeds *Lessonia nigrescens* Bory (L13) and *Macrocystis integrifolia* Bory (S12) were obtained from the beaches of Tacna and Marcona in Peru, respectively. After collection, both marine algae were washed twice with tap water in order to remove adhering soil, other microscopic algae, insect larvae, etc. In the laboratory, they were washed, taxonomically identified and kept under refrigeration. Then, the seaweed samples were washed with type I water, dried at room temperature, ground, separated according to their particle size by means of sieves (150 μm -diameter-106 μm) and stored in a desiccator until use.

Adsorbent characterization

To complete preliminary studies of the characterization of both algae by infrared spectroscopy¹⁹ and potentiometric titrations¹⁸, the surface texture and morphology of the two algae were differentiated by scanning electron microscopy (PHILLIPS ESEM XL-30 TMP). Prior to the observation, the surfaces of both samples were coated with a thin and electrically conductive layer of gold.

Adsorption experiments

Batch experiments were carried out in duplicate at room temperature combining variable masses of L13 and S12 with 100 mL of a solution of Pb (II) with orbital agitation at 200 rpm for 24 h. Initial solution pH was adjusted depending on the type of experiment. Changes in the pH were observed upon reaching the equilibrium within the range 0 and -0.8 of the initial pH value. Experiments at high initial pH and at high adsorbent dose reported the higher changes in the final solution pH. Thereafter, the suspensions were filtered and the remaining concentration of lead (II) was determined through flame atomic absorption spectrometry (Perkin Elmer 3110).

Effect of initial solution pH

The initial pH of a lead (II) solution of concentration of 100 ppm was adjusted between the integer values of 2 and 6. Precipitation of lead as lead hydroxide $\text{Pb}(\text{OH})_2$ was observed at $\text{pH} > 6$, not allowing for their study at higher pH values. Finally, 20 mg of algae L13 and S12 were added to each solution.

Adsorption isotherms and effect of adsorbent dosage

Solutions of lead (II) were prepared at different concentrations with the pH adjusted to the optimum value as determined in the previous section. Then, a variable mass of algae L13 and S12 were added.

Effect of the ionic strength

Considering the optimum values of initial pH, adsorbent mass and initial concentration of the metal, assays were carried out with different concentrations of sodium nitrate (analytical grade, MERCK) in the range 0.01 – 1 M to study the interference of ions Na^+ y NO_3^- as competitive adsorbates of lead (II) ions for the adsorption sites of the algae.

Data analysis

The amount of divalent lead adsorbed on the marine seaweeds was expressed as Adsorption Capacity (q , $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) and calculated as shown in equation (1):

$$q = \frac{(C_i - C_{eq}) V}{m} \quad (1)$$

where m is the mass of the adsorbent expressed in g, V is the volume of the solution in L and C_i and C_{eq} are the initial and at the equilibrium concentrations of lead (II) expressed in $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

RESULTS AND DISCUSSION

Characterization of the adsorbent

The scanning electron micrographs clearly reveal the surface texture and morphology of both seaweed types (figure 1). It is evident that the two adsorbents show a very well defined organization of the polysaccharic chains of the “egg-box” type²⁰ on their surfaces where there is a homogeneous surface texture. This structure is an intrinsic characteristic of pectines and alginates, where the alginates belong to a family of linear polysaccharides composed by units of 1,4 β -D-mannuronic (M) and α -L-guluronic (G) acid, irregularly arrange in their primary sequence, co-existing amongst the sequences MM, GG, MG y GM²¹. This particular geometry attributes to alginate the property of gelification in the presence of divalent ions²⁰. The stabilization of these polysaccharic chains is the product of the dimerization in solution of two

chains, forming the so called “egg-box” where the divalent cations are “trapped” inside the dimer^{9,20}.

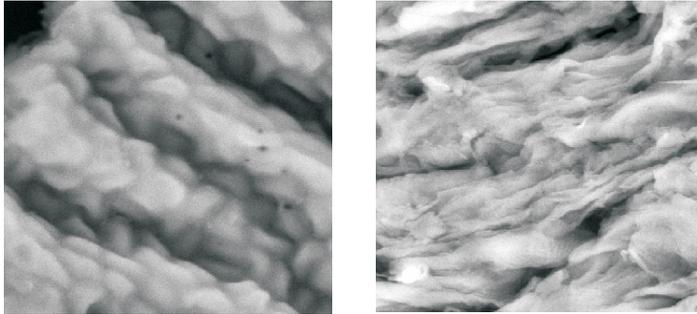


Figure 1: SEM images showing the morphologies of the surfaces of the algae L13 (left) and S12 (right).

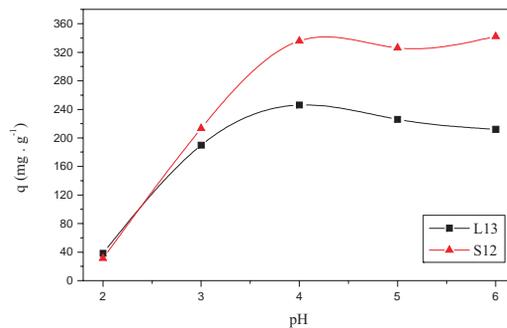


Figure 2: Effect of initial pH on the adsorption of Pb^{+2} . Conditions: 20 mg of adsorbent, 100 mL of a solution with initial concentration of 100 ppm, agitation of 200 rpm for 24 h.

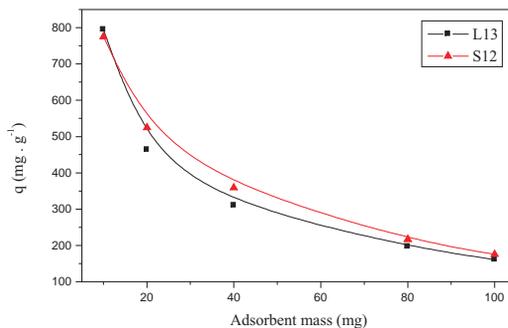


Figure 3: Effect of the adsorbent dosage on the adsorption of Pb^{+2} . Conditions: 100 mL of a solution with initial concentration of 100 ppm, pH 4 and 5 for L13 y S12, respectively, agitation of 200 rpm for 24 h.

Effect of initial pH

It is well known that the adsorption of heavy metals strongly depends on the pH solution^{6,10,19}. The pH does not only affect the availability of metallic ions in solution, but also the availability of adsorption sites on the surface of the adsorbent. Figure 2 shows the behavior of the adsorption capacity in function of the pH, exhibiting optimum pH values of 4 and 5 for the marine seaweeds L13 and S12, respectively. From the point of view of the aqueous chemistry of lead (II) ions solution, these ions stay under they soluble form at pH lower than 6, maximizing their adsorption. In that way, the adsorption of divalent lead would only depend on the nature and accessibility of the adsorption site on the surface of the adsorbents.

Navarro et al. carried out FTIR analysis and determined the presence of carboxyl, sulphonic, hydroxyl and amino groups in the composition of the seaweeds L13 and S12¹⁹. Likewise, the apparent ionization constants (pK_a) of the same marine algae have been demonstrated to be close to 3.0¹⁹. These results completely agree with the optimum pH values observed in the adsorption of lead (II). At pH values higher than 3, the active sites of the seaweed are under their deprotonated form (polianions alginate) and thus are able to bind to heavy metals, whereas at pH value lower than 3 in the alginate are mostly protonated and in theory their adsorption capacity should noticeably decrease.

Contradictorily, figure 1 shows that at pH values lower than 3, the adsorption capacity certainly decreases, but still maintains an acceptable level of adsorption ($\approx 40 \text{ mg.g}^{-1}$). The explanation of this phenomenon has been cited elsewhere^{6,9} postulating that the existence of fucoidans ($pK_a \approx 2$) in the structure of marine algae play an important role at low pH but with a lower affinity than alginates.

Effect of the adsorbent dosage

A study was done of the maximum adsorbent mass that saturates the adsorption sites on the surface of the seaweed at an initial concentration of 100 ppm of Pb (II). This assay constitutes an important parameter for future studies on the subject of scaling-up processes and continuous flow experiments. Figure 3 exhibits the differences in adsorption capacity at different masses of both algae. As seen, at 60 mg of the algae L13 and S12 the adsorption capacity value levels off. Therefore, the addition of more adsorbent will not affect the equilibrium nor improve the process. From the results of figure 3, we can also conclude that at higher adsorbent dosages, the adsorption capacity decreases upon reaching a minimum plateau ($q \approx 150 \text{ mg.g}^{-1}$). This phenomenon has also been cited in the adsorption of phenolic compounds with marine seaweed, attributable to partial aggregation of algae in solution, reducing the number of available adsorption sites²².

Sari et al.²³ required up to 2 g of the green alga *Ulva lactuca* biomass to reach the saturation of the adsorbent with lead (II), whereas the microalga *Spirulina maxima* required approximately 120 mg to level off the adsorption capacity of divalent lead²⁴.

Adsorption isotherms

The adsorption of lead (II) was analyzed using the models given by Langmuir and Freundlich. The Langmuir theory assumes uniform adsorption energy on the surface of the adsorbent, where the migration of the adsorbed pollutant among neighboring active sites is restricted. The linear form of the Langmuir isotherm is calculated as follows:

$$1/q = 1/q_{\max} + 1/(b q_{\max} C_{\text{eq}}) \quad (2)$$

where q_{\max} (mg g^{-1}) and b (L mg^{-1}) are the Langmuir constants related to the maximum adsorption capacity and to the adsorption energy, respectively. The constant q_{\max} represents the total number of available adsorption sites for one adsorbent at monolayer coverage whereas, the constant b is important for the comparison of adsorption efficiency between two different adsorbents under identical experimental conditions. A higher b constant represents a higher adsorbent/pollutant affinity.

The adsorption model of Freundlich assumes that different sites with several adsorption energies are involved in the adsorption process. This mathematical model has a logarithmic expression given by equation (3):

$$\ln q = \ln k_f + (1/n) \ln C_{\text{eq}} \quad (3)$$

k_f and $1/n$ are the Freundlich constants related to the adsorption capacity and the adsorption intensity, respectively.

Figure 4 shows the isotherms obtained in the experiments. As seen, all the isotherms are non-linear which indicates the predominance of a competitive adsorption mechanism. It has been suggested that small, charged adsorbates are far apart from each other on the surface of the adsorbent in such a way that there are no interactions amongst them. Otherwise the repulsion of their charges (in the case of lead with a +2 charge) or size would avoid the adsorption²⁵. Moreover, each adsorption site (mostly alginates) would act independently and try to reach stability by attracting the opposite charge or by establishing hydrophobic interactions²⁶.

The equilibrium studies were adjusted to the conventional adsorption theories of Langmuir and Freundlich as demonstrated in previous studies^{4,9,27,28}. The results of the experiments revealed that both processes follow the Langmuir isotherm at all the different adsorbent masses of L13 and S12 utilized. Since, the sorption isotherm represents the distribution of the solute (metal ion) between solid and liquid phases at equilibrium at a given temperature; we expected a superimposition of the curves in figure 4. This is not observed in the experimental results, corroborating the variations of the final solution pH, mentioned above. The change in pH at equilibrium with increasing adsorbent doses leads to changes in the adsorption capacity.

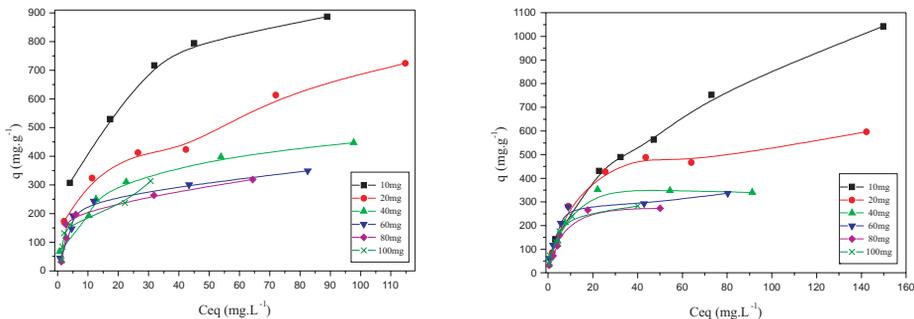


Figure 4: Adsorption isotherm of Pb^{+2} by L13 (left) and S12 (right). Conditions: 100 mL of solution of Pb (II) at pH 4 (L13) and 5 (S12), agitation of 200 rpm for 24 h.

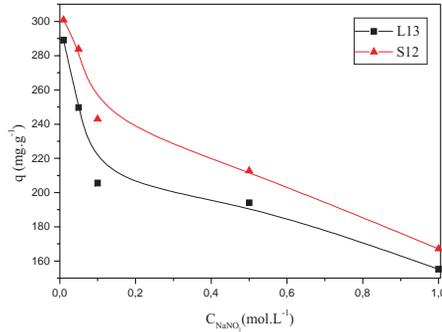


Figure 5: Effect of the ionic strength on the adsorption of Pb²⁺. Conditions: 100 mL of solution with initial concentration of 100 ppm, pH 4 and 5 for L13 and S12, respectively, agitation of 200 rpm during 24 h.

Tables 1 and 2 show the calculated parameters in the linear regression of both adsorption isotherms. According to the regression and the correlation coefficients, the process mostly follows the Langmuir theory with a high value of q_{max} of 893 and 730 mg.g⁻¹ observed with 10 mg of the algae L13 and S12, respectively. On the other hand, the Langmuir constant b , related to the affinity between adsorbate and adsorbent shows a maximum value around 40 mg for L13 (0.455 L.mg⁻¹) and 60 mg for S12 (0.499 L.mg⁻¹). This corroborates the results shown by the effect of adsorbent dosage, whereas the use of more than 60 mg of adsorbent does not report significant effect on the adsorption of lead ions (II).

The Freundlich model was also fitted to the process, but the data does not adjust to the regression as well as the Langmuir model. The q_{max} and b values reported in the present study are higher than others' biological and non-biological adsorbent literature featuring the study of fungi²⁹, yeast³⁰ and others^{27,31}.

Table 1: Langmuir and Freundlich calculated parameters for the biosorption of Pb²⁺ by L13 (*Lessonia nigrescens* Bory) at different adsorbent dosages.

Adsorbent Mass (mg)	Langmuir model		Freundlich model	
10 mg	q_{max}	892,9	K_f	222,8
	b	0,13	n	3,37
	R^2	0,98	R^2	0,90
20 mg	q_{max}	505,1	K_f	158,5
	b	0,25	n	3,43
	R^2	0,98	R^2	0,95
40 mg	q_{max}	337,8	K_f	87,3
	b	0,46	n	2,75
	R^2	0,99	R^2	0,95
60 mg	q_{max}	340,1	K_f	66,7
	b	0,19	n	2,29
	R^2	0,99	R^2	0,86

sigue tabla 1 ...

... viene

80 mg	q_{\max}	483,1	K_f	45,7
	b	0,06	n	1,75
	R^2	0,99	R^2	0,81
100 mg	q_{\max}	278,6	K_f	96,3
	b	0,32	n	3,68
	R^2	0,94	R^2	0,87

Table 2: Langmuir and Freundlich calculated parameters for the biosorption of Pb^{+2} by S12 (*Macrocystis integrifolia* Bory) at different adsorbent dosages.

Adsorbent Mass	Langmuir model		Freundlich model	
10 mg	q_{\max}	730	k_f	89,6
	b	0,08	n	2,15
	R^2	0,99	R^2	0,94
20 mg	q_{\max}	531,9	k_f	84,1
	b	0,11	n	2,24
	R^2	0,98	R^2	0,91
40 mg	q_{\max}	347,2	k_f	78,5
	b	0,33	n	2,37
	R^2	0,99	R^2	0,95
60 mg	q_{\max}	315,5	k_f	89,2
	b	0,50	n	3,06
	R^2	0,99	R^2	0,94
80 mg	q_{\max}	250,6	k_f	53,8
	b	0,32	N	2,05
	R^2	0,99	R^2	0,93
100 mg	q_{\max}	289,9	k_f	69,9
	b	0,29	n	2,23
	R^2	0,99	R^2	0,90

Effect of the ionic strength

Although heavy metal-containing wastewaters from mines and industry are composed of organic and inorganic substances, there is a limited number of studies dedicated to the evaluation of ionic strength as an important role in the adsorption of heavy metals³²⁻³⁴. This study however has indicated far better results using a variety of metals and ions as opposed to use single metals.

The adsorption capacity is related to several types of electrostatic interactions (complexation, ionic exchange, electrostatic forces, etc.) between the adsorbent and the adsorbate. These coulombic interactions strongly depend on the electrostatic environment of the system that can decide the existence or non-existence of that interaction. The presence of other ions in the solution represents a strong competition for the heavy metals for the adsorption sites³⁴.

Figure 5 shows the effect of the ionic strength, expressed in the experiment as sodium nitrate. The results show that the interaction between the divalent lead ion and the adsorbent is negatively affected to a great degree by the presence of Na^+ y NO_3^- ions, competing for the

adsorption site in the same intensity for both types of marine seaweed. The sodium ion would directly compete for the alginic adsorption sites, whereas the nitrate anion would be shielding the lead ion, thus increasing the volume of its ionic atmosphere and avoiding easy access to the active sites³⁴. Figure 5 indicates that only 0,01M of sodium nitrate is enough to decrease the adsorption capacity by approximately 40% and the addition of 1,0M of the salt decreases the adsorption by 70%.

In this experiment sodium and nitrate were chosen as representative ions due to their presence in all types of water (potable and industrial runoff). However, future studies with binary or ternary solutions will demonstrate the effect of common divalent ions such as calcium and magnesium on the adsorption of heavy metals. Since these ions are related to the hardness of water, they constitute an extra competition for the same electrically charged ions for the adsorption sites.

CONCLUSIONS

This present work demonstrates that marine seaweed types *Lessonia nigrescens* Bory (L13) and *Macrocystis integrifolia* Bory (S12) can potentially be utilized as adsorbents of divalent lead ions from aqueous solutions at room temperature. Batch experiments exhibit a strong solution initial pH effect, reporting a maximum adsorption capacity at pH values of 4 and 5 for the seaweed L13 and S12, respectively. These results completely align with the acid-base properties previously described¹⁹, correlating the apparent ionization constants of the ionizable functional groups present on the surface of both adsorbents with the pH where the maximum adsorption capacity is observed. The effect of adsorbent dosage was studied as well, showing a decreasing adsorption capacity at increasing masses of adsorbent. This phenomenon is explained by the formation of adsorbent aggregates that diminish the number of adsorption sites and effective surface. An increment in the ionic strength of the solution, represented by sodium nitrate, produced adverse effects on the elimination of lead (II) ions due to competition with the sodium ions for the adsorption sites. Finally, the mathematical models of Freundlich and Langmuir were applied to the experimental data. The result was a better description of the lead adsorption mechanism by the theory of Langmuir for both marine algae. The calculated parameters from the adsorption isotherms demonstrate an interesting affinity between adsorbate and adsorbent and a high maximum adsorption capacity when compared to those reported in the literature. This indicates their applicability to real lead (II) containing solutions from mine and lead consuming industries.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was financially supported by the Fondo Concursable of the UPCH. The authors would like to thank the Chemistry Department of the Peruvian University Cayetano Heredia. Ivonne Chion and Angela Manrique are acknowledged for their comments and suggestions regarding this research and Gene Rasmussen and Richard Buran for their insightful proofreading. A. N. extends his grateful appreciation for the McCracken doctoral fellowship at the New York University.

REFERENCES

1. E. Barán, Química Bioinorgánica, (Ed.) Mc Graw Hill/ Interamericana, 1995 España.
2. M. Horsfall, A. Abia, Sorption of cadmium(II) and zinc(II) ions from aqueous solutions by cassava waste biomass (*Manihot sculenta* Cranz), *Water Res.* 37 (2003) 4913-4923.

3. E. Guibal, C. Roulph, P. Le Cloriec, Infrared spectroscopic study of uranyl biosorption by fungal biomass and materials of biological origin, *Environ. Sci. Technol.*, 29 (1995) 2496-2503.
4. K. Ramos, A. Navarro, L. Chang, H. Maldonado, Evaluación de nuevos biosorbentes para la remoción de cadmio (II): Estructura vs Capacidad de Adsorción, *Rev. Soc. Quím Perú*, 70 (2004) 136-146.
5. N. Cuizano, A. Navarro, Biosorción de metales pesados por algas marinas: posible solución a la contaminación a bajas concentraciones, *An. Quím.*, 104 (2008) 120-125.
6. A. Navarro, K. Ramos, K. Campos, H. Maldonado, Elucidación del efecto del pH en la adsorción de metales pesados mediante biopolímeros naturales: Cationes divalentes y Superficies activas, *Rev. Iberoamer. Polím.*, 7 (2006) 115-128.
7. R. Webb, G. Fernández-Baca, Perú en Números 2001: anuario estadístico, (Ed.) Cuanto, 2001, Perú.
8. Perú: compendio estadístico 2001, Sistema Nacional de Estadística, 2001, Perú.
9. D. Blanco, B. Llanos, N. Cuizano, H. Maldonado, A. Navarro, Optimización de la adsorción de cadmio divalente en *Lessonia trabeculata* mediante reticulacion con CaCl_2 , *Rev. Soc. Quím, Perú*, 71 (2005) 237-245.
10. A. Navarro, K. Ramos, R. Agapito, N Cuizano, Propiedades Ácido-básicas de *Lentinus edodes* y cinética de biosorción de cadmio (II), *Rev. Latinoamer. Rec. Natur.*, 2 (2006) 45-52.
11. D. Park, Y. Yun, H. Cho, J. Park, Chromium Biosorption by Thermally Treated Biomass of the Brown Seaweed, *Ecklonia* sp., *Ind. Eng. Chem. Res.*, 43 (2004) 8226-8232.
12. P. Sheng, Y. Ting, J. Chen, L. Hong, Sorption of lead, copper, cadmium, zinc and nickel by marine algal biomass: characterization of biosorptive capacity and investigation of mechanism, *J. Colloid, Interf. Sci.*, 275 (2004) 131-141.
13. E. Romera, F. González, A. Ballester, M. Blázquez, J. Muñoz, Biosorption with Algae: A Statistical Review, *Critical Rev. Biotechnol.*, 26 (2006) 223-25.
14. H. Hussein, S. Ibrahim, K. Kandeel, H. Moawad, Biosorption of heavy metals from waste water using *Pseudomonas* sp., *Elect. J. Biotechnol.*, 7 (2004) 38-46
15. D. Park, Y. Yun, J. Jo, J. Park, Mechanism of hexavalent chromium removal by dead fungal biomass of *Aspergillus niger*, *Water Res.*, 39 (2005) 533-540.
16. Z. Lin J. Wu, R. Xue, Y. Yang, Spectroscopic characterization of Au^{3+} biosorption by waste biomass of *Saccharomyces cerevisiae*, *Spectrochimica Acta*, 61 (2005) 761-765.
17. A. Saeed, M. Waheed, M. Iqbal, Removal and recovery of heavy metals from aqueous solution using papaya wood as a new biosorbent, *Sep. Purif. Technol.*, 45 (2005) 25-31.
18. N. Cuizano, B. Llanos, L. Chang, A. Navarro, Equilibrio Acido-base de algas marinas del litoral peruano elucidada su alta afinidad por contaminantes ambientales, *Rev. Soc. Quím. Perú.*, 73 (2007) 85-93.
19. A. Navarro, R. Portales, M. Sun-Kou, B. Llanos, Effect of pH on phenol biosorption by marine seaweeds, *J Hazard. Mater.*, 156 (2008) 405-411.
20. I. Brancini, S. Pérez, Molecular basis of Ca^{+2} -induced gelation in alginates and pectins: The Egg-Box model revisited, *Biomacromolecules*, 2 (2001) 1089-1096.
21. E. Morris, D. Rees, D. Thom, Chiroptical and stoichiometric evidence of a specific, primary dimerisation process in alginate gelation, *Carbohydrate Res.*, 66 (1978) 145-154.

22. E. Rubin, P. Rodríguez, R. Herrero, M. Sastre de Vicente, Biosorption of phenolic compounds by the brown alga *Sargassum muticum*, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 81 (2006) 1093-1099.
23. A. Sari M. Tuzen, Biosorption of Pb (II) and Cd (II) from aqueous solutions using green alga *Ulva lactuca* biomass, *J. Hazard. Mater.*, 152 (2008) 302-308.
24. R. Gong, Y. Ding, H. Liu, Q. Chen, Z. Liu, Lead biosorption and desorption by intact and pre-treated *Spirulina maxima* biomass, *Chemosphere*, 58 (2005) 125-130.
25. M. Kowalska, H. Guler, D. Cocke, Interactions of clay minerals with organic pollutants, *Sci. Total Environ.*, 141 (1994) 223-240.
26. L. Xu, L. Zhu, Structures of hexamethonium exchanged bentonite and the sorption characteristics for phenol, *Colloids Surf.*, A307 (2007) 1-6.
27. P. Pimentel, G. González, M. Melo, D. Melo, C. Silva Jr., A. Assuncao, Removal of lead ions from aqueous solution by retorted shale, *Sep. Purif. Technol.*, 56 (2007) 348-353.
28. V. Ponnusami, S. Vikram, S. Srivastava, Guava (*Psidium guajava*) leaf powder: Novel adsorbent for removal of methylene blue from aqueous solutions, *J. Hazard. Mater.*, 152 (2008) 276-286.
29. G. Yan, T. Viraraghavan, Heavy-metal removal from aqueous solution by fungus *Mucor rouxii*, *Water Res.*, 37 (2003) 4486-4496.
30. R. Ashkenazy, L. Gottlieb, S. Yannai, Characterization of acetone-washed yeast biomass functional groups involved in lead biosorption, *Biotechnol. Bioeng.*, 55 (1997) 1-10.
31. F. Pagnanelli, A. Esposito, L. Toro, F. Veglio, Metal speciation and pH effect on Pb, Cu, Zn and Cd biosorption onto *Sphaerotilus natans*: Langmuir-type empirical model, *Water Res.*, 37 (2003) 627-633.
32. F. Beolchini, F. Pagnanelli, L. Toro, F. Veglio, Ionic strength effect on copper biosorption by *Sphaerotilus natans*: equilibrium study and dynamic modelling in membrane reactor, *Water Res.*, 40 (2006) 144-152.
33. S. Schiewer, M. Wong, Ionic strength effects in biosorption of metals by marine algae, *Chemosphere* 41 (2000) 271-282.
34. Y. Yun, B. Volesky, Modeling of lithium interference in cadmium biosorption, *Environ. Sci. Technol.*, 37 (2003) 3601-3608.

FRACCIONAMIENTO QUÍMICO DE CARBONO ORGÁNICO Y SU RELACIÓN CON LA ACTIVIDAD MICROBIOLÓGICA, BIOMASA MICROBIANA Y CANTIDAD DE ADN EN SUELOS CACAOTEROS VENEZOLANOS

Arnaldo J. Armado M.^{a*}, Froilán Contreras^b, Pablo García Lugo^b

RESUMEN

Se estudió la relación de diferentes parámetros de humidificación con la actividad microbiológica, biomasa microbiana y contenido de ADN en muestras de suelos de tres zonas cacaoteras venezolanas. El fraccionamiento químico se realizó en base a las diferencias de solubilidad de las sustancias húmicas en ácidos y bases, obteniéndose las fracciones carbono extraíble, ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y sustancias no húmicas. Los parámetros de humidificación obtenidos son: índice de humidificación, grado de humidificación, razón de humidificación y relación ácidos húmicos/ácidos fúlvicos. La actividad microbiológica correlacionó significativamente con los parámetros de humidificación calculados y el contenido de carbono de las fracciones obtenidas, excepto con la fracción de sustancias no húmicas. El carbono de la biomasa microbiana correlacionó significativamente con el carbono orgánico total, la respiración, el contenido de ADN, la fracción de sustancias no húmicas y la relación ácidos húmicos/ácidos fúlvicos. Los parámetros de humidificación calculados pueden servir como indicadores de la actividad microbiana en los suelos estudiados ya que presentaron correlaciones significativas con la respiración basal de los suelos en estudio.

Palabras clave: Parámetros de humidificación, extracción de ADN en suelos, respiración basal, respiración inducida por sustrato.

CHEMICAL FRACTIONATION OF ORGANIC CARBON AND RELATIONSHIP WITH MICROBIAL BIOMASS, MICROBIAL ACTIVITY AND DNA CONTENT IN VENEZUELAN CACAO SOILS

ABSTRACT

The relationship between humidification parameters, microbiological activity, microbial biomass and DNA content was studied in soils samples of three Venezuelan Cacao zones. The chemical fractionation has been obtained through solubility differences of humics substances in acids and bases, having obtained the humic acid fractions, fulvic acids and non-humified substances. The humidification parameters obtained were: humidification index, humidification degree, humidification ratio and humic acids/fulvic acids ratio. A significantly correlation were obtained between microbiological activity and calculated humidification parameters and carbon of obtained fractions, except non-humified fraction. A significantly correlation between microbial biomass C and total organic C, DNA content, non-humified fraction C, ratio AH/AF were also obtained. It is proposed that humidification parameter may

^a Departamento de Química, Facultad Ciencias y Tecnología, Universidad de Carabobo, Avenida Salvador Allende. Ciudad Universitaria, Valencia, Venezuela. armadoa@uc.edu.ve

^b Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Postgrado BIOMI, Mérida Venezuela.

be use as soil microbial activity indicators due to the excellent correlations achieved in these work between these parameters and soil respiration.

Key words: Humification parameters, soil DNA extraction, basal respiration, substrate induced respiration.

INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao L.*) es un cultivo ligado a la cultura venezolana, tanto por su origen como por su importancia en el desarrollo económico y social del país desde que se estableció su comercialización hace ya más de trescientos cincuenta años. Venezuela llegó a ser el primer productor mundial de cacao, y este producto supuso la fuente principal de ingresos durante un largo periodo de la época colonial. Todavía, a pesar de basar su economía fundamentalmente en el petróleo, el cacao venezolano es reconocido en el ámbito mundial como uno de los mejores del mundo. La calidad del cacao y de cualquier otro cultivo se ve influenciada por el tipo de suelo y los nutrientes que éste pueda proporcionar al cultivo¹, lo que está íntimamente ligado a la calidad y cantidad de la materia orgánica del suelo (MOS).

Las comunidades microbianas son componentes de la fracción orgánica del suelo, y están asociadas con la fertilidad del suelo, los ciclos biogeoquímicos, la descomposición de adiciones naturales o sintéticas de carbono y la formación estructural y estabilización física de los agregados. Las características físicas, químicas y biológicas del suelo, así como la presencia de plantas, tienen influencia sobre el número y la actividad de las poblaciones microbianas. La cantidad y calidad de materia orgánica del suelo permite hacer inferencias acerca de su fertilidad, así también, para enmiendas orgánicas, podemos evaluar la calidad y cantidad de materia orgánica que se incorpora al suelo en el momento de utilizarlas en un suelo determinado². El contenido de carbono orgánico total frecuentemente está correlacionado con diferentes factores, como la mineralización de materia orgánica, biomasa microbiana y la actividad enzimática en suelos, entre otros³.

La fracción orgánica del suelo, también llamada humus, ha sido clasificada desde diversos puntos de vista. Atendiendo a su composición química, hay clasificaciones que hacen énfasis en la constitución de los compuestos del humus y en su comportamiento desde el punto de vista físico-químico. Estas clasificaciones de los compuestos orgánicos se hacen esencialmente basadas en la solubilidad de esos constituyentes en distintos solventes dando como resultado la distinción de *ácidos fúlvicos*, *ácidos húmicos* y *huminas*. Los *ácidos fúlvicos* son la fracción del humus extraíble tanto en reactivos ácidos como alcalinos y no precipitables en medio ácido, pudiendo distinguirse ácidos fúlvicos libres y ácidos fúlvicos ligados a los ácidos húmicos. Los *ácidos húmicos* son los compuestos orgánicos, extraíbles con reactivos alcalinos pero que se precipitan en medio ácido, lo que hace posible su separación de los ácidos fúlvicos. Las *huminas*, representan la fracción que solamente es extraíble con hidróxido de sodio en caliente y que se considera difícilmente mineralizable e íntimamente ligada a los coloides minerales^{4, 5}. En base a este fraccionamiento se han planteado diferentes índices o parámetros de humidificación. Entre ellos: el índice de humidificación (IH), grado de humidificación (GH), razón de humidificación (RH) y relación de carbono de ácidos húmicos y ácidos fúlvicos ($C_{AH/AF}$)^{4,6,7}.

Un conocimiento más preciso del contenido de materia orgánica y su calidad, así como de la diversidad microbiana del suelo, podría contribuir en la formulación de mejores modelos técnicos de manejo de las plantaciones de cacao⁸. Esta investigación se llevó a cabo con el objetivo de realizar el fraccionamiento químico del carbono orgánico en muestras de suelos de tres zonas cacaoteras en Venezuela, determinar diferentes parámetros de humidificación y correlacionarlos con la actividad microbológica, la biomasa microbiana y el contenido de ADN en el suelo.

PARTE EXPERIMENTAL

Muestreo y preparación de las muestras. La toma de muestras se realizó en tres zonas cacaoteras del occidente venezolano, a saber:

- Zona 1 (SJ): Estación Experimental San Juan de Lagunillas INIA-Mérida (ubicada a 8°30' latitud norte, 71°20' longitud oeste, 1100 msnm, Temperatura promedio anual 28,6°C).
- Zona 2 (FP): Finca El Pedregal, Tucaní, Estado Mérida (ubicada a 8°50' latitud norte, 71°23' longitud oeste, 700 msnm, temperatura promedio anual 28,6°C, precipitación promedio anual 1969,6 mm, bosque húmedo tropical, superficie de 125 ha). Tipo de suelo Entisol, textura arenosa^{9,10}.
- Zona 3 (CH): Estación Experimental Chama INIA-Zulia (ubicada a 8°43' latitud norte, 71°44' longitud oeste, 10 msnm, temperatura promedio anual 26°C, precipitación promedio anual 1743,1 mm, bosque seco tropical, superficie 6)¹¹.

Utilizando un barreno, se recolectaron en bolsas plásticas (polietileno) muestras compuestas (aproximadamente de 2 kg) de 4 sub-muestras, tomadas al azar entre 0-10 cm de profundidad, en cada parcela.

Para la determinación de carbono orgánico total y parámetros de humidificación, las muestras de suelo se secaron al aire durante 72 h, luego se realizó la molienda y se pasaron a través de un tamiz de 2 mm. Se almacenaron en recipientes con tapa a temperatura ambiente. En la determinación de $C_{\text{BIO MIC}}$, actividad microbiológica y extracción de ADN, las muestras frescas se extendieron sobre un plástico limpio y seco, se les retiró el material grueso (piedras, hojas, tallos, raíces), luego se tamizaron y se almacenaron a -20°C¹².

Cuantificación de la materia orgánica. El carbono orgánico total se determinó en las muestras de suelo utilizando el método colorimétrico basado en la oxidación de la materia orgánica con dicromato de potasio¹³. El carbono de cada fracción de materia orgánica (CE, AH, AF, NH) se determinó por el mismo método.

Fraccionamiento de carbono orgánico. La extracción del carbono orgánico en las muestras de suelo se realizó con una solución de pirofosfato-hidróxido de sodio,^{7,8} siendo este el carbono extraíble (CE); posteriormente, de acuerdo al método propuesto por Ciavatta y col.⁹, se llevó a cabo el fraccionamiento basado en la diferencia de solubilidad de las sustancias húmicas en ácidos y bases, obteniéndose dos fracciones: ácidos húmicos (AH), y ácidos fúlvicos (AF) más sustancias no húmicas (NH). Las fracciones de AF y NH se separaron mediante una columna de polivinilpirrolidona (PVP). Los parámetros de humificación que se determinaron fueron: índice de humidificación (IH), grado de humificación (GH), razón de humidificación (RH) y relación ácidos húmicos/ácidos fúlvicos (AH/AF).

Actividad microbiológica y biomasa microbiana. Se determinó la actividad microbiológica del suelo mediante la cuantificación del desprendimiento de CO₂ producto de la actividad de los microorganismos, usando el método de incubaciones estáticas¹⁴, siguiendo el procedimiento descrito por Anderson¹⁵. El carbono de la biomasa microbiana ($C_{\text{BIO MIC}}$) se determinó por el método de la respiración inducida por sustrato, RIS¹⁶.

Extracción de ADN. La extracción de ADN se realizó mediante una modificación del método empleado por Yeates y col.¹⁷ usando perlitas de vidrio y SDS (método mecánico-químico) para la ruptura celular seguida por una doble extracción, primero con una mezcla ternaria fenol/cloroformo/alcohol isoamílico (24:24:1), y luego una mezcla binaria cloroformo/alcohol isoamílico (24:1). Se precipitó el ADN incubándolo con alcohol isopropílico a -20°C, 2 h. El ADN se cuantificó midiendo la absorbancia a una de 260 nm.

Análisis estadístico. Se obtuvo el promedio de cada variable y su desviación estándar; se

determinó la correlación lineal entre las variables utilizando el coeficiente lineal de Pearson (r) y se calculó el error estándar de r para determinar su significancia. Todos los análisis se realizaron utilizando Microsoft Office Excel 2007.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Parámetros fisicoquímicos, carbono orgánico y fraccionamiento químico.

Los valores determinados de pH, CE, CIC, y textura se presentan en la tabla 1. El pH de las muestras de San Juan (SJ) fue de $7,8 \pm 0,5$ ligeramente alcalino, para las de Chama (CH) y la Finca Pedregal (FP) resultó un pH ácido de $4,9 \pm 0,4$ y $4,1 \pm 0,2$, respectivamente. La conductividad eléctrica en las muestras de SJ fue de 573 ± 243 S cm^{-1} algo mayor que en las muestras de CH y FP que fue de 241 ± 87 y 245 ± 46 S cm^{-1} . La CIC resultó similar en las tres zonas siendo de 35 ± 4 , 35 ± 5 y 25 ± 5 $\text{cmol}(+) \text{kg}^{-1}$ de suelo seco en SJ, CH y FP, respectivamente. De los parámetros fisicoquímicos determinados hubo diferencias significativas entre el pH y la CE para las tres zonas en estudio. Según Vera y col.⁹ estas diferencias fundamentalmente se deben al tipo de suelo de cada zona, ya que en los suelos de los andes venezolanos, los materiales parentales poseen gran influencia sobre sus características físicas y químicas.

El $C_{\text{org total}}$ resultó de 33 ± 3 gC kg^{-1} de suelo seco en la zona SJ, siendo el mayor valor comparado con las otras dos zonas, en FP fue de 18 ± 6 gC kg^{-1} y en CH de 10 ± 2 gC kg^{-1} .

Los valores de carbono extraíble obtenidos fueron de $3,4 \pm$ gC kg^{-1} , $5,8 \pm$ gC kg^{-1} y $10,7 \pm$ gC kg^{-1} , respectivamente en las tres zonas, SJ, CH y FP. Se observa que en los suelos de FP, por ser de textura arenosa, se obtuvo el mayor valor de CE, seguido de CH que posee textura franca y, por último, los valores de SJ fueron los menores, y se debe a su textura franco-arcillosa (tabla 1). Está reportado que en suelos arenosos la interacción de la materia orgánica con la fracción mineral (inorgánica) de los suelos es mucho menor que en suelos arcillosos¹⁸; por lo tanto, la extracción de materia orgánica se facilita en las muestras de suelo de la finca Pedregal.

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos de las muestras de suelo.

ZONA	pH	Conductividad	Capacidad de Intercambio	Textura
		Eléctrica $\mu\text{S cm}^{-1}$	Catiónico (CIC) $\text{cmol}(+) \text{kg}^{-1}$	
SJ	$7,8 \pm 0,5^a$	573 ± 243^a	35 ± 4^a	Franco arcillosa
FP	$4,1 \pm 0,2^b$	245 ± 46^b	25 ± 5^b	Arenosa
CH	$4,9 \pm 0,4^c$	241 ± 87^b	$35 \pm 5^{a,b}$	Franca

En una misma columna, valores con la misma letra no poseen diferencia significativa ($p < 0,05$)

Brito⁴ reporta una clara agrupación de suelos en base a los tipos de sustancias húmicas que presentan, y señala que las relaciones AH/AF muestran buena correlación con el tipo de evolución de los suelos. Así, se ve que los suelos de mayor evolución, presentan una relación AH/AF mayor a la unidad, con un intervalo de variación de 1,15 a 2,0. En suelos menos evolucionados esta relación es inferior a la unidad, en un intervalo de 0,36 a 0,53⁴. Según los

valores obtenidos para la relación AH/AF, los suelos de SJ y FP son más evolucionados ya que presentan valores de $1,1\pm 0,1$ y $1,4\pm 0,4$, respectivamente. En caso de CH tiene un valor de $0,5\pm 0,1$.

El índice de humidificación, $NH/(AH+AF)$, puede ser considerado como un valor útil para determinar si un suelo o enmienda orgánica posee altos contenidos de material humificado o, por el contrario, predomina la materia no humidificada. Así, los primeros dan valores cercanos a cero y los otros, incrementan el valor de esta relación marcadamente⁶. Por otra parte, los valores del grado de humidificación y la razón de humificación, reflejan porcentajes del material humificado (AH+AF) con relación al carbono extraíble y el carbono orgánico total del suelo, respectivamente. Valores elevados de estos parámetros indican también un alto contenido de material humificado⁶ (tabla 2).

Tabla 2. Carbono orgánico total y fraccionamiento en muestras de suelos cacaoteros.

	C _{ORG TOTAL} *	C _{EXTR} *	C _{AH} *	C _{AF} *	C _{NH} *
SJ-1	34	3,0	0,7	0,6	1,7
SJ-2	29	3,2	0,7	0,8	1,7
SJ-3	33	3,3	1,1	0,9	1,4
SJ-4	36	4,0	1,0	0,9	2,1
PROMEDIO SJ	33±3	3±1	0,9±0,2	0,8±0,2	1,7±0,3
CH-1	12	4,1	0,8	1,4	1,9
CH-2	9	4,9	0,9	1,4	2,6
CH-3	10	5,3	0,9	1,7	2,7
CH-4	10	6,1	1,1	1,8	3,2
CH-5	10	7,9	0,6	2,1	5,3
CH-6	7	6,7	0,7	1,6	4,4
PROMEDIO CH	10±2	6±2	0,8±0,2	1,7±0,3	3±1
FP-1	25	12,2	5,0	3,4	3,7
FP-2	25	13,0	6,2	3,1	3,7
FP-3	13	9,7	2,9	2,9	3,9
FP-4	15	9,5	3,4	2,4	3,7
FP-5	14	10,9	2,9	2,8	4,7
FP-6	13	9,1	3,4	2,5	3,7
PROMEDIO FP	18±6	11±3	4±2	2,8±0,5	3,9±0,6

* Expresado en g C/Kg suelo sec

Tabla 3. Parámetros de humificación en muestras de suelos cacaoteros.

	C_{AH}/C_{AF}	IH	GH (%)	RH (%)
SJ-1	1,1	1,3	44,0	4,7
SJ-2	1,0	1,1	46,8	6,2
SJ-3	1,3	0,7	58,8	7,0
SJ-4	1,1	1,1	48,5	5,4
PROMEDIO SJ	1,1±0,1	1,0±0,1	50±6	6±1
CH-1	0,5	0,9	53,5	18,4
CH-2	0,6	1,1	47,7	25,8
CH-3	0,5	1,0	49,0	25,9
CH-4	0,6	1,1	47,4	28,7
CH-5	0,3	2,0	33,3	26,2
CH-6	0,4	1,8	35,2	32,8
PROMEDIO CH	0,5±0,1	1,3±0,5	44±6	26±5
FP-1	1,5	0,4	69,4	70,5
FP-2	2,0	0,4	71,2	77,0
FP-3	1,0	0,7	59,6	48,2
FP-4	1,4	0,6	61,0	48,2
FP-5	1,2	0,8	56,6	51,5
FP-6	1,1	0,7	59,7	45,1
PROMEDIO FP	1,4±0,4	0,6±0,2	63±6	57±13

Según los parámetros de humidificación obtenidos (tabla 3), se observa que el suelo de FP posee mayor contenido de material humidificado; en segundo lugar, el suelo de SJ y el suelo de CH posee la menor cantidad de material humidificado. Sin embargo, los valores de RH en los suelos de SJ son muy bajos, ya que el material extraíble fue muy poco respecto al carbono orgánico total presente en el suelo, como se señaló anteriormente. Esto nos indica que para suelos arcillosos o franco-arcillosos la RH no proporciona valores adecuados, ya que la extracción de carbono orgánico no es muy eficiente, con el procedimiento empleado.

Tabla 4. Parámetros biológicos en muestras de suelos cacaoteros de Venezuela.

	Respiración Basal (mg C-CO ₂ kg ⁻¹ día ⁻¹)	Biomasa Microbiana (mg C-CO ₂ 100g ⁻¹)	Contenido de ADN (µg ADN g ⁻¹)
SJ-1	6,6	7,33	960
SJ-2	5,5	10,04	988
SJ-3	6,6	10,72	985
SJ-4	7,1	12,07	985
PROMEDIO SJ	6,5±0,7	10±2	980±13
CH-1	1,4	2,58	733
CH-2	1,7	1,22	1040
CH-3	1,3	1,22	730
CH-4	3,2	1,90	815
CH-5	1,0	1,22	712
CH-6	1	2,58	802
PROMEDIO CH	1,6±0,8	1,8±0,7	805±122
FP-1	10,8	7,24	1112
FP-2	9,4	5,60	1028
FP-3	7,6	3,95	773
FP-4	6,6	2,30	604
FP-5	8,2	4,77	948
FP-6	8,2	6,42	1106
PROMEDIO FP	8±1	5±2	929±202

Actividad microbiológica, biomasa microbiana y contenido de ADN.

El carbono mineralizado, en forma de CO₂ resultó mayor para las muestras de FP y SJ. En CH el valor más bajo (tabla 4). Estos valores indican que la actividad microbiológica de los suelos de FP y SJ fue mayor que en los de CH.

El carbono de la biomasa microbiana resultó mayor para las muestras de SJ, seguidas por las muestras de FP, siendo los menores valores para las muestras de CH.

En el caso del contenido de ADN, no se observaron diferencias significativas entre las tres zonas, sin embargo para CH dio valores ligeramente menores. Estos resultados pueden deberse a la contaminación con sustancias húmicas, que son comúnmente co-extraídas con el ADN e interfieren en la cuantificación espectrométrica del ADN¹⁶.

Correlación de los parámetros de humidificación con la actividad microbiológica, biomasa microbiana y contenido de ADN.

Los resultados indican que los cuatro parámetros de humidificación calculados correlacionan significativamente ($p < 0,05$) con la respiración basal de los suelos en estudio. Además, la respiración basal correlacionó significativamente ($p < 0,05$) con el contenido de $C_{\text{BIO MIC}}$, $C_{\text{ORG TOTAL}}$, contenido de ADN y las fracciones CE, AH y AF. En general, el carbono orgánico presenta relación con la actividad microbiana y observamos una correlación significativa entre $C_{\text{ORG TOTAL}}$ y la respiración basal ($p < 0,01$); sin embargo, la relación $C_{\text{AH}}/C_{\text{AF}}$ resultó con una correlación más significativa, lo que sugiere que esta relación sería un mejor indicador de la actividad microbiana de los suelos en estudio. De los parámetros de humidificación calculados, el carbono de la biomasa microbiana y el contenido de ADN sólo correlacionaron significativamente con la relación AH/AF. El $C_{\text{BIO MIC}}$ correlacionó significativamente ($p < 0,05$) con el $C_{\text{ORG TOTAL}}$, la respiración, el contenido de ADN y el carbono de las sustancias no húmicas. El contenido de ADN correlacionó significativamente ($p < 0,05$) con el $C_{\text{ORG TOTAL}}$, la respiración, y el $C_{\text{BIO MIC}}$ (tabla 5).

Tabla 5. Coeficiente lineal de Pearson para los diferentes parámetros en estudio.

	C_{EXTR}	C_{AH}	C_{AF}	C_{NH}	$C_{\text{AH}}/C_{\text{AF}}$	IH	GH	RH	RESP. BASAL	CONT. ADN	$C_{\text{BIO MIC}}$
$C_{\text{ORG TOTAL}}$	-0,26	0,08	-0,37	-0,60^b	0,56^b	-0,28	0,25	-0,27	0,57^b	0,50^c	0,91^a
C_{EXTR}		0,88^a	0,97^a	0,77^a	0,53^c	-0,44^c	0,60^b	0,97^a	0,54^c	0,09	-0,23
C_{AH}			0,84^a	0,40	0,82^a	-0,73^a	0,86^a	0,92^a	0,77^a	0,33	0,08
C_{AF}				0,75^a	0,42^c	-0,47^c	0,61^b	0,97^a	0,47^c	0,04	-0,31
C_{NH}					-0,04	0,18	-0,02	0,65^b	0,04	-0,24	-0,52^c
$C_{\text{AH}}/C_{\text{AF}}$						-0,79^a	0,84^a	0,57^b	0,90^a	0,46^c	0,50^c
IH							-0,97^a	-0,56^b	-0,74^a	-0,36	-0,29
GH								0,70^a	0,78^a	0,36	0,25
RH									0,53^c	0,13	-0,27
RESP. BASAL										0,57^b	0,61^b
CONT. ADN											0,62^b

^a ($p < 0,001$); ^b ($p < 0,01$); ^c ($p < 0,05$)

CONCLUSIONES

Los parámetros de humidificación calculados pueden servir como indicadores de la actividad microbiana en los suelos estudiados ya que presentaron correlaciones significativas con la respiración basal. De estos parámetros, la relación de carbono AH/AF resultó el mejor indicador de la actividad microbiológica, ya que presenta la mayor correlación con la respiración basal, biomasa microbiana y cantidad de ADN.

El contenido de ADN no es confiable como indicador de la actividad microbiológica de un suelo, debido a que la cuantificación se realiza basada en una extracción no selectiva. Se deben realizar nuevas mediciones para corroborar las correlaciones obtenidas y plantear un índice de actividad microbiológica en los suelos cacaoteros estudiados, que constituya una herramienta para recomendaciones en las técnicas de manejo empleadas en diferentes suelos agrícolas.

AGRADECIMIENTO

Estación Experimental San Juan de Lagunillas, INIA-Mérida; Estación Experimental Chama, INIA-Zulia y Finca Pedregal, Tucaní, Estado Mérida.

BIBLIOGRAFÍA

1. Foth, H. D. and Turk, L. M. Fundamentos de la ciencia del suelo. Compañía Editorial Continental. México; 1975.
2. Sarmiento, L. and Bottner, P. Carbon and nitrogen dynamics in two soils with different fallow times in the high tropical Andes: indications for fertility restoration. *Appl. Soil Ecol.* 2002; **19**: 79-89.
3. Gianfreda, L. and Bollag, J. M. Influence of natural and anthropogenic factors on enzyme activity in soil. En: *Soil Biochemistry*, vol. 9 (Eds. Stolzky, G. y Bollag, J. M.) Marcel Dekker, Inc., New York; 1996. p. 123-193.
4. Brito, J. G. Caracteres de la materia orgánica de algunos suelos del estado Yaracuy. *Agron. Trop.* 1975; **26**(4), 337-351.
5. Tonelli, D.; Seeber, R.; Ciavatta, C and Gessa, C. Extraction of humic acids from a natural matrix by alkaline pyrophosphate. Evaluation of the molecular weight of fractions obtained by ultrafiltration. *Fresenius J. Anal. Chem.* 1997; **359**: 555-560.
6. Sequi, P.; Nobili, M. De; Leita, L. and Cercignani, G. A new index of humification. *Agrochim.* 1986; **30**(1-2): 175-179.
7. Ciavatta, C.; Antisari, L.; and Sequi, P. Humification Parameters of Organic Materials Applied to soil. En: *Humic substance in the aquatic and terrestrial environment* (Allard, B.; Boren, H. and Grimvalt, A. eds.) Lectures notes in Earth Sciences. Springer Verlag, Berlin; 1991. p. 177-185.
8. Jaimes, R. E. Dinámica de nutrientes en agro-ecosistemas de cacao (*Theobroma cacao*) con frutales en el Sur del Lago de Maracaibo, Venezuela. [Tesis de maestría no publicada] Mérida, Venezuela. Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales, Universidad de Los Andes; 1997.
9. Vera, M.; Rosales, H. y Ureña, N. Caracterización físico-química de suelos cacaoteros de la zona sur del lago de Maracaibo, Venezuela. *Rev. Geog. Ven.* 2000; **41**(2): 257-270.
10. Urdaneta G., L. M. y Delgado A., A. E. Identificación de la microbiota del filoplanio del cacaotero (*Theobroma cacao* L.), en el municipio Carraciolo Parra Olmedo, estado Mérida, Venezuela. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 2007; **24**: 47-68
11. Portillo, E.; Graziani de Farinas, L. y Betancourt E. Efecto de los Tratamientos post-cosecha sobre la Temperatura y el Índice de Fermentación en la calidad del cacao criollo Porcelana (*Theobroma cacao* L.) en el Sur del Lago de Maracaibo. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 2005; **22**: 388-399.
12. Frostergård, Å.; Bååth, E. and Tunlid, A. Shifts in the structure of soil microbial communities in limed forests as revealed by phospholipid fatty acid analysis. *Soil Biol. Biochem.* 1993; **25**, 723-730.

13. Walkley, A. y Black, I. An examination of the Degtjaeff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 1934; **37**: 29-38.
14. Stotzky, G. Microbial respiration. En: *Methods of Soil Analysis*. Part 2 (Black, C.; Evans, D.; Ensminger, L.; White, J. and Clark, F., editores). American society of Agronomy, Madison, USA; 1965. p. 1550-1572.
15. Anderson, J. P. Soil respiration. En: *Methods of soil analysis*. Part 2. Chemical and microbiological properties. 2nd ed. (A.L. Page, R H. Miller and D.R. Keeney eds.) Soil Science Society of America Number 9. SSSA, Madison, Wisconsin, USA; 1982. p. 831-871.
16. Anderson, J. P. and Domsch, K. H. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biol. Biochem.* 1978; **10**, 215-221.
17. Yeates, C.; Gillings, M. R.; Davison, A. D.; Altavilla, N. and Veal, D. A. Methods for microbial DNA extraction from soil for PCR amplification. *Biologic. Procedur. Online* 1998, **1(1)**: 41-47.
18. Jenkinson, D. S. Soil organic matter and its dynamics. In: Wild, A. (Ed.) *Russel's soil conditions and plant growth*. 11th ed. Longman. New York, USA; 1988. p. 564-607.

ESTUDIO QUÍMICO DE LOS TALLOS DE *Cinchona pubescens* Vahl

Elena Cóndor Cuyubamba¹, Brás H. de Oliveira², Karin Loayza Ochoa^{1,3},
Víctor Reyna Pinedo*

RESUMEN

De los tallos de *Cinchona pubescens* que fueron colectados en la localidad de Yuracmallo (a 1 380 msnm, distrito de San Juan de Oro, Provincia de Sandia, Dpto. Puno) se aisló la quinina, que fué identificada mediante sus espectros de Masas, RMN¹H, RMN¹³C y ¹H-¹H COSY. Además, se realizó el análisis cualitativo de sus metabolitos secundarios.

Palabras clave: Quinina; *Cinchona pubescens*; alcaloides quinolínicos.

CHEMICAL STUDY OF THE STEMS OF *Cinchona pubescens* Vahl

ABSTRACT

From the stems of the *Cinchona pubescens*, wich were collected in the locality Yuracmallo (Province of Sandia, Puno), quinine was obtained, wich was identified by the mass spectra, RMN¹H, RMN¹³C and ¹H-¹H COSY. Furthermore, the qualitative analysis of the secondary metabolites was done.

Key words: Quinine; *Cinchona pubescens*; quinoline alkaloids.

INTRODUCCIÓN

El “árbol de la quina” o “casarilla”, símbolo en el escudo nacional de nuestra riqueza vegetal, comprende varias especies del género *Cinchona*, entre ellas *C. officinalis*, *C. calisaya* y *C. pubescens*.

La importancia de las Cinchonas desde el siglo XVII se debió al uso de la corteza y, posteriormente, de sus alcaloides, en particular de la quinina, en el tratamiento de la malaria. Desde hace varias décadas la síntesis de compuestos alternativos a la quinina desplazó el interés por las cortezas de “quinas”. Sin embargo, en los últimos años ha surgido el interés por estas plantas debido a la resistencia que han desarrollado los parásitos de la malaria a los medicamentos de síntesis.

Las dos especies de *Cinchona* más estudiadas son la *C. officinalis* y *C. calysaya*; sus alcaloides han sido aislados y caracterizados, principalmente mediante HPLC¹. Se han aislado alrededor de 25 alcaloides entre las diversas especies de Cinchonas, siendo los más importantes la quinina y su estereoisómero quinidina. Estos dos alcaloides están entre los de mayor producción comercial: al año 1988 la producción estimada era de 300 a 500 toneladas por año, lo cual significa que debieron procesarse entre 5 a 10 mil toneladas de corteza de Cinchonas².

La quinina se usa contra la malaria, y en los últimos años ha recibido un renovado interés debido a que es el único compuesto antimalárico del que no se ha reportado resistencia del parásito *Plasmodium falciparum* y, por ello, se utiliza para combatir la malaria resistente al medicamento de síntesis cloroquina².

¹ Universidad Nacional de Ingeniería. Facultad de Ciencias. Av. Túpac Amaru 210 -Lima 25

² Universidad Federal de Paraná. Departamento de Química. Curitiba - PR - Brasil - CEP 81.531-990

³ Tesis de Licenciatura en Ciencias-Mención Química, Facultad de Ciencias - UNI

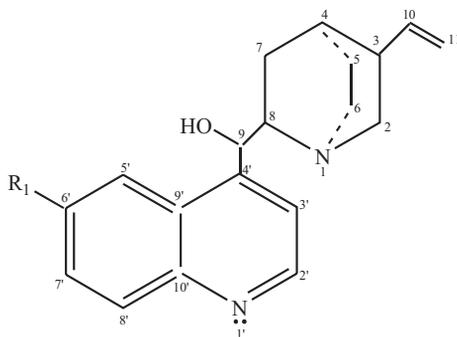
Aproximadamente el 60% de cortezas de Cinchona se utiliza en la producción de medicamentos y el 40% restante se utiliza principalmente en la industria de alimentos y bebidas, siendo el mayor producto las aguas tónicas (sabor amargo). También se utilizan estos alcaloides en síntesis de moléculas quirales².

Las últimas publicaciones referidas a *Cinchona pubescens* tratan del aislamiento e identificación de los alcaloides en diversos órganos de la planta obtenidos mediante cultivo celular^{3,4}.

Además de los alcaloides quinina (1a) y quinidina (1b), en las cortezas de Cinchona se encuentran sus análogos no metoxilados: cinconidina (1c) y cinconina (1d), figura 1. En la estructura de estos alcaloides quinolinínicos se ha considerado la numeración de Rabe, la cual es la más utilizada en la literatura química y farmacológica², y es la que utilizaremos en este trabajo.

La gran importancia comercial de los alcaloides obtenidos de Cinchona ha conducido a llevar a cabo varios esquemas de síntesis total de la quinina; sin embargo, ninguna de ellas ha logrado tener un interés comercial. Asimismo, en los últimos años se ha realizado la producción de estos alcaloides mediante cultivos celulares de plantas, pero sin lograr resultados satisfactorios para su obtención a gran escala. Por lo tanto, el material vegetal continúa siendo la materia prima para la obtención de estos alcaloides.

El análisis cuantitativo realizado por Hoet, Gómez y Kanamori (1980)⁵ mediante el método de Bruselas – 1948 proporcionó 0,02% y 0,08% de alcaloides totales en dos muestras de *C. pubescens*, colectadas en la Convención (Cusco) y en San Ignacio (Cajamarca).



	R1	C-8	C-9	C-3
1a quinina	OMe	β H(S)	α H(R)	α H(R)
1b quinidina	OMe	α H(R)	β H(S)	α H(R)
1c cinconidina	H	β H(S)	α H(R)	α H(R)
1d cinconina	H	α H(R)	β H(S)	α H(R)

Figura 1. Principales alcaloides presentes en cortezas de Cinchona.

PARTE EXPERIMENTAL

El espectro de masas se registró en un espectrómetro de masas acoplado a cromatografía líquida, Applied Biosystems, modelo API300 (Laboratorio Central de Salud Pública de Paraná – LACEN/PR – Brasil); los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno, Carbono, y $^1\text{H}-^1\text{HCO}\text{SY}$, se obtuvieron en un espectrómetro Bruker DRX400 (400 MHz) (Laboratorio de Productos Naturales de la Universidad Federal de Minas Gerais - Brasil).

Material vegetal

La muestra de *Cinchona pubescens* fue colectada en la localidad de Yuracmallo (1380 msnm) ubicado en el distrito de San Juan de Oro (provincia de Sandía, Dpto. de Puno) el 12 de octubre de 2005, por la Blg. Joaquina Albán C. y nos fueron entregados en estado seco (estufa a 35 °C, 20 horas-2 días) en mayo de 2006. Esta muestra está depositada en el Herbario San Marcos (JAC 15821) del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima.

Los tallos se cortaron con tijera de podar y se pulverizó a grano fino en una picadora- molino “Moulinex” (750W), hasta malla 500 μm .

Análisis cualitativo (marcha fitoquímica)

Los tallos de *Cinchona pubescens* se analizaron mediante los procedimientos de Rondina & Coussio (1969)⁶ y de Miranda (2002)⁷ encontrando que contienen: alcaloides (+++), aminogrupos primarios y/o secundarios (+), grupos fenólicos libres (+), catequizas (+), taninos (++) , triterpenos y/o esteroides (+), quinonas, antraquinonas o antranoles (+), flavonoides (+) y saponinas (+). Estos resultados se confirmaron con las pruebas específicas de Villacrez (1995)⁸.

Aislamiento de la quinina

Extracción y separación*

El material seco y pulverizado (150g) se “desengrasó” con n-hexano (12x300mL) y después de dejar secar al ambiente se introdujo en un cartucho de tocuyo, que se dispuso en el cuerpo central del equipo soxhlet. Luego, la muestra se humedeció con una solución acuosa de amoníaco 15N (200mL) y se dejó en reposo durante dos horas. Sobre la muestra alcalinizada, dentro del cuerpo central del soxhlet, se adicionó 200mL de una mezcla de metanol-cloroformo (1:1) y se dejó macerar durante 24 horas. La solución adquirió un color marrón oscuro.

En el balón del equipo soxhlet se dispuso 900 mL de metanol-cloroformo-acetato de etilo (1:1:4), y se colocó a reflujo 6h/día, durante 35 días, hasta que el solvente en el cuerpo central del soxhlet dió test de Mayer negativo.

El extracto orgánico se concentró en el rotavapor (40°C, 300-400 mbar) hasta casi sequedad.

El extracto orgánico fue tratado con ácido sulfúrico 0,5N (4x200 mL), para formar las sales de alcaloides; y la solución ácida fue lavada con cloroformo (2x350 mL).

A continuación la solución ácida fue alcalinizada con una solución de amoníaco 7,5N (36 mL) (pH final = 9), realizando la separación de los alcaloides mediante su extracción con cloroformo (35x100 mL). El extracto orgánico se concentró en el rotavapor (30°C, 300-400 mbar) hasta casi sequedad. Sobre el residuo de alcaloides se agregó 100 mL de cloroformo y se volvió a concentrar a sequedad en el rotavapor, (30° C, 300-400 mbar), repitiéndose esta operación un total de cuatro veces. Esto tiene por objeto eliminar las bases volátiles (amoníaco, $\text{NH}_{3(\text{g})}$) que estuvieran disueltas en el extracto.

* Esta parte del trabajo se realizó en el Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias-Universidad Nacional de Ingeniería.

La eliminación del solvente orgánico en el rotavapor (30° C, 300-400 mbar) hasta sequedad proporcionó el extracto bruto de alcaloides, en forma de un sólido de color marrón oscuro (1,6 g). El análisis por CCF* nos indicó que el extracto contiene quinina.

Purificación cromatográfica**

La purificación del extracto bruto de alcaloides-EBA (1,6 g) se realizó mediante dos técnicas cromatográficas: Primero por cromatografía en columna a vacío-CCV del EBA, seguida de cromatografía en capa delgada centrifugada –CCDC (4 ensayos consecutivos) de las fracciones purificadas (que contenían el alcaloide quinina).

Cromatografía en columna a vacío, CCV

La cromatografía en columna a vacío del EBA (1,6g) se realizó en una columna (h = 38 cm, = 5 cm) que contenía 90 g (h = 15 cm) de adsorbente sílica gel 60 para CC (porosidad 0,040-0,063).

El EBA se disolvió en 5mL de cloruro de metileno y se dispuso en la columna, agregándose como eluyente acetato de etilo (200 mL, fracción N° 1), seguido de 200 mL de mezclas de acetato de etilo con cantidades crecientes de metanol (10%, fracción N° 2; 20%, fracción N° 3, etc.), hasta agregar metanol puro (fracción N° 12), recibiendo las fracciones en balones de 500 mL. Todas las fracciones tenían una coloración amarilla y se llevaron a sequedad en el rotavapor (40-50 °C). De las 12 fracciones obtenidas, la quinina se presentó parcialmente pura en las fracciones N° 3 y N° 4 con un total de 741 mg (eluentes: 20% y 30% de metanol en acetato de etilo, respectivamente).

Cromatografía en capa delgada centrifugada, CCDC***

Las fracciones purificadas por CCV (741 mg) se sometió a cromatografía en capa delgada centrifugada CCDC-N°1, obteniéndose quinina impura (fracción N° 16-19, 231 mg), la cual se sometió a una segunda cromatografía CCDC-N° 2, obteniéndose nuevamente quinina impura en las fracciones N° 3-7 (180 mg). Una tercera elución cromatográfica, CCDC-N° 3, proporcionó nuevamente quinina impura, (fracción N° 3-5, 133 mg), la cual, finalmente, fue purificado mediante CCDC-N°4, obteniéndose quinina pura (14 mg) en las fracciones N° 17-26.

Estas cuatro secuencias cromatográficas se resumen a continuación:

1 CCDC N° 1

- i Muestra a purificar: fracciones N° 3-4 (741 mg) obtenido de CCV (Sec. a).
- ii Resultados: Se obtuvieron 23 fracciones de 15 mL c/u.

Las fracciones N° 16-19 (231 mg) contenía quinina impura ****.

2 CCDC N° 2

- i Muestra a purificar: fracciones N° 16-19 (231 mg) de CCDC N° 1

* CCF: placas de sílica gel 60 F 254, eluyente: cloroformo-acetona-amoniaco (10:17:1); Revelador: UV; Rf (quinina = 0,62).

** Esta parte del trabajo se realizó en el Laboratorio de Productos Naturales y Biotransformaciones de la Universidad Federal de Paraná, Curitiba (Brasil) (Del 2 al 29 de octubre de 2007).

*** Equipo utilizado: Cromatotrón Modelo 7924 T, Harrison Research.

**** El análisis de las fracciones se realizó mediante CCF: adsorbente: Placas de aluminio, Kieselgel 60F- 254, 0,2mm; eluyente acetona : CHCl₃: NH₃ 15N (17:10:1)

ii Resultados: Se obtuvieron 20 fracciones de 10 mL c/u.

Las fracciones N° 3-7 (180 mg) contenía quinina impura.

3 CCDC N° 3

i Muestra a purificar: fracciones N° 3-7 (180 mg) de CCDC N° 2

ii Resultados: Se obtuvieron 32 fracciones de 10 mL c/u.

Las fracciones N° 3-5 (133 mg) contenía quinina impura.

4 CCDC N° 4

i Muestra a purificar: fracciones N° 3-5 (133 mg) de CCDC N° 3

ii Resultados: Se obtuvieron 20 fracciones de 10 mL c/u.

Las fracciones N° 17-26 (14 mg) contenía quinina pura*.

Las condiciones de trabajo y el procedimiento de separación fueron similares para las cuatro eluciones cromatográficas y a continuación se describe lo realizado para la purificación final de la quinina (CCDC - N° 4).

Condiciones de trabajo

i Muestra: fracciones N° 3-5 (133 mg) obtenida en CCDC N° 3.

ii Placa de vidrio = 24 cm, sílica gel grado 7749 con yeso e indicador de fluorescencia; espesor de la placa 1mm.

(Observación.- sólo en la primera placa, CCDC N° 1, el espesor fue de 2 mm).

iii Eluente **: acetato de etilo: CH₂Cl₂: NH_{3(ac)} 15N (10:1:0,2) y metanol.

iv Revelador: Luz UV (254 y 360 nm); se dispuso como patrón quinina pura.

Procedimiento

i Se humedeció la placa haciendo pasar el eluente, luego se adicionó la muestra disuelta en 0,5 mL de etanol.

ii Se adicionó 320 mL de acetato de etilo: diclorometano: NH₃, 15N (10:1:0,2).

iii Finalmente, se adicionó 50 mL de metanol, con la finalidad de lavar la placa.

iv Se colectaron 32 fracciones de 10 mL cada una (tubos 100x15 mm), la mayoría de las cuales eran incoloras. Las fracciones N° 17-26 (14 mg) proporcionaron un sólido blanco, cuyo análisis por RMN¹H y CCF nos indica que se trata de quinina pura.

* De acuerdo a CCF y RMN¹H.

** Los eluentes para las otras eluciones cromatográficas fueron:

- CCD N° 1: CH₂Cl₂: NH_{3(ac)} 15N (10:0,3); CH₂Cl₂: AcEt: NH_{3(ac)} 15N (75:75:4,5)

Ac.Et: NH_{3(ac)} 15N (150:4,5) y metanol.

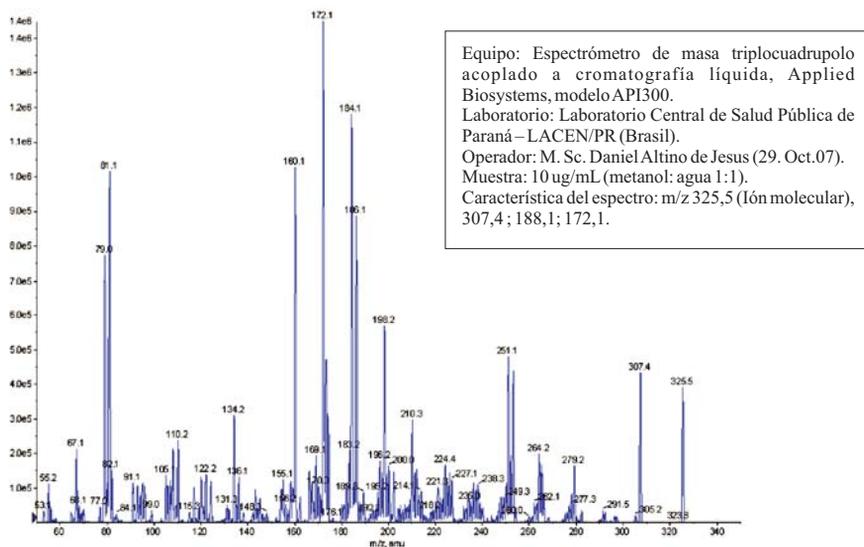
- CCD N° 2: Metanol: Ac.Et.: NH_{3(ac)} 15N (2:8:0,1) y metanol.

- CCD N° 3: AcEt: NH_{3(ac)} 15N (5:0,2) y metanol.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

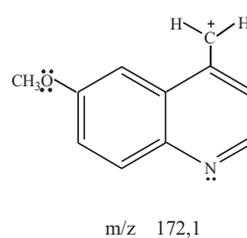
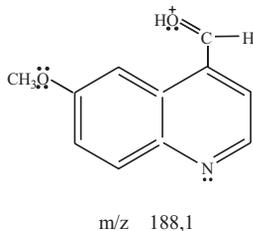
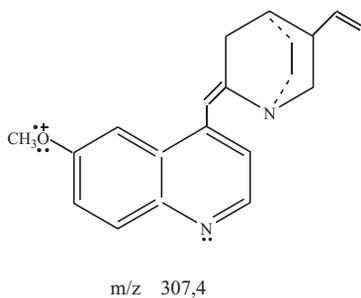
(Identificación espectroscópica de la quinina)²

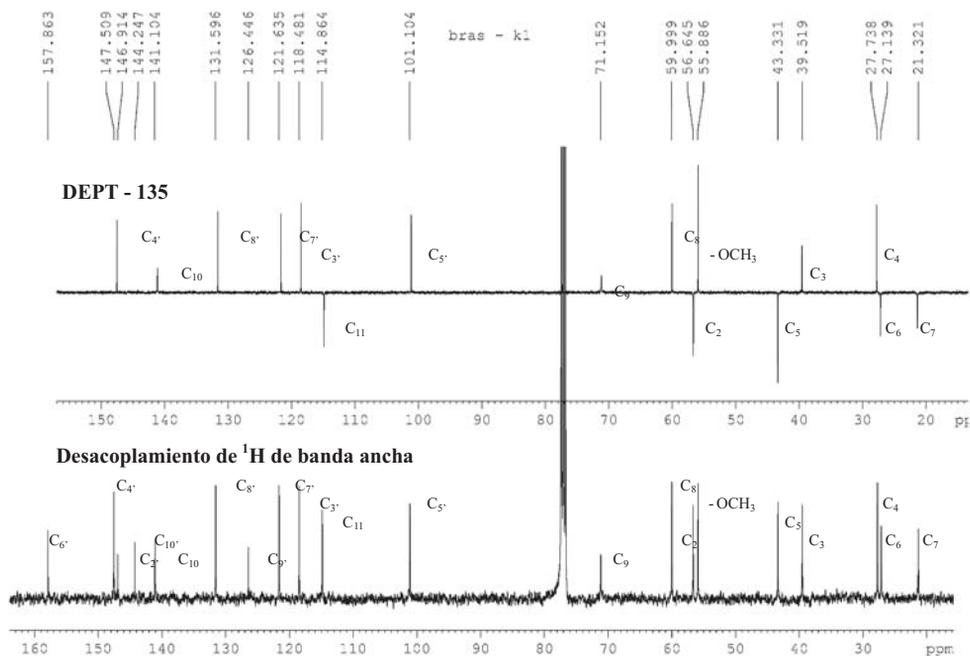
Espectro de Masas. Espectro 1

Espectro 1. Espectro de masas de la quinina aislada de los tallos de *Cinchona pubescens*.

Características del espectro: m/z : 325,5 (ion molecular, $M^+ + 1$), 307, ($M^+ - H_2O$): 255,1; 188,1; 172,1 (pico base), 160,1; 81,1.

Los fragmentos que corresponden a los iones m/z 301,4, m/z 188,1 y m/z 172,1 son los siguientes:



Espectro de RMN¹³C (400MHZ en CDCl₃). Espectro 3

Espectro 3. Espectro de RMN¹³C de la quinina aislada de los tallos de *Cinchona pubescens*.

a) EPT 135. Características del espectro

* Señales para arriba (11):

i Carbonos primarios (CH₃): δ (ppm): 55,8 (-OCH₃).

ii Carbonos terciarios (CH): δ (ppm): 27,7 (C₄); 39,5 (C₃); 59,9 (C₈); 71,1 (C₉); 101,1 (C₅); 119,4 (C₃); 121,6 (C₇); 131,6 (C₈); 141,1 (C₁₀); 147,5 (C₄).

* Señales hacia abajo (5): carbonos secundarios (CH₂): δ (ppm): 21,3 (C₇); 27,1 (C₆); 43,3 (C₅); 56,6 (C₂); 114,8 (C₁₁).

b) Desacoplamiento de ¹H de banda ancha. Características del espectro

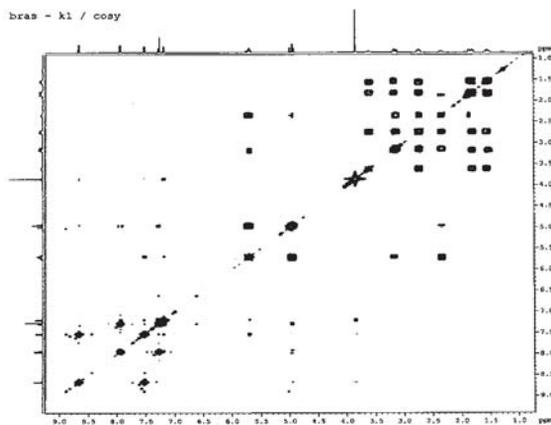
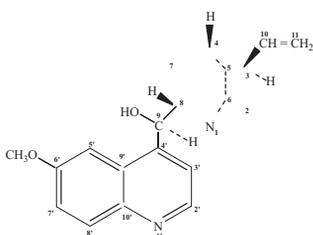
En este tipo de espectro aparecen todos los carbonos:

δ (ppm): 21,3 (CH₂); 27,1 (CH₂); 27,7 (CH); 39,5 (CH); 43,3 (CH₂); 55,8 (-OCH₃); 56,6 (CH₂); 59,9 (CH); 71,1 (CH); 101,1 (CH-aromático); 114,8 (CH₂ vinilo); 119,4 (CH - aromático); 121,6 (CH - aromático); 126,4 (C-aromático); 131,5 (CH-aromático); 141,1 (CH vinilo); 144,2 (C-aromático); 146,9 (C-aromático); 147,5 (CH-aromático); 157,8 (C-aromático).

La asignación de los valores de desplazamiento químico son análogos a lo publicado precedentemente.²

Espectro 2D ^1H - ^1H COSY (400 MHz en CDCl_3). Espectro 4

Equipo: Bruker DRX-400 (400 MHz)
Laboratorio: Laboratorio de Resonancia
Magnética Nuclear de UFMGP (Brasil).
Operador: Sr. José Dias de Sousa Filho
(1. Dic. 07). Solvente: CDCl_3



Espectro 4. Espectro 2D ^1H - ^1H COSY (400 MHz) de la quinina aislada de los tallos de *Cinchona pubescens*

Características del espectro

H (δ ppm)	Hidrógenos correlacionados
H-7eq (1,52)	H-5ax (1,71), H-4 (1,84), H-7ax (1,86)
H-5 eq (1,54)	H-6 eq (2,75), H-8 (3,15), H-6ax (3,17)
H-5 ax (1,71)	H-6 eq (2,75), H-6ax (3,17)
H-4 (1,84)	H-3 (2,70)
H-7ax (1,86)	H-8 (3,15)
H-2 eq (2,73)	H-11 gem (4,95-4,97)
H-8 (3,15)	H-9 (5,69)
-OCH ₃ (3,85)	H-5' (7,19)
H-11 gem (4,95-4,97)	H-10 (5,70)
H-9 (5,69)	H-3' (7,52)
H-7' (7,28)	H-8' (7,94)
H-3' (7,52)	H-2' (8,66)

CONCLUSIONES

- A partir de los tallos de *Cinchona pubescens* se aisló la quinina, la cual se identificó mediante sus espectros de masas, RMN^1H , RMN^{13}C , ^1H - ^1H COSY.
- Se realizó el análisis cualitativo de los metabolitos secundarios (marcha fitoquímica) presentes en los tallos de *Cinchona pubescens* según el procedimiento de Rondina Coussio (1969) y Miranda (2002), habiéndose verificado la presencia de: alcaloides (+++), aminogrupos primarios y/o secundarios (+), grupos fenólicos libres (+), taninos (++), triptenos y esteroides (+), quinonas antroquinonas o antronoles (+), catequinas (+), flavonoides (+) y saponinas (+).

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Bióloga Joaquina Albán (profesora principal y jefa del Departamento de Etnobotánica y Botánica Económica del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos) por habernos proporcionado el material vegetal y por su determinación botánica; a la M.Sc. Virginia Torpoco Carmen por la elucidación de los espectros de RMN¹H y RMN¹³C; al Instituto General de Investigación de la UNI y al Instituto de Investigación de la Facultad de Ciencias (UNI) por el apoyo económico que nos brindaron, para la realización de todo este trabajo de investigación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Keene, A. et al., Investigation of Cinchona leaf alkaloids by high-performance liquid chromatography. *J. of Chromatography* 1983; **260**: 123-128.
2. Verpoorte, R. et al., "Cinchona Alkaloids", in: Brossi, A. (Ed), The Alkaloids. Chemistry and Pharmacology, Ac. Press, Inc., 1988, **Vol. 34**. 331-334; 358-369.
3. Verpoorte, R. et al. The effects of plant growth regulators and culture conditions on the growth and the alkaloid content of callus cultures of *Cinchona pubescens*. *Planta Médica* 1982; **46**: 15-18.
4. Verpoorte, R. et al. Identification of alkaloids and anthraquinones in *Cinchona pubescens* Callus cultures; the effect on plant growth regulators and light on the alkaloid content. *Planta Médica*. 1984; **50**: 17-20.
5. Hoet, P. Gomez, A. y Kanamori, C. et al., Estudio cuantitativo de los alcaloides en *Cinchona* (*Rubiaceae*) del Perú. *Boletín Soc. Quím. (Perú)* 1980; **46**: 298-309.
6. Rondina R., y Coussio, J. Estudio Fitoquímico de Plantas medicinales. Revista de Investigaciones Agropecuarias-INTA (Argentina) 1969; Serie 2, Vol VI, **33**: 351-366.
7. Miranda, M., "Métodos de Análisis de Drogas y Extractos", Ed. Universidad de la Habana, La Habana, 2002.
8. Villacrez, O., Victor, "Bioactividad de plantas amazónicas", Ed., Abyala, Ecuador, 1995, 154-171.
9. Mills, T. et al., Instrumental Data for Drug Analysis, Volumen 4, Taylor Francis. Group-CRC Press, 3^o Ed., 2006, pág. 2745.

ADSORCIÓN DE FENOL CON CARBONES ACTIVADOS PREPARADOS A PARTIR DE PEPAS DE NÍSPERO DE PALO POR ACTIVACIÓN QUÍMICA

Gloria Delgadillo Gamboa^a, María del Rosario Sun Kou^b

RESUMEN

En este trabajo, se prepararon carbones activados (CAs) a partir de pepas de níspero de palo (*Mespitus communi*), por activación química con H_3PO_4 y KOH. Se evaluó la influencia de la razón de impregnación (agente activante/ precursor, p/p), y de la temperatura de activación, en la capacidad de adsorción de fenol. Mediante adsorción de N_2 a $-196\text{ }^\circ\text{C}$, se determinó que los CAs obtenidos poseen alta área superficial: los activados con H_3PO_4 tienen una estructura microporosa y los activados con KOH mostraron tener micro y ligera mesoporosidad, confirmada con las micrografías obtenidas por SEM. Los CAs con KOH mostraron una mayor capacidad de adsorción de fenol que los tratados con H_3PO_4 , lo cual está relacionado con la presencia de grupos básicos. A partir de una solución de 100 ppm de fenol, se logró adsorber 93,3 y 61,6% con los CAs con KOH (NK1-700) y con H_3PO_4 (NF0,67-500), respectivamente, frente a un 7,6% de remoción logrado con el carbón comercial M-2184 (Merck); mientras que de una solución de 500 ppm de fenol los CAs con KOH (NK1-700) y con H_3PO_4 (NF0,94-500) removieron hasta 163,7 y 102,3 mg de fenol/g de CA, respectivamente.

Palabras clave: pepas de níspero, carbón activado, activación química, adsorción de fenol.

ADSORPTION OF FENOL WITH ACTIVATED CARBON PREPARED FROM COMMON MEDLAR STONES, BY CHEMICAL ACTIVATION

ABSTRACT

In this work, activated carbons (ACs) were prepared from common medlar stones (*Mespitus communi*), by chemical activation with H_3PO_4 and KOH. The influence of the chemical impregnation ratio (activant agente/precursor, w/w) and the temperature of activation on the adsorption capacity of fenol, was evaluated. Measuring the adsorption of N_2 at $-196\text{ }^\circ\text{C}$, were determined that the ACs obtained, have high surface area: the activated with H_3PO_4 have microporous structure, and those activated with KOH have micro and light mesoporosity, confirmed with micrography obtained by SEM. The ACs with KOH showed the highest capacity adsorption of phenol than those tratated with H_3PO_4 , it is relateded with presence of basic groups. For 100 ppm solution of phenol, the ACs activated with KOH (NK1-700) and H_3PO_4 (NF0,67-500), uptake 93,3 and 61,6%, respectively against a 7,6% achieved with comercial carbon M-2184 (Merck); while of 500 ppm solution, ACs with KOH (NK1-700) and H_3PO_4 (NF0,94-500) uptake up to 163,7 and 102,3 mg of phenol/g of AC, respectively.

Key words: medlar stones, activated carbon, chemical activation, fenol adsorption.

^a Dpto. Académico de Ingeniería de Alimentos, Facultad de Ingeniería Pesquera y de Alimentos, Universidad Nacional del Callao- Av. Juan Pablo s/n. Callao 02, Perú, glory331@hotmail.com

^b Dpto. de Ciencias- Sección Química, Pontificia Universidad Católica del Perú. Av. Universitaria 1801-San Miguel – Lima 32.

INTRODUCCIÓN

El incremento de la contaminación ambiental tanto en el agua como en el aire, ha motivado un interés creciente en la investigación y desarrollo de métodos eficaces de descontaminación. La adsorción con carbón activado (CA) de origen vegetal, ha sido recomendado por la Agencia de Protección Ambiental de EE UU (USEPA) como una de las mejores tecnologías disponibles en la remoción de contaminantes orgánicos¹; sin embargo, el alto costo del material, ha motivado la búsqueda de otros precursores adecuados, económicos y disponibles, así como métodos más efectivos para su preparación. Con este propósito, se han llevado a cabo muchos estudios sobre la preparación de CAs a partir de residuos lignocelulósicos entre ellos: pepas de aceituna y cáscara de nueces con KOH^2 ; pepas de dátiles³ y madera de álamo amarillo y roble blanco⁴ con H_3PO_4 . Sin embargo las propiedades del CA varían ampliamente con el precursor y el método de preparación. En este contexto, las pepas de níspero de palo (*Mespilas communi*) material lignocelulósico novedoso, se perfila como buen precursor de CA, ya que además de tener bajo contenido de cenizas y alto contenido de carbono, determinado mediante un análisis previo, es subproducto de una industria emergente (conservas) en el Perú⁵.

El fenol es un sólido blanco cristalino de fórmula química $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$, es considerado altamente tóxico, aun en bajas concentraciones, y se encuentra presente en efluentes líquidos provenientes de fábricas de resinas fenólicas, de fibras sintéticas, plaguicidas, colorantes, aceites lubricantes, etc. El fenol por exposición prolongada paraliza el sistema nervioso central y lesiona el riñón y pulmón; la parálisis puede desembocar en muerte. Los límites permisibles de fenol en agua potable fijado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) es 0,001 mg/L y en aguas residuales fijado por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) es 0,1mg/L¹. Existen en la actualidad métodos que permiten reducir la concentración de fenol, tales como tratamientos biológicos, la incineración, la adsorción y la oxidación electroquímica; siendo las dos últimas las más empleadas. Dabrowski y col.⁶, en una revisión sobre la influencia de los parámetros importantes en el proceso de adsorción de fenol, señalaron que la naturaleza química de la superficie del carbón activado es el factor más importante, además de la estructura porosa y el pH de la solución.

En este trabajo, se han empleado pepas de níspero de palo, provenientes del departamento de Ayacucho, como materia prima para la preparación de carbones activados aplicando un método químico con KOH y H_3PO_4 , con el objeto de estudiar la influencia de la razón de impregnación y la temperatura de activación en las características estructurales y texturales de los carbones y en su capacidad de adsorción de fenol.

PARTE EXPERIMENTAL

Características físicas y análisis elemental de la materia prima

Los carbones activados han sido preparados a partir de pepas de níspero de palo provenientes del Dpto. de Ayacucho, y la identificación taxonómica se realizó en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, en el laboratorio de Botánica. Luego de obtener las pepas, se lavaron y secaron hasta peso constante a 70 °C; se molieron y tamizaron hasta un tamaño de partículas de 4-5 mm. Se realizó el análisis previo, según normas estándar, para determinar: el porcentaje de humedad, material volátil y cenizas. El análisis elemental se realizó por Difracción de Rayos X Analíticos, en el Laboratorio de Física de la Universidad Autónoma de México (tablas 1A y 1B).

Preparación de los carbones activados

El método empleado fue la impregnación por vía húmeda del precursor (pepa de níspero) con dos soluciones impregnantes; para ello, en un rotavapor se pusieron en contacto 50 g de precursor con 250 mL de solución de H_3PO_4 al 85%, a una razón de impregnación de 0,54; 0,67

y 0,94g de H_3PO_4 /g de precursor, y se mantuvo con agitación constante a 50 °C por 3 h, seguido de un proceso de carbonización realizado en un reactor tubular de lecho fijo, a diferentes temperaturas: 300, 400 y 500 °C, durante 1 hora, en flujo continuo de N_2 de 100 cc/min. Para remover el exceso de H_3PO_4 los carbones se lavaron con agua destilada y una solución al 5% de $NaHCO_3$ hasta que el pH del agua de lavado fue de 5,5. Luego, los carbones se secaron en una estufa a 70 °C, hasta peso constante y se almacenaron en envases cerrados herméticamente, para los análisis posteriores. De la misma forma se procedió para activar los carbones con KOH, con la diferencia de que se trabajó a razones de impregnación de 0,5; 0,75 y 1,0 g de KOH/g de precursor y a 500, 600 y 700 °C como temperaturas de activación y las muestras fueron lavadas con abundante agua destilada hasta pH neutro⁷. A continuación se calcularon los rendimientos de los carbones obtenidos mediante la fórmula³:

$$\% \text{ Rendimiento} = \left(\frac{\text{peso del producto final}}{\text{peso del precursor}} \right) 100$$

La nomenclatura de los CAs obtenidos incluye la identificación del precursor(N); la identificación del agente activante “F” para el H_3PO_4 y “K” para el KOH; la razón agente activante a precursor y la temperatura de activación. Por ejemplo la muestra NF0,54-300 se preparó usando 0,54 g de H_3PO_4 /g de precursor y se activó a 300 °C. El listado de los CAs obtenidos y el de la muestra comercial usada para referencia, se reporta en la tabla 2.

Estudio de la adsorción de fenol

Todos los ensayos de adsorción se llevaron a cabo en un sistema batch. Se analizaron el efecto de los siguientes parámetros: tiempo de equilibrio (rango de variación entre 0 y 24 h), pH (rango de variación entre 1,5 y 10), relación: masa de adsorbente/volumen de la solución (rango de variación de 0,05 hasta 0,2 g/L). Concentración inicial de fenol (rango de variación de 50 hasta 500 ppm). Para el estudio de cada parámetro, las demás condiciones del proceso se mantuvieron constantes. Para la determinación del fenol en las soluciones iniciales y residuales una vez alcanzado el equilibrio, se aplicó la técnica colorimétrica de acomplejamiento del fenol, con 4-aminoantipirina (ASTM D1782-91)⁸; y analizado por UV-visible a 510 nm, espectrofotómetro PERKIN ELMER modelo Lambda 2.

Se calculó la cantidad de fenol retenida en el carbón activado, mediante la siguiente fórmula:

$$qe = \frac{(Co - Ce) V}{W}$$

donde, **Co** y **Ce** son las concentraciones de fenol inicial y en el equilibrio respectivamente expresado en mg/L, **V** es el volumen (L) de la solución y **W** es el peso (g) de carbón activado.

Se determinó el % de adsorción, mediante la ecuación:

$$\% \text{ Adsorción} = \frac{(Ci - Cf) 100}{Ci}$$

donde **Ci** y **Cf** son la concentración de fenol inicial y en el equilibrio, respectivamente.

Caracterización de los carbones activados

Se llevó a cabo un análisis textural para las series de CAs que resultaron con mejor capacidad de adsorción de fenol NF0,94 y NK1,0; así como al carbón M-2184. Dicho análisis, se realizó

por determinación de la cantidad de N_2 gaseoso adsorbido en equilibrio a la temperatura de $-196\text{ }^\circ\text{C}$, en un intervalo de presiones relativas (P/P_0) creciente hasta 1. En la figura 1, se observan las isotermas de adsorción de N_2 , de algunos carbones activados. El área superficial se calculó por el método BET (A_{BET}), en el rango de $0,005 < P/P_0 < 0,35$. El volumen total de poros (V_{tp}), se calculó de la cantidad de N_2 adsorbida a P/P_0 0,92 ó 0,99; el volumen de microporos (V_{mi}), fue calculado del volumen de N_2 adsorbido a $P/P_0 = 0,1^9$. El volumen de mesoporos (V_{meso}) se calculó por diferencia de V_{tp} y V_{mi} . El diámetro promedio de poro (D_{pBET}) se calculó del mediante la fórmula $4V_{\text{tp}}/A_{\text{BET}}$.

La determinación de grupos ácidos y básicos, se realizó mediante el método de titulación de Bohem. Para ello, se pesó 0,25 g de CA (NK1,0-700 y NF0,94-500) en polvo y se mezclaron con 50 mL de soluciones 0,05 M de NaOH o HCl. La mezcla se mantuvo en agitación por 24 h a 150 RPM; posteriormente se tomaron alícuotas de 20 mL del líquido sobrenadante y el exceso de ácido o base se tituló con HCl o NaOH usando como indicador verde de bromocresol¹⁰. Para complementar la caracterización, se tomaron micrografías para observar la morfología del precursor y los CAs seleccionados; estos ensayos se realizaron en un Microscopio JEOL SEM 5600 LV, en el Laboratorio de Física de la Universidad Autónoma de México.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características del precursor

Un precursor adecuado para obtener carbones activados debe tener: alto contenido de carbono fijo y de materia volátil, alta densidad de empaquetamiento; y bajo contenido de cenizas. La tabla 1A muestra los resultados del análisis proximal del precursor, donde se observa un bajo contenido de cenizas y un alto contenido de volátiles, valores semejantes a los obtenidos para las pepas de cerezas y albaricoque¹¹. De los análisis realizados mediante DRX Analíticos, se determinó la composición química del precursor, el cual mostró un alto contenido de carbono (57,72%) y bajo contenido de azufre (0,14%). Se observa una relación O/C de 0,68 típico de un material lignocelulósico⁷. Un bajo contenido de S, posiblemente favorece el desarrollo de elevadas áreas superficiales¹².

Tabla 1A. Propiedades de la materia prima.

Análisis proximal (% en peso)			
Humedad	Volátiles	Cenizas	Carbono fijo
2,93	81,33	0,46	15,28

Tabla 1B. Análisis elemental de la materia prima.

Elemento contenido (% en peso)							
C	O	Ca	Al	K	Cl	Si	S
57,72	38,99	1,63	0,60	0,38	0,29	0,25	0,14

Evaluación de la influencia de los métodos de preparación en el rendimiento y capacidad de adsorción de fenol de los carbones activados.

El rendimiento de CA, es un parámetro muy importante debido a que nos permite conocer si el precursor y el método usados resultan económicos. En la tabla 2 observamos, en general, que

los rendimientos de los CAs disminuyen con el incremento de la temperatura y la razón de impregnación, para ambas series (activadas con KOH y H₃PO₄). Se obtienen mejores rendimientos para los carbones activados con H₃PO₄, serie en la que las variaciones son mínimas; los rendimientos obtenidos en el orden de 46,2- 54,3%, coinciden con los reportados por otros investigadores para precursores similares^{3,4} frente a valores entre 19,2-28,9% obtenidos para los activados con KOH. Estos últimos resultados indican, rendimientos relativamente elevados y que se atribuye a que se pueden formar carbones con baja porosidad⁷, lo que no concuerda con nuestros resultados pues el carbón NK1,0-700, tuvo un rendimiento de 25,3% y presenta elevada porosidad, como se verá más adelante.

Tabla 2. Carbones activados preparados, parámetros de activación y rendimiento.

Carbón	Razón de impregnación (g de agenteactivante/gde recurso)	Temperatura de activación (°C)	Rendimiento (%)
NF0,54-300	0,54	300	54,3
NF0,54-400	0,54	400	53,5
NF0,54-500	0,54	500	53,2
NF0,67-300	0,67	300	50,8
NF0,67-400	0,67	400	50,6
NF0,67-500	0,67	500	49
NF0,94-300	0,94	300	47,3
NF0,94-400	0,94	400	46,9
NF0,94-500	0,94	500	46,2
NK0,5-500	0,5	500	24,6
NK0,5-600	0,5	600	24,5
NK0,5-700	0,5	700	19,2
NK0,75-500	0,75	500	24,3
NK0,75-600	0,75	600	24,1
NK0,75-700	0,75	700	20,8
NK1,0-500	1,0	500	28,9
NK1,0-600	1,0	600	26,4
NK1,0-700	1,0	700	25,3
M-2184	-	-	-

La figura 1, muestra la influencia de los parámetros de activación de los CAs obtenidos y el CA comercial en la remoción de 100 ppm de fenol. Se observa que las remociones óptimas se lograron con los carbones NK1,0-700 y NF0,67-500, que fueron de 93,3 y 61,6% respectivamente; con el CA comercial M-2184 sólo se obtuvo el 7,6%. La serie NF mostró una tendencia creciente al igual que la serie NK, excepto el CA NK0,75-700, que muestra una menor adsorción.

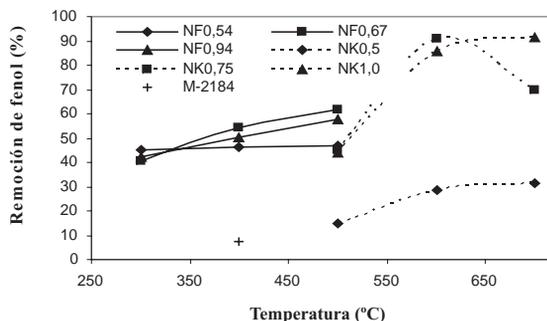


Figura 1. Influencia de la razón de impregnación y de la temperatura de activación de los CAs y comercial, en la remoción de 100 ppm de fenol, a pH 5,5; 400 RPM, por 6h.

Características texturales de los carbones activados.

En la figura 2 se observan las isotermas de adsorción de N_2 para los carbones preparados con mejor capacidad de adsorción de fenol y el comercial. Todas las isotermas son esencialmente del tipo I, características de materiales microporosos. La isoterma del CA NK1,0-500 es del tipo IV, característico de materiales micro-mesoporosos. Esos resultados coinciden con los esperados para materiales lignocelulósicos^{7,9,11}. Cabe indicar que el CA comercial M-2184, muestra valores muy bajos de volumen adsorbido de N_2 .

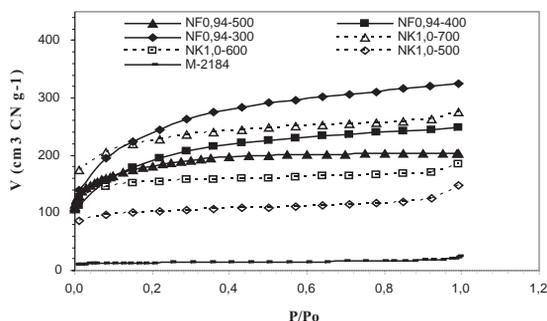


Figura 2. Isotermas de adsorción de N_2 a -196°C , para CAs de la serie NK1,0 y NF0,94-500 y comercial.

Las características texturales de los CAs de las series NK1,0 y NF0,94, se muestran en la tabla 3. Se observa, en general, que el área superficial (A_{BET}) y el volumen de microporos ($V_{\text{micro}}^{0,1}$), se incrementa con la temperatura de activación en ambas series, coincidente con la literatura^{7,12}. La mesoporosidad tiene similar tendencia, excepto para el CA NF0,94-500 en el cual disminuye, lo cual se puede atribuir a la mayor microporosidad (78,73%) de este carbón en su serie. Respecto al porcentaje de microporos, en general los CAs obtenidos mostraron valores altos, lo que confirma su carácter microporoso. El tamaño promedio de poro, D_{PBET} , más pequeño de los CAs obtenidos lo posee el CA NF0,94-500 (21,04 Å) y el más grande lo posee el CA NK1,0-500 (25,56 Å). El valor de volumen total de poros (V_{tp}) de los

CAs obtenidos, en la serie NF alcanzó un máximo a 400 °C y luego disminuyó ligeramente a 500 °C. Mientras que en la serie NK, muestra una tendencia creciente con la temperatura. El carbón M-2184, presenta menor A_{BET} , V_{tp} , $V_{\text{micro}}^{0,1}$, menor % de microporos y un mayor D_{PBET} que para todos los CAs obtenidos.

Tabla 3. Carbones activados de las series NK1,0 y NF0,94 y características texturales.

Carbón	A_{BET} (m^2/g)	V_{tp} (cc/g)	$V_{\text{micro}}^{0,1}$ (cc/g)	V_{meso} (cc/g)	$\frac{\%V_{\text{micro}}^{0,1}}{V_{\text{tp}}}$	$D_{\text{p}}^{\text{BET}}$ (Å°)
NF0,94-300	621	0,3787	0,2507	0,1280	66,20	24,408
NF0,94-400	790	0,4945	0,3130	0,1815	63,30	25,046
NF0,94-500	884	0,4650	0,3661	0,0989	78,73	21,040
NK1,0-500	243	0,1550	0,1213	0,0337	78,26	25,561
NK1,0-600	453	0,2642	0,2285	0,0357	86,49	23,320
NK1,0-700	686	0,4068	0,3243	0,0825	79,72	23,703
M-2184	44	0,0326	0,0192	0,0134	58,90	29,758

En la figura 3, aparecen la micrografías del precursor y los CAs NK1,0-700 y NF0,94-500, obtenidas mediante el análisis SEM. En el precursor se observa una masa bastante compacta, con presencia de poros incipientes. El carbón NF0,94-500, activado con H_3PO_4 , presenta una estructura bastante homogénea y esencialmente microporosa, porque aún para grandes aumentos no se observa presencia de poros más grandes, lo cual coincide con el aspecto físico de éste, que es más compacto. En cambio, el carbón NK1,0-700, activado con KOH presenta una morfología heterogénea con micro y mesoporosidad, que le dan al carbón un aspecto más “esponjoso”. Este tipo de estructura, también se formaba con carbones activados con KOH, preparados a partir de pepa de aceituna y cáscara de nuez².

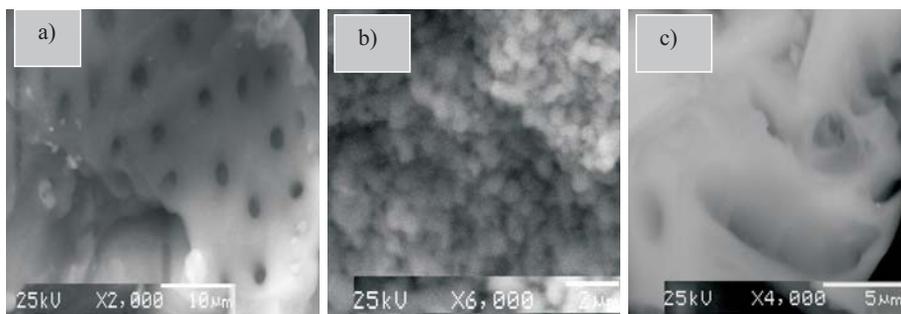


Figura 3. Micrografías SEM de: a) precursor y CAs producidos: b) NF0,94-500; y c) NK1,0-700.

Química superficial de los carbones activados.

La tabla 4, muestra valores de grupos ácidos y básicos para los CAs NK1,0-700 y NF0,94-500 y las cantidades máximas de adsorción de fenol. Se puede observar que el método de preparación influye en la cantidad de grupos ácidos y básicos presentes en la superficie de los carbones; la muestra NF presentan mayores valores de grupos ácidos y la NK valores mayores

de grupos básicos. Es claro que los grupos ácidos no favorecen la adsorción de fenol, mientras que los grupos básicos, sí. Esto, se deduce del hecho de que el CA NF0,94-500 que posee mayor cantidad de grupos ácidos y una pequeña cantidad de grupos básicos, removió menor cantidad de fenol que el CA NK1,0-700 que tiene menor cantidad de grupos ácidos y mayor cantidad de grupos básicos. Está establecido que la adsorción de fenol está gobernada por interacciones de dispersiones π - π entre el plano basal del CA y los anillos aromáticos del adsorbato. Así, los grupos básicos promueven la adsorción de fenol porque forman un complejo donador-aceptor de anillo aromático. Por el contrario los grupos ácidos inhiben la adsorción de fenol porque incrementan la afinidad del CA por el agua, y ésta podría bloquear los microporos, ya que debilitan las interacciones π - π ⁶.

Tabla 4. Grupos ácidos y básicos, y la máxima capacidad de adsorción de fenol, de los CAs selectos: K1,0-700 y NF0,94-500.

Carbón activado	Grupos ácidos (mmol/g)	Grupos básicos (mmol/g)	Adsorción de fenol (mg/g CA)
NF0,94-500	1,2739	0,0368	102,3
NK1,0-700	0,1962	0,8829	163,7

Evaluación de los parámetros que afectan la adsorción de fenol

En la figura 4 se muestran las curvas cinéticas de los CAs selectos; NK1,0-700 y NF0,94-500. Se observa que para ambos carbones, el tiempo de equilibrio se alcanza a las 6 h, observándose un rápido descenso de la concentración de fenol en la primera hora. La mínima cantidad residual de fenol en la solución fue de 6,9 y 38,4 mg de fenol/L, respectivamente. Este mismo tiempo de equilibrio fue determinado por ALAM Z, et al¹⁴, para la adsorción de fenol con CAs de materiales lignocelulósicos. No se consideró el ajuste de los datos por modelos cinéticos en este artículo.

La figura 5 a), muestra la influencia de la relación: (masa de adsorbente/volumen de solución) en la remoción de fenol, en el CA NF0,67-400. El porcentaje de remoción se incrementa casi proporcionalmente con la dosis de CA; las dosis se incrementaron en 0,05 g cada vez hasta un máximo de 0,2 g: a 0,05 y 0,1 g se obtuvieron 29,3 y 54,4%, respectivamente. Con 0,2 g de CA sólo se removió el 71,8%, dando una tendencia a estabilizarse y alcanzar el equilibrio. De estos resultados, se estableció que la mejor dosis para los ensayos posteriores era de 0,1g. En la literatura Kaleta J, reporta similares tendencias¹⁵.

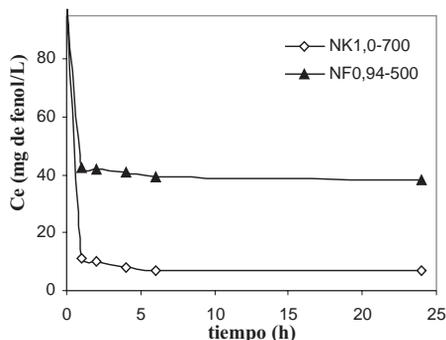


Figura 4. Curvas cinéticas de adsorción de fenol para los CAs NK1,0-700 y NF0,94-500. Parámetros empleados: 0,1 g de CA; pH5,5; [fenol] = 100 ppm; agitación 400 RPM

La figura 5 b), muestra la influencia del pH en la remoción de fenol, en el CA NF0,67-400. Una máxima remoción de 57,5% se obtuvo a pH 5,5 por ende se trabajó para la obtención de las isothermas a pH 5,5, correspondiente al pH natural de la solución. Los reportes de la literatura⁶, sostienen que la adsorción de fenol decrece tanto a pH bajos como a altos. Esto es debido a que el pKa del fenol es 9,89; así las especies adsorbidas arriba de este pH son mayormente aniónicas. La repulsión entre el anión fenolato y la capa superficial reduce la adsorción. A un bajo valor de pH se introducen protones en la solución, los cuales compiten por los sitios carbonílicos del CA, lo que podría ocasionar que la adsorción disminuya.

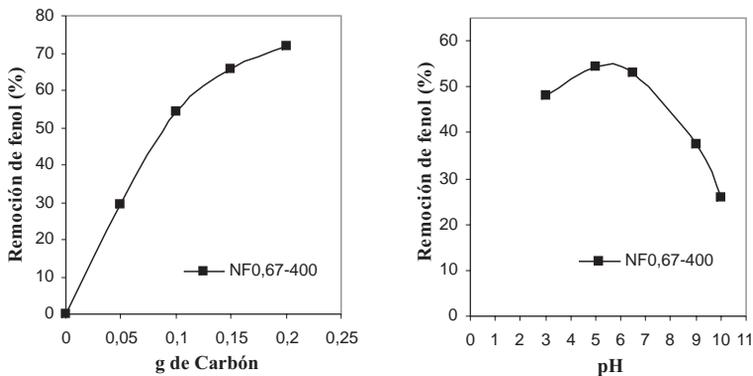


Figura 5. Influencia de: a) la relación: (masa de adsorbente/volumen de solución) y b) el pH para el carbón NF0,67-400. Parámetros empleados: [fenol] = 100 ppm; agitación 400 RPM; tiempo = 6h.

La figura 6, muestra las isothermas de adsorción de fenol de los CAs de las series NK1,0 y NF0,94, que mostraron tendencias crecientes definidas en la capacidad de adsorción. De éstas se determinaron que los CAs que lograron mejor capacidad de remoción fueron los preparados a una mayor razón de impregnación y activados a una mayor temperatura de ambas series; NK1,0-700 removió hasta 163 mg de fenol/g y NF0,94-500, hasta 102 mg de fenol/g. Éstos CAs además son los que poseen las A_{BET} y V_{micro} más altos, de su serie. Varias investigaciones⁶, sostienen que la cantidad de fenol adsorbida se incrementa con el incremento del A_{BET} y V_{tp} , y que la adsorción de fenol no se restringe estrictamente a los microporos; esto concuerda con nuestros resultados si nos remitimos a la tabla 3.

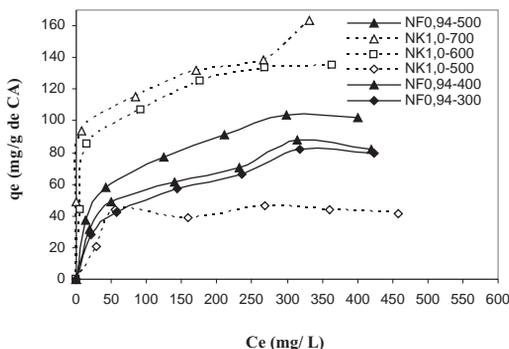


Figura 6. Isothermas de adsorción de fenol para CAs de la serie NK1,0 y NF0,94. Parámetros empleados: 0,1 g de CA; pH = 5,5; [fenol] = 100 ppm; agitación 400 RPM; tiempo = 6h.

Con el fin de estimar la capacidad de adsorción, se aplica la isoterma de Langmuir un típico modelo de adsorción en monocapa, que asume una superficie homogénea. Para el caso de líquidos se aplica una expresión generalizada, que relaciona la concentración del sustrato en el adsorbente sólido q_e , la remoción, y la concentración del sustrato C_e en el equilibrio:

$$q_e = \left(\frac{K_L q_m C_e}{1 + q_m C_e} \right) \tag{4}$$

donde q_m y K_L son constantes de Langmuir, representan la capacidad máxima de adsorción, para la carga de fase sólida y la constante de energía relacionada al calor de adsorción, respectivamente.

En el caso de líquidos también se pueden conseguir buenos ajustes con la isoterma linealizada de Freundlich, que relaciona la capacidad de remoción del sustrato q_e (mg/g) de adsorbente y la concentración residual del sustrato C_e (mg/l) en el equilibrio:

$$\ln q_e = \ln K_F + \frac{1}{n} \ln C_e \tag{5}$$

donde, el intercepto $\ln K_F$ es una medida de la capacidad del adsorbente, y la pendiente $1/n$ es la intensidad de la adsorción. El modelo Freundlich básicamente es para corregir la asunción de Langmuir, para la adsorción en superficies energéticamente no homogéneas.

Los datos experimentales obtenidos se pueden ajustar a los modelos de las isotermas de Freundlich y de Langmuir. Los gráficos obtenidos se indican en la figura 7 y en la tabla 5 se observan los parámetros de cada modelo que ajustan dichas ecuaciones que ajustan dichas ecuaciones.

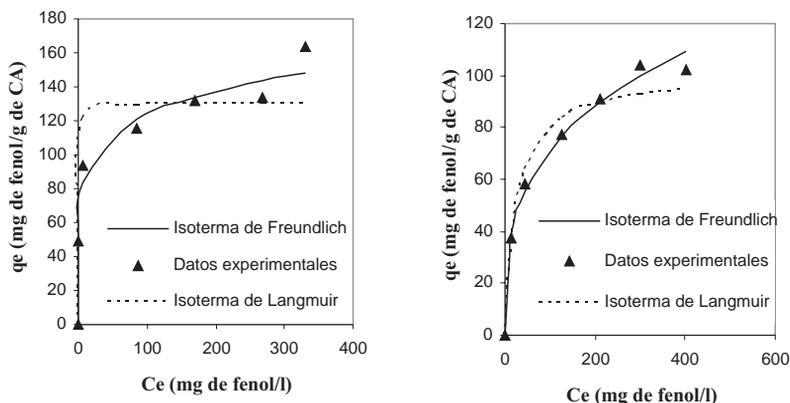


Figura 7. Correlación de los datos experimentales con los modelos de las isotermas de Freundlich y Langmuir para los CAs: a) NK1,0-700 y b) NF-0,94-500.

De esta tabla, se observa por los valores de r y R^2 que los datos experimentales se ajustan mejor con la ecuación de Freundlich. Estos resultados coinciden con lo reportado por otras investigaciones^{1,6,14}. Teniendo en cuenta, las asunciones en las que se basa el modelo, se puede establecer que el proceso de adsorción de fenol se produce en sitios energéticamente no homogéneos, en los que no existen interacciones laterales de molécula a molécula.

Tabla 5. Parámetros de los modelos de las isotermas de Freundlich y Langmuir para la remoción de fenol

Parámetro	NK1,0-700	NF-0,94-500
Isoterma de Freundlich		
K_F	61,265	17,518
n	6,6901	3,277
R^2	0,9876	0,988
r	0,9938	0,994
Isoterma de Langmuir		
q_m (mg/g)	130,21	100
K_L (L/mg)	2,021	0,042
R^2	0,914	0,9722
r	0,956	0,986

CONCLUSIONES

- La pepa de níspero de palo (*Mespilas communi*) resultó ser un buen precursor para preparar CA, debido a su bajo contenido de cenizas (0,46 %) y azufre (0,14%), alto contenido de volátiles y carbono fijo (81,3 y 58 %), respectivamente.
- Los métodos de preparación de CA y la naturaleza del precursor influyen en el rendimiento, las características texturales y adsorbentes del CA. El tipo de agente activante, la razón de impregnación y la temperatura resultaron ser los parámetros más importantes.
- El rendimiento de CA tiende a disminuir con el aumento de la razón de impregnación y el aumento de la temperatura de activación.
- Los carbones obtenidos con H_3PO_4 , tuvieron los más altos rendimientos y esencialmente fueron carbones microporosos con elevadas A_{BET} .
- Los carbones activados con KOH, produjeron menores rendimientos y resultaron tener una estructura heterogénea con micro y mesoporosidad.
- La adsorción de fenol fue mayor en aquellas muestras que tenían el A_{BET} y el V_{tp} , bastante altos. Además, se determinó que la presencia de grupos ácidos no favorece la adsorción, mientras que los grupos básicos sí.
- La adsorción de fenol también se ve afectada por el pH de la solución; los mayores resultados se lograron a pH igual a 5,5.
- Los datos experimentales se ajustaron mejor al modelo de la isoterma de Freundlich.
- Los mejores CAs obtenidos fueron: NK1,0-700 y NF0,94-500, por su mayor capacidad de adsorción de fenol.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen a las siguientes personas: Dr. Jesús Valencia, Dra. Gloria Restrepo, Gemma Gómez y al Dr. Dwigth Acosta, por el apoyo brindado para realizar los ensayos de caracterización de los carbones activados.

REFERENCIAS

1. Somnath Mukherjee, Sunil Kumar, Amal K. Misra, and Maohong Fan. *Chemical Engineering Journal* 2007; 129: 133-142.
2. Martínez M, Torres M, Guzmán C, Maestri D. *Industrial Crops and Products* 2006; 23: 23-28.
3. Haimour N and Emeish S. *Waste Management* 2005; xxx: 9 Pages.
4. Jagtoyen M and Derbyshire F. *Carbón* 1998; 36(7-8): 1085-1097.
5. Palomino, F. Estudio Tecnológico para la producción de conserva de níspero (*Mespilas germanica*). [Tesis Grado]. Ayacucho, Perú: Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga; 2000.
6. Dabrowski A, Podkscielny P, Hubicki Z, Barczak M. *Chemospher* 2005; 58: 1049-1070.
7. Molina -Sabio M, Rodríguez-Reinoso F. *Physicochem. Eng. Aspects. Colloids and Surfaces* 2004; 241: 15-25.
8. ASTM Designation: D 1783-91. Standar Test Methods for Phenolic Coumpounds in Water.
9. Mohamed F, Khater W, Mostaza M. *Chemical Engineering* 2006; 116: 47-52.
10. Aygün A, Yenisoay-Karakas S, Duman I. *Microporous and Mesoporous Materials* 2003; 66: 189-195.
11. Savova D, Apak E, Ekinici E, Yardim F, Petrov N, Budinova T. et al. M. *Biomass & Bioenergy* 2001; 21, 133-142.
12. Sentorun-Shalaby C., Ucak-Astarhoglu M., Artok L., Sarici C. *Microporous and Mesoporous Materials* 2006; 88: 126-134.
13. Robau-Sánchez A, Aguilar-Elguézabal A, Aguilar-Pliego. *Microporous and Mesoporous Materials* 2005; 85: 331-339.
14. Alam Z, Muyibi S, Mansor M, Wahid R. *Journal of Environmental Sciences* 2007; 19: 103-108.
15. Kaleta J. *Can, J. Civ. Eng.* 2006; 33:546-551.

CARACTERIZACIÓN DE LAS ANTOCIANINAS DE LOS FRUTOS DE *Berberis boliviana* Lechler

Carla Del Carpio Jiménez^{*a}, Carlos Serrano Flores^b, Mónica Giusti^c.

RESUMEN

Berberis boliviana Lechler, es una especie silvestre del Perú¹; pertenece a la familia Berberidaceae; su fruto es una pequeña baya comestible de color morado; en las diferentes zonas donde crece se le conoce como cheqche, queswa cheqche, quisca-quisca, ailampo. El análisis preliminar del pigmento determinó la presencia de antocianinas, cuyo contenido fue determinado por el método del pH diferencial, siendo de 7 g/100 g en el tejido separado de las semillas del fruto seco.

El análisis por HPLC-PDA (Cromatografía Líquida de Alta Resolución, con detector con arreglo de fotodiodos) de la muestra hidrolizada mostró la presencia de 5 aglicones: delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina, las cuales fueron identificadas por comparación de los picos del cromatograma obtenido al correr simultáneamente una muestra del pigmento de los frutos de uva (*Vitis vinifera*).

El análisis por HPLC - espectrometría de masas Tandem, confirmó la presencia de 10 picos y los pesos moleculares permitieron conocer las antocianinas presentes en *Berberis boliviana* Lechler, las cuales son: delfinidina-3-glucósido, delfinidina-3-rutinósido, cianidina-3-glucósido, cianidina-3-rutinósido, petunidina-3-glucósido, petunidina-3-rutinósido, peonidina-3-glucósido, peonidina-3-rutinósido, malvidina-3-glucósido y malvidina-3-rutinósido.

La petunidina-3-glucósido fue identificada como el principal pigmento, en una concentración de 24,43%.

Esta es la primera vez que se establece el perfil de las antocianinas de *Berberis boliviana* Lechler, siendo esto último importante tratándose de una especie silvestre de nuestro país.

Palabras clave: Caracterización, antocianinas, *Berberis boliviana* L, HPLC-espectrometría de masas

CHARACTERIZATION OF *Berberis boliviana* Lechler FRUITS ANTHOCYANINS

ABSTRACT

Berberis boliviana Lechler, is a wild specie from Peru, belongs to the Berberidaceae family; the fruit is an edible purple dark berry that grows in different zones and is called as cheqche, queswa cheqche, quisca quisca, ailampo.

The preliminary analysis of the pigment determined the presence of anthocyanins, the content

^a Facultad de Ciencias Químicas, Físicas y Matemáticas, Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Av. De La Cultura 733, Cusco, Perú, carla123dc@yahoo.es.

^b Facultad de Ciencias Químicas, Físicas y Matemáticas, Carrera Profesional de Química, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Av. De La Cultura 733, Cusco, Perú.

^c Food Science & Technology Department, The Ohio State University, 110 Parker Food Science & Technology, 2015 Fyffe Road, Columbus, OH 43210-1007.

was determined by the pH differential method as a 7 g / 100g in dry fruit's seeds (epidermal tissue).

The HPLC analysis of the acid hidrolisys sample showed the presence of five aglycones: delphinidin, cyanidin, petunidin, peonidin and malvidin, which were established by comparison using a well known commodity, grape extract by comparison of the peaks.

The HPLC-MSMS analysis of the extract confirmed the presence of ten peaks and the molecular weights let us know the identity of each one, the anthocyanins present in *B. boliviana* L are delphinidin-3-glucoside, delphinidin-3-rutinoside, cyanidin-3-glucoside, cyanidin-3-rutinoside, petunidin-3-glucoside, petunidin-3-rutinoside, peonidin-3-glucoside, peonidin-3-rutinoside, malvidin-3-glucoside and malvidin-3-rutinoside.

The petunidina 3 glucoside was identified as the principal pigment, in a concentration of 24,43 %.

This is the first time that the profile of *B. boliviana* L. anthocyanins was established, and this is important because this is a wild specie from our country.

Key words: Characterization, anthocyanins, *Berberis boliviana* L, HPLC- mass spectrometry

INTRODUCCIÓN

Las antocianinas pertenecen a un gran y muy distribuido grupo de metabolitos secundarios, que se conocen colectivamente como flavonoides. Las antocianinas naturales más comunes son las 3-O-glicósidos y las 3,5 di-O-glicósidos².

Las antocianinas son los componentes que otorgan a las plantas colores rojos, azules, morados, particularmente en partes como frutos, flores y hojas³.

Estos pigmentos fueron consumidos por los hombres a lo largo de incontables generaciones sin causar aparentemente ningún efecto tóxico.

El interés por las antocianinas se ha incrementado debido a su potencial uso como colorantes naturales y por sus potenciales beneficios en la salud⁴.

Últimamente, la seguridad de los pigmentos sintéticos ha sido cuestionada, conduciendo a la reducción en el número de colorantes permitidos⁵.

Las antocianinas son pigmentos solubles en agua, lo que facilita su incorporación en los sistemas acuosos alimentarios⁶. Estas cualidades hacen que estos colorantes naturales sean atractivos como pigmentos naturales inocuos con considerable potencial en la industria alimentaria de productos con un rango de pH ácido.

Además de su color, se ha reportado que las antocianinas tienen beneficios para la salud como potentes antioxidantes y pueden incrementar la agudeza visual. Se ha observado también que poseen actividad antineoplásica, vasotónica, vasoprotectora, anti - inflamatoria y hepatoprotectora⁷.

En el Perú existen muchas especies silvestres, una de ellas es *Berberis boliviana* Lechler⁸, que crece especialmente alrededor de los campos de cultivo a manera de protección, debido a sus espinas grandes y filudas, sus flores son amarillas y sus frutos morados.

Existe información sobre esta especie en Perú desde tiempos de la conquista; especialmente, el cronista Bernabé Cobo describió a esta planta con el nombre común de quisca-quisca, que significa planta espinosa, con unas pequeñas flores amarillas y espinas filudas⁸, cuyos frutos dan un suave color morado cuando son usados como colorante. Asimismo, algunas tradiciones orales, sugieren que estos frutos eran usados por las ñustas durante el Incanato para lavar y cuidar sus cabellos a manera de un champú colorante natural.

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal

Para la investigación se recolectaron 623 g de los frutos de *Berberis boliviana* Lechler, entre los meses de febrero y abril del 2004, meses en los cuales los frutos se encuentran completamente maduros y presentan la máxima coloración morada; fueron colectados en la localidad de Pata Pata, San Jerónimo, Cusco.

La planta fue identificada por comparación con especímenes del herbario Vargas CUZ de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC) por el M.Sc. Alfredo Tupayachi Herrera, habiéndose realizado el depósito de un espécimen⁹.

Antocianinas estándar y reactivos químicos

Los extractos concentrados de antocianinas comercialmente disponibles de *Vaccinium myrtillus* L. y *Aronia melanocarpa* E., fueron proporcionados por Artemis International, Inc (Fort Wayne, IN); el extracto de uva (*Vitis vinifera*) fue proporcionado por Polyphenolics, Inc (Madera, CA), y el extracto de Rabanito rojo (*Raphanus sativus*) fue proporcionado por la Dra. Mónica Giusti.

El acetonitrilo, el metanol, la acetona, el ácido fórmico usados fueron de grado HPLC y se obtuvieron de Fisher Scientific (Fair Lawn, N.J).

Métodos

Extracción del pigmento con acetona y cloroformo para la cuantificación e identificación de antocianinas por HPLC y Espectro de masas¹⁰

Los frutos secos congelados de *B. boliviana* Lechler (2,996 g) fueron separados de sus semillas; siendo licuados con una solución agua /acetona (30:70 v/v) y luego se filtró usando un embudo buchner. La torta residual del filtrado fue nuevamente re-extraída con la solución agua /acetona (30: 70 v/v) hasta obtener una solución clara. Los filtrados fueron combinados, llevados a una pera de decantación, agregándose cloroformo. La porción acuosa (parte superior) fue colectada y colocada en un rotavapor Büchi a 40°C durante 5 a 10 minutos, hasta que la acetona residual se evapora. El extracto acuoso fue llevado hasta un volumen conocido (100mL) usando agua destilada.

Cuantificación del total de antocianinas mediante el método del pH diferencial¹⁰

Las antocianinas desarrollan transformaciones estructurales reversibles con el cambio del pH manifestado por el espectro a diferentes absorbancias. La forma del oxonio coloreado predomina a pH 1,0 y la forma hemiacetal incolora a pH 4,5.

El método del pH diferencial se basa en esta reacción y permite segura y rápidamente medir el total de antocianinas monoméricas¹¹.

Se utilizó un espectrofotómetro UV- visible Hewllet Packard 8453; las mediciones fueron realizadas a 520 (máxima longitud de onda determinada) y a 700 nm.

El contenido de antocianinas monoméricas fue calculado como cianidina-3-glucósido, usando como coeficiente de extinción molar 26 900 L cm⁻¹mg⁻¹ y como peso molecular 449.6 g L⁻¹¹⁰. Se calculó un factor de dilución de 180. Los cálculos se realizaron usando las siguientes fórmulas:

Fórmula 1. Cálculo de la absorbancia de la muestra

$$A = (A_{\lambda_{\text{vis-max}}} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{\lambda_{\text{vis-max}}} - A_{700})_{\text{pH } 4,5}$$

Fórmula 2. Cálculo del contenido de antocianinas

$$\text{Contenido de antocianinas (p/p)} = \left(*A \times MW \times DF \times VWt \right) / (\epsilon \times l)$$

*A = Absorbancia de la muestra

MW = Peso molecular de la cianidina-3-glucósido (449,6 g/L)

DF = Factor de dilución (180)

V = Volumen final en mL

Wt = Peso de la muestra en mg

ϵ = Absortividad molar de la cianidina-3-glucósido (26 900 L cm⁻¹mg⁻¹)

l = Grosor de la cubeta (1cm)

Hidrólisis ácida de las antocianinas. Método para la determinación de los aglicones (antocianidinas)¹⁰.

El objetivo de este método es obtener los aglicones, por separación de los azúcares y otras sustancias como ácidos ligados a la estructura antocianina, con el único propósito de identificar las antocianidinas presentes en el pigmento.

En un tubo de ensayo, se disolvió el extracto acuoso acidificado (1mL) con 10 mL de HCl 4N; se puso en contacto el contenido con gas nitrógeno y se tapó herméticamente. El pigmento fue hidrolizado durante 45 minutos a 100°C, luego se enfrió en un baño de hielo. El hidrolizado fue purificado usando un cartucho C-18.

Determinación de las antocianinas por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC-PDA)¹²

El HPLC es el método más común para realizar el análisis de antocianinas. La muestra fue semipurificada usando un cartucho C-18 y la fracción fenólica (conteniendo antocianinas) fue eluida con metanol acidificado con HCl 1%; se evaporó el metanol en un rotavapor Büchi, se utilizó agua acidificada con HCl 0,01% para lograr un volumen conocido y se filtró usando un filtro de polipropileno Whatman de 0,45 m antes de la inyección en el equipo HPLC. La separación de las antocianinas se llevó a cabo en una columna C-18 Waters Symmetry (4,6mm x 150mm, 3,5m) usando un sistema HPLC que constaba de un módulo de separación Waters 2695, equipado con un detector con arreglo de fotodiodos (PDA) Waters 2996, un software Empower y un automuestreador Waters 717 plus.

El rango de flujo fue de 0,8 mL/min; la fase móvil: A, ácido fórmico al 10% en agua grado HPLC; B, acetonitrilo; la gradiente utilizada fue: 0-1 min 95% A y 5% de B; 2 min 90% A y 10% B; 20 min 80% A y 20% B y a los 25 min 95% A y 5% B.

Se realizó una detección simultánea a las longitudes de onda: 520 nm para antocianinas, 280 nm para compuestos fenólicos y a 320 nm para ácidos cinámicos.

La identificación de los picos de las antocianinas fue realizado en base a la comparación de los cromatogramas y tiempos de retención de los extractos concentrados de antocianinas de las especies *Vaccinium myrtillus* (arándanos) y *Aronia melanocarpa* (Chokeberry), corridos bajo las mismas condiciones especificadas anteriormente.

Determinación de antocianinas por HPLC - MS/MS (Espectro de masas tandem)^{12,13}

La espectrometría de masas se basa en la medida directa de la relación de la masa con el número de cargas elementales positivas o negativas de los iones (mz) en la fase gaseosa

obtenida de la sustancia a analizar. Esta relación se expresa en unidades de masa atómica (u), (1u= la doceava parte de la masa de un átomo de carbono 12) o en daltons (1 Da= a la masa del átomo de hidrógeno).

En este estudio se han utilizado, el análisis del ion precursor, análisis del producto iónico, análisis de pérdida neutral común y la monitorización selectiva de reacción, que son parte de la espectrometría de masas tandem (MS-MS), la cual tiene la ventaja de lograr dos separaciones de los componentes de la muestra, siendo ambas separaciones iónicas; debido a esta especificidad, esta técnica es usada para lograr análisis cuantitativos de analitos en mezclas simples en cuestión de minutos sin necesidad de una separación cromatográfica u otro tratamiento químico que elimine interferentes.

La caracterización de cada una de las antocianinas se realizó utilizando la monitorización selectiva de reacción (SRM), y el análisis del ion precursor, el cual detecta todos los iones precursores en una muestra que se fragmenta como un producto iónico común en tanto que el análisis de pérdida neutral común detecta aquellos iones precursores que se fragmentan para producir iones con una diferencia común en *mz* producida por la pérdida de un fragmento característico de un producto o de una familia de compuestos¹⁴.

La separación de las antocianinas fue llevada a cabo en una columna C-18 Waters Symmetry (4,6 x 75 mm, 3,5µm); se usó un túnel de triple cuadrupolo (Quattro Ultima, Micromass, UK Limited, Manchester, UK). El rango de flujo del HPLC se estableció en 1 mL/min, la fase móvil: A, ácido fórmico al 10%; B, acetonitrilo; la gradiente usada; 0-20 min, 100%-85% A; 20-25 min, 85%-100% A. El espectro de absorción de las antocianinas fue realizado en el rango 200 – 600 nm. Los espectros de masas fueron obtenidos usando la Monitorización Selectiva de Iones (SIM). Aproximadamente 100 L del eluato del HPLC fueron separados por una microválvula y se depositaron en la fuente ESI. El cuadrupolo fue operado según las siguientes condiciones: Voltaje capilar 3,2 kV, voltaje de cono 35 V, RF lense 1,50 V, temperatura del gas de desolvación 500°C con un flujo de 269 L/h, temperatura de la fuente 105°C, presión de colisión de gas (argón) 7 psi; la energía de colisión fue establecida en 25 eV.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

-Cuantificación del total de antocianinas mediante el método del pH diferencial

Las antocianinas se encuentran en una concentración en peso de 7g / 100g de fruto seco separado de las semillas de *Berberis boliviana* Lechler, sabiendo que los frutos frescos presentan un contenido de humedad de 56,30%, pudimos realizar una aproximación al contenido de antocianinas en tejido epidérmico fresco, siendo de 1 500 mg/100g de frutos.

El contenido en antocianinas en estos frutos es bastante alto comparado con algunas otras fuentes ricas en antocianinas como **arándanos** (*Vaccinium myrtillus*) que son una fuente muy conocida y con un alto contenido en antocianinas (300 – 320 mg/100g de fruto fresco), **saúco** (*Sambucus nigra*) que tiene 450 mg / 100g de fruto fresco⁽¹⁰⁾, se puede concluir que los frutos de *Berberis boliviana* Lechler constituyen una fuente bastante rica de antocianinas.

De la hidrólisis ácida del pigmento de *Berberis boliviana* Lechler . Método para la determinación de aglicones (antocianidinas).

Al someter el hidrolizado a un análisis HPLC, se verificó la presencia de **5 aglicones**; simultáneamente, se realizó la hidrólisis y posterior análisis HPLC de dos extractos concentrados de antocianinas, *Vitis vinifera* (Uva) y *Raphanus sativus* L. (rabanito rojo) para tener patrones de comparación que nos ayuden a identificar los picos del cromatograma. Todas las muestras fueron analizadas bajo las mismas condiciones.

Al comparar los cromatogramas (figura 1), el perfil de elución de las antocianidinas presentes

en los frutos de *Berberis boliviana* Lechler, coincide exactamente con el de los frutos de *Vitis vinifera*, que es una fuente muy conocida y bien estudiada de 5 aglicones, a saber, cianidina, delfinidina, malvidina, peonidina y petunidina, en tanto que la antocianidina presente en *Raphanus sativus*, la pelargonidina, no se encuentra presente ni en *Berberis boliviana* L ni en *Vitis vinifera*; los 5 aglicones identificados son: **delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina.**

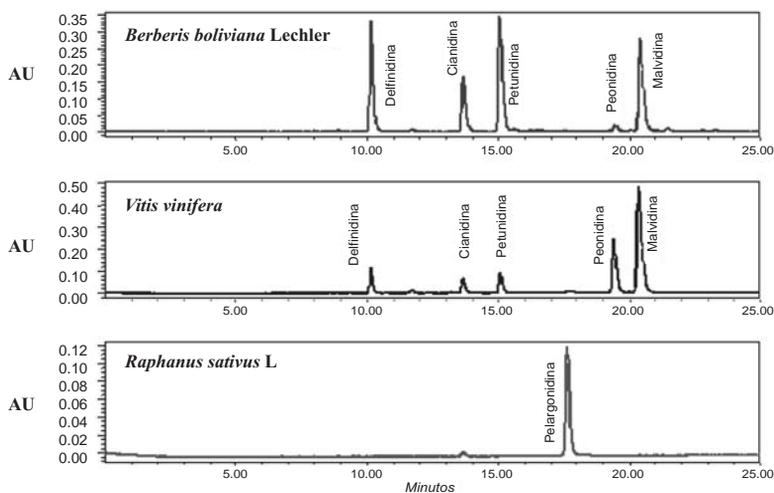


Figura 1. Cromatogramas de comparación obtenidos a 520nm de las especies *Berberis boliviana* Lechler; *Vitis vinifera* y *Raphanus sativus* L. Perfiles obtenidos luego de haber realizado la hidrólisis ácida correspondiente. En la especie *Vitis vinifera*, se encuentran 5 antocianinas y en *Paphanus sativus* L. existe una sola antocianidina.

Solo las antocianinas de *Vitis vinifera* están presentes en *Berberis boliviana* Lechler.

- De la determinación de antocianinas por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC-PDA)

Se obtuvieron cromatogramas a diferentes longitudes de onda, 280nm, 320nm y 520nm con la finalidad de determinar compuestos fenólicos, ácidos hidroxicinámicos y antocianinas, respectivamente, como se muestra en la figura 2.

La separación por HPLC del extracto purificado de antocianinas de *Berberis boliviana* Lechler mostró la presencia de 10 antocianinas (figura 3).

Al comparar los cromatogramas (B) y (C) de la figura 2, correspondientes a 520 nm y 280 nm, respectivamente, se verifica que las antocianinas serían los únicos compuestos fenólicos presentes en los frutos de *Berberis boliviana* Lechler, debido a que no existen diferencias significativas entre ambos cromatogramas; este hecho es sumamente importante debido a que se trataría de una fuente natural de composición exclusivamente antociánica; asimismo, la cantidad de ácidos hidroxicinámicos es muy pequeña, pues como se muestra en el cromatograma (A) presentan absorbancias muy reducidas, menores de 0,1AU (Unidades de Absorbancia), demostrándose su baja concentración.

Para determinar la identidad de los picos presentes en el cromatograma obtenido, fue necesario utilizar extractos concentrados de antocianinas de *Vaccinium myrtillus* y *Aronia melanocarpa*, los cuales fueron corridos bajo las mismas condiciones, ambas especies tienen

3 azúcares diferentes unidos a sus antocianinas, galactosa, glucosa y arabinosa, la comparación de los cromatogramas determinó que, uno de los azúcares presentes en el pigmento de los frutos de *Berberis boliviana* Lechler, es la glucosa (figura 4), asimismo, se pudieron identificar sólo 5 antocianinas como se muestra en los cromatogramas de la figura 5, estas son: delphinidina-3-glucósido, cianidina-3-glucósido, petunidina-3-glucósido, peonidina-3-glucósido y malvidina-3-glucósido.

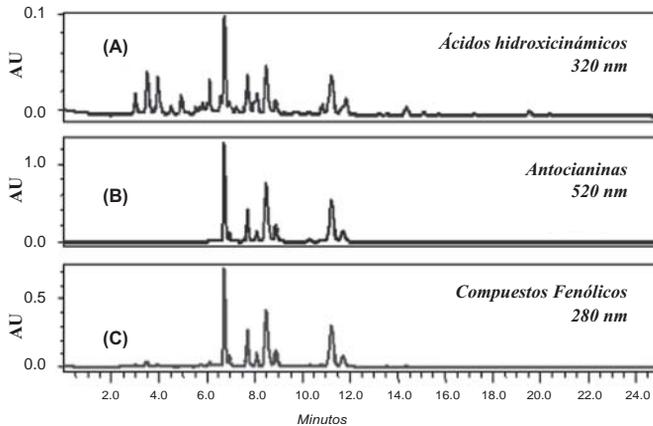


Figura 2. Los cromatogramas obtenidos a diferentes longitudes de onda, nos muestra que las antocianinas presentes en los frutos de *Berberis boliviana* Lechler, están casi puras, debido a que a 280nm (C), que es longitud de onda a la cual se pueden identificar otros componentes fenólicos sólo aparecen las antocianinas, por lo que se puede considerar a estos frutos como una fuente casi pura de antocianinas.

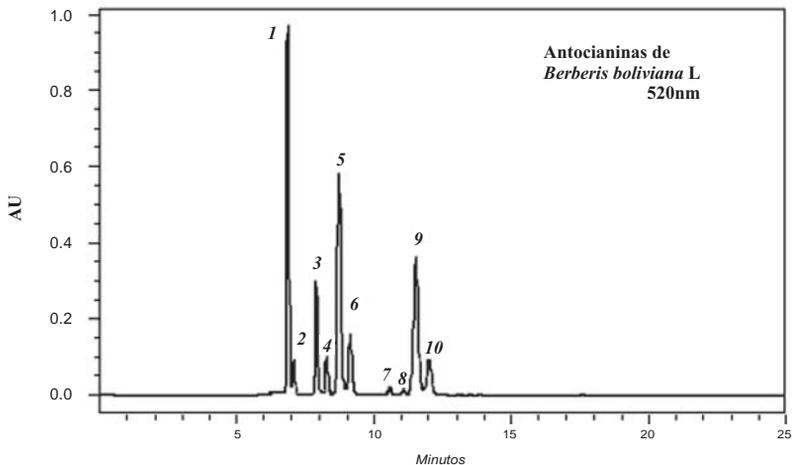


Figura 3. Cromatograma desarrollado en el equipo de HPLC, en el cual se observan 10 picos importantes, que representan a las 10 antocianinas presentes en *Berberis boliviana* Lechler

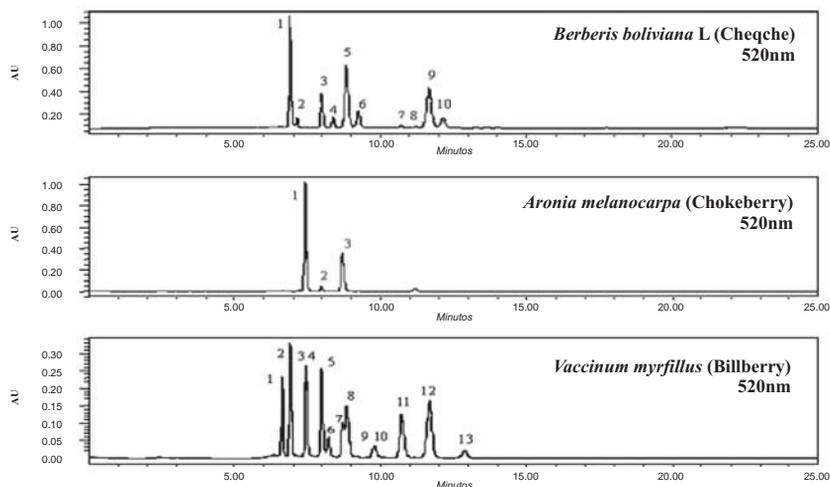


Figura 4. Cromatogramas de comparación de las especies *Berberis boliviana* Lechler, *Aronia melanocarpa* y *Vaccinium myrtilus* a 520nm.

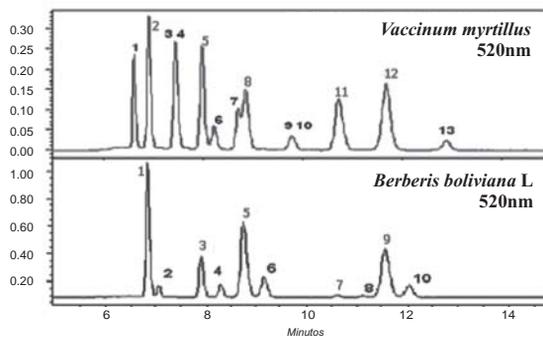


Figura 5. Cromatogramas de comparación obtenidos a 520nm de las especies *Vaccinium myrtilus* (13 antocianinas, detalladas en la Tabla N° 4.9) y *Berberis boliviana* Lechler (10 antocianinas). Perfiles obtenidos luego de haber realizado la correspondiente corrida cromatográfica bajo las mismas condiciones de columna para ambas especies. La comparación sirvió para identificar el azúcar (glucosa) y la correspondiente antocianina en *Berberis boliviana* Lechler, como se muestra, los picos 1, 3, 5, 7 y 9, coinciden con los picos 2, 5, 8, 11, y 12 respectivamente.

De la determinación de antocianinas por HPLC-MS/MS (Espectro de masas tandem)

El **pico 1**, tiene un ion molecular (M^+) a m/z 465 y un ion de fragmentación a m/z 303 el cual corresponde a la delphinidina, habiendo pérdida de una masa molecular de 162, que corresponde a una unidad glucosilo, por lo que se concluye que el pico 1 corresponde a la **delphinidina-3-glucósido**. El **pico 2**, tiene un ion molecular (M^+) a m/z 611 y evidencia de la presencia de una delphinidina a m/z 303, habiendo pérdida de una masa molecular de 308, lo que corresponde a la ruptura de un ramnosilo y de un glucosilo, que corresponde a la masa molecular de una rutinosa, siendo esta la **delphinidina-3-rutinósido**. El **pico 3**, mostró un ion molecular (M^+) a m/z 449 y la presencia de una cianidina por el fragmento iónico a m/z 287,

habiendo pérdida de una masa molecular de 162, lo que corresponde a una unidad glucosilo, identificándose la **cianidina-3-glucósido**. **El pico 4**, con un ion molecular (M^+) a m/z 595 y un ion de fragmentación a m/z 287, lo que corresponde a una cianidina, se observa la pérdida de una masa molecular de 308, que corresponde a la ruptura de una unidad de ramnosilo y glucosilo, siendo la antocianina presente la **cianidina-3-rutinósido**. **El pico 5**, con un ion molecular (M^+) de m/z 479 y un ion de fragmentación de 317 que corresponde a una petunidina, observándose pérdida de una masa molecular de 162, identificándose la **petunidina-3-glucósido**. **El pico 6**, tiene un ion molecular (M^+) m/z 625 y un ion de fragmentación a m/z 317, que corresponde a la petunidina, observándose pérdida de una masa molecular de 308, correspondiendo a una rutinosa, siendo la antocianina identificada la **petunidina-3-rutinósido**. **El pico 7**, con un ion molecular (M^+) m/z 463 y un ion de fragmentación m/z 301 que corresponde a la peonidina, mostrando la pérdida de una masa molecular de 162, siendo la antocianina identificada la **peonidina-3-glucósido**. **El pico 8**, con un ion molecular (M^+) m/z 609 y un ion de fragmentación a m/z 301, que corresponde a la peonidina, habiendo una pérdida de masa molecular de 308, que corresponde a una unidad de rutinosa, siendo la antocianina presente la **peonidina-3-rutinósido**. **El pico 9**, con un ion molecular (M^+) m/z 493 y un ion de fragmentación a m/z 331, que corresponde a la malvidina, observándose además la pérdida de una masa molecular de 162, determinándose la **malvidina-3-glucósido**. **El pico 10**, con un ion molecular (M^+) m/z 639 y un ion de fragmentación m/z de 331 que corresponde a la malvidina, observándose la pérdida de una masa molecular de 308, que corresponde a una rutinosa, determinándose la **malvidina-3-rutinósido**. (figura 6).

En algunos casos en los que los pesos moleculares son idénticos y no se puede distinguir entre uno y otro, es necesario acudir a un método que nos pueda aclarar la identidad de las sustancias; por ejemplo, tanto glucosa como galactosa, son azúcares presentes en una gran cantidad de antocianinas, tienen el mismo peso molecular, por lo que a través de un espectro de masas es imposible diferenciarlos, en nuestro caso la diferenciación fue posible gracias al análisis HPLC utilizando extractos concentrados de antocianinas de variedades conocidas y cuyos perfiles antocianínicos están bien establecidos, constituyendo éste un método rápido, sencillo y barato de identificación.

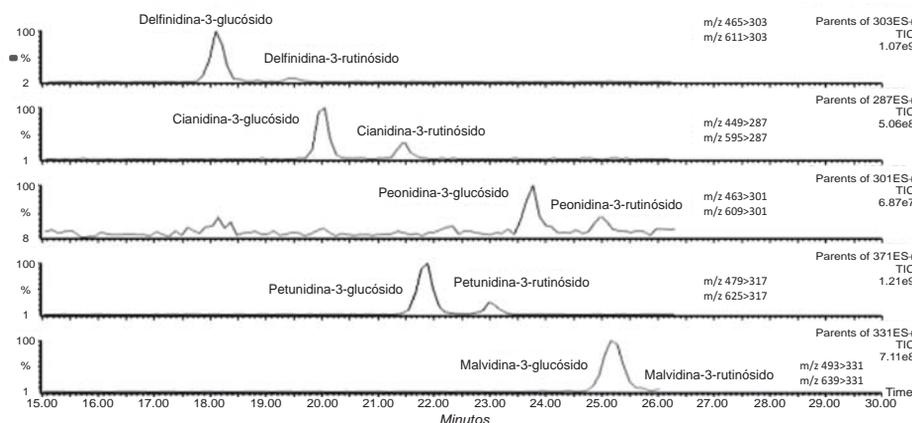


Figura 6. LC-ESI/MS/MS (Liquid chromatography - electrospray ionization - mass spectrometry) de las antocianinas presentes en el extracto de los frutos de *Berberis boliviana* Lechler, usando la monitorización selectiva de la reacción (SMR).

CONCLUSIONES

- El pigmento de los frutos de *Berberis boliviana* Lechler presenta un contenido en antocianinas monoméricas de 7g/100g de frutos secos separados de las semillas, estando casi puras pues las cantidades de otros componentes fenólicos son mínimas.
- Las antocianinas identificadas por HPLC-MS/MS (espectro de masas tandem) y por comparación con el cromatograma del extracto concentrado de antocianinas de *Vaccinium myrtillus*, son: delfinidina-3-glucósido en un 23,43%, delfinidina-3-rutinósido en un 2,65%, cianidina-3-glucósido en un 10,16%, cianidina-3-rutinósido en un 3,75%, petunidina-3-glucósido en un 24,21%, petunidina-3-rutinósido en un 7,15%, peonidina-3-glucósido en un 1,12%, peonidina-3-rutinósido en un 0,94%, malvidina-3-glucósido en un 21,64% y malvidina-3-rutinósido en un 4,95%.

AGRADECIMIENTO

Mi reconocimiento y agradecimiento al Dr. Steven Schwartz, por haber autorizado el desarrollo de este trabajo de investigación en los laboratorios de la Facultad de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Ohio State Univeristy, Ohio, USA.

Mi profundo agradecimiento a la Dra. Mónica Giusti, compatriota, que realiza docencia en dicha casa de estudios y quien asumió la responsabilidad de guiarme mientras realizaba la pasantía, y al Mgt. Carlos Serrano Flores, por la asesoría y orientación brindada.

BIBLIOGRAFÍA

1. Brako, L; Zarucchi, J.L; Catalogue of the flowering plants and gymnosperms of Perú, Vol. 45, Missouri Botanical Garden, 1993.
2. Cao, Guohua; Muccitelli, Helen,U; Sanchez Moreno, Concepción; Prior, Ronald,L, Anthocyanins are absorbed in glycated forms in elderly women : A pharmacokinetic study. *The American Journal of clinical nutrition*, 73(5): 920-962. 2001.
3. Rein, Maarit, 2002, Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins (Academic Dissertation) EKT series 1331. University of Helsinki, Department of Applied Chemistry and Microbiology, 2005.
4. Giusti, M.M; Rodriguez-Saona, L y Wrolstad, R.E; Molar absorptivity and color characteristics of acylated and non acylated Pelargonidin-based anthocyanins; *J.Agric.Food Chem.*,47,4631-4637, 1999a
5. Feakes, D.M ; Giusti, M.M; Feasibility of the use of acylated anthocyanins to color low-acid dairy products, 2003 IFT Annual Meeting – Chicago, 2003.
6. Mozetic, Branka ; Trebse, Polonca ; Hribar, Janez., Determination and Quantitation of anthocyanins and hydroxycinnamic acids in different cultivars of sweet cherries (*Prunus avium* L) from Nova Gorica region (Slovenia), *J. Food Technol. Biothechnol*, 40(3)207-212, 2002.
7. Jin – Ming Kong, Lian – Sai Chia; Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry* 64, 923-933, Pergamon, 2003.
8. Yacovleff And Herrera F.L., El mundo vegetal de los antiguos peruanos, Revista del Museo Nacional, Tomo IV N° 1, 1er semestre, pág.501, 1935.
9. Del Carpio Jiménez, Carla, Estudio del colorante de los frutos de *Berberis boliviana* Lechler “Cheq’che”, Tesis para optar al grado académico de Magíster en Ciencias, mención Química, especialidad Productos Naturales en la Escuela de Post Grado de la UNSAAC, 2006.

10. Wrolstad, Ronald E; Acree, Terry E., Current Protocols in food analytical chemistry, volumen 1; John Wiley and Sons Inc, F1.1.1-F1.3.9., 2001.
11. Giusti, M.M y Wrolstad, R.E.; Characterization of red radish anthocyanins. *J.Food Sci.* 61(2):322-326, 1996.
12. Hong, V. And Wrolstad, R.E; Use of HPLC separationphotodiode array detection for characterization of anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.* 38: 708-715, 1990.
13. Giusti, M.M; Rodríguez Saona, Luis E; Griffin, Donald, Wrolstad, Ronald E; Electrospray and tandem mass spectroscopy as tools for anthocyanins characterization, *J. Agric. Food Chem.* 47, 4657-4664, 1999b.
14. Real Farmacopea Española, Suplemento 2.2, segunda edición; 40-42.

ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES TERMOMECAÑICAS DE PELÍCULAS BIODEGRADABLES A BASE DE MEZCLAS DE GELATINA Y PVA

Mendieta-Taboada, Oscar*¹; Sobral, Paulo José do A.²; Carvalho, Rosemary A.²; Habitante, Ana Mónica Q.B.²

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue estudiar las propiedades térmicas y viscoelásticas de films elaborados a base de mezclas de gelatina y PVA, utilizando análisis dinámico-mecánico. Los resultados de DMA mostraron que los films con 10% de PVA presentaban solamente un pico en el espectro de $\tan\delta$. Con el aumento de la concentración de PVA los espectros mostraron dos relajaciones en la curva de $\tan\delta$, esto es, dos Tg. Por otro lado, en las pruebas de barrido de frecuencia en DMA, los valores del módulo de almacenamiento disminuyeron con el incremento de temperatura en los espectros obtenidos. El modelo de WLF fue aplicado, determinándose los valores de sus constantes, que aumentaron con el incremento de PVA en la mezcla: $C_1=49-66$ e $C_2=463-480$ K. Partiendo de estos valores fueron calculados el volumen libre fraccionario del sistema en la Tg y el coeficiente de expansión térmica.

Palabras clave: envases, proteína, análisis dinámico-mecánico, transición vítrea, propiedades viscoelásticas.

THERMOMECHANICAL PROPERTIES OF BIODEGRADABLE FILMS BASED GELATIN PVA BLENDS

ABSTRACT

The objective of this work was to study the thermal and visco-elastic properties of films based in blends of gelatin and PVA, using dynamic-mechanical analysis. The results of the DMA had shown that the films with 10% of PVA presented only one peak in $\tan\delta$. With the increase of the PVA concentration, however, appear two relaxations in the curve of $\tan\delta$, that is, two Tg. On the other hand, in the tests of scanning frequency in DMA, the values of the storage module had diminished with the increment of the temperature. The WLF model was applied, determining the values of its constants, that had increased with the increase of the concentration of PVA in the blend: $C_1=49-66$ and $C_2=463-480$ K.

Key words: films, protein, DMA, glass transition, viscoelastic properties.

INTRODUCCIÓN

Debido a los problemas de polución generados por el uso intensivo de materiales sintéticos en la fabricación de embalajes para diversas industrias, durante la última década se ha incrementado grandemente el interés en el desarrollo de embalajes a base de biopolímeros, como proteínas^{1,2} y polisacáridos³. Además de ser producidos con materias primas derivadas de recursos renovables, estos biomateriales son biodegradables⁴. De manera general, las películas elaboradas a base de biopolímeros presentan sensibilidad a las condiciones

¹ Universidad Nacional de San Martín, Facultad de Ingeniería Agroindustrial, Tarapoto-Perú, oscarment@hotmail.com

² Universidade de São Paulo, Facultad de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Pirassununga (sp), Brasil

ambientales, especialmente a la humedad relativa, y baja resistencia mecánica aún cuando los filmes de proteínas tengan alta elasticidad^{1,2}.

Una posible alternativa para mejorar las características mecánicas de films a base de proteínas puede ser la mezcla de estos biopolímeros con polímeros sintéticos⁴, como el alcohol polivinílico (PVA), que es hidrofílico y biodegradable⁵. Algunos trabajos sobre desarrollo y caracterización de films a base de mezclas de PVA y proteínas, como PVA/gluten de trigo⁶, PVA/colágeno hidrolizado^{7,8}, y PVA/gelatina^{9,10,11}, han sido realizados.

Muchos equipos y métodos físico-químicos han sido empleados en estos estudios, entre los cuales se puede remarcar la calorimetría diferencial de barrido (DSC) y el análisis dinámico mecánico (DMA), que ha sido ampliamente utilizado como una técnica de caracterización de polímeros a través de la detección de los procesos de relajación, tanto macroscópico cuanto molecular. Se considera que el DMA puede presentar sensibilidad muy superior (de unos tres órdenes) cuando es comparado con las técnicas convencionales de análisis térmica, como DSC¹².

Así, el objetivo de este trabajo fue estudiar las propiedades térmicas y visco-elásticas de películas (films) producidos con mezclas de gelatina y PVA, utilizando análisis dinámico-mecánico.

PARTE EXPERIMENTAL

Los films utilizados en este trabajo fueron producidos con mezclas de gelatina tipo A de piel de porcino, proporcionada por la industria Gelita do Brasil Ltda (São Paulo, Brasil), y un tipo de poli(vinil alcohol) (PVA®418 de Celanese Ltd USA), con grado de hidrólisis de 91,8%, viscosidad de 17,6 cP y peso molecular comprendido entre 31000 y 50000 Da¹³, escogido en estudios previos.

La técnica "casting"¹⁴ fue utilizada para la producción de los films, a partir de la mezcla de soluciones de gelatina (solución A) y PVA (solución B). Para la obtención de las formulaciones en estudio, las soluciones A y B fueron mezcladas y homogenizadas de manera conveniente, bajo agitación magnética por 15 minutos a temperatura ambiente, obteniéndose concentraciones de 10/90% y 30/70%, PVA/gelatina. La solución filmogénica resultante fue dispersada en placas de acrílico (12 x 12 cm) y sometida a secado en estufa con circulación de aire (Marconi, MA037), a 30°C por 24 – 28 horas. Los espesores de los films fueron mantenidos constantes controlando la relación masa seca/área de soporte. Luego del secado, los films fueron acondicionados en desecadores con sílica gel, para la eliminación de la humedad residual.

El estudio de las propiedades viscoelásticas de los films fue realizado utilizando un analizador dinámico mecánico (DMA TA2980, TA Instruments), con dos tipos de tests, trabajando siempre en el modo de tensión uniaxial: barrido de frecuencia y barrido de temperatura. Para estos tests fueron utilizadas muestras rectangulares con dimensiones aproximadas de 19mm x 5mm, fijadas en un soporte apropiado. En los tests de barrido de temperatura, para la determinación de las propiedades térmicas, la muestra era calentada a 3°C/min, entre -100 y 150°C, y sometida a tracción oscilatoria, manteniendo la frecuencia constante en 1Hz, y la amplitud de deformación en 0,2%. En los tests de barrido de frecuencia, para determinación de las propiedades visco-elásticas, fueron determinadas isotermas en el rango de temperatura de -50 a 150°C, variando la frecuencia entre 0,01 e 200 Hz, obteniéndose espectros para el módulo de almacenamiento (E'), módulo de pérdida (E'') y tanδ.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los films obtenidos en este trabajo presentaron espesor en torno de 0,080 mm, y fueron transparentes y de fácil manejo.

Generalmente, en estudios con DMA, la temperatura de transición vítrea (T_g) es asociada con la posición del pico de $\tan\delta$ o del “onset” de la caída del módulo de almacenamiento (E') observados en los respectivos espectros de DMA¹⁵. En el caso de los films con 10% de PVA, se observó (figura 1) apenas un pico en el espectro de $\tan\delta$, próximo de 38°C, ligeramente inferior al valor observado en los análisis complementarios por DSC que fue de 43,2°C. Por lo tanto, ese pico debe corresponder a la transición vítrea (T_g) del filme. Estos resultados permiten sugerir que la mezcla conteniendo 10% de PVA y 90% de gelatina constituyó un sistema homogéneo, esto es, que no hubo separación de fases, aún cuando algunos autores indican que la presencia de solamente un pico en el espectro de $\tan\delta$ no indica necesariamente que los componentes poliméricos sean miscibles¹⁶.

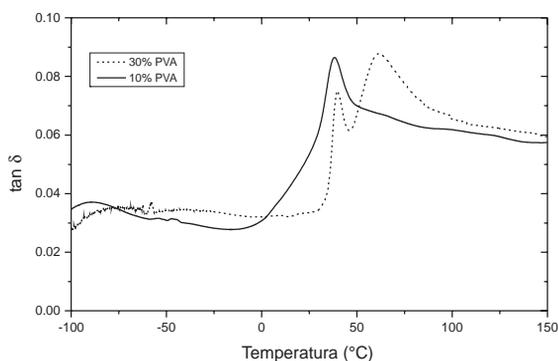


Figura 1. Curvas de $\tan\delta$ de films de PVA y gelatina

De otro lado, con el aumento de la concentración de PVA, los espectros dinámico mecánicos mostraron dos relajaciones en la curva de $\tan\delta$ (figura 1). Este comportamiento, típico de sistemas binarios inmiscibles, refleja la contribución de cada componente individual de la mezcla en los fenómenos de relajación. Estos comportamientos son similares a los reportados por Sarti y Scandola⁷ y Chiellini *et al.*¹⁰, aun cuando estos últimos autores hayan trabajado con mayor proporción de PVA en relación a gelatina, en las mezclas. El primer pico en $\tan\delta$ se presentó en temperatura similar a la de los films con 10% de PVA (~38°C), mientras que el segundo pico estuvo en torno de 62°C, temperatura muy superior a la del primer pico, lo que permitiría sugerir que la T_g menor correspondería a la fracción rica en gelatina, ya que ese mismo pico fue observado en $\tan\delta$ de los filmes con menor concentración de PVA, y que la T_g de mayor valor correspondería a la fracción rica en PVA.

Propiedades viscoelásticas

Ejemplos de espectros obtenidos en los tests de barrido de frecuencia entre 0,01 Hz y 200 Hz y temperaturas comprendidas entre -50°C e 150°C, para films de PVA y gelatina, con concentraciones de 10 y 30% de PVA en la mezcla, son presentados en la figura 2. Puede observarse, en todos los casos, que los valores del módulo de almacenamiento disminuyeron con el incremento de la temperatura, ya que la temperatura aumentó la movilidad de las

cadenas del polímero, promoviendo, por lo tanto, menor resistencia a los reacomodos moleculares. Comportamientos similares han sido observados en films de pululano^{16,17}, quitosano, quitosano con almidón y quitosano con pululano¹⁸, y pululano con almidón de

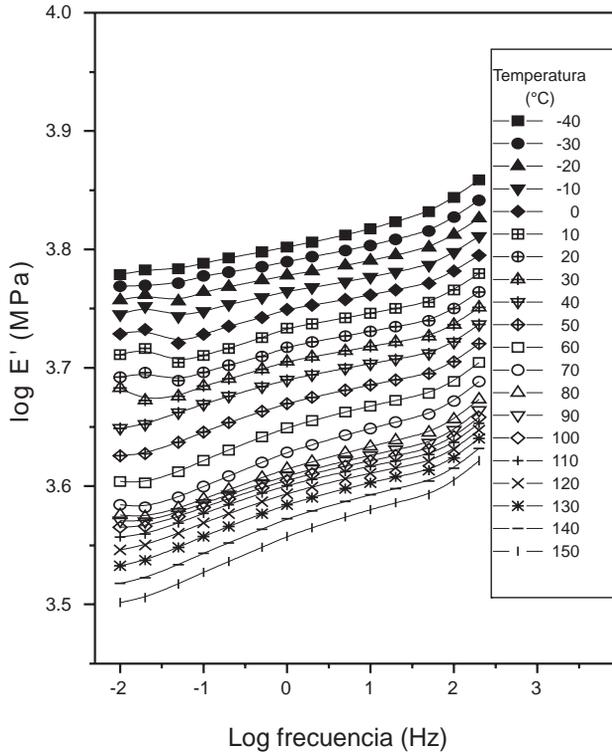


Figura 2. Espectros del módulo de almacenamiento de films biodegradables de PVA y gelatina: 10% de PVA

El modelado del comportamiento de las propiedades visco-elásticas de los films en función del tiempo (o frecuencia), y temperatura, fue hecho utilizando la ecuación de Williams-Landel-Ferry (WLF), lo que permite generar una curva maestra (“master curve”)^{16,18}:

$$\log a_T = \frac{-C_1(T - T_r)}{C_2 + (T - T_r)} \tag{1}$$

donde a_T es el factor de corrección (“shift factor”), C_1 y C_2 son las constantes del modelo y T_r es la temperatura de referencia, convenientemente escogida. Conociendo las constantes C_1 y C_2 , se puede intentar explicar el efecto del PVA sobre las propiedades termomecánicas de los films con el empleo de la teoría del volumen libre de los sistemas. Para esto, las ecuaciones 2 y 3 fueron utilizadas^{16,20}:

$$\frac{1}{C_1} = \frac{2,3 f_g}{B} \tag{2}$$

$$\frac{1}{C_1 C_2} = \frac{2,3 \alpha_f}{B} \tag{3}$$

donde f_g es el volumen libre fraccionario (relación entre el volumen libre y el volumen total de las moléculas) en Tg; α_f es el coeficiente de expansión del volumen libre por encima de Tg, y B es una constante empírica.

En la figura 3 son presentados los valores a_T en función de la temperatura, utilizados para determinar las constantes C_1 y C_2 de la ecuación de Williams-Landel-Ferry (WLF), y en la tabla 1 se encuentran los valores de las constantes de la ecuación WLF junto con los valores de los parámetros de volumen libre f_g y α_f .

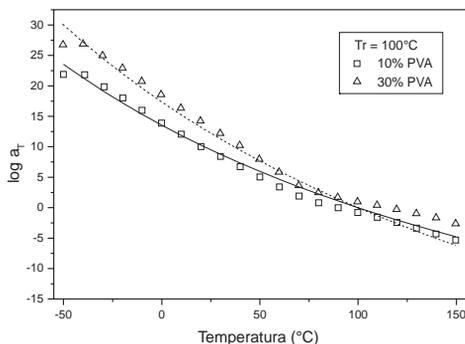


Figura 3. Valores a_T de films biodegradables de PVA y gelatina.

Tabla 1. Valores de C_1 , C_2 , f_g/B , y α_f/B para films biodegradables de PVA y gelatina.

	Relación PVA – Gelatina	
	10% -90%-	30% - 70%
C_1	49,16	60,81
C_2 (K)	463,05	455,81
$f_g/B * 10^3$	8,84	7,15
$\alpha_f/B * 10^5$ (K ⁻¹)	1,91	1,57
R^2	0,991	0,972

Se puede ver en la tabla 1 que los valores de las constantes C_1 y C_2 , estimados del ajuste de los valores a_T a la ecuación WLF ($R^2 > 0,97$), fueron muy diferentes a los valores universales de 17,4 y 51,6, respectivamente²¹, y que el valor de la constante C_1 aumentó con el incremento de la concentración de PVA en las mezclas de PVA-gelatina. Los valores de las constantes de la ecuación WLF obtenidos en el presente trabajo son comparables con los determinados por

Lazaridou y Biliaderis¹⁸ en quitosano ($C_1=143,57$, $C_2=359,42$ K), y Kristo y Biliaderis¹⁶ en mezclas de pululano y caseinato de sodio ($C_1=87,2$, $C_2=626,1$ K).

Los valores obtenidos para el volumen libre fraccionario (f_g/B) y el coeficiente de expansión del volumen libre (α_f/B) son menores que los determinados por Kristo y Biliaderis¹⁶ en pululano ($f_g/B=4,58 \times 10^{-2}$, $\alpha_f/B=3,73 \times 10^{-3}$), y en mezclas de pululano y caseinato de sodio plastificadas con sorbitol ($f_g/B=1,59 \times 10^{-2}$, $\alpha_f/B=1,1 \times 10^{-4}$), y son comparables con los obtenidos en mezclas de pululano y caseinato de sodio, sin plastificante, que fueron de 5×10^{-3} y 1×10^{-5} , respectivamente¹⁶. Los bajos valores obtenidos para el volumen libre fraccionario son un indicativo de que entre las cadenas poliméricas de las mezclas de PVA y gelatina, sin plastificante, existen pocos espacios libres, como se puede deducir de los resultados de Kristo y Biliaderis¹⁶ para las mezclas de pululano y caseinato de sodio con y sin plastificante.

CONCLUSIONES

- Los barridos de temperatura en los análisis de DMA permitieron determinar que en concentraciones mayores al 10% de PVA, puede haber separación de fases en los films elaborados a partir de mezclas de gelatina y PVA.
- Los barridos de frecuencia permitieron determinar los espectros del módulo de almacenamiento, cuyos valores aumentaron con la reducción de la temperatura de análisis. La aplicación del modelo de WLF permitió determinar las constantes C_1 y C_2 . Conocidos los valores de esas constantes, el volumen libre fraccionario del sistema en la Tg y el coeficiente de expansión térmica por encima de la Tg fueron estimados.

REFERENCIAS

1. Torres, J.A. 1994. Edible films and coatings from proteins. In: Hettiarachy, N.S., Ziegler, G.R. (Ed.). Protein functionality in food systems. New York: M. Dekker, p.467-507.
2. Gennadios, A., Mchugh, T.H., Weller, C.L., and Krochta, J.M. 1994. Edible coatings and films based on proteins. In: Krochta, J.M., Baldwin, E.A., Nisperos-Carriedo, M. (Ed.). Edible coatings and films to improve food quality. Lancaster : Technomic, p.210-278.
3. Nisperos-Carriedo, M.O. 1994. Edible coatings and films based on polysaccharides. In: Krochta, J.M., Baldwin, E.A., Nisperos-Carriedo, M. (Ed.). Edible coatings and films to improve food quality. Lancaster : Technomic, p.305-336.
4. Tharanathan, R.N. 2003. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends Food Sci. Technol.*, 14: 71-78.
5. Matsumura, S., Tomizawa, N., Toki, A., Nishikawa, K., and Toshima, K. 1999. Novel poly(vinyl alcohol)-degrading enzyme and the degradation mechanism. *Macromolecules*, 32: 7753-7761.
6. Dicharry, R.N., Ye, P., Saha, G., Waxman, E., Asandei, A.D., and Parnas, R.S. 2006. Wheat Gluten-Thiolated Poly(vinyl alcohol) Blends with Improved Mechanical Properties. *Biomacromolecules*, 7: 2837-2844.
7. Sarti, B., and Scandola, M. 1995. Viscoelastic and thermal properties of collagen/poly(vinyl alcohol) blends. *Biomaterials*, 16: 785-792.
8. Alexy, P., Bakos, D., Hanzelova, S., Kukolikova, L., Kupec, J., Charvatova, K., Chiellini, E., and Cinelli, P. 2003. Poly(vinyl alcohol)-collagen hydrolysate thermoplastic blends: I. Experimental design optimisation and biodegradation behaviour. *Polym. Test.*, 22: 801-809

9. Chiellini, E., Cinelli, P., Fernández, E.G., Kenawy, E.S.; and Lazzeri, A. 2001a. Gelatin-based blends and composites. Morphological and thermal mechanical characterization. *Biomacromolecules*, 2: 806-811.
10. Chiellini, E., Cinelli, P., Corti, A., and Kenawy, E.R. 2001b. Composite films based on waste gelatin: thermal-mechanical properties and biodegradation testing. *Polym. Degrad. Stabil.*, 73: 549-555.
11. Bergo, P.V, Carvalho, R.A., Sobral, P.J.A., Bevilacqua, F.R.S., Pinto, J. K.C., and Souza, J.P. 2006. Microwave Insertion Loss Measurements in Gelatin-Based Films. *Meas. Sci. Technol.*, 17: 3261-3264.
12. Kalichevsky, M.T., Blanshard, J.M.V., and Marsh, R.D.L. 1993. Applications of mechanical spectroscopy to the study of glassy biopolymers and related systems. In: Blanshard, J.M.V., Lillford P.J. The glassy state in foods, Loughborough, Nottingham University Press, p. 133-156.
13. Celanese. 2005. Celvol® polyvinyl alcohol characteristics. Disponível em: http://www.celanese.com/index/productsmarkets_index/
14. Sobral, P.J.A., Menegalli, F.C., Hubinger, M.D., and Roques, M.A. 2001. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. *Food Hydrocolloids*, 15: 423-432.
15. Cuq, B., Gontard, N., and Guilbert, S. 1997. Thermal properties of fish myofibrillar protein-based films as affected by moisture content. *Polymer*, 38: 2399-2405.
16. Kristo, E., and Biliaderis, C.G. 2006. Water sorption and thermo-mechanical properties of water/sorbitol-plasticized composite biopolymer films: Caseinate-pullulan bilayers and blends. *Food Hydrocolloids*, 20: 1057-1071.
17. Lazaridou, A., Biliaderis, C.G., and Kontogiorgos, V. 2003. Molecular weight effects on solution rheology of pullulan and mechanical properties of its films. *Carbohydr. Polym.*, 52: 151-166.
18. Lazaridou, A., and Biliaderis, C.G. 2002. Thermophysical properties of chitosan, chitosan-starch and chitosan-pullulan films near the glass transition. *Carbohydr. Polym.*, 48: 179-90.
19. Biliaderis, C.G., Lazaridou, A., and Arvanitoyannis, I. 1999. Glass transition and physical properties of polyol plasticized pullulan-starch blends at low temperature. *Carbohydr. Polym.*, 40: 29-47.
20. Kasapis, S., and Sablani, S.S. 2005. A fundamental approach for the estimation of the mechanical glass transition temperature in gelatin. *Int. J. Biol. Macromol.*, 36: 71-78.
21. Ferry, J.D., 1980. Viscoelastic properties of polymers. New York: John Wiley & Sons.

Review

BIOTRANSFORMACIÓN DE COMPUESTOS AROMÁTICOS SUSTITUIDOS MEDIANTE HONGOS FILAMENTOSOS FITOPATÓGENOS DE LOS GÉNEROS *Botryodiplodia* y *Colletotrichum*

Rodrigo Velasco B., Diego L. Montenegro M., John F. Vélez S., Carlos M. García P.¹,
Diego L. Durango R.^{1*}

RESUMEN

Los hongos fitopatógenos de los géneros *Colletotrichum* y *Botryodiplodia* han sido reconocidos por poseer la habilidad natural de transformar compuestos presentes en las plantas, tanto en su proceso de colonización como para hacer frente a los mecanismos de defensa del huésped (destoxificación de fitoalexinas). Asimismo, han demostrado su versatilidad para metabolizar algunas sustancias xenobióticas. Actualmente, esta clase de microorganismos poseen aplicación potencial en procesos de biotransformación para la síntesis orgánica de moléculas pequeñas, las cuales nutren la industria química, farmacéutica, y agrícola. Entre las ventajas que presenta el empleo de los sistemas biológicos para la síntesis orgánica, se encuentra el hecho de que son procesos frecuentemente más regio-, quimio- y estereoselectivos que los métodos de síntesis clásica y además, se llevan a cabo bajo condiciones suaves y amigables con el ambiente. Esta revisión describe algunos de los artículos recientes más relevantes relacionados con la biotransformación de sustratos aromáticos sustituidos y también algunas de las aproximaciones que hemos realizado en nuestro grupo de investigación, empleando los hongos fitopatógenos de los géneros *Colletotrichum* y *Botryodiplodia* como biocatalizadores en la química orgánica sintética.

Palabras clave: Rutas metabólicas, precursores sintéticos, hidroxilación, *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. acutatum*, *Botryodiplodia theobromae*.

BIOTRANSFORMATION OF COMPOUNDS AROMATIC SUBSTITUTED BY FILAMENTOUS PHYTOPATOGENIC FUNGUS OF THE GENERA *Botryodiplodia* and *Colletotrichum*

ABSTRACT

Phytopathogenic fungi of genus *Colletotrichum* and *Botryodiplodia* have been recognized for their natural ability to transform natural compounds from plants, as in their processes of colonization as to counteract to the defenses mechanisms from the host (detoxification of phytoalexins). Likewise, they have shown versatility for metabolize some xenobiotics substances. Nowadays, these classes of microorganisms have potential application in biotransformation processes for the organic synthesis of small molecules, which feed the

¹ Grupo de Química de los Productos Naturales y los Alimentos, Facultad de Ciencias, Escuela de Química, Universidad Nacional de Colombia, Calle 59ª 63-020 Autopista Norte, AA 3840, Medellín, Colombia.

* Autor para la Correspondencia: Tel.: + 57-4-430 93 92; fax: +57-4-260 44 89.

Correo electrónico: <dldurango@unalmed.edu.co>; <dldurango@unal.edu.co> (D.L. Durango).

chemical, pharmaceuticals and agricultural industries. Inside the advantages of the employ of the biological systems for the organic synthesis is in fact that they are processes frequently more regio-, chemo- and stereoselectives than the methods of classic synthesis, besides they are carry out under mild and soft conditions with the environment. This review describe some of the more relevant recent articles related with the biotransformation of substrates aromatic substituted and also some approximations which we have developed in our research group, employed the phytopatogenic fungi of the genus **Colletotrichum** and **Botryodiplodia** like biocatalyst in the synthetic organic chemistry.

Key word: Metabolic pathway, synthetic intermediates, hydroxylation, *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. acutatum*, *Botryodiplodia theobromae*.

INTRODUCCIÓN

La bioconversión es el proceso por el cual se produce la transformación de un compuesto químico en otro mediante el uso de un sistema biológico, que puede ser un organismo completo, o una enzima o sistema enzimático. Si la conversión química de la sustancia se lleva a cabo con la ayuda de una enzima libre o inmovilizada, se emplea el término biocatálisis. Por su parte, si se lleva a cabo con la ayuda de una célula completa (usualmente) conteniendo la enzima necesaria, se habla de biotransformación¹. Debido a que esta clase de procesos biotecnológicos, son una alternativa limpia y económica para la obtención de productos químicos, se han catapultado al interior del sector químico especializado, donde el escenario de trabajo y las características de sus productos exigen óptimas condiciones de operación.

En la última década, las biotransformaciones han recibido un interés creciente y actualmente, se han constituido en una de las áreas más promisorias de investigación científica, debido a su posible aplicación en la obtención de materias primas y productos útiles en diferentes procesos industriales y en sectores tan trascendentes como el farmacéutico, el químico, el de los alimentos y el agrícola; de ahí que en el mundo se destinen altas inversiones para su desarrollo²⁻⁴. Se considera que de los 134 procesos industriales reconocidos que utilizaron este tipo de procesos en el año 2002, más de la mitad aparecieron en los últimos 10 años, y la tendencia aumentó notoriamente en el pasado trienio⁵. De estos procesos, la mayor parte corresponden al sector farmacéutico, con un 55%, y tienen como finalidad obtener fármacos quirales enantioméricamente puros. En esta industria la modificación estructural de compuestos esteroidales también es una prioridad.

Las ventajas que los procedimientos de biotransformación tienen sobre los métodos químicos, se basan en que las reacciones catalizadas por enzimas son frecuentemente más regio-, quimio- y estereoselectivas⁶⁻⁸. Muchas biotransformaciones no sólo son regio- y estereoespecíficas sino también enantiospecíficas, permitiendo la producción de productos quirales a partir de mezclas racémicas⁹⁻¹¹. Las condiciones para las biotransformaciones en la mayoría de los casos no requieren de la protección de otros grupos funcionales¹². Además, las características que gobiernan su regioespecificidad difieren de aquellas que controlan la especificidad química, ya que la característica dominante en una biotransformación es la relación topológica entre el sustrato y el sitio activo de la enzima. De esta manera, las biotransformaciones encuentran especial aplicación en la preparación de algunos compuestos en los que la transformación química es, hasta ahora, imposible^{6,13}. Por ejemplo, es posible realizar biotransformaciones en centros que son no reactivos químicamente, como la oxidación de enlaces C-H de hidrocarburos para la obtención de compuestos oxifuncionalizados^{14,15}. Desde el punto de vista comercial, algunas biotransformaciones

pueden ser más económicas y directas que sus análogas químicas, y adicionalmente, las transformaciones proceden bajo condiciones que son normalmente reconocidas como amigables con el ambiente, ya que tienen lugar principalmente en agua y los subproductos son biodegradables o reutilizables, lo que constituye una contribución a la generación de una "química verde", de bajo impacto ambiental¹⁶. Adicionalmente, cuando el biocatalizador, microorganismo o enzimas aisladas, están inmovilizados se pueden reciclar varias veces sin pérdida significativa de sus propiedades catalíticas⁶.

Aunque la principal aplicación de las biotransformaciones en síntesis orgánica está en la preparación de compuestos enantiopuros, éstas también se usan para efectuar transformaciones de grupos funcionales aquirales; ya que las biotransformaciones se llevan a cabo, generalmente, a temperatura ambiente y presión atmosférica, evitándose con ello el uso de condiciones de reacción extremas, las cuales pudieran causar isomerizaciones, racemizaciones, epimerizaciones o transposiciones⁶. Estas ventajas significativas resultan más importantes aún si consideramos que los productos obtenidos tendrán aplicación en la vida humana ya sea directamente en el uso de medicamentos o indirectamente, en el caso de los agroquímicos, a través de los alimentos ingeridos¹⁷.

EL BIOCATALIZADOR

En las bioconversiones, el agente biológico que activa o acelera la reacción química (biocatalizador) puede ser una enzima o sistema enzimático aislado, o bien el orgánulo, célula o tejido completo en el que este sistema se encuentra¹⁸. El procedimiento más comúnmente empleado en procesos de bioconversión involucra el uso de células completas, en donde toda la maquinaria enzimática está disponible. De otro lado, las preparaciones enzimáticas incluyen extractos enzimáticos de microorganismos, plantas, protozoarios, insectos, entre otros; muchas de estas preparaciones se encuentran actualmente disponibles o son relativamente fáciles de aislar, al menos, en forma bruta¹⁹. Se pueden emplear, además, enzimas puras, aisladas de microorganismos, muchas de las cuales están disponibles comercialmente²⁰. No obstante, cada aproximación presenta sus ventajas y desventajas. Así el procedimiento de emplear células completas es frecuentemente más económico de usar que los sistemas enzimáticos aislados, aunque se tiende a generar más de un producto, lo cual puede o no ser una ventaja²¹. El uso de células completas, en crecimiento o células en reposo (*resting cells*), sin embargo, puede verse afectado cuando se dificulta el paso de los sustratos y productos desde la disolución a través de las membranas y paredes celulares. Las enzimas puras pueden ser estables y fáciles de usar, conduciendo frecuentemente a la obtención de productos únicos y con buen grado de pureza. Para muchas reacciones hidrolíticas, no es necesario el empleo de cofactores. Sin embargo, para reacciones redox, en las cuales se usan cofactores, la necesidad de regenerar este cofactor puede presentar una complicación adicional²¹.

El uso de microorganismos (por ejemplo, bacterias y hongos) como biocatalizadores ha despertado un interés particular, en parte como consecuencia de su habilidad para producir grandes cantidades de biomasa y una amplia variedad de enzimas diferentes en corto tiempo. Además, muchos microorganismos pueden crecer bajo condiciones diversas y en una amplia variedad de sustratos. Esta flexibilidad metabólica exige que los microorganismos posean la capacidad de producir enzimas diferentes para toda clase de reacciones²². Adicionalmente, diversas enzimas, requeridas para llevar a cabo la transformación requerida, pueden estar presentes en las células completas de un microorganismo y actuar simultáneamente sin generar interferencias entre ellas⁶.

En el caso de las enzimas (biocatálisis) pueden usarse de varias maneras: pueden ser de tipo salvaje, recombinadas, o genéticamente modificadas para incrementar su actividad o especificidad. Alternativamente, las enzimas pueden estar en solución, en un reactor de membrana, como suspensión, “cross-linked” o inmovilizadas^{6, 23, 24}. El medio de reacción puede ser acuoso, orgánico o en dos fases^{6, 25, 26}. Además, con los avances en la modificación estructural de las enzimas se posibilita la creación de nuevas moléculas proteicas con actividades catalíticas hechas a la medida de las necesidades; por ejemplo, la preparación de enzimas termoestables o estables a cierto pH, por medio de la mutagénesis aleatoria o dirigida^{6, 27, 28}.

INMOVILIZACIÓN DEL BIOCATALIZADOR

En los procesos de inmovilización, las células completas o las enzimas son confinadas en una porción de espacio con retención de sus actividades catalíticas, las cuales pueden ser usadas repetida y continuamente²⁹. Esta definición se ha ampliado al proceso por el cual se restringen, completa o parcialmente, los grados de libertad de movimiento de enzimas, orgánulos, células, etc., por su unión a un soporte³⁰. La inmovilización puede extender la vida del biocatalizador, facilitar su recuperación y reutilización. Cuando las células son usadas como los agentes biocatalíticos, el sistema permite velocidades adecuadas de penetración y difusión de los reactivos y productos al interior de la célula; mientras que en las reacciones con enzimas la formación de subproductos indeseables o la degradación de los productos deseados, son inhibidos o minimizados³¹. Se ha demostrado que la inmovilización de las enzimas y en especial de aquéllas insolubles en agua, aumenta su estabilidad considerablemente, además de permitir la separación de la enzima de los productos y sustratos con un menor costo al requerido mediante técnicas de separación, y con su posterior reutilización, o bien, estableciéndose un proceso continuo con el que se obtienen mejoras evidentes. Adicionalmente, el uso de células o enzimas inmovilizadas es más ventajoso, puesto que permite en uso de concentraciones mayores de compuestos que, normalmente les son tóxicos, aunado a que la densidad celular es superior, lo que implica una mayor proporción de bioconversión y se evita la pérdida de biocatalizadores en el caldo de extracción^{32, 33}. Es de anotar, sin embargo, que la naturaleza heterogénea del catalizador, como es el caso de las enzimas, impone limitaciones de difusión que reducen y afectan su actividad; la alteración de la conformación de la enzima de su estado nativo conlleva una pérdida de la actividad durante el proceso de inmovilización. Además, la enzima inmovilizada presenta un costo superior con respecto a la forma nativa de la enzima.

En los procesos de inmovilización, la retención puede ser por vía física o química, dependiendo del tipo de interacción presente en la inmovilización. Diferentes revisiones enfocadas en los procesos de inmovilización de biocatalizadores pueden encontrarse en la literatura reciente^{34, 35}.

INGENIERÍA GENÉTICA

Las perspectivas de la biotransformación son teóricamente buenas; el número de tecnologías disponibles actualmente y la ingeniería genética acelerarán el impacto de las biotransformaciones en la síntesis orgánica. Con los avances en la ingeniería genética, las enzimas pueden sobreexpresarse en los organismos (por ejemplo, los microorganismos), haciendo los procesos de biotransformación más económicos y eficientes. Así, una vez una enzima ha sido encontrada y su secuencia de aminoácidos (o la secuencia de ácidos nucleicos que codifica la proteína) analizada, se puede hacer uso de la precisión quirúrgica de la ingeniería genética o el clonado de genes.

Cuando la ingeniería genética se aplica a la modificación de las proteínas se utiliza el término de ingeniería de proteínas. De la misma manera, cuando de lo que se trata es de modificar un proceso metabólico se emplea el término de ingeniería metabólica³⁶. Las herramientas de la ingeniería de proteínas y de la metabólica se han desarrollado no sólo para ampliar el conocimiento de la bioquímica, sino que hoy en día, mediante estas herramientas, se optimizan muchos procesos biocatalíticos para producir compuestos de interés químico y sobre todo farmacéutico. Junto con estas herramientas se han desarrollado nuevos conceptos y metodologías, como la evolución dirigida o la genética combinatorial en sus distintas versiones, que pretenden conseguir nuevas formas de proteínas o de sistemas metabólicos mediante la inclusión al azar en un organismo de distintos genes o librerías génicas (biblioteca o conjunto de genes clonados en un vector). La posterior selección del organismo recombinante mediante el empleo de sistemas robotizados de cribado masivo de muestras (*high-throughput screening*) permite obtener en poco tiempo la proteína o el organismo deseado³⁷.

BIOTRANSFORMACIÓN DE SUSTRATOS AROMÁTICOS SUSTITUIDOS

Los compuestos aromáticos alquilsustituídos han sido empleados como sustratos en diferentes procesos de biotransformación, con el objeto de obtener productos con valor agregado a partir de sustratos económicos y disponibles comercialmente^{38, 39}. La biotransformación de compuestos ha permitido la obtención de moléculas pequeñas mediante procesos económicos de bajo impacto ambiental, tales como los alcoholes secundarios enantioméricamente puros, los cuales han sido utilizados como precursores en la industria química, farmacéutica y para la obtención de sabores, fragancias y cristales líquidos^{40, 41}. Frecuentemente, la aplicación de estos procesos pretende aprovechar el alto grado de selectividad, e incluso especificidad, que poseen los sistemas enzimáticos para la obtención de materiales especializados, como los ciclohexadieno-*cis*-dioles; sintones quirales valiosos en la síntesis de una amplia variedad de productos naturales y moléculas de interés biológico⁴². Asimismo, se ha empleado la biorresolución en diversos sustratos aromáticos sustituidos, para la obtención de sintones ópticamente activos a partir de mezclas racémicas, con el objeto de obtener productos de síntesis final con características espaciales determinadas; lo anterior con el ánimo de evitar la formación de productos con alguna actividad biológica indeseable, o potenciar las características del producto de interés. Este tipo de aplicación ha recibido un interés particular para la preparación de aromatizantes y saborizantes^{43, 44}. En la tabla 1, se mencionan algunas de las biotransformaciones que se han llevado a cabo en los últimos años empleando algunos sustratos aromáticos sustituidos; un amplio número de estos trabajos emplean como biocatalizador células completas de hongos y levaduras. Otros trabajos han sido reportados empleando células vegetales^{11, 45} y algas rojas⁴⁰ para efectuar modificaciones sobre este tipo de sustratos. Entre los compuestos más utilizados en las modificaciones biocatalíticas se encuentran la acetofenona y el benzaldehído. El primer sustrato permite, mediante biorreducción asimétrica, la obtención de un sintón quiral de amplio uso en la síntesis de fármacos, aromas y productos naturales⁴⁶. La biotransformación del benzaldehído, por su parte, conduce a la formación de fenilacetilcarbinol, un intermedio quiral en la producción de compuestos farmacéuticos como la efedrina y pseudoefedrina.

Tabla 1. Biotransformación de sustratos aromáticos sustituidos

SUSTRATO	PRODUCTOS	ORGANISMO	REFERENCIA
Acetofenona	Alcohol <i>R</i> - y <i>S</i> -feniletílico	Levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	47
Acetofenona	Alcohol <i>S</i> -feniletílico	Células vegetales Raíces de zanahorias (<i>Daucus carota</i>) modificadas naturalmente mediante <i>Agrobacterium rhizogenes</i>	48
Benzaldehído	<i>R</i> -fenilacetilcarbinol	Hongos <i>Rhizopus javanicus</i> , <i>Rhizopus oryzae</i> , <i>Aspergillus oryzae</i> , <i>Aspergillus tamarii</i> , <i>Neurospora crassa</i> , <i>Polyporus eucalyptorum</i> , <i>Fusarium lateritium</i> , <i>Fusarium</i> sp., <i>Monilia sitophila</i> , <i>Paecilomyces lilacinus</i> y <i>Mucor rouxii</i>	49
		Levaduras <i>Candida utilis</i> y <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	49
		Levadura Piruvato descarboxilasa (PDC) en forma de <i>Candida utilis</i>	50, 51
		Hongo Piruvato descarboxilasa (PDC) de <i>Rhizopus javanicus</i>	52, 53
Benzaldehído	<i>S</i> -fenilacetilcarbinol	Levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	54
Ácido <i>p</i> -coumárico	Ácido caféico Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico Ácido protocatechuico	Bacteria <i>Streptomyces caeruleus</i>	41
Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico	Ácido protocatechuico	Bacteria <i>Streptomyces caeruleus</i>	41
Ácido caféico	Ácido protocatechuico	Bacteria <i>Streptomyces caeruleus</i>	41
Ácido <i>p</i> -coumárico	Ácido caféico	Hongo <i>Pycnoporus cinnabarinus</i>	39
Ácido cinámico, Ácido caféico, Ácido ferúlico, Ácido <i>p</i> -coumárico, Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico, Ácido <i>p</i> -hidroxifenilacético	Esteres con alcoholes alifáticos (1-octanol)	Hongos Lipasas inmovilizadas de <i>Candida antarctica</i> y <i>Rhizomucor miehei</i>	55
Dietil de 2-oxo-2-feniletilfosfonato	Derivados de 2-hidroxi-2-feniletilfosfonato <i>o</i> -fosforilados <i>o</i> -fosforilados dietil hidroxifosfonato	Hongos <i>Beauveria bassiana</i> <i>Rhodotorula rubra</i> <i>Rhodotorula glutinis</i> <i>Geotrichum candidum</i> <i>Penicillium oxalicum</i> <i>Cladosporium</i> sp.	56
Alcohol <i>p</i> -2-hidroxibencilico (HBA)	Gastrodin	Hongos <i>Armillaria luteo-virens</i> Sacc <i>Aspergillus foetidus</i> <i>Penicillium cycloptium</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Trichoderma viride</i> <i>Trichoderma</i> sp. <i>Penicillium notatum</i> <i>Mucor</i> sp.	57
Ácido vanílico	Metoxihidroquinona, Alcohol vanílico, Vainillina	Hongo <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	38
Óxido de <i>trans</i> -1-fenilpropano, 1,2-diol	<i>trans</i> -1-fenilpropano-1,2-diol	Levaduras <i>Rhodotorula</i> sp. <i>Trichosporon</i> sp.	58
(2,3 -epoxi-propil)-benceno	3-fenilpropano-1,2-diol	Levaduras <i>Rhodotorula</i> sp. <i>Trichosporon</i> sp.	58

BIOTRANSFORMACIONES CON HONGOS FITOPATÓGENOS

Entre los organismos que más se han explorado por su capacidad transformadora, se destacan por su eficiencia los hongos fitopatógenos. Éstos, además de poseer la habilidad natural de modificar compuestos presentes en las plantas (por ejemplo, terpenos, coumarinas, estilbenos, fenilpropanos y flavonoides) en su proceso de colonización, y en algunas ocasiones para hacer frente a los mecanismos de defensa del huésped (destoxicación de fitoalexinas); también pueden metabolizar algunas sustancias xenobióticas, tales como pesticidas y colorantes, entre otros⁵⁹⁻⁶¹. Las células completas de los hongos fitopatógenos se emplean frecuentemente debido a su habilidad para mediar en muchas reacciones diferentes, incluyendo transformaciones oxidativas, reductivas, e hidrolíticas sobre un amplio rango de sustratos⁶². Debido a lo anterior, las biotransformaciones con esta clase de microorganismos permiten generar diversidad estructural en los productos metabólicos, de manera que puedan llevarse a cabo evaluaciones de estructura-actividad biológica sobre una quimioteca particular.

Los hongos en medio líquido pueden crecer, como micelio libre en una forma filamentosa, o permanecer en forma agregada como “bolitas” (pellet/floc). Estos patrones morfológicos regulan fuertemente la producción de metabolitos; sin embargo, los efectos que dichas variaciones morfológicas fúngicas pueden tener sobre las biotransformaciones continúan siendo oscuras.

BIOTRANSFORMACIONES MEDIANTE ESPECIES DEL GÉNERO

Botryodiplodia

Las especies de este género de hongos filamentosos fitopatógenos han sido poco explotadas en cuanto a su capacidad biotecnológica⁶³; los estudios realizados comprenden la obtención de metabolitos propios del patógeno, que como en el caso del ácido jasmónico y sus derivados, poseen potencial aplicación como reguladores del crecimiento de especies vegetales⁶⁴. Desde este punto de vista, la especie *B. theobromae*, más conocida como *Lasiodyplodia theobromae*, ha demostrado una alta capacidad para elaborar esta clase de sustancias, catalogándose como fuente promisoría para la producción a escala industrial. Esta especie se clasifica como un organismo eucariota; en sus condiciones naturales se encuentra en los estados imperfecto (anamorfo) con el nombre de Botryodiplodia y perfecto o teleomorfo con el de Botryosphaeria. Son mínimos los reportes en los cuales se consideran estos microorganismos o sus sistemas enzimáticos para la conversión de sustratos orgánicos, dentro de los cuales se reporta la tendencia del fitopatógeno a producir hidroxilaciones alquílicas, las cuales pueden ser efectuadas sobre las cadenas de algunos esteroides^{65,66}. Este hecho hace que la dinámica de transformar este tipo de metabolitos secundarios mediante especies del género Botryodiplodia sea atractiva. Del mismo modo, se ha publicado la biotransformación de la sesquiterpenolactona zaluzanin-D, sustancia reconocida por sus actividades antifúngicas, antitumorales y de regulación del crecimiento de insectos^{67, 68}. Debido a la facilidad de manipulación de este género en cultivos artificiales, rápido crecimiento e importancia que ha venido adquiriendo como patógeno en los procesos de poscosecha de frutas y verduras, entre otros, amerita que se estudie más detalladamente su dinámica metabólica. En la tabla 2 se compilan algunos trabajos que se encuentran en la literatura científica sobre biotransformaciones con especies del género Botryodiplodia.

Tabla 2. Biotransformación de sustratos empleando especies del género *Botryodiplodia*

SUSTRATO	PRODUCTOS	ESPECIE	REFERENCIA
Derivados del ácido β -resorcílico	<i>R</i> -2,4-dihidroxi-6-(6-hidroxiheptil)-benzoato de etilo, <i>R</i> -2,4-dihidroxi-6-(6-hidroxiheptil)-benzoato de isobutilo, Ácido <i>R</i> -2,4-dihidroxi-6-(6-hidroxiheptil)-benzoico, <i>R</i> -2,4-dimetoxi-6-(6-hidroxiheptil)-benzoato de etilo, <i>R</i> -2,4-dimetoxi-6-(6-hidroxiheptil)-benzoato de isobutilo, Ácido <i>R</i> -2,4-dimetoxi-6-(6-hidroxiheptil)-benzoico.	<i>L. theobromae</i>	69
2-metilquinoxalina	Ácido 2-quinoxalinacarboxílico	<i>Diplodia gossypina</i> ^a ATCC No. 20575	70
zaluzanin-D	11,13-dihidrozaluzanina-C	<i>B. theobromae</i>	68
^b Acetato [1- ¹³ C] de sodio, acetato [2- ¹³ C] de sodio, acetato [1,2- ¹³ C ₂] de sodio, acetato [2- ² H ₃ ,2- ¹³ C] de sodio	(1 <i>S</i> , 2 <i>R</i> , 5 <i>S</i> , 6 <i>R</i>)-3-metil-7-oxa-biciclo[4.1.0]-3-hepteno-2,5-diol; (1 <i>S</i> , 4 <i>R</i> , 5 <i>S</i> , 6 <i>R</i>)-7,9-dioxa-3-metil-8-oxobiciclo[4.3.0]-2-noneno-4,5-diol	<i>L. theobromae</i>	71

^a *D. gossypina*, sinón. *L. theobromae* reportado por Cooke.

^b Marcación isotópica del sustrato para seguimiento por espectroscopía.

BIOTRANSFORMACIONES DE SUSTRATOS AROMÁTICOS SUSTITUIDOS CON *Botryodiplodia theobromae*

En investigaciones preliminares realizadas en nuestro grupo de investigación, exploramos la dinámica de las reacciones enzimáticas que produce la especie *B. theobromae*, con el objeto de determinar su viabilidad en la reducción de grupos carbonilo, y las posibles preferencias para la hidroxilación de cadenas alquílicas o sistemas aromáticos en sustratos aromáticos sustituidos⁶³. En los procesos se utiliza medio de cultivo líquido Czapeck-Dox, sustituyendo sacarosa por glucosa en la formulación original y conservando la misma proporción por litro del medio. El proceso se realizó en un ambiente aeróbico en erlenmeyers de 1,0 litros taponados con tarugos de algodón conteniendo 500 ml del medio. La inoculación se realizó con trozos de cultivos con edad no superior a 10 días. El proceso de biotransformación se extendió por un periodo máximo de 7 días, procurando biotransformar la mayor parte del sustrato de partida, y la obtención de una gama amplia de compuestos de biotransformación, que incluyeran metabolitos de oxidación iniciales y los provenientes de procesos de oxidaciones más avanzadas.

Biotransformación del sustrato 2-feniletanol (A)

A partir de este sustrato se logró aislar e identificar los metabolitos: acetato de 2-feniletanol (B), feniletanodiol (C), ácido 2-fenilacético (D) y fenilacetato de 2-feniletanol (E). En la figura 1 se plantea el posible origen de cada uno de los compuestos formados. Se observa que el metabolismo de *B. theobromae* tiene la capacidad de hidroxilar la cadena alquílica en la posición bencílica, dando lugar a la formación del metabolito (C). La oxidación de la cadena alquílica en la posición 1 del sustrato de partida, permite formar el compuesto (D), el cual se consideró como el precursor del éster del 2-feniletanol, compuesto (E); finalmente, se observó la tendencia del microorganismo a esterificar mediante acetilación para producir el compuesto (B)⁷².

En estudios realizados modificando las condiciones del proceso de biotransformación del sustrato 2-feniletanol, tales como el pH, el tiempo y la oxigenación, con la especie *B. theobromae*, se concluye que la eficiencia del proceso es dependiente de las condiciones del mismo. Así, uno de los factores que más influyó en la eficiencia del proceso fue el pH. Los estudios revelaron una marcada tendencia del hongo fitopatógeno a reducir el pH durante la conversión biocatalítica; el empleo de soluciones tamponadas condujo a la formación en mayor concentración de los productos metabólicos⁷³.

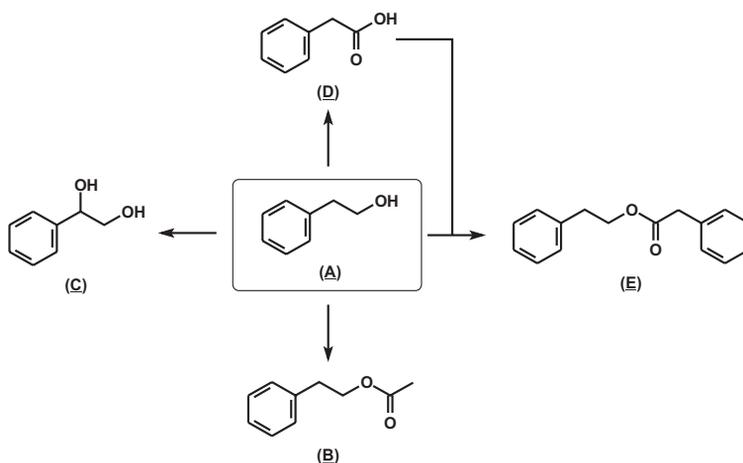


Figura 1. Proceso de biotransformación del sustrato 2-feniletanol (A) mediante el hongo *B. theobromae*

Biotransformación del sustrato acetofenona (F)

A partir del proceso de biotransformación de la acetofenona (F) se logró aislar e identificar los metabolitos: 2-feniletanol (A), 1-feniletanol (G), acetato de 1-feniletanol (H), 2-feniletanol (I), y ácido 2-fenilacético (J). En la figura 2 se presenta una posible ruta metabólica de la acetofenona. Se aprecia que *B. theobromae* tiene la capacidad de reducir el grupo carbonilo, para generar el correspondiente alcohol secundario (G); no se logró determinar la estereoquímica de esta reducción, por lo tanto no se obtuvieron datos que permitieran esclarecer la estereoselectividad del proceso. De manera similar que la biotransformación del sustrato (A), se observó la tendencia de *B. theobromae* para acetilar el alcohol secundario, dando lugar a la formación del compuesto (H)⁷².

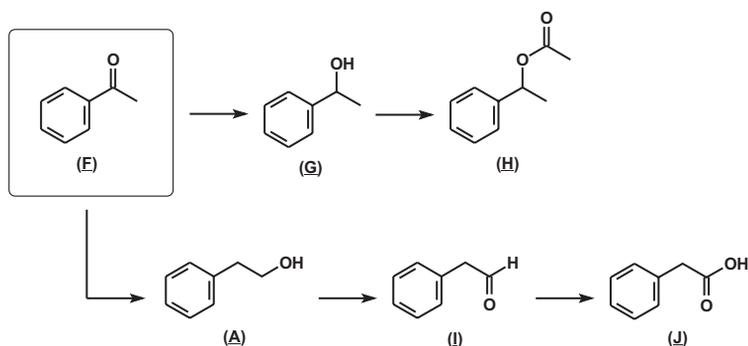


Figura 2. Proceso de biotransformación del sustrato acetofenona (F) mediante el hongo *B. theobromae*

Curiosamente, en esta biotransformación se logró obtener el metabolito (A), el cual proviene de un posible reagrupamiento del sustrato de partida, a través de un proceso de tautomerismo ceto-enol; posterior hidratación de la insaturación enólica y deshidratación-hidrogenación enzimática (figura 3). En los productos de biotransformación no se logró observar la presencia de los enoles (K) y (L), muy posiblemente debido a la baja estabilidad de estas especies precursoras o su rápida conversión en el medio de cultivo. La presencia del aldehído (I) y el ácido 2-fenilacético (J), confirman la formación del compuesto (A) y descartan la posibilidad de que se trate de un contaminante. La formación de estos dos últimos metabolitos es muy probable que se origine desde el sustrato (A), a través de un proceso de oxidación secuencial: alcohol-aldehído-ácido carboxílico^{73,74}.

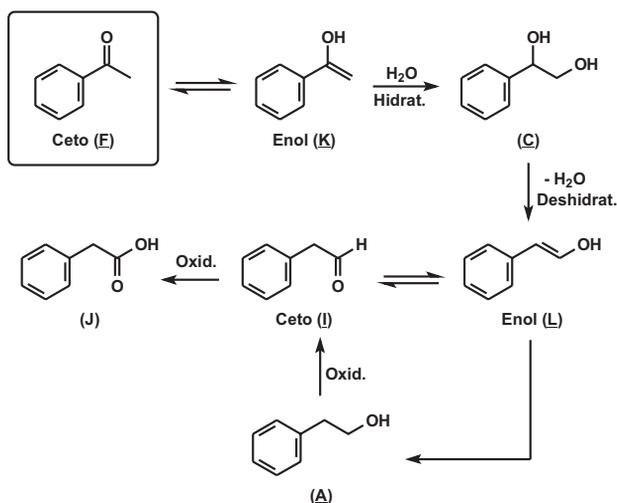


Figura 3. Posible origen de formación de los metabolitos 2-feniletanol (A), 2-feniletanal (I) y ácido 2-fenilacético (J) mediante el hongo *B. theobromae*

BIOTRANSFORMACIONES MEDIANTE ESPECIES DEL GÉNERO *Colletotrichum*

Este es un género de hongos filamentosos fitopatógenos que tienen gran incidencia económica sobre la producción agrícola de los países tropicales y en las zonas templadas. Normalmente se encuentra como saprofito en residuos de cultivos y sus ataques se ven favorecidos por las condiciones de alta humedad y temperatura, las cuales prevalecen en los trópicos durante gran parte del año y en la mayoría de las zonas de producción⁷⁵. Las enfermedades que ocasionan se conocen comúnmente con el nombre de antracnosis y se presentan tanto en los cultivos como en las labores de poscosecha; los ataques se observan en mayor proporción en las partes aéreas de las plantas y ocasionan la caída prematura de hojas, flores y frutos, y en muchas ocasiones pueden causar su muerte. Las especies de *Colletotrichum* pueden causar infecciones latentes, en las cuales el hongo contamina la fruta verde en el campo y permanece inactivo hasta que la fruta madura, en cuyo caso reanuda su crecimiento pudiendo infectar a las demás que estén alrededor durante el almacenamiento^{76, 77}. En la literatura científica se encuentran un buen número de trabajos de investigación relacionados con las biotransformaciones realizadas por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* (*Glomerella cingulata*); la mayor parte de los estudios se compilan en la revisión bibliográfica presentada por García y otros⁷⁸. En la tabla 3, se citan algunos de los trabajos más recientes sobre biotransformaciones con especies del género *Colletotrichum*.

Tabla 3. Biotransformaciones realizadas con hongos filamentosos del género *Colletotrichum*

SUSTRATO	PRODUCTOS	ESPECIES	REFERENCIA
zaluzanin-D	11,13-dihidrodeacetilaluzanin-D (dihidrozaluzanin-C).	<i>C. lindemuthianum</i>	68
(-)-2-(3',4'-diacetoxifenil)-3,4-diacetoxitetrahydrofurano	(2R(S), 3R(S), 4S(R))-2-(3',4'-dihidroxifenil)tetrahydrofuran-3,4-diol	<i>C. gloeosporioides</i>	79
cicloartenol	24,25-dihidroxicicloartan-3-ona	<i>C. fusarioides</i>	80
Widdrol	14R-hidroxiwiddrol	<i>C. gloeosporioides</i>	81

BIOTRANSFORMACIONES DE SUSTRATOS AROMÁTICOS SUSTITUIDOS CON *Colletotrichum gloeosporioides* y *C. acutatum*

Biotransformación del sustrato 1-(4-clorofenil)-2-feniletanol (M)

Estudios de biotransformación efectuados empleando la cepa de *C. gloeosporioides*, 20122 CECT (Colección Española de Cultivos Tipo) de origen canadiense y proveniente de aislamientos de fresa, sobre el sustrato 1-(4-clorofenil)-2-feniletanol (**M**) en el medio de cultivo líquido Czapeck-Dox modificado con relación a la fuente de carbono, condujo al aislamiento de los metabolitos presentados en la figura 4⁸².

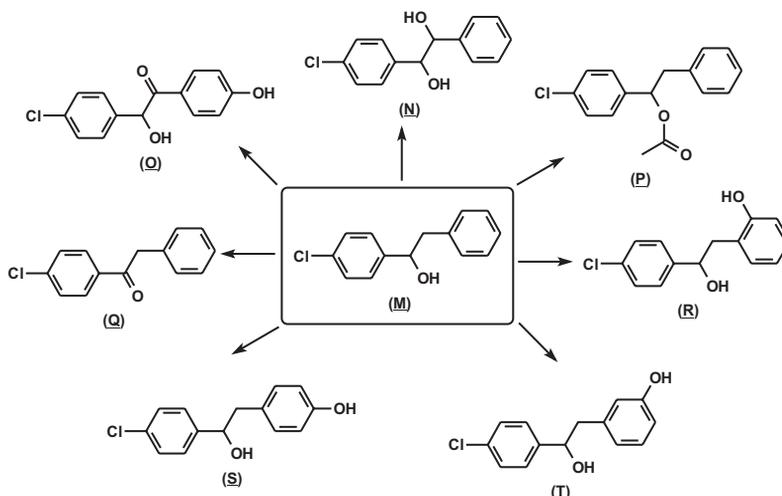


Figura 4. Productos de la biotransformación del sustrato 1-(4-clorofenil)-2-feniletanol (**M**) mediante la cepa 20122 CECT de *C. gloeosporioides*

Biotransformación del sustrato 2-feniletanol (A**)**

En los trabajos de biotransformación que se realizan actualmente en el grupo de Química de los Productos Naturales y los Alimentos de la Universidad Nacional de Colombia (Medellín), se ha encontrado que la especie *C. gloeosporioides* aislada de frutos de *Carica papaya* (papaya) y *C. acutatum* aislada de *Solanum betaceae* (tomate de árbol), biotransforman el sustrato 2-feniletanol (**A**) hacia los siguientes metabolitos: acetato de 2-feniletanol (**B**), feniletanodiol (**C**), y 2-feniletilmetiléter (**U**)⁸³⁻⁸⁵ (figura 5).

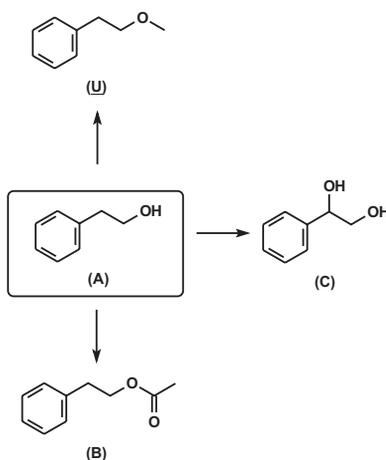


Figura 5. Proceso de biotransformación del sustrato 2-feniletanol (**A**) mediante los hongos *C. gloeosporioides* y *C. acutatum*

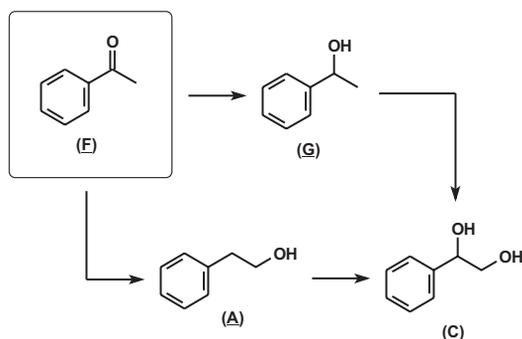


Figura 6. Proceso de biotransformación del sustrato acetofenona (F) mediante los hongos *C. gloeosporioides* y *C. acutatum*.

Biotransformación del sustrato acetofenona (F)

A partir del sustrato acetofenona (F) se obtuvieron los metabolitos 1-feniletanol (G), feniletanodiol (C), y 2-feniletanol (A)⁸³⁻⁸⁵.

CONCLUSIONES

Con base en la revisión presentada y los trabajos realizados en el grupo de investigación sobre biotransformación con hongos fitopatógenos de los géneros *Colletotrichum* y *Botrydiplozia*, se concluye que dichos microorganismos presentan una marcada tendencia hacia la introducción de grupos hidroxilo sobre las cadenas sustituyentes; igualmente, se aprecia la tendencia hacia la reducción de grupos carbonilo de cetonas y aldehídos, además de reacciones de acetilación sobre grupos hidroxilo. Lo anteriormente expuesto, puede considerarse como una alternativa adecuada para la obtención de alcoholes y ésteres de tipo acetato con estructuras novedosas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren agradecer a la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, por el apoyo brindado en el transcurso de los proyectos de investigación relacionados con el tema.

BIBLIOGRAFÍA

1. Leresche J.E., Meyer H.P. Chemocatalysis and biocatalysts (biotransformation): some thoughts of a chemist and of a biotechnologist. *Organic Process Research & Development.*, 2006, 10 (3), 572-580.
2. Food & Drug Administration: FDA's statement for the development of new stereoisomeric drugs. *Chirality*, 1992, 4, 338-340.
3. Schmid A., Dordick J, Hauer B., *et al.* Industrial biocatalysts today and tomorrow. *Nature*, 2001, 409, 258-268.
4. Liese A, Filho M. Production of fine chemicals using biocatalysis. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 1999, 10, 595-603.
5. Straathof J., Panke S., Schmid A. The production of fine chemicals by biotransformations. *Current Opinion in Biotechnology*, 2002, 13, 548-556.

6. Luna H. Aplicación de la biocatálisis a la preparación de intermediarios para la síntesis de fármacos. *Rev. Soc. Quím. Méx.*, 2004, 48 (3), 211-219.
7. Sime J.T. Applications of biocatalysis to industrial processes. *J. Chem. Educ.*, 1999, 76, 1658-1661.
8. Wandrey C., Liese A., Kihumbu D. Industrial biocatalysis: past, present, and future. *Org. Process Res. Dev.*, 2000, 4, 286-290.
9. Holland H.L. Microbial transformations. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 1998, 2, 77-84.
10. Fotheringham I., Archer I., Carr R., et al. Preparative deracemization of unnatural amino acids. *Biochemical Society Transactions*. 2006, 34 (parte 2), 287-290.
11. Ishihara K., Hamada H., Hirata T., et al. Biotransformation using plant cultured cells. *J. Molecular Catalysis B: Enzymatic.*, 2003, 23, 145-170.
12. Hage A., Petra D., Field J., et al. Asymmetric reduction of ketones via whole cell bioconversions and transfer hydrogenation: complementary approaches. *Tetrahedron Asymmetry*, 2001, 12, 1025-1034.
13. Brenna E. Enzyme-mediated syntheses of chiral communication substances: fragrances for perfumery applications. *Current Org. Chem.*, 2003, 7, 1347-1367.
14. Holland H.L. C-H activation. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 1999, 2, 77-84.
15. Uzura A., Katsuragi T., Tani Y. Conversion of various aromatic compounds by resting cells of *Fusarium moniliforme* Strain MS 31. *J. of Bioscience and Bioengineering.*, 2001, 4, 381-384.
16. Rasor P., Voss E. Enzyme-catalyzed processes in pharmaceutical industry. *Applied Catalysis A: General*, 2001, 221, 145-158.
17. Tang, S., Smith R., Poliakov M. Principles of green chemistry: Productively. *Green Chem.*, 2005, 7, 761-762.
18. Parales R., Bruce N., Schmid A., et al. Minireview: Biodegradation, Biotransformation, and Biocatalysis (B3). *Applied and Environmental Microbiology*. 2002, 68 (10), 4699-4709.
19. Faber K. Biotransformations of Non-Natural Compounds: State of the Art and Future Development. *Pure & Appl. Chem.*, 1997, 69 (8), 1613-1632.
20. Davies, H. "Biotransformations in preparative organic chemistry : the use of isolated enzymes and whole cell systems in synthesis". London, Academic Press, 1989.
21. Chenault H., Simon, E., Whitesides, G. Cofactor regeneration for enzyme-catalysed synthesis. *Biotechnology and Genetic Engineering Review*. 1988, 6, 221-70.
22. Holland H., Bergen E., Chenchiah C., et al. Side chain hydroxylation of aromatic compounds by fungi. 1. Products and stereochemistry. *Canadian J. Chem.*, 1987, 65, 502-507.
23. Roberts, S., Casy G., Nielsen M., et al. "Biocatalysis for Fine Chemicals Synthesis". Wiley, New York, 1999.
24. Wong C., Whitesides G. "Enzymes in Synthetic Organic Chemistry". Pergamon, Oxford, 1994.
25. Molinari F., Occhiato E., Aragozzini F., et al. Microbial biotransformations in water/organic solvent system. Enantioselective reduction of aromatic β - and γ -nitroketones. *Tetrahedron: Asymmetry*, 1998, 9, 1389-94.
26. Martínez-Lagos F., del Campo C., Sinisterra J., et al. Preparation of halohydrin β -blocker precursors using yeast-catalyzed reduction. *Tetrahedron: Asymmetry*, 1998, 11, 4651-60.
27. Kinch L., Grishin N. Evolution of protein structures and functions. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 2002, 12, 400-408.

28. Arnold F., Wintrode P., Miyazaki K., et al. How enzymes adapt: lessons from directed evolution. *Trends Biochem Sciences*, 2001, 26, 100-105.
29. Wingard L. "Enzyme Engineering". Interscience Publishers, New York, 1972.
30. Taylor R. "Protein Immobilization: fundamentals and applications". Marcel Dekker, New York, 1991.
31. De Torres C., Fernández-Mayoralas A. Chemoenzymatic polymer-supported liquid phase synthesis of glucose γ -aminobutyric ester. *Tetrahedron Letters*, 2003, 44, 2383.
32. Klivanov A. Immobilized enzymes and cells as practical catalysis. *Science*, 1983, 219, 722-727.
33. Chibata I., Tosa T. Immobilized microbial cells and their applications. *Trends Biochem. Sci.*, 1980, 5, 88-90.
34. Batista-Viera F., Ovsejevi K., Manta C. "Reversible covalent immobilization of enzymes via their thiol groups (Chapter 17)". In: *Methods in Biotechnology*, Vol.22: Immobilization of enzymes and cells. Second edition. José M. Guisán (Ed.). Humana Press Inc., Totowa, NJ, 2006.
35. Brena B., Batista-Viera F. "Enzyme Immobilization Methods 1965-1995: a literature survey (Chapter 2)". In: *Methods in Biotechnology*, Vol.22: Immobilization of enzymes and cells. Second edition. Guisán J., (Ed.). Humana Press Inc., Totowa, NJ, 2006.
36. Ogawa, J., Shimizu, S. Microbial enzymes: new industrial applications from traditional screening methods. *TIBTECH.*, 1999, 17, 13-20.
37. Centro de Investigaciones Biológicas. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. <http://www.ranf.com/publi/mono/015/05.pdf>. Último acceso: Sept. 30 de 2008.
38. Stentelaire, C., Lesage-Meessen L., Delattre M., et al. Short communication: By-passing of unwanted vanillyl alcohol formation using selective adsorbents to improve vanillin production with *Phanerochaete chysosporium*. *World J. Microbiology & Biotechnology*, 1998, 14, 285-287.
39. Estrada I., Navarro D., Record E., et al. Fungal biotransformation of *p*-coumaric acid into caffeic acid by *Pycnoporus cinnabarinus*: an alternative for producing a strong natural antioxidant. *World J. Microbiology & Biotechnology*, 2003, 19, 157-160.
40. Utsukihara T., Misumi O., Nakajima K., et al. Stereoinversion of 1-arylethanols by *Cyanidioschyzon merolae* NEIS-1332. *J. Molecular Catalysis B: Enzymatic*. 2008, 51, 19-23.
41. Sachan A., Ghosh S., Kumar S., et al. Co-production of caffeic acid and *p*-hydroxybenzoic acid from *p*-coumaric acid by *Streptomyces caeruleus* MTCC 6638. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2006, 71, 720-727.
42. Hudlicky T., Thorpe A. Current status and future perspectives of cyclohexadiene-*cis*-diols in organic synthesis: versatile intermediates in the concise design of natural products. *J. Chem. Educ. Chem. Commun.*, 1996, 1993-2000.
43. Xu P., Hua D., Ma C. Review: Microbial transformation of propenylbenzenes for natural flavour production. *Trends in Biotechnology*, 2007, 21(12), 571-576.
44. Krings U., Berger R. Biotechnological production of flavours and fragrances. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1998, 49, 1-8.
45. Furuya T., Ushiyama M., Asada Y., et al. Biotransformation of phenylacetic acid and 2-phenyl-propionic acid in suspension culture of *Coffea arabica* *Phytochem.*, 1988, 27(3), 803-807.
46. Nakamura K., Yamanaka R., Matsuda T., et al. Recent development in asymmetric reduction of ketones with biocatalysis. *Tetrahedron: Asymmetry.*, 2003, 14, 2659-2681.

47. Brzezińska-Rodak M., Żymańczyk-Duda E., Klimek-Ochab M., *et al.* A simple and green procedure for the microbial effective synthesis of 1-phenylethyl alcohol in both enantiomeric forms. *Biotechnology Letters*, 2006, 28, 511–513.
48. Caron D., Coughlan A., Simard M., *et al.* Stereoselective reduction of ketone by *Daucus carota* hairy root cultures. *Biotechnology Letters*, 2005, 27, 713–716.
49. Rosche B., Sandford V., Breuer M., *et al.* Biotransformation of benzaldehyde into (*R*)-phenylacetylcarbinol by filamentous fungi or their extracts. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2001, 57, 309–315.
50. Satianegara, G., Breuer M., Hauer B., *et al.* Enzymatic (*R*)-phenylacetylcarbinol production in a benzaldehyde emulsion system with *Candida utilis* cells. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2006, 70, 170–175.
51. Rosche B., Breuer M., Hauer B., *et al.* Cells of *Candida utilis* for *in vitro* (*R*)-phenylacetylcarbinol production in an aqueous/octanol two phase reactor. *Biotechnology Letters*, 2005, 27, 575–581.
52. Rosche B., Leksawasdi N., Sandford V., *et al.* Enzymatic (*R*)-phenylacetylcarbinol production in benzaldehyde emulsion. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2002, 60, 94–100.
53. Rosche B., Sandford V., Breuer M., *et al.* Enhance production of *R*-phenylacetylcarbinol (*R*-PAC) through enzymatic biotransformation. *J. Molecular Catalysis B: Enzymatic.*, 2002, 19-20, 109–115.
54. Zhang W., Wang Z., Li W., *et al.* Production of *L*-phenylacetylcarbinol by microbial transformation in polyethylene glycol-induced cloud point system. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2008, 78, 233–239.
55. Stamatis H., Sereti V., Kolisis F. Studies on the enzymatic synthesis of lipophilic derivatives of natural antioxidants. *JACOS.*, 1999, 76-12, 1505–1510.
56. Żymańczyk-Duda E., Brzezińska-Rodak M., Klimek-Ochab M., *et al.* Chiral *o*-phosphorilated derivative of 2-hydroxy-2-phenylethylphosphonate as a valuable product of microbial biotransformation of diethyl 2-oxo-2-phenylethylphosphonate. *J. Molecular Catalysis B: Enzymatic.*, 2008, 52-53, 74–77.
57. Hai-Feng Z., Guo-Qing H., Jing L., *et al.* Production of gastrodin through biotransformation of *p*-2-hydroxybenzyl alcohol by cultures cells of *Armillaria luteovirens* Sacc. *Enzyme and Microbial Technology.*, 2008, 43, 25-30.
58. Lotter J., Botes A., van Dyk M., *et al.* Hydrolytic kinetic resolution of the enantiomers of the structural isomers *trans*-1-phenylpropene oxide and (2,3-epoxypropyl)benzene by yeast epoxide hydrolase. *Biotechnology Letters.*, 2004, 26, 1197–1200.
59. Doddapaneni H., Yadav J. Differential regulation and xenobiotic induction of tandem P450 monooxygenase genes *pc*-1 (CYP63A1) and *pc*-2 (CYP36A2) in the white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2004, 65, 559-565.
60. Benner J., Wunch K., Faison B. “Use of fungi biodegradation”. In: Manual of Environmental microbiology. Second edition. Hurst C., (Ed.). ASM Press, Washington, D.C., 2002.
61. Nyanhongo G., Erlacher A., Schroeder M., *et al.* Enzymatic immobilization of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) biodegradation products onto model humic substances. *Enzyme and Microbial Technology*, 2006, 39, 1197-1204.
62. Cundari T., Dinescu A., Zhu D., *et al.* A molecular modeling study on the enantioselectivity of aryl alkyl ketone reductions by a NADPH-dependent carbonyl reductase. *J. Mol. Model.*, 2007, 13, 685-690.

63. García-Pajón C., Valverde I., Velasco R.. Biotransformación de los compuestos 2-feniletanol y acetofenona mediante el hongo fitopatígeno *Botryodiplodia theobromae*. Trabajo dirigido de grado, Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, 2006.
64. Gutiérrez-Rojas M., Eng, F. and Favela-Torres, E. Culture conditions for jasmonic acid and biomass production by *Botryodiplodia theobromae* in submerged fermentation. *Process Biochemistry*, 1998, 33, 7, 715-721.
65. Smith K., Latif S., Kirk D., *et al.* Microbial transformations of steroids—IV. 6,7-Dehydrogenation; a new class of fungal steroid transformation product white. *J. Steroid Biochemistry*, 1989, 33, 271-276.
66. He G., Matsuura H., Yoshihara T. Isolation of an α -methylene- γ -butyrolactone derivative, a toxin from the plant pathogen *Lasiodiplodia theobromae*. *Phytochem.*, 2004, 65, 2803–2807.
67. Li H., Cao R., Mu Y. *In vitro* inhibition of *Botryosphaeria dothidea* and *Lasiodiplodia theobromae*, and chemical control of gummosis disease of Japanese apricot and peach trees in Zhejiang Province, China. *Crop Protection*, 1995, 14, 187-191.
68. Krishna K., Masilamani S., Ganesh M., *et al.* Microbial transformation of zaluzanin-D. *Phytochem.*, 2003, 62, 1101–1104.
69. Yang Q., Toshima H., Yoshihara T. Syntheses of β -resorcylic acid derivates, novel potato microtuber inducing substances isolated from *Lasiodiplodia theobromae*. *Tetrahedron* 2001; 57: 5377-5384.
70. Wong J.W., Watson H.A., Jr., Bouressa J.F., Burns M.P., Cawley J. J., Doro A.E., *et al.* Biocatalytic Oxidation of 2-Methylquinoxaline to 2-Quinoxalinecarboxylic Acid. *Organic Process Research & Development* 2002; 6: 477-481.
71. Li P., Takei R., Takahashi K., Nabeta K. Biosynthesis of theobroxide and its related compounds, metabolites of *Lasiodiplodia theobromae*. *Phytochemistry* 2007; 68: 819-823.
72. Velasco R., Valverde I., Durango D., *et al.* Biotransformación de los compuestos 2-feniletanol y acetofenona mediante el hongo fitopatígeno *Botryodiplodia theobromae*. Revista de la Facultad de Química Farmacéutica de la Universidad de Antioquia: *Vitae.*, 2007, 14(2), 43-50.
73. Montenegro D., Vélez J. Optimización de las condiciones de biotransformación del sustrato 2-feniletanol mediante el hongo fitopatígeno *Botryodiplodia theobromae*. Trabajo dirigido de grado, Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, 2008.
74. Valverde I., Velasco R., Vanegas N., *et al.* Procesos de biotransformación mediante hongos fitopatógenos: una alternativa importante para la obtención de productos químicos especializados. 3^{er}. Simposio de Biofábricas. Medellín, 2007.
75. Freeman S., Katan T., Shabi E., *et al.* Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. *Plant Dis.*, 1998, 82, 596-605.
76. Kang H., Park Y., Go S. Growth inhibition of a phytopathogenic fungus, *Colletotrichum* species by acetic acid. *Microbiol. Res.*, 2003, 158, 321-326.
77. O'Quinn R., Hoffmann J., Boyd A., *et al.* *Colletotrichum* species as emerging opportunistic fungal pathogens: A report of 3 cases of phaeohiphomycosis and review. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 2001, 45, 56-61.
78. García-Pajón C., Hernández-Galán R., Collado I. Biotransformation by *Colletotrichum* species. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2003, 14, 1229-1239.

79. Femenia-Ríos M, García-Pajón C. M. Hernández-Galán R., Macías-Sánchez A. J., Collado I. G. Synthesis and free radical scavenging activity of a novel metabolite from the fungus *Colletotrichum gloeosporioides*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2006; 16: 5836–5839.
80. Toshihiro Akihisa, Kenji Watanabe, Risa Yoneima, Takashi Suzuki, Yumiko Kimura. Biotransformation of Cycloartane-Type Triterpenes by the Fungus *Glomerella fusarioides*. *J. Nat. Prod.* 2006; 69: 604-607.
81. Ortiz-Núñez Y., Spengler-Salabarría I., Collado I. G., Hernández-Galán R. The Antifungal Activity of Widdrol and Its Biotransformation by *Colletotrichum gloeosporioides* (penz.) Penz. & Sacc. And *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. *J. Agric. Food Chem.* 2006; 54: 7517-7521.
82. Bustillo A., García-Pajón C., Aleu J., et al. Studies on biotransformation of (\pm)-1-(4'-chlorophenylethanol). *Tetrahedron: Asymmetry*, 2003, 14, 3755-3760.
83. Restrepo I., Pérez A. Biotransformación de los compuestos 2-feniletanol y acetofenona mediante el hongo fitopatógeno *Colletotrichum gloeosporioides*. Trabajo dirigido de grado, Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, 2007.
84. Aristizábal D., Lezcano C. Biotransformación de los sustratos 2-feniletanol y acetofenona mediante el hongo fitopatógeno *Colletotrichum acutatum*. Trabajo dirigido de grado, Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, 2007.
85. Aristizábal D., Lezcano C., García C., et al. Biotransformación de los sustratos 2-feniletanol y acetofenona mediante el hongo fitopatógeno *Colletotrichum acutatum*. *Rev. Col. Quím.*, 2008, 37, 7-20.

Enseñanza de la Química
UTILIZACIÓN DE METODOLOGÍAS DIDÁCTICAS EN LA
TITULACIÓN DE INGENIERO TÉCNICO INDUSTRIAL,
ESPECIALIDAD QUÍMICA INDUSTRIAL

Teresa Pardo Vicente*, Enrique Ballester Sarrias

RESUMEN

El proceso de armonización de los sistemas universitarios, dirigido hacia el Espacio Europeo de Educación Superior, implica la realización de una serie de acciones en los centros educativos para poder compaginar los acuerdos establecidos en los diferentes países de la unión europea. En la Escuela Técnica Superior de Ingeniería del Diseño (ETSID) de la Universidad Politécnica de Valencia (UPV), una de las acciones que ha propuesto el Centro es la elaboración de las guías docentes de las asignaturas, por medio de una aplicación informática. En dicha aplicación aparecen las actividades que en cada asignatura, los profesores realizarán tanto en presencia del alumno, como las que les indican a los discentes que deben de ejecutar, de forma autónoma, para lograr con éxito la adquisición de las competencias de la titulación previstas a desarrollar en la asignatura. Asimismo, el profesorado debe indicar el modo de evaluación que va a utilizar en cada una de sus asignaturas. El trabajo consiste en la valoración del uso de diferentes metodologías, tanto didácticas como de evaluación, indicadas por los profesores que imparten docencia en las asignaturas de la titulación de Ingeniero Técnico Industrial, especialidad de Química Industrial.

Palabras clave: aprendizaje, didáctica, evaluación, , metodología.

USE OF DIDACTIC METHODOLOGIES IN INDUSTRIAL
TECHNICAL ENGINEER'S DEGREE, INDUSTRIAL CHEMICAL
SPECIALTY

ABSTRACT

The process of harmonization of the university systems, directed toward the European Space of Superior Education, implies the realization of actions in the educational institutions to be able to page the agreements established in the countries of the European Union. In the Superior Technical School of Engineering of the Design (ETSID) of the Polytechnic University of Valencia (UPV), one of the actions that has intended the school is the elaboration of the educational guides of the subjects, by means of a computer application. In this application they appear the activities that in each subject, the professors will carry out so much in the student's presence, as those that indicate to the elevens that should execute, in an autonomous way, to achieve with success the acquisition of the competences of the degree foreseen to develop in the subject. Likewise, the faculty should indicate the evaluation way that will use in each one of his subjects. The work is the valuation of the use of different methodologies, so much didactic as of evaluation, indicated by the professors that impart the

^a Escuela Técnica Superior de Ingeniería del Diseño, Universidad Politécnica de Valencia, C/ Camino de vera s/n, 46022 Valencia, tpardo@qim.upv.es.

classes in the subjects of Industrial Technical Engineer's degree, specialty of Industrial Chemistry.

Key words: learning, didactics, evaluation, methodology.

INTRODUCCIÓN

La armonización de los sistemas universitarios exigida por el proceso de construcción del Espacio Europeo de Educación Superior (EEES), supone un cambio sin precedentes en todas las universidades europeas. La nueva organización de las enseñanzas universitarias responde no solo a un cambio estructural sino que, además, impulsa a un cambio en las metodologías docentes, que centra su objetivo en el proceso de aprendizaje del estudiante, y que se extienda a lo largo de toda la vida¹⁻⁵.

La docencia universitaria se viene centrando, sobretudo, en los contenidos disciplinares, algo menos en las metodologías docentes, y se ha caracterizado por un escaso o nulo control de la tarea del alumno fuera del aula. La adaptación al EEES implica un cambio de la actividad del estudiante, siendo este el núcleo articulador de la actividad docente. El trabajo que debe realizar el discente para conseguir el dominio de una determinada competencia es uno de los elementos clave del proceso de transformación de la docencia tradicional en la universidad, hacia los nuevos parámetros derivados del proceso de Bolonia. En este marco, tienen especial relevancia no sólo las diferentes estrategias que se desarrollan en el horario lectivo, sino también la previsión de actividades que deben realizarse al margen del contacto docente-discente. Por tanto, el docente debe plantearse la programación de su materia para una docencia presencial y programar lo que debe de hacer cada estudiante como complemento a las actividades presenciales. En la elaboración del proyecto docente o en la elaboración de las guías de las asignaturas se debe planificar el tiempo de trabajo (aprendizaje) del estudiante según la naturaleza de dicho trabajo, que se puede tipificar como:

- Aprendizaje presencial
- Aprendizaje no presencial
- Aprendizaje autónomo

Aprendizaje presencial se da cuando se produce el contacto docente-discente, se desarrolla principalmente en espacios de Centro, ya sea en aulas, laboratorios, seminarios u otros donde se efectúen actividades por alumno en presencia de docentes. El aprendizaje no presencial se considera como el resultado de las actividades que realiza el estudiante a partir de pautas, guiones o criterios facilitados por el profesorado. El aprendizaje autónomo es el resultado de otras actividades o tareas que desarrollaba cada estudiante, en el marco de cada asignatura, pero por iniciativa propia y con sistemas de autorregulación totalmente autónomos. Estos dos últimos, sin presencia del docente, se pueden desarrollar en espacios de la universidad o en otros espacios pero necesitan de tiempos y espacios asignados puesto que en algunos casos requieren de la utilización de recursos que sólo se encuentran en la universidad. Por ello, hay que ver la manera de combinar la actividad presencial con las demás estudiando la franja horaria donde se pueden realizar las diferentes actividades⁶⁻⁹.

Desde hace unos años en la Universidad Politécnica de Valencia (UPV), se vienen realizando una serie de acciones encaminadas a mentalizar tanto al profesorado como al alumnado hacia los nuevos modelos de enseñanza-aprendizaje. Las acciones relacionadas de un modo más directo con la docencia, tratan de fomentar en el profesorado la aplicación de las metodologías activas y diferentes métodos de evaluación. El uso de diferentes métodos didácticos, por parte del profesor, requiere un tiempo tanto de preparación así como de seguimiento y evaluación de

la actividad, que cuando los grupos son numerosos es arduo de realizar. El cambio de la programación docente no es un proceso fácil; el personal suele ser reacio, debido a que cualquier modificación supone un esfuerzo añadido, que no siempre es valorado, debido a que, en la elaboración de los planes de ordenación docente (POD) de los Centros solo se contempla la carga horaria que cada profesor debe de utilizar para impartir la docencia de su materia, el horario presencial más las tutorías, sin tener para nada en cuenta, el tiempo que cada uno necesita para la preparación de la programación de la asignatura, preparación de materiales, de prácticas, corrección de trabajos, exámenes, etc. Por otro lado, a los alumnos el trabajo continuo les parece que es un esfuerzo constante y, en muchos casos, prefieren seguir los estudios del modo “tradicional”, asistiendo a las clases y realizando, tan solo, el examen final para su evaluación. Además, hay que considerar que este proceso de convergencia afecta a todo el personal, no sólo al docente y discente sino también al personal de administración y servicios; por ello la ejecución de todos los cambios se debe de ir introduciendo de modo gradual¹⁰⁻¹⁴.

La Escuela Técnica Superior de Ingeniería del Diseño, está inmersa en dicho proceso de adaptación y se están considerando, entre otras, las cuestiones referentes a la nueva programación de los aprendizajes y coordinación docente, así como a su puesta en marcha, seguimiento y control. Para ello entre las acciones propuestas al profesorado, dentro del proceso de convergencia, se implantó la elaboración de las guías docentes de las asignaturas, siguiendo un modelo de guía propuesto por la universidad, del cual existe una aplicación informática¹⁵. En dicha aplicación el profesor debe indicar, entre otros puntos, se contemple la metodología que se va utilizar en la asignatura con carácter presencial y la que el alumno, de modo autónomo, estima que puede realizar; y por otro lado, los métodos de evaluación que va a utilizar. El resultado de esta acción ha dado lugar al objeto del trabajo, que es evaluar el grado de utilización de las metodologías de enseñanza-aprendizaje y de evaluación en la titulación de Ingeniero Técnico Industrial, especialidad Química Industrial.

PARTE EXPERIMENTAL

Para la realización del estudio se han tomado, como base para obtener la información, las guías docentes elaboradas de diferentes asignaturas que se imparten en la titulación de Ingeniero Técnico Industrial, especialidad Química Industrial, donde se detallan las actividades, que el profesorado ha decidido utilizar en su asignatura, tanto para el trabajo presencial como autónomo y las actividades utilizadas en la evaluación de cada una de las asignaturas.

En el estudio se han considerado asignaturas de los tres cursos de la titulación, incluyendo en el tercer curso las asignaturas correspondientes a los bloques de intensificación (BI), separando las actividades realizadas en las asignaturas troncales (T) obligatorias de universidad (OU), y las de bloques de intensificación (BI), por un lado, y por otro las actividades de las asignaturas optativas (Op).

En las tablas 1 y 2 se recogen las actividades que se contemplan en la aplicación informática de las guías docentes con una breve descripción de lo que es cada una. En dicha aplicación el profesorado puede indicar directamente cuáles son las técnicas didácticas que va a utilizar en su asignatura y lo que desean que el alumno realice.

Tabla 1. Actividades de trabajo presencial

	Actividades	Descripción
Teoría	Clase presencial	Exposición de contenidos mediante presentación o explicación (posiblemente incluyendo demostraciones) por un profesor.
	Seminario	Técnica de trabajo en pequeños grupos cuya finalidad es el estudio intensivo de un tema, en sesiones planificadas, usando fuentes autorizadas de información..
	Trabajo en grupo	Sesión supervisada donde los estudiantes trabajan en tareas individuales y reciben asistencia y guía cuando es necesaria.
	Aprendizaje basado en problemas	Enfoque educativo orientado al aprendizaje y a la instrucción en el que los alumnos abordan problemas reales en pequeños grupos y bajo la supervisión de un tutor.
	Caso	Técnica en la que los alumnos realizan situaciones profesionales presentadas por el profesor, con el fin de realizar una conceptualización experimental y realizar una búsqueda de soluciones eficaces.
	Presentación de trabajos de grupo	Exposición de ejercicios asignados a un grupo de estudiantes que necesita trabajo cooperativo para su conclusión.
	Proyectos	Situaciones en las que el alumno debe explorar y trabajar un problema práctico aplicando conocimientos interdisciplinarios.
Práctica	Clases prácticas	Cualquier tipo de prácticas de aula (estudio de casos, análisis diagnósticos, problemas, etc.).
	Laboratorio	Actividades desarrolladas en espacios especiales con equipamiento especializados (laboratorio, aulas informáticas).
Común	Tutoría	Período de instrucción realizado por un tutor con el objetivo de revisar y discutir los materiales y temas presentados en las clases.
	Evaluación	Conjunto de pruebas escritas, orales, prácticas, proyectos, trabajos, etc. utilizados en la evaluación del progreso del estudiante.

Tabla 2. Actividades de trabajo autónomo

Actividades	Descripción
Trabajos teóricos	Preparación de seminarios, lecturas, investigaciones, trabajos, memorias, etc. para exponer o entregar en las clases teóricas. No computar el tiempo de exposición o debate en clase, sino sólo el tiempo total de preparación de trabajos (y también de ensayos, resúmenes de lecturas, seminarios, conferencias, obtención de datos, análisis, etc.).
Trabajos prácticos	Preparación de actividades para exponer o entregar en las clases prácticas.
Estudio teórico	Estudio de contenidos relacionados con las "clases teóricas": Incluye cualquier actividad de estudio que no se haya computado en el apartado anterior (estudiar exámenes, trabajo en biblioteca, lecturas complementarias, hacer problemas y ejercicios, etc.).
Estudio práctico	Estudio de contenidos relacionados con las "clases prácticas".
Actividades complementarias	Tutorías no académicas, actividades formativas voluntarias relacionadas con la asignatura pero no con la preparación de exámenes o con la calificación: lecturas, seminarios, asistencia a congresos, conferencias, jornadas, vídeos, etc. También actividades de gestión y auxiliares: pasar apuntes, gestiones de biblioteca, realización de fotocopias, etc.
Trabajo virtual	Metodología basada en el trabajo colaborativo que parte de un espacio virtual, diseñado por el profesor y de acceso restringido, en el que se pueden compartir documentos, trabajar sobre ellos de manera simultánea, agregar otros nuevos, comunicarse de manera sincrónica y asincrónica, y participar en todos los debates que cada miembro puede constituir.

De modo análogo al utilizado para determinar el tipo de metodología didáctica empleada, se puede señalar en la aplicación el tipo de evaluación que se va a utilizar. En la tabla 3 se detallan las técnicas de evaluación que se contemplan en la aplicación informática de la guía docente.

Tabla 3. Metodologías de evaluación

Actividades	Descripción
Examen oral	Método imprescindible para medir los objetivos educacionales que tiene que ver con la expresión oral.
Prueba escrita de respuesta abierta	Prueba cronometrada, efectuada bajo control, en la que el alumno construye su respuesta. Se le puede conceder o no el derecho a consultar material de apoyo.
Pruebas objetivas (test)	Examen escrito estructurado con diversas preguntas o ítems en los que el alumno no elabora la respuesta; sólo ha de señalarla o completarla con elementos muy precisos.

sigue tabla 3 ...

... viene

Mapa conceptual	Muestra la forma de relacionar los conceptos clave de un área temática.
Trabajo académico	Desarrollo de un proyecto que puede ir desde trabajos breves y sencillos hasta trabajos amplios y complejos propios de últimos cursos y de tesis doctorales.
Preguntas minuto	Preguntas abiertas que se realizan al finalizar una clase (dos o tres).
Diario	Informe personal e informal en el que se pueden encontrar preocupaciones, sentimientos, observaciones, interpretaciones, hipótesis, explicaciones...
Portafolio	Conjunto documental elaborado por un estudiante que muestra la tarea realizada durante el curso en una materia determinada.
Proyecto	Es una estrategia didáctica en la que los estudiantes desarrollan un producto nuevo y único mediante la realización de una serie de tareas y el uso efectivo de recursos.
Caso	Supone el análisis y la resolución de una situación planteada que presenta problemas de solución múltiple, a través de la reflexión y el diálogo para un aprendizaje grupal, integrado y significativo.
Observación	Estrategia basada en la recogida sistemática de datos en el propio contexto de aprendizaje: ejecución de tareas, prácticas...

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Partiendo de las guías elaboradas de las asignaturas de la titulación de Ingeniería Técnica Industrial, especialidad de Química Industrial, se han considerado por un lado las guías de las asignaturas troncales, obligatorias de universidad y las de los bloques de intensificación y por otro lado las guías de las asignaturas optativas; algunas de estas pueden ser también de otras titulaciones. En la tabla 4 se indican el nº de guías elaboradas.

Tabla 4. Número de guías docentes elaboradas

Especialidad	nº guías T, OU. y BI			nº guías Op.
	1º	2º	3º	
Química Industrial	7	8	14	48

Se ha representado el tanto por ciento de las asignaturas que utilizan las diferentes actividades propuestas, partiendo de los datos obtenidos indicados por los profesores, de las actividades a realizar con los alumnos, trabajo presencial, así como, las que deberían de realizar los alumnos por sí mismos, trabajo autónomo, y los métodos de evaluación utilizados.

Actividades presenciales:

En las figuras 1 y 2 se puede observar las actividades que el profesor y el alumno realizan conjuntamente. De los datos correspondientes a la figura 1, se deduce que, para las asignaturas troncales, obligatorias de universidad y bloques de intensificación, la clase presencial la utilizan en todas las asignaturas; el laboratorio junto con la evaluación están por encima del 80%, seguido por el seminario 65% y el aprendizaje basado en problemas 52%. El trabajo en grupo, la clase práctica y la tutoría se trabajan en el 43% de las asignaturas; el método del caso en un 22% y el resto de actividades son empleadas por debajo del 20%.

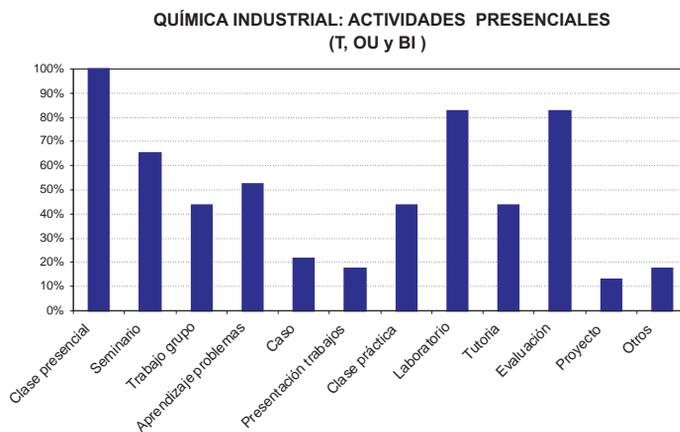


Figura 1. Actividades presenciales: asignaturas troncales, obligatorias de universidad y bloques de intensificación.

Considerando las asignaturas optativas, figura 2, lo más utilizado sigue siendo la clase presencial alrededor del 90%, seguida por la evaluación 79% y la clase práctica 66%. La aplicación de técnicas como el trabajo en grupo, aprendizaje basado en problemas y los laboratorios están entre el 58 y el 50%. El resto de actividades presentan un nivel de uso entre el 47 y 24 %, mayor que el de las asignaturas de carácter troncal. Se observa que existe más diversificación de técnicas utilizadas.

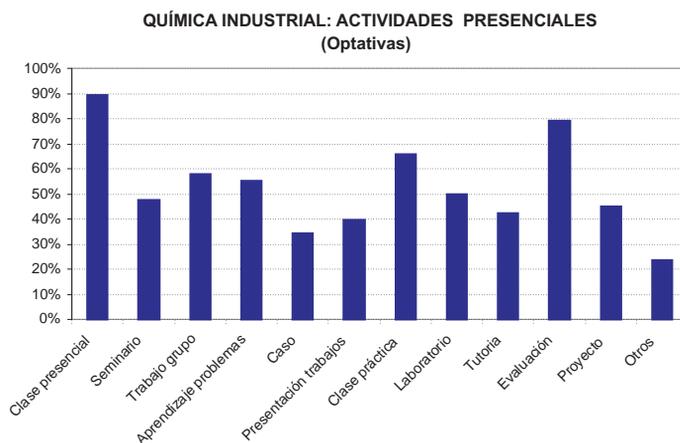


Figura 2. Actividades presenciales: asignaturas optativas

Actividades autónomas:

Considerando el trabajo a realizar por el alumno propuesto por el profesorado, para las asignaturas troncales, obligatorias de universidad y de bloques de intensificación, figura 3, se

puede ver que lo que más demandan es el trabajo práctico y el estudio teórico ambos en el 83% de las asignaturas, seguido del trabajo teórico 61%, estudio práctico 47% y las actividades complementarias 43%. El trabajo virtual es el menos utilizado en un 4% de las asignaturas.

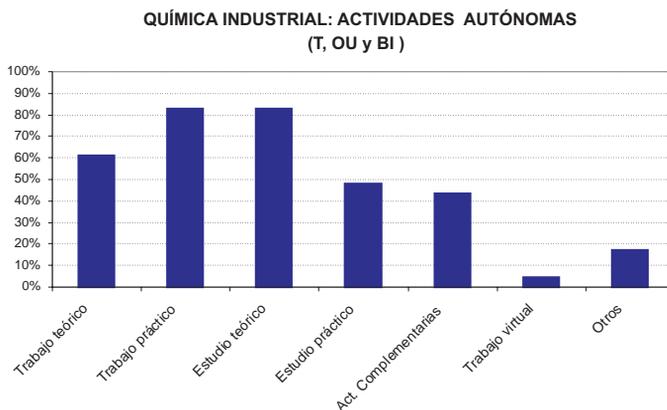


Figura 3. Actividades autónomas: asignaturas troncales, obligatorias de universidad y bloques de intensificación.

En las asignaturas optativas, figura 4, se pone de manifiesto que sigue teniendo gran importancia el trabajo práctico, en el 84% de las asignaturas, seguido del estudio teórico 63% y trabajo teórico 58%. Con menor frecuencia de uso nos encontramos con el estudio práctico 34%. Las actividades complementarias, el trabajo virtual y otros son utilizados entre el 13 y 8%.

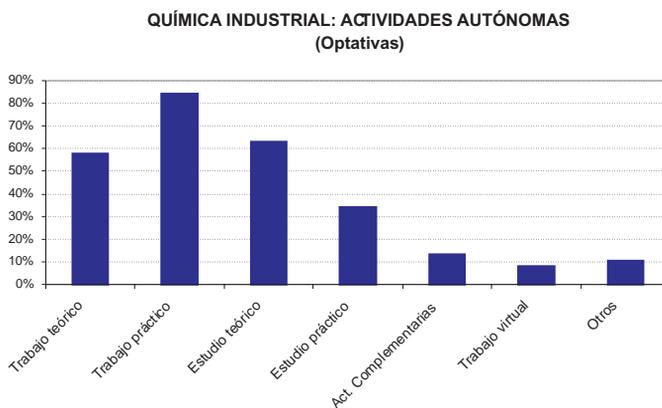


Figura 4. Actividades autónomas: asignaturas optativas

Actividades de evaluación

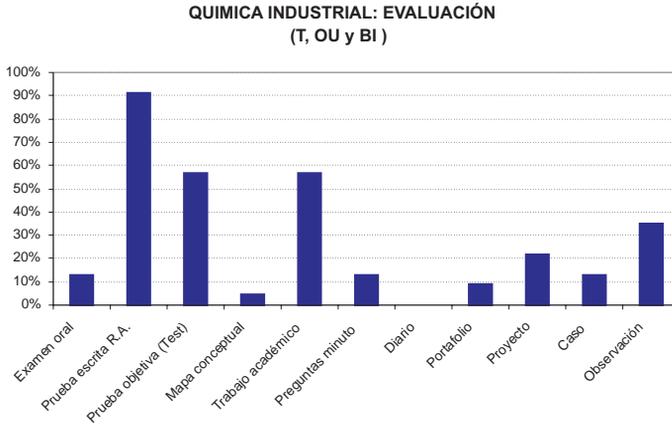


Figura 5. Actividades evaluación: asignaturas troncales y obligatorias de universidad y bloques de intensificación.

Respecto a la manera de evaluar a los alumnos, en las asignaturas troncales, obligatorias de universidad y en las de los bloques de intensificación, figura 5, por encima del 90% de las asignaturas realizan la prueba escrita de respuesta abierta, la pruebas objetivas y el trabajo académico son utilizados en un 56%, le sigue la observación con un 35% y el resto de técnicas son menos utilizadas entre el 13 y 4%. Cabe destacar que la realización del diario no se utiliza en ninguna asignatura.

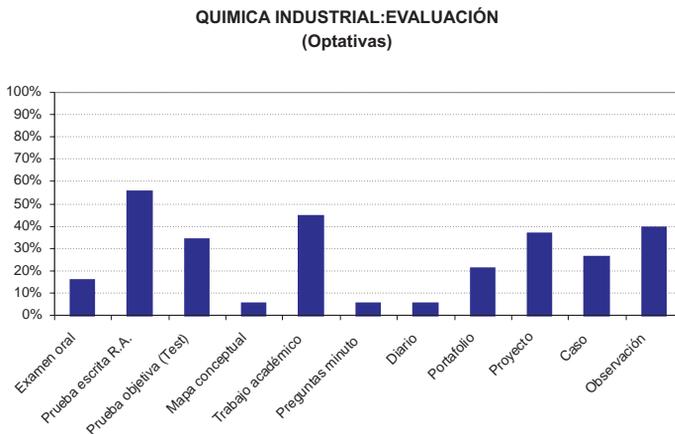


Figura 6. Actividades evaluación: asignaturas optativas

En las asignaturas optativas se utilizan en mayor porcentaje, que en las asignaturas troncales, las actividades evaluativas menos comunes. El porcentaje de asignaturas con prueba escrita de respuesta abierta está sobre el 55%, seguida del trabajo académico. Se observa que se emplean más otro tipo de evaluaciones que no han sido muy usadas hasta ahora como la observación 40%, el proyecto 37%, las pruebas tipo test 34%, el caso 26%, el portfolio 21%. Los mapas conceptuales, las preguntas al minuto y el diario presentan el mismo porcentaje de utilización sobre el 5%, figura 6.

CONCLUSIONES

- La clase presencial es la actividad que se utiliza, en el 100% de las asignaturas troncales y en la mayoría de las asignaturas optativas 89%. En las asignaturas optativas la diversificación de las actividades está más acentuada que en las troncales el porcentaje de la utilización de las diferentes actividades es más elevado.
- De las actividades autónomas, lo que más demandan los profesores es el trabajo práctico y el estudio teórico, seguidos por el trabajo teórico, tanto en asignaturas troncales como en optativas.
- Respecto a la evaluación, la prueba escrita de respuesta abierta es la más utilizada en las asignaturas troncales; en las optativas esa prueba es menos empleada y hay más diversificación del uso de diferentes técnicas.
- En las asignaturas optativas es donde se realizan las actividades que se desmarcan más del modelo tradicional, utilizando diferentes metodologías, tanto en la didáctica como en la evaluación.

AGRADECIMIENTO

Al Vicerrectorado de Convergencia Europea de la UPV por su contribución al desarrollo de las acciones necesarias.

BIBLIOGRAFÍA

1. “El Crédito Europeo y el Sistema Educativo Español” Informe Técnico Madrid, 28 de octubre de 2002 <http://www.crue.org/espaeuro/encuentros/credito.pdf>
2. Suarez Arroyo B. Adecuación de las titulaciones del sistema universitario español al Espacio Europeo de Educación Superior” http://www.upc.edu/eees/contingut/arxiu/EA_2003.pdf
3. Propuesta de directrices para la elaboración de los títulos universitarios de Grado y Master. Ministerio de Educación y Ciencia. 21 de diciembre 2006 <http://www.mec.es/>
4. Salaburu P. La universidad en la encrucijada: Europa y EEUU. Madrid, Academia Europea de Ciencias y Artes, 2006
5. Propuesta para la renovación de las metodologías educativas en la universidad. MEC. Madrid. Secretaria Técnica General, 2006,
6. De Miguel M. Modalidades de la enseñanza centrada en el desarrollo de competencias. MEC Universidad de Oviedo, 2005
7. Delgado A M. Competencias y diseño de la evaluación continua y final en el Espacio Europeo de Educación Superior. MEC. 2005

8. Yañiz, C, Villardon L. Planificar desde competencias para promover el aprendizaje. Bilbao. Universidad de Deusto, 2006
9. De Miguel M. Metodologías de la enseñanza y el aprendizaje para el desarrollo de competencias. Orientaciones para el profesorado universitario ante el Espacio Europeo de Educación Superior. Madrid. Alianza, 2006,
10. Ballester E, Pardo T, Marti J, Montes A. Proceso de adaptación al EEES de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Diseño de Valencia. Actas del Congreso de Innovación Educativa de las Enseñanzas Técnicas Universitarias. Las Palmas 21-23 septiembre 2005.
11. Edward M, Ballester E, Pardo T. Implicación del personal de la administración y servicios en el proceso de convergencia. Actas del Congreso de Innovación Educativa de las Enseñanzas Técnicas Universitarias. Gijón. 27-29 septiembre 2006.
12. Vicerrectorado de Coordinación Académica y Alumnado, Proyecto Europa, Universidad Politécnica de Valencia 2001.
13. Gomez E. La mejora de la enseñanza en la universidad. Universidad Politécnica de Valencia, 2002
14. Plan de Acciones de Convergencia Europea, (PACE), Universidad Politécnica de Valencia, 2005
15. Instituto de Ciencias de la Educación. Guía del docente de la UPV: Criterios para su elaboración, Universidad Politécnica de Valencia, 2006

Enseñanza de la Química

LA EDUCACIÓN DE JÓVENES Y ADULTOS Y LA ENSEÑANZA DE QUÍMICA EN MATO GROSSO, BRASIL

Irene Cristina de Mello^{*a}, Marcel Thiago Damasceno Ribeiro^a

RESUMEN

Este trabajo se inserta en el ámbito de las investigaciones que recogen profundizar la comprensión y desvelar la realidad de los jóvenes de la Educación de Jóvenes y Adultos (EJA) y su interacción con los conocimientos químicos. Partimos de la problemática que circunda la tríada "Jóvenes, EJA y Enseñanza de Química". Esta investigación se basa en las hipótesis teóricas de autores que se dedican a los estudios sobre la EJA, Juventud y Enseñanza de Química. La metodología se fundamentó en la contribución de la perspectiva cualitativa. Los sujetos de la investigación son los jóvenes de la III fase de la enseñanza secundaria y profesores de Química del CEJA - Cesário Neto en Cuiabá, Mato Grosso. Los instrumentos utilizados para la recogida de datos fueron dos cuestionarios y entrevista semi-estructurada. Entre los resultados obtenidos, se verifica que en la actual valorización del conocimiento científico y en el creciente desarrollo tecnológico de la sociedad, la adquisición de conocimientos de Química se hace indispensable para la formación de ciudadanos críticos. Por lo tanto, la enseñanza de Química debe estar centrada en la inter-relación de dos componentes básicos: conocimiento químico y el contexto social.

Palabras clave: Jóvenes, EJA, enseñanza de la química, conocimiento químico

THE ADULT YOUNG EDUCATION AND THE CHEMISTRY EDUCATION IN MATO GROSSO, BRAZIL

ABSTRACT

This work fits into the framework of research that seeks to deepen the understanding and unveiling the reality of young people from the Youth and Adult Education (EJA) and its interaction with the chemical knowledge. We leave the problem surrounding the triad "Young, EJA and Teaching of Chemistry." This research is founded on the theoretical assumptions of authors who choose to study on the EJA, Youth and Education in Chemistry. The methodology was based on the contribution of qualitative perspective. The research subjects are the youth of the Phase III high school teacher of chemistry and the CEJA Cesario Neto in Cuiaba, Mato Grosso. The instruments used for data collection were two questionnaires and semi-structured interview. Among the results, it appears that the current valuation of scientific and technological development in growing the company, ownership of knowledge of chemistry becomes essential to the formation of critical citizens. Therefore, the teaching of chemistry should be focused on inter-relationship of two basic components: chemical knowledge and social context.

Key words: Young, EJA, teaching of chemistry, chemist knowledge.

^a Universidad Federal de Mato Grosso, Cuiabá, Mato Grosso, Brasil.
icmello@terra.com.or

INTRODUCCIÓN

Las cuestiones fundamentales orientadoras de la investigación son: ¿Por qué tantos jóvenes optan por la EJA? y ¿los conocimientos químicos tienen alguna implicación en la formación personal y profesional de esos jóvenes?

La Educación de Jóvenes y Adultos está fundamentada en la importancia de considerar el perfil arquetipo de sus alumnos, así como, en la satisfacción de las necesidades de aprendizaje de jóvenes y adultos de educación básica incompleta o jamás iniciada, que conforme esclarezca Fonseca “(re)toman su vida escolar presentando perspectivas y expectativas, demandadas y contribuciones, desafíos y deseos propios en relación a la educación escolar”^[1].

Al hacer un análisis de la EJA, en un sentido amplio, tomándose como referencia la pluralidad de los sujetos que de ella forman parte, se puede constatar que lejos de que está sirviendo a la democratización de las oportunidades educativas, ella se adapta al lugar de los que pueden menos y obtienen menos. De acuerdo con Arroyo², las miradas sobre la condición social, política, y cultural de los alumnos de EJA han condicionado las diversas concepciones de la educación que les es ofrecida, los lugares sociales a ellos reservados, tales como marginales, oprimidos, excluidos, miserables; ha condicionado el lugar reservado a su educación en el conjunto de las políticas públicas oficiales. Siendo así, se debe tener en cuenta la diversidad de esos grupos sociales: perfil socio-económico, étnico, de género, de localización espacial y de participación socio-económica; requiriendo un pluralismo, tolerancia y solidaridad en su promoción, y en la oportunidad de espacios.

La Educación de Jóvenes y Adultos, en líneas generales, se encuentra en procesos formativos de naturaleza diversa, cuya realización se da a partir de la interacción de una variedad de actores, envolviendo, de un lado, al Estado, al sector privado y a las organizaciones de la sociedad civil y, de otro lado, a una gama de sujetos tan diversificados y extensos cuantos son los representantes de las capas más empobrecidas de la población (negros, jóvenes, ancianos, trabajadores, poblaciones rurales etc.). En ese punto se retratan trabajadores y no-trabajadores, de las diversas juventudes, de las poblaciones de las regiones metropolitanas y rurales, de los internos de la cárceles, contingentes esos que, en su gran mayoría, están conformados por jóvenes; afro-descendientes, como también portadores de necesidades especiales, entre otros. Gadotti y Romão³ afirman que en la EJA:

“Esa población llega a la escuela con un saber propio, elaborado a partir de sus relaciones sociales y de sus mecanismos de supervivencia. El contexto cultural del alumno trabajador debe ser el puente entre su saber y lo que la escuela puede proporcionar, evitando, así, el desinterés, los conflictos y la expectativa de fracaso que acaban proporcionando un alto índice de evasión.”

En entrevista al periódico brasileño 'Veja' de São Paulo de 22/08/2006, Stela Piconez, dijo que: “el formato de la Escuela para Jóvenes y Adultos no atiende a las necesidades básicas de aprendizaje”; afirma también que la modalidad EJA debería ser diseñada para un perfil de alumno que es más viejo y que ya trabaja. “Los temas no están relacionados lo usual del trabajo, y la planilla contempla cinco clases diarias, lo que es imposible para alguien que ya trabajó ocho horas el día”⁴.

En ese sentido, débese construir una EJA que produzca sus procesos pedagógicos, considerando quiénes son esos sujetos, y pensar sobre las posibilidades de transformar la escuela que los atiende en una institución “abierto”, que valora sus intereses, conocimientos y expectativas; que favorezca su participación; que respete sus derechos en “prácticas” y no solamente en enunciados de programas y contenidos; que motive, movilice y desarrolle

“conocimientos que partan de la vida de esos sujetos”; que demuestre interés por ellos como ciudadanos y no solamente como objetos de aprendizaje.

De acuerdo con Andrade⁵, el espacio educativo no es abstracto; está constituido por los sujetos que viabilizan su existencia, como profesores, directores, alumnos, familiares etc., y por las relaciones que establecen entre sí, inclusive las de conocimiento, por medio de sus propuestas pedagógicas, curriculares, metodológicas, acceso a materiales, equipamientos, producción y bienes culturales etc. Por lo tanto, como señalan los jóvenes, para cambiar la actual situación, es necesario tener “actitud”. Se debe buscar entender lo que esos sujetos en la condición de alumnos vienen intentando demostrar, explícita o implícitamente, sea por el abandono, por la renuncia, por la dificultad de permanencia, sea por las formas con que organizan sus necesidades y anhelos.

Así, se parte de la hipótesis que la enseñanza de Química en la (EJA) no debe ser entendido como una reposición de la escolaridad perdida, como normalmente se configuran los cursos acelerados, en los moldes de lo que ha sido la enseñanza supletoria. Debe, sí, construir una identidad propia, sin concesiones a la calidad de enseñanza de los conocimientos químicos. En ese momento, las reflexiones del educador químico, Attico Chassot, ayudan cuando propone alternativas para una enseñanza con utilidad, donde se recoge mostrar una educación a través de la Química que: "Contribuya para la alfabetización científica del ciudadano y de la ciudadana; haga la migración del esoterismo al exoterismo, y así, facilite la lectura del mundo"⁶.

PARTE EXPERIMENTAL

La metodología se fundamentó en la contribución de la perspectiva cualitativa, con vistas a sus potencialidades en posibilitar al investigador la búsqueda de explicación profundizada y de la comprensión de fenómenos complejos, como los que forman parte del contexto educativo. Inicialmente se realizó una investigación del tipo bibliográfica para la comprensión de la organización del currículo de la Química de la enseñanza secundaria de la Educación de Jóvenes y Adultos, usando como fuente de ese análisis las propuestas oficiales del Ministerio de la Educación, de Municipios y Estados. Se definieron los criterios de análisis a partir de la lectura de los documentos, mediante el surgimiento de ideas conflictivas y/o coincidentes. Como parámetro se tomó la reflexión sobre la enseñanza de los conocimientos químicos en una perspectiva de alfabetización científica⁷, buscando entender de qué forma las propuestas oficiales atienden a las especificidades de la EJA. Posteriormente se recogió diagnosticar la realidad de los alumnos de ese segmento e identificar recursos de enseñanza de Química en el proceso de enseñanza-aprendizaje de esos jóvenes.

Los sujetos de la investigación, son los jóvenes de la III fase de la enseñanza secundaria y profesores de Química del Centro de Educación de Jóvenes y Adultos Cesário Neto "CEJA Cesário Neto" en la ciudad de Cuiabá, Mato Grosso. Los instrumentos utilizados para la recogida de datos fueron dos cuestionarios y entrevista semi-estructurada. Para el análisis y reflexión de las informaciones obtenidas, la investigación se basó en la perspectiva del abordaje interpretativo. Se buscó, por lo tanto, recolectar datos para subsidiar una reflexión acerca de las interacciones de los alumnos de la EJA con la Química como campo científico-educativo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Oír los jóvenes que formaron parte de este estudio, saber de sus inquietudes, sus deseos y proyectos, posibilitó conocer un poco de la realidad de la juventud actual y su interacción con la Química. Al atraer a los jóvenes y adultos a la escuela, es preciso garantizar que él no

abandone las clases; finalmente, los resultados con la EJA demuestran que a pesar del crecimiento de matriculas, la tasa de abandono aún es muy elevada.

Del universo de los alumnos de la III fase de la enseñanza secundaria, se aplicó el cuestionario (Q1), con un total de 111 alumnos distribuidos en los tres periodos ofrecidos en el Centro, siendo tres grupos en el matutino, uno en el vespertino y cuatro en el nocturno. Del total de esa muestra un 54% están en la franja de edad de los 17 a los 24 años, un 14% en la franja de los 25 a los 33 años, un 18% en la franja de los 34 a los 42 años, un 14% en la franja de los 43 a los 63 años. Se puede constatar ante esos datos que hay una presencia de más del 50% del público joven terminando su formación básica en la modalidad de la EJA.

Con el propósito de analizar el público joven de ese CEJA, trayectoria escolar e interacción con la Química de los jóvenes de la III fase de la enseñanza secundaria, se usaron sólo los cuestionarios respondidos por los alumnos que están en la franja de edad de los 17 a los 24 años, utilizando como categoría de elección el corte de edad de esos alumnos que, según el Instituto Brasileño de Investigación y Estadística (IBGE), la franja de la juventud comprende de los 15 a los 24 años de edad. Un 54% del público joven que está concluyendo el bachillerato en la EJA en el CEJA Cesário Neto, 54% son del sexo masculino y un 46% del sexo femenino, un 14% blancos, 39% negros, 45% pardos y 2% otros.

Al preguntar a los jóvenes el por qué por la opción de la modalidad de enseñanza EJA, varios fueron los motivos, como podemos constatar en las palabras de algunos jóvenes, como la alumna Y “Opté por la EJA porque yo ya abandoné los estudios antes y me quedé con vergüenza de estudiar en una escuela que no tiene EJA”; el alumno X “Es una forma de enseñanza más práctica y flexible que nos da más oportunidad de que continuemos estudiando”, y el alumno Z “Porque yo repetí dos años, estoy atrasado y necesito hacer una facultad para poder mejorar mis condiciones”.

Otro aspecto importante a analizar es que, de los jóvenes que fueron escogidos para la entrevista, algunos tienen, en su trayectoria escolar, traumas que fueron decisivos en su proceso escolar y en su vida particular, como podemos observar en el siguiente testimonio:

“Mi profesora, en la tercera serie, que absurdo! Ella cogía libro grande así, muy grueso y pegaba con él así...pala!!! Yo estaba normal, mi edad era aquella, yo estaba quieta. Yo me quedé asustada, aquello no era para mí, mi madre no me pegaba. Yo le dije a mi madre que no quería volver a clase. Y ya no fui a clase” (Alumna M).

Paulo Freire⁸ enseña que el diálogo es una exigencia existencial. Es también amor. Por lo tanto, antes de cualquier reflexión, sea ella social, política o de cualquier naturaleza, no podemos prescindir de categorías como diálogo y amor. Las relaciones humanas se pulverizan o se desgastan cuando esas dos palabras dejan de formar parte del cotidiano, de aquellos que pretenden con el otro construir algo. Boff⁹ nos dice que:

“Construimos el mundo a partir de lazos afectivos. Esos lazos hacen las personas y las situaciones preciosas, portadoras de valor. Nos preocupamos con ellas. Tomamos tiempo para dedicarnos a ellas. Sentimos responsabilidad por el lazo que creció entre nosotros y los otros.”

En ese contexto, el estar junto con más diálogo y afecto con esos jóvenes es importante para la continuidad de sus estudios, y quién sabe, para la disminución de algunos “traumas” que la escuela regular haya dejado en ellos.

Preguntados los jóvenes si es importante estudiar Química para su formación personal y profesional, 88% respondieron que sí y 12% que no, y según estos, la enseñanza de Química que ellos reciben es importante para la comprensión de los fenómenos y de los avances científico-tecnológicos de la sociedad actual.

Del universo de los profesores de Química del CEJA Cesário Neto, se aplicó el cuestionario (Q2) con un total de 5 profesores que enseñan Química en los tres periodos: matutino, vespertino y nocturno, para la III fase de la enseñanza secundaria. Del total de esa muestra 3 (tres) son titulados en Química y 2 (dos) en Biología; en relación la situación funcional 3 (tres) son fijos y 2 (dos) son contratados, siendo esos contratados que poseen titulación en Biología. Ante esos datos puede inferirse la necesidad de profesores titulados en Química para que actúen en la educación básica.

En relación a los profesores, al preguntar al profesor A cómo define él a su alumno de la EJA:

La mayoría de los alumnos son trabajadores, se desplazan directamente del trabajo para la escuela. Teniendo una condición salarial baja, para su sostén familiar y convivencia en la sociedad. Sus principales problemas son de naturaleza sociales, sobresaliendo la necesidad de trabajar es no de estudiar.

Al indagar la profesora B sobre cuáles son las habilidades que un alumno de la EJA tiene que obtener por medio de la enseñanza de Química, ella respondió:

Reconocer el sentido histórico de la ciencia de la Química y de su aplicación tecnológica, percibiendo su papel en la construcción de la vida humana y de la sociedad.

Se verificó también, a través de las entrevistas con los profesores, la preocupación de la formación continuada en lo que atañe a la EJA, pues al pensar la enseñanza de Química en esa modalidad es preciso garantizar materiales didácticos adecuados para la franja de edad, contenidos con significados, metodologías apropiadas y profesores de Química preparados para trabajar con personas que poseen edades y rutinas diferenciadas (estudian y trabajan) y, muchas veces, se encuentran por largos periodos alejados del aula. De ese modo, es preciso que el profesor de Química conozca las especificidades de ese público y que pueda usar la realidad del alumno como eje conductor de la enseñanza-aprendizaje.

En ese sentido, Gadotti¹⁰ añade que ser profesor hoy, no es ni más difícil y ni más fácil que era en épocas anteriores; él afirma que es diferente, o sea, ante la velocidad con que la información se mueve, envejece y muere, ante un mundo que cambia constantemente, sino en la fundamental labor de educar, por lo menos la labor de enseñar, es conducir el aprendizaje; la formación continuada del profesor se hace permanentemente necesaria.

Ante ese contexto, el profesor es más un intermediario del conocimiento, delante del alumno, que responsable de su propia formación, pues el alumno de la EJA necesita construir y reconstruir conocimiento a partir de lo que hace. Para eso, el profesor también necesita ser curioso, buscar el sentido de lo que hace y mostrar nuevos sentidos para el “que hacer” de sus alumnos. Así él dejará de ser un simple transmisor, para ser un organizador del aprendizaje. Compartiendo la responsabilidad del aprendizaje del alumno con la escuela, ella también tiene el reto para cambiar la lógica de la construcción de conocimiento, pues el aprendizaje ahora ocupa toda nuestra vida; y porque pasamos todo el tiempo de nuestras vidas en la escuela, tenemos y debemos ser felices en ella. Siendo que la felicidad en la escuela no es una cuestión de opción metodológica o ideológica, pero sí una obligación esencial de ella.

Uno de los principales pilares para la formación continuada de profesores de acuerdo con Delors¹¹ es aprender a conocer, qué es el placer de comprender, descubrir, construir y reconstruir el conocimiento, curiosidad, autonomía, atención. Él dice que es inútil intentar conocer todo y eso supone una cultura general, lo que no perjudica el dominio de determinados asuntos especializados. Aprender a conocer es más que aprender a aprender. Aprender más lenguajes y metodologías que contenidos, pues éstos envejecen rápidamente. No basta aprender a conocer. Es preciso aprender a pensar, a pensar la realidad y no sólo

“pensar pensamientos”, pensar lo ya dicho, lo ya hecho, reproducir el pensamiento. Es preciso pensar también lo nuevo, reinventar el pensar, pensar y reinventar el futuro.

CONCLUSIONES

El número de jóvenes, cada día mayor, en los espacios que ofrecen educación de jóvenes y adultos es un fenómeno que interfiere en el día a día escolar, exigiendo de los profesores una nueva mirada sobre esa realidad. Otro aspecto importante en la vida de estos jóvenes, muchos de ellos con desfase curso/edad, es la necesidad de que entren en el mercado de trabajo. Conscientes de que este mercado, hoy, es extremadamente restricto, selectivo y que exige el máximo de cualificación, hace que opten por una modalidad de enseñanza que sea más rápida que la escuela regular.

Aún delante de los resultados obtenidos con los jóvenes de la III fase de la enseñanza secundaria del CEJA Cesário Neto, se constata que esos alumnos exigen del profesor, además de que los conocimientos de la materia, prácticas educativas que aprovechen su “equipaje” cultural y la experiencia acumulada. Lo ideal es que esa modalidad responda a las sus necesidades, estableciendo una relación entre los contenidos trabajados y el uso que harán de ellos posteriormente. El papel del educador es hacer de puente entre los saberes desorganizados de la clase y el conocimiento científico establecido.

En ese sentido queda bien claro la importancia de la EJA, pues favorece las inclusiones sociales, económicas y políticas de individuos que no tuvieron acceso o no acabaron la enseñanza Básica o Media en la edad correspondiente; uno de los objetivos que son perseguidos por esa modalidad, en cualquier etapa de enseñanza, es el rescate de la autoestima de los estudiantes, que constituye el cimiento sobre lo cual se estructura la autonomía en el aprendizaje continuo a lo largo de la vida.

En relación al perfil curricular de la escuela, sea cual sea, es preciso que los alumnos tengan la oportunidad de aprender Química. La falta de conocimientos en química será un factor de eliminación por dificultar la comprensión de los fenómenos y de las transformaciones de la materia, y en consecuencia, la interpretación del ambiente en que está insertado.

El dominio del lenguaje, de la simbología, de las leyes fundamentales de la Química es fundamental para continuar los estudios para la aplicación tanto, en su vida personal cuanto profesional y esas son las condiciones que debemos buscar garantizar para nuestros estudiantes. En vistas a la actual valorización del conocimiento científico y el creciente desarrollo tecnológico de la sociedad, la adquisición de conocimientos de química se hace indispensable a la formación de ciudadanos críticos y conscientes. Y eso no significa transformarlos en químicos, pero ayudar a que ellos aprendan contenidos para ser capaces de interpretar los fenómenos de la naturaleza y resolver problemas prácticos usando el conocimiento químico.

Se cree, por lo tanto, que la enseñanza de Química, que lleva a la alfabetización científica del sujeto, debe estar centrada en la inter-relación de dos componentes básicos: conocimiento químico y el contexto social.

BIBLIOGRAFÍA

1. FONSECA, Maria da Conceição F. R. Educação Matemática de Jovens e Adultos: especificidades, desafios e contribuições. 2ª ed. Belo Horizonte: Autêntica, 2005a.
2. ARROYO, Miguel. A Educação de Jovens e Adultos em tempos de exclusão. Alfabetização e Cidadania. São Paulo: Rede de Apoio à Ação Alfabetizadora do Brasil (RAAAB), n.11, abril 2001.

3. GADOTTI, Moacir; ROMÃO, José E. (org). Educação de Jovens e Adultos: teoria, prática e proposta. 3º ed. São Paulo: Cortez, 2001.
4. TAKAHASHI, Fábio. Supletivos crescem 60%; cursos não são avaliados. Cotidiano, Folha de São Paulo, C-1. 22 ago. 2006.
5. ANDRADE, Eliane Ribeiro. Os jovens da EJA e a EJA dos jovens. In: BARBOSA, Inês O., PAIVA, Jane (orgs.). Educação de Jovens e Adultos. Rio de Janeiro: DP&A, 2004.
6. CHASSOT, Ático Inácio. Para que(m) é útil o Ensino. Canoas: Ed. Da Ulbra, 1995.
7. CHASSOT, Ático Inácio. Alfabetização científica: questões e desafios para a educação. Ijuí: Editora Unijuí, 2000.
8. FREIRE, Paulo. Pedagogia do Oprimido. 44ª ed. Rio de Janeiro: Paz e Terra, 2005.
9. BOFF, Leonardo. A água e a galinha: uma metáfora da condição humana. Petrópolis: Vozes, 1999.
10. GADOTTI, Moacir. Boniteza de um sonho: ensinar e aprender com sentido. São Paulo: Cortez, 2002.48p.
11. DELORS, Jacques. Educação: um tesouro a descobrir. Cortez Editora, São Paulo, MEC: UNESCO: Brasília, DF, 1998, p.89.

Enseñanza de la Química

USO DE LA METODOLOGÍA DE APRENDIZAJE BASADO EN PROBLEMAS (ABP) PARA EL APRENDIZAJE DEL CONCEPTO DE PERIODICIDAD QUÍMICA EN UN CURSO DE QUÍMICA GENERAL

Patricia Morales Bueno

RESUMEN

En la Educación Universitaria existe un importante consenso en relación a que la formación de los nuevos profesionales debe implicar el uso de estrategias metodológicas que den prioridad al desarrollo de habilidades de pensamiento que ayuden a los estudiantes a desarrollar al máximo su potencial intelectual. La metodología de Aprendizaje Basado en Problemas (ABP) es una propuesta que se aproxima cercanamente a esta nueva visión de la educación superior. Una modalidad híbrida ABP se implementó en la unidad "Configuración Electrónica y Tabla Periódica" del curso Química 1, de las especialidades de Ciencias e Ingeniería de la Pontificia Universidad Católica del Perú. La comparación de los puntajes obtenidos en una prueba de evaluación de la unidad, por estudiantes de un grupo experimental y un grupo control, mediante la prueba t de muestras independientes, permitió identificar diferencias estadísticamente significativas favorables al primer grupo. El análisis por regresión lineal, tomando como variable dependiente los puntajes obtenidos en la prueba por los estudiantes del grupo experimental y, como variable independiente el promedio de los puntajes obtenidos en las actividades y en el problema ABP, permitió identificar y cuantificar la capacidad predictiva de este último con respecto al aprendizaje logrado.

Palabras clave: ABP, pensamiento crítico, pensamiento creativo, aprendizaje colaborativo.

USING PROBLEM-BASED LEARNING (PBL) FOR LEARNING THE CHEMICAL PERIODICITY CONCEPT IN A GENERAL CHEMISTRY COURSE

ABSTRACT

In higher education there is a consensus about the formation of the new professionals should involve the use of methodological strategies that give priority to developing thinking skills that help students to develop their maximum intellectual potential. The Problem-based Learning (PBL) methodology is a proposal that closely approximates to this new vision of higher education. A hybrid PBL model was implemented in unity "Electronic Configuration and Periodic Table" of Chemistry 1, first year course in the Science and Engineering curriculum of the Pontifical Catholic University of Peru. Comparing the scores obtained for students in an experimental group and a control group in a test for assessing the unit, using independent samples t test, allowed us to identify statistically significant differences in favour of the first group. The linear regression analyses, taking as the dependent variable the test scores of students in the experimental group and as independent variable average scores

^a Departamento de Ciencias – Sección Química, Pontificia Universidad Católica del Perú, Av. Universitaria 1801, San Miguel, Lima 32, Perú, pmorale@pucc.edu.pe.

obtained in the activities and the PBL problem, allowed us to identify and quantify the predictive ability of the latter with respect to achieved learning.

Key words: PBL, critical thinking, creative thinking, collaborative learning.

INTRODUCCIÓN

En los últimos veinte años, la discusión acerca de cuáles deben ser las nuevas metas de la educación superior, ha cobrado especial importancia, existiendo un importante consenso en relación a dar prioridad al desarrollo de habilidades de pensamiento que ayuden a los estudiantes a desarrollar al máximo su potencial intelectual. Se ha reconocido la necesidad de formar profesionales que logren aprendizajes significativos a través del esfuerzo permanente, la comprensión más que la memorización de la información, el desarrollo del pensamiento crítico y creativo y de la capacidad analítica que les permita afrontar problemas complejos, haciéndose partícipes activos de sus propios procesos de aprendizaje, relevándose además la necesidad de fortalecer las habilidades para el trabajo en equipo y la comunicación¹.

Estos lineamientos han promovido la aparición de numerosas estrategias de enseñanza cuyo objetivo se orienta a potenciar las habilidades mencionadas anteriormente a través de las disciplinas. La problemática es especialmente crítica en el área de las ciencias, en la cual la permanencia de formas tradicionales de enseñanza ha originado una peligrosa disminución del interés por el estudio de las diferentes disciplinas científicas, entre ellas la química. Fernández y colaboradores², señalan que existe una distancia preocupante entre las expectativas puestas en la contribución de la educación científica a la formación de ciudadanos conscientes de las repercusiones sociales de la ciencia y, la realidad de un rechazo amplio hacia la ciencia y su aprendizaje. Esta brecha ha dirigido la atención hacia la manera como se está llevando a cabo esa educación científica y, el análisis de la situación, ha mostrado la necesidad de modificar la imagen de la naturaleza de la ciencia que los profesores tienen y transmiten. Los mismos autores lograron identificar, en un proceso de investigación que involucró a varios equipos de docentes, una serie de concepciones erróneas sobre la actividad científica a los que se debe prestar urgente atención. En primer lugar, mencionan la visión descontextualizada, que deja de lado dimensiones esenciales de la actividad científica y tecnológica, como su impacto en el medio natural y social o los intereses e influencias de la sociedad en su desarrollo. Por otro lado, la tendencia a una concepción individualista y elitista conduce a ignorar el papel del trabajo colectivo, de los intercambios entre equipos de trabajo. Una concepción empírico-inductivista y ateórica, olvida necesariamente el papel esencial de las hipótesis como focalizadoras de la investigación y del cuerpo de conocimiento disponible, como orientador del proceso. El hecho de transmitir conocimientos ya elaborados, de manera apromática y ahistórica, conduce muy a menudo a ignorar cuáles fueron los problemas que se pretendían resolver, la evolución del conocimiento, las dificultades encontradas, así como las limitaciones del conocimiento científico, creando equivocadamente una visión rígida, algorítmica e infalible de la ciencia. Con frecuencia se abordan los problemas científicos con una visión exclusivamente analítica, ignorando conscientemente y voluntariamente muchas de las características de las situaciones estudiadas, alejándose de la realidad en la que debería desarrollarse ese conocimiento.

El cambio de estas concepciones hacia una visión educativa más acorde a las nuevas metas de la educación universitaria, presenta alta coherencia con los fundamentos de la metodología de Aprendizaje Basado en Problemas (ABP). Aunque no existe en la actualidad una posición unánime para definir esta metodología, la referencia más frecuente es Barrows³, uno de sus pioneros, quien lo define como “un método de aprendizaje basado en el principio de usar problemas como punto de partida para la adquisición e integración de los nuevos conocimientos”.

El principio básico que sostiene el concepto de ABP⁴ es que el aprendizaje se inicia con un problema retador, desafiante, complejo y contextualizado en el mundo real, con la finalidad de motivar a los alumnos a identificar e investigar los conceptos y principios que necesitan conocer para enfrentar el problema. Los estudiantes trabajan en grupos pequeños de aprendizaje, desarrollando colectivamente habilidades durante el proceso de adquisición de conocimiento, comunicándose e integrando información. Este tipo de enseñanza permitiría alcanzar muchos de los objetivos que se plantean actualmente en la educación universitaria y por ello, se ha convertido en una opción de gran atractivo para su implementación en una diversidad de disciplinas, aunque sus orígenes se ubican en el área de la educación médica. Los procesos de implementación han originado una variedad de modalidades de adopción, con diferente grado de aproximación al modelo original. En los cursos de Química General de la Pontificia Universidad Católica del Perú, la metodología ABP empezó a aplicarse desde el año 2001⁵, bajo una modalidad híbrida, que para cada unidad temática del curso tiene la siguiente secuencia^{6,7}:

a. *Presentación del problema ABP*, que corresponde a una situación real (o que puede serlo), relacionada con los objetivos de aprendizaje de la unidad temática. Suficientemente complejo y desafiante, para motivar y mantener el interés de los estudiantes a lo largo del proceso y para asegurar que sea trabajado en equipo. En esta etapa, cada grupo de estudiantes realiza una lluvia de ideas en relación al problema, identificando los conceptos conocidos y los que deben conocer y que consideran son necesarios para enfrentarlo. Asimismo, organizan el trabajo del grupo en función del plan de desarrollo del problema que ellos elaboran.

b. *Desarrollo paralelo de actividades de aprendizaje*, diseñadas por los profesores, que permiten introducir al estudiante a la dinámica del trabajo colaborativo, además de guiarlos en su proceso de búsqueda y construcción del conocimiento. Simultáneamente, conforme avanzan en este proceso, ellos continúan trabajando en su estrategia de desarrollo del problema ABP.

c. *Culminación y presentación de las propuestas de solución del problema ABP*.

En la figura 1 se muestra un esquema del modelo híbrido ABP implementado:

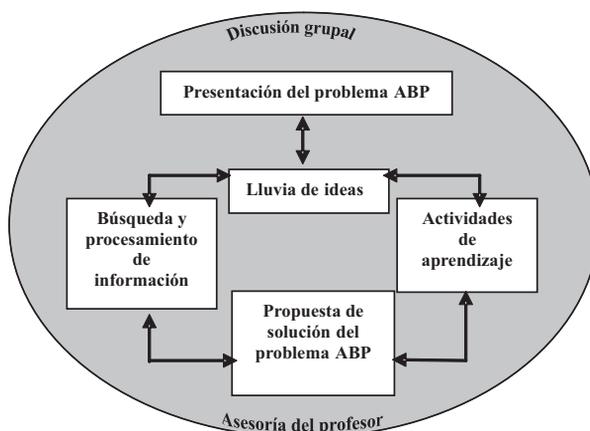


Figura 1. Esquema del modelo híbrido ABP usado en Química General (Estudios Generales Ciencias (PUCP))^{6,7}

La discusión grupal y la asesoría y guía del profesor constituyen un soporte importante durante todo el proceso. Los estudiantes recorren esta secuencia tanto como sea necesario, hasta llegar a un planteamiento de solución del problema ABP.

El presente trabajo reporta la implementación del modelo híbrido ABP, en la unidad “Configuración Electrónica y Tabla Periódica” del curso Química 1, en la malla curricular de las especialidades de Ciencias e Ingeniería de la Pontificia Universidad Católica del Perú. Los teóricos e investigadores actuales del proceso de aprendizaje, reconocen al pensamiento crítico y creativo como hábitos mentales productivos de los sujetos que aprenden eficazmente. Se relacionan con la calidad del pensamiento: un sujeto puede resolver problemas o tomar decisiones con más o menos creatividad o haciéndolo más o menos críticamente. Ambos tipos de pensamiento pueden ser enseñados en el proceso educativo. Cada vez que los estudiantes resuelven un problema abierto o planifican un proyecto, estarán desarrollando sus habilidades creativas. Cada vez que los estudiantes formulen preguntas, analizan textos o definen un término con claridad, exactitud y sin prejuicios, estarán desarrollando sus habilidades de pensamiento crítico. Cada vez que los estudiantes consideren diversos puntos de vista e imaginativamente, empáticamente y exactamente los reconstruyan, estarán pensando tanto creativamente como críticamente⁸.

En el diseño del escenario del problema ABP propuesto a los estudiantes, se incorporó elementos que buscaban propiciar el desarrollo de estas habilidades, es así que los aprendizajes esperados fueron:

Conocimiento:

- Conocer las propiedades de los elementos químicos y sus tendencias periódicas.
- Aplicar el concepto de periodicidad química en el diseño de un arreglo periódico distinto al tradicional y en la elaboración de una historia de ciencia ficción.

Habilidades:

- Poner en práctica habilidades para la búsqueda de información.
- Poner en práctica habilidades de pensamiento crítico promoviendo la toma de decisiones y la selección de alternativas de manera sustentada.
- Poner en práctica habilidades de pensamiento creativo, diseñando libremente propuestas para un arreglo periódico diferente al tradicional y elaborando una historia de ciencia ficción.
- Poner en práctica habilidades para el trabajo colaborativo al interior de los equipos.

Actitudes:

- Mostrar disposición para hacer uso de sus habilidades intelectuales de orden superior.
- Valorar la colaboración como medio para alcanzar logros compartidos.

El escenario ABP propuesto fue el siguiente:

Los elementos químicos en la pantalla grande

Diego Rojas acaba de terminar sus estudios de Ciencias de la Comunicación y está pensando presentarse a un concurso convocado por una empresa internacional, con un proyecto de película de Ciencia Ficción, esperando obtener financiamiento para su producción. Para la categoría Ciencia Ficción, las bases del concurso señalan que el jurado evaluador consultará la opinión de científicos renombrados de la PUCP respecto a si las situaciones planteadas en el argumento y en el guión tienen o no sustento científico, en caso de no tenerlo significará pérdida de puntos en la evaluación final.

Diego ha avanzado con la idea de argumento para su proyecto; sin embargo, ha empezado a tener algunas dificultades y por ello recurre a algunos amigos que tiene en Ciencias de la PUCP. Conversando con ellos deciden pedir ayuda a los estudiantes de Química 1, ya que las

dificultades que tiene Diego se relacionan con los temas que se estudian en este curso. Tu grupo forma parte de los estudiantes de Química 1 que tratarán de ayudar a Diego; él ha ofrecido (en caso de ganar el concurso) colocar en los créditos de la película un agradecimiento especial al grupo, además de una pequeña retribución económica.

El grupo debe basarse en las ideas trabajadas por Diego para el argumento de su película y hacer una propuesta orientada a resolver las dificultades que él tiene para continuar. La información que Diego les da es la siguiente:

- **Proyecto:** “Misión Xtalt”
- **Categoría:** Ciencia-Ficción
- **Ideas para el argumento:**

La *Misión Xtalt* está integrada por un grupo de científicos, reclutados de las mejores universidades del mundo que aceptaron incorporarse a una base construida en un lugar subterráneo y secreto del planeta, con la finalidad de trabajar para tratar de recuperarlo en caso de una catástrofe. Una llamada de emergencia logró alertar a estos científicos para que pudieran ingresar a la base antes de que ocurra una serie de colisiones de diferente intensidad entre una lluvia de meteoritos y el planeta tierra. Si bien la base estaba protegida, la catástrofe afectó a los seis científicos que se encontraban en su interior y a los seis integrantes de la brigada de apoyo que los acompañaban. Las habilidades de estos científicos fueron aflorando paulatinamente; sin embargo, la principal dificultad era que todos ellos presentaban algunos vacíos en cuanto a la información que podían recordar. Una de las primeras cosas en que estuvieron de acuerdo era que debían enviar a la brigada de apoyo a recoger muestras del exterior, para analizarlas y verificar qué elementos y en qué proporción habían quedado en el planeta. Sabían que los elementos podían ordenarse en función de algunos criterios y que este ordenamiento facilitaba la comprensión de sus propiedades, pero ...no recordaban cómo era ese arreglo.....

- **Dudas y dificultades:**

Para continuar el argumento anterior, Diego ha pensado en las siguientes alternativas:

- a. Los científicos envían a la brigada de apoyo a buscar muestras que permitan verificar que **los elementos esenciales para la vida** aún existen en el planeta.
- b. Los científicos envían a la brigada de apoyo a buscar muestras que permitan verificar que **los elementos que constituían la litosfera e hidrosfera terrestre** aún existen en el planeta.

¿Cuál de estas alternativas recomendaría el grupo? Justificar adecuadamente la elección.

Una vez tomada la decisión, Diego necesita que el grupo le proporcione información de por lo menos 25 elementos de la alternativa seleccionada anteriormente, indicando para cada uno de ellos sus características más importantes. Además, el grupo debe escoger algunas características de los elementos que Diego puede aprovechar para incluir alguna escena llamativa en la película (pequeñas explosiones, reacciones de color, de formación de gases, etc.). Él les pide que le sugieran por lo menos tres posibilidades. En el argumento que se está elaborando, los científicos reunirán esta información para, a partir de ella, construir un **“Ordenamiento de los Elementos (OEXTALT)”** que sustituya al que existía antes en el planeta y que ellos no pueden recordar.

Finalmente, tu grupo debe escoger 3 propiedades de los elementos seleccionados para proponer en función de ellas un **“OEXTALT”**, en el cual la organización y agrupamientos de los elementos permitan encontrar tendencias en la variación de estas propiedades. El **“OEXTALT”** puede ser bi o tri-dimensional y puede incluir la información que el grupo

considere pertinente (símbolos, número atómico, masa atómica, etc.). Además, debe usarse alguna clave en la coloración que se use, indicando su significado. Los integrantes del grupo deben presentar su modelo de **OEXTALT** utilizando los materiales que considere convenientes (cartulina, cartón, madera, etc.) teniendo la precaución de acompañarlo con una explicación detallada y con sustento científico de su propuesta, ya que Diego conoce muy poco del tema.

Al observar el entusiasmo con que los grupos han estado trabajando, Diego les invita a proponer una continuación del argumento, en el que se incluya la información y las propuestas realizadas por el grupo y que plantee además un posible final para la historia.

Al finalizar la unidad, se aplicó una prueba cuyo objetivo era evaluar el aprendizaje de los conceptos y principios relacionados a la periodicidad química, así como la capacidad del estudiante para aplicarlos en situaciones atípicas.

En la rúbrica empleada para la evaluación del planteamiento de solución al problema ABP, no solamente se tomó en cuenta el manejo de los contenidos involucrados en la situación problemática, sino también el uso de las habilidades de argumentación para sustentar las decisiones tomadas a lo largo del problema, así como la originalidad y creatividad de la propuesta. En la figura 2 se muestra algunos de los diseños OEXTALT presentados por los grupos de estudiantes.



Figura 2. Algunos diseños OEXTALT presentados por los estudiante

PARTE EXPERIMENTAL

Las preguntas que guiaron esta investigación fueron: ¿Habrá diferencias en el aprendizaje de los temas relacionados al concepto de periodicidad química entre un grupo que trabajó el problema ABP planteado y otro que no lo trabajó? ¿Cuál fue la influencia del proceso ABP desarrollado, sobre el aprendizaje de los temas relacionados al concepto de periodicidad química?

Metodología: Se comparó los puntajes obtenidos en la prueba de evaluación de la unidad, por estudiantes de un grupo experimental y un grupo control, mediante la prueba t de muestras independientes, para buscar respuestas a la primera pregunta de investigación. Se realizó análisis de regresión lineal, tomando como variable dependiente los puntajes obtenidos en la prueba de evaluación de la unidad por los estudiantes del grupo experimental y, como variable independiente el promedio de los puntajes obtenidos en las actividades y en el problema ABP por estos estudiantes, para buscar respuestas a la segunda pregunta de investigación.

Participantes:

Grupo experimental: 57 estudiantes de Química 1 (semestre 2008-1), Estudios Generales Ciencias (PUCP) que siguieron el proceso ABP diseñado para la unidad “Configuración Electrónica y Tabla Periódica”.

Grupo control: 52 estudiantes de Química 1 (semestre 2008-1), Estudios Generales Ciencias (PUCP) que decidieron no seguir el diseño ABP de la unidad “Configuración Electrónica y Tabla Periódica”.

Ambos grupos estuvieron a cargo de la misma profesora y fueron equivalentes con respecto a su desempeño académico. El rango de edad de los estudiantes en ambos grupos fue de 17 - 20 años.

Análisis: El análisis estadístico se realizó empleando el software SPSS 11.5. Los puntajes de la prueba de evaluación de la unidad, del problema ABP y de las actividades se expresaron como porcentaje de puntaje máximo. El nivel alpha fue establecido a priori en 0,05. Las pruebas de significación estadística fueron complementadas con la determinación de la significación práctica, mediante el cálculo del tamaño del efecto (*d* de Cohen). El tamaño del efecto es un índice en una métrica común que indica la magnitud de una relación o efecto y se calcula como una diferencia de media tipificada⁹.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1, se presenta los estadísticos descriptivos de los puntajes obtenidos en la Prueba de Evaluación de la Unidad, por los estudiantes de cada grupo participante en el estudio.

Tabla 1. Estadísticos descriptivos de de los puntajes obtenidos en la Prueba de Evaluación de la Unidad, por los estudiantes de cada grupo participante en el estudio

Grupo	N	Media	DE
Control	52	47,772	17,018
Experimental	57	62,635	16,988

Nota. Los puntajes se expresan como porcentaje de puntaje máximo en la prueba.

Al realizar el análisis inferencial, mediante la prueba t de muestras independientes, para comparar los puntajes obtenidos por el grupo control y el grupo experimental, se encontró diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos:

$$\text{diferencia de medias} = 14,863; t(107) = 4,559, p < 0,001$$

Esta diferencia tuvo significación práctica, el tamaño del efecto fue $d = 0,87$ y estadísticamente significativo. La interpretación del tamaño de efecto puede realizarse en función de la superposición de dos muestras en términos de una comparación de percentiles. En el contexto de intervenciones educativas, se considera que la efectividad de una intervención particular solo puede ser interpretada en relación a otras intervenciones que buscan producir el mismo efecto⁹. Por esta razón, para este estudio se ha tomado de referencia lo reportado en el meta análisis realizado por Gijbels et al.¹⁰ acerca de los efectos del ABP, quienes consideran un tamaño de efecto de 0,33 como el mínimo necesario para establecer la significación práctica, lo cual se interpreta como que el puntaje de una persona promedio del grupo experimental excede los puntajes del 63% del grupo control. En nuestro caso, un tamaño de efecto de 0,87 significa que el puntaje de una persona promedio del grupo experimental está 0,87 desviaciones estándar por encima de una persona promedio del grupo control, esto es, excede los puntajes del 80,78% del grupo control.

Los resultados obtenidos en el análisis inferencial nos permite responder con mucha certeza la primera pregunta de investigación, los estudiantes del grupo que trabajó el tema de Configuración Electrónica y Tabla Periódica mediante el proceso ABP propuesto, demostró mejores aprendizajes que los estudiantes del grupo que no siguió dicho proceso. Es evidente que la motivación intrínseca por aprender alcanzó niveles significativos, al estimular su curiosidad natural, promoviendo actividades de investigación que a su vez ofrecían oportunidades de elección y control personal y grupal. Los estudiantes tuvieron libertad para seleccionar el conjunto de elementos a investigar y no tuvieron mayor reparo en abordar los casos que representaban excepciones a las tendencias generales en las propiedades periódicas, ni tampoco en abordar a los elementos del bloque d. Es común que los profesores de cursos introductorios de química, tengan recelos en tocar estos temas en clase, dado que piensan que los estudiantes no tendrán la capacidad de comprenderlos. Lo que se observó durante la facilitación en el proceso ABP fue más bien el interés de los estudiantes por conocer estos tópicos y comprenderlos.

En la tabla 2 se presenta el resumen del análisis de regresión lineal para el promedio de los puntajes obtenidos en las actividades y en el problema ABP por los estudiantes del grupo experimental, sobre los puntajes obtenidos en la prueba de evaluación de la unidad por estos estudiantes.

Tabla 2. Resumen del análisis de regresión lineal (método introducir) para el promedio de los puntajes obtenidos en las actividades y en el problema ABP, sobre los puntajes obtenidos en la prueba de evaluación de la unidad por los estudiantes del grupo experimental

Variable	B	Error típico	β
Grupo experimental (R cuadrado = 0,114):			
Promedio puntaje de actividades y problema ABP	0,511	0,192	0,338*

* $p < 0,05$

Los resultados muestran que el coeficiente beta fue estadísticamente significativo, por lo que el promedio de los puntajes obtenidos en las actividades y el problema ABP fue una variable predictiva de la nota final obtenida en el curso. Esto se interpreta como que el proceso ABP desarrollado tuvo una influencia significativa sobre el aprendizaje de los temas relacionados al concepto de periodicidad química, obteniendo respuesta a nuestra segunda pregunta de investigación. El valor de R cuadrado indicó que el 11,4% de los puntajes finales podía ser explicado por la variable independiente. El hecho de haber promovido que los estudiantes, a través de las actividades, tomaran decisiones respecto a la situación planteada y la sustentaran sobre la base de sus propias investigaciones y aprendizajes adquiridos, así como el haber dispuesto oportunidades para que apliquen estos aprendizajes en situaciones muy diferentes a los problemas y ejercicios convencionales, como lo fueron el diseño de un modelo periódico y la elaboración del argumento de ciencia ficción, que permitió integrar todos los tópicos investigados, estimularon el uso práctico de las habilidades orden superior, como el pensamiento crítico y creativo, los cuales contribuyen también a la motivación por aprender.

CONCLUSIONES

La implementación de un modelo híbrido ABP para el aprendizaje del concepto de periodicidad química, en el que se estimulaba el uso de habilidades de orden superior, como el pensamiento crítico y creativo, permitió que los estudiantes que siguieron este modelo tuvieran mejores aprendizajes que los alumnos de un grupo control que no lo siguió. La diferencia en los puntajes obtenidos en una prueba de evaluación de la unidad temática fue estadísticamente significativa ($p < 0,001$) y además tuvo significación práctica, como se hizo evidente en la estimación del tamaño del efecto ($d = 0,87$), el cual permitió sustentar con mayor robustez los resultados obtenidos.

El diseño del modelo ABP permitió estimular la curiosidad intelectual, las habilidades de investigación y de trabajo en equipo, así como también ofreció oportunidades para tomar decisiones sustentadas sobre el aprendizaje logrado y también para hacer uso de este aprendizaje en situaciones distintas a los clásicos ejercicios y problemas sobre el tema trabajado. Todo lo anterior contribuyó a estimular la motivación intrínseca por aprender y tuvo una influencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) sobre los puntajes obtenidos en la prueba de evaluación de la unidad temática.

Los resultados obtenidos en este estudio, significan un aporte a las evidencias que sustentan la necesidad de cambio de las metodologías tradicionales de enseñanza de la química, como parte de las disciplinas científicas, para elevar la calidad de los aprendizajes de nuestros estudiantes, elevar sus niveles de interés y motivación y aproximarlos a los nuevos perfiles profesionales que requiere nuestra sociedad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO). Declaración Mundial sobre la Educación Superior en el siglo XXI: Visión y Acción. Conferencia Mundial sobre la Educación Mundial. París: UNESCO (1998, s.f.). Recuperado el 23 de abril del 2006, de: <http://www.unesco.cl/pdf/actyeven/ppe/boletin/artesp/47-6.pdf>.
2. Fernández I., Gil D., Valdés P. y Vilches A. ¿Qué visiones de la ciencia y la actividad científica tenemos y transmitimos? En: ¿Cómo promover el interés por la cultura científica? Una propuesta didáctica fundamentada para la educación científica de jóvenes de 15 a 18 años. Santiago: Oficina Regional de Educación para América Latina y el Caribe; 2005. p. 29-62.

3. Barrows, H. A taxonomy of problem-based learning methods. *Medical Education* 1986; 20: 481-486.
4. Duch, B.; Groh, S. y Allen, D. (Eds.). The power of problem-based learning. Virginia: Stylus Publishing, LLC; 2001.
5. Morales P. Metodologías Activas en la Enseñanza de la Química General. *Revista de Química* 2003, *PUCP*, VII(1 y 2): 39-50.
6. Morales B., P. El aprendizaje basado en problemas (ABP) como estrategia didáctica en química general universitaria. En G. Pinto Cañón (Ed.), Aprendizaje activo de la física y la química. Colección didáctica de la física y la química. España: Equipo Sirius, S. A.; 2007. p. 221-229.
7. Morales B. P. A step toward cognitive autonomy in a hybrid PBL experience. *The Chemical Educator* 2007; 12 (1): 47-50. DOI 10.1333/s00897071096a.
8. Marzano R., Brandt R., Hughes C., Jones B., Presseisen B., Rankin S y Suhor C. Dimensions of thinking: A framework for curriculum and instruction. USA: Association for Supervision and Curriculum Development; 1988.
9. Frías, M.; Llobell, J. y García, J. Tamaño del efecto del tratamiento y significación estadística. *Psicothema* 2000; 12(2): 236-240.
10. Gijbels, D.; Dochy, F.; Van den Bossche, P. y Segers, M. Effects of problem-based learning: a meta-analysis from the angle of assessment. *Review of Educational Research* 2005; 75(1): 27-61.

Enseñanza de la Química

MODIFICACIÓN DE TÉCNICAS DIDÁCTICAS EN UNA ASIGNATURA DE QUÍMICA ORGÁNICA

M^a Luisa Gabernet Martí^{*a}, Teresa Pardo Vicente^a, M^a Dolores Esteve Rodríguez^a

RESUMEN

En este trabajo se presentan las modificaciones de las técnicas didácticas que se han introducido en la docencia de la asignatura “Química Orgánica” de 2º curso, de la titulación de Ingeniería Técnica Industrial, Especialidad Química Industrial, de la Universidad Politécnica de Valencia con el fin de fomentar la participación del alumno y adaptarla al aprendizaje basado en competencias.

Palabras clave: aprendizaje, competencias, créditos, metodologías activas.

MODIFICATION OF DIDACTIC TECHNICAL IN A SUBJECT OF ORGANIC CHEMISTRY

ABSTRACT

In this work the modifications of the didactic techniques are presented that have been introduced in the teaching of the Organic Chemical subject of 2º course, of the degree of Industrial Technical Engineering, Industrial Chemical Specialty, of the Polytechnic University of Valencia with the purpose of to foment the student's participation and to adapt it to the learning based on competences.

Key word: learning, competences, credits, active methodologies

INTRODUCCIÓN

La creación del Espacio Europeo de Educación Superior, EEES, parte de la Declaración de Bolonia de 1998, tiene como finalidad establecer un sistema educativo de calidad, fácilmente homologable, que facilite la integración laboral y posibilite continuar el proceso formativo a lo largo de la vida. Esto exige a los países miembros que modifiquen sus sistemas de enseñanza para que el alumno adquiera, además de los conocimientos específicos de la asignatura, habilidades y destrezas transversales que le capaciten para el futuro profesional¹.

En estos últimos años la Universidad Politécnica de Valencia ha impulsado una serie de acciones para dar respuesta a estos retos: adaptación de los créditos ECTS, enseñanza basada en competencias, empleo de metodologías activas e integración de las técnicas de información y comunicación (TICs) como apoyo y complemento de la enseñanza².

Los créditos ECTS representan el volumen de trabajo que el estudiante debe realizar para superar cada una de las asignaturas. El crédito europeo, ECTS, equivale a 25-30 horas de actividad del alumno, incluyendo clases de teoría, de problemas, de laboratorio, trabajo en grupo, actividades, estudio personal y exámenes.

Para afrontar la enseñanza basada en competencias es preciso determinar los perfiles profesionales de los titulados en términos de competencias, es decir, pericia, aptitud e idoneidad para hacer algo o intervenir en un asunto determinado. Las Competencias

^a Departamento de Química, Universidad Politécnica de Valencia,
C/ Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, España, gabernet@qim.upv.es

Específicas propias de cada titulación están recogidas en los Libros Blancos, que se editaron con las propuestas de todas las Escuelas de Ingeniería de España. Dentro de las Competencias Genéricas, según el Proyecto “*Tuning*”,³ podemos distinguir las instrumentales, las interpersonales y las sistémicas. Las competencias instrumentales permiten utilizar el conocimiento como herramienta para conseguir algo. Las competencias interpersonales favorecen la relación con los demás y facilitan los procesos de interacción social. Y las competencias sistémicas potencian la capacidad de visión, integración y relación de las diversas partes de un sistema, pueden diferenciarse como organizativas o emprendedoras.

Una vez completado un proceso de aprendizaje las competencias describen lo que un estudiante sabe o puede demostrar y se deben corresponder con uno de los cuatro niveles de las cualificaciones del EEES (QF-EHEA).

El empleo de Metodologías Activas propiciará que el aprendizaje pase a ser prioritario sobre la enseñanza, convirtiendo al estudiante en el sujeto activo del proceso, al que se le ofrecen un conjunto de oportunidades para adquirir conocimientos y saberlos aplicar oportunamente, fomentando el trabajo autónomo y en grupo. Para ello el profesor debe cambiar su tradicional papel de experto en contenidos, presentador y trasmisor de la información y convertirse, fundamentalmente, en un diseñador de medios, un facilitador del aprendizaje y un orientador del estudiante; por tanto, se programará la asignatura en función de lo que el alumno debe hacer para aprender.

Una de las acciones de integración de las TICs ha sido la implantación, dentro de la web de la Universidad, de la plataforma docente, POLIFORMAT, con un formato común para todas las asignaturas lo que facilita su uso por los alumnos. En esta asignatura de “*Química Orgánica*” los apartados más utilizados de la guía docente son el calendario, los anuncios y los recursos donde se pone a disposición del alumno la bibliografía, el programa detallado, el temario completo, los problemas de cada lección, la normativa de seguridad del laboratorio y los guiones de las prácticas de laboratorio. En la guía docente de la asignatura están seleccionadas las competencias específicas y genéricas en las que se va a trabajar, indicando el nivel de intensidad con el que se contribuye a su logro. Además, figura la descripción general de la asignatura, los conocimientos previos recomendados, la estructuración de los contenidos de las unidades didácticas, la metodología de enseñanza-aprendizaje y las formas de evaluación.

Con estos antecedentes nos planteamos modificar las técnicas didácticas de esta asignatura de *Química Orgánica* con el fin de favorecer la participación activa del alumno y centrar su aprendizaje en las competencias que deben adquirir los alumnos para desarrollar eficazmente su profesión.

OBJETIVOS

El objeto del trabajo es mostrar la modificación en la docencia de la asignatura “*Química Orgánica*”, que se venía impartiendo, por medio de clase magistral, prácticas de laboratorio y examen final. La docencia se ha reformado con el fin de favorecer la participación del alumno y adaptarla a un aprendizaje basado en competencias. La asignatura se imparte en el segundo curso de la titulación de Ingeniería Técnica Industrial, Especialidad Química Industrial, de la Universidad Politécnica de Valencia, es una asignatura troncal, anual y tiene asignados 9 créditos, de los cuales 4,5 son teóricos y 4,5 prácticos,

METODOLOGÍA

El cambio del sistema educativo tradicional, consistente en la transmisión de conocimientos de una determinada asignatura por parte del profesor, al actual modelo centrado en el aprendizaje del alumno, ha supuesto la aplicación, en la asignatura de “*Química Orgánica*”, de una serie de estrategias didácticas.

La planificación de la docencia está limitada por el tiempo, el espacio y el número de alumnos. En el horario semanal de los alumnos figuran dos horas seguidas de aula y una hora de prácticas siendo el número de alumnos matriculados de unos 125.

Las dos horas de aula corresponden a la clase magistral participativa (4,5 créditos) y a la resolución de problemas en grupo (1,5 créditos). Para las prácticas los alumnos se dividen en cinco grupos. La hora semanal de prácticas se redistribuye anualmente realizándose doce sesiones cíclicas de 2,5 horas cada una (3 créditos). A principio de curso realizan cuatro sesiones prácticas de formulación, y a continuación seis sesiones de laboratorio; además, realizan una visita a fábrica que les ocupa 5 horas.

Uno de los trabajos previos fue la elaboración de la Guía Docente de la asignatura; en ella, desde el principio de curso, los alumnos tienen la información detallada del desarrollo del curso, objetivos, estrategias de aprendizaje, competencias que se van a desarrollar, actividades, contenidos y criterios de evaluación, así como las fechas previstas para cada actuación.

La clase magistral⁴ participativa se refiere a una clase donde los alumnos no son sujetos pasivos sino que participan y pueden exponer sus puntos de vista. Toda la explicación se presenta, simultáneamente, en diapositivas de Power Point, procurando ajustarse a la regla ideal de una idea por diapositiva, 6 líneas por pantalla y 6 palabras por línea para que sean de fácil comprensión; como los alumnos ya tienen el temario, en cualquier momento, pueden consultarlo o hacer anotaciones. De esta forma se intenta que aprendan razonando mientras escuchan, procurando enlazar los conceptos nuevos con los anteriores, conectando la teoría con las aplicaciones en la industria y en la vida diaria. Se empieza la clase planteando a los alumnos un ejercicio o alguna pregunta sobre la materia de la clase anterior para recordar y reforzar los conocimientos. Durante la exposición se establece un diálogo con los alumnos mediante preguntas que faciliten la comprensión de lo que se explica y si hace falta aclarar algo, o poner más ejemplos; se utiliza la pizarra (competencias instrumentales).

En la resolución de problemas se pone en práctica el aprendizaje colaborativo⁵. Dentro de la clase los alumnos se organizan en grupos de tres; en cada grupo primero se resuelven los ejercicios individualmente con la ayuda de los apuntes y después se comparan y discuten las soluciones hasta llegar a un consenso. Mientras tanto el profesor va pasando para orientar y resolver dudas. Al final, un alumno, cada vez distinto, sale a la pizarra y expone el resultado correcto a los demás; una vez confrontados los resultados de los distintos grupos se plantean otras posibles alternativas o dudas que los mismos alumnos resuelven entre ellos guiados por el profesor (competencias instrumentales e interpersonales). Para que el aprendizaje colaborativo sea eficaz es indispensable la colaboración activa de todos los miembros del grupo, cada individuo debe aportar sus capacidades y sus ideas deben ser consideradas por todos; antes de entregar un resultado todos los miembros del grupo deben estar de acuerdo.

En el laboratorio los alumnos trabajan en equipos de dos. El objetivo es que adquieran conocimientos por medio de la experimentación y sean capaces de conectar la práctica con la teoría⁶. En todo momento se insiste en crear buenos hábitos de trabajo: cumplir las normas de seguridad en la manipulación de productos químicos, mantener el orden y la limpieza y anotar inmediatamente todas las observaciones en la libreta de laboratorio. Cada sesión comienza con una explicación de los contenidos teóricos básicos por parte del profesor, a partir de los cuales los alumnos analizan la reacción que tendrá lugar y el procedimiento para llevarla a cabo, así como la bibliografía relacionada con las propiedades y manipulación de los reactivos y productos que intervienen en la experiencia. El profesor resuelve las dudas que puedan surgir y orienta si observa que no se está actuando de modo adecuado. Una vez efectuada la experiencia el alumno comprueba si ha trabajado correctamente al obtener el resultado que

había predicho teóricamente; si no es así, se le orienta para que sea capaz de detectar el fallo cometido. Esto permitirá al estudiante desarrollar su capacidad de razonamiento, obligándolo a tomar decisiones, siempre tutelado por el profesor. Además, deben contestar una serie de cuestiones sobre la práctica realizada lo que les motiva a interesarse por todos los detalles y preguntarse su porqué. Algunas de estas cuestiones aparecerán en las preguntas del test de las evaluaciones (competencias instrumentales, interpersonales y sistémicas).

La visita a una fábrica permite a los alumnos tomar contacto con la industria, observar la dimensión real de los equipos, analizar un proceso completo, ver las funciones y tareas de los ingenieros y ejercitar la captación de información⁷.

Es necesario un trabajo previo de planificación detallada por parte del profesor: selección de la fábrica de acuerdo a la materia y proximidad, establecimiento de un calendario, elaboración del guión al que debe ajustarse el informe y publicación de los criterios de evaluación de la actividad. Los alumnos, individualmente, deben buscar información general. Durante la visita el profesor debe facilitar la comprensión, vigilar que se cumplan las normas de seguridad y dinamizar el coloquio final. Los alumnos observan y toman nota de los aspectos particulares de la factoría y de cómo se integran en el proceso específico aspectos que han estudiado en otras asignaturas tales como energía, agua, control de calidad, seguridad, residuos, etc. El trabajo posterior a la visita, por parte de los alumnos, será la elaboración de un informe, según el esquema propuesto, realizado en grupos de dos (trabajo en equipo); y por parte del profesor la evaluación de dicho informe teniendo en cuenta la calidad del mismo, la presentación, sintaxis, ortografía, las fuentes de información y la valoración personal (capacidad crítica). En esta actividad se desarrollan competencias instrumentales, interpersonales y sistémicas.

Para la adquisición de destrezas transversales se proporciona a los alumnos un programa informático, de libre acceso, con el que es posible construir fórmulas estructurales y modelos tridimensionales de los compuestos químicos. Además de visualizar y analizar las formas moleculares, las herramientas computacionales automatizadas son capaces de predecir propiedades moleculares. También se pueden dibujar montajes de laboratorio. El manejo intuitivo de estas técnicas favorece la comprensión del enlace químico, las propiedades moleculares, la geometría y la posible reactividad de dichas moléculas.

Dado que el grupo es numeroso para el proceso evaluativo⁸ se realizan varias acciones. Después de las clases prácticas correspondientes, se hace un control de formulación en el que los alumnos deben superar el 75% de las preguntas y se repite varias veces hasta que lo logran. A lo largo del curso se realizan cuatro evaluaciones; cada una consta de dos partes, la primera es un test de veinte preguntas con cuatro opciones a la que corresponde al 40 % de la nota y la segunda es la resolución de diversos ejercicios y síntesis sencillas con un valor del 60%. Las evaluaciones se promedian a partir de 4 y las que no llegan a este mínimo, deben repetirse a final de curso. También existe la posibilidad de sólo un examen final pero esta opción la escogen muy pocos alumnos.

Las prácticas de laboratorio son obligatorias e indispensables, pudiendo añadir hasta 0,3 puntos a la nota final.

La visita a fábrica es voluntaria y junto con su informe puntúa entre 0,2 y 0,6 puntos que se añaden a la nota de las evaluaciones, siempre y cuando sea $\geq 4,5$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Este cambio de metodología se ha ido introduciendo progresivamente durante varios cursos para aproximarnos al Espacio Europeo de Educación Superior y es en los dos últimos años donde se ha completado.

Los resultados mostrados por las calificaciones de los alumnos en estos dos cursos no varían mucho respecto a cursos anteriores pero se constata que los alumnos asimilan mejor los contenidos porque al final de curso son capaces de relacionar con mayor facilidad los diferentes aspectos trabajados. Esto se comprueba porque las notas de la última evaluación son superiores en un 20% a las anteriores a pesar de tener que utilizar todas las reacciones vistas en el curso.

Tabla 1. Resultados en la asignatura Química Orgánica.

Curso	EX	NOT	AP	S	NP	Alumnos
2006-07	7	18	47	11	45	128
2007-08	3	23	31	13	46	116

EX= excelente. NOT= Notable. AP= Aprobado.
S= Suspenso. NP= No presentado

Podemos destacar que todos los alumnos que realizaron todas las evaluaciones parciales superaron la asignatura, lo que indica que los alumnos que trabajan a lo largo de todo el curso obtienen muy buenos resultados y cabe esperar que los conocimientos y actitudes se hayan asimilado correctamente y se plasmen en las diversas competencias. Los alumnos que aprueban con la opción de sólo examen final son muy pocos, tres o cuatro por curso y siempre repetidores.

CONCLUSIONES

Aunque esta metodología se ha aplicado en los dos últimos cursos se puede concluir que:

- Los resultados académicos son similares a los de los cursos anteriores en los que se realizaban varias evaluaciones, pero mejores que si los comparamos con los de sólo examen final.
- A partir de la introducción de la prueba test, los alumnos tienen que trabajar más la asignatura para obtener evaluaciones positivas, pero el estudio comparado de los diferentes mecanismos de reacción y de las propiedades físicas y químicas de los compuestos orgánicos les facilita la comprensión global y las posibles aplicaciones prácticas.
- La visita a fábrica para muchos de ellos ha sido una experiencia nueva, muy bien valorada, que les ha puesto en contacto con la realidad industrial y les ha permitido comprobar la importancia de una reacción química dentro del proceso de fabricación de un producto de consumo.
- Se desarrollan competencias transversales absolutamente necesarias para el desarrollo profesional del alumno mediante la adquisición de destrezas en: a) manipulación del material y aparatos más comunes en un laboratorio de Química Orgánica; b) comunicación oral y escrita y adquisición de vocabulario técnico en inglés; c) búsqueda de información química y técnica en general y en particular sobre las propiedades físicas, químicas y de manipulación de los compuestos orgánicos; d) manejo de un programa informático para visualizar espacialmente las estructuras moleculares y poder insertar correctamente una fórmula dentro de un texto.
- Se constata que los alumnos asimilan mejor los contenidos porque al final de curso son capaces de relacionar con facilidad los diferentes aspectos trabajados.

- Los alumnos que siguen el curso completo se sienten motivados y reconocen la utilidad de la asignatura tanto en su formación académica como en la vida diaria.
- Como punto débil se aprecia que alrededor de un 25% de alumnos matriculados no se incorporan a la asignatura y que el abandono antes de la mitad del curso varía del 10 al 15%. Ello es debido, en gran parte, a la estructura del actual plan de estudios, que permite a los alumnos matricularse en demasiados créditos; también hay que tener en cuenta la presencia de alumnos con una jornada laboral incompatible con la asistencia a las clases. Por ello el primer objetivo para los próximos cursos será procurar que todos los alumnos matriculados se impliquen desde el principio en todas las actividades.

BIBLIOGRAFÍA

1. Plan de Acciones para la Convergencia Europea. ICE. UPV, 2007
2. La mejora de la Enseñanza en la Universidad, Vicerrectorado de Coordinación Académica y Alumnado. UPV, 2002
3. www.relint.deusto.es/TuningProject/index.htm 10-07-08
4. Fabra M. L. "Técnicas de grupo para la colaboración" CEAC, 1998 y 2000
5. Johnson y Johnson. *Joining Together*, Minnesota University. 2000
6. Mohrig, J.R. "The Problem with Organic Chemistry Labs" *J.Chem.Educ.* 81,8.1083-85, 2004
7. Casal J, Sastre A. "Didáctica y organització d'assignatures basades en l'experimentació". Universidad Politécnica de Cataluña. 63-68 Barcelona 2005.
8. <http://personales.upv.es/jamarin/data/Marin2007Evaluacion> 10-07-08

INFORMACIONES

La Sociedad Química del Perú es reconocida como “Entidad perceptora de donaciones”

Por Resolución ministerial (Economía y Finanzas) N° 672 – 2008 – EF /15, con fecha 08 de noviembre de 2008, la SQP es reconocida como “Entidad perceptora de donaciones”. Ello significa que las empresas u otras pueden hacer donaciones de cuyo monto la SUNAT les descontará de sus impuestos.

Este reconocimiento por parte del Gobierno de la Nación se da a las entidades sin fines de lucro, cuyo objetivo social comprenda, entre otros, fines científicos, tal como lo viene haciendo la Sociedad Química desde hace, ya, más de 75 años, dando cumplimiento a sus Estatutos: “Promover el conocimiento y desarrollo de la Química, tanto en sus aspectos básicos como de aplicación, dando preferencia a los de importancia nacional...”



En la madrugada del lunes 23 de febrero pasado dejó de existir el Ingeniero Doctor Carlos Rodríguez Pichiling, después de una enfermedad que lo aquejó durante varios años.

El Ing. Carlos Rodríguez fue catedrático durante muchos años en la Facultad de Química e Ingeniería Química de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

La Sociedad Química del Perú expresa sus más sentidas condolencias a su señora esposa Angélica Best de Rodríguez, secretaria del Consejo Directivo, lo mismo que a sus hijos y familia toda, por tan sentida pérdida.

Amigo Carlos Rodríguez, ¡descansa en paz!

Nuevo Consejo Directivo de la Sociedad Química del Perú

En la Asamblea General celebrada el día 14 de marzo fue elegido el nuevo Consejo Directivo para el bienio 2009 - 2011.

Presidenta	: Ing. Quím. Flor de María Sosa Masgo
Vice-Presidente	: Dr. Emilio Guija Poma
Secretario General	: Ing. Quím. Manuel Otiniano Cáceres
Tesorera	: Ing. Quím. Ana María Osorio Anaya
Secretaria del Consejo Directivo	: Quím. María Angélica Best de Rodríguez
Directora de Biblioteca	: Dra. Luz Oyola de Bardales
Director Administrativo	: Quím. Neptalí Ale Borja
Vocales	: Dr. José Amiel Pérez
	: Quím. Lucía Mondragón Hernández
	: Ing. Carlos Velazco Verástigue
	: Dra. María Luisa Castro de Esparza
	: Dra. María del Rosario Sun Kou
	: M. Sc. Jorge Eduardo Loayza Pérez
	: Quím. Farm. Gabriela Soriano Chávez
	: Quím. Lizardo Visitación Figueroa

Felicitamos a todos sus componentes y estamos seguros de que el éxito los acompañará, dirigidos por la presidenta Ing. Quím. Flor de María Sosa Masgo

SciELO Perú

La Scientific Electronic Library Online -SciELO- Perú es una biblioteca virtual que abarca una colección seleccionada de revistas científicas peruanas.

SciELO es un proyecto de carácter regional desarrollado la FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa Estado de São Paulo, en colaboración con BIREME - Centro Latinoamericano y del Caribe de Información en Ciencias de la Salud.

El proyecto FAPESP/BIREME contempla el desarrollo de una metodología común para la preparación, almacenamiento, disseminación y evaluación de literatura científica en formato electrónico.

En Perú, este proyecto es liderado por el Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC), Universidad Nacional Mayor de San Marcos, y la Representación en Perú de la Organización Panamericana de la Salud.

El objetivo de SciELO Perú es implementar una biblioteca electrónica, que proporcione acceso completo a una colección de revistas científicas peruanas, una colección de números, así como al texto completo de cada uno de sus artículos. El acceso, tanto a las revistas como a los artículos, se puede realizar usando índices y formularios de búsqueda.

El sitio es constantemente actualizado tanto en forma como en contenido, en la medida en que el proyecto avanza.

La interfase SciELO proporciona acceso a su colección de revistas mediante una lista alfabética de títulos, un índice de materias, o una búsqueda por palabra de las revistas, nombres de publicadores, ciudad de publicación y materia.

La interfase también proporciona acceso al texto completo de los artículos por medio de un índice de autores, un índice de materias o un formulario de búsqueda por los elementos del artículo como nombres de autores, palabras del título, materias y palabras del texto completo.

Nuestra revista puede ser consultada en formato electrónico desde el portal de SciELO Perú: <http://www.scielo.org.pe/scielo.php>

X Jornadas de Bromatología y Nutrición

Las X Jornadas de Bromatología y Nutrición, Teresa Blanco Blasco de Alvarado-Ortiz van a realizarse en la cálida ciudad de Huacho, capital de la hospitalidad, del 25 al 27 de junio próximo, haciendo uso de las modernas instalaciones de la Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión y siguiendo con el programa de actividades que viene desarrollando exitosamente la Sociedad Química del Perú en el marco del 75 Aniversario de su fundación.

En este evento participarán destacados profesionales nacionales, como el Dr. Mario Ferreyra Mujica, jefe de la Unidad de soporte Nutricional Artificial (USNA) del Hospital Rebagliati, el Dr. Carlos Alvarado-Ortiz Coordinador del Doctorado de Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina Humana de la USMP, quien expondrá sobre receptores bioquímicos del sabor, el Dr. Fernando Quevedo Ganoza, el Dr. Eduardo Calvo “Premio Nobel de la Paz 2007” y Vicepresidente del Grupo Gubernamental de Trabajo: III del Panel Intergubernamental de cambio Climático.

Este evento contará también con la participación de ponentes extranjeros como la Dra. Lilia Mason Directora del Centro de Investigación y desarrollo en grasas y aceites de la Universidad de Chile. con “La acrilamida en alimentos fritos” y “Los ácidos grasos insaturados trans en los alimentos procesados”; la Dra. María Esperanza Torija Isasa Directora Instituto Universitario UCM-España, que expondrá los temas “Los compuestos bioactivos y su interés para la salud” e “Higiene y Manipulación de los alimentos en el Hogar”. Contaremos, además, con la participación de Dr. Alexander Kostadinov Tarev, asesor del Ministerio de Salud, con la conferencia "Desarrollo de sistemas de monitoreo y evaluación de intervenciones sanitarias dirigidas a la reducción del problema de la desnutrición.

Actualmente contamos con el auspicio académico de la Universidad Científica del Sur, UNIFE, Universidad del Santa, Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión y estamos a la espera que en el transcurso de estos días otras universidades se unan a nuestro evento. Asimismo, contamos con el auspicio económico de empresas privadas; cabe destacar a Ajinomoto del Perú y el gobierno regional de Lima, además de empresas como Z-Bus que colaborarán con el transporte a la ciudad de Huacho de los ponentes y conferencistas del evento.

Áreas temáticas

- Educación alimentaria y la evolución de la malnutrición
- La biotecnología en la biodisponibilidad de los alimentos
- Inocuidad y calidad de alimentos
- Nuevos enfoques en investigación alimentaria
- La nutrición en la biodiversidad y el medio ambiente
- Avances en la nutrición clínica: prevención y rehabilitación en el síndrome metabólico
- Nutrición pública y epidemiología de la nutrición
- Genómica nutricional

Comité organizador

Presidenta	Dra. Ana María Muñoz Jáuregui
Vicepresidenta	Mg. Carmen Girón Natividad
Secretaria	Mg. Emma del R. Guerrero Hurtado
Tesorera	Ing. Flor de María Sosa Masgo
Directora Científica	Dra. Zoila F. Honorio Durand
Director de Organización	Ing. Carlos Velazco Verástigue
Directora de RRPP y ProtocoloLic.	Julia Velásquez Gamarra
Directora de Publicaciones	Mg. Soledad Lláñez Bustamante
Directora de Logística	Lic. Brunilda Edith León Manrique

Ponentes Extranjeras:

- Dra. María Esperanza Torija Isaasa
Directora del Instituto Universitario Universidades Complutense Madrid España
- Dra. Lilian Masson Salaue
Directora del Centro de Investigación y Desarrollo en Grasas y Aceites. UCH Chile
- Dra. Inocencia Peralta López
Directora del Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas-UNA-Paraguay

Ponentes Nacionales

- Dra. Teresa Blanco Blasco de Alvarado-Ortiz
 - Dr. Mario Ferreyra Mujica. USMP. Hospital Rebagliati
 - Dr. Carlos Alvarado-Ortiz Ureta. USMP
 - Dr. Alexander Kostadinov Tarev. Ministerio de Salud
 - Dra. Faviola Jiménez Ramos. Presidenta de la Red de Alimentación y Nutrición
 - Dr. Fernando Quevedo Ganoza. UNMSM
 - Mg. Michelle Lozada Urbano. UP Cayetano Heredia
 - Mg. Eduardo Calvo Buendía. UNMSM
- Otros destacados profesionales del área

INSCRIPCIONES:

Sociedad Química del Perú
Secretaría de la Institución
 LUNES A VIERNES DE:
 10:00 a 13:30 y de 15:00 a 18:30 Hrs.
 Av. Nicolás de Araníbar N° 696,
 Sta. Beatriz, Lima 01
 Teléfono: 472-3925 Fax: 265-9049
 www.sqperu.com sqperu@gmail.com

BANCO SCOTIABANK

Cta. Cte. en soles
0003846377
 a nombre de la
 Sociedad Química
 del Perú

Universidad Nacional
José Faustino Sánchez Carrión
 Fac. de Bromatología y Nutrición
 Imagen Institucional de la UNBJFSC.
 LUNES A VIERNES DE:
 10:00 a 13:30 y de 15:00 a 18:30 Hrs.
 Av. Mercedes Indacocha S/N.
 Ciudad Universitaria. Huacho
 Teléfono: 232-6097 Anexo 229; 232-6875

Edición gráfica:
ESERGRAF
Jr. Huancavelica 293 Of. 412 , Lima
Telfs.: 998-513-545 / 4267147
mig5548@yahoo.com

SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ

SOCIOS HONORARIOS

Ing. Quím. Carlos Chirinos Villanueva (Perú)
Dr. Mario J. Molina (México)
Dra. Olga Lock Sing (Perú)
Dr. Antonio Monge Vega (España)
Dr. Lothar Beyer (Alemania)

SOCIOS CORRESPONDIENTES

Dr. Aiache, Jean-Marc (Francia)
Dr. Cea Olivares, Raymundo (México)
Dr. Chifa, Carlos (Argentina)
Dra. Cascales Angosto, María (España)
Dr. Del Castillo García, Benito (España)
Dr. De Simone, Francesco (Italia)
Dr. Eliel, Ernest L. (U.S.A.)
Dr. Garbarino, Juan A. (Chile)
Dr. García-Herbosa, Gabriel (España)
Dr. Infante, Gabriel A. (Puerto Rico)
Dr. Joseph-Nathan, Pedro (México)
Dr. Mors, Walter B. (Brasil)
Dr. San Feliciano, Arturo (España)
Dr. Suwalski, Mario (Chile)
Dr. Vicente Pérez, Santiago (España)

75

BOLETIN
DE LA

años

SOCIEDAD QUIMICA DEL PERU

SUMARIO

EDITORIAL	5
BIOGRAFIA DEL Ing. JOSE R. de la PUENTE	8
GASES DE COMBATE, por el Dr. Miguel Noriega del Aguila	11
GASES TOXICOS EN EL SUBSUELO DE LIMA, por el Dr. Fortunato Carranza	36
DETERMINACION DEL PORCENTAJE DE GRASAS, PROTEINAS Y AZUCARES EN LAS LECHES CONDENSADAS, por los señores Dr. Fortunato Carranza y Sr. Jorge Barcellos	40
ESTUDIO QUIMICO DE LAS AGUAS DE LA LAGUNA DE BOZA, por el señor Víctor Carcamo	44
VALORACION DE LA GLUCOSA URINARIA, por el señor Abel Castilla	49
ANALISIS DE TRABAJOS QUIMICOS	51
ECOS DE LA SOCIEDAD QUIMICA	56
TABLA DE PESOS ATOMICOS INTERNACIONALES	57