

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 2 ABRIL - JUNIO 2009

NÚMERO 300  
(75 x 4)



REVISTA TRIMESTRAL

INSTITUCIÓN CIENTÍFICA FUNDADA EN 1933

LIMA , PERÚ

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

<b>Presidenta</b>	: Ing. Quím. Flor de María Sosa Masgo
<b>Vice-Presidente</b>	: Dr. Emilio Guija Poma
<b>Secretario General</b>	: Ing. Quím. Manuel Otiniano Cáceres
<b>Tesorera</b>	: Ing. Quím. Ana María Osorio Anaya
<b>Secretaria del Consejo</b>	
<b>Directivo</b>	: Quím. María Angélica Best de Rodríguez
<b>Directora de Biblioteca</b>	: Dra. Luz Oyola de Bardales
<b>Director Administrativo</b>	: Quím. Neptalí Ale Borja
<b>Vocales</b>	: 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 Galloso**

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,  
EBSCO, SciELO y 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](mailto:revsqp@gmail.com) / [sqperu@gmail.com](mailto:sqperu@gmail.com)

Portal web: [www.sqperu.com](http://www.sqperu.com)

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

**Vol 75**

**ABRIL - JUNIO, 2009**

**N°2**

En el Perú: N° suelto S/.15

Suscripción anual: S/. 60.00

En el extranjero: Suscripción anual: \$50.00

# CONTENIDO

(Vol 75 N° 2 - 2009)

- Editorial .....	151
-------------------	-----

## Trabajos originales

- Two unexpected structures of platinum group metal complexes with 1,2-dihydro-2,5-diphenyl-3H-1,2,4-triazole-3-thion, por Jorge R. Angulo-Cornejo, Verónica Robles Calderón, Rainer Richter, Lothar Beyer, Lothar Henning, Heinz Böhlig, Karheinz Hallmeier. ....	153
- Nanocatalizadores basados en óxidos de Fe para la combustión catalítica de n-hexano, por Gino Picasso, Rosario Sun-Kou, Gemma Gómez, Emilia Hermoza, María Pilar Pina, Javier Herguido. ....	163
- Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata por la ruta sol-gel a partir de nitrato de plata, por Jorge Morales, José Morán, María Quintana, Walter Estrada. ....	177
- Aplicación de las técnicas de EIE y RPL al estudio de la corrosión de polvos de FeAl en suspensión, por A. Torres-Islas, E. García de León, S. Serna, G. Rosas. ....	1854
- Degradación catalítica de fenol con peróxido de hidrógeno: sistemas “Fenton Heterogéneo”, por Paola Massa, Antón Dafinov, Rosa Fenoglio, Francisco Medina Cabello. ....	194
- Estudio cinético y termodinámico de la adsorción de Cr (VI) presente en solución acuosa sobre fosfato de calcio sintético, por F. Granados-Correa, J. Bonifacio Martínez, y J. Serrano Gómez. ....	201
- Eliminación de 2-clorofenol de soluciones acuosas mediante algas marinas: evidencias de mecanismo de adsorción, por Norma A. Cuizano, Bertha P. Llanos, Abel E. Navarro. ....	213
- Composition and antibacterial activity of the essential oil of <i>Myrcia fallax</i> (Rich.) D.c. from Venezuela, por Libia D. Alarcón, Alexis E. Peña, Nélida Gonzales de C., América Quintero, María Meza, Alfredo de Ububillaga and JuditH Velasco. ....	221
- Propiedades antioxidantes de la guayaba ( <i>Psidium guajava</i> L.), por Miriam Palomino Pacheco, Emilio Guíja Poma, Nancy Lozano Reyes. ....	228
- Patrones electroforéticos de los venenos de serpientes peruanas de los géneros <i>Botrops</i> y <i>Lachesis</i> , por Mendoza, J.; Vivas, D.; Inga, R.; Arbaiza, E.; Rodríguez, E., y Yarlequé, A. ....	235
- Caracterización de aceites, tortas y harinas de frutos de Ungurahui ( <i>Jessenia polycarpa</i> ) y aguaje ( <i>Mauritia flexuosa</i> L.) de la amazonía peruana, por Fredy Quispe Jacobo, Mauro Ayala Rojas, Gerardo Ingunza Reyes, Ever Landeo Pino, Gloria Pascual Chagman. ....	243
- Caracterización de esteroides en la fracción lipídica de la maca ( <i>Lepidium meyenii</i> Walp), mediante técnicas cromatográficas, por José E. Gutiérrez Parvina, Katyusca Montaña Fuentes, Julio C. Bracho Pérez, Carmen Rodríguez Best y Artemio Chang Canales. ....	254
- Características viscoelásticas y estimaciones de masas moleculares en almidón de oca ( <i>Oxalis tuberosum</i> ), por Patricia Glorio Paulet; Luis Arturo Bello-Pérez, Francisco Salas y Evelyn Buleje. ....	266

## Informaciones

A. De la Sociedad Química del Perú	
- Convocatoria de la Fundación Hipólito Unanue, al premio Medalla de Oro Hipólito Unanue 2009. ....	277
- Conferencias Jueves Científicos. ....	277
- Avances de las X Jornadas de Bromatología y Nutrición. ....	277
B. Otras Informaciones	
- El Colegio de Químicos del Perú publicó su Revista Oficial. ....	278

---

## 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](mailto: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](http://www.sqperu.com)

## Editorial

### Setentaicinco años

Este es el número trescientos de la Revista de la Sociedad Química del Perú. Setentaicinco años; cuatro números por año; una publicación nunca interrumpida, y con todos los números publicados separadamente. Sólo una asociación científica con un sólido ideario dejado por sus fundadores, como la SQP, puede haber realizado este cometido.

La lectura de los “Editoriales” de los primeros Boletines, (así se llamaba esta Revista hasta el año 2003), deja en uno, más de setenta años después, la sensación de encontrarse inmerso en esas asambleas de la Sociedad Química donde se deba lectura, discutía y aprobaba los trabajos propuestos por la Comisión de Publicaciones, antes de ser entregados a la imprenta.

La publicación del Boletín era una preocupación constante de los Consejos Directivos. Así, en el informe que presenta el Dr. Miguel Noriega del Águila – presidente saliente – a la asamblea general con motivo del cambio del Consejo Directivo, atribuye la “buena marcha” de la Sociedad Química a la regularidad con que van saliendo los Boletines. Esto lo afirma el Dr. Noriega el 6 de enero del 1936, cuando recién acababa de enviarse a la imprenta el Boletín número 6.

En el editorial del número 4, volumen 4 (1938), comentando el homenaje que el Primer Congreso Nacional de Química rindiera a quienes durante esos cuatro años se responsabilizaron de la publicación del Boletín, se dice: “Es lógico esperar que su publicación perdure perennemente y sean los hombres que rigen sus destinos, los encargados de conservar este fuego sagrado de la ciencia química nacional”. Vistas en la retrospectiva del tiempo, estas palabras fueron proféticas, pues dos años después se hacía cargo de la Secretaría General de la Sociedad el Dr. Juan de Dios Guevara Romero, quien ocupó este cargo durante sesenta años, al haber sido nombrado secretario general permanente por una Asamblea General. Siempre existieron las Comisiones de Publicaciones, pero Juan de Dios era el motor de la Sociedad, y velaba muy de cerca, - con frecuencia haciéndose responsable -, de la publicación del Boletín, hasta su deceso en el 2000. Quienes recibimos la posta de sus manos, tratamos de hacer honor a tan insigne maestro.

Varios años más tarde, el Dr. Fortunato Carranza Sánchez, - gestor y fundador de la Sociedad Química – se expresaba así en una asamblea: “La vitalidad y permanencia de la Sociedad Química, a diferencia de otras asociaciones científica, (radica) en que fueron fracasando por faltarles este vínculo de unión”. Y en otra de sus intervenciones, algunos años después, felicitaba al Dr. Guevara “..... por su entusiasmo para trabajar sin desmayo por la Sociedad, especialmente por su dedicación a la publicación del Boletín”.

Hay un tema recurrente en las editoriales del Boletín desde sus primeros números, la investigación. Así, en el número 2, volumen 1 (1934), se afirma que uno de los fines de la publicación del Boletín es fomentar la investigación en el campo de la química. El autor de dicho editorial no ignoraba lo que se consigna en su Estatuto, art. 3-g: “La Sociedad tiene por

objeto fomentar la investigación científica, y crear premios de estímulo para los mejores trabajos de carácter químico”.

En los últimos años, los editoriales de la Revista han venido recordando el trabajo tesonero, en pro de la investigación, de algunos socios. Tal es el caso del Dr. Ángel Maldonado Alcázar; su ejemplo sirve de acicate a muchos jóvenes profesionales que recién se inician en la investigación científica. Para muchos de los recién titulados la investigación comienza y termina con la tesis. Para otros, los menos, esta tesis significa el paso hacia un futuro que marcará su vida profesional.

A raíz del Congreso Iberoamericano de Química que tuvo lugar en la ciudad del Cusco, en octubre del 2008, organizado por la Sociedad Química del Perú con motivo de su 75 aniversario de fundada, fueron presentados unos 500 trabajos de investigación, de los que cerca del 30% fueron peruanos. Como era de esperar, fue el área de Productos Naturales, entre las siete en que se distribuyeron los trabajos enviados al Congreso, que contó con el mayor número, 112, y en su mayoría, sobre fitoquímica.

Una señal esperanzadora, sobre el futuro de la investigación química en el Perú, está en el hecho de haber sido investigadores que trabajan en universidades de provincias quienes enviaron muchos de dichos trabajos, tales como:

- Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María
- Universidad Nacional San Antonio Abad, Cusco
- Universidad Nacional San Luis Gonzaga, Ica
- Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, Iquitos
- Y otras...

Un buen trabajo de investigación merece ser plasmado en un “bien presentado” artículo para que puede ser publicado. Y en esta revista pueden contar con nosotros para ayudarles en esta tarea

Vaya un saludo a todos estos investigadores que, a pesar de las carencias de medios, sacan pecho por estudiar nuestra rica biodiversidad.

¡Enhorabuena!

**Luis Valles F.**  
Editor

## TWO UNEXPECTED STRUCTURES OF PLATINUM GROUP METAL COMPLEXES WITH 1,2-DIHYDRO-2,5-DIPHENYL-3H-1,2,4-TRIAZOLE-3-THION

Jorge R. Angulo-Cornejo<sup>a,b</sup>, Verónica Robles-Calderón<sup>a</sup>, Rainer Richter<sup>c</sup>, Lothar Beyer<sup>c</sup>,  
Lothar Hennig<sup>c</sup>, Heinz Böhlig<sup>c</sup>, Karlheinz Hallmeier<sup>c</sup>

### ABSTRACT

Palladium (II) and platinum (II) complexes 5 and 6 were synthesized using 1,2-dihydro-2,5-diphenyl-3H-1,2,4-triazole-3-thion 3 as a ligand from an isomeric mixture of 3 and 4. The unexpected structures of 5 and 6 were investigated by mass spectra, IR (DRIFT), and ESCA measurements as well as crystal structure determinations. The palladium (II) complex is tetranuclear with two groups of Pd central atoms with different coordination geometries. Two Pd atoms have coordination number 5 (square pyramidal) with a weak Pd-Pd bond between both coordination centers. The other Pd atoms show coordination number 4 (square planar). In the structure of the platinum (II) complex anion the Pt atom is surrounded by four sulphur atoms of the thion groups arranged in a square planar coordination. The crystal structure shows an extended system of hydrogen bonds that obviously determine the configuration of the complex anion.

**Key words:** Palladium and platinum (II) complexes; structures; triazole-3-thion; square planar and square pyramidal coordination; Pd-Pd coordination; anionic platinum complex.

## DOS ESTRUCTURAS INESPERADAS DE COMPLEJOS METÁLICOS DEL GRUPO DEL PLATINO CON 1,2-DIHIDRO-2,5-DIFENIL-3H-1,2,4-TRIAZOL-TIONA

### RESUMEN

Los complejos de paladio (II) 5 y platino (II) 6 fueron sintetizados utilizando como ligando el 1,2-dihidro-2,5-difenil-3H-1,2,4-triazol-3-tiona 3 a partir de una mezcla de los isómeros 3 y 4. Las inesperadas estructuras de 5 y 6 fueron investigadas por el espectro de masas, IR (DRIFT) y por mediciones ESCA; así como por determinación de las estructuras cristalinas. El complejo de paladio (II) es tetranuclear, con dos grupos de átomos centrales de paladio de diferente geometría de coordinación. Dos átomos de paladio tienen coordinación 5 (pirámide cuadrada) con un enlace débil Pd-Pd entre ambos centros de coordinación. Los otros átomos de paladio presentan número de coordinación 4 (cuadrada plana).

En la estructura del anión complejo de platino (II), el átomo de Pt está rodeado por cuatro átomos de azufre del grupo tiona, en un arreglo de coordinación cuadrada plana. La estructura cristalina presenta un sistema amplio de enlaces de hidrógeno que obviamente determinan la configuración del anión complejo.

<sup>a</sup> Facultad de Química e Ingeniería Química UNMSM; Ciudad Universitaria Av. Venezuela s/n. Lima 100, Perú. jorac1@yahoo.com

<sup>b</sup> Facultad de Ciencias; Universidad Nacional de Ingeniería. Av Túpac Amaru 210, Rímac, Lima, Perú.

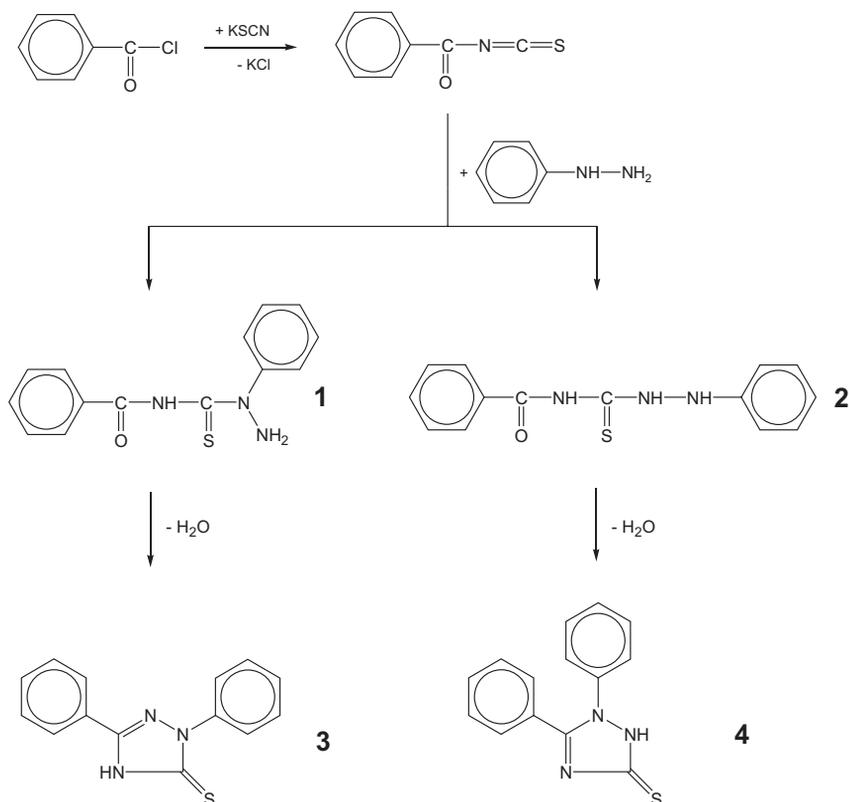
<sup>c</sup> Fakultät für Chemie und Mineralogie, Johannisallee 29, D-04103 Leipzig, Germany.

**Palabras clave:** Complejos de paladio(II) y platino(II); estructura; triazol-3-tiona; coordinación cuadrada plana y piramidal cuadrada; coordinación Pd-Pd; complejo aniónico de platino.

### INTRODUCTION

Acyl isothiocyanates which are easily obtained from acyl chlorides and potassium thiocyanate react with primary or secondary amines to N'-monosubstituted or N',N'-disubstituted N-acyl thioureas. These classes of substances have been thoroughly investigated since long time because of their ability for complex formation and their interesting extraction properties<sup>1,2</sup>.

By reaction of acyl isothiocyanates with hydrazine or substituted hydrazines N-acyl thiourea derivatives should be formed as intermediates in same manner. In case of phenyl hydrazine the reaction can take place with both the  $\text{NHC}_6\text{H}_5$  group and the  $\text{NH}_2$  group (scheme 1).



Therefore, two different reaction products are imaginable by use of benzoyl isothiocyanate: N'-amino-N'-phenyl-N-benzoyl thiourea 1 and N'-anilino-N-benzoyl thiourea 2.

However, both products react by dehydration and cyclization with formation of isomeric triazoles:

1,2-dihydro-2,5-diphenyl-3H-1,2,4-triazole-3-thion **3** und 1,2-dihydro-1,5-diphenyl-3H-1,2,4-triazole-3-thion **4**.

Whereas the compounds **3** and **4** have already been synthesized by different ways and characterized in detail (**3**<sup>3-7</sup>, **4**<sup>3-8</sup>), the synthesis described by Angulo et al.<sup>9</sup> gives a mixture of both isomers.

In this paper the structures of a palladium(II) complex **5** and a platinum(II) complex **6** are reported which are formed from the isomeric mixture of **3** and **4** with the isomer **3**.

## EXPERIMENTAL

All chemicals and solvents were dried and purified by the usual methods.

### Mass spectra

High resolution mass spectra (ESI positiv) were measured with a FT ICR MS APEX II (Bruker Daltonics) spectrometer and methanol as a solvent.

### IR (DRIFT)

The DRIFT spectrum of the platinum metal complex **6** was measured in the middle infrared region (4000 – 400 cm<sup>-1</sup>) with a System 2000R spectrometer (Perkin-Elmer) by using a Praying Mantis diffuse reflection attachment (Harrick). The spectrum was recorded at a resolution of 4 cm<sup>-1</sup>, with 32 scans being averaged. KBr was used as a standard (background).

### ESCA

The ESCA spectra were recorded with a VG ESCA lab 220iXL photoelectron spectrometer using unmonochromatised Al K $\alpha$  radiation (12 kV, 20 mA). The powder samples were spread on double-side adhesive carbon tape fixed on stainless steel sample holders. Charging effects were compensated setting the C 1s value of the carbon contamination to 285,0 eV. During the measurements the vacuum was in the low 10<sup>-8</sup> Torr region.

### Crystal structure determinations

The data for the crystal structure determinations were collected with a Siemens-SMART diffractometer (**5**) and a Stoe-IPDS-2T diffractometer (**6**) using MoK $\alpha$  radiation ( $\lambda=0.71073$  Å) at measuring temperatures of 220 K (**5**) and 170 K (**6**). Absorption corrections were performed for the Pd complex **5** with SADABS and for the Pt complex **6** with X-RED and X-SHAPE. The structures were solved by direct methods and refined anisotropically<sup>10</sup>. The H atom positions in **5** were calculated geometrically with fixation of the U<sub>iso</sub> values. In **6** the H atoms in the water molecules and in the triethylammonium ions were estimated experimentally and refined isotropically. All other H atoms were calculated geometrically with fixation of the U<sub>iso</sub> values.

Details of crystal data and structure determinations are summarized in table 5.

Further details of the crystal structure determinations are available on request from the Cambridge Crystallographic Data Center, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK, on quoting the deposition numbers CCDC-713057 (**5**) and CCDC-713058 (**6**), the name of the authors, and the journal citation.

### Synthesis of **5**

2,1 mmol (89 mg) LiCl are dissolved in 15 mL freshly distilled methanol. To this solution 1,0 mmol (177 mg) PdCl<sub>2</sub>, dissolved in 30 mL methanol, is added. The dark red solution is refluxed for 4 h at 60°C with permanent stirring. The complex Li<sub>2</sub>PdCl<sub>4</sub> is formed. To this solution a solution of 2,1 mmol (532 mg) of the isomeric mixture 1,2-dihydro-2,5-diphenyl-

3*H*-1,2,4-triazole-3-thion/1,2-dihydro-1,5-diphenyl-3*H*-1,2,4-triazole-3-thion<sup>9</sup>, dissolved in 15 mL methanol, is added. The reaction mixture is refluxed for 10 h at 70°C with permanent stirring. The colour first changes to brick-red and later to dark red.

After finishing the reaction the solution is stored for 24 h. After that the reaction product is isolated by filtration and washed with cold methanol. The dark red solid is recrystallized by DMF. C<sub>84</sub>H<sub>60</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>18</sub>Pd<sub>4</sub>S<sub>6</sub>, M 2010.36 g/mol. Yield 40%. Found (calc.) C 53,2 (50,2), N 10,3 (12,5), S 8,37 (9,57), Cl 2,87 (3,53) %.

### Synthesis of 6

0,12 mmol (50 mg) K<sub>2</sub>PtCl<sub>4</sub> are dissolved in 25 mL methanol and 1 mL water. To this solution 0,48 mmol (122 mg) of the isomeric mixture 1,2-dihydro-2,5-diphenyl-3*H*-1,2,4-triazole-3-thion/1,2-dihydro-1,5-diphenyl-3*H*-1,2,4-triazole-3-thion<sup>9</sup>, dissolved in ethanol, is added, together with 1 mL triethylamine. The solution is vigorously stirred for 3 h under slight heating and accepts a light yellow colour. After finishing the reaction the solution is stored overnight. Then the main part of the solvent is removed and the solution is stored in the refrigerator. The formed precipitate is filtered and dissolved in a mixture of chloroform and hexane (1:2). From this solution red-orange crystals precipitate in the refrigerator. [(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>NH]<sub>2</sub>[Pt(C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>N<sub>3</sub>S)<sub>4</sub>], M 1408,75 g/mol. Yield 83 mg (48,91%). Found (calc.) C 57,50 (57,98), H 5,32 (5,15), N 13,53 (13,92), S 8,89 (9,10) %.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Structure of 5

1,2-Dihydro-2,5-diphenyl-3*H*-1,2,4-triazole-3-thion 3 forms with lithium tetrachloropalladate(II) a tetranuclear Pd complex (fig. 1). This complex contains two groups of Pd central atoms, which are different in their coordination geometry.

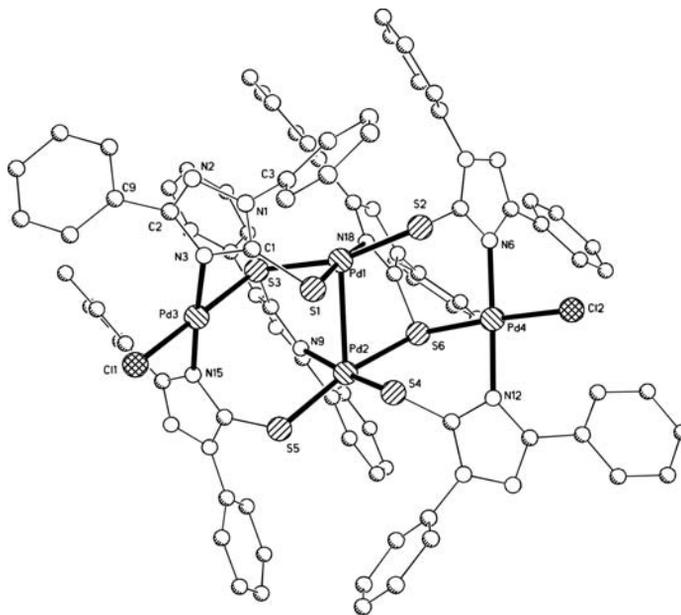


Figure 1. Molecular structure of Pd complex 5 (without hydrogen atoms)

The coordination geometry of Pd1 and Pd2 is square pyramidal. The square basic planes are occupied by three sulphur and one nitrogen ligand atoms, the tops by the respective other Pd atom (coordination number 5). Pd3 and Pd4 are coordinated square planar by one sulphur, two nitrogen and one chlorine ligand atoms (coordination number 4).

Only S1, S2, S4 and S5 coordinate of the six sulphur atoms with one Pd atom, while S3 and S6 are bridging ligands between two Pd atoms. All six ligand molecules coordinate by deprotonation with S and N to two Pd central atoms.

Selected bond lengths are given in table 1. The distance Pd1-Pd2 is 3,031 Å and shows a weak intramolecular Pd-Pd bond<sup>[11]</sup>. The bond lengths in the planar triazole rings of the coordinated ligands are compatible with those in 1,2,4-triazole<sup>[12,13]</sup> and reflect the contribution of several resonance structures to the ground state of the heterocycle. The shortest N-C bond is the formal double bond N2-C2 (mean value of all six triazole rings 1,321 Å). It is followed by the formal single bonds N3-C1 (1,342 Å), N1-C1 (1,350 Å) and N3-C2 (1,373 Å). There are no hydrogen bonds in the crystal structure.

**Table 1.** Selected bond lengths (Å) in 5

Pd1 – Pd2	3,031(1)		
Pd1 – S1	2,318(1)	Pd2 – S4	2,285(1)
Pd1 – S2	2,321(1)	Pd2 – S5	2,338(1)
Pd1 – S3	2,358(1)	Pd2 – S6	2,385(1)
Pd1 – N18	2,046(3)	Pd2 – N9	2,068(3)
Pd3 – S3	2,277(1)	Pd4 – S6	2,327(1)
Pd3 – Cl1	2,313(1)	Pd4 – Cl2	2,295(1)
Pd3 – N3	2,028(3)	Pd4 – N6	2,039(3)
Pd3 – N15	2,014(3)	Pd4 – N12	2,034(3)

Mean values of the six triazole rings

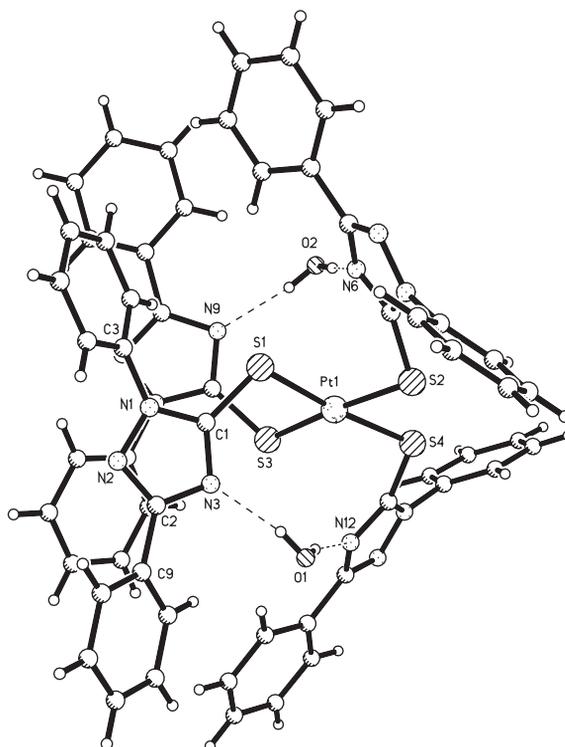
S1 – C1	1,732(3) and 1,756(3) (bridging)		
N1 – N2	1,368(4)	N1 – C1	1,350(4)
N1 – C3	1,438(4)	N2 – C2	1,321(4)
N3 – C1	1,342(4)	N3 – C2	1,373(4)
C2 – C9	1,476(5)		

### Structure of 6

1,2-Dihydro-2,5-diphenyl-3H-1,2,4-triazole-3-thion 3 forms with potassium tetrachloroplatinat(II) and triethylamine a complex of the composition  $[(C_2H_5)_3NH]_2[Pt(C_{14}H_{10}N_3S)_4]$  whose crystal structure contains two molecules water and three molecules chloroform per formula unit (fig. 2).

In the complex anion four ligands coordinate under deprotonation by the sulphur atoms of the thion groups that surround the Pt atom in a nearly square planar arrangement.

Selected bond lengths are given in table 2. Here the bond lengths in the planar triazole rings of the coordinated ligands are also compatible with those in 1,2,4-triazole. The shortest N-C bond is again the formal double bond N2-C2 (mean value of all four triazole rings 1,324 Å). As well as in 5 the formal single bonds N3-C1 (1,339 Å), N3-C2 (1,365 Å) and N1-C1 (1,367 Å) are clearly longer.



**Figure 2.** Molecular structure of the complex anion of Pt complex 6

**Table 2.** Selected bond lengths (Å) in 6

S1 – C1	1,734(3)	N1 – N2	1,374(3)
N1 – C1	1,367(4)	N1 – C3	1,427(4)
N2 – C2	1,324(4)	N3 – C1	1,339(4)
N3 – C2	1,365(4)	C2 – C9	1,472(4)

The crystal structure shows an interesting system of hydrogen bonds that obviously determine the configuration of the complex anion. In each case two triazole rings are connected by a water molecule as H donor (bridges to N3/N12 and N6/N9). Simultaneously, both water molecules are also H acceptors for the H atoms of the triethylammonium cations (table 3).

Additionally, the crystal structure contains three chloroform molecules per complex anion that show no interactions with other parts of the structure. The structural parameters of the triethylammonium ions and the chloroform molecules are in agreement with the expectations.

**Table 3.** Hydrogen bonds in 6 (distances in Å, angles in °)

O1-H1O1...N12:	O-H 0,73;	H...N 2,12;	O...N 2,839;	O-H...N 168
O1-H2O1...N3:	O-H 0,82;	H...N 1,99;	O...N 2,801;	O-H...N 166
O2-H1O2...N6:	O-H 0,83;	H...N 2,04;	O...N 2,857;	O-H...N 167
O2-H2O2...N9:	O-H 0,80;	H...N 2,05;	O...N 2,823;	O-H...N 164
N13-H13N...O2:	N-H 0,85;	H...O 1,85;	N...O 2,701;	N-H...O 173
N14-H14N...O1:	N-H 0,91;	H...O 1,80;	N...O 2,686;	N-H...O 166

**ESCA results of 5**

The ESCA spectra (table 4) confirm the basic pattern of the coordination.

- The Pd 3d<sub>5/2</sub> component points at the Pd(II) state.
- The N 1s peak consists of two components with an intensity ratio of 1:3 (higher-energy:lower-energy), but also a fit with an intensity ratio of 1:2 seems possible. The higher-energy component appears due to the 6 N atoms bound at Pd. The other 12 N atoms contribute to the lower-energy component, leading to a theoretical intensity ratio of 1:2.
- The S 2p peak also consists of two components (doublets) with an intensity ratio of 2:3.5. To the higher-energy component contribute the two bridging atoms in the S bridges Pd1-S3-Pd3 and Pd2-S6-Pd4. The remaining 4 S atoms (S1, S2, S4, S5) coordinating only to one Pd atom resp. contribute to the lower-energy component leading to a theoretical intensity ratio of 1:2.
- The binding energy of Cl 2p<sub>3/2</sub> points at a chloro ligand. The amount is however twice that of Pd. Possibly this high value is due to a contamination of the sample by not completely separated LiCl.
- The too high amount of carbon results from the contamination of the surface due to the preparation of the sample in the atmosphere.

**Table 4.** Binding energies E<sub>b</sub> (eV), in brackets half-widths (eV) and relative amounts (atomic %) for 5

Pd3d <sub>5/2</sub>	338,1 (1,6/2,4)
N1s	399,9 (1,8/8,9); 401,5 (1,9/2,9)
S2p <sub>3/2</sub>	162,6 (1,6/2,1); 163,6 (1,6/1,2)
Cl2p <sub>3/2</sub>	198,0 (2,0/5,4)
C1s	285,0 (2,0/70,3); 286,8 (2,0/6,8)

**Mass spectra of 5**

An exact mass of 2011,91952 was calculated for the tetranuclear Pd complex 5 corresponding to the molecular formula C<sub>84</sub>H<sub>61</sub>S<sub>6</sub>N<sub>18</sub>Pd<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub> (+1; ESI positive mode). The measured high resolution mass spectrum showed a peak at 1975,96490 which corresponds to the molecular

ion minus HCl (hydrogen chlorine probably may be removed at the ion source). For  $C_{84}H_{60}S_6N_{18}Pd_4Cl$  (+1) an exact mass of 1976,94338 was calculated. The measured and the simulated spectrum for this mass and the isotopic pattern fit as far as possible.

### Infrared (DRIFT) spectrum of **6**

The infrared spectrum of **6** diluted by KBr supports the obtained solid state structure (fig. 3).

#### - Chloroform

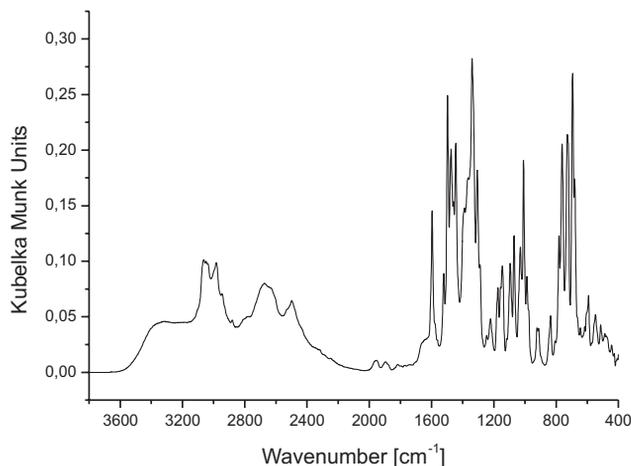
The normal mode frequencies at 3036,8 (w, sh), 1221,8 (w), 761,4 (s), and 680,8 (m)  $cm^{-1}$  measured in the DRIFT spectrum of **6** agree rather well with the corresponding values of chloroform in the gaseous state (3033; 1205; 760, and 667  $cm^{-1}$ )<sup>14</sup>. That means, there is nothing to be said against the presence of chloroform within the crystal structure.

#### - Water

Infrared bands at 3328,4 and 1638,7  $cm^{-1}$  can only be attributed to water stretching vibration (O-HN) and bending vibration (HOH)<sub>ass</sub>, respectively, because no uncharged species because no uncharged species with N-H bond can occur due to deprotonation of triazole units. In this case, water is associated by O-HN hydrogen bonds.

#### - Triethylammonium cation

The  $(C_2H_5)_3NH^+$  can form hydrogen bonds as well to the oxygen atom of water as to the N atoms of triazole units. Corresponding  $\nu(\equiv N-H^+ \dots O, N)$  stretching vibrations should absorb in the region of 2700–2330  $cm^{-1}$ . The band complex with maxima at 2673,1 and 2498,3  $cm^{-1}$  with maxima at 2673,1 and 2498,3  $cm^{-1}$  is broad and therefore consistent with a H-bonding background. However, it cannot be distinguished between N-H---N and N-H---O structures.



**Figure 3.** DRIFT spectrum of **6**

**Table 5.** Crystal data and details of structure determinations

	5	6
Empirical formula	C <sub>84</sub> H <sub>60</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>18</sub> Pd <sub>4</sub> S <sub>6</sub>	C <sub>71</sub> H <sub>79</sub> Cl <sub>9</sub> N <sub>14</sub> O <sub>2</sub> PtS <sub>4</sub>
M <sub>r</sub> /g mol <sup>-1</sup>	2010,36	1802,86
Colour, habit	red prisms	orange prisms
Crystal system	triclinic	triclinic
Space group	P-1	P-1
a / Å	11,739(2)	14,381(1)
b / Å	15,722(3)	14,718(1)
c / Å	22,906(5)	20,038(1)
α / °	80,460(4)	93,496(3)
β / °	76,242(3)	106,369(3)
γ / °	79,822(4)	97,118(3)
V / Å <sup>3</sup>	4007,9(14)	4017,6(3)
Z; F(000)	2; 2008	2; 1828
ρ <sub>calc</sub> /g cm <sup>-3</sup>	1,666	1,490
Crystal size /mm	0,31x0,25x0,14	0,21x0,13x0,04
2θ range /°	3,6 – 58,7	6,4 – 56,0
Temperature /K	220	170
μ(MoKα) /mm <sup>-1</sup>	1,165	2,202
Measured reflections	26288	19210
Unique reflections	18691	19210
Observed reflections (I>2σ(I))	14254	16578
Refined parameters	1027	938
R1 (observed reflections)	0,0386	0,0322
wR2 (unique reflections)	0,0891	0,0862
Largest difference peak and hole /e Å <sup>-3</sup>	1,05/-0,71	1,82/-1,61

### CONCLUSIONS

Two platinum(II) and palladium(II) complexes have synthesized and characterized with 1,2-dihydro-2,5-diphenyl-3H-1,2,4-triazole-3-thion ligand. It is important to highlight that both complexes do not have equal structural behavior. The palladium neutral complex is tetra nuclear, whereas the anionic platinum (II) complex is mononuclear.

### LITERATURE

1. L. Beyer, E. Hoyer, J. Liebscher, H. Hartmann, *Z. Chem.* 21 (1981) 81.
2. P. Mühl, K. Gloe, F. Dietze, E. Hoyer, L. Beyer, *Z. Chem.* 26 (1986) 81.
3. R. Sgarbi, *Chim. Ind. (Milan)* 48 (1966) 18.
4. R. Pohloudek-Fabini, E. Schroepf, *Pharmaz. Zentralhalle* 107 (1968) 736.
5. G. Barnikow, D. Richter, *Z. Chem.* 20 (1980) 97.
6. T. Somorai, P. Dvortsak, J. Lango, J. Reiter, *Acta Chim. Hung.* 114 (1983) 23.
7. G. Weber, J. Hartung, L. Beyer, *Z. Chem.* 26 (1986) 70.
8. E. Fromm, A. Trnka, *Liebigs Ann. Chem.* 442 (1925) 150.
9. J.R. Angulo-Cornejo, M. Serrano-Ruiz, L. Hennig, *Rev. Soc. Quím. Peru* 69 (2003) 131.

10. G.M. Sheldrick, SHELX-97, A Program System for the Solution and Refinement of X-ray Crystal Structures, Univ. Göttingen, Germany 1997
11. S.-Y. Yu, M. Fujita, K. Yamaguchi, *J. Chem. Soc., Dalton TA* 2001, 3415.
12. P. Goldstein, J. Ladell, G. Abowitz, *Acta Crystallogr.* B25 (1969) 135.
13. G.A. Jeffrey, J.R. Ruble, J.H. Yates, *Acta Crystallogr.* B39 (1983) 388.
14. G. Herzberg, *Molecular Spectra and Molecular Structure II*, p. 316, Van Nostrand, New York 1960.

## CATALIZADORES NANOESTRUCTURADOS BASADOS EN ÓXIDOS DE Fe PARA LA COMBUSTIÓN DE n-HEXANO

Gino Picasso<sup>a</sup>, Rosario Sun Kou<sup>b</sup>, Gemma Gómez<sup>c</sup>, Emilia Hermoza<sup>a</sup>, Alcides López<sup>a</sup>  
Maria Pilar Pina<sup>c</sup>, Javier Herguido<sup>c</sup>

### RESUMEN

En este trabajo se han preparado catalizadores basados en óxido de Fe para la combustión de n-hexano (2000 ppmV). La síntesis de nanopartículas de óxido de Fe se ha realizado mediante el método sol-gel a partir de precursores a base de sales de nitrato. Según el análisis XRD, las nanopartículas formaron fase  $\alpha$ -hematita y el tamaño estimado de las mismas medido por TEM fue de 9 nm con aglomeraciones de 140 nm. Adicionalmente, se han preparado arcillas pilaradas con Al (Al-PILC), Ti (Ti-PILC) y Fe (Fe-PILC). Para estudiar el efecto cooperativo del Mn, se han preparado catalizadores de FeMn equimolar soportados en Al-PILC (FeMn/Al-PILC) y Ti-PILC (FeMn/Ti-PILC). Las condiciones de calcinación utilizadas han permitido obtener materiales térmicamente estables.

Los análisis XRD de las muestras pilaradas evidenciaron la formación de pilares estables, con excepción del Fe-PILC que presentó una estructura delaminada. Por efecto del pilaramiento se produjo un incremento del área superficial respecto a la arcilla de partida. Con relación al área, el orden decreciente de los materiales pilarados fue: Ti-PILC > Fe-PILC > Al-PILC. La incorporación de la fase activa Fe-Mn en los soportes de Ti-PILC y Al-PILC produjo en todas las muestras una reducción de la superficie total y una disminución de los espaciados basales  $d_{001}$ , sin alterar la matriz estructural de la arcilla de partida.

La fase mixta Fe-Mn soportada sobre las arcillas pilaradas mostró mayor actividad catalítica que Fe-PILC, que se evidenció por el efecto cooperativo del Mn. Este efecto podría asociarse con las propiedades redox del Mn y la facilidad de movilidad del oxígeno superficial. La estructura delaminada y la fuerte interacción del Fe con la estructura de la arcilla, en la muestra Fe-PILC, pudieron ser las causantes de su menor actividad. Sin embargo, se obtuvieron mejores rendimientos cuando esta interacción fue menor, como en el caso de las nanopartículas de óxido de Fe preparadas con un surfactante y soportadas sobre bentonita natural.

**Palabras clave:** nanopartículas de óxido de Fe, Fe-PILC, eliminación de n-hexano

## NANOSIZED CATALYSTS BASED ON Fe OXIDE FOR COMBUSTION OF n-HEXANE

### ABSTRACT

In this work, nanosized catalysts based on Fe oxide have been prepared for total combustion of n-hexane (2000 ppmV). The synthesis of Fe oxide particles have been performed following

<sup>a</sup> Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Ingeniería, Av. Túpac Amaru 210, Rímac, Lima-Perú, gpicasso@unizar.es

<sup>b</sup> Pontificia Universidad Católica del Perú, Av. Universitaria 1801, San-Miguel, Lima-Perú, msun@pucp.edu.pe

<sup>c</sup> Universidad de Zaragoza, Departamento de Ingeniería Química y Tecnologías del Medio Ambiente, c/ Pedro Cerbuna 12, 50009, Zaragoza-España

sol-gel procedure starting from precursors based on nitrate salts. According to XRD analysis, nanoparticles formed -hematite and the average particle size estimated by TEM was 9 nm with formation of agglomerations of 140 nm. Moreover, different clays pillared with Al (Al-PILC), Ti (Ti-PILC) and Fe (Fe-PILC) have been synthesized. Some samples based on Fe-Mn equimolar mixed oxide supported on Al-PILC (FeMn/Al-PILC) and on Ti-PILC (FeMn/Ti-PILC) have been prepared in order to study the cooperative effect of Mn. Experimental conditions of calcination were adjusted in order to obtain samples with high thermal stability. XRD analysis of pillared samples revealed the formation of stable pillars, except for Fe-PILC which described a delaminated structure. As a consequence of pillaring, an enhancement of total surface area compared to starting clay material is observed. Concerning surface area, the decreasing order series of pillared material was: Ti-PILC > Fe-PILC > Al-PILC. Depression of total surface area and decreasing of basal spacing  $d_{001}$  with no modification of basal structure of starting natural clay have been observed due to the incorporation of Fe-Mn active phase into the structures of Ti-PILC and Al-PILC.

The Fe-Mn mixed phase supported over pillared material exhibited higher catalytic activity than the Fe-PILC sample, which was attributed to the cooperative effect of Mn. This effect could be associated with redox properties of Mn and improving of surface oxygen mobility. Delaminated structure and strong interaction of Fe with clay porous network into the Fe-PILC sample could be the reason of lower activities. However, higher performances were observed in the case of Fe oxide nanoparticles prepared with surfactant agent over bentonite, due to a lesser extent of Fe-porous structure interaction presented in these samples.

**Key words:** nanoparticles based on Fe oxide, Fe-PILC, total combustion of n-hexane

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha incrementado el uso de diversos tipos de nanomateriales en aplicaciones tecnológicas, por ejemplo catálisis, biomedicina, electroquímica, sensores, entre otros<sup>1-4</sup>. Muchos de los trabajos se han focalizado en la investigación de métodos de síntesis, análisis estructural y aplicaciones catalíticas<sup>5-7</sup>. Nanopartículas basadas en óxidos metálicos han presentado buenas propiedades catalíticas en muchas reacciones heterogéneas gracias a las altas superficies específicas y a las propiedades particulares de los nanomateriales (por ejemplo, alta reactividad química, alta estabilidad térmica, especiales propiedades conductoras, etc.) en comparación con los catalizadores másicos tradicionales<sup>8-9</sup>. En particular, nanopartículas basadas en óxidos de Fe han encontrado especial atención en la eliminación de compuestos orgánicos volátiles (COV's) debido a sus propiedades catalíticas, relacionadas principalmente con su estado de oxidación y poliformismo, que se pueden dosificar regulando la deposición de las partículas en soportes apropiados<sup>10-11</sup>.

El proceso sol-gel es uno de los métodos más usados para producir nanopartículas de óxidos de inorgánicos a partir de dispersiones coloidales o de alcóxidos metálicos<sup>12</sup>. Entre las técnicas que comprende el método sol-gel se puede mencionar a la hidrólisis forzada, que consiste en la modificación de las propiedades del sistema para que la hidrólisis se realice de manera espontánea. Este método fue el aplicado en este trabajo para sintetizar las nanopartículas de Fe para producir partículas estables y con suficientes sitios activos para asegurar la eliminación del n-hexano en fase gas.

Por otro lado, las arcillas pilaradas (PILC's) son materiales cuya estructura laminar presenta una gran superficie interna, con una estructura porosa tipo tamiz molecular similar al de las zeolitas y con adecuadas propiedades ácidas superficiales<sup>13</sup>. Estas propiedades y el bajo coste de la arcilla de partida hacen de las PILC's materiales atrayentes para su aplicación en una gran

variedad de reacciones catalíticas, por ejemplo, en reacciones tipo Friedel–Crafts para refinación de petróleo<sup>14</sup>, descomposición fotocatalítica de contaminantes orgánicos<sup>15</sup>, reducción catalítica selectiva de NO<sup>16</sup> y en reacciones de eliminación de COV's<sup>17</sup>.

Pilares con diferentes tipos de metales se han introducido en la estructura laminar de la arcilla para mejorar la estabilidad, superficie y acidez del material de partida. En particular se han reportado pilares de óxido de Fe a partir del complejo  $[\text{Fe}_3(\text{OCOCH}_3)_7(\text{OH})\cdot 2\text{H}_2\text{O}](\text{NO}_3)$  con diferentes temperaturas de intercambio y concentración del complejo de Fe por gramo de arcilla<sup>18-19</sup>.

En un trabajo previo, arcillas pilaradas con Al y Ti se han aplicado como soportes catalíticos de catalizadores a base de óxidos mixtos de Fe-Mn, en la combustión total de n-hexano<sup>17</sup>; en dicho trabajo se determinó que la actividad de los catalizadores soportados fue superior a la mostrada por el soporte solo (arcilla pilarada).

El objetivo principal de este estudio es la síntesis de catalizadores basados en nanopartículas de óxido de Fe para la combustión de n-hexano. La influencia de la estructura laminar de la arcilla como soporte de las nanopartículas, el posicionamiento del Fe en la superficie externa o en la interlámina en la forma de un pilar, el efecto de la interacción metálica Fe-Mn en la actividad catalítica son las variables experimentales que se han considerado en este trabajo.

## PARTE EXPERIMENTAL

### *Preparación de muestras*

#### **Material de partida**

Se trabajó con una bentonita suministrada por la empresa Agregados Calcáreos (Perú) cuyos análisis previos mostraron que se correspondía con una arcilla sódica con alto contenido de montmorillonita, de color pardo claro, con una capacidad de cambio catiónico (CEC) de 60 meq/100 g de arcilla seca. Posteriormente, este material fue sometido a diversos procesos de purificación y sedimentación controlada para obtener la fracción menor de 2 micras, con el objetivo de tener la estructura montmorillonítica pura y el tamaño de partícula adecuado que favorezca la formación y difusión de los pilares<sup>17</sup>.

#### **Síntesis de Fe-PILC**

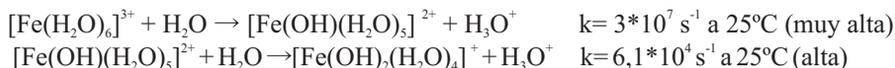
La solución pilarante de Fe se preparó mezclando 300 mL de una solución de  $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (Merck, 98%) con 240 mL de NaOH 0,5M, para obtener una relación molar OH/Fe = 0,25. Para evitar la precipitación de hidróxido de Fe, el pH fue mantenido en 1,7, según método descrito por Valverde y col.<sup>20</sup>. La mezcla fue mantenida en reflujo a 25°C por 3 h y se dejó en reposo por 24 h. Luego, la solución pilarante fue adicionada lentamente sobre una suspensión al 1% de arcilla bajo agitación constante durante 12 h, hasta obtener una relación de 60 mmol Fe/g arcilla. Finalmente, el sólido fue secado a 120°C y calcinado, bajo una rampa de calentamiento de 2°C por minuto hasta 300°C, manteniendo esta temperatura por un tiempo total de 3 h.

Adicionalmente, por referencias bibliográficas se ha encontrado que el Mn como material dopante puede mejorar la estabilidad de algunos catalizadores y facilitar la movilidad del oxígeno superficial en el catalizador<sup>21-22</sup>. Para estudiar el efecto cooperativo del Mn se han preparado arcillas pilaradas con óxido mixto equimolar Fe-Mn (FeMn-PILC), sistemas mixtos de Fe-Mn soportados en Al-PILC (FeMn/Al-PILC) y Ti-PILC (FeMn/Ti-PILC) según técnica descrita en trabajo previo<sup>17</sup>.

#### **Síntesis de las nanopartículas basadas en óxido de Fe**

Dado que el catión  $\text{Fe}^{3+}$  posee una configuración electrónica  $d^5$  de spin alto y una estructura octaédrica en los acuocomplejos, no posee estabilización del campo cristalino lo que ocasiona

que la hidrólisis sea difícil de controlar<sup>23</sup>, como se puede observar por las constantes de velocidad de la primera y segunda reacción de hidrólisis:



Para producir una hidrólisis homogénea, la adición del hidróxido de sodio se realizó por goteo y con adecuada agitación, siguiendo el procedimiento descrito por Li y col.<sup>24</sup> Se disolvió 0,02 mol de nitrato de hierro (III), ( $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ , Merck 99%) en 300 mL de agua destilada y se le añadió por goteo 100 mL de una solución de NaOH 0,8M, en agitación constante hasta obtener una relación molar  $\text{Fe}^{3+}/\text{OH}^-$  de 0,25 a un pH > 12. El precipitado en forma de gel se dejó envejecer por 24 h, luego se lavó con agua destilada y se redisolvió introduciendo gota a gota 150 mL de ácido acético glacial y en agitación hasta formar las nanopartículas de Fe.

### Introducción de las nanopartículas a la arcilla

Se emplearon 2 métodos de introducción de nanopartículas a la estructura de la arcilla:

#### Método 1

Se prepararon materiales compuestos según el procedimiento descrito por Li y col.<sup>24</sup> a partir de una suspensión acuosa de bentonita y una solución en ácido acético del metal de Fe.

#### Método 2

Este método consiste en una mezcla física de la arcilla con las nanopartículas de Fe previamente preparadas con un agente surfactante (ácido láurico). La mezcla fue mantenida en agitación constante por 40 h<sup>25</sup>.

En ambos métodos, la calcinación del material resultante se realizó considerando las condiciones térmicas estudiadas en un trabajo previo<sup>17</sup>. Para ello, partiendo de temperatura ambiente, se utilizó una rampa de calentamiento de  $2^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  y se incluyeron etapas isoterma intermedias de 30 minutos a  $100^\circ\text{C}$ , 30 minutos a  $200^\circ\text{C}$  y una final de 120 minutos a  $300^\circ\text{C}$ .

### Caracterización de las muestras

Los métodos de caracterización empleados con las muestras mágicas y soportadas fueron:

**Difracción de rayos X (XRD).** Para determinar las fases cristalinas de los catalizadores se utilizó un equipo RIGAKU Modelo Miniflex, con tubo de cobre y filtro de níquel, con 30 kV y 15 mA. El equipo está provisto de un ánodo rotatorio. Se usó un monocromador de grafito con el objeto de seleccionar la radiación  $\text{CuK}_\alpha$  del ánodo de cobre ( $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ ) y se ha trabajado con ángulos de barrido entre 3 y  $40^\circ$ .

**Adsorción-desorción de  $\text{N}_2$ .** Para el análisis textural de las muestras se ha utilizado un equipo Micromeritics modelo ASAP 2000. Las isothermas de adsorción (representación del volumen de  $\text{N}_2$  adsorbido por  $\text{cm}^3 \text{ STP/g}$  de catalizador frente a la presión relativa de  $\text{N}_2$ ,  $P/P_0$ ) se han obtenido a la temperatura del nitrógeno líquido (77 K) en un sistema de alto vacío. El pretratamiento de desgasificación se realizó a  $200^\circ\text{C}$  por 12 h. Este pretratamiento tiene como objeto limpiar la superficie del adsorbente eliminando el agua fisisorbida y las sustancias retenidas inicialmente en la superficie de la muestra.

**Espectroscopía electrónica de transmisión (TEM).** Para determinar el tamaño de las nanopartículas se ha usado un microscopio electrónico de transmisión (TEM, transmission electron microscopy) Modelo Philips EM 300G que tiene un límite de resolución ideal para detectar nanopartículas en el rango 5 – 30 nm. La energía de los electrones fue de 80 KeV. El protocolo experimental aplicado a las muestras fue el siguiente. Se preparó una solución

conteniendo las nanopartículas de Fe, la cual fue sometida a ultra sonido por 5 minutos y luego fue depositada sobre una rejilla especial para microscopio electrónico que posee una membrana de soporte de parlodion para homogenizar la suspensión. El equipo fue calibrado mediante la determinación de la constante del microscopio  $L = 88,16$  cm usando nanopartículas de Au como muestra patrón.

**Espectroscopia de emisión atómica en plasma de acoplamiento inductivo (ICP).** Para determinar el contenido atómico de los elementos metálicos presentes en las muestras soportadas se ha usado un Espectrómetro de Emisión Atómica en Plasma de Acoplamiento Inductivo ICP-OES (Inductively Coupled Plasma) modelo IRIS Intrepid, el cual posee un sistema óptico mixto secuencial/multicanal. El peso de la alícuota empleada para el análisis fue de 0,5 g.

#### ***Ensayos de actividad de los nanocatalizadores en la combustión de n-hexano***

Las reacciones de combustión catalítica de n-hexano se llevaron a cabo en un reactor tubular de cuarzo (8 mm de diámetro interno y 300 mm de longitud), introducido en un horno eléctrico que opera a presión atmosférica. Las condiciones de reacción empleadas garantizan ausencia de resistencias difusionales a la transferencia de materia (externa e interna). Todos los ensayos se realizaron con una concentración de n-hexano de 2000 ppmv en aire sintético (Praxair, 99,999%) y una velocidad espacial basada en la masa de catalizador y caudal total (WHSV) de  $80 \text{ h}^{-1}$ . El sistema experimental utilizado para la alimentación del compuesto orgánico, así como el método de análisis y las condiciones específicas de los ensayos han sido descritos en trabajos previos<sup>26, 27</sup>.

En este trabajo se utilizó inicialmente un catalizador “fresco”, cuyo ensayo fue realizado con el catalizador sin uso, obteniendo la primera curva light-off o de ignición (%conversión vs. temperatura). La conversión referida al n-hexano fue calculada mediante la ecuación:

$$\% \text{ conversión de n-hexano} = ([\text{HEX}]_0 - [\text{HEX}]_{\text{final}}) * 100 / [\text{HEX}]_0$$

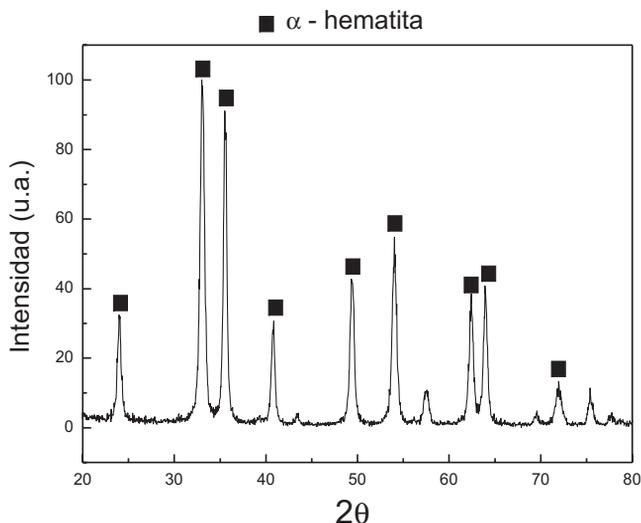
Donde:  $[\text{HEX}]_0$  y  $[\text{HEX}]_{\text{final}}$  son las concentraciones de n-hexano inicial (alimentación) y final (concentración de sustrato que no ha reaccionado) en la corriente gaseosa, cuyo caudal es esencialmente constante entre la entrada y la salida dada la baja concentración de VOC en la corriente de alimentación.

Las temperaturas  $T_{50\%}$  y  $T_{95\%}$  (indicadores de actividad utilizados para las muestras soportadas) y  $T_{85\%}$  (utilizado para los soportes) corresponden a las temperaturas en las que se obtienen valores del 50 %, 95 % y 85 % de conversión, respectivamente.

El catalizador “24h” se denomina a la muestra cuyo ensayo de actividad parte de uno anterior, en el cual el catalizador “fresco” es mantenido en corriente de reacción a  $100^\circ\text{C}$  durante una noche. El catalizador “48h” parte del ensayo 24h manteniendo el catalizador “24h” en corriente de reacción a la temperatura  $T_{50\%}$ , correspondiente al 50% de conversión durante una noche.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La fase cristalina de las nanopartículas de óxido de Fe fue determinada luego que se introdujo el ácido acético (agente peptizante) y se calcinó la muestra a  $300^\circ\text{C}$  por 3 h. Dichas condiciones fueron las apropiadas para formar la fase -hematita de manera preferencial, como se comprueba del difractograma mostrado en la figura 1.

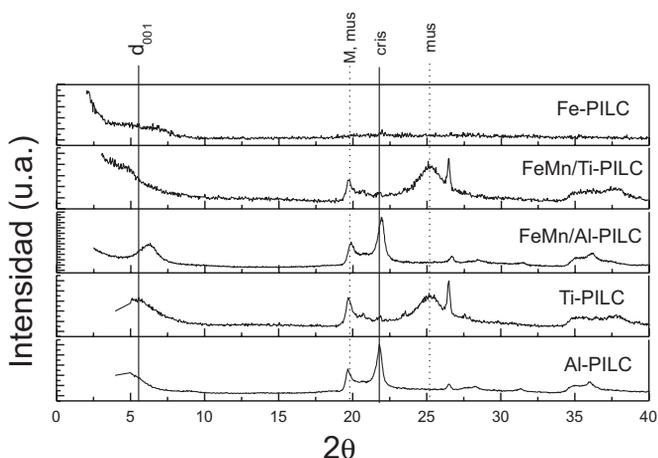


**Figura 1.** Difractograma de las nanopartículas de óxido de Fe

En la figura 2 se muestran los difractogramas de los soportes (Ti-PILC y Al-PILC) y de los catalizadores mixtos Fe-Mn equimolares soportados sobre Al-PILC y Ti-PILC. En la tabla 1 se recogen los valores de los espaciados basales  $d_{001}$ , así como los parámetros texturales de cada muestra. Como se puede observar en los difractogramas, para ángulos menores de  $7^\circ$ , el pico correspondiente a la distancia basal  $d_{001}$ , que identifica la formación del pilar, se aprecia en los soportes Al-PILC ( $d_{001} = 16,9 \text{ \AA}$ ) y Ti-PILC ( $d_{001} = 16,6 \text{ \AA}$ ).

La incorporación de la fase mixta Fe-Mn sobre Al-PILC ocasionó una disminución del espaciado basal de 16,9 a 14,1  $\text{\AA}$  que posiblemente se debió a la ubicación preferencial del óxido mixto en la entrada del poro. Sin embargo, los demás picos correspondientes a las fases montmorillonita, muscovita y cristobalita no se ven nítidamente afectados, por lo que se puede deducir que la incorporación del Fe-Mn y los tratamientos térmicos realizados no afectan de manera esencial a la estructura del soporte.

Por el contrario, en el caso del FeMn/Ti-PILC, la adición de la fase activa ha ocasionado una leve delaminación de la muestra, formado agrupaciones tipo castillo de naipes, es decir, con formación de agregados de láminas al azar. Dicho efecto está asociado con la desaparición del espaciado basal  $d_{001}$ , sin que se afecte los demás picos característicos de la estructura arcillosa (figura 2) y manteniendo un alto valor de superficie específica, como se observa en la tabla 1. Finalmente, en la muestra Fe-PILC, las condiciones en las que fue preparada han conducido a una fuerte delaminación modificando la estructura básica de la arcilla y produciendo una estructura amorfa, por lo que no se detectan los picos característicos (figura 2). Este efecto posiblemente se deba al posicionamiento del Fe en la zona interlamina de manera aleatoria, sin conformar una estructura pilarada ordenada.



**Figura 2.** Comparación de los difractogramas de los soportes Al-PILC, Ti-PILC, con los catalizadores FeMn/Al-PILC, FeMn/Ti-PILC y Fe-PILC.

( $d_{001}$ -distancia basal, M-montmorillonita, mus: muscovita, cris: cristobalita),

**Tabla 1.** Distancias basales y parámetros texturales de los materiales estudiados

Materiales	$d_{001}$ (Å)	$S_{BET}$ ( $m^2/g$ )	$S_{micro}$ ( $m^2/g$ )	$S_{meso}$ ( $m^2/g$ )
Bentonita	12,7	37	2	35
Al-PILC	16,9	178	122	56
Ti-PILC	16,6	237	1	236
Fe-PILC	N.D.	188	12	176
FeMn / Al-PILC	14,1	98	12	86
FeMn / Ti-PILC	N.D.	180	28	152

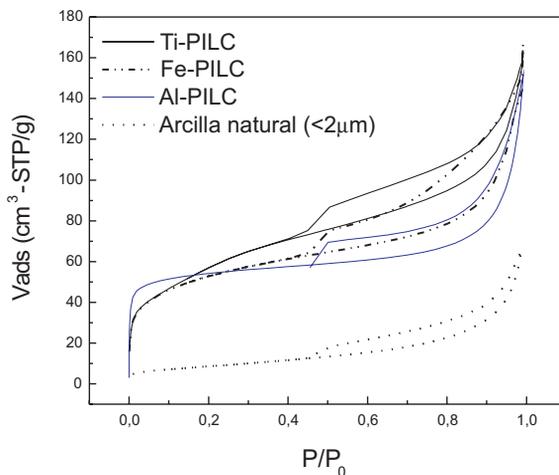
N.D.: no detectado

En la figura 3 se muestran las isotermas de adsorción-desorción de  $N_2$  de los diferentes materiales preparados. Todas las isotermas son del tipo IV según la clasificación de la IUPAC y el ciclo de histéresis se asocia al tipo H3 correspondiente a materiales con poros laminares. Se puede observar que la bentonita de partida es mesoporosa con un área superficial pequeña (aproximadamente  $37 m^2/g$ ). Por efecto del pilaramiento se produce un incremento del área superficial, respecto a la arcilla de partida, el cual depende del tipo de metal que conforma el pilar (tabla 1).

En el caso del Al-PILC el aumento de superficie se asocia más a la formación de microporos, en tanto que para Ti-PILC y Fe-PILC dicho incremento se relaciona con el aumento de la mesoporosidad del material. El orden descendente en relación al área de los materiales pilarados es:

$$Ti-PILC > Fe-PILC \geq Al-PILC$$

La incorporación de la fase activa Fe-Mn en los soportes de Ti-PILC y Al-PILC produce en todos los casos una reducción del área total de superficie. En el caso del Al-PILC, se produce una disminución superficial en la zona microporosa, en tanto que para el Ti-PILC, se observa una disminución en la zona mesoporosa con aumento de microporosidad, ambos efectos pueden ser debido a un posible taponamiento parcial ocasionado por la posición del Fe-Mn a la entrada de los poros de cada muestra.

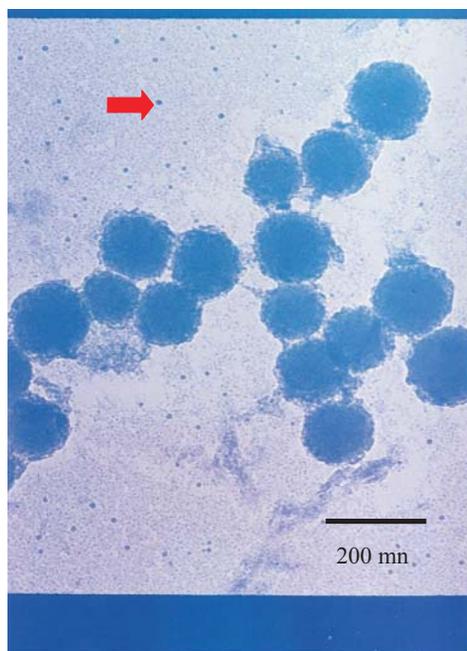


**Figura 3.** Isotermas de adsorción-desorción de N<sub>2</sub> de Al-PILC, Ti-PILC, Fe-PILC y arcilla natural (<2m)

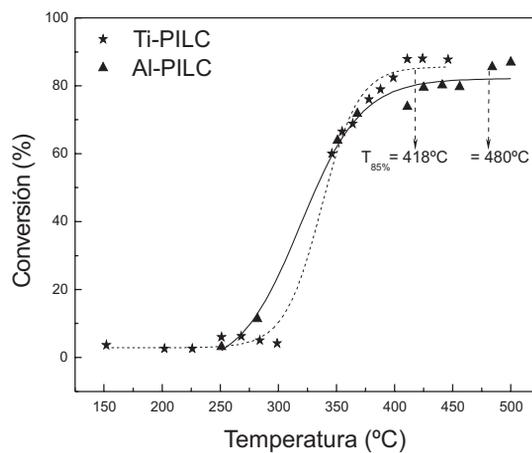
Las nanopartículas de óxido de Fe se han podido hacer visibles por el efecto Tyndall, que consiste en la dispersión de un rayo luminoso (láser) en una solución que contiene nanopartículas, las que actúan como centros emisores de luz<sup>28</sup>. La estimación del diámetro medio de las partículas de Fe se obtuvo por TEM cuya microfotografía se muestra en la figura 4. El tamaño medio de la nanopartícula fue de 9 nm con aglomeraciones de 140 nm.

### Ensayos de reacción

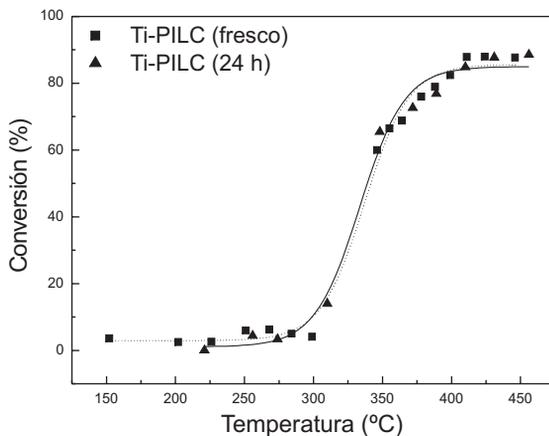
Para evaluar la actividad global de los catalizadores soportados se analizó previamente la actividad y estabilidad de los soportes (Al-PILC y Ti-PILC). Como se muestra en la figura 5, el Al-PILC y el Ti-PILC permiten una conversión al 85% a las temperaturas de 480 °C y 418 °C, respectivamente y una buena estabilidad térmica luego de 24 h de reacción. La figura 6 muestra la estabilidad para el caso del Ti-PILC y un comportamiento similar se obtuvo para el Al-PILC. En el caso del Fe-PILC (figura 7), la temperatura necesaria para un 85 % de conversión fue de 366 °C, observándose también una buena estabilidad luego de 24 h y 48 h en atmósfera de reacción. Entre los materiales pilardos analizados, el Fe-PILC mostró un mejor comportamiento debido posiblemente a la naturaleza intrínseca del Fe como componente activo para la combustión (alta temperatura de sinterización, energía efectiva para la difusión catiónica)<sup>29</sup>.



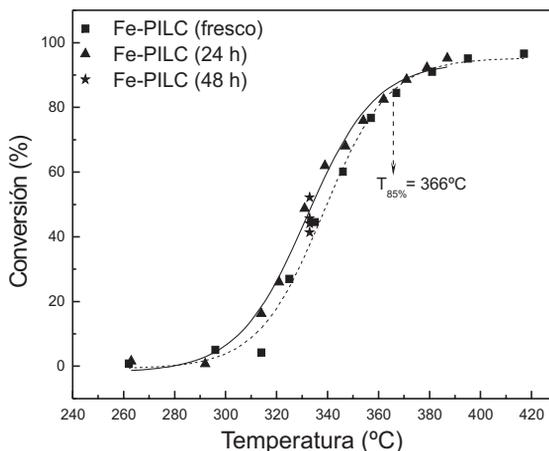
**Figura 4.** Microfotografía TEM de las nanopartículas de óxido de Fe a un pH = 2,8  $D_{\text{medio}} = 9 \text{ nm}$



**Figura 5.** Curvas de ignición con los soportes Al-PILC y Ti-PILC



**Figura 6.** Curvas de ignición con soporte Ti-PILC fresco y después de 24h

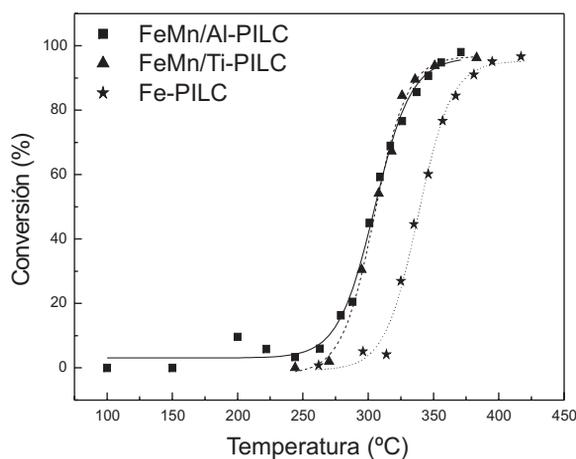


**Figura 7.** Curvas de ignición con el soporte Fe-PILC fresco, después de 24h y 48h

La actividad en la combustión de n-hexano mejora al incorporarse Mn como dopante (figura 8). En la tabla 2 se recogen las actividades de FeMn/Al-PILC y FeMn/Ti-PILC así como la del Fe-PILC usado anteriormente. Los valores de  $T_{50\%}$  y  $T_{95\%}$  para los óxidos mixtos de Fe-Mn fueron de 305°C y 355°C, respectivamente e independientes del tipo de soporte, lo cual corrobora que la fase mixta Fe-Mn mejora el comportamiento catalítico de ambos soportes (figura 6). Este efecto cooperante del Mn en el sistema Fe-Mn puede asociarse con las propiedades redox del Mn y la facilidad de movilidad de oxígeno superficial, lo cual fue también observado en trabajos previos en los cuales se estudió la combustión total de n-

hexano<sup>26</sup> y etimetilcetona<sup>17</sup>. Adicionalmente, en los todos los ensayos de actividad realizados se ha medido la relación peso/caudal (WHSV) considerando el peso total de la muestra, sin embargo, el contenido de fase activa por cada 100 g de catalizador es de 5,4 g y 6,9 g para FeMn/Al-PILC y FeMn/Ti-PILC respectivamente (tabla 2). Por tanto, la magnitud de la actividad de los catalizadores soportados (figura 8) puede resultar aun más alta si es referida a los componentes metálicos, en lugar de todo el peso del sólido.

Comparando con el comportamiento del Fe-PILC (figura 8 y tabla 3) se observa que la actividad de éste es menor, lo cual podría deberse a la estructura delaminada y además a que el Fe en la forma de un pilar interacciona más fuertemente con la estructura de la arcilla; esta ubicación aleatoria del Fe lo haría menos accesible a la reacción de combustión de n-hexano.



**Figura 8.** Curvas de ignición con los catalizadores FeMn/Al-PILC, FeMn/Ti-PILC y Fe-PILC

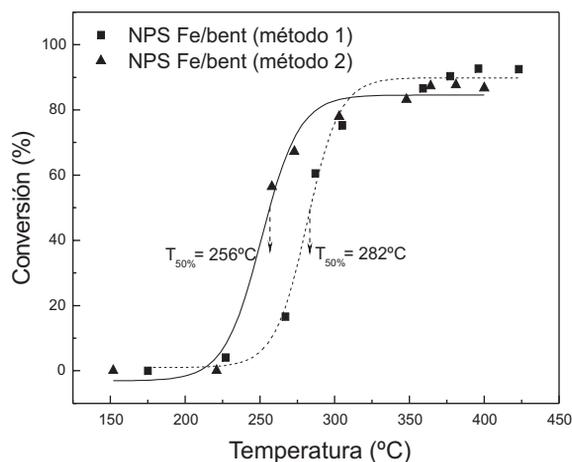
**Tabla 2.** Contenidos (en %atómico) de Fe y Mn según el análisis ICP en los catalizadores soportados

Muestra	%Fe	%Mn
FeMn/Al-PILC	4,9	0,5
FeMn/Ti-PILC	4,0	2,9

**Tabla 3.** Temperaturas  $T_{50\%}$  y  $T_{95\%}$  con diferentes catalizadores

Muestra	$T_{50\%}$	$T_{95\%}$
FeMn/Al-PILC	305	355
FeMn/Ti-PILC	305	355
Fe-PILC	333	395

Para corroborar la hipótesis anterior se realizaron ensayos con las nanopartículas de Fe soportadas en bentonita sin modificar cuyos resultados se muestran en la figura 9. Como se puede observar, las partículas de Fe preparadas aportan valores de  $T_{50\%}$  inferiores a los 333 °C obtenidos con Fe-PILC (tabla 2), consecuencia de que interactúan menos con la arcilla natural, esto hace más accesible al Fe para reaccionar con n-hexano favoreciendo la actividad. Comparando el método de incorporación se encontró que una mezcla física de las nanopartículas de Fe preparadas con surfactante (método 2) proporciona un medio menos polar al material compuesto por Fe/bentonita y esto posiblemente haya favorecido la actividad, mostrando un valor de  $T_{50\%}$  de 256°C, frente a  $T_{50\%}$  = 282°C obtenido para la muestra preparada por el método 1.



**Figura 9.** Curvas de ignición de las nanopartículas de óxido de Fe soportadas sobre la arcilla natural, preparadas según los métodos 1 y 2

### CONCLUSIONES

- Se han preparado nanopartículas basadas en óxido de Fe por el método sol-gel a partir de precursores a base de sales de nitrato. El tamaño estimado de las nanopartículas fue de 9 nm con aglomeraciones de 140 nm y cuya estructura se corresponde a  $\alpha$ -hematita.
- Entre los materiales pilarados preparados, el Fe-PILC presentó una estructura delaminada mientras que el Al-PILC y el Ti-PILC (soportes catalíticos) formaron estructuras pilaradas estables y con alta área superficial.
- La incorporación de la fase mixta Fe-Mn en los soportes pilarados produjo en todas las muestras una reducción de la superficie total y una disminución de los espaciados basales  $d_{001}$ , sin alterar la matriz estructural de la arcilla de partida.
- Todos los catalizadores preparados presentaron una buena estabilidad térmica. Las muestras de Fe-Mn equimolar soportadas sobre las PILC's presentaron mayor actividad que Fe-PILC. Las propiedades redox del Mn y la facilidad de movilidad del oxígeno superficial se podrían asociar al efecto cooperante del Mn en la estructura del catalizador.
- En la muestra Fe-PILC, la delaminación de la estructura y la fuerte interacción del Fe con la estructura de la arcilla pudieron ser las causantes de su baja actividad, sin embargo, cuando esta interacción fue menor (Fe/bentonita) la actividad se incrementó.

### AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al CONCYTEC por el financiamiento otorgado por el proyecto PROCYT (PROYECTO 330-2007-CONCYTEC-OAJ), a la DAI-PUCP, al Instituto de Investigación de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería, a la Agencia Española de Cooperación Internacional (AECI) por el proyecto A-011226/07 concedido.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Jia X., Ma X., Wei D., Dong J., Qjan W., Direct formation of silver nanoparticles in cuttlebone-derived organic matrix for catalytic applications, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 330, 234-240 (2008).
2. Kim J., Grate J., Wang P., Nanobiocatalysis and its potential applications, *Trends in Biotechnology* vol. 26, n°11, p.639-650 (2008).
3. Lo S., Wang Y., Wan C., Long-term stability of Cu/Pd nanoparticles and their feasibility for electroless copper deposition, *Electrochimica Acta*, 727-732 (2008).
4. Guascito M. R., Filippo E., Malitesta C., Manno D., Serra A., Turco A., A new amperometric nanostructured sensor for the analytical determination of hydrogen peroxide, *Biosensors and Bioelectronics* 24, p. 1063-1069 (2008).
5. Tian Z. M., Yuan S. L., He J.H., Li P., Zhang S. Q., Wang C.H., Wang Y.Q., Yin S.Y., Liu L., Structure and magnetic properties in Mn doped SnO<sub>2</sub> nanoparticles synthesized by chemical coprecipitation, *J. Alloys and Compounds* 466, 26-30 (2008).
6. Köhler J. M., Abahmane L., Wagner J., Albert J., Mayer, Preparation of metal nanoparticles with varied composition for catalytical applications in microreactors, *Chemical Engineering Science* 63, 5048–5055 (2008).
7. Cahen S., Furdin G., Mare`che J. F., Albiniak A., Synthesis and characterization of carbon-supported nanoparticles for catalytic applications, *Carbon*, 511-517, (2008)
8. Elmi I., Zampolli S., Cozzani E., Mancarella F., Cardinali G.C., Development of ultra-low-power consumption MO<sub>x</sub> sensors with ppb-level VOC detection capabilities for emerging applications, *Sensors and Actuators B* 135, 342-351 (2008).
9. Kitamura Y., Okinaka N., Shibayama T., Omar Prieto O., Kusano D., Ohtani B., Akiyama T., Combustion synthesis of TiO<sub>2</sub> nanoparticles as photocatalyst, *Powder Technology* 176, 93-98, (2007).
10. Lu C., Wey M., Chen L., Application of polyol process to prepare AC-supported nanocatalyst for VOC oxidation, *Appl. Catal. A*, 163–174, (2007).
11. Tsoncheva T., Roggenbuck J., Tiemann M., Ivanova L., Paneva D., Mitov I., Minchev C., Iron oxide nanoparticles supported on mesoporous MgO and CeO<sub>2</sub>: A comparative physicochemical and catalytic study, *Microporous and Mesoporous Materials* 110, 339-346 (2008).
12. Shobana M. K., Sankar S., Characterization of sol-gel prepared nanoferrites, *J. Magnetism and Magnetic Materials* in press, (2008).
13. Corma A., Fornes V., Materiales laminares pilareados: preparación y propiedades, *Química Nuova*, vol 22, n°5, p. 1-34, (1999).
14. Sapag K., Rojas S. López Granados M., Fierro J.L.G., Mendioroz S., CO hydrogenation with Co catalyst supported on porous media, *J. Mol. Catal. A* 167, 81–89 (2001).
15. An T., Chen J., Li G., Ding X., Sheng G., Fu J., Mai B., O'Shea K., Characterization and the photocatalytic activity of TiO<sub>2</sub> immobilized hydrophobic montmorillonite photocatalysts Degradation of decabromodiphenyl ether (BDE 209), *Catalysis Today* 139, p. 69–76, (2008).
16. Arfaoui J., Khalfallah Boudali L., Ghorbel A., Delahay G., Effect of vanadium on the behaviour of unsulfated and sulfated Ti-pillared clay catalysts in the SCR of NO by NH<sub>3</sub>, *Catalysis Today* in press, (2008).

17. Picasso G., Sun Kou M.R., Pina M.P., Herguido J., Irusta S., López de Castillo R., Apolinario G., Arzamendi G., Gandía L, Eliminación de etilmetilcetona en lecho fijo con óxidos mixtos equimolares de Fe-Mn y Cu-Mn máscicos y soportados en arcillas modificadas, *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 73, N° 2, 66 - 84 (2007).
18. Yamanaka S., Doi T., Sako S., Hatori M., High surface area solids obtained by intercalation of iron oxide pillars in montmorillonite, *Mat. Res. Bull.* 19, 161-168, (1984).
19. Yamanaka S., Hattori M., Iron oxide pillared clay, *Catalysis Today* 2, 261-270 (1988).
20. Valverde J.L., Romero A., Romero R., García P.B., Sanchez M. L., Asencio I., *Clays Clay Mineral* 53 (6), 613 (2005).
21. Gil A., Gandía L. M., Korili S. A. Effects of the temperature of calcinations on the catalytic performance of manganese and samarium-manganese-based oxides in the complete oxidation of acetone, *Appl. Catal. A: General*, 274 (1-2), 229-235 (2004).
22. Gandía L. M., Gil A., Korili S. A. Effects of various alkali-acid additives on the activity of a manganese oxide in the catalytic combustion of ketones, *Appl. Catal. B: Environ.* 33, 1-8 (2001).
23. Livage J., Henry M., Sanchez C., Sol-Gel Chemistry of transition metal oxides, *Prog. Solid St. Chem.* 18, 259-341, (1988).
24. Li J., Mu Z., Xu X., Tian H., Duan M. Li L., Hao Z., Qiao S., Lu G., A new and generic preparation method of mesoporous clay composites containing dispersed metal oxide nanoparticles, *Microporous and Mesoporous Materials* 114, 214-221, (2008).
25. Yagüe C., Moros M., Grazú V., Arruebo M., Santamaría J., Synthesis and stealthing study of bare and PEGylated silica micro- and nanoparticles as potential drug-delivery vectors, *Chemical Engineering Journal* 137, 45-53 (2008).
26. Picasso G., Gutiérrez M., Pina M. P., Herguido J. Preparation and characterization of Ce-Zr and Ce-Mn based oxides for n-hexane combustion: Application to catalytic membrane reactors, *Chem. Eng. J.* 126, 119-130 (2007).
27. Picasso G., Sun Kou M.R., López R., Arzamendi G., Gandía L. M., Gómez G., Pina M.P., Herguido J., Catalizadores basados en óxidos mixtos Fe-Mn máscicos y soportados en Al-PILC y Ti-PILC para la combustión de n-hexano, XXI Simposio Iberoamericano de Catálisis SICAT 2008.
28. [http://es.wikipedia.org/wiki/Efecto\\_Tyndall](http://es.wikipedia.org/wiki/Efecto_Tyndall), (obtenido el 10.01.09).
29. Barbosa A.L., Herguido J., Santamaría J., Methane combustion over unsupported iron oxide catalysts, *Catal. Today* 64, 43-50 (2001).

## SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA POR LA RUTA Sol-Gel A PARTIR DE NITRATO DE PLATA

Jorge Morales<sup>\*</sup>, José Morán<sup>a</sup>, María Quintana<sup>a</sup>, Walter Estrada<sup>a</sup>

### RESUMEN

Se sintetizaron coloides nanoparticulados de plata por el método sol-gel, a partir de la reducción de nitrato de plata, de fabricación nacional, por etilenglicol en un proceso denominado polirol. Se controló el crecimiento de las nanopartículas mediante la estabilización estérica del coloide por medio de la polivinil pirrolidona (PVP,  $M_w = 40\ 000$ ).

Las nanopartículas de plata obtenidas varían en tamaño y estructura dependiendo del control de parámetros tales como la relación de concentraciones molares entre el nitrato de plata y el PVP, la temperatura de la reacción y el tiempo de reflujo.

A determinados tiempos de reflujo, se analizaron las muestras con medidas de espectrofotometría UV-vis en el rango entre 300 – 1000 nm. Los resultados muestran que entre 400 – 450 nm se forma el típico pico de la resonancia de plasmón superficial, el cual indica la formación de las nanopartículas de plata.

Mediante la microscopía electrónica por transmisión (TEM) se observó la presencia de nanopartículas de plata de forma esférica con tamaños entre 20-40 nm. Por la técnica de difracción de electrones se confirmó que los coloides sintetizados contienen plata metálica nanoparticulada con una estructura cúbica de caras centradas FCC.

**Palabras clave:** nanopartículas, plata, sol-gel, etilenglicol, proceso polirol, PVP

## SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF SILVER NANOPARTICLES BY Sol-Gel ROUTE FROM SILVER NITRATE

### ABSTRACT

Silver nanoparticles colloids have been synthesized by sol-gel method. This synthesis consists in silver nitrate reduction by ethylene glycol in a process called polyol. The growth of the nanoparticles have been controlled by the steric stabilization of the colloid with polyvinylpyrrolidone (PVP,  $M_w = 40\ 000$ ).

The silver nanoparticle size and structure was depending on the control of parameters such as: molar concentrations ratio of silver nitrate and PVP, temperature of reaction and the reflux time. Colloids have been characterized by UV-vis spectroscopy in the range from 300 to 1000 nm. The results show that the typical peak of surface plasmon resonance is formed at 400 - 450 nm indicating the formation of silver nanoparticles.

The presences of silver nanoparticles of spherical shape with size among 20-40 nm were observed by Transmission Electronic Microscopy (TEM). Electron diffraction patterns confirmed that synthesized colloids contain metallic silver with a crystal structure face centered cubic FCC.

**Key words:** nanoparticles, silver, sol-gel, ethyleneglycol, polyol process, PVP

---

<sup>a</sup> Laboratorio de Películas Delgadas, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Ingeniería, Av. Túpac Amaru 210, Lima 31, Perú. E-mail: j\_morales84@hotmail.com, mariavna@hotmail.com

## INTRODUCCIÓN

Las nanopartículas de plata son materiales objeto de investigación, debido a sus propiedades funcionales únicas, las cuales conducen a aplicaciones variadas en las áreas de catálisis<sup>1</sup>, fotónica de plasmones<sup>2</sup>, dispersión Raman amplificada en superficie (SERS)<sup>3</sup>, medicina y biología. El fenómeno de resonancia de plasmón superficial ocurre dentro del rango visible y ha generado un gran interés para un amplio rango de aplicaciones ópticas y fotónicas. Además, las nanopartículas de plata tienen un gran potencial en las aplicaciones médicas. La plata metálica no nanoparticulada tiene una larga historia en exitosas aplicaciones médicas. Estudios recientes han mostrado que en su forma de nanopartículas son altamente efectivas como agentes antimicrobiales contra bacterias y virus<sup>4,5</sup>, incluso el VIH<sup>6</sup>.

Diferentes rutas de producción de nanopartículas de plata han sido investigadas. Entre ellas están aquellas basadas en la reducción de nitrato de plata por borohidruro de sodio<sup>7</sup> o citrato de sodio<sup>8</sup>. Otros métodos incluyen el uso de microondas, electrólisis de sales de plata, microemulsión y fotoreducción de iones  $\text{Ag}^+$ .

En los últimos años el proceso poliol<sup>9,10</sup> ha sido desarrollado para preparar polvos finos de metales diversos: cobalto, níquel, plomo, plata, oro, cobre, paladio y algunas aleaciones de estos metales.

El método de síntesis es el siguiente: un compuesto metálico inorgánico o sal es dispersado en un líquido poliol. Principalmente se usa etilenglicol. La suspensión luego es agitada y calentada a una temperatura dada, hasta la completa reducción del compuesto. El metal es recogido como un polvo fino por centrifugación o filtración. Las partículas obtenidas son monodispersas, no aglomeradas, en el rango coloidal o micrónico. En estos procesos se considera un polvo monodisperso cuando el coeficiente de variación de la distribución del tamaño de la partícula no excede el 20%.

Es esencial la estabilización de las nanopartículas en el medio dispersante para prevenir la aglomeración. Esto puede ser logrado por estabilización electrostática o estérica. Varios agentes estabilizadores tales como agar, ciclodextrina, poli-vinil-alcohol (PVA), poli vinilpirrolidona (PVP)<sup>11</sup> y acetato de celulosa han sido probados con éxito.

En este trabajo se describe la síntesis de nanopartículas de plata mediante el proceso poliol, reduciendo la sal de nitrato de plata por etilenglicol. Se obtuvieron nanopartículas esféricas de tamaños entre 20 a 40 nm. El PVP fue fundamental para la estabilización de los coloides.

## PARTE EXPERIMENTAL

Se llevó a calentamiento 25 mL de etilenglicol (Fermont) en un matraz Erlenmeyer sobre un agitador magnético a una temperatura fija. Se trabajó con temperaturas de 125, 140 y 150 °C.

Posteriormente se añadieron:

a) Una solución de etilenglicol conteniendo  $\text{AgNO}_3$  0,25 M ( J.A.Elmer) y una solución de etilenglicol conteniendo polivinil pirrolidona (PVP,  $M_w = 40\ 000$ ) (Fluka) (0,375 M). Sólo para las muestras con relación molar PVP/Ag = 1,5

b) Una solución de etilenglicol conteniendo  $\text{AgNO}_3$  0,15 M (J.A.Elmer) y una solución de etilenglicol conteniendo PVP (0,375 M). Sólo para las muestras con relación molar PVP/Ag = 2,5

En total se sintetizaron 6 series de muestras con 3 temperaturas diferentes para cada valor de la relación molar PVP/Ag (1,5 y 2,5). En la tabla 1 se indican los parámetros de cada serie. La serie D resultó un parámetro crítico ya que no se produjo la reducción del  $\text{AgNO}_3$ .

**Tabla 1.** Parámetros variados en la síntesis de nanopartículas de plata

Serie	Temperatura (°C)	Relación molar PVP/Ag
A	150	1,5
B	150	2,5
C	125	1,5
D	125	2,5
E	140	1,5
F	140	2,5

La mezcla luego es agitada y calentada a reflujo a la temperatura dada, hasta completar la reducción del compuesto. Las nanopartículas metálicas son obtenidas como un precipitado después de un lavado con acetona y un proceso de centrifugación. Posteriormente, las nanopartículas se diluyeron en agua destilada para obtener dispersiones coloidales para su caracterización respectiva (Espectroscopía UV-vis, TEM, difracción de electrones).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mediante el proceso poliol y utilizando etilenglicol como principal agente reductor se logró obtener nanopartículas de plata a partir de una sal de plata.

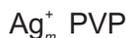
Las dispersiones coloidales son de color amarillo oscuro. Esta coloración es producida por la presencia de nanopartículas de forma esférica, cuya distribución de tamaños está en el rango de 20 a 40 nm.

El mecanismo general de reducción del etilenglicol puede ser representado por las reacciones siguientes:



Las partículas fueron sintetizadas después de 15 minutos de reflujo. Se observó, que una mayor temperatura acelera la reducción del nitrato de plata disminuyendo el tiempo en que las partículas son obtenidas. Sin embargo, una temperatura menor permite un mejor control del proceso y una dispersión de tamaños menor.

Por otro lado, el PVP juega un rol fundamental en la estabilización de las nanopartículas evitando la aglomeración de éstas.



Donde  $m$  es el número de iones plata anclados a la molécula de PVP. Este caso ocurre en la reducción química de los iones plata en presencia de PVP<sup>11,12</sup>. Como los átomos de nitrógeno y oxígeno de la pirrolidona en el PVP contribuyen a aumentar la densidad electrónica en el orbital  $sp$  de los iones plata comparado con el átomo de oxígeno del agua, permitiría que el

complejo de los iones plata con el PVP puedan obtener electrones más fácilmente que el sistema de iones plata con agua. De acuerdo a esto, la presencia de PVP asegura la reducción de los iones plata en el complejo.

Como demostraremos más adelante, los parámetros óptimos de este trabajo son una temperatura entre los 125 a 140 °C con una relación molar PVP/Ag = 1,5.

## **Métodos de caracterización de nanopartículas metálicas**

### ***Espectroscopía UV-visible***

El seguimiento de la evolución del sistema de reacción se llevó a cabo por espectroscopía UV-vis. Para el análisis se usó un espectrómetro Perkin Elmer Lambda 10 que tiene un rango espectral de 300 a 1100 nm.

La aparición de bandas de absorción en el espectro alrededor de longitudes de onda de 400 a 450 nm indica la presencia de nanopartículas metálicas. Estas bandas se deben a la absorción por resonancia de los plasmones superficiales<sup>13,14,15</sup>.

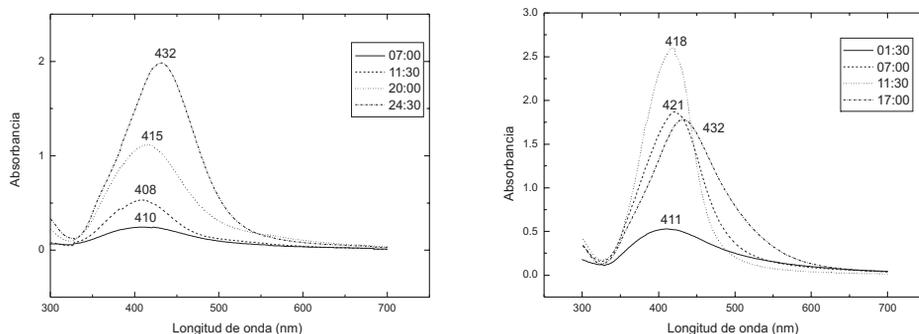
Los resultados muestran un aumento en la absorción en los primeros minutos debido al crecimiento de las partículas con el respectivo aumento del ancho de banda. Después de cierto tiempo con la reacción avanzada, la absorción puede disminuir, pero en general el ancho de banda sigue aumentando. Estas pruebas mostraron que se obtienen resultados óptimos en las muestras que tienen un incremento en la absorción, lo cual es bastante notorio, con un ancho de banda no muy grande. De manera contraria, se obtendrán tamaños de partícula muy grandes y muestras polidispersas.

En la figura 1 se observa el aumento en la absorción con el tiempo de reflujo y el corrimiento del pico de máxima absorbancia hacia mayores longitudes de onda. Se han encontrado nanopartículas con tamaños de alrededor de 20 a 30 nm en muestras cuyos picos están entre los 415 a 420 nm (figura 1, izquierda serie C a 20:00 minutos 415 nm y derecha serie E a 11:30 minutos 418 nm). En general, la ubicación de los picos de máxima absorbancia es relativa puesto que depende del medio dispersante, en este caso agua destilada.

Como se indicó anteriormente, no se obtienen resultados óptimos con anchos de banda muy grandes (figura 1, izquierda serie C a 24:30 minutos 432 nm y derecha serie E a 17:00 minutos 432 nm). Estas muestras tienen una dispersión grande de tamaños de partículas mayor al 30%. La figura 1 muestra también que una mayor temperatura favorece a la reacción. Sin embargo, este es un parámetro crítico a controlar. Temperaturas entre los 145 a 160 °C con una relación molar PVP/Ag = 1,5 dan como resultado muestras polidispersas y polimorfas (figura 1, izquierda). Esto es debido a que se incrementa el número de núcleos formados al inicio de la reacción lo que conduce a la formación de muchas partículas con una concentración de PVP insuficiente para protegerlas.

Una temperatura alrededor de 125°C (serie C) con una relación PVP/Ag = 1,5 permite una nucleación lo suficientemente rápida y un buen control del crecimiento. Las partículas obtenidas, en este caso, son generalmente monodispersas.

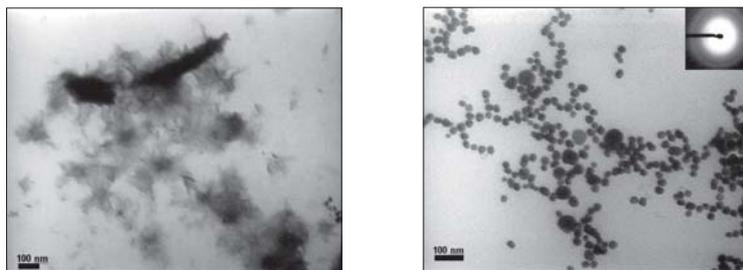
Se ha obviado los espectros de las demás series puesto que no proporcionan mejores resultados que los obtenidos con las series C y E, como se verá más adelante.



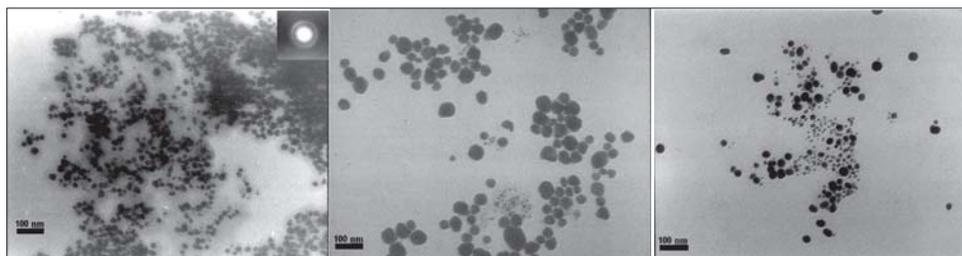
**Figura 1.** Espectros de absorción vs. longitud de onda correspondientes a (a) Izquierda, serie C (b) Derecha, serie E. Se indica el tiempo de reacción en mm:ss

### Microscopía Electrónica de Transmisión

Para el análisis morfológico de las nanopartículas se usó un Microscopio Electrónico de Transmisión modelo Philips EM-300. Las figuras 2 y 3 son micrografías TEM de las muestras más representativas.



**Figura 2.** Izquierda, micrografía TEM de una muestra de la serie A (150 °C) correspondiente a un tiempo de 11:30 minutos. No hubo presencia de partículas esféricas. Derecha, micrografía TEM de una muestra de la serie B (150 °C) correspondiente a un tiempo de 11:30 minutos.



**Figura 3.** Izquierda, micrografía TEM de una muestra de la serie C (125 °C) correspondiente a un tiempo de 20:00 minutos; centro, micrografía TEM de una muestra de la serie E (140 °C) correspondiente a un tiempo de 17:00 minutos y derecha, micrografía TEM de una muestra de la serie F (140 °C) correspondiente a un tiempo de 15:00 minutos

La tabla 2 muestra la distribución de tamaños para las muestras seleccionadas:

**Tabla 2.** Diámetro promedio de las nanopartículas obtenidas según micrografías TEM. Se muestran los resultados de la difracción de electrones.

Serie	Temperatura (°C)	PVP/Ag	Tiempo de agitación (mm:ss)	Diámetro promedio (nm)	Coefficiente de variación (%)	Difracción de Electrones
B	150	2,5	7:00	23 ± 9	39	nula
B	150	2,5	11:30	29 ± 7	24	poca
C	125	1,5	11:30	18 ± 6	33	nula
C	125	1,5	20:00	21 ± 4	19	sí (plata fcc)
E	140	1,5	11:30	20 ± 4	20	nula
E	140	1,5	17:00	41 ± 13	32	sí (plata fcc)
F	140	2,5	15:00	22 ± 7	32	nula

Coefficiente de variación: (Desviación estándar / Tamaño promedio de partícula) x 100.

En realidad en la muestra F6 no se han considerado las partículas más pequeñas cuyo número es significativo (ver figura 3)

Se puede obtener una estructura cristalina y un mejor control del crecimiento a partir de los parámetros de las series C y E (es decir, temperaturas entre 125 °C y 140 °C con una relación molar PVP/Ag = 1,5). Las series B, D y F que corresponden a la relación molar PVP/Ag = 2,5 no presentan ventajas con respecto a las de relación PVP/Ag = 1,5 ya que en algunos casos no ocurre la reducción (serie D), existen tamaños de partícula variados (serie F) o se obtienen tamaños de partícula similares a las series C y E sin la cristalización completa de las partículas (serie B).

Por otra parte, la obtención de un coloide monodisperso es importante. Se observa en la tabla 2 que la mayoría de las muestras tienen una dispersión de tamaños que superan el coeficiente de variación límite de 20%. Estos resultados, así como la cristalización de las partículas, son mejores si la velocidad de agregación de los reactivos es controlada en vez de agregarse simultáneamente.

#### ***Difracción de electrones***

Los patrones de difracción fueron obtenidos con el Microscopio Electrónico de Transmisión Philips EM-300. El análisis de los patrones determinó que las muestras de la serie C (20:00 minutos) y E (17:00 minutos) son muestras con estructura cristalina FCC. La comparación de los anillos de difracción con un patrón de difracción de rayos X (Joint Committee on Powder Diffraction Standards file 04-0783) mostró que se trataba de plata con un error menor al 2%. La tabla 3 muestra una comparación de los resultados de ambas técnicas para la muestra de la serie C (20:00 minutos).

**Tabla 3.** Comparación entre las técnicas para determinar la estructura cristalina de las nanopartículas.

Familia de planos cristalinos (Índices de Miller)	Distancia interplanar (A) Difracción electrones	Distancia interplanar (A) Rayos X
111	2,3550	2,3590
200	2,0380	2,0440
220	1,4321	1,4450
311	1,2181	1,2310
222	1,1775	1,1796
331	0,9378	0,9375
422	0,8344	0,8341

### CONCLUSIONES

- Se obtuvieron coloides con presencia de nanopartículas de plata esféricas entre los 20 a 40 nm mediante la reducción de una solución de  $\text{AgNO}_3$  por etilenglicol. Se concluyó que los parámetros óptimos están en una relación molar PVP/Ag = 1,5 en vez de una relación de 2,5 y una temperatura entre los 125 y 140°C.
- El monitoreo de la evolución de la reacción tomando muestras cada cierto intervalo de tiempo, mediante análisis UV-vis resulta indispensable para conocer el tiempo en que se debe mantener la reacción, así como el tamaño de partícula. Este tiempo debe ser menor a un tiempo en que se comience a notar un aumento exagerado en el ancho de banda de los espectros.
- No existe relación entre los espectros UV-vis y la cristalización de las muestras, aunque ésta se ve favorecida cuando la velocidad de agregación de los reactivos es controlada.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores de este trabajo agradecen en especial la colaboración del Dr. Alcides López Milla del Laboratorio de Películas Delgadas de la UNI en la obtención de las micrografías TEM y al Laboratorio de Instrumentación Química y Medio Ambiente de la UNI.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. R. J. Chimentão, I. Kirm, F. Medina, X. Rodríguez, Y. Cesteros, P. Salagreb, J. E. Sueirasa, 'Different morphologies of silver nanoparticles as catalysts for the selective oxidation of styrene in the gas phase', *Chem. Commun.*, 2004, 846 – 847.
2. K.L. Kelly, E. Coronado, L.L. Zhao, G.C. Schatz, "The Optical Properties of Metal Nanoparticles: The Influence of Size, Shape, and Dielectric Environment", *J. Phys. Chem. B* 107 (2003) 668.
3. Y. Lu, G.L. Liu, L.P. Lee, "High-Density Silver Nanoparticle Film with Temperature-Controllable Interparticle Spacing for a Tunable Surface Enhanced Raman Scattering Substrate", *Nano Letters* 5 (2005) 5.
4. J.R. Morones, J.L. Elechiguerra, A. Camacho, K. Holt, J.B. Kouri, J.T. Ramirez, M.J. Yacaman, "The bactericidal effect of silver nanoparticles", *Nanotechnology* 16 (2005) 2346.
5. H.Q. Jiang, S. Manolache, A.C.L. Wong, F.S. Denes, "Plasma-enhanced deposition of silver nanoparticles onto polymer and metal surfaces for the generation of antimicrobial characteristics", *J. App. Polymer Sci.* 93 (2004) 1411.

6. J.L. Elechiguerra, J.L. Burt, J.R. Morones, A. Camacho-Bragado, X. Gao, H.H. Lara, M.J. Yacaman, *Journal of Nanobiotechnology* 3 (6) (2005) (This article is available from: <http://www.jnanobiotechnology.com/content/3/1/6>).
7. J.A. Creighton, C.G. Blatchford, M.G. Albrecht, "Plasma resonance enhancement of Raman scattering by pyridine adsorbed on silver or gold sol particles of size comparable to the excitation wavelength" *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* 75 (1979) 790.
8. P.C. Lee, D. Meisel, "Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols", *J. Phys. Chem.* 86 (1982) 3391.
9. F. Fievet, J.P. Lagier, B. Blin, B. Beaudoin, M. Figlarz, Homogeneous and heterogeneous nucleations in the polyol process for the preparation of micron and submicron size metal particles', *Solid State Ionics* 32-33 (1989) 198.
10. M. Figlarz, F. Fievet, J.P. Lagier, "Preparing Monodisperse Metal Powders in Micrometer and Submicrometer Sizes by the Polyol Process", *MRS Bull.* (1989).
11. 11 Zongtao Zhang, Bin Zhao, Liming Hu, 'PVP protective mechanism of ultrafine silver powder synthesized by chemical reduction processes', *Journal of Solid State Chemistry* 121, 105-110 (1996).
12. 12 I.Pastoriza-Santos, L.M.Liz Marzan," Formation of PVP-Protected Metal Nanoparticles in DMF", *Langmuir* 18 (2202)2888
13. A. Slistan-Grijalva, R. Herrera-Urbina, J.F. Rivas-Silva, M.Ávalos-Borja, F.F. Castellón-Barraza, A. Posada-Amarillas, 'Classical theoretical characterization of the surface plasmon absorption band for silver spherical nanoparticles in water and ethylene glycol', *Physica E* 27 (2205) 104-112.
14. Marcel Lahmani, Catherine Brechignac, Philippe Huudy, *Les nanosciences – Tomo 2- Nanomatériaux et nanochimie*, Ed. Belin, 2006.
15. Daniel L. Feldheim, Colby A. Foss, *Metal nanoparticles: synthesis, characterization and applications*, CRC Press, 2001.

## APLICACIÓN DE LAS TÉCNICAS DE EIE Y RPL AL ESTUDIO DE LA CORROSIÓN DE POLVOS DE FeAl EN SUSPENSIÓN

A. Torres-Islas<sup>1</sup>, E. García de León<sup>2</sup>, S. Serna<sup>3</sup>, G. Rosas<sup>1</sup>

### RESUMEN

En este trabajo se reportan los resultados de la evaluación del comportamiento a la corrosión de FeAl intermetálico nanoestructurado utilizando las técnicas electroquímicas de Espectroscopía de Impedancia Electroquímica (EIE) y Resistencia a la Polarización Lineal (RPL). El intermetálico de composición no estequiométrica FeAl<sub>60</sub> (% at) fue obtenido mediante el proceso de aleado mecánico utilizando polvos elementales de Fe (99,99%) y Al (99,99%). El material se caracterizó química y estructuralmente antes y después de cada prueba utilizando microscopía electrónica de transmisión. En ambos ensayos se utilizaron soluciones acuosas con diferente pH en las cuales las partículas de FeAl estuvieron en suspensión; además, se varió la temperatura de la solución. La información obtenida fue analizada como indicador en el monitoreo de la densidad de la corriente de corrosión  $i_{\text{corr}}$  de las partículas. Se encontró que es posible la evaluación a la corrosión de este tipo de partículas en suspensión aplicando las técnicas de EIE y RPL. Asimismo, se encontró que el comportamiento de la  $i_{\text{corr}}$  está directamente relacionado con el pH y la temperatura de la solución de prueba.

**Palabras clave:** Técnicas electroquímicas, corrosión, caracterización.

## EIS AND LPR CORROSION STUDIES APPLIED TO FeAl POWDERS IN AN AQUEOUS SUSPENSION

### ABSTRACT

In this work, the corrosion behavior of FeAl powders on aqueous suspension using electrochemical impedance spectroscopy (EIS) and linear polarization resistance (LPR) techniques have been investigated. For this propose, a non-stoichiometric intermetallic compound (FeAl<sub>60</sub>) were produced by mechanical alloying starting from Fe (99.99%) and Al (99.99%) elemental powders. The obtained powders were chemically and structurally analyzed, before and after corrosion tests, using transmission electron microscopy. Different pH aqueous solutions in which FeAl particles are in suspension were used. The influence of varying the solution temperature is also reported. EIS and LPR data were analyzed as indicators for monitoring the  $i_{\text{corr}}$  of FeAl particles. The  $i_{\text{corr}}$  behavior is directly related with the pH and the temperature of the aqueous suspension.

**Key words:** Electrochemical techniques, corrosion, characterization.

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones Metalúrgicas, UMSNH, Edificio U., Ciudad Universitaria, Morelia, Mich 58000, México.

<sup>2</sup> Facultad de Química, UNAM, Coyoacán, México D. F., 04510, México.

<sup>3</sup> UAEM, Centro de Investigación en Ingeniería y Ciencias Aplicadas, Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, 62210-Cuernavaca, Mor., México  
atimarquis93@yahoo.com.mx; egdeleonm@gmail.com; aserna@uaem.mx;  
grtrejo@jupiter.umich.mx

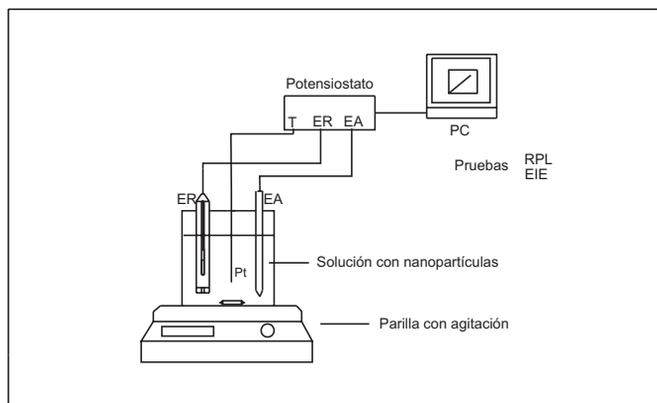
## INTRODUCCIÓN

En la actualidad, los materiales intermetálicos basados en aluminuros de metales de transición, tales como Ni, Ti, Co y Fe, han sido extensivamente investigados<sup>1-6</sup>. Particularmente, los aluminuros de hierro (AlFe), dado su bajo costo, ofrecen buenas propiedades estructurales a elevadas temperaturas, además de su baja densidad y excelente resistencia a la oxidación-corrosión. Este material desarrolla una película protectora de  $Al_2O_3$ , siendo ésta la que provee la resistencia a la corrosión<sup>7-8</sup>. Como en el caso de muchos materiales a granel, la producción de FeAl como material nanoestructurado mejora sus propiedades<sup>9</sup>. En este sentido, la técnica de aleación mecánica es efectiva para lograr partículas con tamaños muy finos (submicrónicas) y tamaños de cristal nanométricos, lo que conlleva a mejorar las propiedades del material<sup>10</sup>. Dado que el tamaño de partícula tiende hacia el estado nanométrico (100 nm), en la actualidad no existe información acerca del comportamiento a la corrosión en donde el material sea evaluado en forma de partículas finas de este tipo de materiales en soluciones acuosas, debido a la ausencia de una técnica o un equipo específicamente diseñado para dicho fin, así el objetivo de este trabajo, es la aplicación de las técnicas electroquímicas de espectroscopía de impedancia electroquímica (EIE) y resistencia a la polarización lineal (RPL)<sup>11</sup>, utilizadas en la evaluación a la corrosión de partículas del intermetálico FeAl con cristales nanométricos.

## PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

### *Condiciones generales*

Polvos intermetálicos de composición  $FeAl_{60}$  % at. fueron producidos utilizando aleado mecánico de acuerdo al procedimiento reportado previamente por G. Rosas y colaboradores<sup>12</sup>. La figura 1 muestra esquemáticamente el arreglo experimental de la celda electroquímica utilizada para las pruebas de EIE y RPL. Los elementos de la celda son: un alambre de Pt actuando como electrodo de trabajo con un área expuesta de  $0,2\text{ cm}^2$ , un electrodo de calomel saturado (ECS) utilizado como electrodo de referencia y un electrodo de grafito como electrodo auxiliar, conectados a un potencióstato Gill AC (ACM Instruments) y computadora personal. Las soluciones de prueba de pHs alcalino y ácido fueron preparadas utilizando agua destilada, NaOH y  $H_2SO_4$  grado analítico. El pH de cada solución fue de 3, 5, 7, 9 y 11, respectivamente, medido utilizando un equipo de pH digital Oakton previamente calibrado. La cantidad de polvo intermetálico utilizado en cada prueba fue de 0,0125g en 30ml de solución acuosa. Para comprobar el efecto de las técnicas electroquímicas sobre la corrosión en los polvos intermetálicos, una solución sin partículas en suspensión fue empleada como referencia en todos los experimentos. Los polvos fueron caracterizados, tanto por microscopía electrónica de barrido (MEB) como de transmisión (MET), antes y después de aplicarles las técnicas electroquímicas. Durante cada una de la pruebas, la solución estuvo en agitación mediante un régimen turbulento y se calentó por medio de una parrilla controlada automáticamente. Los ensayos de EIE y RPL se llevaron a cabo en condiciones de temperatura ambiente ( $27^\circ\text{C}$ ) y a  $45^\circ\text{C}$ , respectivamente.



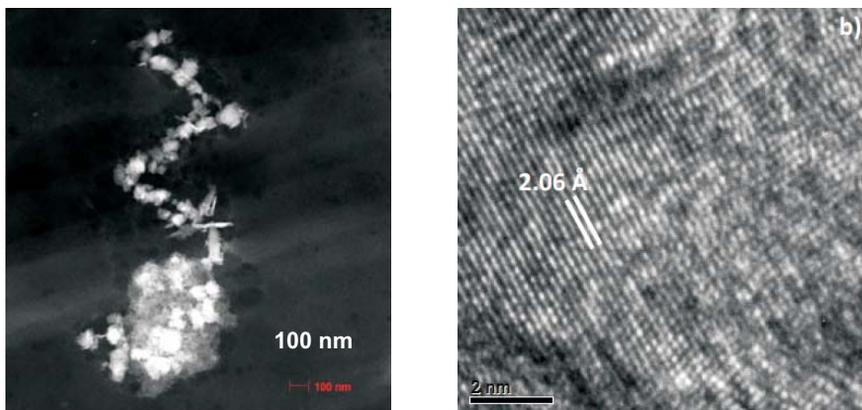
**Figura 1.** Representación esquemática de la celda electroquímica y el arreglo experimental utilizado en las pruebas de EIE y RPL.

### ***Pruebas de EIE y RPL***

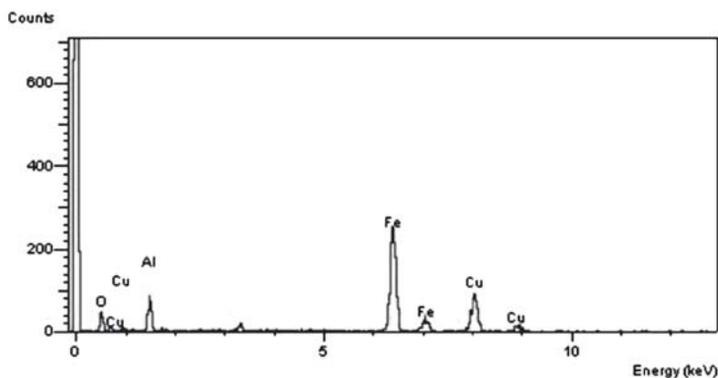
El equipo utilizado en las pruebas de EIE se calibró previamente de acuerdo con la norma G 106-89 ASTM. Para el desarrollo de esta prueba se aplicó una señal de corriente alterna (CA) de 32 mV en amplitud, a potencial de circuito abierto (PCA) en el rango de frecuencia de 0,05 Hz a 10000 Hz, en un periodo de 25 min. Para asegurar la reproducibilidad del experimento todas las pruebas se hicieron por triplicado. Para las pruebas de RPL el procedimiento se llevó a cabo en base a la norma ASTM G 59-91, polarizando de -100mV a 100mV. Todas las pruebas se hicieron por triplicado.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La figura 2 a) muestra una micrografía del material (FeAl) procesado por molienda mecánica (MM), obtenida por microscopía electrónica de transmisión (MET) empleando la técnica de contraste Z. En ésta se aprecian las partículas del intermetálico, cuyo rango de tamaño se encuentra entre 100 y 200 nm. En la figura 2 b) se muestra una imagen de alta resolución, donde las distancias interatómicas medidas directamente ( $2,06\text{\AA}$ ) corresponden a los planos (110), típicos de la estructura BCC de este material. En la figura 3 se muestra el análisis por espectroscopía de energía dispersa (EDS) de las partículas antes de las pruebas electroquímicas, donde están presentes los elementos Fe y Al, así como una pequeña cantidad de  $O_2$  en el material. El Cu presente en esta gráfica pertenece al material de la rejilla en la que se depositaron las partículas para su análisis. Estos resultados confirman la presencia de la fase de interés para su evaluación a la corrosión.



**Figura 2.** Fotografías obtenidas por MET de las partículas antes de las pruebas electroquímicas; (a) utilizando la técnica de contraste Z y (b) por microcopia de alta resolución.



**Figura 3.** Espectrograma obtenido por EDS de las partículas antes de las pruebas electroquímicas.

Por otra parte, en la tabla 1 se muestran los resultados obtenidos en las pruebas de EIE y RPL, además del cálculo de la  $I_{\text{corr}}$  para cada una de las condiciones en las diferentes soluciones con y sin la presencia de las partículas y con diferente pH. En la solución de referencia (sin partículas) con pH neutro (7) y a temperatura ambiente, la resistencia de la solución es de  $329 \Omega \cdot \text{cm}^2$ , un valor relativamente alto; esto, debido a la ausencia de electrolitos en el agua destilada que permitan el flujo de electrones a través del circuito de la celda mediante el electrodo de platino. Sin embargo, cuando la temperatura se incrementa a  $45^\circ\text{C}$  la resistencia de la solución disminuye debido al efecto catalítico en los componentes del agua, con lo cual el flujo de electrones se acelera; este comportamiento se presentó de manera similar en las pruebas de RPL en las soluciones de referencia con diferente pH, lo cual se evidenció en los valores de resistencia a la polarización, como se aprecia en la tabla 1; de la misma forma, al analizar los datos de EIE en las gráficas de Nyquist de la figura 4, tomando como ejemplo las

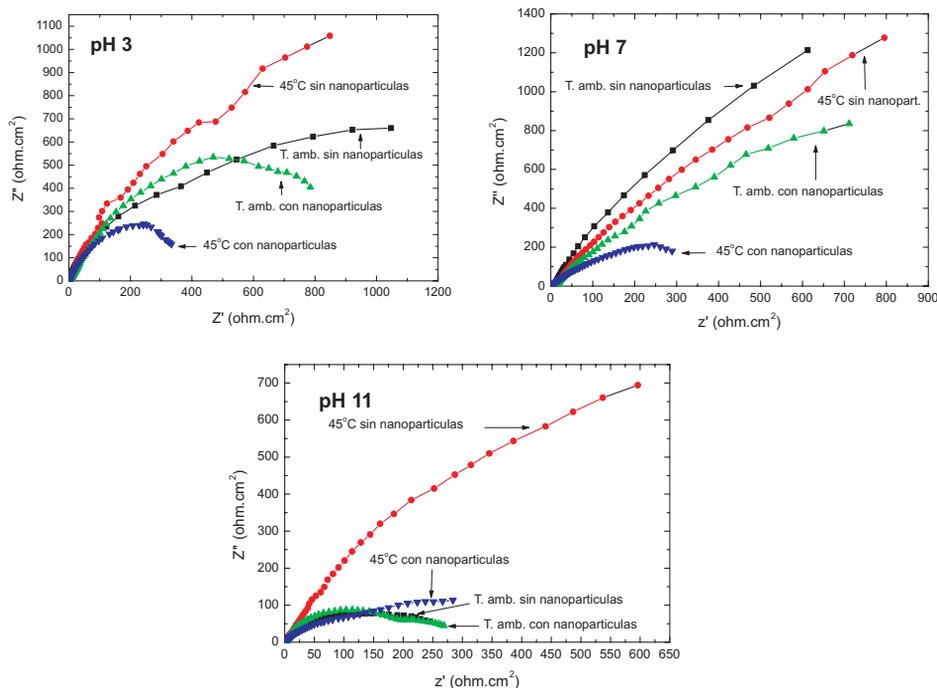
soluciones de referencia con pH3 y pH7, existe un mecanismo, principalmente de difusión de especies, representado por una línea con tendencia a formar un ángulo de 45° con respecto al eje de la impedancia  $Z'$ . Este comportamiento está relacionado con la ausencia de una doble capa entre el electrodo de platino y la solución de prueba que permitiera eventualmente un mecanismo de transferencia de carga en la solución de referencia. En las gráficas de Nyquist correspondientes a las pruebas electroquímicas en la solución con pH5, el comportamiento es similar al comportamiento en las soluciones con pH3, pH7, y pH9. Para el caso de la solución con pH11 el comportamiento es un poco diferente, como se verá más adelante.

**Tabla 1.** Valores de los resultados en las pruebas de EIS, RPL, y el cálculo de la  $I_{corr}$

		$I_{corr}$ (mA/cm <sup>2</sup> )	RPL (ohms.cm <sup>2</sup> )	$Z'$ (ohms.cm <sup>2</sup> )
pH 3	T. amb.sin nanopartículas	0,019847328	1310	381
	45 °C sin nanopartículas	0,018950437	1372	892
	T. amb. con nanopartículas	0,049808429	522	826
	45 °C con nanopartículas	0,104	250	350
pH 5	T. amb.sin nanopartículas	0,005553182	4682	648
	45 °C sin nanopartículas	0,008022215	3241	882
	T. amb. con nanopartículas	0,009931245	2618	1022
	45 °C con nanopartículas	0,014444444	1800	197
pH 7	T. amb.sin nanopartículas	0,001484696	17512	1914
	45 °C sin nanopartículas	0,008384392	3101	836
	T. amb. con nanopartículas	0,010806318	2406	748
	45 °C con nanopartículas	0,026052104	998	304
pH 9	T. amb. sin nanopartículas	0,007536232	3450	740
	45 °C sin nanopartículas	0,007893139	3294	1039
	T. amb. con nanopartículas	0,00849951	3059	767
	45 °C con nanopartículas	0,00877193	2964	701
pH 11	T. amb.sin nanopartículas	0,019075569	1363	257
	45 °C sin nanopartículas	0,034899329	745	627
	T. amb. con nanopartículas	0,049713193	523	282
	45 °C con nanopartículas	0,052104208	499	298

Los resultados de las pruebas de EIE y RPL, con la presencia de las partículas bajo estudio en las soluciones con diferente pH, indican que ambas técnicas están registrando el comportamiento a la corrosión de las partículas de FeAl en suspensión, lo cual es de particular importancia en el resultado del objetivo principal de este trabajo. Los resultados de las pruebas electroquímicas se muestran en la tabla 1. En principio, se aprecia que en comparación con las soluciones de referencia los valores de RPL disminuyen, lo cual sugiere un efecto distinto por la presencia de las partículas metálicas en la solución y un mayor nivel de corrosión en el electrodo de trabajo; este comportamiento es similar en todas las soluciones de prueba,

asimismo, el aumento de temperatura, ocasiona una disminución en la resistencia a la polarización lineal para todos los casos de estas soluciones. Por otro lado, la  $I_{\text{corr}}$  en general, aumenta con la presencia de las partículas en la solución y con el aumento de temperatura, lo cual indica un mayor nivel de corrosión.

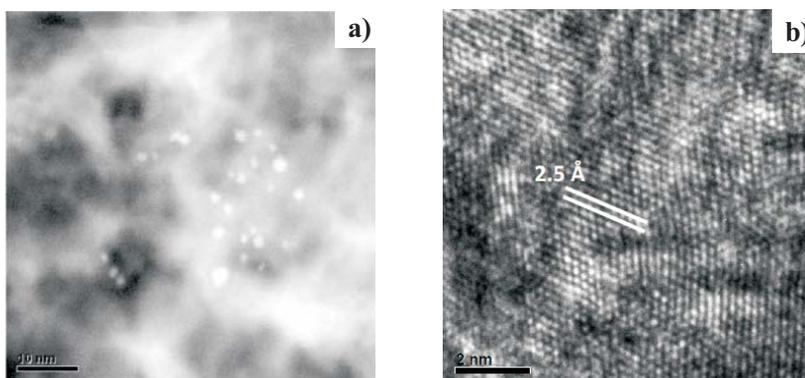


**Figura 4.** Gráficas de los resultados de la EIE en la representación de Nyquist en las soluciones con pH 3,7 y 11, en todas las condiciones.

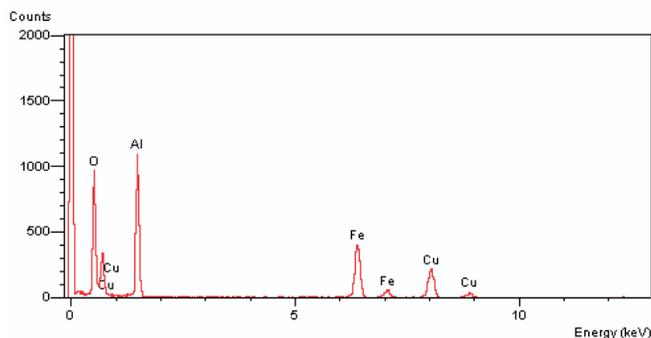
De acuerdo al comportamiento anterior y al analizar los resultados de EIE en los diagramas de Nyquist de la figura 4, y los valores de  $Z'$  de la tabla 1, es posible determinar que una parte de las partículas en suspensión, presentes en las diferentes soluciones de prueba, se adherieron a la superficie del electrodo de platino, lo cual hizo posible registrar el comportamiento a la corrosión. Evidencia de lo anterior se puede apreciar en la forma de las gráficas de Nyquist. Las gráficas presentan una tendencia a formar un semicírculo, lo cual está relacionado con un proceso controlado principalmente por transferencia de carga, en el cual existió la presencia de una doble capa entre el platino y la solución, generada por la presencia de las partículas sobre el electrodo de platino, de tal manera que, el comportamiento y los valores de la impedancia  $Z'$  en todas las soluciones prueba, está en función de esta doble capa.

En el análisis de las gráficas de Nyquist, a partir de los datos que no alcanzan el límite a bajas frecuencias y que por lo tanto muestran un semicírculo parcial, esta situación se presenta cuando la relación reactancia-capacitancia (RC) es grande. Este comportamiento puede presentarse en metales pasivos o metales en los cuales se forma una película conductora porosa de superficie grande y capacitancia alta<sup>10</sup>.

El comportamiento anterior indica que los polvos de FeAl formaron una capa pasiva en su superficie, principalmente de  $\text{Al}(\text{OH})_3$ , debido a que el aluminio es un metal más activo que el hierro; esto se confirmó al observar las imágenes de la figura 5 a), en donde se aprecian dos contrastes correspondientes a fases distintas; en estas imágenes las zonas de mayor intensidad indican mayor número atómico, es decir, la fase metálica; mientras que las zonas de menor contraste corresponden a la fase cerámica producto de la corrosión; en la figura 5 b) se muestra una imagen de alta resolución de la fase después de ser separada, donde al hacer mediciones de las distancias interatómicas nos indica un valor de  $2,55 \text{ \AA}$ , que corresponde al plano (104) de la fase hidratada. Un análisis por EDS (figura 6) correspondiente a la zona de la figura 5, reveló que las regiones de menor intensidad registran una mayor parte porcentual de oxígeno, lo cual es el resultado de los productos de corrosión presentes en la superficie de las partículas, toda vez realizados los ensayos electroquímicos.



**Figura 5.** Fotografías por MET; (a) Imagen de contraste Z y (b) alta resolución de las partículas después de las pruebas electroquímicas.



**Figura 6.** Espectrograma obtenido por EDS de las partículas después de las pruebas electroquímicas

Ahora bien, tomando en consideración que la presencia de una película pasiva o porosa en la superficie de un metal, es condicionante para que exista un mecanismo de corrosión por picadura y en base a los datos de EIE y las gráficas de Nyquist, evidentemente este tipo de partículas son muy susceptibles a presentar un mecanismo de transferencia de carga en los diferentes medios de prueba, asistido principalmente por corrosión por picadura.

Por otra parte, el hecho de que en la solución con pH11 sin partículas, las pruebas de EIE a temperatura ambiente presentaran en la representación de Nyquist de la impedancia la tendencia a formar un semicírculo, sugiere un alto nivel de alcalinidad en la solución, es decir, el alto porcentaje de NaOH en el agua destilada pudo haber propiciado la formación de iones hidroxilo que se depositaron en la superficie del electrodo, formando eventualmente una película, la cual propició este comportamiento.

Con respecto a la  $i_{\text{corr}}$  de las partículas en función del pH, los resultados indican, en general, que ésta se incrementa al aumentar la temperatura de la solución, no importando el pH de la solución. La mayor  $i_{\text{corr}}$  se presentó en la solución con pH3 a 45°C y la menor en la solución con pH9 a temperatura ambiente. Los resultados anteriores coinciden con los resultados que se obtuvieron en las pruebas de RPL. Sin embargo, el tiempo de 25 min que duraron las pruebas de EIE representa solamente el inicio del proceso de corrosión presente en las partículas.

De acuerdo con los resultados de este trabajo es posible monitorear el proceso de corrosión de este tipo de partículas aplicando las técnicas de EIS y LPR utilizando la disposición de la celda descrita en la parte experimental; esto permitirá continuar con el estudio de la corrosión en pruebas con una duración mucho mayor, para confirmar el mecanismo de corrosión en función del tiempo.

### CONCLUSIONES

Se ha confirmado la posibilidad de monitorear el comportamiento a la corrosión de las partículas de FeAl del rango de 100 a 200 nm. Sin embargo, el tiempo de duración de las pruebas en este trabajo, solamente representa la etapa inicial del proceso de corrosión. Esto se comprobó durante el monitoreo al aplicar las técnicas de EIS y LPR del proceso de corrosión con y sin partículas. De igual manera, se puede concluir que la temperatura juega un rol importante en el nivel de corrosión de las partículas, independientemente del pH de la solución. Asimismo, los resultados indican que este tipo de partículas son susceptibles a presentar un mecanismo de corrosión por picadura. En lo futuro se estudiará la corrosión mediante EIS y RPL con una duración de tiempo mucho mayor, y aumentando la temperatura para confirmar el mecanismo de corrosión.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo del CONACYT mediante los programas: "Apoyos vinculados al fortalecimiento de la calidad del posgrado nacional, a la consolidación de grupos de investigación y de la capacidad tecnológica de las empresas 2007", Vertiente 1, "Convocatoria de Investigación Básica 2005 proyecto 48716-25535". Al Ing. I. Puente-Lee, por el trabajo de microscopía.

### REFERENCIAS

1. McKawey, C.G. In *Physical Metallurgy and Processing of Intermetallic Compounds*; Stoloff, N.S., Sikka, V.K., Eds.; International Thomson Publishing, 1996, 351–391.
2. Cahn, R.W. "Historical perspective on the development of aluminides. Proceedings of the International Symposium on Nickel and Iron Aluminides: Processing, Properties and Applications", ASM, Materials Park, OH, 1996, 3–20.

3. Testani, C.; Di Gianfrancesco, A.; Tassa, D.; Pucci, D. "FeAl intermetallics and applications: an overview. Proceedings of the International Symposium on Nickel and Iron Aluminides: Processing, Properties and Applications", ASM, Materials Park, OH, 1996, 213–222.
4. Deevi, S.C.; Sikka, V.K. "Nickel and iron aluminides: an overview on properties, processing, and applications Intermetallics". 1996, 4, 357–375.
5. S. Mohan and S. Srivastava. "Surface behaviour of as-Cast Al–Fe intermetallic composites". *Tribology Letters*, April 2006.
6. M. Salazar, R. Pérez and G. Rosas. "The effect of Li, Ce and Ni additions on the microstructure and the mechanical properties in the AlFe intermetallic system", *Materials Science Forum* Vol. 426-432, pp. 1837-1842. 2003.
7. J. G. González - Rodríguez, M. Salazar, Luna – Ramírez, J. Porcayo – Calderón, G. Rosas and A. Martínez Villfane. "Effect of Li, Ce and Ni on the Corrosion Resistance of FeAl in Molten Na<sub>2</sub>S<sub>04</sub> and NaV<sub>03</sub>". *High temperature materials and processes* Vol. 23, No.3, 2004.
8. J. G. González - Rodríguez, M. González - Castañeda, M. Cuellar-Hernández, G. Domínguez-Patiño & G. Rosas. "Effect of Ni on the corrosion behavior of Fe–Al intermetallics in simulated human body fluid". *J. Solid State Electrochem*, August 2007.
9. Rodrigo Esparza, Jorge A. Ascencio, R. Perez and G. Rosas. "Effects of minor element additions to the nanocrystalline FeAl intermetallic alloy obtained by mechanical alloying" *Materials and Manufacturing Processes*, Vol. 20: 823-832, 2005
10. J. Chen, B.J. Wiley, and Y. Xia, "One- dimensional nanostructures of metals: large-scale Synthesis and some potential applications," *Langmuir*, vol. 23, no. 8, pp. 4120-4129, 2007.
11. John R. Scully, David C. Silverman, and Martin W. Kending "Electrochemical impedance: Analysis and interpretation" ASTM race street Philadelphia, 1916.
12. G. Rosas, R. Esparza, H.B. Liu, J.A. Ascencio, R. Pérez, "Preparation of AlFe nanoparticles by mechanical alloyed technique". *Journal of nanoscience and nanotechnology*. Vol.5 pp. 2133-2137. (2005).

## DEGRADACIÓN CATALÍTICA DE FENOL CON PERÓXIDO DE HIDRÓGENO: SISTEMAS “FENTON HETEROGÉNEO”

Paola Massa<sup>1</sup>, Antón Dafinov<sup>2</sup>, Rosa Fenoglio<sup>1</sup>, Francisco Medina Cabello<sup>2</sup>

### RESUMEN

Se sintetizaron catalizadores de  $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{CeO}_2$  a partir de un método simple de combustión. Se estudió la influencia del contenido de hierro (5-20%), la temperatura, la concentración de  $\text{H}_2\text{O}_2$  y la temperatura de calcinación (400°C-900°C) sobre la reacción de oxidación de fenol en presencia de peróxido de hidrógeno. La reacción se llevó a cabo en un reactor tipo *batch* a presión atmosférica, a temperaturas entre 60°C y 100°C. Sobre las muestras líquidas se realizaron determinaciones de conversión de fenol y de carbono orgánico total. Los catalizadores resultaron ser activos y selectivos en las condiciones de operación estudiadas y los de mayor contenido de Fe presentaron los mayores niveles de conversión de fenol, junto con un mayor porcentaje de pérdida de fase activa en el medio de reacción. Los catalizadores calcinados a altas temperaturas presentaron menores valores de conversión de fenol; sin embargo, el efecto más pronunciado se registró sobre los niveles de selectividad hacia productos finales. El incremento de la proporción de peróxido de hidrógeno en la reacción no produjo cambios significativos en la conversión de fenol ni en la selectividad.

**Palabras Clave:** Oxidación de Fenol; peróxido de hidrógeno;  $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{CeO}_2$

## CATALYTIC DEGRADATION OF PHENOL WITH HYDROGEN PEROXIDE: HETEROGENEOUS FENTON-LIKE SYSTEMS

### ABSTRACT

$\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{CeO}_2$  catalysts were synthesized with different Fe loading (5-20%), using a simple combustion preparation method. The samples were calcined at several temperatures (400-900°C), and tested in a batch reactor at atmospheric pressure, in a temperature range of 60°C-100°C, for 4 hours.

The effect of different  $\text{H}_2\text{O}_2$ /phenol ratios was also studied.

Fresh and used samples were characterized by Scanning Electronic Microscopy, Temperature Programmed Reduction, X-ray Diffraction and Surface Area Measurements (BET Method). The catalysts presented considerable phenol conversion and selectivity levels, at the operation conditions. Higher phenol conversions were reached with increasing iron content of the catalytic system; however, higher Fe lixiviation levels were also detected. A reduction in the phenol conversion and, more significantly, in the selectivity towards final products was observed when samples calcined at high temperatures were used.

**Key words:** Phenol oxidation; CWPO;  $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{CeO}_2$

### INTRODUCCIÓN

El fenol es considerado como uno de los contaminantes orgánicos modelo en los estudios de degradación de compuestos resistentes a los tratamientos convencionales. La oxidación

<sup>1</sup> pamassa@fi.mdp.edu.ar-Div. Catalizadores y Superficies-INTEMA, CONICET Universidad, Nacional de Mar del Plata. Juan B. Justo 4302, 7600, Mar del Plata, Argentina.

<sup>2</sup> Dpto. de Ingeniería Química-ETSEQ, Universitat Rovira i Virgili, Campus Sescelades, Av. dels Paisos Catalans 26, 43007, Tarragona, España.

catalítica con peróxido de hidrógeno (CWPO) se encuentra entre las alternativas de detoxificación más limpias y efectivas, pues permite mineralizar sustancias orgánicas en condiciones relativamente próximas a las ambientales debido al alto poder oxidante de los radicales  $\text{OH}^{1,2}$ . Por esta razón, la CWPO resulta atractiva para el tratamiento de especies con alta toxicidad, biorrecalcitrantes o para efluentes con alta carga contaminante.

Los primeros estudios sobre los procesos de oxidación avanzada con  $\text{H}_2\text{O}_2$  se llevaron a cabo utilizando sales metálicas (mayoritariamente de hierro) como catalizadores homogéneos en las reacciones tipo Fenton. Estos sistemas se han aplicado con éxito para la oxidación de diversos compuestos, entre ellos el fenol y sus derivados. Sin embargo, en general se prefiere el uso de catalizadores sólidos que puedan recuperarse por una simple operación de separación y reutilizarse en el proceso de tratamiento. Por esta razón en la actualidad se encuentran en estudio diferentes variantes de sistemas catalíticos que puedan trabajar con los iones activos sobre un soporte sólido ("Fenton heterogéneo").

Hasta el momento ha sido ensayado un número limitado de materiales catalíticos, en su mayoría carbones, arcillas pilarizadas, zeolitas y otros catalizadores mesoporosos<sup>3-6</sup>. Sin embargo, no se han realizado estudios de CWPO de fenol con sistemas basados en óxidos de cerio. En otros sistemas de reacción este soporte ha resultado estable y ventajoso, especialmente para las reacciones de oxidación<sup>7</sup>.

Nuestro objetivo es estudiar la factibilidad de la aplicación de catalizadores de óxido de hierro soportados sobre  $\text{CeO}_2$  en la CWPO de fenol. La reacción se estudió en un reactor *batch* a presión atmosférica, en un rango de temperaturas entre 60 y 100°C.

## EXPERIMENTAL

*Preparación de catalizadores.* Los catalizadores se prepararon por un método sencillo de combustión<sup>8</sup> a partir de cantidades adecuadas de los precursores ( $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{Fe}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) y de plurónico (0.1 g de plurónico cada 5g de catalizador), disueltas en volumen suficiente de etanol (7 ml). La mezcla homogénea se trató durante 3 horas en una mufla precalentada a 400°C. Se prepararon catalizadores con distinto contenido metálico (5%, 10% y 20%) y las muestras de menor contenido de Fe fueron calcinadas a distintas temperaturas con el objetivo de estudiar el efecto de las variables de preparación sobre el comportamiento final de los catalizadores. En la tabla 1 se muestran las características de las distintas muestras.

**Tabla 1.** Características de los catalizadores preparados

Catalizador	Contenido metálico (%P/P)	Temperatura de calcinación (°C)	Fases (XRD)
$\text{CeO}_2$	--	400	C
5Fe400	5% $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{CeO}_2$	400	H + C
10Fe400	10% $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{CeO}_2$	400	H + C
20Fe400	20% $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{CeO}_2$	400	H + C
5Fe600	5% $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{CeO}_2$	600	H + C
5Fe800	5% $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{CeO}_2$	800	H + C
5Fe900	5% $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{CeO}_2$	900	H + C

Fases detectadas por XRD: C,  $\text{CeO}_2$ ; H,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$

### *Caracterización de catalizadores.*

Los catalizadores se caracterizaron mediante las siguientes técnicas:

- Difracción de Rayos X (XRD): Difractómetro Siemens D5000 con radiación  $\text{CuK}\alpha$  con filtro de níquel (se utilizaron archivos JCPDS para confirmar la identidad de las fases presentes).
- Reducción a Temperatura Programada (TPR): Equipo TPD/R/O 1100 (Thermo-Finnigan) con detector de conductividad térmica (velocidad de calentamiento:  $20^\circ\text{C}/\text{min}$ ; mezcla reductora:  $5\%\text{H}_2/\text{Ar}$ , con caudal de  $20\text{ ml}/\text{min}$ ; masa de las muestras:  $20\text{ mg}$ ).
- Microscopía Electrónica de Barrido (SEM): La morfología de las muestras fue estudiada utilizando un equipo SEM JEOL JSM640, operando con un voltaje de aceleración entre  $30$  y  $35\text{ kV}$  y un factor de amplificación entre  $4000$  y  $50000\times$ .
- Medición área superficial (método BET): El área superficial del soporte fue calculada mediante adsorción de nitrógeno a  $-196^\circ\text{C}$  utilizando un analizador superficial Micromeritics ASAP 2010.

### *Determinación de actividad catalítica.*

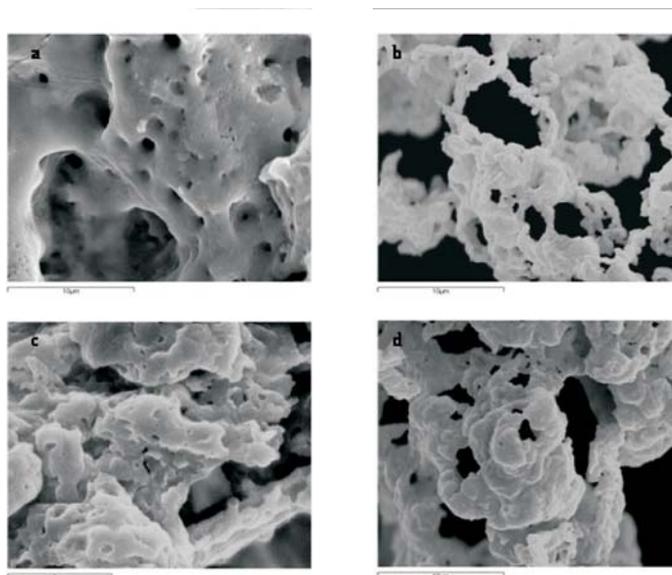
Se trabajó en un reactor batch de vidrio PYREX (balón de  $200\text{ ml}$ ) a presión atmosférica, con reflujo, mantenido a temperatura constante en baño de agua. El volumen de reacción fue de  $110\text{ ml}$ :  $100\text{ ml}$  de fenol ( $5000\text{ ppm}$ ) y  $10\text{ ml}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $30\%$ ). El inicio de la reacción ( $t=0$ ) se tomó en el momento en que fue agregado el catalizador dentro del reactor, una vez que la mezcla líquida alcanzó la temperatura de reacción. Se realizaron pruebas preliminares para evaluar el grado de conversión del fenol en presencia de  $\text{H}_2\text{O}_2$  pero en ausencia de catalizador, y los niveles de conversión de fenol observados fueron despreciables.

Las muestras líquidas fueron extraídas periódicamente del reactor, filtradas y analizadas para determinar el contenido de fenol remanente mediante HPLC y el Carbono Orgánico Total (TOC). Los valores de conversión que se presentan corresponden a los niveles de estado estacionario, obtenidos aproximadamente luego de 4 horas de reacción.

El porcentaje de conversión de fenol se definió:  $(C_0 \text{ fenol} - C_t \text{ fenol}) \times 100 / C_0 \text{ fenol}$ , donde  $C_0$  fenol es la concentración inicial de fenol y  $C_t$  fenol la concentración de fenol remanente a un tiempo dado. El porcentaje de producción de  $\text{CO}_2$  se estima a partir de la siguiente ecuación:  $(\text{TOC}_0 - \text{TOC}_t) \times 100 / \text{TOC}_0$ , donde  $\text{TOC}_t$  y  $\text{TOC}_0$  son el contenido de carbono orgánico total para un tiempo dado y para un tiempo inicial respectivamente.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

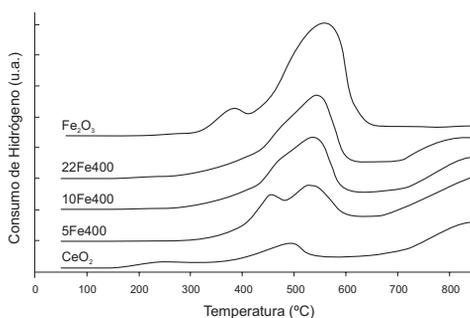
Los resultados obtenidos para la caracterización de las muestras indicaron que se trata de materiales esponjosos con baja área superficial (el área superficial para el soporte, determinada por el método BET fue de  $30\text{ m}^2/\text{g}$ , sin variaciones significativas para el resto de las muestras). En la figura 1 se presenta una imagen de SEM en la que se observa la morfología característica de las muestras, en este caso, la del soporte de  $\text{CeO}_2$ .



**Figura 1.** Micrografía obtenida por SEM para las muestras: a) soporte de  $\text{CeO}_2$  b) 5Fe400; c) 20Fe400; d) 5Fe800

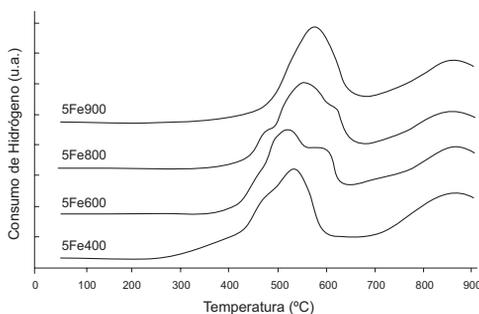
La tabla 1 resume los resultados de las fases detectadas por XRD:  $\text{CeO}_2$  (cerianita), y  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  (hematita) como fase activa. Se observó que los catalizadores con distintos contenidos de hierro, no presentaron variaciones significativas ni en el contenido de fases ni en su morfología. Los resultados obtenidos en los ensayos de TPR confirmaron estas observaciones (figura 2).

El perfil de TPR obtenido para el  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  patrón como para las muestras de catalizadores de  $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{CeO}_2$  muestran dos picos de reducción a temperaturas inferiores a los  $600^\circ\text{C}$  (en el caso de las muestras de catalizadores los picos se hallan desplazados hacia temperaturas inferiores, con respecto al  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  sin soportar, probablemente debido a interacciones con el soporte). La presencia de dos picos se asocia a un proceso de reducción de la hematita en dos etapas sucesivas<sup>8,9</sup>. Se observa que el área bajo estos picos aumenta, con el incremento del contenido de hierro en las muestras.



**Figura 2.** Perfiles de TPR para los catalizadores frescos: Muestras calcinadas a  $400^\circ\text{C}$ , con distintos contenido de Fe y patrones de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  y de  $\text{CeO}_2$ ;

En la figura 3 se muestran los termogramas obtenidos para la muestra con un 5% de Fe calcinada a distintas temperaturas. El aumento en la temperatura de calcinación estabilizaría las fases de Fe, provocando un desplazamiento en los picos de consumo de hidrógeno hacia mayores temperaturas. Las muestras calcinadas a 900°C presentan un solo pico de consumo de hidrógeno, que podría atribuirse a un proceso de reducción en una única etapa.



**Figura 3.** Perfiles de TPR para los catalizadores frescos: Muestras con 5% de  $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{CeO}_2$ , calcinados a diferentes temperaturas.

**Tabla 2.** Conversión de fenol y producción de  $\text{CO}_2$  para los catalizadores con distinto contenido metálico

Catalizador	Temp. de reacción (°C)	Conversión de FENOL (%)	Producción de $\text{CO}_2$ (%)
$\text{CeO}_2$	60	8	< 5
5Fe400	60	37	28
10Fe400	60	44	33
20Fe400	60	49	40

Los resultados de los ensayos de actividad catalítica se resumen en la tabla 2 (% de conversión de fenol y % de disminución del TOC) para las muestras con distinto contenido de Fe, calcinadas a 400°C y ensayadas a 60°C. Los niveles de conversión de fenol se incrementaron con el contenido de fase activa, sin embargo la selectividad de la reacción hacia la mineralización completa (cociente entre la conversión de TOC y la de fenol) se mantuvo en todos los casos relativamente constante, a niveles entre el 75 y 80%.

**Tabla 3.** Conversión de fenol y producción de  $\text{CO}_2$  para los catalizadores 5Fe400 ensayados a distintas temperaturas

Catalizador	Contenido metálico (°C)	Conversión de FENOL (%)	Producción de $\text{CO}_2$ (%)
5Fe400	60	37	28
5Fe400	70	78	57
5Fe400	80	100	73
5Fe400	100	100	79

Se estudió la reacción de oxidación a distintas temperaturas utilizando la muestra de menor contenido de fase activa. Experiencias preliminares realizadas en presencia de CeO<sub>2</sub> mostraron a 60°C una conversión de fenol del 8% y a 100°C del 20%. Los resultados para 5Fe400 se muestran en la tabla 3. El aumento de temperatura provocó un drástico aumento en la conversión de fenol, alcanzando una conversión total a 80°C, mientras que los valores de selectividad no se modificaron substancialmente.

**Tabla 4.** Conversión de fenol y producción de CO<sub>2</sub> para los catalizadores con un 5% de Fe calcinados a distintas temperaturas y ensayados a 100°C

Catalizador	Contenido metálico (°C)	Conversión de FENOL (%)	Producción de CO <sub>2</sub> (%)
5Fe400	100	100	79
5Fe600	100	92	61
5Fe800	100	87	46
5Fe900	100	80	37

También se realizaron ensayos con el catalizador 5Fe400 a 60°C, modificando la proporción H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/fenol. En los ensayos reportados hasta aquí la relación H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/fenol utilizada correspondió a un valor levemente superior al estequiométrico. Se estudió entonces la reacción trabajando con proporciones H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/fenol dos y cinco veces mayores a la estequiométrica. La conversiones de fenol fueron del 44% (con un 34% de producción de CO<sub>2</sub>), y de un 52% (con 42% de producción de CO<sub>2</sub>), respectivamente. Se observó que el incremento en la proporción de peróxido de hidrógeno en el sistema no tuvo un efecto significativo sobre la conversión ni sobre la selectividad. Es probable que al utilizar concentraciones de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mayores, fuera también mayor la porción que se descompone sin generar radicales oxidantes.

El efecto de la temperatura de calcinación de las muestras de 5% de Fe sobre la conversión de fenol se muestra en la tabla 4. Los estudios se realizaron a 100°C en base a experiencias preliminares que mostraron valores de conversión de fenol muy bajos a menores temperaturas. El incremento de la temperatura de calcinación de las muestras produjo una disminución en los niveles de conversión de fenol, que resultó mucho más pronunciada para el caso de la selectividad hacia CO<sub>2</sub>. Estos resultados indicarían que las etapas de terminación de la reacción resultarían más susceptibles a los cambios superficiales inducidos por el tratamiento a mayores temperaturas que las primeras etapas del mecanismo, asociadas con la formación de intermediarios (quinonas, ácidos orgánicos). Mediante HPLC se detectaron ácido oxálico, ácido acético, hidroquinona y benzoquinona como intermediarios de reacción, especies que no presentan mayor toxicidad que el propio fenol de partida.

En general las muestras líquidas obtenidas resultaron coloreadas, de un color rojizo debido probablemente a la lixiviación de los iones de hierro, inducida por la presencia de especies ácidas orgánicas. Las muestras con mayor contenido de Fe presentaron mayores niveles de conversión de fenol (50%), pero también mayor lixiviación de hierro en el medio de reacción (6 ppm). Los catalizadores calcinados a altas temperaturas resultaron menos sensibles a la lixiviación, aunque alcanzaron niveles de degradación inferiores, con baja selectividad hacia la mineralización total (entre un 65 y un 45%). En ninguno de los casos se observaron sólidos carbonosos en suspensión.

### CONCLUSIONES

Los catalizadores de  $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{CeO}_2$  resultan una opción prometedora para ser utilizados en el tratamiento de contaminantes orgánicos por oxidación húmeda con  $\text{H}_2\text{O}_2$  como oxidante.

- Los catalizadores mostraron ser activos y selectivos en condiciones moderadas de temperatura (60-100°C) y presión atmosférica.
- A bajas temperaturas de reacción (60°C) los catalizadores con mayor contenido de Fe presentaron los mayores niveles de conversión de fenol, junto con un mayor porcentaje de pérdida de fase activa en el medio de reacción.
- El aumento de la temperatura de reacción (en el rango 60-100°C) produjo un aumento significativo en la conversión de fenol, sin modificaciones importantes en términos de mineralización completa.
- No se observó un cambio significativo en la conversión de fenol ni en la selectividad de la reacción al aumentar la proporción  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{fenol}$  en la reacción.
- Los catalizadores calcinados a altas temperaturas presentaron menores valores de conversión de fenol, sin embargo el efecto más pronunciado se registró sobre los niveles de selectividad hacia productos finales.
- Sobre la base de los resultados obtenidos hasta el momento, utilizando catalizadores preparados con una técnica sencilla, se continúan los estudios con el objetivo de determinar las condiciones óptimas de reacción que favorezcan la actividad y la selectividad hacia productos deseados ( $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ ), pero también la estabilidad a tiempos prolongados de operación.

### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Fundación Carolina, a la Universitat Rovira i Virgili, a la Universidad Nacional de Mar del Plata y CONICET por su aporte para la realización de este proyecto conjunto.

### REFERENCIAS

1. D. F. Bishop, G. Stern, M. Fleischman, L.S. Marshall, *Ind. Eng. Chem. Process. Des. Dev.* 7 (1968) 110-117.
2. S. Zrnčević, Z. Gomzi, *Ind. Eng. Chem. Res.* 44 (2005) 6110-6114.
3. J.L. Sotelo, G. Ovejero, F. Martínez, J.A. Melero, A. Milieni, *Applied Catalysis B: Environmental*, 47 (2004) 281-294.
4. J.M. Tatibouët, E. Guélou, J. Fournier, *Topics in Catalysis*, 33 (2005) 225-232.
5. G. Ovejero, J.L. Sotelo, F. Martínez, J. Melero, L. Gordo, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 40 (2001) 3921-3929.
6. J.G. Carriazo, E. Guelou, J. Barrault, J.M. Tatibouët, S. Moreno, *Appl. Clay Cal.*, 22 (2003) 303.
7. S.K. Bhargava, J. Tardío, J. Prasad, K. Fogar, D.B. Akolekar, S.C. Grocott, *Ind. Eng. Chem. Res.* 45 (2006) 1221-1258.
8. M.J. Tiernan, P.A. Barnes, G.M.B. Parkes, *J. Phys. Chem. B*, 105 (2001) 220-228.
9. F.J. Perez-Alonso, I. Melián-Cabrera, M. López Granados, F. Kapteijn, J.L. García Fierro, *J. Catal.*, 239 (2006) 340-346.

## ESTUDIO CINÉTICO Y TERMODINÁMICO DE LA ADSORCIÓN DE Cr(VI) PRESENTE EN SOLUCIÓN ACUOSA SOBRE FOSFATO DE CALCIO SINTÉTICO

F. Granados-Correa<sup>\*1</sup>, J. Bonifacio Martínez<sup>1</sup>, J. Serrano Gómez<sup>1</sup>

### RESUMEN

En el presente estudio, el fosfato de calcio fue sintetizado y caracterizado para la remoción de iones Cr(VI) en solución acuosa como una función del tiempo de contacto, pH de la solución y cantidad de adsorbente, concentración de cromo y temperatura, usando el método de lotes. Los datos experimentales fueron analizados de acuerdo con los modelos de isotermas de adsorción de Freundlich, Langmuir y Dubinin Radushkevich (D-R). Los parámetros termodinámicos del sistema de adsorción fueron determinados a diferentes temperaturas (293 a 323 K). Los resultados muestran que el equilibrio de adsorción fue conseguido 24 horas después de poner en contacto la fase acuosa con la fase sólida. La adsorción de iones Cr(VI) fue favorecida a altas temperaturas y a valores de pH ácidos, en el equilibrio. Las isotermas experimentales del Cr(VI) se ajustaron bien en el intervalo de concentraciones estudiadas ( $5 \times 10^{-4}$  a  $5 \times 10^{-5}$  M) a los modelos de isotermas de Freundlich, Langmuir y Dubinin-Radushkevich. La energía media de adsorción fue calculada usando la isoterma de adsorción de D-R en su forma lineal. Los valores de  $\Delta H^0$ ,  $\Delta S^0$  y  $\Delta G^0$  prueban que la adsorción de iones cromo sobre el fosfato de calcio se realizó mediante un proceso de adsorción tipo endotérmico y espontáneo. Los resultados indican que el fosfato de calcio es un adsorbente eficaz para la remoción de iones Cr(VI) presentes en solución acuosa bajo las condiciones experimentales evaluadas, y este material podría ser útil en los procesos para el tratamiento de residuos industriales que contienen cromo.

**Palabras clave:** Fosfato de calcio, iones cromato, adsorción, isotermas, parámetros termodinámicos.

## KINETIC AND THERMODYNAMIC STUDY OF Cr(VI) ADSORPTION ON SYNTHETIC CALCIUM PHOSPHATE IN AQUEOUS MEDIA

### ABSTRACT

Calcium phosphate was synthesized and characterized to investigate the remove of Cr(VI) anions from aqueous solutions as a function of contact time, pH of the Cr(VI) solution, amount of adsorbent, Cr(VI) concentration and temperature by means of batch experiments. The experimental data were analyzed through Freundlich, Langmuir and Dubinin-Radushkevich (D-R) isotherms. Thermodynamic parameters of the adsorption system were determined at various temperatures (293 to 323 K). Results showed that adsorption equilibrium of Cr(VI) ions was attained in 24 h. Cr(VI) adsorption was higher at high temperatures and low pH values, at equilibrium. The experimental data of Cr(VI) sorption fitted the isotherm models of

---

<sup>1</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, Apartado Postal 18-1027. Col. Escandón, Delegación Miguel Hidalgo. C.P. 11801 México, D.F., México. [francisco.granados@inin.gob.mx](mailto:francisco.granados@inin.gob.mx) (F. Granados-Correa)

Freundlich, Langmuir and Dubinin-Radushkevich for the studied concentration range ( $5 \times 10^{-4}$  to  $4 \times 10^{-5}$  M). The adsorption mean energy was calculated by using the D-R adsorption isotherm in its lineal form.  $H^0$ ,  $S^0$  and  $G^0$  values proved that the Cr(VI) adsorption on calcium phosphate was an endothermic and spontaneous process. The obtained results indicate that calcium phosphate is an effective adsorbent to remove Cr(VI) anions from aqueous solutions, under the used experimental conditions. This material could be useful for the treatment of chromium industrial residues.

**Key words:** calcium phosphate, chromate ions, adsorption, isotherms, thermodynamics parameters.

## INTRODUCCIÓN

La presencia de metales pesados en el medio ambiente ha llegado a ser problemático debido al gran efecto negativo sobre la salud y el medio ambiente. La remoción de estos metales pesados es actualmente de gran interés y es prioritaria debido al incremento en la actividad industrial. Con este fin, muchos materiales inorgánicos han sido probados para ser usados como efectivos materiales adsorbentes debido a su bajo costo y alta eficiencia.<sup>1-4</sup> Varias industrias tales como la de fabricación de pinturas y pigmentos, teñido y curtido de pieles, de fertilizantes, textiles, de fotografía, entre otras, descargan a los cuerpos de agua el cromo como producto residual en sus efluentes.<sup>5</sup>

El cromo es considerado como un contaminante de alta peligrosidad. Sus concentraciones en los efluentes industriales alcanzan en muchos casos altos valores, mayores a los permitidos. La toxicidad del cromo depende fuertemente de sus estados de oxidación, siendo el C(VI) el más peligroso; por otro lado, este contaminante ha sido asociado con el incremento de incidencias de cáncer.<sup>6-7</sup>

Se ha probado en el pasado una gran cantidad de materiales inorgánicos sintéticos y naturales para remover cromo.<sup>8-10</sup> En particular el fosfato de calcio posee una gran cantidad de potenciales aplicaciones, tales como catalizadores ácidos y básicos, adsorbentes cromatográficos, intercambiadores iónicos para procesos de adsorción de contaminantes presentes en solución acuosa y como biomateriales.<sup>11</sup> En varios trabajos de investigación, varios tipos de fosfatos, tales como fosfato de zirconio; de aluminio, titanio y estaño han sido sintetizados y utilizados como intercambiadores iónicos, sin embargo no hay trabajos sobre la cinética de adsorción y parámetros termodinámicos de la adsorción de cromo en fosfato de calcio.

El propósito de este trabajo fue revisar el comportamiento de adsorción de Cr(VI) en solución acuosa sobre fosfato de calcio sintetizado, por el método de lotes, como una función del tiempo de contacto con la solución, del pH de la solución, de la cantidad de adsorbente, de la concentración inicial del cromo y de la temperatura. Adicionalmente, se determinaron los parámetros cinéticos y termodinámicos del proceso de adsorción para interpretar y aclarar el mecanismo de adsorción del Cr(VI) presente en solución acuosa.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Materiales*

Todas las sustancias químicas y reactivos usados en este trabajo fueron de calidad analítica. En todos los experimentos se utilizó agua desionizada.

### *Preparación del adsorbente*

El fosfato de calcio fue sintetizado por el método de precipitación continua reportado por

Rivera et al., 1998.<sup>6</sup> Se utilizaron reactivos analíticos sin posterior purificación y de acuerdo con su peso molecular y pureza se calcularon las cantidades estequiométricas. Para conseguir un total de 10 g de fosfato de calcio, se utilizaron 23,51 g de nitrato de calcio (Merk con 99% de pureza) y 6,87 g de fosfato de amonio monobásico (J.T. Baker con 98% de pureza).

Para la preparación de la solución de nitrato de calcio se utilizó un agitador magnético y un recipiente de vidrio con el fin de evitar contaminación metálica. Se disolvieron 23,51 g de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , en 545 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  destilada con un pH inicial de 5. Posteriormente se adicionaron 62 mL de  $\text{NH}_4\text{OH}$  para obtener un pH final de 12; y por último, se agregó agua destilada hasta alcanzar un volumen total de 890 mL.

Para la preparación de la solución de fosfato de amonio monobásico, se siguieron los mismos parámetros de agitación que en el procedimiento anterior: se disolvieron 6,9 g de  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  en 833 mL de agua destilada con un pH inicial de 5. Luego se adicionaron 37 mL de amoniaco ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) para obtener un pH final de 12, ajustándose con agua destilada un volumen total de 1500 mL. Una vez preparadas las soluciones anteriormente descritas, se adicionó el fosfato de amonio sobre el nitrato de calcio con agitación continua por 24 horas y posteriormente se reposó por el mismo tiempo para proceder a una eliminación del sobrenadante. Posterior a ello se realizaron 4 lavados con agua destilada y agitación durante 18 horas; finalmente se separaron las fases sólida y líquida por centrifugación. El fosfato de calcio obtenido fue secado a 120° C durante 2,5 horas y sinterizado a 1050 °C durante 2,5 horas. La alta temperatura alcanzada en el proceso, ayuda a descomponer y volatilizar las trazas de amonio o nitrato que hayan podido quedar atrapadas en el proceso, además de proporcionarle cristalinidad al fosfato de calcio.

#### *Caracterización del adsorbente*

La muestra sintetizada fue caracterizada por difracción de rayos X utilizando un difractor Siemens D-5000 acoplado a un tubo de rayos X de ánodo de cobre. La radiación de  $\text{K}\alpha$  fue seleccionada con un monocromador de línea difractado. El compuesto fue identificado comparándolo con las tarjetas de JCPDS en la manera convencional. El área superficial específica del fosfato de calcio fue medida por el método de  $\text{N}_2$  Brunauer-Emmett-Teller en un analizador de área superficial Gemini Micromeritics 2360.

Una solución madre de iones de Cr(VI) fue preparada disolviendo  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  (reactivo Merck) en agua desionizada. Las soluciones con concentraciones deseadas de Cr(VI) fueron preparadas por diluciones sucesivas de la solución madre. El pH de las soluciones de cromo fueron ajustados añadiendo a las soluciones acuosas  $\text{NH}_4\text{OH}$  o  $\text{HNO}_3$  diluido y las mediciones de pH de las soluciones acuosas fueron realizadas utilizando un potenciómetro digital (Cole-Parmer modelo 05669-20) con electrodo combinado de vidrio. Las concentraciones de cromo presentes en las alícuotas fueron determinadas usando un espectrofotómetro ultravioleta-visible Shimadzu modelo 265 con una  $\lambda = 540$  nm y empleando el método de la 1,5 difenilcarbazida.<sup>12</sup>

#### *Experimentos de adsorción*

Antes de usar el fosfato de calcio sintetizado, se le determinó el punto de carga cero (zpc) con la ayuda de un equipo medidor de potencial zeta de Dispersion Technology, modelo DT300. Experimentos de adsorción fueron llevados a cabo por el método de lotes, mezclando 0,1 g de fosfato de calcio y 10 mL de solución de cromo en viales de vidrio con agitación constante a diferentes intervalos de tiempo (5 a 72 horas) en un baño de temperatura fija, para alcanzar la distribución en el equilibrio del sistema. Después de la agitación, las soluciones fueron centrifugadas, y los porcentajes de cromo adsorbido por el fosfato de calcio fueron

determinados de la diferencia entre la concentración inicial y final del cromo presente en la solución acuosa, antes y después del contacto. La siguiente ecuación fue usada para el cálculo:

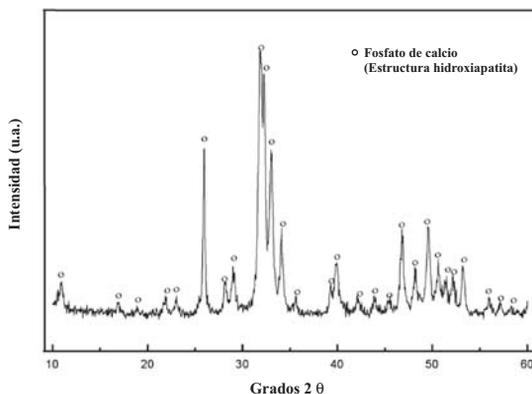
$$\% \text{Adsorción} = \frac{C_o - C_f}{C_o} 100 \quad (1)$$

donde  $C_o$  y  $C_f$  denotan la concentración inicial y final de los iones cromo en solución, respectivamente, determinadas espectrofotométricamente. Todos los experimentos fueron llevados a cabo a temperatura ambiente, excepto en el estudio de dependencia de temperatura donde la temperatura utilizada varió de 293 a 323 K.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Caracterización del adsorbente

Los difractogramas obtenidos muestran que se obtuvo fosfato de calcio en las muestras sintetizadas. De la síntesis resultó un polvo blanco y fino de fosfato de calcio tal como se muestra en la figura 1. La muestra sintetizada presentó el patrón de difracción típico del fosfato de calcio cuando el compuesto fue identificado mediante la comparación con la tarjeta de JCPDS número 9-0432, en la manera convencional. La presencia de líneas nítidas e intensas en bajos valores del ángulo  $2\theta$  y de líneas menos intensas bastante asimétricas en valores de ángulo  $2\theta$  más altos, indican una elevada cristalinidad con un tamaño de cristalito de 70 nm, determinado con la ecuación de Sherrer.<sup>13</sup> Por otra parte, el difractograma de rayos X del fosfato de calcio en polvo después de la adsorción de cromo, nos indica que no hubo ningún cambio importante, confirmando la estructura cristalina del material. El área superficial del fosfato de calcio fue de  $64,5 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ . En general, estos resultados están dentro del intervalo de valores reportados en la literatura.<sup>14</sup>

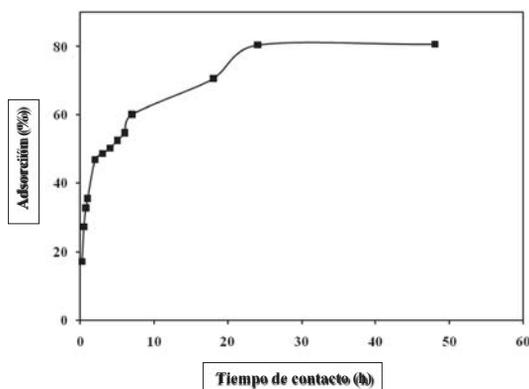


**Figura 1.** Patrón de difracción de rayos X del fosfato de calcio sintetizado.

### Efecto del tiempo de contacto

El proceso de adsorción de iones  $\text{Cr(VI)}$  sobre el fosfato de calcio, como una función del tiempo de agitación, fue realizado para determinar el punto del equilibrio del sistema mediante experimentos estáticos. Los experimentos fueron llevados a cabo con un pH inicial

de 5,5; esto es, sin ajuste del pH, utilizando una solución de  $K_2Cr_2O_7$   $5 \times 10^{-4}$  M a temperatura ambiente. Todos los experimentos fueron realizados por duplicado y se obtuvo una buena reproducibilidad. Los resultados se muestran en la figura 2, donde se observa que la remoción de Cr(VI) por el fosfato de calcio es rápida y se alcanza el equilibrio completo entre las dos fases en aproximadamente 24 horas. La cantidad máxima de iones Cr(VI) removidos fue de  $2,4 \times 10^{-4}$  meq.g $^{-1}$ . Todas las muestras del adsorbente se pusieron en contacto con soluciones de Cr(VI) hasta por 72 horas y se observó que la cantidad de Cr(VI) residual se mantuvo constante después de 24 h de contacto.

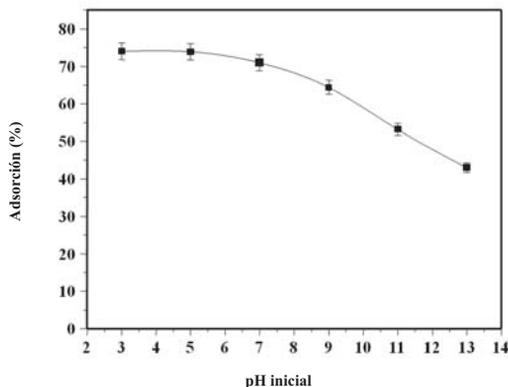


**Figura 2.** Adsorción de Cr(VI) sobre fosfato de calcio como una función del tiempo de contacto.

### *Efecto de pH*

En los procesos de adsorción de iones metálicos sobre superficies de minerales, la adsorción puede ser reducida o incrementada por los valores de pH iniciales de las soluciones, debido a las interacciones de los iones metálicos con los grupos funcionales adsorbidos sobre las superficies de mineral. De este modo, fueron llevados a cabo experimentos tipo lote para revisar la influencia de pH inicial sobre la adsorción de iones Cr(VI) utilizando una solución  $5 \times 10^{-5}$  M de estos iones. El pH inicial de las soluciones de cromo fue ajustado de 3 a 11 utilizando soluciones de  $HNO_3$  y  $NH_4OH$ . La estabilidad del pH fue verificada por medición periódica. Los resultados obtenidos son mostrados en la figura 3. Las especies químicas del metal estudiado son aniónicas, por lo que la adsorción disminuyó cuando el medio alcalino se incrementó. La máxima adsorción de cromo ocurrió a valores de pH ácidos, lo cual se explica porque en el medio ácido los aniones  $HCrO_4^-$  o  $Cr_2O_7^{2-}$ <sup>15</sup> constituyen las principales especies hidrolizadas en solución que son adsorbidas sobre la superficie cargada positivamente del fosfato de calcio en condiciones ácidas, conduciendo a porcentajes altos de adsorción. Los solutos interactúan con la superficie de mineral porque ésta última ha adquirido una carga eléctrica superficial debido a las reacciones que involucran a las especies químicas  $H^+$  y  $OH^-$  sobre la superficie de mineral y los iones en solución. El zpc del fosfato de calcio fue de 4,7, el cual fue determinado de las medidas de potencial zeta y está acorde con la literatura.<sup>16</sup> En función del punto de carga cero, solamente las especies aniónicas pueden ser adsorbidas sobre su superficie a valores menores que su punto de carga cero. Adicionalmente, los resultados muestran que las propiedades eléctricas de este material, por ejemplo la carga de los grupos funcionales sobre la superficie, es responsable de la adsorción del Cr(VI); por lo tanto, la

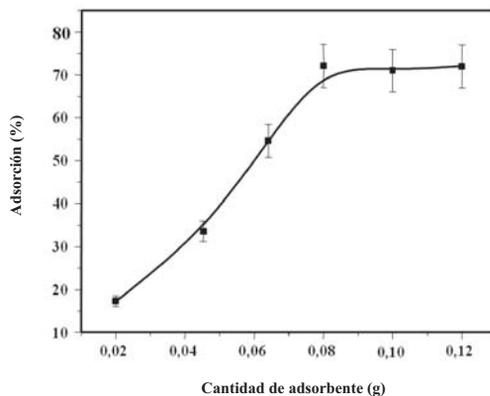
adsorción del Cr(VI) sobre el fosfato de calcio es atribuido parcialmente a un intercambio directo de los iones con un grupo específico sobre la superficie adsorbente, de acuerdo con el concepto de punto de carga cero (zpc).



**Figura 3.** Influencia del pH sobre la adsorción de iones Cr(VI).

#### *Efecto de la cantidad de adsorbente*

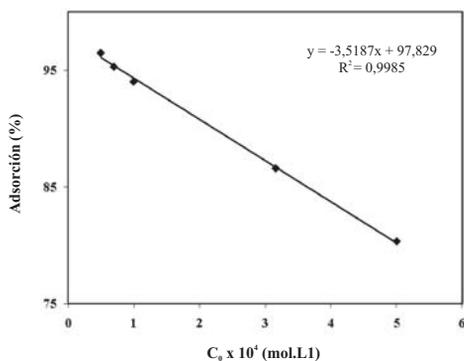
Los resultados de la dependencia de adsorción de cromo en función de la cantidad de fosfato de calcio en el sistema se obtuvieron utilizando una solución acuosa con un pH de 5,5 y un tiempo de equilibrio de 24 horas. Los resultados se muestran en la figura 4. La eficiencia en la remoción de Cr(VI) aumentó proporcionalmente con el aumento de la cantidad de fosfato de calcio. A partir de aproximadamente 0,08 g de fosfato de calcio, el porcentaje de retención de iones Cr(VI) se mantuvo constante con el incremento de la masa del sólido. En la figura 4 se puede observar que 0,1g de fosfato de calcio son suficientes para obtener la máxima separación de cromo presente en agua residual.



**Figura 4.** Dependencia de la adsorción de Cr(VI) sobre la cantidad de adsorbente.

### Efecto de la concentración inicial

La adsorción de cromo sobre fosfato de calcio fue estudiada en el intervalo de concentraciones de  $5 \times 10^{-4}$  a  $5 \times 10^{-5}$  M, a la temperatura de 293 K y agitando el sólido con las soluciones de Cr(VI) durante 24 h. Los resultados se muestran en la figura 5. Se encontró que la adsorción de Cr(VI) se incrementa cuando la concentración disminuye. El incremento de la adsorción se explica por la interacción de iones metálicos adsorbidos sobre la superficie del adsorbente, por mecanismos que involucran la adsorción del ion metálico a un limitado número de sitios activos sobre la superficie, porque hay más sitios activos por gramo del adsorbente disponibles para la deposición a una alta dilución.



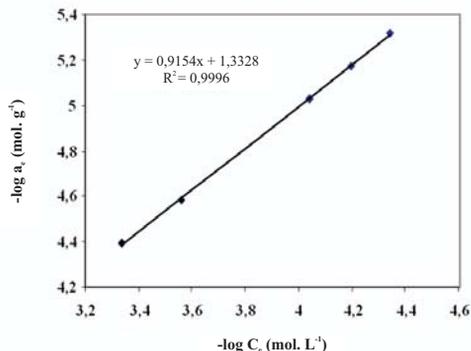
**Figura 5.** Efecto de la concentración inicial de Cr(VI) sobre su adsorción.

### Isotermas de adsorción

Para describir el comportamiento de adsorción del cromo sobre el fosfato de calcio, los datos obtenidos sobre el efecto de la concentración inicial fueron probados usando los modelos de isotermas de adsorción de Freundlich, Langmuir y Dubinin-Radushkevich (D-R). El modelo de Freundlich fue evaluado utilizando la siguiente ecuación:

$$\log a_e = 1/n \log C_e + \log K \quad (2)$$

donde  $\log a_e$  es la cantidad de cromo adsorbido en el equilibrio (mol/g),  $C_e$  es la concentración de cromo en solución en el equilibrio (mol.L<sup>-1</sup>),  $K$  y  $1/n$  son las constantes de Freundlich. Los valores de  $1/n$  y  $K$ , corresponden a la intensidad de adsorción y a la máxima capacidad de adsorción respectivamente; estos valores fueron obtenidos con la ayuda de la pendiente e intercepción de la línea recta mostrada en la figura 6 y los valores correspondientes encontrados fueron 0,67 0,002 y  $(4,6 \ 0,02) \times 10^{-2} \text{ mol.g}^{-1}$ . Este modelo empírico puede ser aplicado tanto para una adsorción ideal sobre superficies heterogéneas como para una adsorción en multicapas. Valores fraccionales relativamente altos de  $1/n$  (0-1) demuestran una validez de la clásica isoterma de Freundlich sobre el intervalo de concentración de cromo estudiado. El valor obtenido de  $1/n$  es atribuido a la naturaleza heterogénea de la superficie del adsorbente con una distribución exponencial de la energía de los sitios de adsorción.<sup>17</sup>

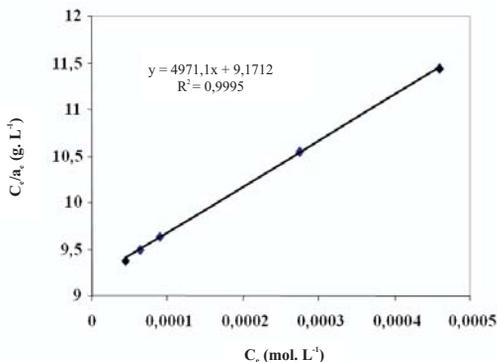


**Figura 6.** Isoterma de adsorción de Freundlich para la adsorción de iones Cr(VI) sobre fosfato de calcio.

Los datos de adsorción también fueron evaluados usando la isoterma de adsorción de Langmuir en su forma lineal:

$$\frac{C_e}{a_e} = \frac{1}{Ka_{\max}} + \frac{C_e}{a_{\max}} \quad (3)$$

Donde  $C_e$  es la concentración del ion metálico en solución en equilibrio (mol.L<sup>-1</sup>),  $K$  y  $a_{\max}$  son la constante de Langmuir y la máxima capacidad de adsorción, respectivamente,  $a_e$  es la cantidad de cromo absorbido en el equilibrio (mol.g<sup>-1</sup>). La isoterma de Langmuir es probablemente el modelo más extensamente aplicado para una isoterma de adsorción; este modelo considera que la energía de adsorción de cada molécula es independiente de la superficie del material, la adsorción tiene lugar solamente sobre algunos sitios y no hay ninguna interacción entre las moléculas. Se obtuvo una línea recta cuando se graficaron  $C_e/a_e$  vs  $C_e$  sobre el intervalo de concentración investigado (figura 7); la línea recta indica que la adsorción obedece el modelo de Langmuir. La pendiente de la línea recta fue  $a_{\max} = (2,0 \pm 0,01) \times 10^{-4}$  mol.g<sup>-1</sup> y la intercepción fue  $K = (5,42 \pm 0,1) \times 10^2$  dm<sup>3</sup>.mol<sup>-1</sup>, con un coeficiente de correlación  $R^2 = 0,9995$ .



**Figura 7.** Isoterma de adsorción de Langmuir para la adsorción de Cr(VI) sobre fosfato de calcio

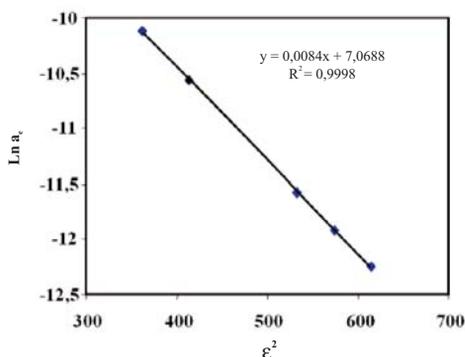
Por otro lado, los datos también fueron evaluados con la isoterma de adsorción de Dubinin-Radushkevich (D-R) en su forma lineal:<sup>18</sup>

$$\ln C_e = \ln a_{\max} - \beta \varepsilon^2 \quad (4)$$

donde  $\beta$  es una constante y  $\varepsilon$  es el potencial de Polanyi que se calcula con la siguiente ecuación:

$$\varepsilon = RT \ln(1 + 1/C_e) \quad (5)$$

donde  $R$  es la constante de los gases, de  $8,314 \times 10^{-3} \text{ kJ.mol}^{-1}$  y  $T$  es la temperatura absoluta en grados Kelvin. Una gráfica de  $\ln a_e$  vs.  $\varepsilon^2$  se muestra en la figura 8. La línea recta indica que los datos de adsorción se ajustan adecuadamente al modelo de adsorción de D-R en todas las concentraciones de Cr(VI) estudiadas. Los valores obtenidos de la máxima cantidad de cromo que pueden ser adsorbidos sobre fosfato de calcio y de la energía media de adsorción, obtenidas de la pendiente e intercepción de esta línea recta, fueron  $a_{\max} = (8,50 \pm 0,04) \times 10^{-4} \text{ mol.g}^{-1}$  y  $E = 7,70 \pm 0,10 \text{ kJ.mol}^{-1}$ , respectivamente. La energía media de adsorción ( $E$ ), que es la energía libre media de transferencia para un mol de soluto desde el infinito (presente en solución) a la superficie del fosfato de calcio, fue valorada usando la relación  $E = 1/\sqrt{-2\beta}$  con  $\beta = -0,0084 \text{ mol}^2.\text{kJ}^{-2}$ . El valor obtenido de  $E$  se encuentra en el intervalo esperado de 8-16  $\text{kJ.mol}^{-1}$  para un fenómeno de intercambio iónico.<sup>19</sup>



**Figura 8.** Isoterma de adsorción de Dubinin-Radushkevich (D-R) para la adsorción de iones Cr(VI) sobre fosfato de calcio

### Efecto de la temperatura

El efecto de la temperatura en la adsorción de iones de cromo (VI) sobre fosfato de calcio también fue investigado. La temperatura se varió de 293 a 323 K. Se observó que la adsorción de iones de cromo se incrementa con el aumento de la temperatura (tabla 1). Este hecho indica que hay una mejor adsorción a temperaturas más altas que la ambiental. El aumento en la cantidad de cromo adsorbido con el aumento de temperatura es provocado por una gran movilidad de especies iónicas presentes en solución acuosa, con la aceleración de algunos pasos de adsorción que originalmente son lentos o por la creación de algunos nuevos sitios activos sobre la superficie del adsorbente.

**Tabla 1.** Efecto de la temperatura sobre el porcentaje de iones Cr(VI) adsorbidos en el fosfato de calcio sintetizado, en el equilibrio.

Temperatura (K)	293	303	313	323
Porcentaje adsorbido	86,9±0,1	73,4±0,2	29,2±0,1	82,3±0,1

Los datos de cromo adsorbido en el equilibrio a diferentes temperaturas se usaron para valorar los parámetros termodinámicos  $\Delta H^0$ ,  $\Delta S^0$  y  $\Delta G^0$  del sistema de adsorción mediante el empleo de las siguientes ecuaciones:

$$\log K_d = -\frac{\Delta H^0}{2,303R} \left( \frac{1}{T} \right) + \frac{\Delta S^0}{2,303R} \quad (7)$$

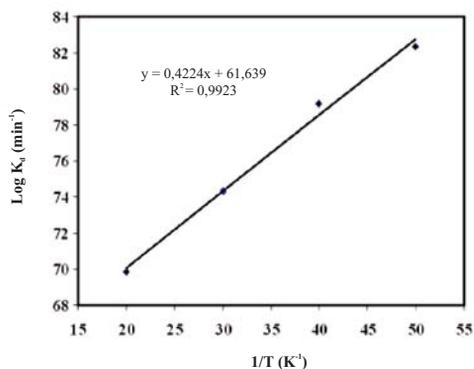
$$\Delta G^0 = -RT \ln K_d \quad (8)$$

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T\Delta S^0 \quad (9)$$

donde  $\Delta H^0$ ,  $\Delta S^0$  y  $\Delta G^0$  y T son, respectivamente, el cambio de entalpía, el cambio de entropía, la energía libre de Gibbs de la adsorción y la temperatura absoluta en grados Kelvin. R es la constante universal de los gases (8,314 kJ.mol<sup>-1</sup>). El cambio de entalpía fue calculado de la pendiente de la línea recta obtenida al graficar  $K_d$  vs  $1/T$  (figura 9), obtenida en función de la ecuación de van 't Hoff en su forma lineal:<sup>19</sup>

$$\log K_d = \frac{-\Delta H^0}{2,303RT} + \text{constante} \quad (10)$$

El cambio de Entalpía,  $\Delta H^0$  obtenido fue de 14,3±0,3 kJ.mol<sup>-1</sup>, donde el valor positivo muestra una naturaleza endotérmica del proceso de adsorción. La magnitud de  $\Delta H^0$  está relacionada con el mecanismo de reacción. Si  $\Delta H^0$  está en el intervalo de 8-16 kJ.mol, la adsorción es controlada por un intercambio iónico.<sup>18</sup>



**Figura 9.** Grafica de  $\log K_d$  vs.  $1/T$  para la adsorción de Cr(VI) sobre fosfato de calcio

El valor de  $\Delta S^0$  también fue calculado de la intercepción de la línea con el eje y de la Figura 9, mientras que  $\Delta G^0$  fue obtenido usando la ecuación (8).  $\Delta G^0$  fue calculado como  $-23,1 \pm 2,0$  kJ.mol<sup>-1</sup>; su signo negativo y valor muestran la espontaneidad del proceso de adsorción. Mientras tanto  $\Delta S^0$  fue obtenido como  $(12,8 \pm 0,2) \times 10^{-3}$  kJ.K<sup>-1</sup>.mol y su valor positivo indica el aumento en la aleatoriedad en la interfase de la solución con el sólido por la fijación de los iones cromo sobre el fosfato de calcio. Cuando los iones son adsorbidos en la superficie del fosfato de calcio, moléculas de agua que están previamente unidas a los iones metálicos son liberadas y dispersadas en la solución, resultando con esto un aumento en el cambio de entropía.

### CONCLUSIONES

El fosfato de calcio ha sido preparado y caracterizado en este estudio. El equilibrio de adsorción fue alcanzado en 24 horas después de poner en contacto la fase acuosa con la fase sólida y se concluye que un intercambio de iones cromo en la superficie del fosfato de calcio es lo que controla el proceso de adsorción. La adsorción en el equilibrio de iones Cr(VI) fue favorecida a altas temperaturas y a valores de pH ácidos. Las isotermas experimentales del Cr(VI) se ajustaron en el intervalo de concentraciones estudiadas por los modelos de isotermas de Freundlich, Langmuir y Dubinin-Radushkevich. La energía media de adsorción fue calculada usando la isoterma de adsorción de (D-R) en su forma lineal. Los valores de  $\Delta H^0$ ,  $\Delta S^0$  y  $\Delta G^0$  prueban que la adsorción de iones cromo sobre el fosfato de calcio se realiza mediante un proceso de adsorción tipo endotérmico y espontáneo. Los resultados indican que el fosfato de calcio es un adsorbente eficaz para la remoción de iones Cr(VI) presentes en solución acuosa bajo las condiciones experimentales evaluadas, y este material podría ser útil en los procesos para el tratamiento de residuos industriales o para aplicaciones analíticas.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo económico del CONACYT con el proyecto 52658-II y al proyecto ININ-CB-718.

### REFERENCIAS

1. Pagana AE, Sklari SD, Kikkinides ES, Zaspalis VT. Microporous ceramic membrane technology for the removal of arsenic and chromium ions from contaminated water, *Micropor. Mesopor. Mat.* 2007; 10 (1): 150-156.
2. Vlyssides AP, Israilides CJ. Detoxification of tannery waste liquors with an electrolysis system, *Environ. Pollut.* 1997; 97 (1-2): 147-152.
3. Galán B, Castañeda D, Ortiz I. Removal and recovery of Cr(VI) from polluted ground waters: A competitive study of ion-exchange technologies, *Water Res.* 2005; 39: 4317-4324.
4. Bhattacharya AK, Naiya TK, Mandal SN, Das SK. Adsorption, kinetics and studies on removal of Cr(VI) from aqueous solutions using different low-cost adsorbents, *Chem. Eng. J.*, doi:10.1016/j.cej.2007.05.04.
5. Fellenberg G. The chemistry of pollution. Chichester, England: John Wiley; 2000.
6. Toxicological Review of hexavalent chromium, U.S. Environmental Protection Agency, National Center for Environmental Assessment, Office of research and Development, Washington, DC; 1998.
7. Alloway BJ, Ayres AK, Chemical Principles of Environmental Pollution. London: Blakie A&P; 1997.
8. Saroj SB, Surendra ND, Pradip R, Gautam RC. Chromium (VI) removal by calcined bauxite. *Biochem. Eng. J.* 2007; 34: 69-75.

9. Trobajo C, Khainakov SA, Espina A, García JR. On the synthesis of alpha-zirconium. *Chem. Mater.* 2000; 12: 1787-1790.
10. Lazarin AM, Borgo CA, Gushikem Y, Kholin YV. Aluminum phosphate dispersed on a cellulose acetate fiber surface: Preparation, characterization and application for Li<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> separation. *Anal. Chim. Acta.* 2003; 477: 305-313.
11. Thakur P, Moore RC, Chopin GR. Sorption of U(VI) species on hydroxyapatite *Radiochim. Acta.* 2005; 93: 385-391.
12. ASTM D 1687-92. Chromium in Water, *Test Method A.* 1996.
13. Powder Diffraction File, Inorganic Vol. PDIS-10iRB, Joint Committee on Powder Diffraction Standards, Pennsylvania. 1845.
14. N.C. Da Rocha, R.C. De Campos, A.M. Rossi, E.L. Moreira, Barbosa A. F., G.T. Moure, Cadmium uptake by hydroxyapatite synthesized in different conditions and submitted to thermal treatment. *Environ. Sci. Technol.* 36 (2002) 1630-1635.
15. Baes FC, Mesmer R, The hydrolysis of cations. New York: John Wiley and Sons Inc.; 1976.
16. Xiangdong Z, Hongong F, Dongxiao L, Yumei X, Xingdong Z. Protein adsorption and zeta potentials of a biphasic calcium phosphate ceramic under various conditions. *J. Biomed. Mat. Res. B.* 2006; 82 (1) 65-73.
17. Granados-Correa F, Jiménez-Becerril J, Adsorption of <sup>60</sup>Co<sup>2+</sup> on hydrous manganese oxide powder from aqueous solution, *Radiochim. Acta.* 2004; 92:105-109.
18. Helfferich J. Ion Exchange. New York: Mc Graw Hill; 1962.
19. Granados-Correa F, Serrano-Gómez J. Kinetic and thermodynamic parameters of <sup>99</sup>Mo sorption on thermally treated hydroxalcite. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 2006; 268 (1): 95-101.

## ELIMINACIÓN DE 2-CLOROFENOL DE SOLUCIONES ACUOSAS MEDIANTE ALGAS MARINAS: EVIDENCIAS DE MECANISMO DE ADSORCIÓN

Norma A. Cuizano<sup>a</sup>, Bertha P. Llanos<sup>a</sup>, Abel E. Navarro<sup>b\*</sup>

### RESUMEN

Se investigó el mecanismo por el cual las algas marinas *Lessonia nigrescens* Bory y *Macrocystis integrifolia* Bory remueven 2-clorofenol a partir de soluciones acuosas mediante experimentos de adsorción discontinuos y técnicas instrumentales. Se evaluó el efecto de la presencia de iones metálicos en el proceso de adsorción. Los resultados indican que el plomo aumenta ligeramente la adsorción de 2-clorofenol. Esto sugiere dos diferentes mecanismos de adsorción de ambos tipos de contaminantes por ambas algas marinas y un posible efecto sinérgico entre ellos. Análisis de microscopía electrónica de barrido electrónico complementado con análisis de rayos X por energía dispersiva indicaron una adsorción predominantemente de superficie. Finalmente, se determinó el cambio en la energía libre de Gibbs ( $\Delta G_0$ ) del proceso, concluyendo que la adsorción no es espontánea para ninguna de las algas estudiadas, lo cual corrobora la ausencia de interacciones electrostáticas y la existencia de interacciones poco polares en un ambiente desfavorable rodeado de grupos hidroxilo.

**Palabras clave:** Algas marinas, 2-clorofenol, energía libre de Gibbs, plomo, biosorción.

## ELIMINATION OF 2-CHLOROPHENOL FROM AQUEOUS SOLUTIONS BY MARINE ALGAE: EVIDENCES OF THE MECHANISM OF ADSORPTION

### ABSTRACT

The mechanism of the removal of 2-chlorophenol onto the marine algae *Lessonia nigrescens* Bory and *Macrocystis integrifolia* Bory from aqueous solutions was investigated in batch experiments. The effect of the presence of metallic ions in the adsorptive process was evaluated. The results show that lead slightly increases the adsorption of 2-chlorophenol. This suggests two different types of adsorption of both types of pollutants by the two marine algae and a possible synergic effect. Scanning electron microscopy and energy dispersive X-ray analyses predominantly indicated a surface adsorption. Finally, the change in Gibbs free energy ( $\Delta G_0$ ) of the process was determined. The results show that the adsorption is not spontaneous for none of the algae. This also corroborates the absence of electrostatic interactions and the existence of apolar interactions in an unfavourable environment surrounded by hydroxyl groups.

**Key words:** Marine algae, 2-chlorophenol, Gibbs free energy, lead, biosorption.

<sup>a</sup> Departamento de Química, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Av. Honorio Delgado 430, Lima 31, Perú.

<sup>b</sup> Department of Chemistry, Graduate School of Arts and Science, New York University, New York, NY, 10003, USA.

\* aen234@nyu.edu

## INTRODUCCIÓN

La contaminación de fuentes hídricas por sustancias orgánicas e inorgánicas ha sido siempre de preocupación mundial. Entre las típicas sustancias orgánicas consideradas tanto como subproductos no deseados y materia prima en numerosas industrias, están los fenoles<sup>1</sup>. Fenoles, sus derivados y aquellos compuestos orgánicos que contienen anillos aromáticos condensados pertenecen al grupo de contaminantes más tóxicos y comunes de la industria de plásticos, tintes y papel. La biodegradación de ácidos húmicos, taninos y ligninas también producen fenoles. Estos compuestos son tóxicos y se sospecha su efecto carcinógeno en humanos. Por esta razón, un gran número de fenoles han sido listados en la European Community Directive y en la US Environment Protection Agency (EPA).

La presencia de fenoles en medios acuáticos causa cambios en las propiedades químicas (pH, demanda de oxígeno, alcalinidad, oxígeno disuelto, etc.), físicas (olor, sabor, color, viscosidad, turbidez, temperatura, etc.) y biológicas, dañando la calidad de agua para el uso humano y originando disturbios en el equilibrio ambiental.

Los clorofenoles son productos secundarios típicos en industria del papel durante la fase de blanqueamiento, así como en la preparación de antisépticos y pesticidas. Además, son ácidos permeables a la piel humana y son rápidamente absorbidos por el tracto gastro-intestinal. La intoxicación por clorofenoles causa aceleración de la respiración, vómitos y náuseas en humanos<sup>2</sup>. Estos compuestos fenólicos son generalmente eliminados mediante técnicas convencionales como coagulación, extracción por solventes, adsorción por carbón activado, intercambio iónico con resinas, degradación fotocatalítica en suspensiones de dióxido de titanio, oxidación por peróxido de hidrógeno, biodegradación, entre otras<sup>3-7</sup>.

En las últimas décadas, la biotecnología ha abordado el problema de la contaminación ambiental mediante el desarrollo de tecnologías limpias para la remoción de contaminantes orgánicos e inorgánicos. La biosorción ha constituido un arma eficiente, de bajo costo y de fácil aplicación para la destoxificación de aguas residuales provenientes de industrias y minas contaminadas con metales pesados<sup>8</sup>, obteniendo resultados positivos. Los biosorbentes comúnmente empleados son algas marinas<sup>9</sup>, hongos comestibles<sup>10</sup>, levaduras<sup>11</sup> y otros<sup>12-14</sup>.

Por otro lado, Perú es conocido por su diversidad de recursos naturales. Las algas marinas yacen en las playas sin ningún beneficio, siendo al contrario preocupación de municipios y de la comunidad. Por esta razón, dos variedades de algas marinas del litoral peruano fueron escogidas para la eliminación de compuestos fenólicos en estudios previos<sup>16</sup>.

El uso de algas marinas en la eficiente remoción de 2-clorofenol (2-CP) ya ha sido demostrado anteriormente<sup>15,16</sup> por nuestro grupo de investigación. Otros grupos de investigación han empleado cascarón de huevo, desechos municipales tratados, corteza de coco, plumas de aves de corral, etc.; pero muy pocos han propuesto un mecanismo de adsorción coherente con los resultados experimentales.

Además, la presencia simultánea de compuestos orgánicos e inorgánicos en las aguas residuales marca un reto en el uso de biosorbentes que se ajusten con mayor precisión a un agua de desecho real. La presencia de plomo como modelo de contaminante inorgánico nos permitirá determinar si el proceso de adsorción de 2-CP es sinérgico, aditivo, competitivo o indiferente respecto al plomo.

## PARTE EXPERIMENTAL

### **Soluciones y reactivos**

Soluciones stock de 1000 ppm fueron preparadas disolviendo 2-clorofenol (grado analítico, MERCK) en 1 L de agua desionizada. Se prepararon diferentes soluciones por dilución del stock hasta alcanzar la concentración deseada. Todas las diluciones fueron preparadas con agua tipo I, purificada por ósmosis reversa mediante un purificador Barnstead/Thermolyne (Dubuque IA) D2714, el cual proporciona agua con una máxima conductividad de 18 mΩ.

El pH inicial de cada solución fue ajustado al valor óptimo<sup>15</sup> añadiendo alícuotas de 0,1N HCl y 0,1N NaOH antes de ponerse en contacto con el adsorbente. No se observaron cambios significantes en el pH inicial luego de alcanzarse el equilibrio, por lo que se asumió un pH constante durante todo el proceso.

### **Adsorbentes**

Las algas marinas *Lessonia nigrescens* Bory (A1) y *Macrocystis integrifolia* Bory (A2) fueron recolectadas de las playas de Tacna y Marcona en Perú, respectivamente, a una distancia aproximada de 200 m de la orilla. Las algas fueron lavadas con abundante agua potable, llevadas al laboratorio para su identificación taxonómica y mantenidas bajo refrigeración. Luego, se lavó las algas con agua tipo I, secadas a temperatura ambiental, molidas, separadas de acuerdo a su tamaño de partícula mediante tamizado y almacenadas en un desecador hasta su uso.

### **Caracterización del adsorbente**

Con el propósito de elucidar el mecanismo de adsorción de 2-CP en las algas marinas, se estudió la textura superficial y morfología de ambos adsorbentes mediante Microscopía de Barrido Electrónico (SEM) y Espectrometría de Rayos X por Energía Dispersiva (EDX) usando un Philips ESEM XL-30 TMP. Previo al análisis, la superficie de las muestras fue cubierta con una fina y eléctricamente conductiva capa de oro.

### **Efecto de la presencia de Pb(II)**

Se estudió la interferencia de iones metálicos como adsorbatos competitivos de 2-CP por los sitios activos de los biosorbentes. Se consideró los mismos valores óptimos y se realizaron pruebas a diferentes concentraciones de nitrato de plomo II (grado analítico, MERCK) en el rango 0–40 ppm.

Se realizaron experimentos discontinuos por duplicado evaluando el efecto de la presencia de iones metálicos en un agitador orbital INNOVA modelo 2100 a temperatura ambiente. Se mantuvo bajo una agitación de 200 rpm durante 24 h para asegurar el equilibrio. Las muestras fueron luego filtradas y se determinó la concentración residual de 2-CP mediante un espectrofotómetro UV-visible SHIMADZU modelo UV-mini 1240 a una longitud de onda de 274 nm.

### **Análisis de datos**

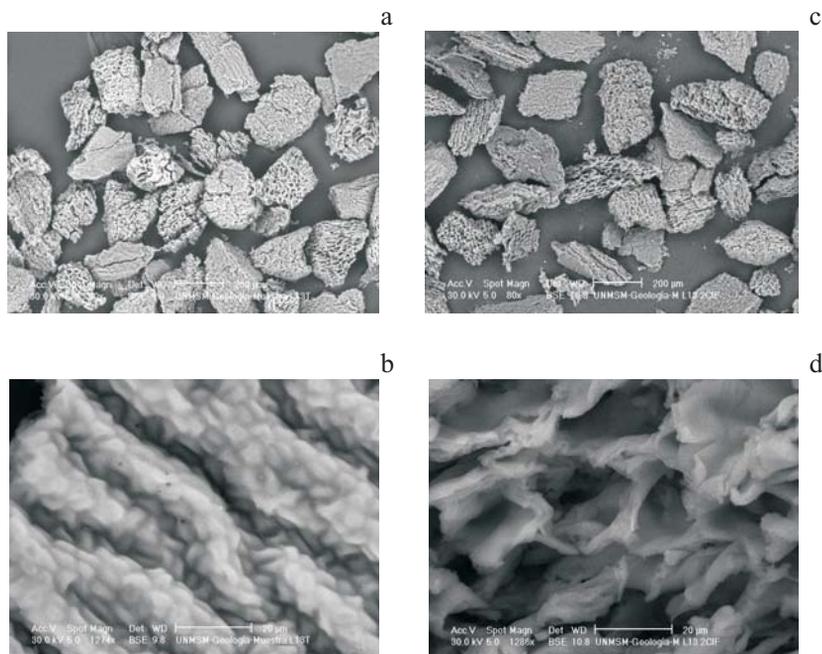
Con el solo propósito de comparar el efecto de plomo en la adsorción de 2-CP por ambas algas marinas, la cantidad adsorbida de 2-CP se expresó como porcentaje de adsorción (% adsorción); calculado según la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Adsorción} = \frac{(C_i - C_f)}{C_i} 100$$

Donde  $C_i$  y  $C_f$  son las concentraciones inicial y en el equilibrio, respectivamente, de 2-CP expresadas en mg/L.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudios previos mostraron mediante FTIR, que las algas A1 y A2 contienen grupos carboxilo, sulfonato, hidroxilo y amino en su estructura. Asimismo, se estudiaron las propiedades ácido-básicas de ambas algas<sup>17</sup>, determinándose una constante de ionización aparente de alrededor de 2,5. Estos estudios elucidaron los posibles centros de adsorción de fenoles e iones metálicos. Con el propósito de ampliar el conocimiento del mecanismo de adsorción de fenoles en algas marinas, se evaluó al alga A1 por SEM y EDX análisis, antes y después de ser puesto en contacto con 2-CP.



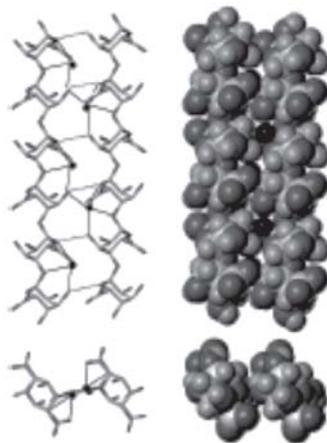
**Figura 1.** Microscopías de barrido electrónico del alga A1 a resolución x80 (a y d) y a resolución x1274 (b y d) antes (a y b) y después (c y d) de la adsorción de 2-CP.

### *Caracterización del adsorbente*

La figura 1a y 1b muestra el análisis SEM de A1 antes de la adsorción de 2-CP, observando una buena organización de la superficie, siendo capaces de reconocer estructuras helicoidales, confirmando la teoría del “egg-box” de los alginatos. Esta particular estructura pertenece exclusivamente a polialginatos y pectinas, los cuales son polisacáridos lineales. En el caso de los polialginatos, éstos se componen por unidades de ácidos (1,4)  $\beta$ -D-manurónico (M) y  $\alpha$ -L-gulurónico (G), distribuidos de forma no arbitraria, coexistiendo las secuencias MM, GM, GG y MG en el polímero. Estas cadenas se asocian formando dímeros, con la ayuda de cationes divalentes, en especial de iones calcio (II) (figura 2).

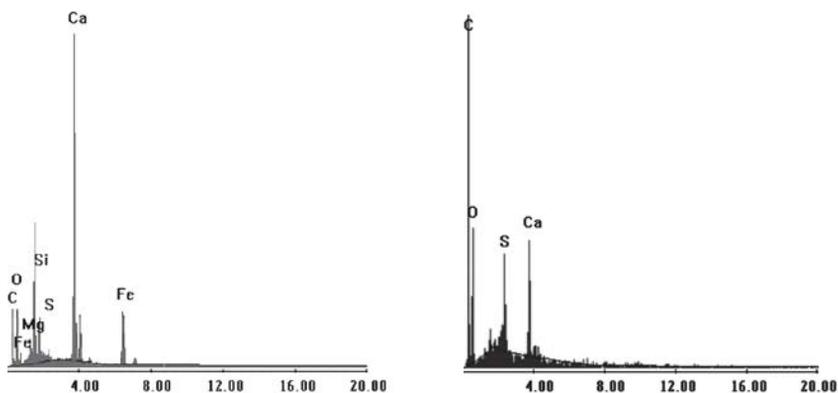
Los cambios producidos en la superficie de A1 causados por la adsorción de 2-CP se muestran en la figura 1c y 1d. Comparando las microscopías de menor resolución (x80), se nota una disminución de la porosidad del adsorbente, atribuyéndose a la deposición de 2-CP a nivel superficial, el cual llena las cavidades porosas del adsorbente. Por otro lado, a una resolución

de x1274, la conformación egg-box ya no es tan fácilmente observable debido a la adsorción de 2-CP en el exterior del dímero de alginato.



**Figura 2.** Dimerización de cadenas de polialginato bajo la conformación “egg-box” donde (●) representa al catión divalente.

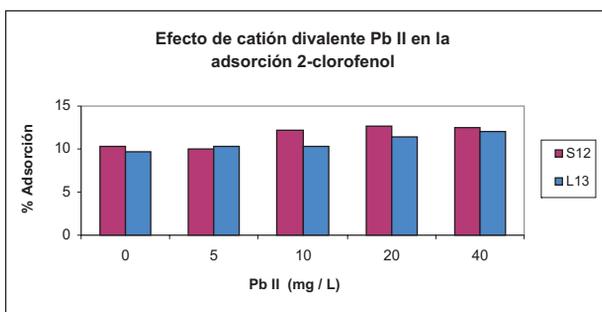
El estudio de microscopía electrónica fue verificado mediante análisis EDX, el cual se muestra en la figura 3. De los resultados, se observa un incremento de la cantidad de oxígeno y carbono en la superficie de A1 luego de la adsorción de 2-CP. Como se esperaba, la cantidad de carbono es mucho mayor comparada a la de oxígeno debido a la mayor composición en carbono de 2-CP. Este aumento en carbono mostrado por el análisis EDX confirma el llenado de poros del adsorbente por 2-CP que se observó en las microscopías de barrido electrónico.



**Figura 3.** Análisis EDX de L13 antes (izquierda) y después (derecha) de la adsorción de 2-CP. Eje Y expresado en número de cuentas y X en KeV.

### Efecto de la presencia de Pb (II)

La figura 4 muestra el efecto que produce la presencia de plomo divalente en la adsorción de 2-CP. Para ambas algas marinas, la presencia del ion Pb (II) no afecta notablemente la adsorción de 2-CP. Variando la concentración de plomo divalente entre 5 y 40 mg/L; el porcentaje de adsorción de 2-CP experimenta un ligero incremento. Esto se debe a que la adsorción de 2-CP y de cationes divalentes no compite por los mismos sitios de adsorción de algas marinas. Como se explicó anteriormente, los metales pesados divalentes desplazan a los iones calcio (II) de la cadena polimérica tipo “egg box”, mientras que los compuestos fenólicos, en general, y entre ellos 2-CP, interacciona con los grupos hidroxilo mediante distintas fuerzas de atracción intermoleculares, entre ellas dipolo-dipolo y puentes de hidrógeno.



**Figura 4.** Efecto de catión divalente Pb (II) en la adsorción de 2-CP por *Lessonia nigrescens* Bory (L13) y *Macrocystis integrifolia* Bory (S12)

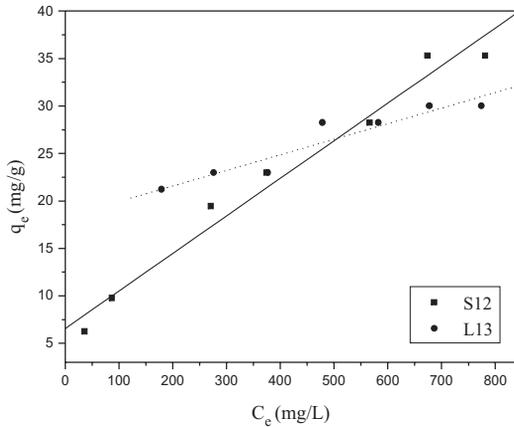
Como se observa en la figura 2, los grupos hidroxilo se ubican al exterior de la cadena polimérica de alginato, por lo que ambos mecanismos de adsorción son independientes y al contrario, la presencia de plomo como estabilizador de la conformación “egg-box” expone permanentemente a los grupos hidroxilo en la superficie del polímero para su interacción con 2-CP. Esto podría explicar el ligero incremento en el % adsorción de 2-CP a altas concentraciones de plomo de ~10% en ausencia de plomo a ~12% con 20 y 40 mg/L de Pb(II). Finalmente, cabe resaltar que el % adsorción de 2-CP es idéntico con concentraciones de 20 y 40 mg/L de Pb(II), por lo que se puede postular que 20mg/L de Pb(II) sería la condición mínima para la estabilización de la conformación “egg-box” que permite la máxima adsorción de 2-CP.

### Cálculo de la energía libre de Gibbs

De acuerdo a Sawalha et al.<sup>18</sup>, la constante de adsorción en el equilibrio ( $K_c$ ) para la biosorción de contaminantes se calcula de la pendiente de la gráfica  $q_e$  versus  $C_e$ , utilizando la siguiente ecuación:

$$K_c = q_e / C_e$$

Estudios previos de nuestro grupo de investigación<sup>15</sup>, demostraron los parámetros óptimos de equilibrio de adsorción de 2-CP con los mismos adsorbentes, pero quedó pendiente la determinación de la espontaneidad del proceso. Para ello, se usaron los mismos datos experimentales para obtener la constante  $K_c$ , como se muestra en la figura 5.



**Figura 5.** Adsorción de 2-CP en *Lessonia nigrescens* Bory (L13) y *Macrocyctis integrifolia* Bory (S12) usando el plot de  $q_e$  versus  $C_e$  para calcular el coeficiente de distribución. Datos extraídos de ref. 15.

Luego, el cambio de la energía libre de Gibbs  $\Delta G_0$  (kcal/mol) para la adsorción de 2-CP en ambas algas marinas se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\Delta G_0 = - R T \ln K_c$$

donde T es la temperatura en Kelvin y R es la constante universal de los gases (1,987 cal/mol.K). Los valores de  $K_c$  y  $\Delta G_0$  se muestran en la tabla 1.

De los resultados, se concluye que la adsorción no es espontánea con ninguno de los dos adsorbentes, lo cual corrobora la ausencia de interacciones electrostáticas entre 2-CP y las algas marinas sino, más bien, la existencia de interacciones poco polares en un medio adverso, que lo constituyen los grupos hidroxilos.

**Tabla 1.** Energía Libre de Gibbs para la adsorción de 2-CP en A1 y A1 a 25°C

Adsorbente	$K_c$	$R^2$	$\Delta G_0$ (Kcal/mol)
A1	0,016	0,97	+ 1,91
A2	0,039	0,90	+ 2,43

## CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio muestran que la adsorción de 2-clorofenol (2-CP) en las algas marinas *Lessonia nigrescens* Bory (A1) y *Macrocyctis integrifolia* Bory (A2) es un fenómeno netamente de superficie. La técnica instrumental de microscopía de barrido electrónico muestra una disminución en la porosidad del adsorbente luego de la adsorción de 2-CP debido a la deposición o agregación de 2-CP en la superficie del adsorbente. Esto fue corroborado mediante análisis EDX, el cual mostró un aumento en el contenido de oxígeno y carbono en la superficie del adsorbente luego de la adsorción de 2-CP. La presencia de plomo durante la

adsorción de 2-CP causo un ligero aumento en el porcentaje de adsorción. Este resultado se vincula con la no competencia de ambos adsorbatos por los mismos centros activos, y al contrario, muestran cierto sinergismo estabilizando la conformación “egg-box” de los polialginatos. Finalmente, se observó un positivo cambio en la energía libre de Gibbs para ambas algas marinas, sugirieron además de la no espontaneidad del proceso, la ausencia de interacciones electrostáticas y la existencia de interacciones poco polares en un ambiente rodeado de grupos hidroxilo.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores deseamos agradecer al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología del Perú (CONCYTEC), al Fondo Concursable de Apoyo a la Investigación en la UPCH y al Departamento de Química de la Universidad Peruana Cayetano Heredia por el financiamiento para la realización del presente trabajo. Asimismo, expresamos nuestra especial gratitud a María Sun Kou por su seguimiento y asesoramiento en esta investigación.

### REFERENCIAS

1. Mbui D, Shiundu P, Ndonge R, Kamau G.J. *Environ. Monit.*, 2002, 4, 978-984.
2. Farell J, Hunt S. *Environmental Toxicology: Organic Pollutants*, 1st edition, Ellis Horwood, England, 1998.
3. Taman H, Okazaki M. *Colloid Interface Sci.*, 1996, 179, 181-187.
4. Haghseresth F, Nouri S, Lu G. *Langmuir*, 2002, 18, 1574-1579.
5. Kilduff J, King C. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 1997, 36, 1603-1613.
6. Ramos N, García A, Molina. *Chem. Pap.*, 2005, 59, 161-165.
7. Li Y, You Y, Lien E. *Arch. Environm. Conam. Toxicol.*, 1999, 37, 427-430.
8. Cuizano N, Navarro A. *An. Quím.*, 2008, 104, 120-125.
9. Navarro A, Blanco D, Llanos B, Flores J, Maldonado H. *Rev. Soc. Quím. Perú*, 2004, 70, 147-157.
10. Ramos K, Llanos B, Maldonado H, Navarro A. *An. Quím.*, 2007, 103, 36-40.
11. Wang J, Chen C. *Biotechnol. Rev.*, 2006, 24, 427-451.
12. Rojas G, Silva J, Flores J, Rodríguez A, Ly M, Maldonado H. *Sep. Purific. Technol.*, 2005, 44, 31-36.
13. Miretzky P, Saralegui A, Cirelli A. *Chemosphere*, 2006, 62, 247-254.
14. Saeed A, Waheed-Akhter M, Iqbal MK. *Sep. Purif. Technol.*, 2005, 45, 2531.
15. Navarro A, Cuizano N, Portales R, Llanos B. *Sep. Sci. Technol.*, 2008, 43, 3183-3199.
16. Navarro A, Cuizano N, Lazo J, Sun-Kou M, Llanos B. *J. Hazard. Mater.*, 2008, en prensa.
17. Cuizano N, Llanos B, Chang L, Navarro A. *Rev. Soc. Quím. Perú*, 2007, 73, 85-93.
18. Sawalha M, Peralta-Videa J, Romero-Gonzalez J, Gardea-Torresday J. *Colloid Interface Sci.*, 2006, 300, 100-104.

## COMPOSITION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF THE ESSENTIAL OIL OF *Myrcia fallax* (Rich.) DC. FROM VENEZUELA

Libia D. Alarcón<sup>\*a</sup>, Alexis E. Peña<sup>a</sup>, Nélida Gonzales de C.<sup>b</sup>, América Quintero<sup>b</sup>,  
María Meza<sup>b</sup>, Alfredo Usubillaga<sup>c</sup> and Judith Velasco<sup>d</sup>

### ABSTRACT

Essential oils obtained from leaves and flowers of *Myrcia fallax* by hydrodistillation were analyzed by GC-MS and GC-FID. GC analysis revealed the presence of 30 compounds in the oil obtained from the leaves, 19 of these compounds were identified which represent 83.4%. The oil from the flowers contained 15 compounds 12 of which were identified. The main constituents of the leaves' oil were guaiol (31,0%) and carotol (9,9%), while in the flowers' oil the most abundant compounds were guaiol (27,5%) and aristolone (24,5%). Carotol was separated by flash chromatography and its structure confirmed by 1D and 2D NMR experiments. The antibacterial properties of essential oils were investigated against five reference strains. The essential oil from flowers was effective only against Gram positive bacteria, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, with MIC values of 50 and 400µg/mL, respectively.

**Key words:** *Myrcia fallax*; Myrtaceae; guaiol; aristolone; carotol; antibacterial activity.

## COMPOSICIÓN Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Myrcia fallax* (Rich.) DC. DE VENEZUELA

### RESUMEN

Los aceites esenciales obtenidos a partir de las hojas y flores de *Myrcia fallax* por hidrodestilación fueron analizados por cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas (CG-EM) y cromatografía de gases acoplada a un detector de ionización de llamas (CG-FID). El análisis por CG reveló la presencia de 30 componentes en el aceite esencial obtenido a partir de las hojas; 19 de estos compuestos fueron identificados, los cuales representan el 83,4%. El aceite de las flores contiene 15 compuestos, 12 de los cuales fueron identificados. El mayor de los constituyentes de las hojas fue guaiol (31,0%) y carotol (9,9%), mientras que en el aceite esencial de las flores los componentes más abundantes fueron guaiol (27,5%) y aristolone (24,5%). El carotol fue separado por cromatografía de flash y su estructura confirmada por experimentos RMN uni y bidimensional. Las propiedades antibacterianas del aceite esencial obtenido a partir de las flores fueron evaluadas contra cinco cepas de referencia. El aceite esencial de las flores fue efectivo sólo contra las bacterias Gram positivas, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, con valores de CMI de 50 y 400µg/mL, respectivamente.

**Palabras clave:** *Myrcia fallax*; myrtaceae, guaiol, aristolona; carotol; actividad antibacteriana.

<sup>a</sup> Programa de Ciencias del Agro y del Mar, Universidad Nacional Experimental de Los Llanos Occidentales Ezequiel Zamora, San Carlos, Venezuela. alarlibi@yahoo.es

<sup>b</sup> Laboratorio de Fitoquímica, Universidad Nacional Experimental del Táchira, San Cristóbal, Venezuela.

<sup>c</sup> Instituto de Investigación, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela.

<sup>d</sup> Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela.

## INTRODUCTION

There are more than 150 species of *Myrcia* distributed in tropical South America and Western India. *Myrcia fallax* (Rich.) DC., is a tree let widely distributed in the neotropics, ranging from Eastern Mexico to the Southeastern Brazilian coastal forests. In Táchira, Venezuela it grows near the rivers.<sup>1</sup>

Terpenes and sesquiterpenes have been found in the genus,<sup>2</sup> a patent covering the antitumor constituents of *M. fallax* has been issued<sup>3</sup> and leaves of some species of *Myrcia* have been used as antidiabetic, anti-inflammatory, disinfectant and antidiarrhoeal.<sup>4</sup>

A literature survey on *M. fallax* yielded only one publication on the comparative chemical composition of the essential oil from the leaves five Brazilian species.<sup>5</sup> As part of a series of studies on aromatic plants from Táchira State (Venezuela),<sup>6,7</sup> the chemical composition of the essential oil from leaves and flowers of *M. fallax* has been obtained.

## EXPERIMENTAL

### Plant Material and extraction

Fresh leaves and flowers were collected at Boca de Monte, Táchira State (Venezuela). Voucher specimens (PBM6) are deposited at the Herbarium of the Universidad Nacional Experimental del Táchira. The samples were hydrodistilled for 5 h using a Clevenger type apparatus.<sup>7</sup> Oil yields were determined using oil dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and related to fresh plant material.

### GC analysis

Analytical gas chromatography was carried out on a Perkin Elmer Auto System gas chromatograph. A 5% phenyl, 95% methylpolysiloxane capillary column (AT-5, Alltech Associates, Inc., Deerfield-Illinois, USA, 60m x 0,25mm x 0,25m film thickness) programmed from an initial temperature of 60°C (5 min) to 200°C at 4 °C/min. followed by a second ramp of 10°C/min up to a final temperature to 280°C, and a polyethyleneglycol (carbowax 20 M) capillary column of the same dimensions (AT-WAX, Alltech Associates, Inc., Deerfield-Illinois, USA) programmed from 60°C to 220°C at 4°C/min were used. Injector and FID temperatures were 250°C and a flow rate of 0,8mL/min of he was used. A 1,0 mL sample of a 25 % solute of the essential oil in diethylether was injected with split ratio, the retention indices<sup>8</sup> were determined relative to the retention times of a series of n-alkanes (C<sub>7</sub>–C<sub>22</sub>) with linear interpolation on both capillary columns. Quantitative data were obtained from FID area percentages without the use of correction factors.

### GC-MS analysis

The analysis was carried out on a Hewlett-Packard MSD 5973 mass spectrometry system using a 5% phenyl methylpolysiloxane column (HP-5MS, 30m x 0,25mm x 0,25m film thickness). The carrier gas was Helium at 0,9mL/min. The initial column temperature was 60°C and then it was raised at 4°C/min to 200°C. Finally the temperature was raised to 280°C at 10 °C/min. The ionization energy was 70 eV. A 1.0L sample of a solution of 20L of oil in 1,0mL of diethylether was injected with split ratio of 100:1; the temperature of the injection block was 250°C.

### Isolation of carotol

Carotol was isolated by flash column chromatography from the oil obtained from the leaves of *M. fallax*. Silica gel 60 (Scharlau, 0.04-0.06 mm) and the column was eluted with hexane and hexane containing 2%-30% diethylether. Fractions eluted with hexane-2% diethylether yielded 95% pure carotol. Other fractions yielded mixtures whose NMR spectra were not suitable for interpretation.

### Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy

Carotol spectra were measured at 303 K in CDCl<sub>3</sub> solution on a 400 MHz Bruker Avance spectrometer. <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, DEP, H,H-COSY, HMQC, and HMBC spectra were taken to assign <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C signals.

### Microbiological analysis

#### Bacterial strains

The microorganisms used were *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 23357 and *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).

#### Antimicrobial method

The antimicrobial activity was carried out according to the disc diffusion assay,<sup>9</sup> the strains were maintained in agar at room temperature. 2,5 mL of every bacteria inoculum were incubated in Mueller-Hinton agar at 37°C for 18 hours. The bacterial inoculum was adjusted with SSF to the Mac Farland N° 0,5 turbidness patron (10<sup>6-8</sup> ufc/mL). Every inoculum was spread over plates containing Mueller-Hinton agar and a paper filter disc (6 mm) saturated with 10 µL of essential oil. The plates were left for 30 min at room temperature and then incubated at 37 °C for 24 h.

The inhibitory zone around the disc was measured and expressed in mm. A positive control was also assayed to check the sensitivity of the tested organisms using the following antibiotics: Sulbactam-Ampicillin® (10µg/10 µg), Vancomycin® (30 µg), Netilmicin® (10 µg), Cefoperazone® (75 µg), and Aztreonam® (30 µg) (table 3).

The minimal inhibitory concentration (MIC) was determined only with microorganisms that displayed inhibitory zones. MIC was determined by dilution of the essential oil in dimethyl sulphoxide (DMSO) pipetting 10 µl of each dilution onto a filter paper disc. Dilutions of the oil within a concentration range of 10-420 µg/mL were also carried out. MIC was defined as the lowest concentration that inhibited the visible bacterial growth.<sup>10</sup>

A negative control was also included in the test using a filter paper disc saturated with DMS to check possible activity of this solvent against the bacteria assayed. The experiments were repeated at least twice.

## RESULTS AND DISCUSSION

*M. fallax* essential oils are greenish and have a pleasant persistent spicy odor. Fresh leaves and flowers yielded 0,25 and 0,30% (v/w) respectively. Table 1 gives the relative percentages of the components of *M. fallax* oils. Nineteen constituents were identified which represented 83,4% of oil from the leaves and 12 constituents (83.2%) from the flowers' oil.

**Table 1.** Percentage of the essential oil composition from leaves and flowers *Myrcia fallax*.

Compound	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	% in leaves	% in flowers	Identification
α- Pinene	931	1039	7,7	6,0	GC-MS, RI
β- Pinene	973	1122	6,9	4,9	GC-MS, RI
Myrcene	991	1156	0,2	-	GC-MS, RI
Limonene	1031	1206	2,5	1,0	GC-MS, RI
Ocimene<(E)-β->	1037	1250	1,2	-	GC-MS, RI
α- Terpinolene	1087	1287	0,5	-	GC-MS, RI
α- Terpineol	1189	1661	-	4,7	GC-MS, RI
Methyl salicylate	1192	1754	-	1,0	GC-MS, RI
Chrysanthenyl acetate	1238		1,4	-	GC-MS, RI

continue table 1 ...

... table 1. continue

$\alpha$ - Terpinyl acetate	1347	1687	0,9	-	GC-MS, RI
Caryophyllene<(E)- $\beta$ >	1419	1612	6,0	2,6	GC-MS, RI
$\alpha$ - Humulene	1455	1672	0,6	-	GC-MS, RI
Germacrene - D	1485	1712	1,5	1,5	GC-MS, RI
$\alpha$ - Selinene	1498	1719	0,4	-	GC-MS, RI
Liguloxide	1536		2,8	-	GC-MS
$\gamma$ - Cadinene	1539	1792	2,0	2,6	GC-MS, RI
Caryophyllene oxide	1585	1896	3,6	-	GC-MS, RI
Carotol	1595		9,9	-	GC-MS, RI
Guaiol	1601		31,0	27,5	GC-MS, RI
10-epi- $\gamma$ -eudesmol	1624	2121	-	4,1	GC-MS, RI
$\alpha$ -Cadinol	1654	2224	3,8	2,8	GC-MS, RI
Valerianol	1655	2231	0,5	-	GC-MS, RI
Aristolone	1763		-	24,5	GC-MS, RI

<sup>a</sup> RI= Retention index on AT-5 column

<sup>b</sup> RI= Retention index on Carbowax 20M column.<sup>7</sup>

The oil from the leaves contained 19,0% of monoterpene hydrocarbons and 11% of sesquiterpene hydrocarbons. The main oxygen containing component was guaiol (31%), followed by carotol (9,9%).

The oil from the flowers contained only 11,9% of monoterpene hydrocarbons and 6,7% of sesquiterpene hydrocarbons. This oil is dominated by guaiol (27,5%) and aristolone (24,5%). It is noteworthy to notice that aristolone was absent from the leaves' essential oil.

The mass spectrum of carotol showed the molecular ion at  $m/z$  222,  $[M-H_2O]^+$  204 (21), 179 (49), 161 (100), 138 (19), 123 (35), 105 (28), 81 (24), 65 (14), 43 (19). The identity of carotol was confirmed by NMR analysis performed on 95% pure carotol isolated from the oil by flash chromatography. Table 2 present <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR chemical shifts of carotol (figure 1). These values agree with those reported in the literature.<sup>11</sup>

**Table 2.** <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR chemical shifts of carotol isolated from leave's *Myrcia fallax* essential oil.

	<sup>13</sup> C (ppm) CDCl <sub>3</sub>	<sup>1</sup> H ( $\delta$ ) CDCl <sub>3</sub>
C-1	39,4	1,54 and 1,29
C-2	24,4	1,30 and 1,32
C-3	52,4	1,71
C-3a	84,6	--
C-4	34,4	1,62 and 1,95
C-5	29,4	1,27 and 2,06
C-6	138,6	--
C-7	122,1	5,31 vinyl proton
C-8	38,6	2,24
C-8a	49,0	--
C-9	27,6	1,79
C-10	21,4	0,93
C-11	21,4	0,94
C-12	25,2	1,71
C-13	24,0	1,00

Carotol, guaiol and aristolone have not been reported for the oil of other *Myrcia* species<sup>2,5</sup> but they have been reported in Umbelliferaceae, Asteraceae, Rosaceae and Valeranaceae.<sup>11,12</sup>

In comparison to results previously reported for the oil of *Myrcia fallax* of Brazilian origin,<sup>5</sup> the composition of the essential oil from leaves of *M. fallax* grown in Venezuela differs considerably. The main differences are related to sesquiterpene hydrocarbons (11,0% Venezuela and 7,2% Brazil) and oxygenated sesquiterpenes (48,3% Venezuela and 86,5% Brazil). The oil of other *Myrcia* species have been reported for instance, the oil of *M. bracteata* has by a high content of (E)-nerolidol, while the oil of *M. cuprea* was dominated by myrcene and the major constituent in the oil of *M. sylvatica* was reported to be selin-11-en-4- $\alpha$ -ol.

Antibacterial activity of the essential oil was evaluated against Gram positive and Gram negative bacteria. These microorganisms are both morphologically and physiologically different, thus the results obtained are representative of the antibacterial activity of the oil. The results showed that this essential oil is active only against Gram positive bacteria, displaying MIC values for *Staphylococcus aureus* (50 $\mu$ g/mL) and *Enterococcus faecalis* (400 $\mu$ g/mL). The results of this experiment are shown in table 3.

**Table 3:** Antimicrobial activity of essential oil from flower *Myrcia fallax*.

MICROORGANISM	Inhibition zone*					MIC $\mu$ g/mL
	Positive control					
	SAM (10/10 $\mu$ g)	VA (30 $\mu$ g)	NET (30 $\mu$ g)	AZT (30 $\mu$ g)	CEF (75 $\mu$ g)	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	10*	45*	-	-	-	50
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	9*	-	27*	-	-	400
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 23357	NA	-	-	30*	-	NA
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	NA	-	-	-	46*	NA
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853	NA	-	-	-	-	34*

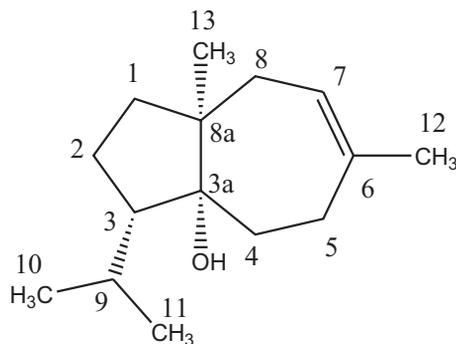
SAM: Ampicillin- sulbactam, VA: Vancomycin, NET: Netilmicin, AZT: Aztreonam, CEF: Cefoperazone.

\*Inhibition zone, diameter measured in mm, disc diameter 6 mm; average of two consecutive assays. MIC: Minimal inhibitory concentration, concentration range 10-420  $\mu$ g/mL. NA: Not active.

The microorganisms, *S. aureus* and *E. faecalis*, are considered being responsible for causing several human infections and are known to be resistant to some kind of antibacterial treatment using commercial patented antibiotics.<sup>13,14</sup>

The activity of the oils would be expected to relate to the respective composition of the plant volatile oils. A non-correlation of the antimicrobial activity of the compounds tested and their relative percentage composition in the plant volatile oil used in this study suggests a number of observations. The absence of components with phenolic structures in *M. fallax* oils, such as eugenol and thymol, that are highly active against the most microorganisms and non activity of the monoterpene cyclic hydrocarbon, may suggest that the antimicrobial activity observed

maybe related to sesquiterpene oxygen contributing compounds.<sup>15</sup> This is the first time the antibacterial activity of the essential oil from leaves and flowers of *M. fallax* has been reported.



**Figure 1.** carotol

#### ACKNOWLEDGEMENTS

The authors gratefully acknowledge the financial support of Decanato de Investigación, Universidad Nacional Experimental del Táchira (San Cristóbal, State Tachira, Venezuela) and Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes (Mérida, State Mérida, Venezuela) and Programa de Ciencias del Agro y del Mar, Universidad Nacional Experimental de Los Llanos Occidentales Ezequiel Zamora UNELLEZ (San Carlos, State Cojedes, Venezuela).

#### REFERENCES

1. Pittier H. Manual de las Plantas de Venezuela y Suplemento. Barcelona: Fundación Eugenio Mendoza, Talleres Gráficos S.A., 1971. p.378.
2. Zoghbi MG, Andrade EH, Silva MH, Carreira LM, Maia JG. *Flavour Fragr. J.* 2003;18:421.
3. Hecht SM. US Pat. 4451459. 1984.
4. De Mello Cruz A, Coelho M. *Floresta e Ambiente*, 2004; 11:47.
5. Henriques AT, Sobral M, Bridi R. *J. Essent. Oil Res.* 1997; 9:13.
6. González de CN, Ojeda de RG, Prieto A, Crescente O, Cabrera L. *Ciencia*, 1998; 6:123.
7. González de CN, Sánchez F, Quintero A, Usubillaga A. *Acta Horticulturae*, 2002; 576:49.
8. Adams RP. Identification of Essential Oils by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured: Carol Stream, IL, 2001.
9. Rondon, M., Velasco, J., Morales, A., Rojas, J., Carmona, J., Gualtieri, M., and Hernandez, V. (2005). Composition and antibacterial activity of the essential oil of *Salvia leucantha* Cav. cultivated in Venezuela Andes. *Rev. Lat. Quim* 33, 55-59.
10. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Sixteenth informational supplement. CLSI document M100-S17 [ISBN 1-56238-625-5]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2007.
11. Ghisalberti EL. *Phytochemistry*, 1994; 37:597.
12. Kong C, Wang P, Xu X. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 2007; 119:416.

13. Hurtado M, De La Parte M, Brito A, Tapia I, Carmona C, GVRB. Resistencia de *Staphylococcus aureus* a los antimicrobianos en Venezuela 1988-1998. AVFT 2004, 23 (2): 159-165. AVFT: Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica
14. Guzmán, M., and Lozada, R. (2007). Detección de *Staphylococcus aureus* meticilino-resistentes de pacientes con infecciones nosocomiales y adquiridas en la comunidad. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.*, 27: 45-49.
15. Sotanaphun U, Lipipun V, Suttisri R, Bavovada R. *Planta Med*, 1999; 65:257.

## PROPIEDADES ANTIOXIDANTES DE LA GUAYABA (*Psidium guajava* L.)

Miriam Palomino Pacheco<sup>1</sup>, Emilio Guija Poma<sup>1</sup>, Nancy Lozano Reyes<sup>2\*</sup>

### RESUMEN

Se ha evaluado las propiedades antioxidantes de la variedad amarilla de la guayaba (*Psidium guajava* L.) utilizando un sistema generador de radicales hidroxilo constituido por ascorbato/Cu-II; asimismo, se ha estudiado el efecto que ejercería la presencia en el mencionado sistema de antioxidantes como: EDTA, tioúrea y manitol. La guayaba amarilla en presencia de ascorbato/Cu-II disminuye en forma discreta la generación de radicales hidroxilo, efecto que decrece cuando se adiciona a los medios de ensayo tioúrea, manitol o EDTA. El efecto inhibitorio que ejerce la guayaba sobre los radicales hidroxilo generados por el sistema ascorbato/Cu-II, depende de la concentración de la guayaba.

**Palabras clave:** Radicales libres, radical hidroxilo, antioxidantes, guayaba.

## ANTIOXIDANTS PROPERTIES OF GUAVA (*Psidium guajava* L.)

### ABSTRACT

The antioxidant properties of the yellow guava variety (*Psidium guajava* L.) have been evaluated using a system that generates hydroxyl radicals constituted by ascorbate/Cu-II. The effect that the presence of antioxidants such as EDTA, thiourea, manitol would have in the mentioned system, have also been studied. The yellow guava in presence of ascorbate/Cu-II decreases in a discrete way the production of hydroxyl radicals, effect that diminish when thiourea, manitol or EDTA is added to the system. The inhibitory effect that the guava has over the generated hydroxyl radicals by the ascorbate/Cu-II system, depends on the guava concentration.

**Key words:** Free radicals, hydroxyl radicals, antioxidants, guava.

### INTRODUCCIÓN

Los radicales libres o más propiamente “especies reactivas de oxígeno” (ROS), son átomos o moléculas que tienen uno o más electrones desapareados en su orbital más externo; este paramagnetismo les confiere una alta reactividad química y la capacidad de sustraer electrones de otras moléculas tornando a éstas en radicales libres, generando así una reacción en cadena. Estos compuestos se generan durante el metabolismo normal en el ser humano, especialmente en la cadena respiratoria, y comprende al anión superóxido y al radical hidroxilo, entre otros<sup>1,2</sup>.

Los ROS tienen la propiedad de producir daño oxidativo a los lípidos, proteínas y ADN, y han sido implicados en la patogenicidad de diversas enfermedades como: cataratas, diabetes mellitus, cáncer, artritis reumatoide, infarto al miocardio, etc. Diversos estudios epidemiológicos han mostrado la existencia de una correlación inversa entre la ingesta de

<sup>1</sup> Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición - Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

<sup>2\*</sup> Facultad de Farmacia y Bioquímica - Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

frutas y verduras y cáncer gastrointestinal, enfermedades cardiovasculares, inflamatorias, asma, cáncer de pulmón, Parkinson, Alzheimer; enfermedades asociadas al efecto de los radicales libres que se generan en nuestro organismo a través de reacciones metabólicas, factores ambientales, contaminación, radiaciones ionizantes, drogas, alcohol, etc.<sup>3,4</sup>.

El ser humano dispone de un sistema antioxidante constituido por enzimas como: catalasa, peroxidasa, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y un sistema antioxidante no enzimático que actúan impidiendo la acción nociva de los ROS como: ácido úrico, vitamina C, vitamina A, glutatión, vitamina E, etc. Estos sistemas no son lo suficientemente eficientes para evitar el efecto dañino que ejercen los ROS, por cuyo motivo, es necesario ingerir alimentos que contengan sustancias con efectos antioxidantes<sup>5</sup>.

Las frutas constituyen una excelente fuente de compuestos antioxidantes, como: ácido ascórbico, carotenoides, tocoferoles, flavonoides y polifenoles<sup>6,7</sup>; tal sucede con la guayaba, una fruta que es muy consumida por pobladores del sur del país, la que posee una elevada concentración de vitaminas A y C, polifenoles y otros componentes que podrían ejercer un eficiente efecto antioxidante. En el presente trabajo se evalúan las propiedades antioxidantes de la variedad amarilla de la guayaba (*Psidium guajava* L.) utilizando el sistema generador de radicales hidroxilo ascorbato/Cu-II; asimismo, se ha estudiado el efecto que ejercería en los mencionados sistemas la presencia de antioxidantes como: EDTA, tiourea y manitol.

## PARTE EXPERIMENTAL

### *Materiales y métodos*

#### **Materiales**

El ácido ascórbico, manitol, tiourea, etilendiamino tetraacético (EDTA), fosfato de potasio y ácido tricloroacético se adquirieron de la Merck Darmstad; la desoxirribosa y el ácido tiobarbitúrico se compraron a la Sigma Chemical Company.

#### **Mestra biológica**

El material biológico utilizado fue el fruto de *Psidium guajava* L. ecotipo amarilla colectada en el departamento de Moquegua, y trasladado al Laboratorio de Bioquímica Clínica y Nutricional del Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina (UNMSM), donde se almacenó en una congeladora a una temperatura de -8° C, y de donde se obtuvieron las muestras al azar para realizar los diferentes experimentos, las cuales se descongelaron y fueron homogenizadas con agua bidestilada en una proporción de 1:4; el homogenizado obtenido se centrifugó a 1 500 rpm durante 30 minutos, a cuyo término se separó el sobrenadante, el que se utilizó para los diferentes experimentos.

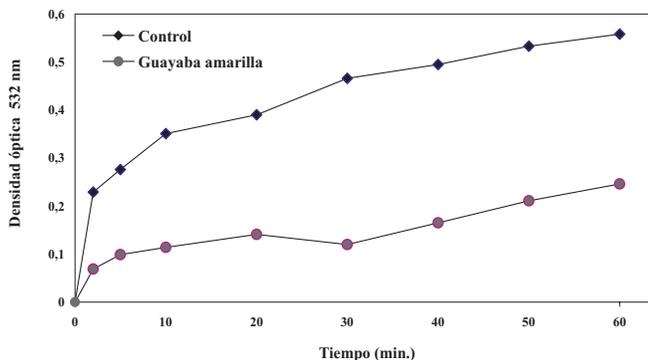
#### **Degradación de la desoxirribosa**

Para evaluar el efecto antioxidante de la guayaba se utilizó la técnica de degradación de la desoxirribosa, que al reaccionar con el radical hidroxilo se transforma en malondialdehído, compuesto que reacciona con el ácido tiobarbitúrico. El medio de reacción estuvo constituido por tampón fosfato 50 mM pH 7,4, sulfato de cobre 0,05 mM, ascorbato 2 mM, desoxirribosa 2,8 mM y 0,025 g, de guayaba. Se incubó en baño maría a 37° C durante 20 minutos a cuyo término se le adicionó ácido tricloroacético al 10% y ácido tiobarbitúrico al 1%. Finalmente se sometió a ebullición durante 15 minutos, se enfriaron y se leyeron a 532 nm en un espectrofotómetro Pye Unicam; paralelamente se prepararon los blancos correspondientes. Todos los reactivos se prepararon el mismo día en que se realizaron los experimentos utilizando agua bidestilada<sup>8</sup>.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las frutas y verduras son alimentos ricos en una gran diversidad de compuestos fenólicos, como los flavonoides, cuya ingesta en los países occidentales está comprendida entre 20 mg. y 1,0 g. Estas sustancias exhiben propiedades antioxidantes y prooxidantes, habiéndose descrito que poseen diversos efectos biológicos, como: antialérgicas, antiinflamatorias, hepatoprotectoras, anticancerígenas, entre otras. Estudios de índole experimental muestran que el consumo de frutas y verduras está relacionado a una menor incidencia de enfermedades crónicas no transmisibles y envejecimiento. La vitamina C es uno de los compuestos que está presente en muchos frutos, especialmente en la guayaba, fruta que tiene una elevada concentración de esta vitamina. El ascorbato pone en evidencia su efecto antioxidante al actuar como economizante de la vitamina E a nivel celular, pero en presencia de metales de transición genera radicales hidroxilo<sup>9</sup>.

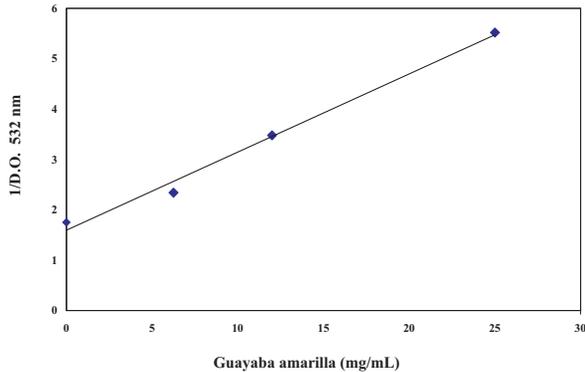
Son diversos los métodos utilizados para medir la capacidad antioxidante de una muestra biológica; en el presente trabajo se ha utilizado el sistema generador de radicales libres constituido por ascorbato/Cu-II, que a pH 7,4 forma radicales hidroxilo. Con el propósito de observar la capacidad antioxidante de la guayaba amarilla se ha utilizado el sistema antes citado, habiéndose realizado su detección con la desoxirribosa que en presencia de ácido tricloroacético y ácido tiobarbitúrico forma un compuesto que absorbe a 532 nm. En la figura 1 se puede apreciar que la generación de estas especies reactivas al ácido tiobarbitúrico en función del tiempo, disminuye en presencia de la fruta motivo del presente estudio; la diferencia de las densidades ópticas entre el control y el medio en que está presente la guayaba amarilla constituye el efecto antioxidante que ejerce la guayaba frente al sistema generador de radicales hidroxilo.



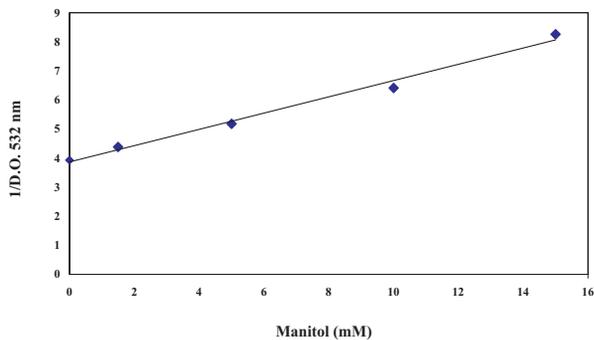
**Figura 1.** Generación de radicales hidroxilo en función del tiempo, por el sistema ascorbato/Cu-II en presencia de guayaba amarilla.

Con la finalidad de observar la naturaleza del efecto antes mencionado, se puede apreciar en la figura 2 que la disminución de la generación de ROS es dependiente de la concentración de la guayaba amarilla, la que fue utilizada en un rango de concentración comprendida entre 6,25 y 25 mg/mL. Cuando se adiciona manitol al sistema antes descrito, se puede percibir que al incrementar su concentración de 1,5 a 15 mM produce una apreciable inhibición de la generación de ROS; este efecto se observa en el gráfico de recíproca simple que se muestra en

la figura 3. El manitol es un conocido compuesto que tiene la propiedad de captar radicales hidroxilo, de tal manera, que su presencia en el medio de ensayo confirma la formación de ROS.

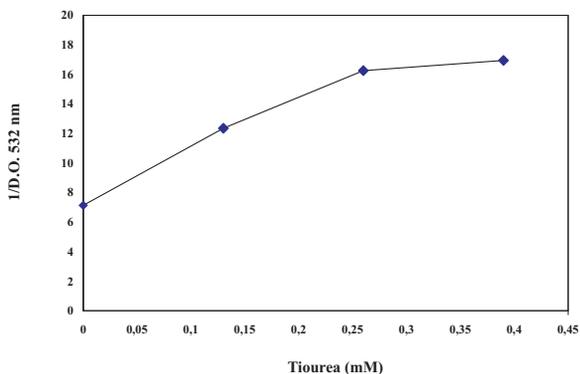


**Figura 2:** Efecto de la guayaba amarilla sobre la formación de radicales hidroxilo generados por el sistema ascorbato/Cu-II



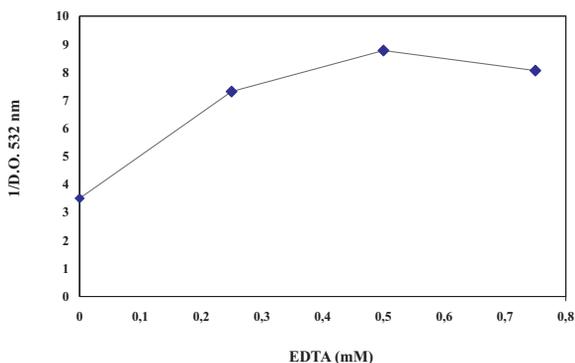
**Figura 3:** Efecto del manitol sobre la formación de radicales hidroxilo generados por el sistema ascorbato/Cu-II, en presencia de guayaba amarilla

La tiourea es un compuesto sintético de manifiesta propiedad antioxidante; cuando se utiliza en un medio constituido por ascorbato/Cu-II y guayaba amarilla en concentraciones comprendidas entre 0,13 y 0,39 mM, ocasiona una notable disminución de la generación de radicales libres. En la figura 4 se observa que cuando la concentración de tiourea es de 0,13 mM se produce una considerable inhibición y a partir de esta concentración se aprecia una inflexión de la recta en el sentido de una disminución del efecto inhibitorio, efecto que se torna evidente cuando las concentraciones de tiourea corresponden a 0,26 y 0,39 mM.



**Figura 4:** Efecto de la tiourea sobre la formación de radicales hidroxilo generados por el sistema ascorbato/Cu-II, en presencia de guayaba amarilla.

La presencia de la guayaba amarilla inhibió la descomposición de la desoxirribosa por acción de radicales libres generados por el sistema ascorbato/Cu-II, hecho que evidencia la presencia de compuestos con capacidad antioxidante en la guayaba. La inhibición ejercida por el manitol al sistema anterior corrobora el hecho de que se están generando radicales libres; asimismo, la presencia de tiourea en el medio antes citado produce un efecto similar, apreciándose además, que cuando la concentración de tiourea es mayor a 0,13 mM muestra un comportamiento que podría interpretarse admitiendo que está reaccionando con alguno de los componentes del sistema, además de ejercer su acción antioxidante. Se ha observado que el manitol, la tiourea y el EDTA inhibieron la ruptura del puente disulfuro del 5,5'-ditio-bis (2-nitrobenzoato) por acción de radicales libres<sup>10</sup>.



**Figura 5:** Efecto del EDTA sobre la formación de radicales hidroxilo generados por el sistema ascorbato/Cu-II, en presencia de guayaba amarilla

La utilización de concentraciones de EDTA entre 0,25 y 0,75 mM en un medio que contiene ascorbato/Cu-II y guayaba amarilla, produce una notable inhibición, como se puede evidenciar en la figura 5, correspondiendo la relación EDTA/Cu-II igual a 5,0; pero cuando

se incrementa la concentración de EDTA el efecto inhibitorio disminuye, fenómeno que se torna más evidente cuando se usa una concentración 0,75 mM de EDTA, es decir, cuando la relación EDTA/Cu-II es de 15. El efecto que ejerce la presencia de EDTA en un medio de reacción integrado por ascorbato/Cu-II en presencia de guayaba, podría explicarse por la propiedad complejante que tiene el EDTA sobre el Cu-II, disminuyendo de esta manera la disponibilidad de Cu-II libre para reaccionar con el ascorbato. Se ha descrito que el EDTA impidió la inactivación de la enzima acetilcolina esterasa por acción del ascorbato en presencia de cobre; este efecto lo ejerció fundamentalmente por su acción quelante<sup>11</sup>.

Diversos compuestos tales como miricetina, quercetina y gopisol son poderosos inhibidores de la lipoperoxidación inducida por hierro en microsomas de hígado de rata. Sin embargo, incrementan considerablemente la generación de radicales hidroxilo a partir de  $H_2O_2$  /Fe-III/EDTA, cuando se utiliza una concentración 100  $\mu$ M; en este mismo sistema los compuestos fenólicos antes citados, aumentaron ocho veces la formación de radicales hidroxilo. La miricetina y quercetina a la concentración de 75  $\mu$ M aceleraron el daño al ADN dependiente de bleomicina en presencia de Fe-III, probablemente por reducción del complejo bleomicina/Fe-III/ADN a la forma Fe-II<sup>12,13</sup>.

La quercetina es un compuesto antioxidante de naturaleza fenólica que se encuentra ampliamente distribuida en frutas y verduras, como cebollas, brócoli y manzanas; esta sustancia tiene una eficiente acción protectora frente al daño oxidativo que ejerce el etanol en el hígado de ratones, en el que ha podido observarse que tiene la propiedad de reducir los procesos de peroxidación lipídica y prevenir o contrarrestar la disminución del glutatión y de las actividades de enzimas antioxidantes como superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa y glutatión reductasa<sup>14</sup>.

También se ha descrito que la quercetina, miricetina y rutina inhiben la formación de aniones superóxido, generados por el sistema xantina/xantina oxidasa, mientras que la quercitina, cianidol no muestran efecto alguno. La lipoperoxidación de microsomas de hígado por aniones superóxido, generados por el sistema fenazina metosulfato/ azul de tetrazolio/NADH fueron inhibidos en grado diverso por los flavonoides antes mencionados, mientras que la clorpromazina y el hidroxianisol butilado no ejercieron efecto alguno<sup>15</sup>.

Se ha evidenciado que diversas fracciones obtenidas de la *Cuphea carthagenensis* tienen la propiedad de captar radicales hidroxilo generados por el sistema  $H_2O_2$  /Fe-II; asimismo, se ha observado que este efecto antioxidante se torna extensivo para los aniones superóxido, generados por fenazina metosulfato/azul de tetrazolio/NADH y por el sistema xantina/xantina oxidasa<sup>16</sup>.

El efecto antioxidante del perejil (*Petroselinum sativum*) ha sido puesto en evidencia utilizando sistemas generadores de radicales hidroxilo, como el ascorbato/Cu-II y ascorbato/Fe-III, habiéndose descrito que actúa con mayor eficiencia sobre el primero de ellos. Análogamente, la producción de radicales hidroxilo por el sistema  $H_2O_2$ /Fe-II fue inhibida por el perejil con una eficiencia similar al mostrado frente al sistema ascorbato/Cu-II<sup>17</sup>.

La Asociación Americana del Corazón (American Heart Association) teniendo en consideración los estudios epidemiológicos que asocian la alta ingesta de alimentos ricos en antioxidantes con una disminuida mortalidad por enfermedades como: cáncer, catarata, aterosclerosis, entre otras<sup>18</sup>, recomienda el consumo de una dieta balanceada que incorpore principalmente frutas y verduras ricas en antioxidantes. En tal sentido, es necesario tener la precaución de no ingerir frutas o verduras con elevado contenido de vitamina C y metales de transición como hierro o cobre, ya que esta asociación conforme se ha mostrado, genera radicales libres que podrían afectar los tejidos con los que se pongan en contacto.

### CONCLUSIONES

- La variedad amarilla de *Psidium guajava* L. disminuyó la formación de radicales hidroxilo generados por el sistema ascorbato/Cu II, efecto que es dependiente de la concentración de la fruta.
- El manitol, la tiourea, y el EDTA inhibieron la generación de radicales hidroxilo formados por el sistema ascorbato/Cu-II/*Psidium guajava* L. variedad amarilla, en grado diverso.

### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la colaboración recibida por el Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, en cuyos laboratorios se realizó el presente trabajo.

### REFERENCIAS

1. Cascales M. Estrés oxidativo. Envejecimiento y enfermedad. 1999. Instituto de España. Madrid.
2. Kehrer JP, Smith C. Free radicals in biology: sources, reactivities and roles in the ethiology of human diseases. En "Natural antioxidants in human health and diseases" (Frei B ed.), 1994, p. 25-62. Academic Press, New York.
3. Montero M, Los radicales libres y las defensas antioxidantes. *Anal. Fac. Med. Lima*. 1996;57(4):278-281
4. Guija E, Troncoso L. Radicales Libres y Envejecimiento. *Bol. Soc. Quím. Perú*. 2000; LXVI:33-50.
5. Cheeseman, K.H.Y. y Slater, T.F. (1993) Free radicals in medicine. Churchill Livingstone. London.
6. Guo, C.J. y Yang, J.J. Progress in the study of antioxidant capacity of fruits and vegetables. *China Public Health*. 2001;17:87-88.
7. Dragland, S., Senoo, K., Wake, K., Holte, K. y Blomhoff, R. Several culinary and medicinal herbs are important sources of dietary antioxidants. *J. Nutr*. 2003;133:1286-1290.
8. Gutteridge J. Ferrous salt promoted damage to deoxyribose and benzoate. *Biochem J*. 1987;243:709-711.
9. Lotito, S.B. y Frei, B. Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: Cause, consequence or epiphenomenon? *Free Radic. Biol. Med*. 2006;41:1727-1746.
10. Inoue H, Hirobe M. Disulfide cleavage and insulin denaturation by active oxygen in the copper(II)/ascorbic acid system. *Chem. Pharm. Bull*. 1986;34(3):1075-1079.
11. Shinar E, Navok T, Chevion M. The analogous mechanisms of enzymatic inactivation induced by ascorbate and superoxide in the presence of copper. *J. Biol. Chem*. 1983;258(24):14778-14783.
12. Yamamoto N. Inhibitory effect of quercetin metabolites and derivatives on copper ion-induced Lipid Oxidation in human low-density lipoprotein. *Arch. Biochem Biophys* 1999;372(2):347-354.
13. Laughton M, Halliwell B, Evans P, Robin J, Hoult S. Antioxidant and pro-oxidant actions of the plant phenolics quercetin, gossypol and myricetin. Effects on lipid peroxidation, hydroxyl radical generation and bleomycin-dependent damage to DNA. *Biochem. Pharm*. 1989;38(17):2859-2865.
14. Heredia M, Fernández B, Benedi J, Villar A. Efecto antioxidante de la quercetina en la hepatotoxicidad etanólica. *Anal. Real Acad. Farm*. 1999;65:559-572.
- 15.- Robak J. Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochem Pharm* 1988; 37(5):837-841.
16. Schuldt EZ. Investigacoes de atividade farmacológica de *Cuphea carthagenensis* Jacq Mcbride (sete sangrias) – Determinacao da capacidade antioxidante. Anais da Jornada Catarinense de Plantas Mediciniais – 2001. Santa Catarina-Brasil.
17. Troncoso L, Guija E. Propiedades antioxidantes del perejil (*Petroselinum sativum*) *Bol. Soc. Quím. Perú*. 2005;71(2):99-106.
- 18.- American Heart Association. Heart Disease and Stroke Statistical Update 2003. American Heart Association, Dallas, TX.

## PATRONES ELECTROFORÉTICOS DE LOS VENENOS DE SERPIENTES PERUANAS DE LOS GÉNEROS *BOTHROPS* Y *LACHESIS*

Mendoza, J.<sup>1\*</sup>; Vivas, D.<sup>1</sup>; Inga, R.<sup>1</sup>; Arbaiza, E.<sup>2</sup>; Rodríguez, E.<sup>1</sup> y Yarlequé, A.<sup>1</sup>

### RESUMEN

Los venenos de serpientes son mezclas biológicas en las que predominan las proteínas, por lo que es posible establecer las características cualitativas de tales ponzoñas en base al análisis electroforético de dichas macromoléculas.

Usando la técnica de electroforesis en geles de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio (PAGE-SDS) se analizaron los perfiles electroforéticos de cinco especies de serpientes peruanas: *Bothrops atrox*, *Bothrops barnetti*, *Bothrops brazili*, *Bothrops pictus* y *Lachesis muta*. Previamente se realizó la cuantificación de proteínas por el método de Lowry y *col.* Las muestras de cada veneno diluidas en buffer Tris-HCl 0,05M pH 7,5 fueron evaluadas en condiciones no reductoras y reductoras utilizando geles al 12%.

Los venenos de cada especie tuvieron una concentración proteica típica: *B. atrox*, 78%; *B. pictus*, 69%; *B. barnetti*, 74%; *B. brazili*, 83% y *L. muta* 85%.

Por otro lado, el número de bandas y el rango de peso molecular bajo condiciones **no reductoras** fueron: *B. atrox*, 8 (55,21 a 11,87 kDa); *B. pictus*, 13 (87,04 a 14,08 kDa); *B. barnetti*, 14 (80,68 a 11,88 kDa); *B. brazili*, 7 (37,06 a 11,88 kDa) y *L. muta*, 10 (82,2 a 16,9 kDa), y en condiciones **reductoras** fueron: *B. atrox*, 9 (72,19 a 14,16 kDa); *B. pictus*, 10 (69,85 a 14,63 kDa); *B. barnetti*, 9 (31,01 a 14,63 kDa); *B. brazili*, 9 (59,26 a 14,16 kDa) y *L. muta*, 9 (83,03 a 14,16 kDa).

De acuerdo con ello, los perfiles electroforéticos encontrados de cada veneno son característicos y típicos para las especies en estudio.

**Palabras clave:** Venenos, serpiente, proteína, electroforesis, poliacrilamida.

## ELECTROPHORETICS PATTERNS OF SNAKE PERUVIANS VENOMS FROM *BOTHROPS* AND *LACHESIS* GENERA

### ABSTRACT

Snake venoms are biological mixture when proteins are the principal component. In this way, is possible to establish the qualitative characteristics of these venoms by electrophoretics analysis.

Using sodium dodecylsulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), electrophoretics patterns from five venoms of peruvians snake, were determinate: *Bothrops atrox*, *Bothrops barnetti*, *Bothrops brazili*, *Bothrops pictus* and *Lachesis muta*. Previously, protein concentrations into whole venoms were measured by Lowry et al. method. Samples of each venom were dissolved in 0,05 M Tris-HCl buffer pH 7,4 in order to evaluated

<sup>1</sup> Laboratorio de Biología Molecular – Facultad de Ciencias Biológicas  
Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

<sup>2</sup> Laboratorio de Biología Celular – Facultad de Ciencias Biológicas  
Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

\* Correspondencia: mendozafernandezjc@hotmail.com

electrophoretical migrations under non reducing and reducing conditions using 12% of acrylamide gels.

Each venoms showed a typical protein concentration values: *B. atrox*, 78%, *B. pictus* 69%, *B. barnetti* 74%, *B. brazili* 83% and *L. muta* 85%. On the other hand, band numbers and weight molecular range under non reducing condition were: *B. atrox*, 8 (51-14kDa); *B. pictus*, 13 (79,5-12,7 kDa); *B. barnetti*, 14 (91,1-14,8 kDa); *B. brazili*, 7 (56,5-18,3 kDa) and *L. muta* 10 (82,2-16,9 kDa). While, under reducing condition the values were: *B. atrox*, 9 (72,19 -14,16 kDa); *B.*, 10 (69,85 -14,63 kDa); *B. barnetti*, 9 (31,01-14,63 kDa); *B. brazili*, 9 (59,26-14,16 kDa) and *L. muta*, 9 (83,03-14,16 kDa).

Therefore, electrophoreticals profiles found to each venoms were characteristics and typical from each species.

**Key words:** Venoms, snake, protein, electrophoresis, poliacylamide.

## INTRODUCCIÓN

Los venenos de las serpientes son las secreciones más ricas en enzimas y toxinas presentes en la naturaleza, y están compuestos por una mixtura de moléculas tanto orgánicas como inorgánicas<sup>1</sup>. En el caso de las serpientes vipéridas, las proteínas son las moléculas más estudiadas no sólo por su gran abundancia en el veneno sino también por su alta diversidad en acciones biológicas en el rol que cumplen en un envenenamiento.

Hasta la fecha se reconoce sólo al antiveneno ofídico como el único tratamiento válido clínica y científicamente comprobado contra las mordeduras de serpientes, haciendo que su producción sea llevado a cabo bajo los más rigurosos estándares de calidad<sup>2</sup>. Debido a esto, los análisis cuantitativos y electroforéticos del contenido proteico a la par de los estudios de actividades enzimáticas *in vitro* y actividades biológicas *in vivo*, son fundamentales para aquellos venenos que son considerados en la elaboración de sueros antiofídicos o antivenenos ofídicos.

La gran variación intra e interespecífica en la composición química y en las actividades farmacológicas de los venenos debido a múltiples factores, tales como: ubicación geográfica, el tipo de alimentación y el estado fisiológico del reptil<sup>3,4,5,6</sup>, hace necesario establecer patrones para cada una de las especies venenosas presentes en el Perú, principalmente de aquellas causantes de ofidismo.

Numerosos autores han analizado los patrones electroforéticos de venenos de serpiente como un paso previo y preciso para la caracterización del tales ponzoñas<sup>7-13</sup>.

En el presente trabajo describimos los patrones electroforéticos de cinco serpientes peruanas para las cuales se producen antivenenos, con el fin que sean usados como una referencia en la evaluación de su pureza e identidad, ya sea para optimizar la producción de sueros o para identificar nuevos componentes bioactivos.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Material biológico.

Los venenos de serpientes usados en el presente estudio proceden del stock de venenos del laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNMSM, obtenidas de especímenes capturados en diferentes regiones geográficas y mantenidos en cautiverio en el serpentario Oswaldo Meneses de esta Universidad. Los especímenes corresponden a: *Bothrops atrox* “jergón” (Ucayali, 15 especímenes), *Bothrops pictus* “jergón de costa” (Pachacamac-Lima, 5 especímenes), *Bothrops barnetti* “sancarranca” (Santa Cruz-Cajamarca, 5 especímenes), *Bothrops brazili* “jergón shushupe” (Madre de Dios, 5 especímenes) y *Lachesis muta* “shushupe” (Junín, 7 especímenes).

Para el estudio, los venenos liofilizados fueron resuspendidos en solución amortiguadora Tris-

HCl 0,05M pH 7,5; centrifugados a 3000rpm durante 15 minutos para eliminar restos insolubles. La concentración de dichos venenos fue ajustada a 30mg/ml.

#### Cantidad de proteína

La concentración proteica en el veneno fue estimada por el método de absorción ultravioleta a 280 nm<sup>14</sup> y por el método de Lowry y col. 1951<sup>15</sup>, usando como estándar de proteína, albúmina sérica bovina.

#### Electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (PAGE-SDS)

Se prepararon geles de poliacrilamida al 12% según el método de Laemmli<sup>16</sup>; las muestras fueron preparadas bajo condiciones no reductoras y en condiciones reductoras con el agente 2-β-mercaptoetanol. Se colocaron 40μg de veneno por carril y la corrida electroforética se realizó en una cámara OmniPAGE Modelo CVS10D y fuente de poder Cleaver scientific MP 300V durante 1 hora a 120V.

Después de la corrida electroforética los geles fueron fijados y se tiñeron con solución de Azul brillante de Coomassie R-250 al 0,05% por 1 hora.

#### Estándares de peso molecular

Se utilizaron las siguientes proteínas patrones adquiridos de Sigma Chem Co.-USA: Albúmina sérica bovina (66KDa), Ovoalbúmina (45 kDa), Anhidrasa carbónica (29KDa) y Lisozima (14,3 KDa).

#### Análisis de resultados

Los datos obtenidos de la cuantificación fueron promediados y establecidos las desviaciones estándar para cada uno de los especies en estudio de acuerdo al número de repeticiones que se creyó conveniente.

Para el análisis electroforético se construyó en primer lugar, usando regresión lineal, la curva patrón con el logaritmo del peso molecular versus Rf (movilidad electroforética relativa) de las proteínas estándar. Se procedió a reconocer el número de bandas principales de cada especie, y determinar el Rf de cada una de ellas, hallando su peso molecular al tomar el antilogaritmo correspondiente.

## RESULTADOS

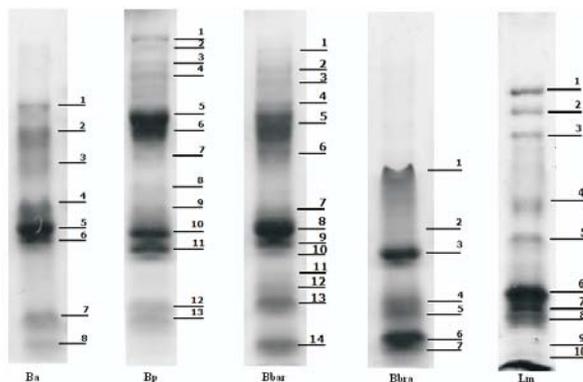
### Contenido proteico

La tabla 1 muestra el contenido proteico promedio por miligramo de veneno para cada especie donde el veneno de *Lachesis muta* posee el más alto contenido de proteína seguido por *Bothrops brazili* en tanto que las concentraciones más bajas pertenecen a los venenos de *Bothrops barnetti* y *Bothrops pictus*.

Tabla 1. Contenido proteico de los venenos de serpientes peruanas

Serpiente	Contenido proteico promedio (por mg de peso seco de veneno)	
	Abs UV 280nm	Método de Lowry
<i>Bothrops atrox</i>	1,300± 0,14	0,78 ± 0,05
<i>Bothrops barnetti</i>	0,980± 0,18	0,74 ± 0,02
<i>Bothrops brazili</i>	1,250± 0,08	0,83 ± 0,02
<i>Bothrops pictus</i>	1,100± 0,18	0,69 ± 0,03
<i>Lachesis muta</i>	1,500± 0,19	0,85 ± 0,06

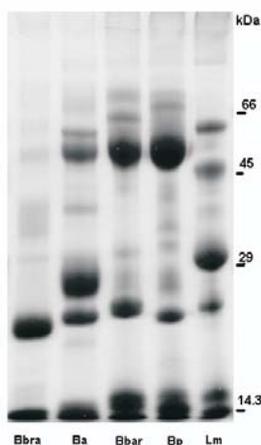
\* Nótese que la absorbancia a 280nm es un valor referencial para cada veneno en tanto que los valores encontrados por el método de Lowry corresponden a la concentración de proteína de acuerdo con el peso de la muestra por lo que se puede establecer los porcentajes respectivos. En este sentido fue posible determinar los siguientes % de proteína *B. atrox*, 78%; *B. pictus*, 69%; *B. barnetti*, 74%; *B. brazili*, 83% y *L. muta* 85%.



**Figura 1.** Perfiles electroforéticos en PAGE-SDS en condiciones no reductoras de venenos de serpientes peruanas, indicando el número y posición de bandas electroforéticas particular. Ba, *Bothrops atrox*; Bp, *Bothrops pictus*; Bbar, *Bothrops barnetti*; Bbra, *Bothrops brazili*, Lm, *Lachesis muta*

#### Patrones electroforéticos en condiciones no reductoras.

Los venenos de cada especie analizados mostraron patrones electroforéticos distintos. La figura 1 muestra los patrones electroforéticos resultantes del PAGE-SDS en condiciones no reductoras. En *Bothrops barnetti* y *Bothrops pictus* fue común encontrar bandas proteicas de alto peso molecular, por encima de los 66 kDa. El patrón electroforético de estas dos serpientes mantienen una cercanía en cuanto al peso de la mayoría de las bandas (tabla 1), no obstante *B. pictus* posee más proteínas de bajo peso molecular. Asimismo, una banda de 28 kDa fue común en los venenos de *B. atrox*, *B. pictus* y *B. barnetti* (figura 1 y tabla 2: bandas Ba5 Bp10 y Bbra8).



**Figura 2.** Perfiles electroforéticos en SDS-PAGE con el agente reductor 2-β-mercaptoetanol de venenos de serpientes peruanas y el rango de peso molecular en el cual se distribuyen. Ba, *Bothrops atrox*; Bp, *Bothrops pictus*; Bbar, *Bothrops barnetti*; Bbra, *Bothrops brazili*, Lm, *Lachesis muta*

Por otro lado, el patrón electroforético del veneno de *Bothrops brazili* mostró significativa diferencia en cuanto al peso y cantidad de proteínas con respecto a los demás venenos al no presentar bandas por encima de los 45 kDa (figura 1: Ba8 Bbra6 Bbar14). Sin embargo, una banda de 11,8 kDa fue similar con los venenos de *B. atrox* y *B. barnetti*.

El veneno de *Lachesis muta* presentó una distribución de bandas que también abarcó proteínas de alto, mediano y bajo peso molecular, siendo su distribución diferente al obtenido con los venenos del género *Bothrops* (figuras 1 y 2).

Es necesario indicar que algunos patrones electroforéticos, a nivel intraespecífico, pusieron en evidencia ciertas variaciones en intensidad de bandas pero dichas variaciones fueron poco frecuentes en todos los especímenes analizados.

**Tabla 2.** Número de bandas proteicas analizadas por PAGE SDS bajo condiciones no reductoras del veneno de las serpientes peruanas.

Especie	Número de bandas (-)	Pesos moleculares
<i>Bothrops atrox</i>	8	55,21 kDa; 45,67 kDa; 37,78 kDa; 28,97 kDa; 25,37 kDa; 23,7 kDa; 13,82 kDa; 11,87 kDa
<i>Bothrops pictus</i>	13	87,04 kDa; 81,45 kDa; 73,34 kDa; 68,66 kDa; 52,15 kDa; 47,43 kDa; 41,14 kDa; 32,46 kDa; 28,96 kDa; 24,88 kDa; 22,63 kDa; 15,49 kDa, 14,08 kDa
<i>Bothrops barnetti</i>	14	80,68 kDa; 70,74 kDa; 65,48 kDa; 53,34 kDa; 49,27 kDa; 40,36 kDa; 28,42 kDa; 25,8 kDa; 23,07 kDa; 21,38 kDa; 19,8 kDa; 17,36 kDa; 15,49 kDa; 11,88 kDa
<i>Bothrops brazili</i>	7	37,06 kDa; 25,85 kDa; 21,80 kDa; 16,09.3 kDa; 15,19 kDa; 12,81 kDa; 11,88 kDa
<i>Lachesis muta</i>	10	82,2 kDa; 67,0 kDa; 59,9 kDa; 56,6 kDa; 42,8kDa; 36,2 kDa; 32,4 kDa; 25,4 kDa; 21,5kDa; 16,9 kDa

### Patrones electroforéticos bajo condiciones reductoras

El uso del agente reductor 2-β-mercaptoetanol, modificó de manera significativa el patrón electroforético de las bandas proteicas, especialmente de aquéllas de alto peso molecular por encima de los 66 kDa (figura 2, tabla 3), manifestando la presencia de puentes disulfuro intra e intercatenario como parte de la estructura secundaria y terciaria de las proteínas en estudio. Bajo este tratamiento, el veneno de *B. brazili* fue más afectado; en cambio, los patrones de *B. barnetti* y *B. pictus* mantuvieron la semejanza con los patrones obtenidos en condiciones no reductoras (figura 1).

### DISCUSIÓN

El veneno es una mezcla compleja de proteínas que pueden ser agrupadas en dos categorías principales: a) *toxinas*, que son polipéptidos de pesos moleculares menores a 30 kDa, abundantes en los venenos de serpientes de la familia Elapidae y b) *enzimas*, las cuales poseen pesos moleculares mayores a 30 kDa y constituyen el componente mayoritario del veneno de serpientes de la familia Viperidae<sup>1</sup>. Como puede apreciarse, los venenos estudiados poseen principalmente componentes proteicos enzimáticos; sin embargo, debemos resaltar la presencia de proteínas de bajo peso en todos ellos ( $\leq 29$ KDa). Así tenemos un grupo de proteínas bien caracterizadas presentes en estos venenos que son las fosfolipasas A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>), las cuales están dentro de este rango (Iwanaga y Suzuki., 1979)<sup>17</sup>.

**Tabla 3.** Número de bandas proteicas analizadas por PAGE-SDS bajo condiciones reductoras del veneno de las serpientes peruanas.

Especie	Número de bandas (+)	Pesos moleculares
<i>Bothrops atrox</i>	9	58,29 kDa; 51,95 kDa; 44,07 kDa; 39,27 kDa; 26,46 kDa; 22,82 kDa. 20,17 kDa, 14,63 kDa, 14,16 kDa.
<i>Bothrops pictus</i>	10	69,85 kDa; 66,49 kDa; 51,10 kDa; 41,95 kDa; 369,17 kDa; 32,77 kDa; 26,46 kDa; 22,82 kDa; 15,38 kDa; 14,63 kDa;
<i>Bothrops barnetti</i>	9	71,01 kDa; 62,25 kDa; 51,95 kDa; 43,35 kDa; 31,19 kDa; 27,52 kDa; 23,58 kDa; 15,37 kDa; 14,63 kDa.
<i>Bothrops brazili</i>	9	39,93kDa; 35kDa; 33,32kDa; 36,68kDa; 21,37kDa. 20 kDa, 16,15 kDa. 15,63 kDa 14,16 kDa.
<i>Lachesis muta</i>	9	83,03 kDa; 51,1 kDa; 47,85 kDa; 42,64 kDa; 393,27 kDa; 30,43 kDa; 23,97 kDa; 15,38 kDa; 14,16 kDa;

Nuestros resultados nos indican que, en función al número de bandas proteicas que presentan, los venenos más complejos son los de *B. pictus*, *B. barnetti* y *L. muta* seguidos de *B. atrox* y *B. brazili*. Asimismo, la mayor intensidad de algunas bandas indicaría su mayor concentración, tal como ocurre en el caso de *B. atrox* con las bandas 5 y 6; en *B. pictus* bandas 5, 6, 10 y 11; en *B. barnetti* bandas 5, 8 y 9; en *B. brazili* bandas 3 y 6 y en *L. muta* bandas 6 y 7 (figura 1).

En el Perú, Bonilla y Zavaleta<sup>18</sup> en 1997 describieron el perfil del veneno de la serpiente *Bothrops hyoprora* y caracterizan parcialmente este veneno. En el 2000 Málaga y col. estudiaron las variaciones del veneno de la serpiente *Bothrops atrox* en relación con la edad mostrando diferencias entre los patrones electroforéticos de serpientes juveniles y adultas así como también algunas variaciones en el contenido proteico del veneno de una misma especie localizada en diferentes regiones geográficas<sup>19</sup>. Es por ello que para establecer un veneno estándar debe seleccionarse claramente los especímenes juveniles o adultos según los requerimientos de la institución productora del antiveneno respectivo.

Es importante también remarcar que la alteración en los perfiles electroforéticos puede deberse al estado fisiológico del reptil, ocasionado por el estrés al cautiverio, mala alimentación, presencia de parásitos y a una inapropiada manipulación durante la extracción de la ponzoña. Estos factores fueron considerados en la obtención de las muestras analizadas a fin de obtener patrones altamente reproducibles para cada especie.

Finalmente, podemos indicar que la técnica electroforética es una valiosa herramienta en la caracterización de un veneno ofídico, permitiendo su identificación, verificar el estado de conservación y calidad en su obtención, cualidades muy importantes a tener en cuenta no sólo en la preparación de antivenenos, sino también en la medida de efectividad de los sueros antiofídicos producidos.

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Vicerectorado de Investigación de la UNMSM por el apoyo financiero brindado a esta investigación.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Tu, A. T. (1977) *Venoms: Chemistry and Molecular Biology*, 560pp. New York: Wiley.
2. Chippaux, J.P.; Goyffon, M.; 1998. Venoms, antivenoms and immunotherapy. *Toxicon*. **36**, 823.
3. Chippaux J. P., Boche J. and Courtois B. 1982 Electrophoretic patterns of the venoms from a litter of *Bitis gabonica* snakes. *Toxicon* 20, 521-523.
4. Glenn J. L. and Straight R. (1977) The midget faded rattlesnake (*Crotalus viridis concolor*) venom: lethal toxicity and individual variability. *Toxicon* 15, 129-133
5. Rael E. D., Knight R. A. and Zepeda H. (1984) Electrophoretic variants of Mojave rattlesnake (*Crotalus scutulatus scutulatus*) venoms and migration differences of Mojave toxin. *Toxicon* 22, 980-984.
6. Willemse G. T. (1978) Individual variation in snake venom. *Comp. Biochem. Physiol.* 61B, 553-557
7. Aragon F, Gubensek P. 1981. *Bothrops asper* venom from the Atlantic and Pacific zones of Costa Rica. *Toxicon*, 19: 797-805.
8. Gutierrez, J. M., Chaves, F. y Bolaños, R. (1980) Estudio comparativo de venenos de ejemplares recién nacidos y adultos de *Bothrops asper*. *Rev. Biol. Trop.* 28, 341-351
9. Johnson B. D. (1968) Selected Crotalidae venom properties as a source of taxonomic criteria. *Toxicon* 6, 5-10.
10. Lomonte B, Gene JA, Gutierrez JM, Cerdas L. 1983. Estudio comparativo de los ejemplares de serpiente cascabel (*crotalus durissus durissus*) de ejemplares adultos y recién nacidos. *Toxicon*, 21,3: 379-384.
11. Minton S. A. and Weistein S. A. (1986) Geographic and ontogenic variation in venom of the western diamondback rattlesnake (*Crotalus atrox*). *Toxicon* 24, 71--80.
12. Perrone MAL, Siles Villaroel M, Furtado M de FD. Estudio comparativo entre os venenos de serpentes do gênero *Bothrops* procedentes do estado de São Paulo e do Estado do Parana com algumas espécies morfológicamente duvidosas. *Mem Inst Butantan* 1989, 51,1: 25-32.

13. Suttner J., Dyr J. E. and Kornalik F. (1988) Evaluation of individual variability in the composition of *Agkistrodon contortrix* venom by means of HPLC and two-dimensional PAGE. *Folia Haematol., Leip.* 115, 197-202.
14. Warburg, O. and Christian, W. 1941. Isolierung and crystallization of garungs ferments. *Biochem. Z.* 310: 384-421.
15. Lowry, O.; Rosebrough, N.; Farr, A. and Randall, R. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275
16. Laemmli UK. (1970) Cleavage of structural during the assembly of the headbacteriophage T4. *Nature*; 227:680-685.
17. Iwanaga, S. & T. Suzuki. 1979. Enzymes in snake venom, p. 684-750. En: C.Y. LEE (Ed.). Snake Venoms. Berlin, Springer-Verlag, 1129p.
18. Bonilla, C.; Zavaleta A. 1997. Estudio bioquímico del veneno de la serpiente *Bothrops hyoprurus*. *Rev Med Exp.* Vol. 14 N° 2
19. Malaga, O.; Pantigoso, C.; Morante, Y.; Heredia, V.; Cardenas, J. y Yarleque, A. 2000. Variaciones en la Composición Proteica, Actividades Enzimáticas y Biológicas del Veneno de la Serpiente *Bothrops atrox* (Viperidae) en relación con la Edad. *Rev. Peru de Biol.* Vol. 7, No. 2, pp.: 161 – 170.

## CARACTERIZACIÓN DE ACEITES, TORTAS Y HARINAS DE FRUTOS DE UNGURAHUI (*Jessenia polycarpa*) Y AGUAJE (*Mauritia flexuosa* L.) DE LA AMAZONÍA PERUANA

Fredy Quispe Jacobo<sup>a</sup>, Mauro Ayala Rojas<sup>b</sup>, Gerardo Ingunza Reyes<sup>b</sup>, Ever Landeo Pino<sup>b</sup>, Gloria Pascual Chagman<sup>b\*</sup>

### RESUMEN

Frutos de ungurahui y aguaje de zonas aledañas a la localidad de Yurimaguas del Departamento de Loreto, en las calidades verdes y maduras se investigaron según sus caracteres morfológicos, análisis proximal, extracción, caracterización de ácidos grasos, propiedades fisicoquímicas de los aceites crudos y caracterización proximal de las tortas y harinas obtenidos durante el prensado y desengrasado correspondiente. Los resultados morfológicos indican longitudes, diámetros y peso de frutos iguales a 33,568 cm. y 51,759 cm., 22,25 cm. y 39,601 cm., y 11,058 g y 51,208 g para el ungurahui y aguaje respectivamente. El análisis proximal de los frutos maduros de ungurahui indica contenidos de humedad, fibra y grasa superiores, mientras que ceniza, proteína y carbohidratos superiores para los verdes; en caso de los frutos de aguaje los **verdes** fueron superiores en fibra, cenizas, proteína y carbohidratos, mientras los **maduros** en humedad y grasa. El arreglo factorial del diseño completo al azar revela que la extracción óptima de aceites en ungurahui y aguaje se realiza a la temperatura de 60 °C y humedad del 12 %; el perfil lipídico presentó al ácido oleico (78%) como el componente mayoritario en ungurahui y aguaje. Las tortas y harinas mostraron que en su mayoría contienen fibra, proteínas y carbohidratos, cualidades que pueden ser aprovechadas en la industria de insumos e ingredientes alimentarios.

**Palabras clave:** Ungurahui, *Jessenia polycarpa*, aguaje, *Mauritia flexuosa*, aceites nativos, extracción de aceites.

## CHARACTERIZATION OF OILS, CAKES, AND FLOURS OF FRUITS OF UNGURAHUI (*Jessenia polycarpa*) AND AGUAJE (*Mauritia flexuosa* L.) OF AMAZONIA PERUVIAN

### ABSTRACT

Ungurahui and aguaje fruits of the zones bordering to locality of Yurimaguas the Department of Loreto, in qualities green a mature were investigated. It was studied its morphological characters and proximate analysis of cakes obtained by pressing and defatted flours. The results of morphological characters of the fruit indicate lights, diameters of fruits and weight equal to 33,568 cm and 51,759 cm, 22,25 cm, and 39,601 cm, and 11,058 grams and 59,208 grams, in the ungurahui and aguaje respectively. The proximal analysis of ungurahui fruits indicated moisture content, fiber and fat higher for the ripe fruit, while ash, protein and

<sup>a</sup> Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria (INIEA)

<sup>b</sup> Facultad de Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Agraria La Molina (Lima, Perú)

\* gpascual@lamolina.edu.pe

carbohydrate higher for the green one; in the aguaje fruits, the green ones were higher in fiber, ash, protein and carbohydrate content, while in the mature one, moisture and fat. The factorial arrangement of a completely random design, reveals that the optimal oil extraction in ungurahui and aguaje was performed at 60 °C of temperature and 12% humidity, the lipid profile pointed out, the oleic acid (78%) as the majority component in ungurahui and aguaje. The cake and flour showed a high content of fiber, protein and carbohydrate, qualities that can be used in industry.

**Key words:** Ungurahui, *Jessenia polycarpa*, aguaje, *Mauritia flexuosa*, native oil, oil extraction.

## INTRODUCCIÓN

La creciente demanda de los aceites vegetales en la formulación de productos alimentarios, industriales, farmacéuticos y cosméticos ha motivado en nuestro país y otros países del mundo la necesidad de importar materias primas oleaginosas para satisfacer las demandas del mercado.<sup>1</sup>

En ese sentido, los países que presentan una biodiversidad de recursos genéticos inician programas de investigación hacia el aprovechamiento de fuentes nativas, tales como los esfuerzos que realizan los investigadores en Brasil con sus oleaginosas nativas<sup>2, 3</sup>. En ese ámbito se ubica el ungurahui (*Jessenia polycarpa*) y aguaje (*Mauritia flexuosa* L.), palmeras nativas de la región amazónica que se encuentran en los departamentos de Loreto, Madre de Dios, Ucayali, San Martín, Huánuco y Junín;<sup>4</sup> donde los habitantes de estas zonas aprovechan los frutos como medio de vida para subsistir, ya sea para obtener de manera artesanal diversos alimentos, tales como aceite comestible, helados, refrescos (chapo de ungurahui, aguaje) de sabor agradable, o para su comercialización en los mercados de la localidad.<sup>5,6,7</sup> De acuerdo a la información disponible, los frutos de ungurahui y aguaje representan una alternativa viable como potencial materia prima de aceites vegetales de alto valor nutricional; al respecto<sup>8</sup>, da conocer que la pulpa del ungurahui presenta un contenido de ácidos grasos similar al aceite de oliva y características fisicoquímicas que recomiendan su uso para consumo humano. Otros investigadores<sup>9</sup> mencionan que del mesocarpio de las frutas de aguaje se emplean para la elaboración de helados, cremas y conservas en países como Brasil. Dado el enorme potencial económico de los productos y derivados de la pulpa y aceite de los frutos de ungurahui y aguaje sobre comunidades, cuya única actividad se circunscribe a la recolección de frutos, se desarrolla la presente investigación cuyo objetivo general es evaluar la extracción mecánica y caracterización fisicoquímica de los aceites, tortas y harinas de los frutos de ungurahui y aguaje de zonas aledañas a la localidad de Yurimaguas del departamento de Loreto.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de Fisicoquímica, Instrumentación y Planta Piloto de Alimentos, de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

### Materiales y reactivos

Los frutos de aguaje y ungurahui utilizados en la investigación fueron recolectados en el puerto de Yurimaguas y comunidades aledañas del distrito de Balsapuerto del departamento

de Loreto-Perú. Todos los reactivos y solventes utilizados fueron de grado analítico de las marcas Sigma Aldrich Chemical Co. y Merck.

### Métodos

**Evaluación morfológica de los frutos:** Muestras representativas entre 20 y 30 frutos de aguaje y unguurahui de un lote de producción fueron utilizados para medir la longitud de fruto desde la base hasta el ápice (cm), diámetro de fruto en la parte central (cm), peso de fruto (g), (peso de cáscara) (g) y peso de pulpa (g).

**Análisis proximal de pulpas, tortas y harinas:** Humedad, grasa, cenizas, fibra cruda, proteínas y carbohidratos (por diferencia), fueron determinados por la AOAC<sup>10</sup> métodos oficiales 925,40, 948,22, 950,49, 935,53, 950,48, respectivamente. Los análisis de la torta fueron realizados después del prensado, y los de la harina después de la extracción con solventes.

**Análisis del aceite crudo:** Humedad, índice de acidez, índice de yodo, índice de peróxido, índice de refracción, densidad, material insaponificable fueron determinados por la AOAC<sup>10</sup> métodos oficiales 926,12, 940,28, 920,159, 965,33, 921,08, 920,212, 933,08, respectivamente. Color del aceite fue determinado por el sistema CIE<sup>11</sup>; la determinación de ácidos grasos por cromatografía de gases; del aceite se realizó según el método LABS-ITP-FQ-002-98, Rev.4, 2003 método validado por el Instituto Tecnológico Pesquero del Perú<sup>12</sup>.

**Análisis estadístico:** Todos los resultados fueron analizados en el paquete estadístico SAS V7 (SAS Institute Inc.). El análisis factorial realizado a nivel de planta piloto para evaluar la extracción óptima del aceite en unguurahui contempló los factores: humedad de muestra (6, 8 y 12%), temperatura de tratamiento de muestra (25 y 60°C), y tamaño de partícula (0,675 y 1,015 mm), mientras que en aguaje fueron: humedad de muestra (6, 8 y 12%) y temperatura de tratamiento (25 y 60°C); cuyos resultados fueron sometido a un análisis de varianza y prueba de rangos múltiples de Duncan ( $p \leq 0,05$ ) empleando el procedimiento GLM en un diseño completo al azar con arreglo factorial en el programa SAS; la hipótesis planteada en los diferentes tratamientos fue que todos los tratamientos en las muestras de unguurahui y aguaje presentan el mismo efecto sobre la extracción de aceites y contenido nutricional de las tortas.

### Procedimiento experimental para la extracción del aceite, torta y harina.

El proceso empleado para la extracción del aceite crudo, torta y harina de los frutos de unguurahui y aguaje se muestran en la figura 1.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Análisis morfológico de la materia prima

En la tabla 1 se muestran las características morfológicas de los frutos de aguaje y unguurahui, tales como longitud, diámetro, peso del fruto, peso de la cáscara, peso de la pulpa y semilla.

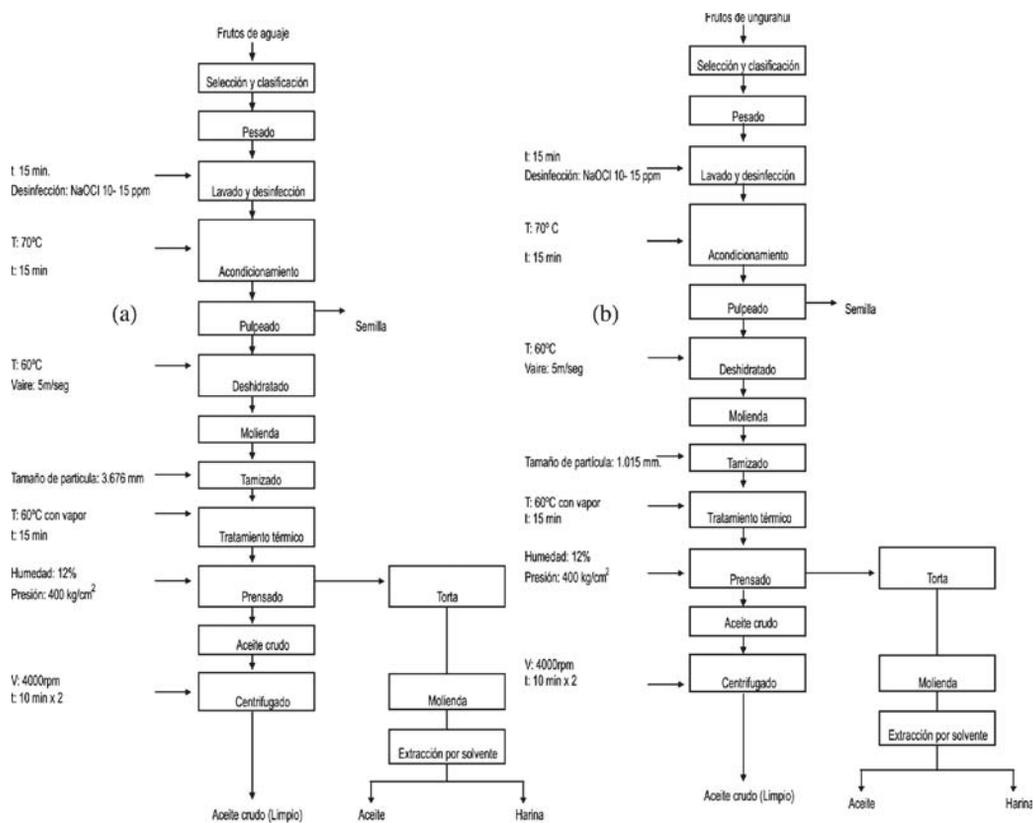


Figura 1. Diagrama de flujo para la extracción de aceite del unguirahui (b) y aguaje (a)

Tabla 1. Análisis morfológico de los frutos de unguirahui y aguaje

Frutos	Longitud (cm)	Diámetro (cm)	Fruto (g)	Cáscara (g)	Pulpa (g)	Semilla (g)	Pulpa (%)
Ungurahui <sup>b</sup>	33,568 ± 2,02	22,25 ± 1,10	11,058 ± 1,35	3,279 ± 1,15 <sup>c</sup>		7,780 ± 0,95	29,643 ± 2,55 <sup>d</sup>
Aguaje <sup>a</sup>	51,759 ± 4,124	39,601 ± 3,153	51,208 ± 9,355	10,128 ± 2,98	10,104 ± 1,825	27,348 ± 5,664	19,634 ± 3,51

<sup>a</sup> 25 evaluaciones realizadas en los frutos de aguaje ± desviación estándar,

<sup>b</sup> 20 evaluaciones realizadas en los frutos de unguirahui ± desviación estándar,

<sup>c</sup> El resultado corresponde a cáscara + pulpa en unguirahui,

<sup>d</sup> Rendimiento de cáscara + pulpa en unguirahui

Las características morfológicas de los frutos de unguurahui presentaron una longitud de 33,57mm, diámetro promedio de 22,25mm. El resultado del peso fue de 11,06 g; este valor se encuentra en el rango reportado por FAO<sup>13</sup>, que indica de 5,1g a 13,5 g. El peso de la semilla (corazón) 7,78 g. (70,35%) respecto al fruto fue superior al reportado FAO<sup>13</sup>, Calzada Benza<sup>14</sup>, y García<sup>15</sup> que indican valores de 58,7%, 60,0 % y 64,6 %, respectivamente. El contenido de cáscara más pulpa, respecto al fruto 3,279 g (29,64%) posee un bajo valor, que el reportado por Calzada Benza<sup>14</sup> y García<sup>15</sup> que indican valores de 35,4% más bajo y 40,0 %, respectivamente. Las características morfológicas de los frutos de aguaje presentaron una longitud de 51,76 mm, diámetro de 39,60 mm; el peso del fruto (51,21 g.) encontrándose dentro del rango establecido por Tratado de Cooperación Amazónica<sup>16</sup>, quien reporta, longitud entre 50 a 70 mm, diámetro entre 40 a 50 mm, y peso entre 40 y 85g. El contenido de cáscara 10,128 g (20,80 %) respecto al fruto, posee una cantidad semejante al reportado por Rojas Ruiz<sup>17</sup>, que indica un valor de 18,29 a 19,0%, respectivamente.

#### Análisis fisicoquímico de frutos

Los resultados de análisis de humedad, fibra, grasas, cenizas, proteínas y carbohidratos de los frutos de aguaje y unguurahui (verde y maduro), respectivamente, se presentan en la tabla 2.

**Tabla 2.** Composición proximal de los frutos de unguurahui y aguaje

Frutos	Calidad	Humedad (%)	Fibra (%)	Grasa (%)	Ceniza (%)	Proteína (%)	Carbohidratos (%)
Ungurahui (Cáscara + pulpa)	Verde	32,46 ± 0,85	10,02 ± 0,379	18,33 ± 0,527	1,07 ± 0,064	3,32 ± 0,268	34,80 ± 0,731
	Maduro	39,83 ± 0,73	10,53 ± 0,995	21,77 ± 0,176	1,00 ± 0,024	3,12 ± 0,060	23,74 ± 1,21
Aguaje (Cáscara + pulpa)	Verde	48,46 ± 1,051	12,30 ± 0,016	15,56 ± 0,190	1,26 ± 0,013	2,96 ± 0,085	19,46 ± 1,28
	Maduro	54,38 ± 0,937	10,12 ± 0,488	18,10 ± 0,930	1,18 ± 0,024	2,32 ± 0,052	13,90 ± 0,973

\* Las evaluaciones se realizaron por triplicado ± desviación estándar

El análisis proximal de los frutos de unguurahui indica contenidos de humedad (39,83%), fibra (10,53%) y grasa (21,77%) superiores para frutos maduros, mientras que ceniza (1,07%), proteína (3,32%) y carbohidratos (34,80%) superiores para los frutos verdes. National Academy of Science Zurich<sup>18</sup> indica valores para fibra de 13,32% y grasa 30,07%. Los frutos de aguaje maduro se caracterizaron por su alto contenido de humedad (54,38%) y grasa (18,10%), mientras que los frutos verdes eran superiores en ceniza (1,26%), fibra (12,30%) y proteína (2,96%). Comparando los resultados del fruto de aguaje maduro con los encontrados por Roessl, citado por Rojas Ruiz<sup>17</sup>, se aprecia que existen diferencia en los resultados, pero que son poco significativos; dicha diferencia podría deberse a las variaciones que presentan los frutos oleaginosos debido a la estacionalidad en la cosecha, así como por las condiciones en que ésta crece.

#### Extracción del aceite crudo

En la tabla 3 se presentan los resultados en extracción de aceite y torta en los diferentes tratamientos en unguurahui y aguaje ambos en la cáscara + pulpa (c+p) de los frutos maduros.

**Tabla 3.** Aceite y torta en los diferentes tratamientos en unguurahui y aguaje

C+P	Condiciones experimentales				Aceite				Torta	
	Trat.	TP (mm)	T (°C)	H (%)	(mL)	(g)	(%)		(g)	Rendimiento (%)
U N G U R A H U I	1	0,675	25	6	10,97 ± 0,252 D	9,93 ± 0,228	2,41 ± 0,055	2,57 ± 0,06	399,67 ± 2,669	97,22 ± 0,649
	2	1,015	25	6	11,73 ± 0,603 D	10,62 ± 0,546	2,58 ± 0,133	2,75 ± 0,15	400,50 ± 0,546	97,42 ± 0,133
	3	0,675	60	6	12,67 ± 0,289 D	11,47 ± 0,261	2,79 ± 0,064	2,97 ± 0,07	399,65 ± 0,261	97,21 ± 0,064
	4	1,015	60	6	17,67 ± 4,933 C,D	15,99 ± 4,466	3,89 ± 1,086	4,14 ± 1,23	385,13 ± 4,215	93,68 ± 1,025
	5	0,675	25	8	10,33 ± 0,286 D	9,35 ± 0,261	2,28 ± 0,064	2,47 ± 0,07	400,88 ± 1,278	97,51 ± 0,311
	6	1,015	25	8	21,00 ± 1,732 C,D	19,01 ± 1,568	4,62 ± 0,381	5,03 ± 0,43	392,11 ± 1,568	95,38 ± 0,381
	7	0,675	60	8	14,83 ± 0,289 C,D	13,43 ± 0,261	3,27 ± 0,064	3,55 ± 0,07	397,69 ± 0,261	96,73 ± 0,064
	8	1,015	60	8	24,00 ± 2,000 C	21,73 ± 1,811	5,28 ± 0,440	5,74 ± 0,50	377,87 ± 1,710	91,91 ± 0,416
	9	0,675	25	12	11,83 ± 0,289 D	10,71 ± 0,261	2,61 ± 0,064	2,96 ± 0,07	400,41 ± 0,261	97,39 ± 0,064
	10	1,015	25	12	24,67 ± 0,577 C	22,33 ± 0,523	5,43 ± 0,127	6,17 ± 0,14	388,79 ± 0,523	94,57 ± 0,127
	11	0,675	60	12	49,33 ± 1,155 B	44,66 ± 1,045	10,86 ± 0,254	12,34 ± 0,29	366,46 ± 1,045	89,14 ± 0,254
	12	1,015	60	12	60,33 ± 11,240 A	54,62 ± 10,175	13,29 ± 2,475	15,10 ± 2,81	349,87 ± 2,214	85,10 ± 0,539
A G U A J E	1	3,676	25	6	16,00 ± 1,000 D	14,08 ± 0,88	4,02 ± 0,251	4,27 ± 0,267	335,92 ± 0,880	95,98 ± 0,251
	2	3,676	25	8	36,67 ± 4,509 C	32,27 ± 3,968	9,22 ± 1,134	10,02 ± 1,23	317,73 ± 3,968	90,78 ± 1,134
	3	3,676	25	12	66,00 ± 2,646 B,C	58,08 ± 2,328	16,59 ± 0,665	19,08 ± 0,39	291,92 ± 2,328	83,41 ± 0,665
	4	3,676	60	6	57,67 ± 3,215 B	51,37 ± 2,829	14,67 ± 0,808	15,62 ± 1,03	298,62 ± 4,215	85,32 ± 1,204
	5	3,676	60	8	61,33 ± 2,887 B	53,97 ± 2,540	15,42 ± 0,726	16,76 ± 0,79	296,03 ± 2,540	84,58 ± 0,726
	6	3,676	60	12	71,33 ± 3,786 A	62,77 ± 3,332	17,94 ± 0,952	20,38 ± 1,08	287,23 ± 3,332	82,06 ± 0,952

C+P: cáscara + pulpa (ungurahui 411,12 g, aguaje 350g), TP: tamaño de partícula, T: temperatura de extracción, H: humedad, bh: base húmeda, bs: base seca, presión constante: 400 kg/cm<sup>2</sup>, tiempo de extracción: 20 min., valores promedio de 3 repeticiones ± desviación estándar. Las medias seguidas por las mismas letras dentro de la columna de aceite (mL) no son significativas en P = 0,01

En esta tabla se observa que la extracción óptima de aceite de unguurahui y aguaje se obtiene con una humedad de 12%, temperatura de 60°C y rendimiento de 13,29 y 17,94% respecto a la fracción (cáscara + pulpa), respectivamente. El tratamiento térmico a 60°C favoreció la extracción de aceite ya que como menciona Bernardine<sup>19</sup>, la mayor facilidad de extracción del aceite se debe al hecho que el calentamiento de una semilla acompañado de una

humidificación, da lugar a la formación de una película de agua que envolviendo las partes superficiales de las partículas que componen las semillas ayuda al proceso de difusión del aceite de la masa hacia una parte externa de la misma. Kirschenbauer<sup>20</sup> afirma que es necesario someter a la materia prima a un tratamiento térmico y a un ajuste en el contenido de humedad.

#### Características fisicoquímicas de los aceites crudos

Las características fisicoquímicas de los aceites crudos de unguurahui y aguaje extraídos a 25 y 60°C se presentan en la tabla 4.

**Tabla 4.** Características fisicoquímicas de los aceites crudos de unguurahui y aguaje

Análisis fisicoquímicos	Aceite crudo de unguurahui		Aceite crudo de aguaje	
	25 °C	60 °C	25 °C	60° C
Humedad (%)	0,93±0,01	0,99±0,00	0,10±0,01	0,06
Índice de acidez (mg KOH/g grasa)	2,07	5,59	5,22±0,09	5,11
Ácidos grasos libres (%)	1,04±0,06	2,81±0,1	2,65±0,09	2,57±0,00
Índice de peróxido (meq O <sub>2</sub> / Kg.)	2,49±0,05	4,81±0,29	4,61±0,10	4,8±0,00
Índice de saponificación (%)	192,21±0,03	193,47±1,64	194,82±0,04	191,83±0,15
Índice de yodo (Wijs)	77,27±2,40	85,03±0,85	66,6±1,29	95,30
Insaponificable (%)	0,4±0,0	0,6±0,0	0,45±0,07	0,50±0,0
	L* = 20,56±0,10	L* = 20,89±0,63	L* = 18,37	L* = 18,34
Color (Coordenadas CIELAB)	A* = -2,82±0,03	A* = -2,30±0,29	A* = 7,14	A* = 5,23
	B* = -4,61±0,19	B* = -4,5±0,29	B* = 2,04	B* = 2,17
Índice de color ( IC* )	- 29,75	- 24,51	190,5	131,4
Índice de refracción a 25°C	1,464	1,467	1,466	1,465
Densidad a 25 °C (g/mL)	0,9121	0,9105	0,9097	0,9121
Punto de frío	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Punto de humo (°C)	182,67±0,58	186,67±1,53	118,33 ±1,52	124±0,00

\* Las evaluaciones se realizaron por triplicado ± desviación estándar; la extracción del aceite de unguurahui se realizó en muestras con humedad del 12 % y tamaño de partícula 1,015 mm; la extracción del aceite de aguaje se realizó en muestras con humedad del 12 %, tamaño de partícula 3,67mm.

El índice de acidez para el aceite de unguurahui obtenido a 60°C fue ligeramente elevado (5,59 mgKOH/g) en comparación al obtenido a 25°C (2,07 mgKOH/g). Para el aceite de aguaje el índice de acidez obtenido a 25 y 60°C fueron ligeramente similares (5,22 mgKOH/g y 5,11 mgKOH/g). Trevejo<sup>6</sup>, da valores de índice de acidez inferiores para el aceite obtenidos del unguurahui y aguaje.

El Codex Alimentarius<sup>21</sup>, en su norma general para grasas y aceites comestibles no regulados por normas individuales, establece valor de índice de acidez de no más de 4 mg de KOH/g de grasa o aceites vírgenes; los valores anteriormente señalados exceden esta especificación. Es importante hacer notar que el valor de la acidez indica la presencia ligeramente alta de concentración de ácidos grasos libres, por lo tanto se recomienda aplicar una neutralización suave como medio de refinación Ziller<sup>22</sup>.

Los índices de peróxidos obtenidos a 25° y 60°C fueron relativamente bajos, tanto en aceite de unguurahui como en aguaje; estos valores se encuentran por debajo de los considerados como requisitos de calidad para aceites crudos establecidos por el Codex Alimentarius<sup>21</sup>. Lawson<sup>23</sup> menciona que los aceites frescos a menudo tienen valores de peróxidos muy inferiores a 10 m.e.q. O<sub>2</sub>/Kg, el sabor a rancio comienza a ser notable cuando el valor del peróxido es de 20 a 40 m.e.q. O<sub>2</sub>/Kg; Los índices de refracción para los aceites de unguurahui y aguaje, extraídos a 25° y 60°C, se sitúan dentro de los valores reportados para aceites comestibles vegetales tales como: aceite de oliva (1,4690), algodón (1,4670) entre otros Bailey<sup>24</sup>. El valor de la densidad fue similar en el aceite de unguurahui extraído a 25° y 60°C el cual se ubica en 0,9121 y 0,9105 g/ml respectivamente. La densidad para el aceite de aguaje, se encuentra en 0,9097 y 0,9121 para la extracción a 25° y 60°C respectivamente, valores semejantes al reportado por Da Silva<sup>25</sup>, que menciona una densidad de 0,9123 g/ml a 25°C. El índice de yodo en el aceite de unguurahui extraído a 60°C presentó valor de 85,03 g de I<sub>2</sub>/100 valor que coincide con el reportado para el aceite de oliva, debido a su similitud en composición en ácidos grasos. El índice de yodo en el aceite de aguaje presentó valores de 66,6 y 95,30 g de I<sub>2</sub>/100 extraído a 25° y 60°C respectivamente, los que se encuentran cercano al reportado por Trevejo<sup>6</sup>, que indica valor de 73g de I<sub>2</sub>/100g para el aceite de mesocarpio para la variedad Shambo. En cuanto a porcentaje de materia insaponificable, tanto para el aceite de unguurahui y aguaje extraído a 25° y 60°C se observan valores bajos de 0,4 y 0,6 % y de 0,45 y 0,5 %, respectivamente; valores concordantes con lo sustentado por Bailey<sup>24</sup>, quien expresa que en aceites de pulpa de frutos (aceite de oliva y de palma), los productos que determinan el porcentaje de materia insaponificable se encuentran en poca proporción, siendo muy alta en aceites de semillas.

### Composición de ácidos grasos

La composición en ácidos grasos en los aceites de unguurahui y aguaje obtenidos según CG se presenta en la tabla 5.

**Tabla 5.** Composición de ácidos grasos en el aceite crudo de unguurahui y aguaje

Ácidos Grasos (%)	Aceite crudo de unguurahui		Aceite crudo de aguaje	
	25°C	60 °C	25 °C	60 °C
16:0	12,79 ± 0,099	12,58 ± 0,092	15,32 ± 0,134	18,40 ± 0,014
16:1	0,55 ± 0,00	0,50 ± 0,00	0,13 ± 0,057	0,29 ± 0,00
18:0	2,75 ± 0,00	2,10 ± 0,00	1,68 ± 0,00	1,89 ± 0,028
18:1, ω-9	78,87 ± 0,00	78,45 ± 0,07	78,40 ± 0,170	74,61 ± 0,035
18:1, ω-7	1,72 ± 0,07	1,94 ± 0,042	1,41 ± 0,021	1,30 ± 0,021
18:2, ω-6	2,46 ± 0,00	3,24 ± 0,071	1,21 ± 0,028	1,89 ± 0,00
18:3, ω-3	0,72 ± 0,00	0,89 ± 0,021	1,20 ± 0,064	1,02 ± 0,00
20:1, ω-9	0,09 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,58 ± 0,007	0,30 ± 0,007
Saturados	15,54 ± 0,099	14,67 ± 0,013	17,00 ± 0,134	20,48 ± 0,021
Monoinsaturados	81,23 ± 0,007	80,56 ± 0,064	80,55 ± 0,156	76,49 ± 0,049
Poliinsaturados	3,18 ± 0,00	4,13 ± 0,092	2,41 ± 0,092	2,91 ± 0,00
Total	99,95 ± 0,092	99,68 ± 0,021	99,50 ± 0,707	99,87 ± 0,071

\* Las evaluaciones se realizaron por duplicado ± desviación estándar

En el aceite de unguurahui y aguaje se observa la presencia de los ácidos: oleico y palmítico (en mayor proporción), esteárico, y linoleico.

### Composición proximal de las tortas y harinas

Los resultados de la composición proximal de las tortas de unguurahui y aguaje (obtenidos de los frutos maduros) después de realizado el prensado, se presentan en la tabla 6. En el caso del unguurahui el análisis proximal se realizó a las tortas de los tratamientos T-10 y T-12 (humedad 12 %, tamaño de partícula 1,015 mm), mientras que en aguaje fueron las tortas de los tratamientos T3 y T-6 (humedad 12 %, tamaño de partícula 3,676 mm) ambos a 25 y 60°C, respectivamente.

**Tabla 6.** Composición proximal de las tortas de unguurahui y aguaje

Torta	Temperatura (°C)	Humedad (%)	Fibra (%)	Grasa (%)	Ceniza (%)	Proteína (%)	Carbohidratos (%)
Ungurahui	25	11,55	18,47	19,35	0,80	5,32	44,50
		± 0,12	± 1,49	± 0,29	± 0,27	± 0,200	± 1,520
	60	13,08	22,85	12,52	1,10	5,61	44,84
		± 0,473	± 0,498	± 0,153	± 0,166	± 0,218	± 0,236
Aguaje	25	11,88	25,00	15,95	2,62	6,15	38,40
		± 0,125	± 1,107	± 0,422	± 0,363	± 0,114	± 0,577
	60	11,64	27,14	16,14	2,62	6,22	36,24
		± 0,309	± 0,500	± 0,404	± 0,363	± 0,157	± 1,004

• Las evaluaciones se realizaron por triplicado ± desviación estándar

El contenido de aceite residual en la torta de unguurahui obtenido a 25°C fue superior al aceite residual obtenido a 60°C. En la torta de aguaje obtenido con ambas temperaturas de extracción existe semejante cantidad de aceite residual. Con relación al aceite residual contenidos en las harinas de unguurahui y aguaje desengrasadas con solvente de las tortas tratados a 60°C (T-12 del unguurahui y T-6 del aguaje) alcanzaron valores de 6,21 y 6,5%, coincidiendo con lo afirmado por Bernardini<sup>19</sup>. En lo que se refiere al contenido de proteínas, las tortas de unguurahui y aguaje obtenidas a 25 y 60°C presentaron casi igual porcentaje de proteína 5,32, 5,61%, y 6,15, 6,22% respectivamente, mientras que en las harinas el porcentaje de proteínas obtenidas a 60°C alcanzaron valores de 5,83 y 11,33% respectivamente. La ONU<sup>26</sup>, menciona que las variaciones en la torta podrían deberse según el procedimiento empleado en la extracción del aceite y el país en que se produce. En la tabla 7, se muestran los resultados de la composición proximal de las harinas de unguurahui y aguaje desengrasadas con solvente de las tortas tratadas a 60° C (T-12 del unguurahui y T-6 del aguaje).

**Tabla 7.** Composición proximal de las harinas de unguurahui y aguaje

Harina	Humedad (%)	Fibra (%)	Grasa (%)	Ceniza (%)	Proteína (%)	Carbohidratos (%)
Ungurahui	1,14	23,44	6,21	1,76	5,83	61,61
	± 0,029	± 0,638	± 0,068	± 0,036	± 0,115	± 0,555
Aguaje	1,14	25,60	6,5	3,5	11,33	51,92
	± 0,029	± 0,30	± 0,086	± 0,049	± 0,00	± 0,371

\* Las evaluaciones se realizaron por triplicado ± desviación estándar

### CONCLUSIONES

- La composición proximal en base húmeda para el fruto maduro de ungrahui presentó los siguientes valores: humedad (39,83 %), fibra (10,53 %), grasa (21,77 %), ceniza (1,00 %), proteínas (3,12 %), y carbohidratos (23,74 %).
- Las características físico químicas evaluadas del aceite crudo de ungrahui fueron: humedad (0,99%), ácidos grasos libres (2,81%) (expresado como oleico), índice de peróxidos (4,81 m.e.q O<sub>2</sub>/Kg grasa); índice de saponificación (193,47 %); índice de yodo (85,03 g. de I<sub>2</sub>/100 g grasa); insaponificable (0,6 0%); color (L\* = 20,89, A\* = -2,30, B\* = - 4,5) coordenadas CIELAB, índice de refracción (1,467), densidad a 25°C (0,9105 g/mL); punto de frío positivo, punto de humo (186,67°C).
- El perfil en ácidos grasos presento al acido oleico y palmítico como el mayoritario en ungrahui y aguaje.
- La composición proximal en base húmeda para el fruto maduro de aguaje fue la siguiente: humedad (54,38 %), fibra (10,12 %), grasa (18,10 %), ceniza (1,18 %), proteína (2,32 %), carbohidratos (13,90 %).
- Las características fisicoquímicas evaluadas del aceite de aguaje fueron: humedad (0,06 %), ácidos grasos libres (2,57 %) expresado como oleico, índice de peróxido (4,8 m.e.q. O<sub>2</sub>/Kg. de grasa); índice de saponificación (191,83 %); índice de yodo (95,30 g I<sub>2</sub>/100 g grasa); insaponificable (0,5 %); color (L\* = 18,34, A\* = 5,23, B\* = 2,17) coordenadas CIELAB; índice de refracción a 25°C (1,465); densidad a 25°C (0,9121 g/mL); punto de frío afirmativo; punto de humo (124°C).
- Las tortas y harinas mostraron que en su mayoría contienen fibra, proteína, y carbohidratos, cualidades que pueden ser aprovechadas en la industria de insumos e ingredientes alimentarios.

### AGRADECIMIENTO

Agradecemos al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYTEC) por la subvención brindada al presente trabajo de investigación.

### REFERENCIAS

1. Vilar J, Del Mar M. Evolución de la actividad de elaboración de biodiesel e influencia sobre las cotas de demanda de aceite de oliva en el contexto internacional. *Aceites & Grasas* 2008; 72(3): 414-419.
2. Rocha-Filho P, Vinardell M. Low cytotoxicity of creams and lotions formulated with Buriti oil (*Mauritia flexuosa*) assessed by the neutral red release test. *Food and Chemical Toxicology*. 2008; 46: 2776-2781.
3. Duraes JA, Drummond AL, Pimentel TA, Murta MM, Bicalho FS, Moreira SG, et al. Absorption and photoluminescence of Buriti oil/ polystyrene and Buriti oil/ poly methyl methacrylate) blends. *European Polymer Journal*. 2006; 42: 3324-3332.
4. Brack AE. Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú. Centro de Estudios Regionales y Andinos "Bartolomé de las Casas". Cuzco: CBC; 1999.
5. Descola, PH. La selva culta. Simbolismo y praxis en la ecología de los Acchuar. Quito: Ed. ABYA -YALA; 1989.
6. Trevejo CH. E. Avances de la investigación en frutos oleaginosos de la Amazonía Peruana. Ed. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. CONCYTEC. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana - UNAP; 2003.
7. Coomes O.T, Barham BL, Takasaki Y. Targeting conservation - development initiatives in tropical forest: insights from analyses of rain forest use and economic reliance among Amazonian peasants. *Ecological Economics*. 2004; 51: 47-64.

8. Balick. M.K. Une comestible de haute qualité en prévenance des espèces Jessenia et Oenocarpus. Oleaginaux 1981- 36 N°6, Págs. 319-326.
9. De Los Heros, G.M.J. y Zarate, J.B. Posibilidades papeleras de pulpa y papel al sulfato de peciölos de aguaje. *Rev.Forestal Del Perú*. 1980-81; 10: 83-90.
10. A.O.A.C. Manual of Official Methods of Analyses of the Association of Official Analytical Chemists'. Five tenth editions. USA; 1998, Vol.2.
11. CIE Technical Report, Industrial color-difference evaluation, Publ. CIE 116-1995, CIE Central Bureau Viena, Austria. 1995.
12. Instituto Tecnológico Pesquero (ITP). Laboratorio Físico Químico, Composición de Ácidos Grasos por Cromatografía de Gases. Perú; 2003.
13. FAO. Jessenia y Oenocarpus: Palmas aceiteras neotropicales dignas de ser domesticadas. Roma; 1992.
14. Calzada, B.J. Ciento cuarenta y tres Frutales nativos. Lima, Perú: Librería estudiante; 1980.
15. García Torres O. Apoyo a ONGS con cursos de capacitación en procesamiento de alimentos. Proyecto de instalación de una planta piloto de aceite de unguurahui. [Tesis para el título profesional]. Iquitos, Perú; 1978.
16. Tratado de Cooperación Amazónica. Frutales y Hortalizas promisorias de la Amazonía; 2006.
17. Rojas Ruiz R. Estado del conocimiento sobre el aguaje (*Mauritia flexuosa* L.). Iquitos, Perú; 2000.
18. National Academy of Sciences. Underexploited Tropical Plants with promising economic value. Washington, D.C.; 1975. 189p.
19. Bernardini E. Tecnología de aceites y grasas. Madrid, España: Ed. Alambra. S.A.; 1981.
20. Kirschenbauer. H.G. Grasas y Aceites química y tecnología. México. Compañía Editorial Continental 1964.
21. Codex Alimentarius. Norma general Del Codex para grasas y aceites comestibles no regulados por normas individuales Del Codex. Codex Stam 19-1989 (Ver. 1-1989).
22. Ziller, S. Grasa y aceites alimenticios. Zaragoza, España: Editorial Acribia. S.A.; 1996
23. Lawson, H. Aceites y grasas alimentarios, tecnología, utilización y nutrición. Zaragoza, España: Editorial Acribia. S.A.; 1999.
24. Bailey, A.E. Aceites y grasas industriales. España, Edición Barcelona 1961
25. Da Silva B.F. Pro piedades físicas de poliestireno e do poli (Metacrilato de Metila) modificados com óleo de Buriti (*Mauritia flexuosa* L.). Disertación presentada al colegio de pos-grado del departamento de física de la Universidad Federal Do Para para obtención del título de Maestro en Física. Belem – PA. Brasil. 2006.
26. ONU. Orientaciones para el establecimiento y la explotación de fábrica de aceite vegetal. EE.UU., Nueva York; 1984-

## CARACTERIZACIÓN DE ESTEROLES EN LA FRACCIÓN LIPÍDICA DE LA MACA (*Lepidium meyenii* Walp.) MEDIANTE TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS

José E. Gutiérrez Parvina<sup>1</sup>, Katyusca Montaña Fuentes<sup>1</sup>, Julio C. Bracho Pérez<sup>2\*</sup>  
Carmen Rodríguez Best<sup>2</sup>, Artemio Chang Canales<sup>1</sup>

### RESUMEN

Los resultados de este trabajo de investigación han demostrado que la utilización conjunta de varias técnicas cromatográficas como: cromatografía en capa fina, cromatografía en columna, cromatografía en capa fina preparativa y cromatografía líquida de alta resolución, permiten simplificar la complejidad química de los diversos componentes presentes en muestras de maca; lográndose la detección de esteroides en la fracción lipídica de la maca, así como la identificación y cuantificación del  $\beta$ -sitosterol. Las cantidades de muestra apropiadas para la extracción de esteroides han sido 5g de harina de maca seca (HMS) y 8g de tableta de maca (TM), obteniéndose 0,18 mg y 0,22 mg de  $\beta$ -sitosterol por gramo de muestra, respectivamente. La detección fue rápida y precisa a un tiempo de retención de 6,90 min.

**Palabras clave:** Maca, *Lepidium meyenii* Walp, esteroides, HPLC.

## CHARACTERIZATION OF STEROLS IN LIPIDIC FRACTION OF MACA (*Lepidium meyenii* Walp.) THROUGH CHROMATOGRAPHIC TECHNIQUES

### ABSTRACT

The results of this investigation work have demonstrated that the combined use of several chromatographic techniques like: thin-layer chromatography, column chromatography, preparative thin-layer chromatography and liquid chromatography of high resolution, allows to simplify the chemical complexity of the diverse components present in maca samples; being achieved the detection of sterols in the lipidic fraction of maca, as well as the identification and quantification of the  $\beta$ -sitosterol. The appropriate quantities of sample for the sterols extraction have been 5g of dry flour of maca (HMS) and 8g of pill of maca (TM), obtaining 0,18 mg and 0,22 mg of  $\beta$ -sitosterol by gram of sample, respectively. The detection was quick and precise at the same time of retention of 6,90 min.

**Key words:** Maca, *Lepidium meyenii* Walp, sterols, HPLC.

### INTRODUCCIÓN

La maca, (*Lepidium meyenii* Walp.), es una de las especies altoandinas más promisorias del Perú que por sus propiedades nutricionales y farmacológicas es reconocida en diversas partes del mundo. Sin embargo, la caracterización de sus metabolitos secundarios, así como el establecimiento de su marcador químico, continúan siendo en la actualidad una necesidad para su identidad, control de calidad y estandarización tanto en forma de materia prima como en sus formas farmacéuticas terminadas.

<sup>1</sup> Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional San Luis Gonzaga.

<sup>2</sup> Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Agraria La Molina.

\* Autor para la correspondencia, Email: jbracho@lamolina.edu.pe

La determinación de glucosinolatos y alcaloides bencílicos para la caracterización química de la maca se perfilaban como posibles marcadores químicos de este producto natural. No obstante, la elevada variabilidad del contenido de glucosinolatos y el bajo contenido de alcaloides limitan su empleo para tal fin<sup>1,2</sup>.

Por otra parte, el empleo tradicional de la maca para potenciar las funciones reproductivas y sexuales podría estar relacionado con la presencia de esteroides y ácidos grasos en su fracción lipídica. Estos metabolitos secundarios previamente aislados de fuentes vegetales han demostrado una importante actividad biológica<sup>3,4,5,6,7</sup>.

Entonces, la búsqueda de posibles marcadores químicos en la fracción lipídica de la maca podría constituir una alternativa a tener en cuenta. En este sentido, el primer estudio de la fracción lipídica de la maca desarrollado por Dini y colaboradores, permitió identificar en la fracción de esteroides un total de cinco constituyentes: brasicasterol (9,1 %), ergosterol (13,6 %), campesterol (27,3 %),  $\Delta^{7,2}$ -ergostadienol (45 %), siendo este último esteroide el componente mayoritario<sup>8</sup>. Por todo lo antes mencionado, se realiza este trabajo con el objetivo de aplicar técnicas cromatográficas que permitan caracterizar los esteroides de la fracción lipídica de la maca.

## PARTE EXPERIMENTAL

### **Materiales**

#### **Muestras**

La maca seca (**MS**) procedente de la provincia de Carhuamayo se molió hasta alcanzar la textura de harina (**HMS**) en la molinera Inkanature S.R.L. Posteriormente, se obtuvo una muestra representativa mediante la técnica de cuarteo. Las tabletas de maca (**TM**) de 500 mg fueron suministradas por el Laboratorio Hersil S.A.

#### **Insumos**

Los estándares utilizados fueron  $\beta$ -sitosterol 95% (Sigma S1270, LOT 090k3852) y  $\beta$ -sitosterol 40% (Aldrich S3402 01308BI MO, 50,6 %  $\beta$ -Sitosterol, 21% campesterol, 13% deshidrobrasicasterol y estigmasterol). Los disolventes orgánicos utilizados en este estudio fueron de calidad analítica: hexano,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , AcOEt y MeOH. Además, acetonitrilo y metanol de grado HPLC.

#### **Materiales y equipos**

- Sílicagel 60 (50 – 200  $\mu\text{m}$ ) (Carlo Erba).
- Membrana Millipore de 0,22  $\mu\text{m}$
- Membrana Millipore de 0,45  $\mu\text{m}$ .
- Cromatoplasmas de sílicagel preparativa 60 F<sub>254</sub> 0,25 mm (Merck).
- Cromatoplasmas de sílicagel 60 F<sub>254</sub> 0,1 mm (Merck).
- Jeringas de vidrio (20 mL).
- Jeringas graduadas de 10 y 50  $\mu\text{L}$ .
- Cromatógrafo HPLC LaChrom con bomba cuaternaria L-7100, módulo de interfase D-7000, horno L-7300, autosampler L-7200, detector L-7450 con arreglo de diodo y Software D-2000.
- Ultrasonido BRANSON 8510.
- Balanza Analítica Metler Toledo AB 204.
- Rotoevaporador Büchi B-461.

## **Metodología**

### **Preparación del extracto**

La muestra de HMS (1kg) fue sometida a extracción con los disolventes:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , AcOEt y disolución acuosa de metanol al 70% en forma sucesiva, utilizando ultrasonido. En un frasco ámbar (4L) fue adicionado el  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1200 mL), luego se agitó y decantó. Posteriormente, se introdujo el frasco en un baño de ultrasonido a una temperatura de  $40 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 16 h. El extracto obtenido fue filtrado al vacío con embudo Büchner y papel filtro Watman N° 40. Luego fue llevado a sequedad con el empleo de un rotoevaporador a  $35-45^\circ\text{C}$ . Los procesos de extracción y concentración fueron realizados por triplicado.

### **Identificación de esteroides por CCF**

#### **Placas cromatográficas**

Las cromatoplasmas fueron activadas a temperatura de  $120^\circ\text{C}$  durante 30 min y la cámara cromatográfica fue saturada durante media hora.

#### **Estándar y muestra**

El estándar de  $\beta$ -sitosterol en diclorometano fue preparado a una concentración de 0,58 mg/mL. Los residuos sólidos obtenidos de las muestras al finalizar las extracciones fueron redisoluertos en sus respectivos disolventes de extracción considerando la relación masa de residuo sólido (g):volumen de disolvente (mL) igual a 1:5. Finalmente, 1 mL de cada extracto fue diluido a 10 mL.

#### **Análisis cromatográfico**

50  $\mu\text{L}$  de cada una de las muestras y 20  $\mu\text{L}$  del estándar fueron sembrados y luego eluidos con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH (9:1),  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -AcOEt (8:1),  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -AcOEt (9:1), hexano-AcOEt (4:1) y hexano- $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3:2).

Las cromatoplasmas desarrolladas fueron rociadas con 10 mL de los reveladores químicos: vainillina- $\text{H}_2\text{SO}_4$  (A), anisaldehído- $\text{H}_2\text{SO}_4$  (B) y el reactivo de Lieberman-Bouchard y sometidas a calentamiento a una temperatura de  $110^\circ\text{C}$  durante 10 min, después de lo cual fueron calculados los valores de  $R_f$  para el estándar y las manchas presentes en la muestra que adquirieron una coloración violeta-morado propia de esteroides.

### **Aislamiento de esteroides**

#### **Separación por cromatografía en columna**

##### **- Columna cromatográfica**

La columna fue preparada utilizando una relación muestra (g) – fase estacionaria (mL) 1:8; para lo cual la silicagel fue mezclada con hexano y la columna empacada haciendo pasar pequeños volúmenes de hexano. Posteriormente, 8g de extracto (obtenido con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  a partir de HMS por ultrasonido) fueron colocados en la columna y conectados herméticamente a un balón de aire con manómetro incorporado, quedando listo el sistema cromatográfico para el proceso de separación.

##### **- Fase móvil**

Hexano(160 mL), 50%  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  en hexano(120 mL),  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (260), 10% AcOEt en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (120 mL), 20% AcOEt en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (100 mL), 30% AcOEt en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (120 mL), 40% AcOEt en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (100 mL), 50 a 90% con incremento en 10% de AcOEt en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5x200 mL), AcOEt(600 mL), 10 a 40% con incremento de 10 % de MeOH en AcOEt (4x300 mL) y MeOH (100 mL).

##### **- Separación cromatográfica**

La elución del extracto fue realizada aplicando las diferentes fases móviles en orden creciente de polaridad, a una presión de aire de 2,5 bar, recolectándose fracciones de 40 – 60 mL a una velocidad de flujo de 1-2 mL/min.

### **Purificación por CCF**

Las fracciones recolectadas en la cromatografía en columna fueron agrupadas de acuerdo al análisis por CCF, concentradas en el rotoevaporador y pesadas, obteniéndose 7 fracciones. El proceso de purificación mediante CCF a escala preparativa (CCF-P) sólo fue aplicado a las fracciones con mayor presencia de esteroides. Las cromatoplasmas fueron raspadas y los sólidos resultantes fueron extraídos con 30 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , luego los extractos fueron filtrados con membrana Millipore, llevados a sequedad en el rotoevaporador y colocados en el desecador durante 48 h. Los esteroides purificados fueron identificados por HPLC.

### **Determinación de esteroides por HPLC**

#### **Condiciones cromatográficas**

La separación fue desarrollada a una temperatura de 50 °C con una columna Lichrocart RP-8 250 x 4 mm, d.i. 5  $\mu\text{m}$ , volumen de muestra inyectada 10  $\mu\text{L}$  y lectura a 205 nm. La fase móvil utilizada consistió en el eluyente A: acetonitrilo-metanol (99:1) y el eluyente B:  $\text{H}_2\text{O}$ , los que fueron filtrados con membrana Millipore 0,22  $\mu\text{m}$  con un flujo de 1,0 mL/min. El programa de gradiente empleado fue: 0,0 min 100% A, 10 min 99% A y 1% B, 15 min 90% A y 10% B, 16 min 100% A y 20 min 100% A<sup>10</sup>.

#### **Determinación de la linealidad y sensibilidad**

Los estándares de  $\beta$ -sitosterol 95% y  $\beta$ -sitosterol 40% fueron empleados para realizar tres curvas de calibración, luego fueron diluidos y filtrados con membrana Millipore 0,45  $\mu\text{m}$ . El límite de detección fue determinado a la máxima sensibilidad.

##### **- 1ª Curva de calibración con estándar $\beta$ -sitosterol 95 %**

A partir de una disolución stock de 0,26 mg/mL del estándar fueron preparadas siete diluciones en diclorometano, obteniéndose concentraciones en el rango de 0,5 a 30  $\mu\text{g/mL}$ .

##### **- 2ª Curva de calibración con estándar $\beta$ -sitosterol 95 %**

A partir de una disolución stock de 0,244 mg/mL fueron preparadas cinco diluciones en eluyente A, obteniéndose una concentración en el rango de 2 a 232  $\mu\text{g/mL}$ .

##### **- 3ª Curva de calibración con estándar $\beta$ -sitosterol 40 %**

A partir del estándar fueron preparadas tres diluciones en eluyente A, obteniéndose concentraciones en el rango de 130 a 200  $\mu\text{g/mL}$ .

### **Preparación de la muestras de HMS y TM**

#### **Procedimiento general**

Tres pesos de HMS (2g, 5g y 8g) fueron utilizados para seleccionar el peso equivalente adecuado para las muestras de TM. En ambas muestras la fracción lipídica que contiene los esteroides fue extraída con diclorometano por ultrasonido, purificados en microcolumnas con sílicagel, filtradas con membrana Millipore 0,45  $\mu\text{m}$  y colocadas en viales de 2 mL para su análisis por HPLC.

##### **- Extracción con diclorometano**

La cantidad de muestra correspondiente fue extraída con diclorometano y colocada en un baño de ultrasonido a una temperatura de  $40 \pm 1$  °C durante 50 min. Los extractos fueron vertidos en tubos de 50 mL y llevados a centrifugación durante 15 min a 3000 rpm. El líquido sobrenadante fue separado y el residuo sólido fue extraído dos veces bajo las mismas condiciones. Los extractos obtenidos fueron mezclados y purificados mediante microcolumnas de sílicagel.

#### - Purificación en microcolumna de sílicagel

Las microcolumnas de sílicagel fueron preparadas en jeringas de vidrio de 20 mL de capacidad, donde fueron compactados 3 g de sílicagel y acondicionados haciendo pasar 10 mL de diclorometano 2 veces. Posteriormente, alícuotas de 10 mL de los extractos fueron transferidos para ser eluidos (a presión de émbolo) y recolectados

#### Muestra HMS

La extracción fue realizada dos veces, empleando 15 mL de diclorometano para cada uno de los 2g de muestra pesados por triplicado. Los extractos fueron mezclados y enrasados con diclorometano a 100 mL. La muestra fue inyectada en el equipo HPLC y analizada empleando la primera curva de calibración, después fueron pesadas una muestra de 5g y tres de 8g extrayéndose en 30 mL de diclorometano, dos veces la muestra de 5g y tres veces la de 8g. Los extractos fueron mezclados y purificados con sílicagel de acuerdo al procedimiento anterior. Finalmente, todos los extractos fueron concentrados en corriente de aire y llevados a un volumen final de 10 mL con eluyente A. Las muestras de 5g y 8g fueron inyectadas en el HPLC y analizadas con la segunda y tercera curvas de calibración, respectivamente.

#### Muestra TM

Para obtener un polvo fino, 20 tabletas de maca fueron pulverizadas. Después, 8g de este polvo fueron pesados y mezclados con 30 mL de diclorometano para la extracción por dos veces. Los extractos fueron mezclados y purificados en forma similar a la muestra de HMS de 5g. El extracto purificado fue concentrado en corriente de aire, redisoluto a 10 mL con eluyente A y analizado por HPLC utilizando la 2<sup>da</sup> y 3<sup>ra</sup> curva de calibración.

#### Análisis de datos

Los valores de desviación estándar relativa (DSR) y los coeficientes de correlación lineal ( $r^2$ ) fueron calculados empleo del software del equipo HPLC.

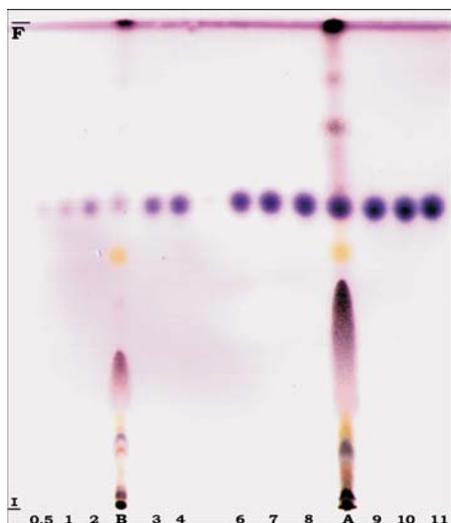
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Preparación del extracto

Las extracciones realizadas a la muestra de HMS aplicando disolventes en gradiente creciente de polaridad y secado posterior, ha permitido obtener los siguientes porcentajes de extracto seco: 2,18 % con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 0,58 % con AcOEt y 11,59 % con MeOH 70 %. Tales resultados muestran que el mayor porcentaje de extracción fue obtenido con metanol al 70 %, es decir que la HMS posee una mayor proporción de componentes polares, mientras que los componentes de baja polaridad están presentes en el extracto de diclorometano y acetato de etilo. Dini y colaboradores reportaron 2,2 % de extracto  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  que según sus estudios corresponden a la fracción lipídica donde se encuentran los esteroides<sup>8</sup>.

### Identificación de esteroides por CCF

La identificación de los esteroides fue realizada en el cromatograma comparando las manchas de color morado-violáceo obtenidas después del revelado tanto en el estándar  $\beta$ -Sitosterol 40%, como en los extractos de diclorometano y de acetato de etilo de la muestra. La aplicación de los cuatro sistemas de eluyentes para el desarrollo de la CCF, permitió establecer el perfil cromatográfico característico utilizado posteriormente como criterio cualitativo para la identificación de los esteroides (figura 1).



**Figura 1.** Detección de esteroides mediante CCF en extractos de diclorometano (A) y acetato de etilo (B), en presencia de estándar de  $\beta$ -sitosterol 40%.

Los valores  $R_f$  del estándar de  $\beta$ -sitosterol calculados para diferentes concentraciones (0,50-11  $\mu$ L) y los extractos de diclorometano y acetato de etilo de HMS fueron iguales, obteniéndose el valor de  $R_f = 0,61$ . Esta semejanza cualitativa ha permitido identificar la presencia de esteroides en la fracción lipídica de diclorometano y acetato de etilo. Debido al color característico e intensidad del color de las manchas correspondientes los esteroides ha sido posible discriminar los esteroides de otros componentes e inclusive esteroides procedentes de diferentes extractos.

### ***Aislamiento de esteroides***

#### **Cromatografía en columna**

Para simplificar la complejidad de la fracción lipídica de la muestra HMS fue desarrollada la cromatografía de columna rápida de acuerdo a la metodología establecida por Still y colaboradores<sup>11</sup>. El desarrollo cromatográfico ha permitido eluir 53 fracciones que fueron analizadas mediante la metodología de CCF establecida con anterioridad en la identificación de esteroides y mezclas de acuerdo a su comportamiento cualitativo frente al revelador químico. Esto es, la presencia de manchas de color violeta-morado intenso y las coincidencias de los  $R_f$  con los del estándar  $\beta$ -sitosterol 40 %.

El procesamiento de la muestra permitió simplificar el número de fracciones hasta un total de 7: F 8-13 (N° 1), F 14-15 (N° 2), F 16-18 (N° 3), F 19-29 (N° 4), F 30-39 (N° 5), F 43-49 (N° 6), F 51-73 (N° 7). El análisis cualitativo de las 7 fracciones mediante CCF ha permitido establecer que las más importantes son 3 de ellas: N° 2, N° 5 y N° 6. Las demás no presentaron la coloración propia de los esteroides o como en el caso de la fracción N° 3, donde las manchas correspondientes a esteroides eran débiles.

#### ***Purificación por CCFP***

Considerando los resultados de la CCF, el proceso de purificación fue aplicado a las fracciones N° 2, N° 5 y N° 6. Este proceso fue realizado dos veces, sembrando cada una de las fracciones en CCF-P y desarrollando la CCF de igual forma que para el proceso de identificación. No

obstante, que la identificación de las tres fracciones fue realizada, la fracción N° 5 presentó una nueva mancha de color violeta-morado, cuyo valor de  $R_f$  no coincidió con el del estándar, mientras que las fracciones N° 2 y N° 6 presentaron valores de  $R_f$  coincidentes con los del estándar.

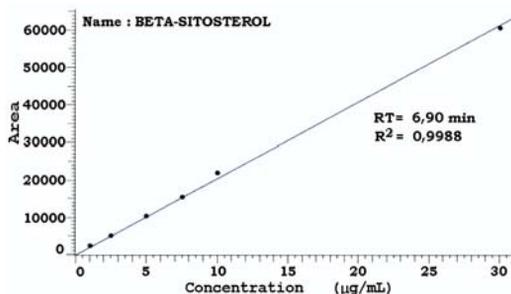
Una vez desarrollada la CCF-P de las tres fracciones y ubicadas las zonas correspondientes a las manchas de esteroides de acuerdo a los valores de  $R_f$  se obtuvieron 3 sólidos de color blanco con pesos de: 110 mg (N° 2), 85 mg (N° 5) y 72 mg (N° 6) que contenían los esteroides. Los sólidos correspondientes a las fracciones N° 2 y N° 6 fueron analizados por HPLC y el de la fracción N° 5 fue colocado en un frasco de color ámbar, herméticamente cerrado y a temperatura de refrigeración para su análisis posterior mediante cromatografía gaseosa-espectrómetro de masas (CG-EM).

### Determinación de esteroides por HPLC

La metodología descrita en el presente trabajo está basada en el método desarrollado por Dini y cols. que permite el análisis directo del  $\beta$ -sitosterol en los extractos de muestras de maca. Para la adecuación de la metodología se determinaron la linealidad y sensibilidad.

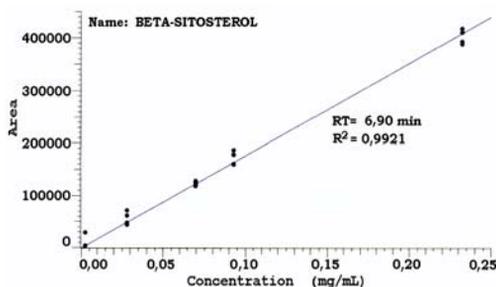
### Determinación de linealidad y sensibilidad

Se prepararon disoluciones de los estándares de  $\beta$ -sitosterol 95 % y  $\beta$ -sitosterol 40 % a diferentes rangos de concentración, se inyectaron en el HPLC y se correlacionaron las áreas determinadas contra las concentraciones empleadas. Las dos curvas de calibración del estándar de  $\beta$ -sitosterol 95 % presentan un comportamiento lineal en el rango de concentraciones de 1.0 – 231.8  $\mu\text{g/mL}$  con DSR menores de 3,6 %, valores de  $r^2$  igual a 0,9988 y 0,9921 para la 1<sup>ra</sup> y 2<sup>da</sup> curva de calibración, respectivamente (figuras 2 y 3).



Puntos	( $\mu\text{g/mL}$ )	Área	Puntos	( $\mu\text{g/mL}$ )	Área
1	0,494	No detectado	5	7410	15567
2	0,988	2489	6	9880	21972
3	2,470	5161	7	29640	60774
4	4,940	10441			
$r^2$ (6 puntos)				0,9988	
TR				6,90 min (0,0 % RSD)	

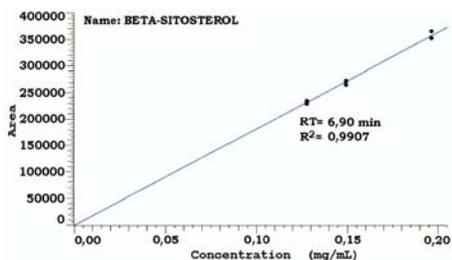
Figura 2. Curva de calibración con estándar de  $\beta$ -sitosterol 95% (0,5 a 30  $\mu\text{g/mL}$ ).



Puntos	(µg/mL)	Primera Medición			Segunda Medición		
		Nº	Promedio Área	% RSD	Nº	Promedio Área	% RSD
1	002.318	2	4572.0	8,011	1	30014	-
2	027.816	2	46675.0	4,917	2	67074	10,88
3	069.540	2	120056.5	2,161	2	126920	1,13
4	092.720	2	159417.5	0,168	2	182021	3,54
5	231.800	2	390998.0	0,910	2	414588	1,33
r <sup>2</sup> (19 puntos)					0.9921		
TR					6.90 min (0.15 % RSD)		

Figura 3. Curva de calibración con estándar de β-sitosterol 95% (2 a 232 µg/mL)

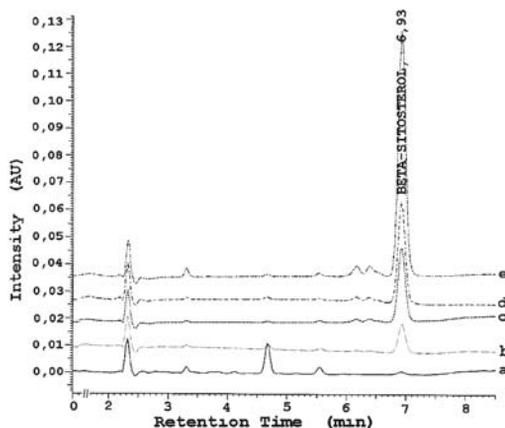
La 3<sup>ra</sup> curva de calibración con el empleo del estándar de β-sitosterol 40% también presentó un comportamiento lineal con un valor de  $r^2 = 0,9907$  en el rango de concentración de 130 a 200 µg/mL y un valor de DSR igual a 0,18%.



Puntos	(µg/mL)	Medición		
		Nº mediciones	Promedio Área	% DSR
1	131,56	2	231780	1.452
2	153,82	2	268570	2.069
3	200,24	2	358170	2.681
r <sup>2</sup>		0.9907		
TR		6.91 min (0.18 % DSR)		

Figura 4. Curva de calibración con estándar de β-sitosterol 40% (130 a 200 µg/mL).

Los resultados obtenidos muestran que la linealidad del método es adecuada para los rangos de concentración evaluados, siendo la segunda curva de calibración para el  $\beta$ -sitosterol 95 % la de mayor precisión al presentar el valor de DSR más bajo (0,15 %). El pico correspondiente al  $\beta$ -sitosterol fue detectado a un tiempo de retención TR = 6.90 min para todas las corridas en el desarrollo de la segunda curva de calibración. En la figura 5 se muestra el tiempo de retención y la forma del pico del estándar de  $\beta$ -Sitosterol en todos los perfiles cromatográficos. Se hace evidente, que bajo las condiciones experimentales empleadas se obtiene una buena resolución cromatográfica en un tiempo razonablemente corto.



**Figura 5.** Perfiles cromatográficos para el estándar de  $\beta$ -sitosterol 95 % (2 a 232  $\mu\text{g/mL}$ ).

La IUPAC define la sensibilidad de un método analítico como su capacidad de diferenciar dos cantidades o dos concentraciones de analito muy parecidas. Algunas veces se asocia la sensibilidad de un método a su capacidad de medir concentraciones muy bajas y se recurre al límite de detección como una estimación de la misma. De lo expuesto resulta que cuanto mayor sea la sensibilidad de un método menor será su límite de detección. En este sentido, el límite de detección obtenido fue de 1  $\mu\text{g/mL}$ <sup>12,13</sup>.

#### **Cuantificación de esteroides en muestras de maca**

Durante la extracción de esteroides en las muestras, la sílicagel actúa reteniendo los componentes más polares (pigmentos oscuros) del extracto y los menos polares como los esteroides son débilmente retenidos, por tal razón son eluidos con facilidad al emplear el diclorometano.

La evaluación de la precisión del método de extracción para las 3 cantidades de muestras (2 g, 5 g, 8 g), como se observa en la tabla 1 muestra que tomando 2 g de muestra la extracción se realiza con precisión (< 6% DSR), pero el sistema cromatográfico responde con valores mayores a 2% DSR área. Para 5 g tanto la extracción como el sistema cromatográfico responden con precisión < 2% DSR. Sin embargo, para 8 g la extracción se hace menos precisa por lo que se necesita realizar un mayor número de extracciones (triplicado). El sistema cromatográfico responde con mayor precisión < 2% DSR de área. Finalmente, se establece que con 5 g de muestra se obtienen mejor rendimiento en la extracción y exactitud en el proceso de cuantificación mediante HPLC.

**Tabla 1.** Resultado de la determinación del  $\beta$ -sitosterol en 2g, 5g y 8g de HMS.

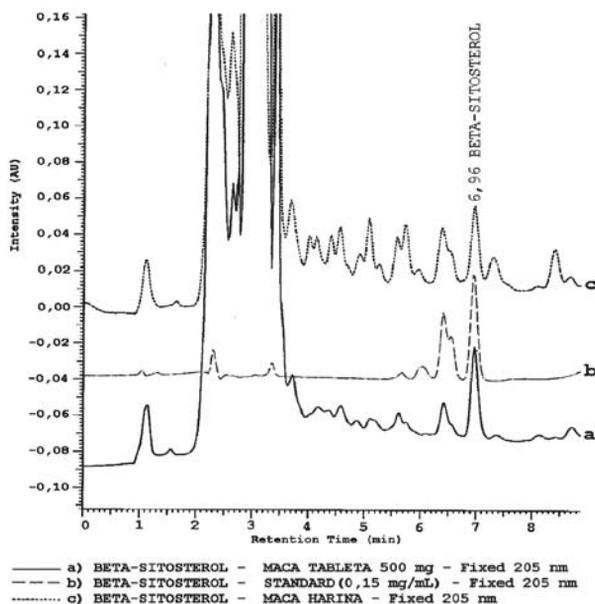
PARÁMETROS	PROCESADO			PROCESADO				PROCESADO			
	1 <sup>ra</sup> curva Estándar 95 %			2 <sup>da</sup> curva Estándar 95 %				3 <sup>ra</sup> curva Estándar 40%			
Cantidad Muestra	2 g			5 g		8 g		5 g		8 g	
N° extracciones	(2)			(2)	(2)	(3)	(3)	(2)	(2)	(3)	(3)
N° de muestra M	M - I	M - II	M - III	M - I	M - I	M - I	M - II	M - I	M - I	M - I	M - II
N° de medidas	3	3	3	3	2	3	3	3	2	3	3
Promedio Área	7459	7192	7095	158878	182931	250944	219532	158227	182310	250453	219140
% DSR Área	8,051	2,305	7,505	0,315	0,942	1,695	1,082	0,506	0,939	0,656	1,248
mg $\beta$ -sitosterol/100gM	17,49 (2,599% DSR)			17,99	12,88	16,55 (9,73%DSR)		17,93	12,85	16,54 (9,72%DSR)	
TR	6,89 min (0,220 % DSR)			6,91 min	(0,09 % DSR)			6,91 min (0,09 % DSR)			
Criterio de Aceptación del método Extracción	< 6% DSR para productos naturales										

También se aprecia que los resultados utilizando los dos estándares no muestran diferencias significativas respecto a la recuperación del  $\beta$ -sitosterol por lo que el estándar al 40 % se puede emplear con la ventaja de cuantificar simultáneamente  $\beta$ -sitosterol, campesterol y dehidrobrasicasterol. Para la muestra TM el empleo de 8 g permite alcanzar una precisión en la extracción de 5,7 % DSR con un criterio máximo de aceptación < 6 %, mientras que el sistema cromatográfico alcanza un % DSR área < 2, lo que corresponde a una aceptable reproducibilidad (tabla 2).

**Tabla 2.** Resultado de la determinación del  $\beta$ -sitosterol en tabletas de maca de 500 mg utilizando estándar 95 % y 40 %.

8g de maca tabletas (promedio por tableta. 0,84903 g)				
PARÁMETROS	PROCESADO		PROCESADO	
	2 <sup>da</sup> curva Estándar 95 %		3 <sup>ra</sup> curva St.49%	
N° muestra M	M-1	M-2	M-1	M-2
N° de medidas	03	03	03	03
Promedio área	192257	177837	191427	176987
% DSR Área	0,44	1,02	0,450	1,04
Resultado mg	0,1111		0,1108	
$\beta$ -Sitosterol /tableta	(5,707 % DSR)		(5,740 % DSR)	
TR	6,91 min (0,087 % RSD)			
Aceptación DSR área	< 2% (USP 25 <sup>13</sup> )			
Aceptación extracción	< 6% DSR para productos naturales			

Finalmente, la determinación de esteroides en muestras de HMS y TM permitió identificar y cuantificar la presencia de  $\beta$ -sitosterol. Los resultados obtenidos fueron 0,18 mg/g de HM y 0,22 mg/g de TM, utilizando el estándar de  $\beta$ -sitosterol 40 % (figura 6).



**Figura 6.** Perfiles cromatográficos de HPLC de la muestra HM (a), TM (c) y estándar  $\beta$ -sitosterol 40 % (b). TR = 6,96 min y detector UV a  $\lambda = 205$  nm.

### CONCLUSIONES

- El análisis del extracto de diclorometano mediante CCF, el empleo del estándar de  $\beta$ -sitosterol y el revelado químico con vainillina- $H_2SO_4$  (A), anisaldehído- $H_2SO_4$  (B) y el reactivo de Lieberman-Bouchard; constituyen un método rápido, sensible y barato para detectar la presencia de esteroides en maca.
- La utilización conjunta de las técnicas de CC y CCF en las condiciones descritas en este trabajo, simplifica la complejidad química de metabolitos secundarios de la maca, permitiendo caracterizar algunos esteroides y facilitando la aplicación de HPLC.
- El método de HPLC empleado para cuantificar  $\beta$ -sitosterol en los extractos de maca es lineal y sensible para los rangos de concentración evaluados (1,0-231,8  $\mu\text{g/mL}$ ) con un valor adecuado de RSD = 0,15 % y un límite de detección de 1,0  $\mu\text{g/mL}$ .
- La cantidad de muestra necesaria para obtener el mejor rendimiento en la extracción de esteroides y exactitud en la determinación de  $\beta$ -sitosterol fue de 5 g.
- La detección de  $\beta$ -sitosterol fue rápida y precisa a un tiempo de retención TR = 6,90 min.
- El contenido de  $\beta$ -sitosterol en HMS y TM fue: 0,18 mg/g y 0,22 mg/g, respectivamente.
- La caracterización estructural de la fracción N° 6 requeriría por su naturaleza la aplicación de una técnica como CG-EM.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo e interés por el desarrollo de este trabajo de investigación a Laboratorios Hersil S.A. y las facilidades de información, asesoría y procesamiento de datos por parte de la ONG “Desarrollo Integral” del Perú.

### REFERENCIAS

- 1 Li G., Ammermann U., Quiros C. F. Glucosinolate contents in maca (*Lepidium peruvianum* Chacon) seeds, sprouts, mature plants and several derived commercial products. *Economic Botany* 2001; 55 (2): 255-262.
- 2 Dini I., Tenore G. C., Dini A., Glucosinolates from maca (*Lepidium meyenii*). *Biochemical Systematics and Ecology* 2002; 30: 1087-1090.
- 3 Bouic P. J. D. y cols. Beta-sitosterol and beta-sitosterol glucoside stimulate human peripheral blood lymphocyte proliferation: Implications for their use as immunomodulatory vitamin combination. *Int. J. Immunopharmac.* 1996; 18: 693-700.
- 4 Zheng B. L., He K., Hyungchan C. y cols. Effect of a lipidic extract from *Lepidium meyenii* on sexual behavior in mice and rats. *Urology* 2000; 55 (4): 598-602.
- 5 Cicero F. G., Bandieri E., Arletti R. *Lepidium meyenii* Walp. improves sexual behavior in male rats independently from its action on spontaneous locomotor activity. *J. of Ethnopharmacol.* 2001, 75: 225-229.
- 6 Cicero F. G. y cols. Hexanic Maca extract improves rat sexual performance more effectively than methanolic and chloroformic Maca extracts. *Andrology* 2002; 34: 177-179.
- 7 Marín M., Arroyo J., Bonilla P. Efecto de fracciones lipídicas de *Lepidium meyenii* Walpers «maca», en el aparato reproductor de ratones. *Ciencia e Investigación* 2003; 6 (1): 9-18.
- 8 Dini A., Migliuolo G., Rastrelli L., Saturnino P., Schettino O. Chemical composition of *Lepidium meyenii*. *Food Chem.* 1994; 49: 347-349.
- 9 Wagner H. Bladt S. Plant Drug Analysis a Thin Layer Chromatography Atlas. Appendix A: Spray Reagents. Ed. Springer Verlag Berlin Heidelberg (2<sup>da</sup> edición), 1996.
- 10 Rodríguez R. J. et al. Application of High-Performance Liquid Chromatographic separation of free sterols to the screening of yeast sterol mutants. *Analytical Biochem.* 1989; 119: 200-204.
- 11 Still, W. C.; Kahn, M.; Mitra, A. Rapid chromatographic technique for preparative separations with moderate resolution. *J. Org. Chem.* 1978; 43: 2923-2925
- 12 IUPAC. Compendium of analytical nomenclature, definitive rules 1987. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1997.
- 13 Compañó B. R., Ríos C. A. Garantía de la calidad en los laboratorios analíticos. Editorial Síntesis S. A. Barcelona, pp. 237-240. 2002.
- 14 USP 25. The United States Pharmacopeia USA. Editor United States Pharmacopeia convention 25. 17 ed. Rockville Mack Printing, 2002.

## CARACTERÍSTICAS VISCOELÁSTICAS Y ESTIMACIONES DE MASAS MOLECULARES EN ALMIDÓN DE OCA (*Oxalis tuberosum*)

Patricia Glorio Paulet<sup>1</sup>, Luis Arturo Bello-Pérez<sup>2</sup>, Francisco Salas<sup>1</sup> y Evelyn Buleje<sup>\*3</sup>

### RESUMEN

Se obtuvo almidón de *Oxalis tuberosum* por extracción acuosa y sedimentación. Una parte fue sometida a un tratamiento con 95% DMSO para el estudio de propiedades moleculares por técnicas de dispersión multiángulo de luz láser (MALLS). Se estimó los siguientes valores de masas molares promedio y radios de giro para tres entradas de almidón de oca peruana: oca de Ancash, entrada: AMM5144 =  $7,17 \times 10^6$  g/mol y 114,2 nm respectivamente; oca amarilla mawuay de Cajamarca, Chota, entrada: AGM 5093 =  $9,35 \times 10^6$  g/mol y 123,2 nm y oca colorada de Junín, entrada: AVM5543 =  $8,38 \times 10^6$  g/mol y 108,3 nm.

El almidón nativo fue destinado a la caracterización viscoelástica, en dispersiones del 10% (W/V) fue analizado utilizando un Reómetro AR 2000, con un sensor de geometría de cono y plato paralelos. Se observó que para todas las entradas de oca durante el calentamiento hasta 95°C, los módulos  $G'$  y  $G''$  después de los 150 segundos adoptan un comportamiento lineal paralelo de muy poca pendiente, siendo  $G' > G''$ ; manteniendo dicha temperatura,  $G'$  y  $G''$  se incrementaron linealmente, siendo la pendiente de  $G''$  mayor. Conforme pasa el tiempo durante el enfriamiento hasta 25°C  $G' > G''$  aumentando sus valores promedio para las tres entradas de manera paralela hasta estabilizarse después de 300 segundos. Después de 12 minutos a 25°C se observó que el módulo de elasticidad  $G'$  aumenta muy ligeramente en comparación con el módulo viscoso  $G''$  quien lo hace a una mayor pendiente, lo que sugiere la formación de un gel suave con variadas aplicaciones gastronómicas.

**Palabras clave:** oca, almidón, MALLS,  $G'$ ,  $G''$ .

## VISCOELASTIC BEHAVIOR AND MOLAR MASS ESTIMATIONS OF OCA (*Oxalis tuberosum*) STARCH

### ABSTRACT

*Oxalis tuberosum* starch was obtained by water extraction and sedimentation. Part of the starch was treated with 95% dimethyl sulphoxide for being used in the study of macromolecular features by multi-angle laser light scattering techniques. The apparent weight – average molar mass ( $M_w$ ) and weight-average root-mean square radius of gyration ( $R_g$ ) were estimated as follows for peruvian oca starches: from Ancash Collecting Number AMM5144 =  $7,17 \times 10^6$  g/mol and 114,2 nm respectively; yellow oca mawuay from Cajamarca, Chota: Collecting Number AGM 5093 =  $9,35 \times 10^6$  g/mol, 123,2 nm; and reddish oca from Junin: Collecting Number AVM5543 =  $8,38 \times 10^6$  g/mol, 108,3 nm.

<sup>1</sup> Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM).

\* Av. La Molina s/n La Molina - Ap.12-056 Lima Perú.  
pgp@lamolina.edu.pe

<sup>2</sup> Instituto Politecnico Nacional - Acapulco México.

<sup>3</sup> Bióloga, estudiante de Post-Grado. Universidad Nacional Agraria La Molina  
Av. La Molina s/n La Molina - Ap.12-056 Lima Perú.

Viscoelastic properties of oca native starches (10% solids) were studied using an AR 2000 Rheometer (cone and plate geometry). It was observed after 150 seconds during the heating period and for all oca collection numbers starches studied, that storage  $G'$  and loss moduli  $G''$  adopted a linear behavior of small slope, being  $G'$  (modulus of elasticity)  $>$   $G''$  (modulus of viscosity). When temperature was kept constant at 95°C,  $G'$  and  $G''$  showed a linear increase and for  $G''$  the slope was higher. As time passed by during cooling up to 25°C,  $G' > G''$  showing a parallel increase in their value which turned mostly stable after 300 seconds. Following a period of aging of 12 minutes at 25°C it was observed that  $G'$  increases slowly meanwhile  $G''$  showed a steeper slope increase. All the results suggest that oca starch gels are soft enough for important gastronomic applications.

**Key words:** oca, starch, MALLS,  $G'$ ,  $G''$

## INTRODUCCIÓN

La oca, llamada también papa oca o íbia (*Oxalis tuberosum*) es un cultivo muy antiguo en la región; sin embargo, la información científica disponible acerca de su composición<sup>1</sup> y propiedades de sus almidones no es abundante; los datos que existe hasta el momento son principalmente de estudios realizados con variedades ecuatorianas<sup>2</sup>, bolivianas<sup>3</sup> y mexicanas<sup>4</sup>; sin embargo, tal como lo reportan en su revisión sobre cultivos andinos Sperling y King<sup>5</sup> son muy numerosas las ascensiones peruanas en comparación con las de otros países. El esfuerzo realizado en el presente trabajo contribuye a disminuir esta brecha de información.

Según lo reporta Tapia<sup>6</sup> la domesticación de la oca se evidencia en representaciones cerámicas. En los andes de Perú y Bolivia, la oca se encuentra comúnmente a 3800 msnm. En Nueva Zelanda, conocida como ñame (una variedad color rosa carne), fue introducida en 1860 con buena aceptación y se cultiva en la costa con precipitaciones moderadas, de entre unos 550 y unos 2100 mm anuales. Variedades bolivianas en la planicie de Belén han reportado rendimientos del orden de 33,0 a 26,2 TM/Ha. El rendimiento suele ser menor que el de la papa, ya que es un tubérculo de maduración tardía pero sin embargo es más resistente a las plagas. La clasificación indígena involucra, además, variables como el contenido de oxalato que le confiere mayor o menor sabor amargo, mientras que la clasificación de la oca en tres formas hortícolas ha sido sugerida por Cárdenas citado por Tapia<sup>6</sup> como sigue: Forma alba : tubérculos blancos o hialinos (el primer ecotipo descrito procedió de Chile) ; Forma flava : ocas de amarillo claro o pigmentadas posiblemente de flavones y amarillo intenso o naranjado con caroteno; y forma roseo-violácea : ocas de tubérculos con coloración desde rosa claro hasta el violáceo muy oscuro, casi negro (rojas, magentas, púrpuras).

En trabajos anteriores<sup>7</sup> hemos extraído y caracterizado el almidón obtenido en 18 entradas de oca seleccionadas de diferentes lugares del territorio peruano, determinándose los contenidos de amilosa y temperaturas de gelatinización utilizando métodos instrumentales como los del calorímetro diferencial de barrido (DSC), reportando valores de amilosa que oscilan entre los 16,4y 21,6 % para las diferentes entradas. Los datos de viscosidad utilizando el *rapid visco analyzer* (RVA) han permitido identificar que las ocas peruanas presentan temperaturas de gelatinización (entre 57 y 58 °C), algo menores a otras variedades de ocas extranjeras reportadas por la literatura, lo que indicaría una mayor facilidad de cocción.

Los materiales viscoelásticos se caracterizan por una estructura tridimensional incompleta<sup>8</sup> que se destruye por la aplicación de un esfuerzo y sólo se recupera parcialmente cuando el esfuerzo es removido. El material es más elástico cuando es más resistente a la ruptura y es más viscoso en el caso contrario. Se han descrito algunos parámetros como  $G'$ , módulo de almacenamiento y  $G''$  como módulo de pérdida. El primer parámetro se define como el

esfuerzo en fase con la deformación, dividida por la deformación en una prueba sinusoidal. El segundo, como el esfuerzo desfasado  $90^\circ$  respecto a la deformación, dividida por la deformación en una prueba sinusoidal.  $G'$  es una medida de la energía almacenada y recuperada por el material en un ciclo y es un indicador del componente elástico del material, mientras que  $G''$  es una medida de la energía disipada por calor por el material en un ciclo y es un indicador del componente viscoso del material.

Como parte de la caracterización se estiman las masas moleculares del almidón identificándose la influencia de las cantidades relativas de amilosa y amilopectina en las masas moleculares promedio del polímero. Asimismo, tal como lo señala Santacruz et. al.<sup>9</sup>, los almidones son frecuentemente modificados y adicionados en los diferentes procesos alimentarios a fin de contribuir con características específicas. Es posible, sin embargo, encontrar almidones naturales con esas características reológicas específicas; por ello, este trabajo determina los coeficientes de viscoelasticidad ( $G'$  y  $G''$ ) en el almidón de oca, utilizando pruebas dinámicas en las etapas de formación y gel a  $95^\circ\text{C}$  y retrogradación a  $25^\circ\text{C}$ .

## PARTE EXPERIMENTAL

### Lugar de ejecución

El procedimiento de extracción y preparación de los almidones para los diferentes análisis se realizó en los laboratorios físico-químicos de la Facultad de Industrias Alimentarias de la UNALM en Lima -Perú; las determinaciones de las características viscoelásticas y estimaciones de masas moleculares en los laboratorios de Investigación del Instituto Tecnológico de Acapulco - México.

**Tabla 1.** Oca utilizada.

Número de Ascensión	202073 (Oca 12)	202342 (Oca 01)	202011 (Oca 14)
Nombre de la Ascensión	Oca	Oca colorada	Oca amarilla mawuay
Género	Oxalis	Oxalis	Oxalis
Especie	Oxalis tuberosa	Oxalis tuberosa	Oxalis tuberosa
Estatus biológico	Cultivo tradicional Landrace	Cultivo Tradicional Landrace	Cultivo Tradicional Landrace
País de Origen	Perú	Perú	Perú
Collecting Number	AMM 5144	AVM 5543	AGM 5093
Lugar	Ancash, Yungay, Comunidad Huashcau	Junín, Concepción Comunidad Huánchar	Cajamarca, Chota Rojaspampa - Choctapata
Latitud; longitud; elevación	-9, 18; -77, 63; 3800 msnm	3 3376 msnm.	-6, 55; -78, 63; 2800 msnm

### Material Biológico

Los tubérculos de Oca fueron proporcionados por el Centro Internacional de la Papa. Las características del material Biológico utilizado se presentan en la tabla 1.

### Materiales

*Material necesario para trabajo en laboratorio*

### Equipos y Reactivos

- Equipo de dispersión de luz láser. Se utilizó un equipo DAWN desarrollado por Wyatt Technology acoplado a un detector auxiliar de índice de refracción: IR (Wyatt Technology Corporation, 2002).
- AR 2000 Reometro (TA instruments, Inc DE. USA) con una geometría de cono y plato paralelos, donde el cono de acero presentó un ángulo de 2° y diámetro de 60 mm, truncación de 60 µm luz entre el cono y el plato (*gap size*) de 1000 µm.
- Dimetil sulfóxido (DMSO), obtenidos de Sigma, acetona de Baker y éter dietílico de Merck.

### Métodos de análisis

*Obtención del almidón:*

- Se obtuvo el almidón de cada una de las entradas obtenidas siguiendo el siguiente método desarrollado en el CIP<sup>10</sup> y es el siguiente:
- Se realizó una selección mediante una inspección visual, luego se procedió a eliminar las extremidades y cortar el tubérculo en cubos medianos, después se homogenizó mezclando manualmente y se pesará aproximadamente 1 kg.
- Con la finalidad de romper las células y liberar los gránulos de almidón se utilizará una licuadora por 2 minutos a velocidad máxima, utilizando dos litros de agua.
- Mediante una malla de tela se filtró el afrecho producido añadiendo dos litros de agua, luego se exprimirá al máximo la tela para dejar pasar el almidón a un recipiente de 4 litros de capacidad; la pulpa y el afrecho restante se eliminaron y se procedió a la sedimentación.
- La sedimentación se realizó por tres horas, al cabo de las cuales se eliminaron cuidadosamente el sobrenadante, quedando en el fondo del recipiente el sedimento de almidón.
- Para diluir y remover el sedimento se añadieron aproximadamente dos litros de agua.
- El almidón se filtró a través de un tamiz de 200 mesh y se dejó reposar en una bandeja de plástico por dos horas.
- Se dejó sedimentar por dos horas, para luego eliminar el sobrenadante. Después con ayuda de una espátula de plástico se removió el sedimento agregando dos litros de agua y dejando reposar por 2 horas. Este procedimiento se repitió tres veces.
- Después del último lavado se dejó a temperatura ambiente de 1 a 2 horas, luego se procedió a desmenuzar el almidón con ayuda de una espátula; enseguida se colocó en bandejas de aluminio y se llevó a estufa a 45°C por 24 horas. Luego se procedió a pesar el almidón obtenido para obtener el rendimiento.

*Tratamiento del almidón con dimetilsulfóxido (DMSO) para las estimaciones de masas moleculares con técnicas de dispersión de luz láser (MALLS):*

Se utilizó el método propuesto por Bello-Pérez y col.<sup>11</sup> 1 gramo de muestra se disolvió en 20 ml de dimetilsulfóxido (DMSO) al 95%, dejando en agitación por 3 días a temperatura ambiente. La muestra se precipitó con 60 ml de etanol y almacenó toda la noche a 4° C. El precipitado fue filtrado y posteriormente lavado con 10 ml de acetona y 10 ml de éter dietílico. Después de secar el precipitado a temperatura ambiente por unas horas, para eliminar los restos de disolventes, se colocó en una estufa a 45° C por 18 a 20 hrs.

#### *Determinación de tamaños moleculares por la técnica de análisis instrumental MALLS:*

Este método se basa en que conforme el tamaño de la molécula se incrementa, la luz dispersada por ella es más pronunciada en la dirección hacia delante, cuanto mayor sea el tamaño de la partícula también mayor será la disimetría de la luz dispersada entre los ángulos de dispersión bajos y altos. El DAWN utilizado presentó detectores multiángulo<sup>12</sup> que permiten realizar estas mediciones de dispersión de luz de manera simultánea. A muy bajas concentraciones se observa una relación entre el ángulo de dispersión y las propiedades moleculares, las que fueron calculadas utilizando el programa ASTRA® que utiliza ecuaciones reportadas anteriormente por Yoo y Jane<sup>13</sup>, (2002); utilizándose la ecuación de primer orden de Zimm para el ajuste de los datos y fijando el coeficiente virial (A2) a un valor de cero<sup>14</sup>.

#### *Determinación de los coeficientes de viscoelasticidad:*

De manera similar a lo reportado por otros investigadores<sup>15</sup>, el reómetro estaba conectado a una computadora con un sistema de software de AR® (*Rheology advantage data analysis*) el cual, además del análisis de los datos, permite el registro sistemático del tiempo, temperatura, ángulo de frecuencia, ángulo de fase y G' y G'', entre otros. En el equipo, la aplicación de un torque se transforma en deformación debido al movimiento rotacional. Además, la presencia de una capucha en el equipo ayudó a prevenir la evaporación del agua y la pérdida de calor. Se usó el método oscilatorio dinámico, por el cual primero se obtuvieron para todas las muestras un barrido de deformaciones (o de amplitud del esfuerzo) a fin de determinar la región lineal donde las propiedades reológicas no son dependientes ni de la deformación ni del esfuerzo. Luego se procedió a realizar un barrido de frecuencias, para indicar los cambios en el comportamiento elástico y viscoso de la muestra con respecto al tiempo de aplicación de la deformación o del esfuerzo.

El equipo permitió estudiar un barrido de temperaturas, partiendo de 25°C; el equipo subió la temperatura de la muestra a 95°C, mantuvo la temperatura a 95°C por 12 minutos, luego la bajó a 25°C y finalmente mantuvo la temperatura a 25°C por un tiempo similar. El tiempo de equilibrio fue de 1 minuto. En cada una de estas etapas se realizaron los registros de las características reológicas de la muestra. Durante los barridos de deformación el % de strain (% de deformación) varió desde 0,1 a 5%, con una frecuencia de 1,0 Hz; valores absolutos de flujo: torque 1 micro N/m; velocidad angular 6,284 (rad/seg)

Los resultados del barrido de deformación fueron realizados con la finalidad de identificar la zona de viscoelasticidad lineal y comprobar que los posteriores barridos de frecuencia con los que se estudió la evolución de los valores G' y G'' se realicen a un nivel de deformación fija dentro de esta zona. De esta manera para los estudios con barridos de frecuencia, ésta varió desde 0,1 a 10 Hz., fijándose la deformación a % strain = 0,5, cuando se estudió la evolución de estos coeficientes de viscoelasticidad al mantener la temperatura constante a 95°C y 25°C después del enfriamiento. Para el caso de los estudios durante el calentamiento y el enfriamiento, esto se consiguió a % strain = 0,3.

#### **Metodología experimental**

Para las estimaciones de masas moleculares se prepararon 5 concentraciones diferentes de la muestra en estudio que fueron sometidas a tratamiento con DMSO, las que fueron solubilizadas en agua con ayuda de un microondas dentro de un recipiente a presión<sup>11</sup> e inyectadas en el equipo MALLS.

Para el AR 2000 Reómetro, se prepararon tres repeticiones para cada una de las muestras bajo la forma de dispersiones al 10% (W/V) de almidón de oca nativo en agua destilada y se lograron correr un mínimo de dos repeticiones y tres en la mayoría de las etapas de cocción del

almidón. Los resultados para los estudios de viscoelasticidad, fueron promediados usando la opción "Merge" que ofrece el software "TA data análisis" que viene con el equipo; esta opción permite promediar todos los datos para un mismo valor X siempre que los valores de la variable Y no tengan una variabilidad mayor del 5%.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Determinación de tamaños moleculares por la técnica de análisis instrumental MALLS:

Los resultados encontrados indicaron los siguientes valores de Masas Molares Promedio y Radios de Giro que se observan en la tabla 2; cabe señalar que por corresponder a almidones de oca que contienen ambos amilosa (entre un 16,94 – 21,68%)<sup>7</sup> y amilopectina, presentan valores de masas molares promedio ubicadas entre los valores reportados por la literatura<sup>13</sup> para la amilosa pura:  $2,8 \times 10^5$  y la amilopectina pura:  $7 \times 10^7$  y  $5,7 \times 10^9$ . Los contenidos de amilosa tienden a decrecer los valores de  $R_g$  y Mw en la mezcla<sup>13</sup>. Se menciona que para polímeros puros estos valores en promedio son:  $R_g$  10 – 60 nm para amilosa  $R_g$  200nm para amilopectina y Mw  $10^5 - 10^6$  g/mol para amilosa y  $2 \times 10^8$  g/mol para amilopectina<sup>16</sup>. Los valores encontrados permiten recomendar rangos de poros para purificaciones posteriores usando columnas de exclusión molecular que permitirían posteriormente determinaciones más precisas separando la amilosa de la amilopectina y permitan utilizar técnicas de HPSEC-MALLS; sin embargo, también se confirma la dificultad ya antes reportada<sup>15</sup> de encontrar una columna de exclusión molecular apropiada para la separación de altos Mw por técnicas de HPSEC - MALLS. Esto debido principalmente a la amilopectina de alto peso molecular. En este sentido algunos autores han reportado el éxito de técnicas que no requieren de columnas tales como las del fraccionamiento en un campo de flujo (FFF) previas al análisis en el DAWN.

En la figura 1, se presenta un modelo de ploteo Zimm para una de las muestras de oca estudiadas; todas las otras muestras presentaron comportamiento similar. Las diferencias entre ellas se observan en el cálculo de los valores RMS y MM a través de los cuales se estima  $R_g$  y Mw, los que son presentados en la tabla 2 para cada una de las muestras.

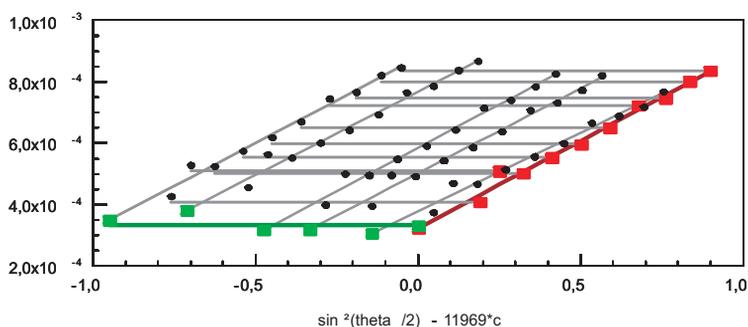


Figura 1. Ejemplo de ploteo Zimm para oca AGM 5093.

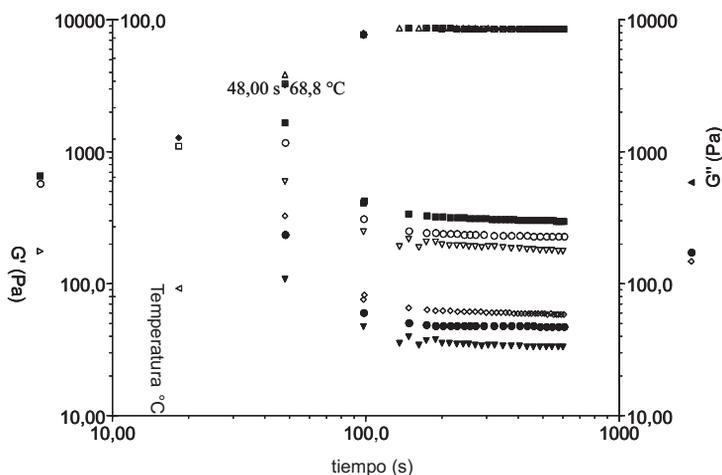
RMS : 123,2 ± 2,8 nm  
 MM : (9,354 ± 0,476)e+6 g/mol  
 A2 : 0,000e+00 mol mL /g<sup>2</sup>

**Tabla 2.** Resultados de estimaciones MALLS en el análisis de almidón de oca.

Entrada	Mw	Rg	%amilosa
AVM5543	$(8,386 \pm 0,297)e^6$ g/mol	108,3 $\pm$ 3,1 nm	21,31
AGM5093	$(9,354 \pm 0,476)e^6$ g/mol	123,3 $\pm$ 2,8nm	18,53
AMM5144	$(7,175 \pm 0,271)e^6$ g/mol	114,2 $\pm$ 2,7nm	16,65

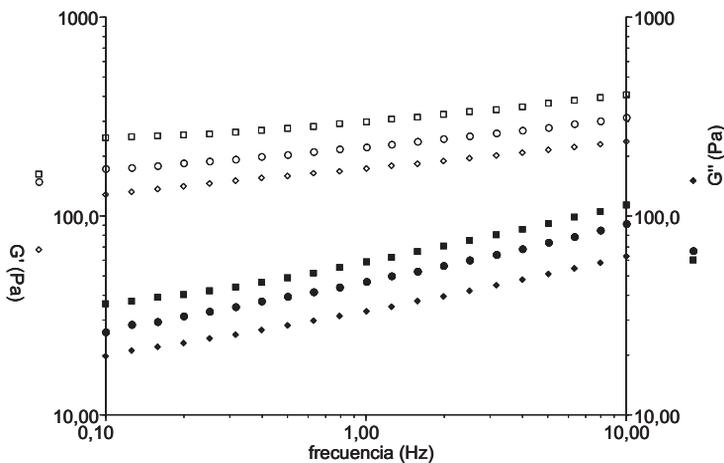
**Análisis reológico de barrido de frecuencias durante el calentamiento.**

Con las geometrías indicadas en la sección de materiales y métodos fue difícil poder ubicar un comportamiento de tipo lineal con los datos de las dispersiones de almidón trabajadas a 25°C sin calentamiento previo. Este fenómeno se explica en parte a que a 25°C los almidones de las ocas estudiadas se dispersan dificultosamente en agua, no forman verdaderas soluciones por lo cual es difícil determinar las características reológicas  $G'$  y  $G''$  propuestas con la geometría disponible en el equipo, proponiéndose la necesidad de explorar para estos casos de un sistema de platos completamente paralelos. Debido a ello el comportamiento viscoelástico a temperaturas inferiores y hasta 25°C no fueron estudiados en este trabajo.

**Figura 2** Propiedades viscoelásticas almidón de oca. (Time Sweep, 1 Hz calentamiento hasta 95°C)

- ● □ BF\_oca AMM 5144(Calentamiento 68.8°-95°), Time sweep step 1
- ◆ ◇ BF\_oca AGM 5093(Calentamiento), Time sweep step 1
- ▽ ▼ ▲ BF\_oca AVM 5543 (Calentamiento), Time sweep step 1

Si observamos en la figura 2 el comportamiento reológico ofrecido por el equipo en las condiciones de experimentación de tipo barrido de frecuencia, observamos que los registros aparecen recién cuando el almidón ya se ha calentado hasta por o menos  $68^{\circ}\text{C}$  ya que se necesitaron por lo menos 48 segundos para que el equipo llegue al nivel de deformación constante propuesto. Debemos recordar que en trabajos anteriores hemos determinado que la gelatinización del almidón de oca peruana ocurre a bajas temperaturas (AGM 5093  $58^{\circ}\text{C} - 59,27^{\circ}$ ; AMM 5144  $58,25^{\circ}\text{C} - 59,52^{\circ}\text{C}$ ; AVM 5543  $57,9^{\circ}\text{C} - 59,77^{\circ}\text{C}$ ; valores de punto de gelatinización determinados por métodos de análisis amilográfico RVA y por DSC, respectivamente). Debido a ello, en la figura 2 se encuentra ya con una pasta viscoelástica donde se observan propiedades de líquido y de sólido. La formación de la pasta indica que seguido de conseguir la gelatinización aumenta el hinchamiento de los gránulos y la exudación de sus componentes moleculares con la eventual ruptura del gránulo. Esta dinámica de formación de pasta de alguna manera se estabiliza después de 148 segundos donde se observa que la pendiente de disminución de los coeficientes  $G'$  y  $G''$  es mínima. Se observa asimismo que, a todos los niveles de frecuencia estudiados predomina el comportamiento elástico  $G'$  sobre el viscoso  $G''$ , lo que es de esperar debido al moderado contenido de amilosa de este almidón determinado en trabajos anteriores por DSC (AGM 5093, 18,2%; AMM, 16,35%; AVM 5543, 21,31%; todos en base húmeda de almidón en polvo).



**Figura 3** Propiedades viscoelásticas almidón de oca. (Barrido de Frecuencias, temperatura mantenida en  $95^{\circ}\text{C}$ )

- ● BF\_oca AMM 5144 (holding  $95^{\circ}\text{C}$ ), Frequency sweep step 2
- ■ BF\_oca AGM 5093 (holding  $95^{\circ}\text{C}$ ), Frequency sweep step 2
- ◇ ◆ BF\_oca AVM 5543 (holding  $95^{\circ}\text{C}$ ), Frequency sweep step 2

### Análisis reológico de barrido de frecuencias a 95°C

En la figura 3 se observa que para el almidón de oca manteniendo la pasta a 95°C aumentan los coeficientes tanto elásticos como viscosos; sin embargo, el comportamiento viscoso lo hace con una mayor pendiente. Como lo mencionan Atwell y Thomas<sup>17</sup> la viscosidad de la pasta es mayor cuando la mayoría de los gránulos están totalmente hinchados e intactos posteriormente la viscosidad disminuye cuando éstos son rotos y se pierde la integridad de la estructura. Kapri y Bhattacharya<sup>18</sup> mencionan que en los gránulos hinchados hay una progresiva exudación de la amilosa hacia fuera donde eventualmente forma conexiones tipo gel. A esta temperatura, si bien algunos gránulos permanecen intactos e hinchan más (aumento de  $G'$ ), otros, un mayor número ya se empiezan a romper (aumento de  $G''$ ).

### Análisis reológico del barrido de frecuencias durante el enfriamiento

Para los almidones de oca se observa en la figura 4 que los coeficientes  $G'$  y  $G''$  van en aumento a una moderada pendiente conforme la temperatura baja hasta 27°C; luego el coeficiente  $G''$  se mantiene casi constante hasta 25°C mientras que el coeficiente elástico  $G'$  sigue aumentando, pero a una menor pendiente. De esta manera, durante el enfriamiento se empieza a formar un gel el cual cuanto más firme, mayor sería el comportamiento elástico.

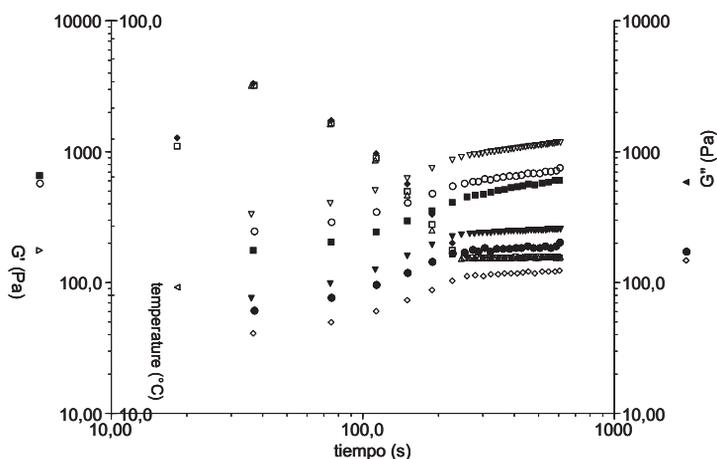


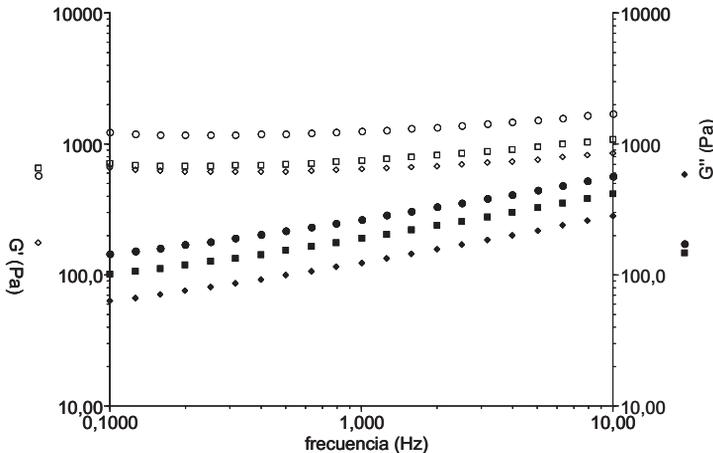
Figura 4. Propiedades viscoelásticas almidón de oca. (Time Sweep, 1 Hz enfriamiento hasta 25°C)

- BF\_oca AMM 5144 (Enfriamiento, 95°-25°C), Time sweep step 2
- ◇◆ BF\_oca AVM 5543 (Enfriamiento 95°-25°C), Time sweep step 2
- ▽▼△ BF\_oca AGM 5093 (Enfriamiento 95°-25°C), Time sweep step 2

### Análisis reológico de barrido de frecuencias a 25°C después del enfriamiento.

Después de bajar la temperatura a 25°C, se mantuvo dicha temperatura durante 12 minutos permitiéndose al equipo registrar los cambios en los coeficientes de viscoelasticidad, observándose el rango estudiado el comportamiento elástico predominante sobre el viscoso, lo que está en concordancia con lo reportado anteriormente<sup>3</sup> para almidón de variedades mexicanas. Asimismo, en la figura 5 es notorio que conforme aumenta la frecuencia de deformación, hay un mayor pendiente en el incremento del comportamiento viscoso  $G''$  en

comparación con  $G'$ ; esto nos indicaría que el gel formado con el almidón de oca es un gel más bien suave donde una mayor frecuencia en la deformación afecta su estructura tipo sólida. Al final del periodo de estudio se observa que los valores de ambos coeficientes se acercan bastante. Como ya anteriormente ha sido reportado, una mayor o menor firmeza de un gel dependería de la capacidad del almidón de formar un mayor número de reasociaciones no covalentes entre las cadenas de amilosa. El efecto de la amilosa de aumentar la firmeza de los geles durante el enfriamiento ha sido reportada por algunos investigadores como una de las causas iniciales de la firmeza del gel, el que luego cada vez se haría más firme a causa de la progresiva cristalización de la amilopectina y la co-cristalización de amilosa junto con amilopectina dentro del granulo durante el periodo de añejamiento a una determinada temperatura. Asimismo, la conservación de la integridad del gránulo ha sido encontrada importante para que tenga más fuerza la estructura de red formada, por lo que en los almidones en los que se presenta un mayor rompimiento de los gránulos el efecto en la pérdida de viscosidad es mayor, observándose un mayor comportamiento tipo fluido.



**Figura 5** Propiedades viscoelásticas del almidón de oca. (Barrido de frecuencias, temperatura mantenida en 25°C).

- ● BF\_oca AGM 5093 (holding 25°C), Frequency sweep step 3
- ■ BF\_oca AMM 5144 (holding 25°C), Frequency sweep step 3
- ◇ ◆ BF\_oca AVM 5543 (holding 25°C), Frequency sweep step 3

En dispersiones de almidón mayores al 8%<sup>19</sup> (en nuestra investigación se utilizaron concentraciones del 10%), se ha reportado una mayor rigidez de las partículas por lo que aumentaría la ruptura de los gránulos.

### CONCLUSIONES

Se pudo comprobar que para el almidón de oca de las tres entradas estudiadas, el comportamiento elástico determinado a través del coeficiente  $G'$  es el que predomina principalmente en las observaciones determinadas por encima de la temperatura de

gelatinización. Asimismo se comprueba que durante el enfriamiento se produce retrogradación y se reporta el aumento progresivo a la disminución de temperatura del módulo G'. También se obtuvo un gel que podríamos calificar como “suave”; en él se constató que una mayor frecuencia en la deformación ocasiona un aumento en su comportamiento tipo fluido evidenciado por un aumento con una pendiente más pronunciada del módulo G" en comparación con la pendiente de G' para las tres entradas estudiadas. Consideramos que esta naturaleza de almidones tiene aplicaciones muy variadas en la gastronomía de varios países de la región y en la industria.

### AGRADECIMIENTO

Proyecto CYTED XI.18 “Composición, estructura, propiedades biológicas de carbohidratos y su utilización en alimentos”.

Instituto Tecnológico de Acapulco. Laboratorio de Investigación. México.

### REFERENCIAS

1. Buleje, E., Glorio, P. Hermann, M. Diversidad de la composición de la Oca (*Oxalis tuberosa* Mol) en el Perú. I Congreso Internacional Científicos Peruanos (I CICP) Lima, Perú, 2 a 5 de Enero 2003.
2. Santacruz, S., Koch, K., Svensson, E. Ruales, J., & Eliasson, A.-C. *Carbohydrate Polymers*. 2002, 49(1), 63-70.
3. Malice, M., Martin, N., Pissard, A., Rojas-Beltran, J., Gandarillas, A., Bertin, P., Baudoin, J-P. *Genet Resour Crop Evol* 2007, 54:685–690.
4. Hernández- Lauzardo, A. N., Méndez-Montealvo, G., Velázquez del Valle, M. G., Solorza-Feria, J., Bello-Pérez, L. A. *Starch/Stärke*. 2004, (56): 357–363
5. Sperling, C.R. and King. S.R. *Andean tuber crops: Worldwide potential*. p. 428-435. In: J. Janick and J.E. Simon (eds.), *Advances in new crops*. Timber Press, Portland, OR. 1990.
6. Tapia, M.E. *Cultivos Andinos Subexplotados*. FAO. 205 p. 1990
7. Glorio, P., Barrientos, E. B., Ruales, J., Sánchez, CV. En *Avances sobre el uso y las propiedades de los carbohidratos de alimentos regionales*. Eds. E.W. Meneses., F.M, Lajolo, pp 139 -152 Proyecto CYTED XI.18/CNPq. JK Sao Paulo. 2003.
8. Solorza, J. Métodos de medición de la viscoelasticidad. En : « Introducción a la Reología » eds. Mendez, M., Nuñez, M. y Solorza, J. Instituto Politécnico Nacional. Primera Edición. México. 2001.
9. Santacruz. S., Ruales, J. Y Eliasson, A-C. *Carbohydrate Polymers*. 2003, (51):85-92.
10. Tarazona, G. Tesis Maestría. EPG- UNALM. Lima Perú 113p. 1995.
11. Bello -Pérez, L.A., Roger, B., Baud, P., Colonna, P. *J. Cereal Sci*. 1998, (27): 267-278.
12. Wyatt Technology Corporation. Advantages of the Multi - Angle Light Scattering Approach. 30 south La Patera Lane, B-7. Santa Bárbara CA 93117. www.wyatt.com. 2002.
13. Yoo, S-H., Jane, J-L. *Carbohydrate Polymers* 2002, (49): 307-314.
14. Fishman, M.L., Rodríguez, L. y Chau, H. K., *J. Agric. Food Chem* 1996, (44): 3182–3188.
15. Oomah, D., Séry, G., Godfrey, D.V. and Beveridge, T.H.J. *J.Agric. Food Chem*. 1999, (47):3546-3550.
16. Roger, P., Baud, B., Colonna, P. *Journal of Chromatography A*. 2001, (917): 179–185.
17. Thomas, D. J. y A. Atwell, W.S. *Starches*. Eagan Press. pag. 25-27. 1998.
18. Kapri, A. y Bhattacharya, S. *Journal of Texture Studies* 2008 231-251
19. Lua, T-J., Duhb, Ch-S., Linc, J-H and Chang, Y-H. *Food Hydrocolloids* 2008 (22): 164–173

## INFORMACIONES

### A - De la Sociedad Química del Perú

**La Fundación Hipólito Unanue, de la Asociación Nacional de Laboratorios Farmacéuticos (ALAFARPE)**, está convocando al Premio **Medalla de Oro Hipólito Unanue 2009**, galardón científico que tiene el propósito de reconocer y enaltecer los méritos intelectuales, científicos, culturales y humanísticos de los profesionales de las ciencias médicas, quienes a través de su actividad han destacado por su meritoria labor a favor de la profesión que ejercen, así como en su proyección social en bien de la comunidad y del país. Este premio es entregado cada tres años a un profesional de cada rama de las ciencias médicas: Medicina, Cirugía, Farmacia y Bioquímica y Odontología. La Sociedad Química del Perú, en su sesión ordinaria de fecha 06 de mayo, acordó por unanimidad designar candidato a este premio al Dr. Emilio Guija Poma por reunir los requisitos exigidos.

El Grupo Crédito, a través de la AFP Prima, está organizando el **Premio reconocimiento del adulto mayor destacado**, el mismo que tiene como propósito rendir tributo a aquellos adultos mayores que se encuentran en plena actividad y que hayan destacado en forma sobresaliente por una larga trayectoria, brindando sus valiosos aportes a la sociedad desde diversos campos, y cultivando valores éticos y morales, constituyendo un vivo testimonio y modelo a seguir por las presentes y futuras generaciones. La Sociedad Química del Perú, asimismo, acordó por unanimidad nombrar candidata a este premio a la **Dra. Olga Lock de Ugaz**, socia vitalicia y ex - Presidenta de la Sociedad

### Conferencias Jueves Científicos

Dentro del marco del ciclo de conferencias científicas, La Sociedad Química del Perú, organizó las siguientes:

**"Prevención de accidentes químicos: Análisis de casos**, dictado por **Jorge Luis Pérez Loayza**, Ingeniero Químico de la UNMSM, Magíster en Economía del Medio Ambiente y Recursos Naturales, realizado el jueves 30 de abril del presente.

**"El agua en el laboratorio"**, dictado por **Jorge Luis Yui Navarro**, Ingeniero Químico de la Facultad de Química e Ingeniería Química de la UNMSM; Maestría en Administración con Mención en Gestión Empresarial en la Unidad de Post Grado de la Facultad de Ciencias Administrativas de la UNMSM, realizado el 21 de mayo del presente.

### Avances de las X Jornadas de Bromatología y Nutrición

Las X Jornadas de Bromatología y Nutrición "Dra. Teresa Blanco Blasco de Alvarado-Ortiz" se realizarán del 25 al 27 de junio en la ciudad de Huacho, la capital de la hospitalidad, donde reuniremos a las principales instituciones ligadas al tema, a destacados investigadores internacionales y amigos relacionados al campo de alimentación en sus diferentes actividades. Las áreas temáticas desarrollarán los avances actuales en los diferentes campos de la nutrición, alimentación y agroindustria.

En esta oportunidad la Sociedad Química del Perú y la Universidad José Faustino Sánchez Carrión brindarán reconocimiento a la Dra. Teresa Blanco de Alvarado-Ortiz durante las Jornadas, por su gran aporte al conocimiento y el estudio de los alimentos. la Dra. Blanco es una destacada docente e investigadora de gran trayectoria, quien ha dedicado su vida a la nutrición y a la ciencia de los alimentos y que ha participado activamente en la enseñanza de la Nutrición en la UNMSM, UNIFE, USMP, UFSC y en la UPC.

Contaremos con la participación de investigadores internacionales como el Dr. Jorge Martínez Herrera del CEPROBI-IPN, México; la Dra. Lilia Masson del Centro de Investigación y Desarrollo en Grasas y Aceites de la Universidad de Chile; la Dra. Inocencia Peralta López del Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas de la Universidad Nacional de Asunción-Paraguay, y la Dra. Esperanza Torija Issasa de la Universidad Complutense de Madrid, España.

Asimismo, contaremos con destacados profesionales e investigadores y amigos peruanos, tales como el Dr. Eduardo Calvo Buendía, Premio Nobel de la Paz 2007, ÚNMSM - Perú; el Dr. Carlos Alvarado-Ortiz Ureta, ex Coordinador del Doctorado en Bioquímica y Nutrición de la Universidad de San Martín de Porras; la Dra. María Elena Ugaz, Oficial de Nutrición y Desarrollo Infantil, UNICEF; el Dr. Alfonso Zavaleta, Vicedecano de la Facultad de Ciencias de la Universidad Peruana Cayetano Heredia; el Dr. Ricardo Fujita, Director del Instituto de Genética y Biología Molecular de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de Porres; el Dr. Fernando Quevedo Ganoza, Past-Decano de la Facultad de Farmacia y Bioquímica; el Dr. Javier Gómez Guerreiro Director de la Escuela de Nutrición de la Universidad Alas Peruanas; la Mg. Faviola Jiménez Ramos, Directora de la Red de Alimentación y Nutrición; el Dr. Mano Mujica Ferreira, Jefe de la Unidad de Soporte Nutricional Artificial y Metabólico (USNA) del Hospital Edgardo Rebagliati Martins; Emilio Guija Poma, Vicepresidente del Sociedad Química del Perú; Roxana Fernández Condori, Decana del Colegio de Nutricionistas, y el Ing. Nelson Chui Mejía Presidente de la Región Lima, quienes nos brindarán lo mejor del conocimiento actual en sus respectivos campos.

## **B.- Otras informaciones**

El **Colegio de Químicos del Perú**, presidido por su Decano Dr. Mario Ceroni Gallaso, ha decidido publicar la “Revista Oficial del Colegio de Químicos del Perú”. El primer número salió a mediados del mes de abril. En el editorial, el Dr. Ceroni señala cuál será la “línea” de la revista. : “Difundir artículos periodísticos sobre temas científicos, tecnológicos y técnicos del campo de las ciencias químicas que tengan relevancia, claridad y traten temas de interés para la industria química y los profesionales químicos”.

En este primer número se publica, entre otros temas:

- Seguridad y salud ocupacional de los trabajadores expuestos a sustancias químicas
- Labor docente e investigadora del Dr. Carlos Rodríguez Pichiling.
- Entrevista a la Dra. Lucía Pozzi Escot, destacada docente universitaria.
- Aportes al debate, desde el punto de vista químico, sobre el Proyecto de Ley, para el uso de la hoja de coca como harina y en bebidas.
- Desde la Revista de la SQP, saludamos esta nueva publicación y le deseamos larga vida.

L. V. F.

Edición gráfica:  
**ESERGRAF**  
Jr. Huancavelica 293 Of. 412 , Lima  
Telfs.: 998-513-545 / 4267147  
[mig5548@yahoo.com](mailto: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

Vol. I

JULIO  
1934

No. 1