

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)

VOLUMEN 75 Nº 3 JULIO - SEPTIEMBRE 2009

**75 AÑOS**  
JULIO 1934 - JULIO 2009



**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.

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



**Dr. Juan de Dios Guevara Romero**

**1910 - 2000**

**EDITOR**

**del**

**Boletín (hoy Revista) de la**

**Sociedad Química del Perú**

**durante 60 años**

**(1940 - 2000)**

**REVISTA  
de la  
SOCIEDAD QUÍMICA  
DEL PERÚ**

**(Rev Soc Quím Perú)**  
**ISSN 1810 - 634X**  
Revista Trimestral

DIRECTOR:  
**Mario Ceroni Galoso**  
Univ. Nac. Mayor San Marcos, Perú

EDITOR:  
**Luis Valles Fernández**  
Univ. Nac. Ingeniería, Perú

EDITOR ASOCIADO:  
**Naldo Balarezo Genstein**  
Univ. Per. Cayetano Heredia, Perú.

**Revista indizada en el Chemical Abstracts, SciELO y Latindex  
Licenciada en EBSCO**

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**

**JULIO - SETIEMBRE, 2009**

**N°3**

En el Perú: N° suelto S/.15

Suscripción anual: S/. 60.00

En el extranjero: Suscripción anual: \$50.00

# CONTENIDO

(Vol 75 N° 3 - 2009)

– Editorial .....	279
-------------------	-----

## Trabajos originales

– Descomposición térmica de catalizadores de níquel soportados sobre sílice, sintetizados por impregnación y método del amonio, por Marlin Villarroel, José F. Balbuena, María A. Lacruz, Álvaro Uzcátegui, Héctor del Castillo, Freddy Imbert y Alfonso Loaiza – Gil. ....	281
– Evaluación de la actividad antioxidante de la pulpa, cáscara y semilla del fruto del camu-camu ( <i>Myrciaria dubia</i> H.B.K.), por Víctor Sotero Solís, Luz Silva Doza, Dora García de Sotero y Sixto Imán Correa. ....	293
– Síntesis de glicósidos de salicilato de metilo, por Violeta Rodríguez Romero y Marco A. Brito Arias. ....	300
– Ahorro de energía en el proceso de fabricación de clinker de cemento, empleando mineral de fluorita (CaF <sub>2</sub> ), por Rubén Gilvonio Alegría y Fernando Domínguez Linares. ....	303
– Comparación de la acción antiinflamatoria y analgésica de polvo de <i>Salpichroa organifolia</i> con AINES, utilizados en medicina veterinaria, por Mónica Alejandra Boeris y Ricardo Enrique Toso. ....	310
– Diferenciación química de tres morfotipos de <i>Mauricia flexuosa</i> . L.f. de la amazonía peruana, por Pedro S. Vásquez-Ocmín, Víctor E. Sotero, Dennis del Castillo Torres, Luis Freitas Alvarado y Martha M. Marco Luján. ....	320
– Estudio del proceso de biosorción de dos colorantes estructuralmente diferentes sobre residuos avícolas, por Angelina Hormaza y Édgar Suárez García. ....	329
– Confiabilidad analítica en matrices arqueológicas, mediante la participación en ensayos de aptitud, por Patricia Bedregal, Pablo Mendoza, Blanca Torres y Marco Ubillús. ....	339
– Estudio teórico de las propiedades electrónicas y estructurales, a través de la evolución en el ángulo de torsión de CHO –OH, CHS-OH y CHS-SH, por R. Pumachagua, R.H. Pecho, R.H. Pino, E.O. Nagles y J.J. Hurtado. ....	345
– Algas marinas del litoral peruano como biosorbentes potenciales del ion Cu (II) en tratamiento de afluentes industriales, por Úrsula F. Reyes, Abel E. Navarro y Bertha P. Llanos. ....	353
– Aislamiento y selección de microorganismos degradadores de limonina, por Flavio Ccoriñaupa H., Víctor Meza C. y Alejandro Fukusaki Y. ....	362
– Actividad antioxidante de los extractos del chopé ( <i>Gustavia augusta</i> L.), por D.E. García – Torres, V. Sotero Solís, D.A.P. Mancini, R.P. Torres y J. Mancini – Filho. ....	374

## Enseñanza de la Química

– Efectos de un programa de enseñanza de la química en secundaria, basado en el uso de la teoría de las inteligencias múltiples (T.I.M.), por Rosario Margarita Santos Rodas. ....	382
--	-----

## Informaciones

A. De la Sociedad Química del Perú .....	395
B. Otras informaciones .....	397

---

## 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

### La continuidad de nuestra Revista

Antiguamente los científicos se mantenían comunicados mediante las cartas que, impresas en gran número, se las enviaban entre ellos, hasta que Henry Oldenburg (1617-1677) tuvo la brillante idea de recoger, ordenar y publicar la correspondencia científica que él recibía en la Royal Society. El 6 de marzo de 1665 apareció el primer número de una revista científica; *Philosophical transactions* (Actas filosóficas), con el siguiente texto: “Relato de los actuales proyectos, estudios y trabajos de los eruditos de muchas partes importantes del mundo”. Otras revistas importantes fueron creadas años después, como la *Allgemeines Journal für der Chemie* que salió a luz en Lipzig en 1798 y después se convirtió en el *Journal für Praktische Chemie*. Otra revista importante fue *American Chemical Journal* que se publicó en Baltimore (USA) en 1879 y después cambió al reconocido *Journal of the American Chemical Society*.

En el Perú, en 1934, apareció el Boletín de la Sociedad Química del Perú a iniciativa de los socios de aquella época que de manera visionaria entendieron la importancia y la necesidad de la comunicación científica en el campo de la química. De esa manera los científicos peruanos tuvimos siempre a mano un medio a través del cual divulgaríamos nuestras investigaciones. Muchos investigadores brillantes: químicos, químico-farmacéuticos, biólogos y otros científicos publicaron sus trabajos en nuestra Revista.

Desde sus inicios, en el año 1934 se han hecho enormes avances. Nuestra publicación cambió al nombre de Revista de la Sociedad Química del Perú en junio de 2003. A partir del año 2007 comenzó a editarse el formato digital y fue repartida por medio del correo electrónico a nuestros socios. Desde hace décadas nuestra Revista está indizada en *Chemical Abstracts*. En el año 2006 se indizó en *Latindex* y en 2008 en *SciELO*. A partir de enero de este año estamos licenciados en EBSCO. Todo esto condujo a ser una de las primeras publicaciones científicas peruana cuyos resúmenes pudieron ser vistos por investigadores de otras partes del mundo.

Existen varios factores que caracterizan a esta Revista y la hacen única; ellos son la clave que explican el porqué ha sobrevivido durante tantos años, cuando otras publicaciones periódicas sucumbían.

La primera es el trabajo *ad honorem* de todos los editores, desde el número uno hasta el presente, de nuestra Revista. Cuando casi todas las revistas científicas cuentan con todo un personal pagado y dedicado a la edición de la revista, en la SQP un grupo pequeño de químicos dedica su tiempo a editarla *ad honorem*.

La segunda es que, tanto el director como el editor de la misma tienen independencia con respecto a la Junta Directiva de la Sociedad Química. Es decir, nunca la Revista ha sido cuestionada, censurada ni subordinada a ninguna Junta Directiva, ni mucho menos a entes gubernamentales. Esto está consagrado en los estatutos de la SQP y siempre se ha respetado.

La tercera es la labor extraordinariamente sacrificada y laboriosa de todos los editores que ha tenido la Revista. Las imprentas periodísticas de los años 30 no eran adecuadas para colocar fórmulas y símbolos químicos; por ello, los primeros editores debieron lidiar mucho con la imprenta para llegar a un producto de calidad. Ahora es mucho más fácil; sin embargo, todavía seguimos corrigiendo las pruebas de imprenta. Antes de llevar a la imprenta los trabajos de investigación hay que verificar la calidad científica de los mismos y luego deberán estar supervisadas por el corrector de estilo. Esto que parece fácil, en realidad no lo es, ya que algunos autores despreocupados envían sus artículos sin seguir las instrucciones y otros no lo hacen en correcto español.

La cuarta característica es que los gastos de imprenta y de envío postal de nuestra Revista son asumidos por todos los socios y una parte pequeña por los autores de los artículos publicados. El casi inexistente apoyo del Estado Peruano y de la empresa privada, a pesar de la importancia y trascendencia de nuestra Revista, hacen más meritorio la contribución de la Sociedad Química del Perú a la difusión del conocimiento científico.

Desde 1665 han surgido muchas revistas científicas y también otras han quedado descontinuadas. En la actualidad también surgen nuevas publicaciones, una de las últimas Nature Chemistry, apareció en abril de este año, pero estoy seguro que muy pocas tendrán la mística y el idealismo primigenio de la Revista de la Sociedad Química del Perú.

**Dr. Quím. Mario Ceroni Galoso**  
Director

## DESCOMPOSICIÓN TÉRMICA DE CATALIZADORES DE NÍQUEL SOPORTADOS SOBRE SÍLICE SINTETIZADOS POR IMPREGNACIÓN Y MÉTODO DEL AMONIO

Marlin Villarroel\*, José F. Balbuena, Maria A. Lacruz, Alvaro Uzcátegui, Héctor del Castillo, Freddy Imbert y Alfonso Loaiza-Gil.

### RESUMEN

Catalizadores de níquel soportados sobre sílice sintetizados por impregnación (ácido, pH=5,6) y por el método del amonio (básico, pH=13,0) fueron caracterizados por Difracción de Rayos X (DRX) y Reducción a Temperatura Programada (RTP) para establecer la influencia que tienen el pH y la temperatura sobre la composición química y estructural de los sólidos sintetizados. Se estudió la descomposición térmica de los catalizadores y de sus precursores, solos y tratados con solución amoniacal simultáneamente por los diferentes métodos de análisis térmico; Termogravimetría (TGA), Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC) y Análisis Térmico Diferencial (DTA), llevados a cabo en atmósfera de aire (100ml/min) a diferentes velocidades de calentamiento (5, 10, 15 y 20° C). Los resultados sugieren que en ambiente ácido se favorece la formación de fases metálicas (NiO) superficiales de baja temperatura, mientras que en ambiente básico el níquel interactúa fuertemente con la sílice para formar filosilicatos de níquel reducibles a altas temperaturas (780°C). En ambos casos, una parte del níquel forma una fase de temperatura intermedia (430°C) posiblemente constituida por silicatos metálicos. Los resultados obtenidos por TGA y DRX sugieren que durante la descomposición de los catalizadores se forman óxidos estables de níquel. Se proponen las reacciones químicas generales para la descomposición de los sólidos. Se determinaron los valores de entalpía por DSC y la energía de activación mediante el método de Kissinger; además de otros parámetros cinéticos que rigen cada proceso de descomposición. Los patrones de descomposición de estos sólidos fueron comparados para verificar que durante la preparación del catalizador por el método del amonio modificado se forman acuoamino-complejos de níquel que se unen fuertemente a la sílice para formar los catalizadores del tipo filosilicatos de níquel.

**Palabras clave:** reducción a temperatura programada (RTP), estudio térmico (TGA-DSC y DTA), níquel, sílice.

## THERMAL DECOMPOSITION OF NICKEL CATALYSTS SUPPORTED ON SILICA SYNTHESIZED BY IMPREGNATION AND BY THE AMMONIUM METHOD

### ABSTRACT

Nickel catalysts supported on silica synthesized by impregnation (acid, pH = 5,6) and by the ammonium method (basic, pH = 13,0) were characterized by X-Ray Diffraction (XRD) and temperature-programmed reduction (TPR) to establish the influence of pH and temperature on the chemical and structural composition of the synthesized solids. Thermal decomposition

\* Laboratorio de Cinética y Catálisis, Departamento de Química, Facultad de Ciencias Universidad de Los Andes, Mérida 5101, Venezuela Telf. 582742401371

\* e-mail: marlinvillarroel@ula.ve.

of the catalysts and their precursors were studied, alone and treated with ammonia solution simultaneously by different methods of thermal analysis: Thermogravimetry (TGA), Differential Scanning Calorimetry (DSC), and Differential Thermal Analysis (DTA), conducted in air atmosphere (100ml/min) at different heating rates (5, 10, 15 and 20° C). Results suggest that an acidic environment favors formation of superficial low-temperature metallic phases (NiO), while in a basic environment nickel interacts strongly with silica to form nickel phyllosilicates reducible at high temperatures (780°C). In both cases, part of the nickel forms an intermediate temperature phase (430°C) which may consist of metal silicates. Results obtained by TGA and XRD suggest that during decomposition of the catalysts, stable nickel oxides are formed. General chemical reactions are proposed for decomposition of solids. Enthalpy values were determined by DSC and activation energy by the Kissinger method, besides other kinetic parameters that govern each process of decomposition. The decomposition patterns of these solids were compared, to verify that during preparation of the catalyst by the ammonium-modified method, acuoamino nickel complexes are formed that bind tightly to the silica to form catalysts of the phyllosilicate nickel type.

**Key words:** temperature-Programmed Reduction (RTP), Study Thermal (TG-DSC and DTA), nickel, silica.

## INTRODUCCIÓN

Un método para sintetizar filosilicatos de un metal M (M= Ni, Co, Fe), es el método del amonio, propuesto hace tiempo por Barbier y colaboradores. Este método consiste en contactar la sílice con una solución de nitrato del metal a la cual se le agrega una solución de amonio. El complejo del metal en la solución  $[M(H_2O)_{6-n}(NH_3)_n]^{m+}$  (m= estado de oxidación del metal) con  $n < 6$ ; reacciona con la superficie de la sílice, originando la formación de un compuesto del metal de dos dimensiones, como los filosilicatos que deben ser calcinados a alta temperatura para obtener el metal. La facilidad de formación y posterior destrucción del filosilicato para formar el catalizador soportado depende de la naturaleza del precursor metálico y del pH.<sup>1</sup>

La diferencia fundamental entre el método del amonio y el método de impregnación estriba en el valor del pH utilizado. En el método de impregnación se usa un pH ácido que es fijado por la sal precursora.

Existen diferentes métodos térmicos que difieren en las propiedades medidas y en los programas de temperatura. Entre los más importantes que proporcionan información química están el Análisis Termogravimétrico (TGA), Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) y Análisis Térmico Diferencial (DTA), las cuales se han convertido en herramientas muy poderosas para caracterizar los cambios conformacionales inducidos por la temperatura en cualquier muestra. Son consideradas técnicas cuantitativas ya que permiten calcular la cantidad de muestra descompuesta, los cambios de energía y cantidad de calor involucrados en las diferentes reacciones de descomposición, además de las propiedades térmicas de la muestra.

Uno de los métodos diferenciales<sup>2</sup> más utilizados para el estudio y determinación de parámetros cinéticos es el Método de Kissinger<sup>3</sup>. Este método permite el cálculo de la energía de activación a diferentes velocidades de calentamiento y la ecuación que rige el proceso puede expresarse como:

$$\ln\left(\frac{\beta}{T_m^2}\right) = -\frac{E_a}{RT_m} + C \quad (1)$$

Donde, R: constante universal de los gases ( $\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ ),  $\beta$ : velocidad de calentamiento ( $\text{K}\cdot\text{s}^{-1}$ ),  $E_a$ : energía de activación ( $\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}$ ),  $T_m$ : temperatura del pico (K) y C: es una constante. Con esta expresión se puede calcular el valor de la energía de activación al graficar  $\ln(\beta/T_m^2)$  contra  $1/T_m$ , donde la pendiente de la recta obtenida tendrá un valor de  $-E_a/R$ , pudiéndose calcular la energía de activación.

Estudiando detenidamente la forma de un pico de análisis térmico se podrá ver que en algunos casos es simétrico y en otros no. La simetría del pico está relacionada directamente con el orden de reacción del proceso químico que ocurra. De estudios anteriores<sup>3</sup> se determinó que cuando el orden de reacción ( $n = 1$ ) el pico tiene una forma simétrica, el área tanto a la derecha como a la izquierda del máximo punto de inflexión ( $T_m$ ) son iguales.

Cuando el orden de reacción decrece, la asimetría del pico aumenta. El área a la izquierda de  $T_m$  es mayor a la de la derecha. Por lo tanto, se puede tomar la forma del pico como una variable para determinar el orden de reacción a partir de un análisis térmico diferencial (DTA). Se define el índice de forma a la razón que existe entre las pendientes de las tangentes a la curva en los puntos de inflexión. Al graficar  $S$  vs  $n^2$  se encontró que éstos se relacionan según la siguiente ecuación donde se puede calcular  $n$  si se conoce  $S$ , determinado gráficamente.<sup>2</sup>

$$S = 0,63n^2 \quad (2)$$

En este trabajo se caracterizará y estudiará la influencia que tienen el pH y la temperatura, por Difracción con Rayos X (DRX) y Reducción a Temperatura Programada (RTP), sobre la composición química y estructural de los catalizadores de níquel soportados sobre sílice, sintetizados en ambiente ácido y básico, además del estudio cinético de los catalizadores por los diferentes métodos de análisis térmico, TGA, DSC y DTA, con la finalidad de calcular los parámetros cinéticos involucrados en la termodegradación de las distintas fases presentes y relacionarlas entre sí.

### PARTE EXPERIMENTAL

Los catalizadores soportados de níquel al 10% de tenor metálico se prepararon a partir de  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (98% pureza, IQE) y sílice aerosil 200 (área superficial específica de  $200\text{ m}^2/\text{g}$  Degussa). Estos compuestos fueron estudiados por TGA, DSC, DTA, RTP y DRX. Se compararon los patrones de descomposición térmica de los precursores con los del catalizador con la finalidad de establecer los cambios producidos por la síntesis con el método del amonio modificado, el cual consiste en disolver la sal precursora del metal en agua desionizada ( $18\Omega$ ). Dos a tres gotas de solución amoniaca,  $\text{NH}_4\text{OH}$  (30%  $\text{NH}_3$ , Fischer Scientific Company) para precipitar el óxido del metal que luego se disuelve con un exceso de solución amoniaca (para el catalizador básico).

Después de 1 hora de agitación, se agrega la sílice y se agita por 24h. El sólido se secó en una estufa a  $353\text{K}$  por 48h.

Los análisis TGA, DSC y DTA se realizaron simultáneamente en un analizador térmico TA Instrument, modelo SDT Q600 ( $1500^\circ\text{C}$ ) en flujo de aire ( $100\text{ ml}/\text{min}$ ) usando un peso promedio de  $10\text{ mg}$  de muestra con velocidades de calentamiento de  $5, 10, 15$  y  $20^\circ\text{C}/\text{min}$ . Los sólidos se estudiaron por DRX en un difractor de polvo marca Phillips PW1050/25. Las características en la toma de datos fueron: rango angular  $2\theta$ , tamaño de pasos  $0,002^\circ$  y tiempo de conteo  $10\text{ s}$ . Los estudios de caracterización de los catalizadores sintetizados fueron comparados con aquéllos de las sustancias precursoras a fin de establecer los cambios químicos producidos durante el proceso de síntesis.

Los análisis de reducción a temperatura programada (RTP) se realizaron en un equipo Micromeritics TPD/TPR 2900. La muestra de catalizador con un peso promedio de 0,150 g se colocó en un reactor de cuarzo, y se realizó el pretratamiento bajo flujo de aire desde temperatura ambiente hasta 550°C a una velocidad de calentamiento de 10°C/min. Luego se efectuó la reducción a temperatura programada bajo un flujo de 30ml/min de hidrógeno en argón (10%) a una velocidad de calentamiento de 10°C/min, desde temperatura ambiente hasta 1100°C.

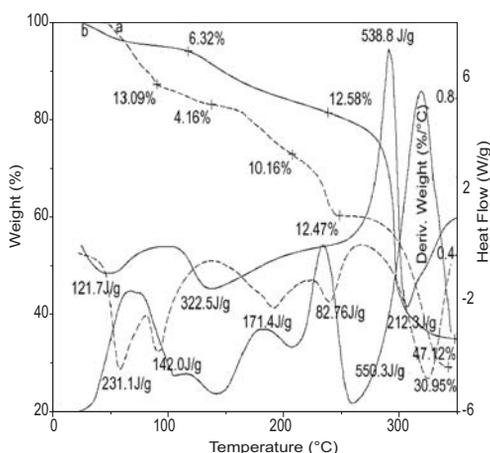
### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los análisis térmicos TGA-DTG y DSC del nitrato de níquel hexahidratado, sin tratar y tratado con el método del amonio modificado, son mostrados en la figura 1, y en las figuras 2 y 3 los análisis DTA respectivos, realizados a una velocidad de calentamiento de 15°C/min, en un rango de temperatura que varía desde ambiente hasta 350°C. La sal fresca presenta cinco picos endotérmicos, acompañados de pérdidas de masa que equivalen a 70,8% de la masa inicial, debidas a la deshidratación y descomposición térmica de los nitratos que dan lugar a la formación de óxido de níquel (II). El residuo obtenido de 29,2% nos permite calcular la fórmula del compuesto de partida, a partir de la siguiente relación:

$$\% \text{ Residuo} = \frac{\text{P.M. NiO}}{\text{P.M. fórmula inicial}} \times 100 \quad (3)$$

Este resultado sugiere que la sal de partida contiene menos agua de hidratación que la reportada en el envase comercial. Esta pérdida de agua pudo ocurrir durante la manipulación de la sal.<sup>4,5</sup>

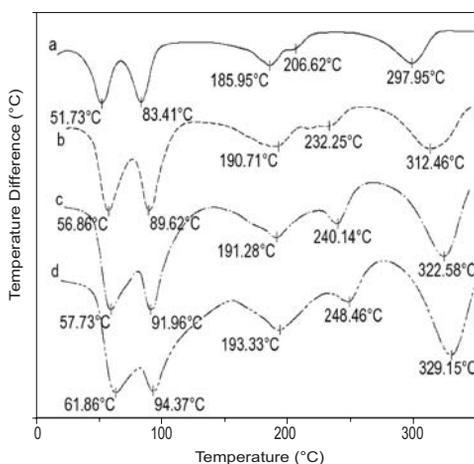
Las dos primeras etapas que ocurren en el rango de 57-92°C corresponden a la pérdida de agua de hidratación; la diferencia en la temperatura de estas pérdidas se debe a que en la estructura de la sal, las moléculas de agua se encuentran enlazadas a grupos nitratos por diferentes tipos de enlace (semipolar, fuerza de Van der Waals y puente de hidrógeno)<sup>[4,5,6,7,8]</sup>.



**Fig.1.** TGA-DSC Ni(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, sin tratar (a) y tratado con el método del amonio modificado (b), a una velocidad de calentamiento de 15°C/min en atmósfera de aire.

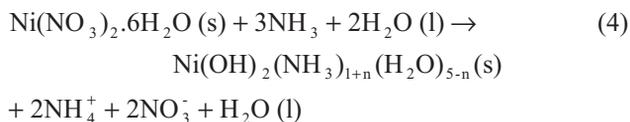
Para las dos etapas sucesivas que ocurren en el rango de 191-240°C ha sido propuesta<sup>7,8</sup> para su explicación la formación de compuestos intermedios del tipo hidroxinitratos  $\text{Ni}_2(\text{NO}_3)_2(\text{OH})_2$  y oxinitratos de níquel  $\text{NiO} \cdot \text{NiONO}_3$  con la pérdida contemporánea de  $\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{NO}_x$ .

Las entalpías, reportadas en la tabla 1, para las tres primeras etapas de descomposición presentan valores entre 226,4 y 290,1 KJ/mol lo que sugiere que en estos casos se liberan moléculas de agua que presentan diferencias entre las distancias de enlace de los átomos<sup>6</sup>. La última etapa, corresponde a la descomposición de oxinitratos, en  $\text{NO}_x$  y  $\text{O}_2$  para formar óxido de níquel estable. Estos resultados son similares a los obtenidos por Malecki<sup>7</sup> y Zivkovic<sup>8</sup> quienes reportaron patrones de descomposición para nitratos hidratados de la sal de níquel tratada con el método del amonio modificado, presenta un patrón de descomposición diferente al observado para la sal fresca; ocurren tres etapas, equivalentes a 66,02% de la masa inicial y presenta un residuo de 33,98%. metales de transición.

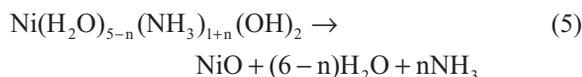


**Fig. 2.** DTA de  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  a temperaturas de 5(a), 10(b), 15 (c) y 20°C (d) en atmósfera de aire.

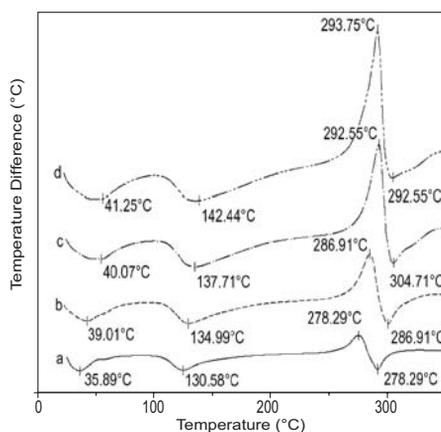
Se propone la siguiente reacción al tratar el nitrato de níquel hexahidratado con el método del amonio modificado:



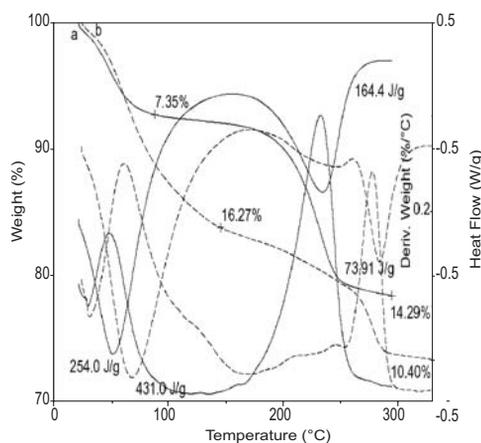
Y la descomposición térmica viene dada por:



El peso molecular calculado es de 220,4 gr/mol, valor que resulta ser superior al esperado para el nuevo compuesto formado durante la síntesis, lo que sugiere que el pico endotérmico que ocurre a 40,7°C corresponde a humedad en el sólido o parte de la sal que quedó sin reaccionar, equivalente a 6,3% con un  $\Delta H = 116,1$  KJ/mol. Las etapas siguientes que ocurren en el rango de 137-292°C, indican que la descomposición de 59,7% del acuoamino-complejo de níquel formado, ocurre en dos etapas. La exotermicidad del último pico observado puede ser debido a las reacciones (sólido  $\rightarrow$  sólido + gas) que ocurren simultáneamente con la descomposición del precursor del metal.



**Fig.3.** DTA del nitrato de níquel tratado con el método del amonio modificado a diferentes temperaturas de calentamiento: 5(a), 10 (b), 15 (c) y 20°C (d) en atmósfera aire.

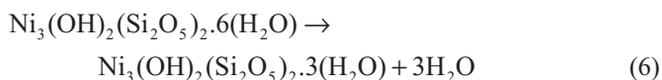


**Fig. 4.** TGA-DSC del catalizador Ni/Si<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, en ambiente básico (a) y ácido (b), realizados a una velocidad de calentamiento de 15°C/min en atmósfera de aire.

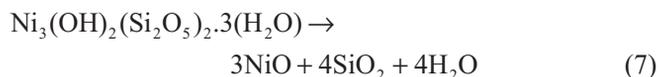
Los resultados del análisis térmico TGA-DTG y DSC y del catalizador de níquel, sintetizados en ambiente básico y ácido, mostrados en la figura 4, y en las figuras 5 y 6 los análisis DTA respectivos; muestran que la descomposición térmica del catalizador básico origina dos etapas que alcanzan 21,7% de pérdida de masa y 78,4% de residuo, con la formación de  $\text{Ni/Si}_2\text{O}_5$  a una temperatura más baja que en el caso de la sal tratada ( $\Delta T = 59,7^\circ\text{C}$ ).

El catalizador de níquel sintetizado en ambiente ácido a  $\text{pH} = 5,6$  presenta un patrón de descomposición similar al catalizador sintetizado en ambiente básico, pero sus temperaturas de descomposición son mayores y la sumatoria de sus pérdidas equivalen 26,7%.

La formación del filosilicato de níquel producto de la unión de los precursores ocurre de acuerdo a la siguiente reacción:

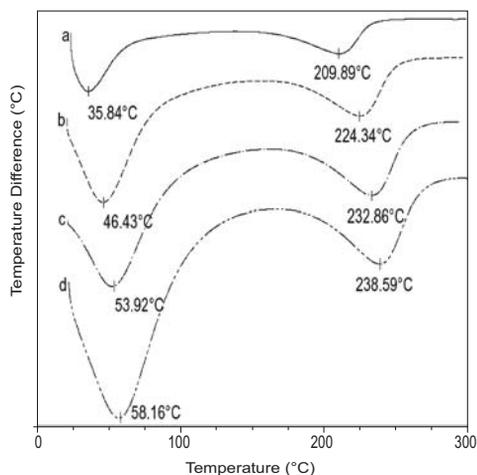


Y la descomposición viene dada por:



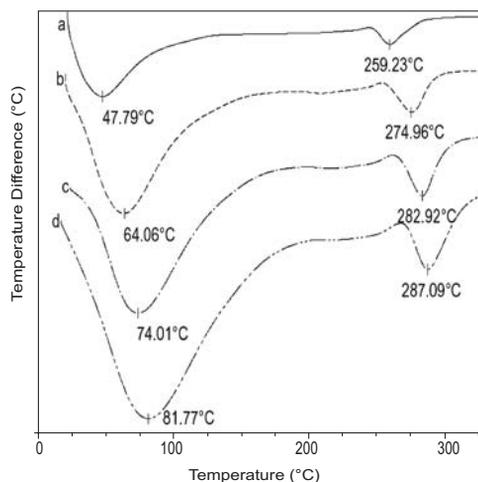
**Tabla 1.** Parámetros cinéticos obtenidos para los procesos de descomposición de cada uno de los sólidos estudiados.

Compuesto	Nº pérdidas	$\Delta H$ (KJ/mol)	S	n	Ea (KJ/mol)	Ln A	$\kappa$ (s <sup>-1</sup> )
Ni/SiO <sub>2</sub> pH= 12,9	1	292,1	1,12	1,33	48,92	21,00	15,63
	2	243,3	0,36	0,76	90,94	24,41	12,77
Ni/SiO <sub>2</sub> pH= 5,6	1	431,0	1,6	1,6	33,3	14,0	9,0
	2	73,9	1,1	1,3	111,4	26,9	12,4
Complejo de Ni	1	116,1	1,28	1,42	57,13	24,42	18,51
	2	308,8	2,63	2,04	150,92	48,18	30,16
	3	-538,8 / 212,3	2,87	1,29	190,45	44,07	20,71
Ni(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	1	290,1	2,30	1,91	125,37	49,23	37,89
	2	226,4	0,88	1,18	127,43	45,72	32,96
	3	278,1	0,81	1,13	235,57	64,93	37,74
	4	80,8	0,35	0,74	56,81	15,61	7,97
	5	691,8	0,63	1,00	115,08	25,93	11,40



**Fig. 5.** DTA del catalizador básico (pH=13) NiO/SiO<sub>2</sub> a temperaturas de 5(a), 10 (b), 15 (c) y 20°C (d) en atmósfera aire.

De acuerdo a esta reacción se espera que el porcentaje de pérdida sea de 22,0% valor que es muy cercano al obtenido experimentalmente de 21,7%; ocurre en dos etapas a temperaturas de 54°C y 233°C y se atribuyen a la pérdida de agua y/o amoniaco del acuamino-complejo de níquel que se formó durante la preparación del catalizador, y es similar al patrón encontrado para la sal tratada con el método del amonio modificado, lo que implica la formación de un nuevo compuesto donde el acuamino-complejo de níquel se une a la sílice.



**Fig. 6.** DTA del catalizador ácido (pH=5,6) NiO/SiO<sub>2</sub> a temperaturas de 5(a), 10 (b), 15 (c) y 20°C (d) en atmósfera aire.

El análisis térmico diferencial (DTA) realizado a diferentes velocidades de calentamiento (5, 10, 15 y 20°C) al catalizador de níquel y sus precursores fueron usados para determinar el índice de forma (S) y calcular el orden de reacción ( $n$ ) con la forma de los picos aplicando la ecuación (2). En la figura 7 se muestra la obtención de las  $E_a$  mediante el método de Kissinger,<sup>[3]</sup> a través de la pendiente de la curva; del catalizador de níquel y sus precursores. Conocida la energía de activación ( $E_a$ ) y el valor de  $n$ , se calculó el factor de frecuencia y la constante de velocidad ( $k$ ).

La energía de activación para el catalizador sintetizado es de 48,92 KJ/mol; para la primera etapa y está asociado a la pérdida de agua de hidratación y/o amoniaco. La etapa sucesiva tiene una energía de activación 1,85 veces mayor, indicando que el proceso no corresponde a la pérdida de “sustancias adsorbidas” sino a que el compuesto efectivamente se encuentra anclado a la sílice. Se observa que esta etapa no corresponde con la tercera etapa hallada en la descomposición de la sal de níquel tratada; la energía de activación de la etapa referida al catalizador (90,94 KJ/mol) es casi la mitad de la energía de activación de la etapa correspondiente a la sal tratada (190,45 KJ/mol), indicando que el compuesto no es el mismo y que se forma un nuevo compuesto al reaccionar el acuoamino-complejo de níquel con la sílice. En la figura 8 se observa el patrón de difracción de (a) sílice sin tratar, (b) sílice tratada con el método del amonio modificado y (c) Ni/Si<sub>2</sub>O<sub>5</sub> pH= 5,6 y (d) Ni/Si<sub>2</sub>O<sub>5</sub> pH= 13,0. Se observa para los cuatro patrones un lomo alrededor de  $2\theta = 23^\circ$ , característico de sustancias amorfas, por lo que se puede decir que el porcentaje de sílice transformada a Si<sub>2</sub>O<sub>5</sub><sup>-2</sup> es muy pequeño.

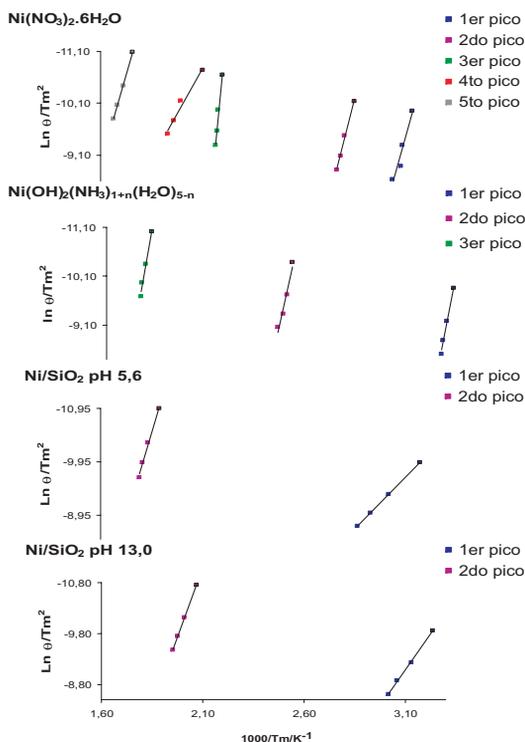
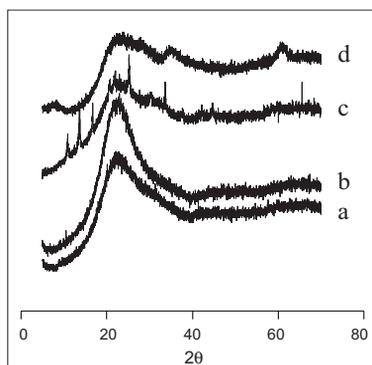


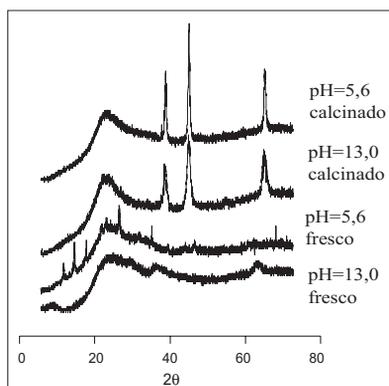
Fig. 7. Curvas para la obtención de las energías de activación mediante el método de Kissinger, a través de la pendiente para el catalizador de níquel y sus precursores.

En los patrones mostrados en las figuras 8c y 8d, se observan dos líneas de difracción poco definidas alrededor de  $37^\circ$  y  $63^\circ$  correspondientes a especies de níquel presentes bajo la forma de  $\text{Ni}^{+2}$ ; sin embargo estas líneas de difracción no son determinantes en el suministro de información de la composición química y estructural del catalizador, debido a que la sílice está enmascarando al metal. Se estudió el efecto de la temperatura sobre la composición estructural del catalizador por DRX.



**Fig. 8.** Difractogramas de (a) Sílice sin tratar, (b) sílice tratada con MAM, (c)  $\text{Ni}/\text{SiO}_2$  pH= 5,6 y (d)  $\text{Ni}/\text{SiO}_2$  pH= 13,0.

La figura 9 muestra los patrones de difracción de los catalizadores calcinados por un lapso de 1h a hasta  $1100^\circ\text{C}$ , para compararlos luego con los catalizadores frescos.



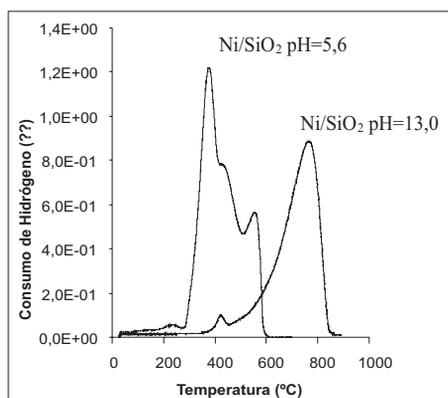
**Fig. 9.** Difractogramas de (a)  $\text{Ni}/\text{SiO}_2$  fresco pH= 12,9; (b)  $\text{Ni}/\text{SiO}_2$  fresco pH= 5,6; (c)  $\text{Ni}/\text{SiO}_2$  pH= 13,0 calcinado a  $1100^\circ\text{C}$  y (d)  $\text{Ni}/\text{SiO}_2$  pH= 5,6.

Se observa que se definen las líneas de difracción de  $37^\circ$  y  $63^\circ$ , siendo estas más intensas en el catalizador ácido. Estas líneas de difracción sugieren que estamos en presencia de  $\text{Ni}^{+2}$  ya que reflejan las intensidades y ángulos de difracción que se encuentra en la base de datos del ICDD (Internacional Center Diffraction Data) para este compuesto.

En la figura 10 se muestra la superposición de los perfiles de reducción a temperatura programada de los catalizadores sintetizados a diferentes valores de pH.

El perfil de reducción del catalizador Ni/SiO<sub>2</sub> sintetizado por el método de impregnación (pH ácido), presenta tres picos de reducción, atribuibles a la reducción de NiO presente en la superficie del soporte y especies NiO dentro del soporte,<sup>11</sup> siendo este tipo de interacción metal-soporte débil,<sup>12</sup> sin embargo se percibe que hay cierta heterogeneidad en las fases metálicas que contiene este sólido.

Una situación similar de heterogeneidad ocurre en el sólido sintetizado con el método del amonio modificado (ambiente básico); en su perfil de reducción se puede observar que existen dos fases principales de reducción.

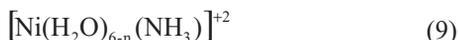


**Fig. 10.** Superposición de los perfiles de reducción a temperatura programada de los catalizadores Ni/SiO<sub>2</sub> sintetizado por el método de impregnación (pH=5,6) y por el método del amonio modificado (pH=13,0).

La primera ocurre aproximadamente a 430°C y fue observable en el sólido sintetizado en ambiente ácido, mientras que la segunda es una fase de alta temperatura (780°C) y es asignable a compuestos bidimensionales tipo filossilicato de níquel. Previamente, G.A. Martín et.al.<sup>10</sup> le atribuyeron al amoníaco un doble rol: el primero era el de funcionalizar la sílice usada como soporte de acuerdo a la siguiente reacción:



Y el segundo era el de favorecer la formación de iones complejos de níquel del tipo:



Estos iones metálicos complejos sustituyen los grupos NH<sub>4</sub><sup>+</sup> localizados sobre la superficie de la sílice y forman filossilicatos de níquel que son estructuras bidimensionales.

La evidencia experimental encontrada en este trabajo concuerda con esa suposición. En este tipo de estructuras el Ion complejo viene atrapado en forma de sandwich entre dos láminas de SiO<sub>2</sub> o Si<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, por lo que en el resto de este trabajo se identificará con Ni<sup>+2</sup> la fase metálica de alta temperatura.

Es evidente que el método de preparación de los catalizadores de níquel produce sólidos de composición químico-estructural diferentes. Además, se evidencia que independientemente del método de preparación, una parte del metal se combina con la sílice para formar compuestos de temperatura intermedia. Efectivamente, en la zona alrededor de 480°C se encuentra el óxido de níquel dentro del soporte para ambos sólidos. El sólido sintetizado a pH básico, presenta un hombro bastante amplio entre 500 y 800°C, atribuible a la presencia de iones  $\text{Ni}^{+2}$  unos asociados a silicatos (600°C) y otros a filosilicatos (700°C)<sup>13</sup>

### CONCLUSIONES

Los métodos del amonio y de impregnación se usaron para preparar catalizadores de níquel soportados sobre sílice. Las pruebas de caracterización indican que la composición química estructural de estos sólidos es diferente. La fase metálica predominante en el catalizador de impregnación es de baja temperatura y representa el NiO, mientras que el catalizador preparado por el método del amonio presenta una fase de metálica de alta temperatura asignable a un filosilicato de níquel.

Las técnicas de análisis térmico TGA-DTG, DSC y DTA fueron usadas satisfactoriamente tanto para la caracterización de los catalizadores de níquel y de sus precursores como para la determinación de los parámetros cinéticos que rigen la descomposición térmica de estos compuestos, usando el método de análisis diferencial conocido como Kissinger. Los resultados obtenidos por las diferentes técnicas usadas indican que la descomposición térmica de los sólidos estudiados ocurre en diferentes etapas hasta obtener como producto final óxidos de níquel (II) estables; en el caso del catalizador básico sintetizado este óxido queda soportado sobre la sílice ( $\text{SiO}_2$ ). Durante la síntesis del catalizador se forma un acuoamino-complejo de níquel cuyo valor de entalpía supera al esperado, lo que sugiere que se une fuertemente a la sílice para formar el filosilicato de níquel. La temperatura de la última etapa de descomposición del catalizador no corresponde con ninguna de las observadas para sus precursores indicando que efectivamente se está formando un nuevo compuesto.

### BIBLIOGRAFÍA

1. A. Barbier, A. Hanif, J. Dalmon, G. Martin. *Applied Catalysis A: General* 168 (1998) 333 – 343.
2. Glastone, S., Texto de fisicoquímica, segunda edición, Van Nostrand; New Cork, 1946.
3. H. E. Kissinger. *Anal. Chem.* 29 (1957) 1702 -1706.
4. E. Mikuli, A. Migdal-Mikuli, R. Chyzy, B. Grand, R. Dziembaj. *Thermochimica Acta*. Vol. 370 (2001) 65-71.
5. M. A. A. Elmasry, A. Gaber and E. M. H. Khater. *Journal of Thermal Analysis*. Vol. 52 (1998) 489-495.
6. F. Bigoli, A. Braibanti, A. Tiripicchio and M. Tiripicchio Camellini. *Acta Cryst.* (1971). B-27 1427.
7. A. Malecki, R. Gajerski, S. Labus, B. Prochowska-Klisch and K. T. Wojciechowski. *J. of Thermal Analysis*, 60 (2000) 20.
8. Z.D. Zivkovic, D.T. Zivkovic and D.B. Grujicic. *J. of Thermal Analysis*, 53 (1998) 617
9. A. Loaiza-Gil, J. Arenas, M. Villarroel, F. Imbert, H. del Castillo, B. Fontal. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* 228 (2005) 339 – 344.
10. G. A. Martin, B. Imelik, M. Pettre. *J Chim Phys* 66 (1969) 1682.
11. Jianzhong Li, Gongxuan Lu. *Applied Catalysis A. General* 273 (2004) 163 – 170.
12. R. Hyun, D Wen, J. Ki, L. Zhong, P. Sang, O. Young. *Bull. Korean Chem. Soc.* Vol. 23 No. 5 (2002) 669 – 673.
- 13.- K Hadjiivanov, M Myhaylov, D. Klissurski, P. Stefanov, N. Abadjieva, E. Vassileva, L. Mintchev. *Journal of Catalysis* 185 (1999) 314 – 323.

## EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA PULPA, CÁSCARA Y SEMILLA DEL FRUTO DEL CAMU CAMU (*Myrciaria dubia* H.B.K.)

Víctor Sotero Solís<sup>1\*</sup>, Luz Silva Doza<sup>1</sup>, Dora García de Sotero<sup>2</sup>, Sixto Imán Correa<sup>3</sup>

### RESUMEN

El camu camu es una especie nativa de la Amazonía y el interés por su fruto radica en su alta concentración de ácido ascórbico. En el presente estudio se realizó la determinación de la actividad antioxidante de la pulpa, cáscara y semilla del camu camu colectado en el banco de Germoplasma del INIA-Loreto. Se realizó la evaluación de la actividad antioxidante, mediante el secuestro de radicales libres del DPPH. Se determinó la concentración de compuestos fenólicos y ácido ascórbico, mediante el método espectrofotométrico y por cromatografía de HPLC. Se observa que los mejores resultados en cuanto a la actividad antioxidante la presentó la cáscara de camu camu con IC<sub>50</sub> de 146,94 µg/ml, seguido de la pulpa con 167,67 µg/ml y con menor actividad la semilla con 399,77 µg/ml. Las mejores concentraciones para compuestos fenólicos se obtienen en pulpa seca (23168,0 mg/100g) y en cáscara seca (17905,5 mg/100g). Las concentraciones de ácido ascórbico en peso seco, reportan la mayor concentración en pulpa: 14337,94 mg/100g y cáscara: 10506,37 mg/100g, siendo inferior en semilla: 87,08 mg/100g. En la pulpa y cáscara del camu camu se encontraron ácido clorogénico, catequina, epicatequina y rutina, destacando la catequina en cáscara con 47,29 mg/100g.

**Palabras claves:** camu camu, antioxidantes, polifenoles, HPLC

## ANTIOXIDANT ACTIVITY FROM PULP, PEEL AND KERUEL OF CAMU CAMU (*Myrciaria dubia* H.B.K)

### ABSTRACT

Camu camu is a native specie of the Amazonia and the interest for its fruit takes root in its high concentration of ascorbic acid, beside possessing excellent antioxidant qualities. In the present study there was realized the evaluation of the antioxidant activity of the pulp, peel and seed of the camu camu collected in Germoplasma's bank of the INIA-Loreto. There was realized the evaluation of the antioxidant activity, by means of the scavenging of free radical of the DPPH. Likewise they were realized the analysis of phenolics compounds and ascorbic acid, by means of the spectrophotometric method and HPLC chromatography. It is observed that the best results for the antioxidant activity was the peel of camu camu with IC<sub>50</sub> of 146,94 µg/ml, followed by the pulp with 167,67 µg/ml and with minor activity the seed with 399,77 µg/ml. The best concentrations for the compounds phenolics are obtained in dry pulp (23168,0 mg/100g) and in dry peel (17905,5 mg/100g). The concentrations of ascorbic acid reports the major concentration in dry pulp: 14337,94 mg/100g and peel: 10506,37 mg/100g, being low

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana, Av Abelardo quiñones, km 2,5 – Iquitos. e-mail: vsotero@iiap.org.pe

<sup>2</sup> Facultad de Ingeniería Química.-Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Freyre 616-Iquitos.

<sup>3</sup> Instituto Nacional de Innovación Agraria. E.E.San Roque. Av San Roque 209-Iquitos.

in seed: 87,08 mg/100g. In the pulp and peel of camu camu they were chlorogenic acid, catechin, epicatechin and rutin, emphasizing the catechin in rind with 47, 29 mg/100g.

**Key words:** camu camu, antioxidants, phenolics, HPLC

## INTRODUCCIÓN

El camu camu es una especie nativa de la cuenca amazónica y que se encuentra distribuida ampliamente en la Amazonía continental; su fruto se caracteriza principalmente por su alta concentración de ácido ascórbico, que puede llegar según su procedencia hasta 3000 mg/100g, por tal motivo es que se la considera como una de las especies de mayor potencial económico de la región amazónica<sup>1,2,3</sup>.

Los antioxidantes son sustancias que presentan la propiedad de inhibir las alteraciones oxidativas que puede sufrir una molécula. Todas las moléculas presentes en la naturaleza son blancos potenciales del daño oxidativo: lípidos, proteínas, ácidos nucleicos, carbohidratos, etc. Debido al oxígeno, en el organismo, se forman especies reactivas (ROS), como el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, HClO o radicales libre oxigenados como el anión superóxido, los radicales hidroxilo o alquil peroxilo. Las células disponen de sistemas depuradores como las enzimas y antioxidantes endógenos; cuando existe un desequilibrio entre estos últimos y la generación de especies oxidantes, tiene lugar el estrés oxidativo, proceso donde los ROS atacan los lípidos, inactivando proteína o dañando el DNA. Entre los principales antioxidantes naturales se tiene los compuestos fenólicos, el ácido ascórbico, el tocoferol y los carotenoides, siendo encontrados con mayor frecuencia en las fuentes vegetales, destacando los frutos, semillas y aceites vegetales<sup>4,5</sup>.

Los compuestos fenólicos o polifenoles, constituyen un grupo bastante amplio de sustancias químicas, que se caracterizan por presentar en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos y abarcan a más de 8000 compuestos distintos y han demostrado poseer importante actividad antioxidante. El organismo humano no los produce y se les encuentra en plantas, frutas y diversas bebidas y representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana<sup>6,7,8</sup>.

Según diversos autores,<sup>9,10</sup> los polifenoles pueden ser divididos por lo menos en diez diferentes clases dependiendo de su estructura básica. Los flavonoides, los cuales constituyen un grupo simple pero de gran importancia, y presentan más de 5000 compuestos y tienen la estructura básica de difenilpropano (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), dos anillos aromáticos unidos a tres átomos de carbono. Otro grupo importante de compuestos fenólicos son las flavonas y flavononas que generalmente se encuentran juntos en frutos cítricos; del mismo modo las antocianinas, que son un grupo de pigmentos solubles en agua, responsables por el color rojo del vino, las catequinas en el té y procianidinas en la semilla de cacao<sup>11</sup>. Los ácidos fenólicos, que presentan la estructura básica C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>, pertenecen a otro grupo también importante junto a los flavonoides por sus propiedades antioxidantes, se tiene los ácidos gálico, elágico y p-hidroxibenzoico encontrados en bayas y frutos de diferentes especies.<sup>12,13</sup> El ácido ascórbico o vitamina C, se trata de una lactona de un azúcar – ácido y muy sensible a degradarse, aunque en el camu camu, presenta alta estabilidad al deshidratar la pulpa a temperaturas entre 60.-90°C<sup>14</sup>.

Considerando la alta concentración de ácido ascórbico y compuestos fenólicos, se reporta una interesante actividad antioxidante en pulpa y semilla de camu camu, utilizando la capacidad de secuestro por el 1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), que alcanza valores de IC50 de 100 y 20, respectivamente, para extractos hidroalcohólicos.<sup>15</sup> Del mismo modo en otro trabajo se determinó la capacidad antioxidante del camu camu con ensayo TOSC (secuestro de la capacidad antioxidativa total). Este método se basa en el rendimiento de etileno en la reacción

del KMBA ( $\alpha$ -ácido- $\gamma$  - ceto-metilbutírico) con tres especies reactivas, en los resultados se obtiene que comparado con otros frutos, el camu camu presenta destacada capacidad antioxidante en comparación con el asai, casho o marañón, naranja y manzana<sup>16</sup>.

El objetivo del presente trabajo es evaluar la actividad antioxidante de los principios bioactivos del camu camu (*Myrciaria dubia* H.B.K.) y los principales componentes causantes de esa propiedad.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Material

Se colectaron muestras de camu camu de la estación experimental El Dorado del Instituto de Extensión e Investigación Agraria de Loreto (INIA), las cuales fueron: Genotipo MD-044 y MD-015 ambos de la cuenca del río Nanay, Región Loreto

### Métodos

Para evaluar la actividad antioxidante se obtuvieron extractos metanólicos de las muestras secas, utilizando el método de Lebeu *et al.*,<sup>17</sup> por reducción del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), con absorbancia de 515 nm. Para calcular la capacidad de secuestro de radicales DPPH se calcula de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\%, \text{DPPH Inhibición} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{muestra (t)}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

Donde:

$A_{\text{control}}$ : Absorbancia del control.

$A_{\text{muestra (t)}}$ : Absorbancia de compuesto experimental en tiempo n.

### Fenólicos

Se sigue la metodología dada por Valls *et al.*,<sup>18</sup> para la extracción de los compuestos fenólicos. Se pesan 0,5 g de la muestra y se extraen sucesivamente con 3 volúmenes de 25 mL de etanol absoluto acidulado con un 1% de ácido clorhídrico. El extracto se evapora hasta sequedad a una temperatura de 40°C. El residuo seco se redissuelve en una solución de metanol al 50% acidulado con una solución de ácido clorhídrico, y se lleva a un volumen de 10 mL. Se guarda en alícuotas para las otras determinaciones de:

**Antocianinas totales.** La determinación de antocianinas totales se efectúa mediante la lectura de la absorbancia a 535 nm, previa dilución de las muestras. Para realizar los cálculos, se utiliza el coeficiente de extinción molar de la malvidina-3-glucósido: 29500 L/mol.cm

**Fenólicos totales.** Se realiza la medida del índice de Folin, para lo cual se tratan 40  $\mu$ l de muestra con 0,5 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu y 2 mL de carbonato sódico al 20 (p/v), y se llevan a 10 mL. Transcurrida media hora, se efectúa la lectura de absorbancia a 765 nm. Para establecer el calibrado, se utilizan patrones de ácido gálico de concentraciones entre 0 – 100 mg/L.

### Ácido ascórbico

Se pesa 100 mg de pulpa de camu camu y se diluye en 100 ml de ácido metafosfórico 4,5%. Los análisis se realizan utilizando el HPLC equipado con detector de absorbancia fase reversa 5  $\mu$ m columna LiChocart RP18 (250 x 4,6 mm). Como fase móvil se utiliza agua nanopura acidulada con ácido sulfúrico, hasta alcanzar un pH de 2,2. La razón de flujo de la fase móvil es de 0,5 ml/min. La longitud de detección es de 245 nm. Las alícuotas de las muestras pasan por un filtro de 0,45  $\mu$ m<sup>19</sup>.

### Compuestos fenólicos por Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

Se toma 5 g de la parte a analizar del fruto y se mezcla y homogeniza con 10 mL de la solución de extracción: agua/metanol 2:8, conteniendo 2 eh de NaF para inactivar las polifenol oxidasas y prevenir la degradación fenólica debido al oscurecimiento; se la mantiene en hielo hasta ser centrifugada a 11500 rpm. por 15 minutos a 2-5°C, 16000g; el sobrenadante se recupera cuidadosamente y se mide el volumen. Un ml de la porción del extracto se pasa a través de un filtro de nylon de 0,45 µm y se analiza directamente en el HPLC en un periodo que no exceda de las 24 horas.

Los compuestos fenólicos fueron identificados en un equipo de cromatografía de HPLC marca Agilent technology, por su espectro en el rango de UV, y utilizando un detector de arreglo de diodos. Las muestras se corrieron de 280 nm a 355nm, hasta establecer un protocolo definido, utilizando como fase móvil 88% agua nanopura y 12% metanol grado HPLC y razón de flujo de 1,5 ml/min, isocrático. Se utilizó una columna LiChrocart RP 18 (250 x 4,6mm). Se comparó con los estándares de ácido clorogénico, catequina, epicatequina, epigallocatequina y rutina<sup>20</sup>.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1, se dan los resultados de la evaluación de la actividad antioxidante por secuestro del radical DPPH y determinación del IC50 en camu camu. El IC50 se define como la concentración de aditivo que produce 50% de inhibición en el daño oxidativa. Se observa que los mejores resultados de IC50 se presentan en la cáscara y pulpa de camu camu con 146,94 ug/ml y 167,67 ug/ml, respectivamente. De acuerdo a los informes dados por otros autores<sup>14</sup> reportan que el mejor IC50 del camu camu se da en la semilla con aproximadamente 20 y 250 ug/ml aproximadamente en muestras liofilizadas par extractos hidroalcohólicos y hexánicos respectivamente.

**Tabla 1.** Evaluación de la actividad antioxidante por secuestro del radical 2,2-difenil-1-picirilhidrazil (DPPH) y determinación del IC50 en extracto metanolico de camu camu

Parte	10 ug/ml	30, g/ml	100ug/ml	300, g/ml	1000, ug/ml	IC 50, ug/ml
<b>Pulpa</b>	8,45 ±0,1	15,17 ± 2,3	37,80±3,9	75,33±7,8		167,67 ± 30,0
<b>Cáscara</b>	13,27±2,7	21,52 ±0,5	42,61± 0,2	76,64±5,1		146,94 ± 2,1
<b>Semilla</b>	6,55 ±3,2	9,78±2,4	17,11±1,3	43,54±1,8	85,63±2,0	399,77 ± 15,7

En la tabla 2, se reportan los resultados de la concentración total de polifenoles, antocianinas, flavonoides y ácido ascórbico en camu camu. Según lo observado la mayor concentración se encuentra en el la pulpa y cáscara del fruto de camu camu, con 23468,00 y 17905,5 mg/100g (peso seco). Del mismo modo la mayor concentración de antocianinas y flavonoides, se encuentra en cáscara de camu camu con 109,50 y 2012,32 mg/100g (peso seco), siendo los primeros los causantes de la coloración característica de este fruto. La concentración de ácido ascórbico, sigue siendo alta en pulpa seca de camu camu y muy superior a otras partes del fruto. La pulpa presenta 14337,94 mg/100g (peso seco) y la cáscara 10506,37 mg/100g (peso seco). Los valores en pulpa son similares a los presentados por diversos autores quienes informan que este valor puede llegar a valores superiores a 2000,0 mg/100g en peso fresco,<sup>1,2,3</sup> y algo inferiores a los reportados para la pulpa liofilizada, la cual presenta valores entre 15849,73 a 20 383,80 mg/100g<sup>21</sup>.

**Tabla 2.** Cuantificación de polifenoles, antocianinas, flavonoides y ácido ascórbico en el fruto de camu camu (peso seco)

Parte	Polifenoles, mg/100g	Antocianinas, mg/100g	Flavonoides, mg/100g	Ácido ascórbico, mg/100g
<b>Pulpa</b>	23168,00 ± 932,7	74,04 ± 4,7	994,97 ± 194,0	14337,94 ± 2506,1
<b>Cáscara</b>	17905,50 ± 1302,5	109,50 ± 33,8	2012,32 ± 102,1	10506,37 ± 5039,2
<b>Semillas</b>	2969,20 ± 113,1	35,33 ± 19,3	218,78 ± 0,1	87,08 ± 20,5

En la tabla 3, se presentan los resultados de las concentraciones de los compuestos fenólicos en el fruto de camu camu analizados por cromatografía de HPLC y con los estándares conocidos de ácido clorogénico, catequina, epicatequina y rutina.

Se observa que los principales compuestos fenólicos obtenidos en la pulpa y cáscara de camu camu, fueron el ácido clorogénico, catequina, epicatequina y rutina, se evaluaron otros estándares, como indicados en 2.2.4, lo mismo no aparecieron en la semilla, entendiéndose que su mayor actividad antioxidante de ésta lo da el ácido ascórbico presente. Cabe destacar la alta concentración de ácido clorogénico (32,85 mg/100g) y epicatequina (30.52 mg/100g), en la pulpa, y de catequina en la cáscara (12,29 mg/100g); se observa que la mayoría de compuestos fenólicos no han sido identificados cuando se utiliza una longitud de onda 280 nm.; la presencia de ácido clorogénico y catequina, indica que están presentes los compuestos de los grupos de hidroxycinamatos y flavan 3-ols. Los compuestos aquí señalados son escasos, pero en los cromatogramas indican la presencia de otros compuestos fenólicos por analizar. Este trabajo es parecido al realizado por otros investigadores,<sup>20</sup> con melocotones y ciruelas; que debe de ser continuado ya que estos compuestos (polifenoles) suman alrededor de 5000<sup>9</sup>. Con muestras de camu camu procedentes de las regiones de Mirnadapoles e Iguapé, se reportan la presencia de las antocianinas: delfidina -3-glucósido y cianidina-3-glucósido.<sup>10, 22</sup> Los compuestos catequínicos son los monómeros para la formación de los taninos catequinos y son causantes de la astringencia en los vinos.<sup>23</sup> El representante más importante del grupo flavan-3-ols es la catequina. Estos compuestos exhiben innumerables efectos biológicos incluyendo acción antiviral, antioxidante y antitrombótica<sup>24</sup>.

**Tabla 3.** Concentraciones de compuestos fenólicos en fruto de camu camu.

Camu camu	Ácido clorogénico, mg/100g	Catequina, mg/100g	Epicatequina, mg/100g	Rutina, mg/100g
<b>Pulpa</b>	32,85 ± 1,2	28,03 ± 0,1	30,52 ± 0,1	9,015 ± 0,1
<b>Cáscara</b>	12,29 ± 2,6	47,29 ± 2,1	29,96 ± 0,1	4,85 ± 0,1

### CONCLUSIONES

- Las pulpas y cáscaras de camu camu presentan una apreciable actividad antioxidante “*in vitro*”.
- La actividad antioxidante del camu camu, sea como pulpa, o cáscara es apreciable.
- La concentración de compuestos fenólicos en la cáscara del fruto de camu camu es muy superior en cuanto a flavonoides y antocianinas.
- Se identificó los compuestos fenólicos como catequina, epicatequina, ácido clorogénico y rutina en la pulpa de camu camu.

### AGRADECIMIENTOS

Se agradece a CONCYTEC, por haber financiado este proyecto y del mismo modo a las personas que colaboraron con los análisis químicos como la Q.F. Martha Maco Luján y Q.F. Pedro Vásquez

### REFERENCIAS

1. Flores, S. Cultivo de frutales nativos amazónicos: manual para el extensionista, Ed. Tratado de Cooperación Amazónica - Secretaría Pro Tempore, Lima, 1997 p.105-107.
2. Maeda, R.N.; Andrade, J.S.. Aproveitamento do camu camu (*Myrciaria dúbia*) para produção de bebida alcoólica fermentada. *Acta Amazônica*. 2003; 33(3): 489-498.
3. Villachica, H. Frutales y hortalizas promisorios de la Amazonía. Ed. Tratado de Cooperación Amazónica -Secretaria Pro-Tempore, Lima. 1996.144p.
4. Aruoma, O.I. Free radicals and foods. *Chem. Br.*, 1993; 29:210–214
5. Gutteridge, J.M.C., Halliwell, B. Antioxidants in nutrition, health, and disease. : Oxford University, Oxford, 1994. 143p.
6. Lock, O. Investigación fitoquímico. Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima, 1988, 213p.
7. Martínez-Valverde, I; Periago, M. J. Ros, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *ALAN*, 2000; 50:5-18.
8. Martínez-Flores, S.; Gonzales-Gallego, J.; Culebras, J. M.; Tuñón, M..J. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr. Hosp.* 2002; 6: 271-278.
9. Bravo, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr. Rev.*, 1998; 56: 317-333,
10. Wollgast, J.; Anklam, E. Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Res. Int.*, 2000; 33: 423-427..
11. Dreosti, J.E. Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine. *Nutrition*, New York, 2000;16: 692-694.
12. Häkkinen, S.; Heinonen, M.; Kärenlampi, H.; Ruuskanen, J., Törrönen, R. Screening of selected flavonoids and phenolic acids in 19 berries: *Food Res. Int.*, 1999; 32: 345-353.
13. Ju, Z.; Bramlage, W.J. Phenolics and lipid-soluble antioxidants in fruit cuticle of apples and their antioxidant activities in model systems. *Postharvest Biol. Technol.*, 1999; 16:107-118.
14. Sotero, V; García de Sotero, D.E.; Velazco, E. Estabilidad del ácido ascórbico en pulpa deshidratada de camu camu (*Myrciaria dubia* HBK Mc Vaugh) a diferentes temperaturas. *Folia amazonica*. 2007; 16: 75-79..
15. Nunomura, S. Campos Fernández, A. Avaliação da atividade antioxidante dos frutos de camu camu *Myrciaria dubia* (Myrtaceae). 29 Reunião anual da Sociedade Química Brasileira. 2003.
16. Rodrigues, R.B.; Papagiannopoulos, M.; Maia, J. G. S., Yuyama, Marx, F.:Antioxidant capacity of camu camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh] pulp. *Ernährung/Nutrition* 2006; 30: 357-362
17. Lebeau, J.; Furman, C.; Berner, J.L.; Dunez, P.; Teisser, E.; Cotelle, N. Antioxidant Properties of Di-Tert-Butylhydroxylated Flavonoids. *Free Rad. Biol. Med.* 2000; 29:990-912,

18. Valls, J.; Lampreave, M.; Nadal, M.; Arola, L.; Importancia de los compuestos fenólicos en la calidad de los vinos tintos de crianza. *Alimentación, equipos y tecnología*. 2000; 2: 119-124..
19. Asami, D.K; Hong, Y-J; Barret, D.; Mitchell, A. Comparison of the total Phenolic and ascorbic acid content of freeze – dried and air dried marjonberry,, and Corn Grown Using Conventional, Organic, and Sustainable. Agricultural Practices. *J. Agric. Food Chem.* 2003; 51:1237-1241.
20. Tomás – Barberán, F.; Gil, M.; Cremin, P.; Waterhouse, A.; Hess-Pierce, B.; Kader, A. HPLC -DAD.-ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches and plums. *J. Agric. Food. Chem.* 2001; 49.4748-4769
21. Vega, R. liofilización de pulpa de *Myrciaria dubia* HBK Mc Vaugjh, camu camu. *Folia Amazonica*. 2005;14: 51-56.
22. Zanatta, C.F.; Cuevas, E.; bobbio, P.W.; Mercadante, A. Determination of antochyanins from camu camu (*Myrciaria dubia*) by HPLC\_PDA, HPLC\_MS and NMR. *J.Agric. food*, 2005; 53: 9531-9535
23. Ojeda, H. Los compuestos fenólicos de la uva. *Revista Enología*. 2007;4: 1-11.
24. Neiva, T.; Machado, M.; Hoehn, M.; Hermes; M.; Vituri; C.; Ferreria, J.; D'Amico, E. Evaluation of platelet aggregation in platelet concentrates: storage implications. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* 2003; 25: 207-212.

## SÍNTESIS DE GLICÓSIDOS DE SALICILATO DE METILO

Violeta Rodríguez Romero, Marco A. Brito Arias\*

### RESUMEN

Se desarrolló una metodología para la síntesis de *O*-glucósidos de salicilato de metilo **3** y **4** (esquema 1) de potencial actividad como profármaco glicosídico. La síntesis inicia con la reacción de acetobromoglucosa **1** y 5-nitro salicilato de metilo **2** obteniéndose el intermediario glicosídico **3** el cual se sometió a condiciones de hidrogenación catalítica para generar el amino *O*-glucósido protegido **4**. Los intermediarios **3** y **4** fueron caracterizados por espectroscopía de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ .

### INTRODUCCIÓN

Los fármacos se definen como especies químicas que actúan en sitios específicos normalmente conocidos como receptores y cuya interacción resultante desencadena cambios fisiológicos que se observan en forma de actividad terapéutica. A pesar de su incuestionable importancia, se ha observado que la mayoría presenta algunas limitaciones, y para ello se ha desarrollado el concepto de profármaco, el cual se caracteriza por la derivatización química del fármaco con la finalidad de mejorar una serie de propiedades tales como la biodisponibilidad, especificidad, estabilidad química, problemas de formulación, propiedades organolépticas, etc., y la posterior reconversión a la estructura original reteniendo la actividad terapéutica deseable, como resultado del metabolismo del fármaco.<sup>1</sup>

La posibilidad de liberar fármacos unidos a glicósidos se basa en posibilidad de hidrolizar el enlace glicosídico bajo condiciones ácidas o bien por la actividad hidrolítica de bacterias presentes en la flora bacteriana intestinal.

El concepto de profármaco ha tenido una importante relevancia por su potencial para liberar moléculas de bajo peso molecular así como biomoléculas, como es el caso de proteínas y péptidos. Esta estrategia ha sido empleada en el tratamiento de alteraciones asociadas al colon<sup>2</sup> tales como la enfermedad de Chron, colitis ulcerativa, cáncer de colon y amibiasis.<sup>3</sup> Existen varias metodologías para la preparación de profármacos de colon administrados oralmente, estas incluyen la unión covalente con un acarreador, polímeros de recubrimiento ácido resistentes y sistemas bioadhesivos, entre otros.

Los profármacos de naturaleza glicosídica pueden ser transformados al principio activo por hidrólisis ácida o enzimática; en este tipo de profármacos, la sustancia activa constituye el aglicón y se une a través de un enlace glicosídico a diferentes azúcares, principalmente galactosa, glucosa, arabinosa, xilosa y ácido glucurónico. Las enzimas que se encargan de hidrolizar la unión glicosídica de estos azúcares han sido identificadas en las heces humanas, por lo que su actividad en el colon es significativa liberando el fármaco, el cual se absorbe en la mucosa del colon. Debido al carácter hidrofílico de los profármacos glicosídicos, se observa que estos son pobremente absorbidos en el intestino delgado y no penetran las membranas después de su ingestión.

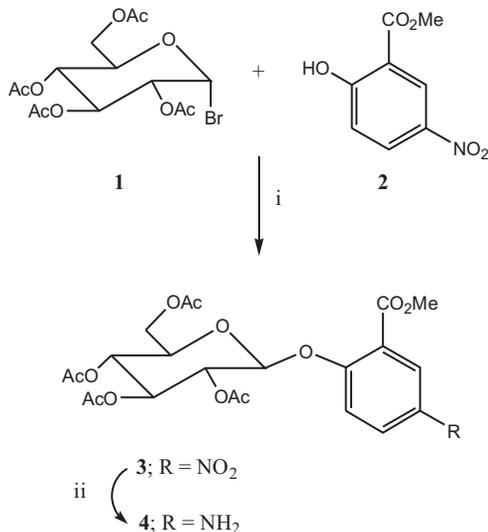
---

Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Instituto Politécnico Nacional.  
Av. Acueducto s/n Col. La Laguna Ticomán C.P. 07340 México, DF.

\* mbrito@ipn.mx

### METODOLOGÍA

La síntesis del glicósido **4** con potencial actividad como profármaco se llevó a cabo de acuerdo a la secuencia de reacciones descrita en el esquema 1, el cual se inicia con la reacción de acetobromo glucosa **1** con 5-nitro salicilato de metilo **2** bajo condiciones descritas<sup>4</sup> para generar el glicósido **3** el cual se somete a condiciones de hidrogenación catalítica para producir la amina glicosídica **4**.

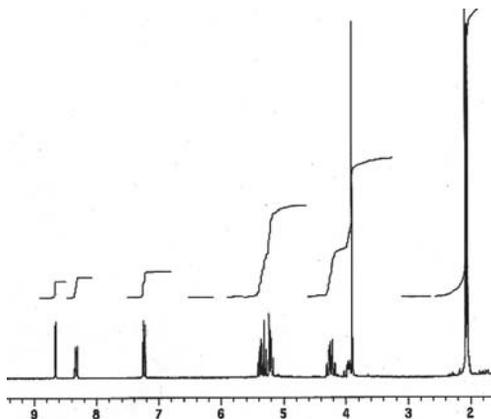


i) KOH, acetona-H<sub>2</sub>O. ii) H<sub>2</sub>, Pd-C 10% EtOH-AcOEt.

**Esquema 1.** Procedimiento para la obtención del ácido para amino salicílico.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La síntesis del profármaco **4** inicia con la reacción de condensación del bromo para nitro salicilato de metilo **2** obteniendo el intermediario **3** como un sólido cristalino dando un rendimiento del 60%. Posteriormente, se realizó una hidrogenación catalítica disolviendo **3** en paladio-C 10% para obtener el glicósido **4** con un rendimiento del 80%. Los glicósidos **3** y **4** fueron purificados por cromatografía en columna y caracterizados por RMN de hidrógeno, observando para el O-glicósido **3** señales simples en 2,03-2,08 asignables a 12 hidrógenos de los grupos acetato de la glucopiranososa; en 3,90 se observa una señal simple para el éster metílico, en 3,94 una señal múltiple correspondiente a H-5; en 4,16-4,32 dos señales doble de doble correspondientes a H-6 y 6'; en 5,14-5,42 se observa 1 señal doble y 3 triples asignables a H-1, H-2, H-3, y H-4 respectivamente. En la región aromática se observan 2 señales dobles en 7,22 y 8,32 y una señal simple en 8,66 correspondientes al sistema trisustituido.



**Figura 1.** Espectro de  $^1\text{H}$  RMN del *O*-glucósido 3.

Para el espectro de  $^1\text{H}$  RMN del *O*-glucósido 4 se observa como cambio significativo el desplazamiento de las señales aromáticas hacia campo alto en 6,66 y 6,90-7,02, como resultado de la reducción del grupo nitro.

### CONCLUSIONES

Se llevó a cabo la síntesis y caracterización espectroscópica de los *O*-glucósidos 3 y 4 bajo las condiciones planteadas en el esquema 1 con rendimientos satisfactorios.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Han H-K, and Gordon L. Amidon *AAPS PharmSci.* (2000) 2, 1
2. Friend, D.R. and Chang, G.W. *J Med Chem* (1984) 27, 261-266.
3. Chourasia MK, and Jain SK. *J Pharm Pharm Sci.* (2003) 6, 33
4. a) Brito-Arias M, *Synthesis and Characterization of Glycosides*, Ed Springer 2007, 68.  
b) Brito-Arias M, Cruz-Salazar D, and Molins E *Acta Crystallographica* 2007 E63, o359.

## AHORRO DE ENERGÍA EN EL PROCESO DE FABRICACIÓN DE CLINKER DE CEMENTO EMPLEANDO MINERAL FLUORITA, (CaF<sub>2</sub>)

Rubén Gilvonio Alegría y Fernando Domínguez Linares

### RESUMEN

Se caracterizaron materias primas como calizas, travertinos, minerales de sílice y hierro, además del mineral fluorita (CaF<sub>2</sub>). Las dosificaciones de fluorita ensayadas fueron 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8%, 1,0% de la harina cruda. Se evaluó las finezas y la adición de fluorita que permita completar las reacciones de formación de los silicatos di y tricálcicos; 3CaO.SiO<sub>2</sub> y 2CaO.SiO<sub>2</sub>, dejando la menor cantidad de CaO libre.

En ensayos a nivel de laboratorio como a nivel industrial, se encontró reducciones en la temperatura de clinkerización, para un mínimo de cal libre. También se consiguió incrementos en las resistencias a la compresión del cemento.

De acuerdo a resultados de laboratorio, se logró reducción de 100°C en las reacciones de clinkerización. En posterior prueba industrial se logró reducir en 60°C la temperatura de clinkerización.

**Palabras clave:** cemento Pórtland I, clinker, reacciones clinkerización, mineralizador, fluorita, ahorro energía.

## SAVING OF ENERGY IN CLINKERS MANUFACTURING PROCESS OF CEMENT USING MINERAL FLUORITA, (CaF<sub>2</sub>)

### ABSTRACT

Raw materials like limestones, travertinos, minerals silica and iron were characterized; in addition to the fluorita mineral (CaF<sub>2</sub>). The tried meterings of fluorita were 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8%, 1,0% of the crude. The necessary finenesses were determined and the addition of fluorita that allows to complete the reactions of formation of silicates 3CaO.SiO<sub>2</sub> and 2CaO.SiO<sub>2</sub>, leaving the smaller amount of free CaO. Tests at level of laboratory like a industrial level, were reductions in the temperature of pyroprocess, for a minimum of free lime. Also one obtained increases in the compressive strenghts of the cement.

According to results of laboratory, profit reduction of 100°C in the pyroprocess reactions. In Later industrial test profit to be reduced in 60°C the temperature.

**Key words:** cement, fluorita, energy, pyroprocess.

### INTRODUCCIÓN

El proceso de clinkerización en la industria del cemento es el mayor consumidor de energía tanto térmica como eléctrica, representando el costo de la energía más del 40% del costo de fabricación. El proceso de clinkerización a nivel industrial se lleva a cabo a temperaturas de 1450°C en hornos rotatorios, donde las reacciones son en fase semilíquida, formando

---

\* Cementos Lima S.A., Av. Atocongo 2440, Villa María del Triunfo, Lima Perú,  
gilvonior@cementoslima.com.pe

principalmente silicatos de calcio y aluminoferritos. Los consumos específicos de energía térmica, en plantas de reciente tecnología, son superiores a 700 kcal/kg de clinker.

Los fabricantes de cemento centran sus esfuerzos en el ahorro de energía térmica, buscando el reemplazo o reducción de los combustibles.

La mejora en la reactividad de la mezclas de harina cruda a alimentarse a los hornos es una de las vías para mejorar la productividad y obtener ahorros de energía. La distribución del consumo energético en la clinkerización, nos dice que los mayores potenciales están en reducir los 448 kcal/kg de calor de formación del clinker y en disminuir las 236 kcal/kg de clinker, pérdidas de calor por radiación, entre otras<sup>2</sup>.

Definiremos a la fluorita como un mineralizador que es capaz de promocionar la formación de una fase determinada alterando la estabilidad termodinámica con respecto a otras fases. Acelera la velocidad de una reacción tanto en la fase sólida, en fase líquida o en la interfase sólido-líquido; reduce la temperatura de aparición de la fase líquida favoreciendo al desarrollo de los silicatos<sup>3,4,5</sup>.

La fase líquida en la clinkerización puede estar constituida entre 23 a 32%, dependiendo de las materias primas, y está formada por aluminatos y ferritos. La fase líquida crea un medio líquido para el transporte de los cristales de sílice, calcio y los demás elementos menores que se disuelven en él. Cuando el líquido se satura en sílice y calcio precipitan formando  $2\text{CaO}\cdot\text{SiO}_2$ , ( $\text{C}_2\text{S}$ , belita), luego si el líquido sigue saturado en CaO y sobre los 1400°C; los  $\text{C}_2\text{S}$  absorben calcio y se forma  $3\text{CaO}\cdot\text{SiO}_2$ , ( $\text{C}_3\text{S}$ , alita).

La reacción de los silicatos tricálcicos en la fase sólida transcurre muy lentamente y se ve enormemente acelerada por la presencia de los fundentes.

Los óxidos  $\text{Al}_2\text{O}_3$  y  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  actúan como fundentes, aumentando la velocidad de las reacciones sin alterar significativamente el equilibrio termodinámico de dicha reacción.

La fluorita de grado metalúrgico, procedente de San Luis de Potosí, México es el mineralizador empleado en los ensayos.

Se evaluó la quemabilidad de diseños de harina cruda; así como la adición del mineralizador fluoruro de calcio para acelerar las reacciones. Los cementos con fluorita aumentan sus tiempos de fraguado y mejoran sus resistencias.

Se emplearon las técnicas de FRX, DRX y microscopía.

## PARTE EXPERIMENTAL

Se determinó inicialmente las condiciones de quemabilidad de la harina cruda, la que se diseñó con saturaciones de cal del orden empleados en la obtención del cemento Pórtland tipo I, se determinó los tamaños de partículas del crudo y los tiempos y temperaturas de clinkerización para niveles de 0,0%, 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8% y 1,0% de fluorita (tablas 1 y 2).

### **Clinker de laboratorio.**

Se preparó una pasta de crudo con 26% de agua, formando por embutido pellets. Se secaron a 110°C durante 6 horas.

La eliminación del  $\text{CO}_2$  (descarbonatación), fue en 30 minutos a 950°C.

**Tabla 1.** Composición química de la fluorita

Óxidos		Composición
SiO <sub>2</sub>	%	6,71
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	%	1,11
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	%	0,54
CaF <sub>2</sub>	%	85,7
SO <sub>3</sub>	%	0,45
Pérdida al fuego	%	3,48
Total	%	98,60
Cloruros	%	0,01

**Tabla 2.** Composición de la harina crudo en prueba a nivel laboratorio

Fluorita	1,00%	0,80%	0,60%	0,40%	0,20%	0,00%
SiO <sub>2</sub>	12,32	12,42	12,42	12,62	12,62	13,82
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	4,34	4,40	4,41	4,44	4,45	2,67
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	2,36	2,37	2,38	2,41	2,42	2,39
CaO	42,53	42,43	42,43	42,53	42,43	43,63
SO <sub>3</sub>	1,05	1,04	1,04	1,05	1,05	1,11
Módulo sílice	1,84	1,83	1,83	1,84	1,84	2,73
Módulo fundentes	1,84	1,86	1,85	1,84	1,84	1,12
Saturación de cal	103,35	102,22	102,17	100,92	100,64	100,53

Obtenidas las condiciones óptimas de uso de la fluorita, se escaló a ensayos a nivel industrial en un horno rotatorio de 85 m de longitud y 5,25 m de diámetro con dos torres de precalentador de 6 etapas, calcinador con aire terciario. Se utilizó carbón y gas natural como combustible (figura 1) y (tabla 3).

Los flujos de los combustibles para el horno se orientaron a:

Quemador de horno con 100% de carbón, 16,2 TM/h

Precalentador torre A: gas natural, 2400 Nm<sup>3</sup>/h

Precalentador torre B: 2,0 TM/h de carbón más 10400 Nm<sup>3</sup>/h de gas natural



La harina cruda se diseñó partiendo de calizas, mineral de sílice y de hierro, y la composición química fue determinada por FRX.

**Figura 1.** Horno rotatorio y zona de clinkerización

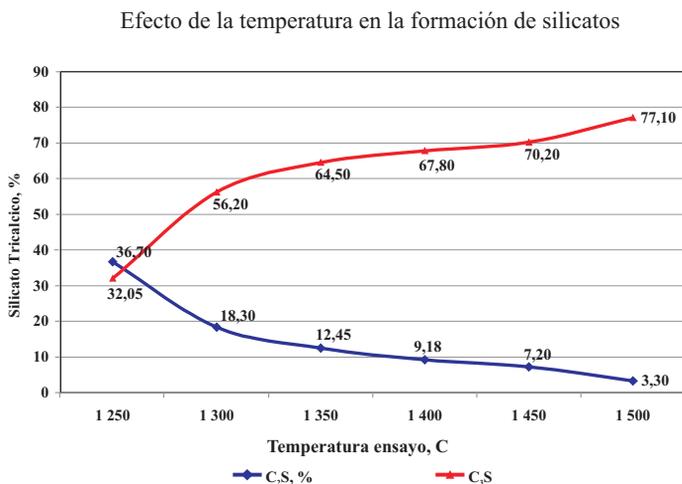
**Tabla 3.** Composición de la harina cruda en prueba a nivel industrial

SiO <sub>2</sub>	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	CaO	SO <sub>3</sub>	Fluorita	Saturación cal
%	%	%	%	%	%	%
12,47	4,38	1,89	42,98	1,06	0,40	104,04
12,15	4,38	1,85	42,90	1,03	0,40	106,21
12,52	4,48	1,88	42,91	1,09	0,40	103,24
12,76	4,56	1,89	43,25	1,04	0,40	102,16
12,75	4,45	1,89	42,70	1,09	0,40	101,23

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se trabajó con 5% de retenidos en malla 200 (75 micras), en los ensayos con adición de fluorita.

Se considera óxido de calcio libre como aquel que no reacciona en el horno, debido a exceso de calcio o condiciones no apropiadas para su reacción. La figura 2 muestra la variación del C<sub>3</sub>S por acción de la temperatura de ensayo.

**Figura 2.** Efecto de la temperatura en la formación del C<sub>3</sub>S

Los C<sub>2</sub>S que se forman desde 1100°C, disminuyen con el incremento de temperatura, por transformación en C<sub>3</sub>S al reaccionar con la CaO libre. La adición de fluorita de calcio disminuye la cal libre al facilitar las reacciones (ver figura 3).

Reducción de la cal libre con la fluorita

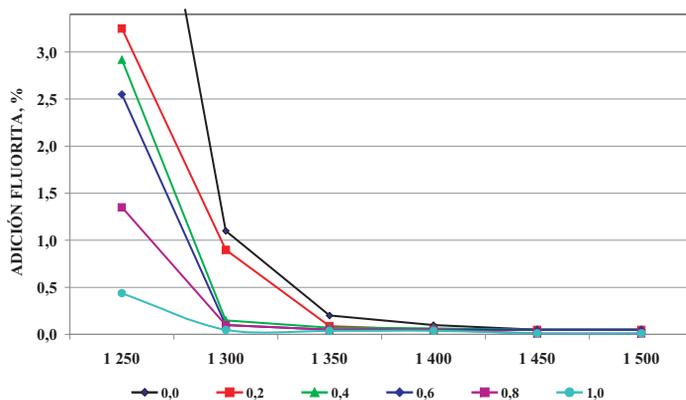


Figura 3. Efecto de la  $\text{CaF}_2$  en la reacción del  $\text{CaO}$  con  $\text{C}_2\text{S}$ .

La adición de fluorita favorece la reacción del  $\text{CaO}$  con el  $2\text{CaO} \cdot \text{SiO}_2$  para formar el  $3\text{CaO} \cdot \text{SiO}_2$ , ( $\text{C}_3\text{S}$ ) hasta con 0.6% de adición de  $\text{CaF}_2$ . (figura 4).

Efecto de la fluorita en la formación del  $\text{C}_3\text{S}$

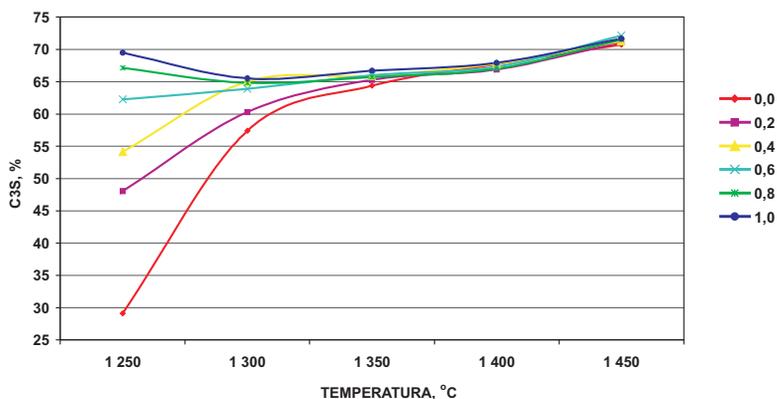
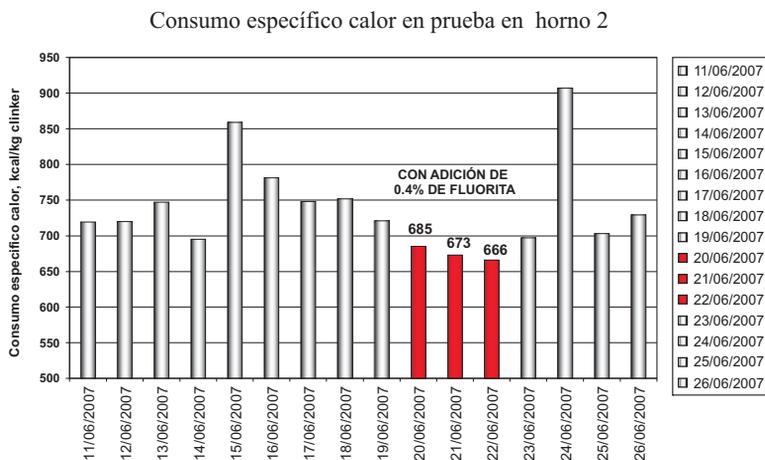


Figura 4. Efecto del  $\text{CaF}_2$  y de la temperatura en el  $\text{C}_3\text{S}$

Los ensayos en cementos, presentan un incremento de los tiempos de fraguado (tabla 4); las resistencia a la compresión se incrementen con la adición de  $\text{CaF}_2$ , llegando a un máximo y luego descende.

A nivel industrial se obtuvo menores consumos de energía; la figura 5 muestra los cambios de temperatura del aire secundario y las kcal/kg de clinker.

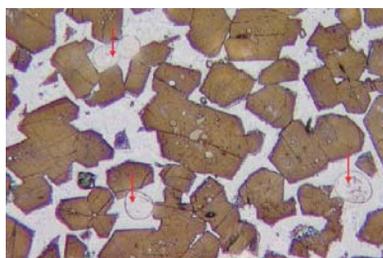


**Figura 5:** Prueba industrial de la fluorita, reducción energía térmica

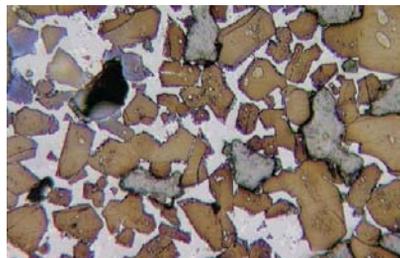
**Tabla 4.** Característica química y física del cemento industrial con fluorita

ENSAYO AL CEMENTO	RESULTADO
Retenidos Malla 325, %	9,64
Blaine, $\text{cm}^2/\text{g}$	2 810
Expansión autoclave, %	0,16
Fluidez, %	97
Tiempo de Fraguado Inicial, min.	204
Tiempo de Fraguado Final, min.	342
Resistencia a la compresión	
1 día	121
3 días	209
7 días	326
28 días	382

Las microestructuras con flúor muestran granos más compactos, figuras 6 y 7.



**Figura 6.** Microestructura señalándose la cal libre en clinker sin fluorita



**Figura 7.** Clinker con adición de fluorita coloreada con  $\text{HNO}_3$ . Con cristales 22  $\mu\text{m}$

### CONCLUSIONES

- Con la adición de 0,4% de fluorita, el consumo de energía térmica durante el periodo de prueba industrial se redujo en 56,5 kcal/kg de clinker.
- Los tiempos de fraguado del cemento aumentaron ligeramente, estando dentro de las especificaciones de las normas técnicas ASTM, NTP y UNE.
- La resistencia a la compresión del cemento fabricado con fluorita en laboratorio se vio aumentado en 15% con respecto al cemento sin fluorita calcinado a la misma temperatura de 1400°C.
- A nivel de laboratorio la adición de 0,4% de fluorita en el rango de temperatura de clinkerización de 1300°C a 1350°C fueron las condiciones más convenientes para implementarlo industrialmente.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores dan su agradecimiento a Cementos Lima S.A., Planta Atocongo, por el apoyo al desarrollo de esta investigación.

### REFERENCIAS

1. F. Soria, (1982), "Composición Química Mineralógica de las materias primas y ahorro de energía en al industria del cemento", Expominer-82 España.
2. Luguin, (1989), "Influencia del fluoruro de calcio sobre los procesos de síntesis y actividad del cemento", Instituto químico-Tecnológico de Kazagia
3. M. Coll y J. Pont, (1979), "El espato fluor y la industria del cemento", Cemento Hormigón, Nov 1979, No 552, España.
4. O. Restrepo, J. Iván y J. Restrepo, (2007), "Efectos de algunas adiciones minerales Colombianas en la fabricación del clinker para cemento Pórtland I", Dyna No152, Medellín.
5. Blanco-Varela, M, Palomo, A., Puertas, F. y Vazquez, T. (1995) "Influencia de la incorporación conjunta del  $\text{CaF}_2$  y del  $\text{CaSO}_4$  en el proceso de clinkerización. Obtención de nuevos cementos". Materiales de construcción. No. 239. Instituto Eduardo Torroja. Madrid.

## COMPARACIÓN DE LA ACCIÓN ANTIINFLAMATORIA Y ANALGÉSICA DEL POLVO DE *Salpichroa organifolia* CON AINES UTILIZADOS EN MEDICINA VETERINARIA

Mónica Alejandra Boeris<sup>a\*</sup>, Ricardo Enrique Toso<sup>a</sup>

### RESUMEN

Los analgésicos y los antiinflamatorios no esteroides son de uso frecuente en medicina veterinaria. Las drogas comerciales utilizadas actualmente son efectivas en procesos agudos. Pero cuando se administran durante largos períodos de tiempo para tratar enfermedades crónicas, su empleo suele estar limitado por la presencia de efectos secundarios o por el alto costo del tratamiento. En nuestro laboratorio se investigaron los efectos antiinflamatorio y analgésico de la *Salpichroa organifolia* (n.v. huevito de gallo), una planta nativa de la región pampeana de Argentina. Antecedentes etnobotánicos orientaron estudios iniciales llevados a cabo en ratones que confirmaron la presencia de actividad antiinflamatoria en el extracto hidroalcohólico crudo, obtenido de partes aéreas desecadas de la planta. Este extracto fue sometido a procesos de purificación obteniéndose distintas fracciones que fueron llevadas a sequedad. El polvo de *Salpichroa organifolia*, logrado luego de una extracción metanólica, mostró el mayor efecto antiinflamatorio en ratones utilizando el test de la carragenina. También se evaluó la toxicidad determinando que la administración prolongada no produce lesiones gástricas ni alteraciones histopatológicas en estómago, hígado, riñón y cerebro. Evaluando la importancia de estos resultados en el comportamiento farmacológico del Polvo, se comparó el efecto antiinflamatorio del extracto con los AINES más usados en la práctica veterinaria para determinar su potencial empleo como fitofármaco. Utilizando el test de la carragenina en ratones, se determinó a las 5 horas pos administración una reducción del edema plantar respecto al grupo control del 49 % con polvo de *Salpichroa organifolia*, del 44 % con ácido acetil salicílico (ASA) y del 67 % con fenilbutazona, siendo de un 59 % para la indometacina, considerada la droga de referencia en la investigación de antiinflamatorios. El efecto analgésico se evaluó utilizando el test de las contorsiones inducidas por ácido acético en ratones. La disminución en el número de contorsiones con polvo fue del 49%, superior a la fenilbutazona (41 %) y comparable al ketoprofeno y ASA (54% y 52 %). Se concluye que el polvo tiene un efecto antiinflamatorio comparable al ASA. El efecto del polvo tiene un período de acción más prolongado que la fenilbutazona y como analgésico es superior a la fenilbutazona y ligeramente menor que el ketoprofeno. Teniendo en cuenta que en estos estudios el polvo de *Salpichroa organifolia* no mostró evidencias de toxicidad y que posee una acción antiinflamatoria y analgésica comparable con AINES como el ASA resultaría interesante realizar en el futuro estudios clínicos para determinar la utilidad de este extracto como fitofármaco.

**Palabras clave:** *Salpichroa organifolia*, fitofármacos, antiinflamatorio, analgésico.

---

<sup>a</sup> Centro de Investigación y Desarrollo de Fármacos (CIDEF) F.C.V., UNLPam.  
Calle 116 y 5, General Pico, La Pampa (CP 6360), Argentina.

\* mab@vet.unlpam.edu.ar

## ANALGESIC AND ANTI-INFLAMMATORY ACTION OF *Salpichroa organifolia* POWDER IN COMPARISON TO NSAID USED IN VETERINARY MEDICINE

### ABSTRACT

Analgesics and non steroids anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are frequently used in veterinary medicine. These drugs are effective in acute processes, but long term use to treat chronic diseases have side effects and high cost. In our laboratory, we investigated the analgesic and anti-inflammatory effects of *Salpichroa organifolia* (n.v. huevito de gallo), a native plant of the pampas region, Argentina. Ethnopharmacological information resulted in initial studies in mice, and confirmed the anti-inflammatory activity of hydroalcoholic extracts obtained from desiccated aerial parts of the plant. This extract was purified, different fractions obtained and transformed into powder. Using the carrageenan test, the powder of *Salpichroa organifolia* obtained by methanolic extraction showed the greater anti-inflammatory effects in mice. In addition, the toxicity of powder was evaluated and it was determined that the long term administration did not produce gastric injuries or microscopic lesions in stomach, liver, kidney or brain. To evaluate the potential use powder of *Salpichroa organifolia* as phytotherapeutic agent, the anti-inflammatory effect of the extract was compared with that of NSAIDs most commonly used in veterinary medicine. Using the carrageenan test in mice, the reference drug (indomethacin) showed 59% reduction of plantar edema 5 h after administration and the reduction relative to the control was 49 % for powder, 44 % for acetylsalicylic acid (ASA) and 67 % for phenilbutazone. The Writhing test induced by acetic acid in mice was used to determine the analgesic effect. The analgesic effect for powder (49%) was similar to the effect of ketoprofen and ASA (54 % y 52 %) and greater than the effect of phenilbutazone (41 %). In conclusion, powder of *Salpichroa organifolia* has an anti-inflammatory effect comparable to ASA, a period of action longer than phenilbutazone, and a better analgesic effect than phenilbutazone and slightly inferior than ketoprofen. In different studies powder of *Salpichroa organifolia* did not show evidences of toxicity and had similar anti-inflammatory and analgesic properties than some NSAIDs such as ASA. These characteristics make powder a potential phytotherapeutic agent for future clinical studies.

**Key words:** *Salpichroa organifolia*, anti-inflammatory, analgesic, phytotherapeutic.

### INTRODUCCIÓN

Los fármacos antiinflamatorios y analgésicos son de uso frecuente en medicina veterinaria; su acción es modificar o disminuir los procesos inflamatorios y aliviar el dolor. La inflamación es un proceso homeostático complejo, destinado a proteger a los animales contra traumatismos e infecciones causadas por agentes químicos, biológicos y físicos<sup>1</sup>. Habitualmente es acompañada por la presencia de dolor, un mecanismo que sirve para proteger al organismo. El dolor aparece siempre que ha sido lesionado cualquier tejido y hace que el individuo reaccione eliminando o alejándose del estímulo doloroso. La farmacopea indica diversos compuestos que excepcionalmente tienen alguna relación química, sólo coincidiendo que son ácidos orgánicos y se conocen como antiinflamatorios no esteroides (AINEs). Este numeroso grupo de fármacos posee como factores comunes sus acciones farmacológicas analgésicas, antipiréticas y antiinflamatorias, el perfil de las reacciones adversas que producen y las indicaciones clínicas. El prototipo de droga antiinflamatoria, antipirética y analgésica es el ácido acetilsalicílico (ASA), aunque a través de los años se han desarrollado una amplia gama de sustancias, cada una de ellas, con características específicas de acción y reacción. Desde el

punto de vista del perfeccionamiento de cada uno de estos AINEs, es preciso señalar que la incorporación progresiva se basa en su doble capacidad analgésica y antiinflamatoria, sumado a la minimización de sus efectos adversos. Los mecanismos de acción generales de estas moléculas se explican por la inhibición sobre la actividad de las ciclooxigenasas, y por consiguiente la inhibición de la síntesis de prostaglandinas, tromboxanos y prostaciclina. La mayoría de los AINEs son ácidos débiles con capacidad de ionización a pH fisiológico.

La actividad farmacológica de estos fármacos es común a todos ellos, pero existen diferencias notables entre los mismos cuando se evalúa su actividad clínica y la toxicidad. La toxicidad puede valorarse tras la administración de una dosis única en animales de experimentación, método que resulta útil para predecir los posibles efectos en la especie animal de destino tras una sobredosis puntual o en el hombre tras una administración accidental. Estos estudios ponen de manifiesto los efectos tóxicos agudos de la sustancia y el tiempo que tardan estos en aparecer y remitir<sup>2</sup>. Un ejemplo de toxicidad lo presenta la fenilbutazona cuando se la usa en forma sistemática y prolongada como antitérmico<sup>3</sup> ya que tiene un margen de seguridad limitado en caballos, provocando ulcerogénesis, discrasias sanguíneas y hepatotoxicidad dosis dependiente<sup>4</sup>.

En la práctica veterinaria, además de la fenilbutazona, se indican con mayor frecuencia el ASA, derivado carboxílico y el ketoprofeno, un derivado de la pirazolona. La indometacina es un fármaco que no se utiliza en la práctica clínica diaria como consecuencia de la intensidad con que se presentan los efectos secundarios. Sin embargo, es una droga que posee alta efectividad y por ese motivo puede ser indicada en determinados casos clínicos que requieren tratamientos cortos administrando preventivamente protectores gástricos. Por su efectividad, este compuesto se utiliza en modelos experimentales como droga de referencia permitiendo evaluar la eficacia de nuevas drogas<sup>5</sup>.

Además de los efectos secundarios descritos, los AINEs también producen bloqueo de la agregación plaquetaria, inhibición de la motilidad uterina con prolongación de la gestación, reacciones de hipersensibilidad, inhibición de la función renal mediada por prostaglandinas que participan en la redistribución del flujo sanguíneo con alteración en el metabolismo del sodio, potasio y agua. Estos efectos indeseables impiden con frecuencia la continuidad de los tratamientos. Teniendo como objetivo hallar otros compuestos efectivos y con escasa toxicidad se evalúan estos parámetros en preparados de plantas medicinales utilizadas empíricamente para aliviar procesos inflamatorios.

Esta línea de investigación está fundamentada por la presencia de compuestos con actividad antiinflamatoria comprobada en las plantas. Entre ellos pueden citarse flavonoides, polifenoles y alfa-tocoferol<sup>6,7</sup>, cumarinas, taninos y saponinas en *Croton menthodorum* y *Piper lenticellosum*<sup>8</sup>, mucílago, ácido cítrico y málico en *Opuntia ficus indica* y la capsaicina en *Capsicum annuum* y ácido nordihidroguayarático en *Larrea divaricata*<sup>9</sup>.

Considerando estos antecedentes en este trabajo se evaluó la actividad antiinflamatoria de la *Salpichroa organifolia* (Lam.) Thell. (Solanáceas), hierba perenne, rizomatosa, con tallos ascendentes de 30 a 50 cm de alto. Hojas inferiores opuestas, las superiores alternas, pecioladas, anchamente ovadas, con borde entero o sinuado. Flores solitarias, axilares, largamente pedunculadas, con corona gamopétala, blanca, el fruto es una baya ovoide, blanca, dulce<sup>10</sup>. Es una hierba o subarbusto con estatus de nativa en Sudamérica; se desarrolla desde el nivel del mar hasta los 2500 m de altura, en Argentina, Bolivia, Brasil, Paraguay y Uruguay. Los nombres comunes de la especie vegetal en distintas regiones de Argentina y países limítrofes son “huevo de gallo”, “camambú”, “uvita”<sup>11,12</sup>, también llamada “corota” por los indios nativos del noroeste argentino.

Estudios fitoquímicos determinaron en su composición química la presencia de fenoles libres, flavonoides, leucoantocianinas, naftoantraquinonas. La planta contiene vestigios de alcaloides, saponinas y oxidasas. Habiéndose detectado también la presencia de resinas<sup>13</sup>. Se identificaron en la raíz de la planta un alcaloide, la cuscohigrina y en el follaje distintos witanólidos como salpicrólidos A, B, C, D, E, G, H, J, K<sup>14</sup>.

Con respecto a los usos, la medicina popular le atribuye las siguientes utilidades: lavajes con el zumo de la planta se emplean para evitar la caída del cabello, lavajes con la decocción de las raíces cura los sabañones y escoriaciones de la piel. La toma de decocciones de hojas y flores mezcladas con raíces de Tasi es galactógena. Los frutos se ingieren por sus propiedades diuréticas<sup>10</sup>. Las partes verdes de la planta son narcóticas, por eso se la considera tóxica para el ganado, y poseen propiedades calmantes<sup>11,15,10</sup>. Esta planta, en la región pampeana de Argentina, es empleada empíricamente en forma de infusión para curar lesiones en la piel; este dato etnofarmacológico fue transmitido en forma oral por un poblador de la región<sup>16</sup>.

Para confirmar las propiedades antiinflamatorias de la planta se prepararon varios extractos que fueron ensayados utilizando el test de la carragenina en ratones<sup>17</sup>. Además, se evaluó el efecto analgésico empleando el test de las contorsiones en ratones<sup>18</sup>.

Ensayos previos realizados con extracto hidroalcohólico de la planta permitieron determinar con el test de la carragenina una acción antiinflamatoria del 52% de inhibición del edema a las 3 h manteniendo el efecto hasta 9 h pos administración ( $P < 0,01$ )<sup>19</sup>. Empleando el test de contorsiones se inhibió la presentación de estas en un 90 % ( $P < 0,001$ )<sup>16</sup>.

El extracto hidroalcohólico fue purificado por medio de extracciones con metanol hasta obtener un polvo que conservó las propiedades farmacológicas antiinflamatoria y analgésica, con una inhibición del edema inflamatorio de un 48% ( $P < 0,05$ ) manteniendo un buen efecto terapéutico hasta 9 horas luego de la administración y una inhibición de las contorsiones en el test analgésico de un 70 % ( $P < 0,001$ ). También se realizaron estudios de toxicidad determinando la dosis letal y análisis histopatológicos de hígado, riñón, cerebro y estómago luego de una administración prolongada, con respecto al índice de seguridad es muy alto y no hubo lesiones microscópicas en los órganos estudiados<sup>16</sup>.

De acuerdo con lo expuesto, los AINES actuales, si bien son efectivos y se cuenta con una amplia variedad de posibilidades para uso clínico, presentan como factor limitante su toxicidad. Por otro lado, se han mencionado referencias de principios activos vegetales con actividad antiinflamatoria y analgésica y se han indicado resultados promisorios obtenidos con polvo de *Salpichroa origanifolia*. Considerando estos antecedentes en este trabajo se comparó la actividad antiinflamatoria y analgésica del Polvo con tres de los AINES más utilizados en la práctica clínica por los médicos veterinarios, ketoprofeno, ASA y fenilbutazona.

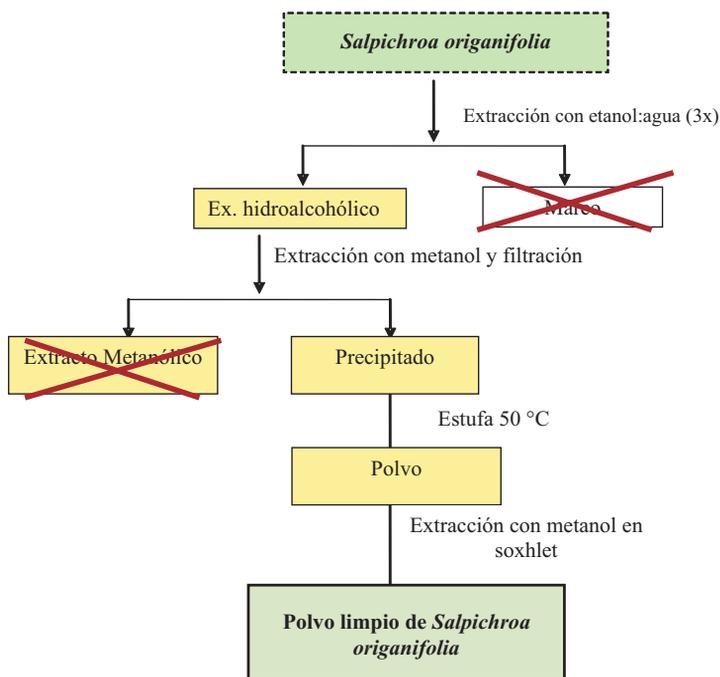
## PARTE EXPERIMENTAL

### Material vegetal

Se emplearon partes aéreas de *Salpichroa origanifolia* recolectadas en la zona rural de General Pico, Provincia de La Pampa, Argentina, desecadas a temperatura ambiente y al abrigo de la luz. Un ejemplar de la planta, identificado por el Ing. Agr. Pedro Eduardo Steibel, se depositó en el Herbario de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de La Pampa, Argentina, M. Boeris N° 17, (SRFA).

### Obtención del extracto hidroalcohólico y del polvo de *Salpichroa organifolia*

Se realizó una maceración a temperatura ambiente de partes aéreas desecadas de *Salpichroa organifolia* en agua : etanol (1:1; v/v) durante 24 horas (3x). Se filtró el extracto diariamente, se renovó el solvente y al producto de la maceración se lo llevó a sequedad a presión reducida. Al residuo hidroalcohólico se lo extrajo con metanol y se obtuvieron dos fases, una soluble en el solvente (extracto metanólico) y un polvo que precipitó y se separó por filtración. El extracto metanólico se redujo en rotavapor. Al polvo se lo sometió a un lavado continuo durante 8 horas en soxhlet con metanol y se llevó a sequedad en estufa obteniéndose el polvo de *Salpichroa organifolia* (PSALO) que se utilizó en los bioensayos (gráfico 1).



**Gráfico 1.** Esquema de extracción para obtener polvo de *Salpichroa organifolia*

### Animales

Se utilizaron ratones albinos *Mus musculus* de 25 - 30 g de peso provistos por el Bioterio de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa. Los animales fueron privados del consumo de alimentos durante 18 h previas al ensayo y tuvieron acceso libre al agua.

### Drogas, dosis y vías de administración

Excipiente: para diluir el polvo se utilizó una solución de carboximetilcelulosa al 0,1% y Tween 80 al 0,05% (1:1, v/v) (Ex). Los animales pertenecientes a los Grupos Control fueron administrados VO con 0,5 ml de Ex.

PSALO: se diluyeron respectivamente 10 mg y 0,1 mg, de polvo en Ex hasta un volumen de 0,5 ml. Cada animal perteneciente a los grupos tratados recibieron 0,5 ml VO.

Indometacina: se administró una dosis de 10 mg/kg VO.

Morfina: se administró una dosis de 4 mg/kg SC.

Ketoprofeno : se administró una dosis de 20 mg/kg IM.

ASA: se administró una dosis de 150 mg/kg VO.

Fenilbutazona: se administró una dosis de 200 mg/kg IM.

## Bioensayos

### *Evaluación del efecto antiinflamatorio del polvo con respecto a ASA, fenilbutazona y ketoprofeno.*

Para comparar el efecto antiinflamatorio del polvo con respecto a la fenilbutazona, ketoprofeno y ASA se utilizó el test de la carragenina en ratones<sup>17</sup>. Como droga de referencia se administró indometacina.

Los animales se dividieron en grupos de 5 ratones para formar los grupos control, testigo, tratados con ASA, fenilbutazona, ketoprofeno y 10 mg/animal de polvo (PSALO). Todos los grupos recibieron el tratamiento 1 hora antes de administrar la carragenina en la almohadilla plantar de los ratones. Al grupo control se le administró Ex y al grupo testigo indometacina.

La inflamación se cuantificó midiendo el grosor de la almohadilla plantar, utilizando un calibre electrónico digital "Caliper", de resolución 0,10 mm, inmediatamente antes de la inyección de carragenina y a las 3, 5, 7 y 9 horas posteriores. La diferencia entre el valor inicial y las distintas mediciones se consideró como el grado de inflamación alcanzada ( $\Delta$ ). El efecto antiinflamatorio de los extractos se expresó en términos de porcentaje de reducción del edema plantar, calculado por medio de la fórmula  $[(\Delta C - \Delta T) / \Delta C] \times 100$ , siendo  $\Delta C$  la media del grupo control y  $\Delta T$  la media del grupo tratado.

Las diferencias entre los grupos tratados y testigo con respecto al control a las 3, 5, 7 y 9 horas pos-tratamiento se analizaron por medio del Test "t" de Student.

### *Evaluación del efecto analgésico del polvo con respecto a ASA, fenilbutazona y ketoprofeno.*

Para comparar el efecto analgésico del polvo con respecto a la fenilbutazona, ketoprofeno y ASA se utilizó el test de las contorsiones<sup>18</sup>. Como droga de referencia se administró morfina.

Los animales fueron divididos en grupos de 5 ratones cada uno para conformar los grupos control, testigo, tratados con ASA, fenilbutazona, ketoprofeno, 0,1 y 10 mg/animal de polvo, respectivamente (PSALO). Todos los grupos recibieron el tratamiento 1 h antes de administrar ácido acético intraperitoneal a los ratones. El grupo control fue administrado con Ex y el grupo testigo con morfina.

La administración de Ex, morfina, tratados con ASA, fenilbutazona, ketoprofeno y polvo se realizaron una hora antes de la inyección intraperitoneal de 0,2 ml de la solución de ácido acético al 1 %. Después de transcurridos 5 minutos de la administración de ácido acético se observó y se registró el número de contorsiones que manifestaron los ratones de los grupos control, tratados y testigo durante 15 minutos.

Los resultados se expresaron como la media del número de contorsiones obtenidas en cada grupo y el efecto analgésico se expresó en términos de porcentaje de inhibición de las contorsiones, calculado por medio de la fórmula  $[(\Delta C - \Delta T) / \Delta C] \times 100$ , siendo  $\Delta C$  la media del grupo control y  $\Delta T$  la media del grupo tratado respecto al grupo control.

Las diferencias entre los grupos tratados y testigo con respecto al control se analizaron por medio del Test "t" de Student.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Evaluación del efecto antiinflamatorio

En la tabla 1 se observa que la administración de 10 mg por animal de PSALO produjo inhibición significativa de la inflamación a las 3, 5, 7 y 9 horas pos administración, mientras que la indometacina utilizada como droga de referencia comenzó a mostrar efecto significativo creciente luego de las 5 h y se mantuvo hasta las 9 h. El ASA y la fenilbutazona redujeron en forma significativa el edema plantar hasta las 5 h pos administración. El ketoprofeno no produjo diferencias significativas en ninguno de los tiempos medidos con respecto al grupo control.

En el gráfico 2 se muestran los porcentajes de inhibición logrados por cada tratamiento pudiendo observarse que el polvo tuvo una acción sostenida entre las 3 y 9 h mientras que la Indometacina comienza su acción a las 5 h registrando el mayor efecto a la 9 h. El ASA y la fenilbutazona comenzaron su acción más rápidamente pero decreciendo hasta no mostrar efecto luego de las 5 h pos administración.

**Tabla 1.** Actividad antiinflamatoria de polvo de *Salpichroa organifolia*, Indometacina, Acido acetil salicílico, fenilbutazona y ketoprofeno sobre el edema plantar inducido con carragenina en ratones.

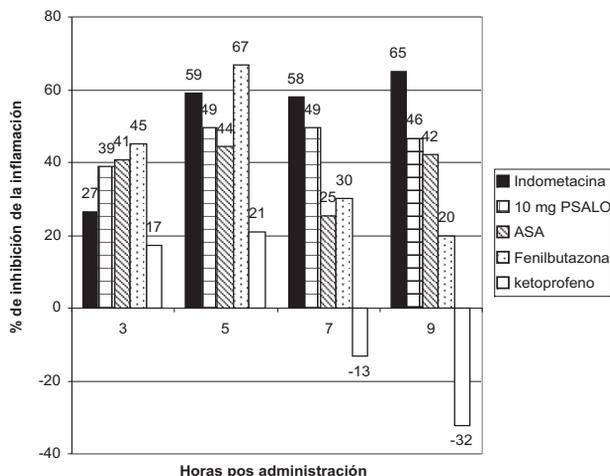
Grupos	$\Delta$ mm			
	3 h	5 h	7 h	9 h
Control	1,28±0,40	1,62±0,48	1,66±0,49	1,42±0,57
Indometacina	0,94±0,38	0,66±0,25**	0,70±0,56*	0,50±0,47*
PSALO <sup>b</sup>	0,78±0,23*	0,82±0,26**	0,84±0,25**	0,76±0,29*
ASA <sup>c</sup>	0,76±0,28*	0,90±0,35*	1,24±0,43	0,82±0,44
Fenilbutazona	0,70±0,27*	0,54±0,26**	1,16±0,32	1,14±0,43
Ketoprofeno	1,06±0,25	1,28±0,68	1,88±0,30	1,88±0,52

<sup>a</sup> Valores medios de la diferencia del grosor de la almohadilla plantar respecto al inicio del ensayo.

<sup>b</sup> Grupo tratado con 10 mg por animal de polvo de *Salpichroa organifolia*.

<sup>c</sup> Grupo tratado con ácido acetil salicílico.

Test "t" de student: \*P< 0,05; \*\*P< 0,01; n=5, se compararon los grupos tratados respecto al grupo control. El grupo control recibió una dosis de 0,5 ml del excipiente, el grupo indometacina 10 mg/kg de indometacina suspendida en 0,5 ml del excipiente y los grupos Tratados con PSALO, ASA, fenilbutazona y ketoprofeno la dosis que se indica en drogas, dosis y vías de administración.



**Gráfico 2.** Porcentaje de inhibición de la inflamación producido por polvo de *Salpichroa organifolia*, indometacina, ácido acetil salicílico, fFenilbutazona y ketoprofeno.

Los números colocados en cada barra indican los porcentajes de inhibición de la inflamación de las drogas ensayadas a las 3, 5, 7 y 9 horas pos administración utilizando el test de la carragenina.

PSALO: polvo de *Salpichroa organifolia*.

ASA: ácido acetil salicílico.

### Evaluación del efecto analgésico

En la tabla 2 se expresa la media de las contorsiones observadas en cada grupo de ratones y el porcentaje de inhibición de las mismas con respecto al grupo control. El efecto analgésico observado con la administración de 0,1 y 10 mg de PSALO fue comparable al logrado con ketoprofeno y ASA pero superior al efecto de la fenilbutazona. La morfina, utilizada como droga de referencia, inhibió totalmente la presentación de las contorsiones provocadas por el irritante.

**Tabla 2.** Porcentaje de inhibición de las contorsiones inducidas por ácido acético.

Tratamiento	Nº de contorsiones <sup>a</sup>	% de inhibición <sup>b</sup>
Control	40,87 ± 8,37	-----
Morfina	0,00 ± 0,00 **	100 %
PSALOC 10 mg	22,25 ± 11,66 **	46 %
PSALOC 0,1 mg	21,00 ± 4,96 **	49 %
Ketoprofeno	18,87 ± 7,74 **	54 %
Fenilbutazona	24,25 ± 15,97 *	41 %
ASAd	19,75 ± 6,23 **	52 %

<sup>a</sup> Valores medios y desvíos de las contorsiones producidas durante 15 minutos luego de 5 minutos de administrado el irritante.

<sup>b</sup> Porcentaje de inhibición de las contorsiones con respecto al control.

<sup>c</sup> Grupo tratado con polvo de *Salpichroa organifolia*.

<sup>d</sup> Grupo tratado con ácido acetil salicílico.

Test "t" de Student, \* P<0,05, \*\* P<0,005 se compararon los grupos. Tratados respecto al grupo control.

Los AINEs comparten acciones terapéuticas antiinflamatorias y analgésicas aunque cada compuesto de este grupo expresa en mayor grado uno u otro efecto. Por ejemplo la fenilbutazona posee notables efectos como antiinflamatorio pero un efecto analgésico menor que los salicilatos mientras que el ketoprofeno tiene mayor eficacia analgésica<sup>3</sup>. Teniendo en cuenta esta particularidad de los AINEs en este trabajo se evaluaron los efectos antiinflamatorio y analgésico del polvo de *Salpichroa origanifolia* y se los comparó con AINEs utilizados en la clínica veterinaria.

Una característica de importancia clínica exhibida por el Polvo fue la duración del efecto antiinflamatorio que se prolongó hasta 9 h pos administración. Tiempo que fue igualado por la indometacina utilizada en este ensayo como droga de referencia. Estos resultados sugieren que el uso clínico del polvo tendría tiempos de dosificación más prolongados que ASA y fenilbutazona, efecto buscado en los tratamientos prolongados para reducir costos operativos. Puede observarse que se empleó una dosis de 10 mg/animal de polvo para evaluar el efecto antiinflamatorio pero se utilizaron dos dosis de prueba, 0,1 y 10 mg/animal, para evaluar el efecto analgésico. Los resultados mostraron que el efecto analgésico se expresa con dosis menores a las necesarias para producir efecto antiinflamatorio de manera similar a lo que ocurre con los AINEs<sup>5</sup>.

Se menciona como una ventaja clínica adicional el resultado de estudios toxicológicos realizados con Polvo de *Salpichroa origanifolia* en ratones que determinaron que no causan las lesiones gástricas, renales y hepáticas que provocan los AINEs y que con frecuencia obligan a suspender los tratamientos.

### CONCLUSIONES

- El polvo de *Salpichroa origanifolia* posee efectos antiinflamatorio y analgésico.
- La administración de 10 mg de polvo produjo un efecto antiinflamatorio similar a la indometacina utilizada como estándar de eficacia.
- El polvo mostró hasta las primeras 5 h pos administración, un efecto comparable a ASA y fenilbutazona.
- El efecto antiinflamatorio producido por el polvo se prolongó hasta 9 h pos administración mientras que ASA y fenilbutazona 5 h.
- La administración de una dosis de 10 mg de polvo exhibió un efecto analgésico similar al logrado con una dosis de 0,1 mg.
- El polvo exhibió mayor efecto analgésico que la fenilbutazona.
- La comparación del efecto antiinflamatorio y analgésico de polvo de *Salpichroa origanifolia* con respecto a los AINEs ensayados demuestra eficacia farmacológica y ventajas para su uso terapéutico por su prolongado efecto y escasa toxicidad.

### AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen a la Fac.Cs Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa por el soporte brindado para la ejecución de este trabajo.

En reconocimiento al aporte de datos etnofarmacológicos, *in memoriam* Héctor Felipe Peters.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Lees P, Foster A. Antiinflamatorios no esteroides en los animales domésticos. Simposio Internacional sobre el uso de los fármacos; 1992. Nuremberg, Alemania.
2. Honrubia M, Botana L. Aspectos técnicos del desarrollo de un fármaco veterinario. En: Botana López L, Landoni F, Martín-Jiménez T. Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Madrid, España: Ed. McGraw-Hill-Interamericana; 2002. pp. 690 -712.

3. Insel P. Analgésicos-antipiréticos y antiinflamatorios, y fármacos antigotosos. En: Hardman J, Limbird L, Molinoff P, Ruddon R, Goodman Gilman, A. Las bases farmacológicas de la terapéutica. MéxicoDF, México: McGraw-Hill Interamericana; 1996. pp.661-706.
4. Lees P. Farmacología clínica de los FAINE. Simposio Internacional sobre el uso de los fármacos; 1992. Nuremberg, Alemania.
5. Martín Jimenez T M, Papich M. Prostaglandinas y antiinflamatorios no esteroideos. En: Hardman J, Limbird L, Molinoff P, Ruddon R, Goodman Gilman, A. Las bases farmacológicas de la terapéutica. MéxicoDF, México: McGraw-Hill Interamericana; 1996. pp.350-374.
6. Ródenas J, Carbonell T, Mitjavila MT. Conditions to study nitric oxide generation by polymorphonuclear cells from on inflammatory exudate in rats. *Biochem Biophys*; 1996. 327: 292-4 en : García Bacallao et al. Plantas con Propiedades antiinflamatorias. *Rev. Cubana Invest Biome*; 2002. 21: 214-6.
7. Mitjavila MT, Rodríguez MC, Sáiz MP, Lloret S, Moreno JJ. Effect of degree of unsaturatiion in dietary fatty acids on arachidonic acid mobilization by peritoneal macrophages. *Lipids*; 1996. 32 : 661-6 en: García Bacallao et al. Plantas con Propiedades antiinflamatorias. *Rev. Cubana Invest Biome*; 2002. 21: 214-6.
8. Ortega T, Carretero MT, Pascual E, Villar AM. Antiinflammatory activity of ethanolic extracts of plants used in tradicional medicine in Ecuador. *Phytoter Res*; 1996. 10: S121-2 en: García Bacallao et al. Plantas con Propiedades antiinflamatorias. *Rev. Cubana Invest Biome*; 2002. 21: 214-6.
9. Alonso J. Tratado de Fitofármacos y Nutracéuticos. Ed. Corpus. Rosario, Argentina; 2004.
10. Lahitte H, Hurrell J, Belgrano M, Jankowski L, Haloua M.P, Mehltreter K. Plantas medicinales rioplatenses. Ed. Lola, Buenos Aires; 1998. pp. 110
11. Toursarkissian M. Plantas medicinales de la Argentina. Sus nombres botánicos, vulgares, usos y distribución geográfica. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina; 1980. p.125.
12. Mongelli E, Pampuro S, Coussio J, Salomon H, Ciccía G. Cytotoxic and DNA interaction activities of extracts from medicinal plants used in Argentina. *J. Ethnopharm*; 2000. 71: 145 -151
13. Gallo G. Plantas tóxicas para el ganado en el cono sur de América. Ed. Universitaria de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina; 1979. pp. 79 y 112.
14. Burton G, Oberti J. Withanólidos en Solanaceae. *Kurtiziana*; 2000. tomo 28: 81-93.
15. Verettoni H. Contribución al conocimiento de las plantas medicinales de la Región de Bahía Blanca. Ed. del autor; 1985. p. 281.
16. Boeris M.A. Estudio de los efectos producidos por Extractos de *Salpichroa origanifolia* en la respuesta inflamatoria. [Tesis Doctoral en Biología]. Bahía Blanca, Argentina: Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur. 2007.
17. Winter C.A, Risley E.A, Nuss G. Carrageenan-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proceedings of Society of Experimental Biology and Medicine*; 1962. 111: 544-547.
18. Koster R, Anderson M, De Beer E J. Acetic acid for analgesic screening. *Federation Proceedings*; 1959. 18, 412-416.
19. Boeris M A, Toso R E, Skliar M I. Actividad antiinflamatoria de *Salpichroa origanifolia*. *Acta Farm Bon*; 2004. 23: 138-141.

## “DIFERENCIACIÓN QUÍMICA DE TRES MORFOTIPOS DE *Mauritia flexuosa* L. f. DE LA AMAZONÍA PERUANA”

Pedro Gilberto Vásquez-Ocmín<sup>\*a</sup>; Víctor Erasmo Sotero Solís<sup>a</sup>;  
Dennis Del Castillo Torres<sup>a</sup>; Luis Freitas Alvarado<sup>a</sup>; Martha Milagros Maco Luján<sup>a</sup>

### RESUMEN

El aguaje, *Mauritia flexuosa* L.f. presenta gran variabilidad morfológica (morfotipos), representada principalmente por el color del mesocarpio de sus frutos; los morfotipos en estudio están clasificados como: “amarillo”, “color” y “shambo”; teniéndose como objetivo la diferenciación química dentro de esta especie, para lo cual se realizaron: las determinaciones centesimales, el análisis de minerales por absorción atómica, determinación de polifenoles totales, ácido ascórbico y principales compuestos fenólicos por HPLC fase reversa y la determinación de la actividad antioxidante mediante el secuestro de radicales libres DPPH. Se observa que existen diferencias significativas entre morfotipos cuando son comparados, resaltando los altos índices de potasio en “shambo” ( $660,81 \pm 3,45\text{g}/100\text{g}$ ), calcio en “amarillo” ( $137,79 \pm 1,31\text{g}/100\text{g}$ ), magnesio en “shambo” ( $98,61 \pm 0,06\text{g}/100\text{g}$ ). Además, los mesocarpios contienen cantidades bajas de compuestos antioxidantes, como el ácido ascórbico, siendo el mayor entre los morfotipos, “shambo” con  $25,61 \pm 0,55\text{mg}/100\text{g}$ ; en cuanto a polifenoles totales “color” presenta mayores concentraciones ( $212,89\text{ mg}/100\text{g}$  de catequina); teniendo como resultado final la baja captura de radicales libres, resaltando el morfotipo “shambo” con un IC<sub>50</sub> de  $1201,54 \pm 1,11\mu\text{g}/\text{ml}$ . Se tiene certeza de las diferencias significativas entre morfotipos, sin embargo no se logró establecer el morfotipo más sobresaliente en cuanto a propiedades químicas.

**Palabras clave:** *Mauritia flexuosa* L.f.; morfotipos; minerales; ácido ascórbico; compuestos fenólicos; actividad antioxidante.

## CHEMICAL DIFFERENTIATION OF THREE *Mauritia flexuosa* L. f. MORPHOTYPES FROM THE PERUVIAN AMAZONY

### ABSTRACT

Aguaje *Mauritia flexuosa* L.f. presents great variability morphologic (morphotypes), represented mainly by the color of the mesocarp of their fruits, the morphotypes in study are classified as: “yellow”, “color” and “shambo”; having you as objective the chemical differentiation inside this species, for that which they were carried out: the centesimal determinations, the analysis of minerals for atomic absorption, determination of total polyphenolics, acid ascorbic and main compound phenolics for HPLC reverse phase and the determination of the antioxidant activity by means of the kidnapping of free radicals DPPH. It is observed that significant differences exist among morphotypes when they are compared, standing out the high indexes of potassium in “shambo” ( $660,81 \pm 3,45\text{g}/100\text{g}$ ), calcium in “yellow” ( $137,79 \pm 1,31\text{g}/100\text{g}$ ), magnesium in “shambo” ( $98,61 \pm 0,06\text{g}/100\text{g}$ ). The

<sup>a</sup> Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana – Laboratorios de Sustancias Naturales Bioactivas, PIBA, Av. Abelardo Quiñónez Km. 2.5, Apartado 784, Iquitos-Perú:

\* vasco2224@gmail.com

mesocarps also contains low quantities of compound antioxidants, as the ascorbic acid, being the greater among the morphotype, "shambo" with  $25,61 \pm 0,55\text{mg}/100\text{g}$ ; in the total polyphenols "color" presents bigger concentrations ( $212,89\text{ mg}/100\text{g}$  of catequin); having as a final result the drop captures of free radicals, standing out the morphotype "shambo" with a  $\text{IC}_{50}$  of  $1201,54 \pm 1,11\mu\text{g}/\text{ml}$ . One has certainty of the significant differences among morphotypes; however it was not possible to establish the most excellent morphotype as for chemical properties.

**Key words:** *Mauritia flexuosa* L.f.; morphotypes; minerals; ascorbic acid; phenolics compound; antioxidant activity.

## INTRODUCCIÓN

El aguaje *Mauritia flexuosa* L.f. es una palmera perteneciente a la familia Arecaceae, que tiene amplia distribución en América del Sur<sup>1</sup>, y que crece principalmente en territorios mal drenados junto a otras especies de palmeras; en estado natural logra alcanzar hasta 40 metros de altura y llega a su primera fructificación a la edad vegetativa de ocho años<sup>2</sup>. La principal virtud de esta palmera son sus frutos que tienen sabor agrídulce y que sirven como alimento en muchas zonas amazónicas, ya sea rurales, urbanas o en tribus de indígenas como los Warao en Venezuela y los Apinayé de Goiás en Brasil donde se constituye en dieta base para su alimentación<sup>3,4</sup>; además del sabor, este fruto contiene importantes virtudes principalmente en el aceite<sup>5,6,7</sup>, donde se encuentra una importante concentración de  $\beta$ -caroteno<sup>8</sup>.

En el Perú existen aproximadamente más de 5 millones de hectáreas de aguajales<sup>9</sup>, distribuidas principalmente en las zonas de San Martín, Huánuco, Madre de Dios, Cusco, Loreto, Ucayali y Pasco<sup>10,11</sup>. En el departamento de Loreto, se utiliza a diario 50 toneladas de fruto total (sólo se consume el mesocarpio), siendo comercializadas como fruto maduro en las calles por señoras llamadas "aguajeras", además a base del mesocarpio se obtienen otros productos como son los chupetes, aguajina, néctares, helados, mermeladas<sup>9</sup>. No obstante, resulta de interés la variabilidad morfológica que se presenta, principalmente en los frutos, pues los podemos encontrar en las calles de la ciudad de Iquitos con diferente tonalidad en los colores del mesocarpio<sup>12</sup>, resultando de gran ventaja el estudio de estos frutos denominados morfotipos. El presente estudio forma parte de un grupo de investigaciones que se realizan desde la parte agronómica con el estudio morfológico, siguiendo con el estudio de biología molecular con la búsqueda de diferencias genéticas entre los morfotipos, y el estudio químico para la caracterización de estos morfotipos, que conlleve a tener información de frutos selectos en cuanto a propiedades químicas. Además, recientemente se ha tenido éxito en la inducción de embriogénesis somática de aguaje con la finalidad de obtener a futuro semillas sintéticas.<sup>13</sup>

En tal sentido, el objetivo del presente trabajo fue determinar si existen diferencias químicas entre tres morfotipos de aguaje, mediante la determinación centesimal, de minerales, polifenoles totales, compuestos fenólicos principales y actividad antioxidante.

## METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

### Material vegetal:

Se trabajó con tres morfotipos clasificados por el color del mesocarpio: "amarillo" (mesocarpio de color amarillo), "color" (mesocarpio color rojo en la parte externa y amarillo en la parte interna) y "shambo" (mesocarpio color rojo), que fueron colectados en los caseríos de Aucayo, Libertad y Centro Unión, ubicados en el distrito de Fernando Lórez, provincia de

Maynas, en el departamento de Loreto, Perú. Para unos de los análisis los mesocarpios frescos fueron sometidos a la deshidratación por liofilizado, el cual fue realizado en un equipo Virtis Freezmobil 25, congelándose la muestra previamente a  $-40^{\circ}\text{C}$  y posterior liofilización a 100 mtorr, por 12 horas. Todos los análisis químicos se realizaron en el Laboratorio de Sustancias Naturales Bioactivas del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana.

### Determinaciones analíticas

Con los frutos colectados se realizó la determinación de las dimensiones biométricas y rendimiento. Con el mesocarpio obtenido se realizaron los análisis centesimales según metodología planteada por el Instituto Adolfo Lutz (1985)<sup>14</sup>. A partir de las cenizas obtenidas en los análisis centesimales, se realizaron digestiones sucesivas con ácido clorhídrico 0,3N para la determinación de principales minerales utilizando el equipo de espectrofotometría de absorción atómica, con un sistema de aire: acetileno<sup>15,16</sup>. Los polifenoles totales se determinaron haciendo reaccionar extractos metanólicos de los mesocarpios a una concentración de 0,1g/ml, con el reactivo de Folin-Ciocalteu (reacción característica para compuestos que tienen un grupo hidroxilo unido a un anillo de benceno), este reactivo tiene una coloración amarilla que en presencia de compuestos fenólicos se torna azul. La intensidad del color azul se midió en el espectrofotómetro UV/Vis a 700 nm, los resultados se expresaron como equivalentes de catequina<sup>17</sup>. La determinación de ácido ascórbico en los mesocarpios se realizaron pesando 10 mg por muestra y disolviéndolo en ácido metafosfórico al 45% para el posterior análisis en el equipo de HPLC Agilent Technologies 1200 Series en fase reversa, utilizándose una columna RP-18; como fase móvil agua ultrapura acidificada a un pH 2,2, detector de arreglo de diodos (DAD) y a razón de flujo de 1ml/minuto<sup>18</sup>. Para el análisis de compuestos fenólicos, se utilizó el equipo de HPLC Elite LaChrom VWR Hitachi en fase reversa, columna RP-18; en la determinación de catequina y ácido clorogénico se utilizó como fase móvil agua/metanol (88:12), detector DAD a una longitud de onda de 280nm. Para la determinación de quercetina y quercetina 3 $\beta$ - D-glucosídico se utilizó como fase móvil agua/metanol (50:50), a una longitud de onda de 254 y 355nm<sup>19</sup>. La actividad antioxidante se determinó utilizando el método basado en la reducción del radical libre estable 2,2, difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), para la determinación del secuestro de radicales libres según metodología planteada por Brand & Williams<sup>20</sup>, expresadas como valores de IC50 ( $\mu\text{g/ml}$ ) y determinadas por la siguiente fórmula:

$$PI = [(A_{\text{control}} + A_{\text{muestra (t)}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

Donde:

$A_{\text{control}}$ : Absorbancia del control.

$A_{\text{muestra (t)}}$ : Absorbancia del compuesto experimental en tiempo t.

$$IC_{50} = C_1 - \Delta C$$

Donde:

$$\Delta C = [(C_1 - C_2)(PI_1 - 50)] / (PI_1 - PI_2)$$

En donde:  $PI_1$  y  $PI_2$  corresponden a los valores de porcentajes de inhibición inmediatamente superiores e inferiores al 50% de inhibición y  $C_1$  y  $C_2$  corresponden a las concentraciones en las que se producen  $PI_1$  y  $PI_2$ , respectivamente.

### Análisis estadístico

Se realizaron los análisis por triplicado para todas las muestras y ensayos. Los datos fueron analizados a través de un análisis de varianza simple (ANOVA), utilizándose el programa estadístico JMP IN versión, 4.0.4.<sup>21</sup> Cuando se observó significancia en esta prueba, se aplicó la prueba de comparación de promedios de Tukey, además las letras mostradas en las tablas difieren si existen diferencias significativas  $p > 0,05$ <sup>21</sup>.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Anteriormente se consideraba que existía dos especies del género *Mauritia* (*M. flexuosa* y *M. vinifera* Mart). La primera predomina en los suelos inundados de las áreas bajas, mientras que, la segunda, se encuentra a lo largo de la ribera de los ríos y en las partes altas mal drenadas. Actualmente se considera que ambas son ecotipos de la misma especie, con bastante diversidad genética<sup>2</sup>. En la Amazonía peruana se observan frutos que difieren en su color y espesor del mesocarpio, existen frutos con mesocarpio rojizo y sabor más agradable, los que tienen el mesocarpio amarillo<sup>2,12</sup> y los ecotipos con mesocarpio grueso que se denominan aguaje carnoso<sup>7</sup>. En la tabla 1 se muestra las características físicas de los frutos, donde se observa la diferencia significativa, principalmente en el peso del mesocarpio entre morfotipos, donde el de mayor peso es del morfotipo “shambo”.

**Tabla 1.** Características físicas de los frutos de aguaje

Características físicas	Amarillo	Color	Shambo
Longitud fruto (cm)	6,46 <sup>a</sup> ± 0,15	5,45 <sup>a</sup> ± 0,18	6,45 <sup>b</sup> ± 0,19
Diámetro del fruto (cm)	3,68 <sup>a</sup> ± 0,10	3,85 <sup>a</sup> ± 0,03	3,75 <sup>a</sup> ± 0,10
Peso del fruto (g)	58,75 <sup>a</sup> ± 4,93	54,59 <sup>a</sup> ± 2,38	57,11 <sup>a</sup> ± 9,18
Peso de la cáscara (g)	12,22 <sup>a</sup> ± 1,56	9,20 <sup>a</sup> ± 0,13	14,44 <sup>b</sup> ± 1,78
Peso del mesocarpio (g)	16,36 <sup>a</sup> ± 0,93	14,50 <sup>b</sup> ± 0,08	18,97 <sup>c</sup> ± 0,25
Peso del bagazo (g)	5,11 <sup>a</sup> ± 1,17	4,64 <sup>a</sup> ± 0,29	4,86 <sup>a</sup> ± 0,57
Peso de la semilla (g)	23,27 <sup>a</sup> ± 1,77	24,02 <sup>a</sup> ± 0,87	24,69 <sup>a</sup> ± 1,87
Longitud de la semilla (cm)	4,34 <sup>a</sup> ± 0,09	3,56 <sup>a</sup> ± 0,22	4,48 <sup>b</sup> ± 0,15
Diámetro de la semilla (cm)	2,60 <sup>a</sup> ± 0,04	2,70 <sup>a</sup> ± 0,05	2,65 <sup>a</sup> ± 0,12

\* Los datos en las tablas representan el promedio Desviación estándar (DS) y las letras difieren, si estadísticamente son diferentes  $p < 0,05$ .

Como se muestra en la tabla 2, el porcentaje de humedad presente en los morfotipos de aguaje es alto, siendo “shambo” el que contiene mayores concentraciones con  $63,96 \pm 0,02\text{g}/100\text{g}$ , valor superior a lo obtenido por Manhães (2007)<sup>22</sup> que fue de  $62,93 \pm 0,12\text{g}/100\text{g}$ . Se puede considerar normal para frutos oleaginosos la tasa de humedad entre 54 y 84%<sup>23</sup> y los valores obtenidos para los tres morfotipos se encuentran dentro de la misma. Otros valores importantes son los lípidos totales (aceites) tercer mayor componente de la composición centesimal en términos de cantidad, pero quizás el de mayor importancia, siendo el morfotipo “shambo” el que contiene mayores concentraciones con  $25,20 \pm 0,10\text{g}/100\text{g}$ , valores superiores a los obtenidos por Santos (2005)<sup>24</sup> que fueron de 18,8%, y tres veces superior a lo que obtuvo Mariath et al. (1989)<sup>25</sup> que fue de 8,10%. Los valores de lípidos reportados en la literatura para mesocarpios de frutos considerados oleaginosos como la palta *Persea americana* Mill. que contiene 8,40% de lípidos y el pequi *Caryocar brasiliense*, Camb. con

18,00%, son menores a los reportados en este trabajo para los morfotipos de aguaje, siendo por eso considerados oleaginosos<sup>23</sup>. En cuanto a los valores obtenidos para proteínas resalta el morfotipo “color” con  $6,50 \pm 0,10$ g/100g, valores superiores a los obtenidos por Case (2007)<sup>3</sup> que fue de 4,18% y lo obtenido por Manhães (2007)<sup>22</sup> que fue de  $2,10 \pm 0,19$ g/100g, de igual manera resaltan la concentración del morfotipo “amarillo” en carbohidratos que es de  $70,36 \pm 0,15$ g/100g, valores superiores en casi cuatro veces a lo obtenido por Case (2007)<sup>3</sup> que fue de 21,39%.

**Tabla 2.** Análisis centesimales de los frutos de aguaje.

Determinaciones	Amarillo	Color	Shambo
Humedad g/100g	$62,85^a \pm 0,04$	$62,71^a \pm 0,69$	$63,96^b \pm 0,02$
Cenizas g/100g	$2,94^a \pm 0,02$	$3,00^b \pm 0,02$	$2,05^c \pm 0,03$
Aceites g/100g	$22,80^a \pm 0,26$	$21,30^b \pm 0,53$	$25,20^c \pm 0,10$
Proteínas g/100g	$3,90^a \pm 0,10$	$6,50^b \pm 0,10$	$6,10^c \pm 0,10$
Carbohidratos g/100g	$7,51^a \pm 0,19$	$6,49^a \pm 1,19$	$2,69^b \pm 0,07$
°Brix	$15,33^a \pm 4,73$	$7,63^b \pm 2,7$	$13,76^a \pm 1,40$

\* Los datos en las tablas representan el promedio Desviación estándar (DS) y las letras difieren, si estadísticamente son diferentes  $p < 0,05$ .

En los valores de cenizas (minerales totales), como se muestra en la tabla 2, el mesocarpio del morfotipo “color” presenta mayores concentraciones con  $3,00 \pm 0,02$ g/100g, valores superiores a los reportados por Manhães (2007)<sup>22</sup> que fue de  $0,94 \pm 0,06$ g/100g; estos elementos cumplen roles importantes para el buen funcionamiento del organismo humano<sup>26</sup>. En la tabla 3, se muestra los valores de minerales, observándose cantidades considerables de potasio, principalmente en “shambo” con  $660,81 \pm 3,45$ g/100g, valores tres veces superior a lo reportado por Manhães (2007)<sup>22</sup> que fue de  $218,00 \pm 12,26$ g/100g, este elemento es muy importante en el equilibrio osmótico, relacionadas con la bomba Na/K<sup>27</sup>. El segundo elemento en cuanto a valores, es el calcio, encontrándose en mayores concentraciones en el morfotipo “amarillo” ( $137,79 \pm 1,31$ g/100g), este elemento es importante para la prevención de problemas óseos como la osteoporosis y raquitismo. Además se observan valores altos de magnesio, superiores en el morfotipo “shambo” con  $98,61 \pm 0,06$ g/100g.

**Tabla 3.** Minerales en pulpa de tres morfotipos de aguaje

Minerales mg/100g	Amarillo	Color	Shambo
Zinc	$0,58^a \pm 0,01$	$0,70^b \pm 0,01$	$0,90^c \pm 0,01$
Calcio	$137,79^a \pm 1,31$	$89,14^b \pm 1,17$	$132,49^c \pm 0,64$
Cobre	$0,28^a \pm 0,01$	$0,69^b \pm 0,00$	$0,43^c \pm 0,00$
Sodio	$8,18^a \pm 0,03$	$9,20^b \pm 0,03$	$20,76^c \pm 0,19$
Magnesio	$44,12^a \pm 0,04$	$44,08^a \pm 0,02$	$98,61^b \pm 0,06$
Manganeso	$10,96^a \pm 0,15$	$7,72^b \pm 0,03$	$6,62^c \pm 0,01$
Potasio	$390,36^a \pm 0,85$	$312,31^b \pm 0,02$	$660,81^c \pm 3,45$
Fierro	$1,18^a \pm 0,01$	$0,55^b \pm 0,01$	$0,83^c \pm 0,01$

\* Los datos en las tablas representan el promedio Desviación estándar (DS) y las letras difieren, si estadísticamente son diferentes  $p < 0,05$

Como se observa en la tabla 4, para los resultados obtenidos en la determinación de ácido ascórbico, resaltan el contenido del morfotipo “shambo” que es de  $25,61 \pm 0,55$  mg/100g, estos resultados muestran semejanza con lo reportado por Flores (1995)<sup>28</sup>, donde se obtuvo 26 mg/100g, contenido bajo en comparación con otros frutales tropicales maduros como el camu camu *Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh, que contiene 2780 mg/100g, la acerola *Malpighia emarginata* DC que contiene 1300 mg/100g, casho *Anacardium occidentale* L. con 108 mg/100g y la guayaba *Psidium guajava* con 600 mg/100g<sup>2</sup>. En cuanto al contenido de polifenoles totales el morfotipo color presenta mayores concentraciones con 212,89 mg/100g de catequina, lo que le brinda a los morfotipos la coloración rojiza amarillenta que presentan en el mesocarpio, sin embargo estas concentraciones relativamente altas de polifenoles, no les brindan una actividad antioxidante notoria, evidenciándose en los valores de IC50 (el menor es “shambo” con un IC50 de  $1201,54 \pm 1,11$  µg/ml), que se notan mejor cuando son comparados con otros frutales como la guinda *Ziziphus* sp. (IC50 =  $1,8 \pm 0,2$ ), guanábana *Anona muricata* (IC50 =  $2,0 \pm 0,9$ ) tal como lo reporta Murillo F.E. (2006)<sup>29</sup>.

**Tabla 4.** Determinación de polifenoles totales, ácido ascórbico y actividad antioxidante.

Determinaciones	Amarillo	Color	Shambo
Polifenoles totales mg/100g	185,75 <sup>a</sup> ± 0,84	212,89 <sup>b</sup> ± 3,46	162,52 <sup>c</sup> ± 2,35
Ácido ascórbico mg/100g	21,49 <sup>a</sup> ± 0,55	21,92 <sup>a</sup> ± 0,39	25,61 <sup>b</sup> ± 0,55
IC50 µg/ml	1343,56 <sup>a</sup> ± 2,57	1702,31 <sup>a</sup> ± 2,31	1201,54 <sup>a</sup> ± 1,11

\* Los datos en las tablas representan el promedio Desviación estándar (DS) y las letras difieren, si estadísticamente son diferentes  $p < 0,05$ .

En el reino vegetal hay una amplia gama de metabolitos secundarios que poseen núcleos fenólicos; los más sencillos suelen encontrarse en forma de glucósidos. Estos compuestos pueden reducir la formación de importantes mediadores de la inflamación ya que poseen propiedades antioxidantes, inhibiendo la Cox-1 y Cox-2 (formas de ciclooxigenasa que actúan como enzimas sobre el ácido araquidónico)<sup>30,31</sup>. Como se muestra en la tabla 5 se ha determinado la presencia de importantes compuestos fenólicos en tres morfotipos de aguaje, tanto en mesocarpio seco a 60°C como en liofilizado, resaltando las cantidades de quercetina 3β-D-glucósido. Sin embargo, las cantidades de compuestos fenólicos son bajas en comparación con lo reportado en la tabla 4 (color –  $212,89 \pm 3,46$  mg/100g). Debiéndose estudiar otros compuestos fenólicos como las isoflavonas (también llamadas isoflavonoides), que pertenecen a la familia de los polifenoles y que están presentes en más de 300 plantas<sup>32</sup>, encontrándose en forma natural en leguminosas y en mayor cantidad en los granos de soja *Glycine max*. Las isoflavonas presentan estructura química semejante a los estrógenos humanos, tal como el 17β- estradiol, y por presentar actividad estrogénica, esas sustancias son comúnmente referenciadas como fitoestrógenos<sup>33</sup>.

**Tabla 5.** Determinación de compuestos fenólicos, en estado de conservación seco y liofilizado.

Compuestos Fenólicos mg/100g	Amarillo seco a 60°C	Color seco a 60°C	Shambo seco a 60°C	Amarillo liofilizado	Color liofilizado	Shambo liofilizado
Rutina trihidratada	0,008 <sup>a</sup> ± 0,04	0,0005 <sup>b</sup> ± 0,03	0,0036 <sup>a</sup> ± 0,01	0,0016 <sup>c</sup> ± 0,01	0,0014 <sup>d</sup> ± 0,05	0,004 <sup>a</sup> ± 0,01
Quercetina hidratada	0,89 <sup>a</sup> ± 0,08	0,90 <sup>a</sup> ± 0,01	0,92 <sup>a</sup> ± 0,01	0,45 <sup>b</sup> ± 0,01	0,74 <sup>a</sup> ± 0,13	0,87 <sup>a</sup> ± 0,18
Quercetin a 3β-D-glucósido	12,30 <sup>a</sup> ± 2,24	11,11 <sup>a</sup> ± 0,39	10,09 <sup>a</sup> ± 0,21	11,20 <sup>a</sup> ± 0,32	11,40 <sup>a</sup> ± 0,27	11,60 <sup>a</sup> ± 2,21
Catequina	0,006 <sup>a</sup> ± 0,003	0,08 <sup>a</sup> ± 0,06	0,05 <sup>a</sup> ± 0,04	0,03 <sup>a</sup> ± 0,02	0,02 <sup>a</sup> ± 0,02	0,04 <sup>a</sup> ± 0,06
Ácido clorogénico	0,12 <sup>a</sup> ± 0,14	0,89 <sup>a</sup> ± 0,80	1,11 <sup>a</sup> ± 1,07	0,61 <sup>a</sup> ± 0,30	1,05 <sup>a</sup> ± 1,01	4,87 <sup>a</sup> ± 7,56

\* Los datos en las tablas representan el promedio Desviación estándar (DS) y las letras difieren, si estadísticamente son diferentes p<0,05.

### CONCLUSIONES

Se ha determinado que existen diferencias químicas importantes en los mesocarpios estudiados, sin embargo no se logró determinar un morfotipo que sobresalga entre los demás; no obstante, se estima que el principal potencial de *Mauritia flexuosa* L.f. se encuentra en sus aceites por lo que se debe estudiar a fondo su caracterización; además se deben realizar pruebas para la determinación de actividad antioxidante de sus aceites utilizándose otras metodologías, pues es bien sabido las cantidades altas de β- caroteno que existen en estos aceites.

### AGRADECIMIENTOS

A INCAGRO (Innovación y Competitividad para el Agro Peruano) y al Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP), por el financiamiento, por medio del convenio IIAP - INCAGRO. A los miembros del Laboratorio de Sustancias Naturales Bioactivas: Ing. Erika J. Dávila Guerrero e Ing. Liliana Silva Doza.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Henderson, A. (1995). The Palmae of the Amazon. Oxford University Press, New York. 326p.
- Villachica, H. (1996). Frutales y hortalizas promisorios de la Amazonía. Secretaría Pro-Tempore, Tratado de Cooperación Amazónica, pp.367.
- Case, C.; Lares, M.; Palma, A.; Brito, S. and Pérez, E. (2007). Blood glucose and serum lipid levels in the Venezuelan Warao tribe: Possible relationship with moriche fruit (*Mauritia Flexuosa* L.) intake. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, 17 (1-2).

4. Shanley, P.; Medina, G. (2005). Frutíferas e Plantas Úteis na Vida Amazônica. Pp:181-187. Belém. Brasil.
5. De Rosso V.V. and Mercadante, A.Z. (2007). Identification and Quantification of Carotenoids, By HPLC-PDA-MS/MS, from Amazonian Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55 (13): pp. 5062 -5072.
6. Albuquerque, M.L.S.; Guedes, I.; Alcantara, Jr.; Moreira, S.G.C. (2003). Infrared absorption spectra of Buriti (*Mauritia flexuosa* L.) oil. *Vibrational Spectroscopy*, 33: pp. 127–131.
7. Albuquerque, M.L.S.; Guedes, I.; Alcantara, Jr.; Moreira, S.G.C.; Barbosa Neto, N.M.; Correa, D.S. and Zilio, C. (2005). Characterization of Buriti (*Mauritia flexuosa* L.) Oil by Absorption and Emission Spectroscopies, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 16(6): pp. 1113-1117.
8. Rodríguez-Amaya, D.B. (2001). A guide to Carotenoid Analysis in Foods. ILSI Press, Washinton, 2001. pp. 11-13.
9. Del Castillo, D.; Otárola, E.; Freitas, L. (2006). Aguaje, la maravillosa palmera de la Amazonía. Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana. Iquitos. Ediciones Wust. 51 p.
10. Kahn, F.; Moussa, F. (1994). Las palmeras del Perú. Inst. Fr. Estad. Andin. IFEA. Lima, Perú.
11. Brako, L.; Zartucchi, L.J. (1993). Catalogue of the flowering plants and gymnosperms of Peru. Mo. Bot. Gard. St. Louis, Missouri, USA.
12. Delgado, C.; Couturier, G.; Mejía, K. (2007). *Mauritia flexuosa* (Arecaceae: Calamoideae), an Amazonian palm with cultivation purposes in Peru. *Fruits*. 62, pp: 157-159.
13. Vásquez, B. I. (2009). Efecto de 4 medios de cultivo y 3 dosis de Thidiazuron en la inducción de embriogénesis somática en *Mauritia flexuosa* L.f. en Iquitos Perú. Tesis para optar el título de Ingeniera Agrónoma. Universidad Nacional de San Martín, Facultad de Ciencias Agrarias. Tarapoto, Perú.
14. Adolfo Lutz. (1985). Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 2 ed. São Paulo. Vol. 1. 583 p.
15. Osborne, D.R.; Voogt, P. (1978). Análisis de los nutrientes de los alimentos. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza (España).
16. Official Methods of Analysis of AOAC international. (2005). 18 Edition. USA.
17. Shahidi, F. and Nacz M. (1995). Methods of Analysis and Quantification of Phenolic Compounds. En Food phenolics. Technomic, Publishing Co. Inc., Lancaster 281-319.
18. Asami, D.; Hong, Y.J.; Barrett, D. and Mitchell, A. (2003). Comparison of the Total phenolic and Ascorbic Acid content of Freeze - dried and Air - dried Marionberry, Strawberry, and corn grown using Conventional, Organic, and sustainable Agricultural practices. *Journal of Agricultural and food chemistry*. California. pp. 1237 – 1241.
19. Tomás-Barberán, F.; Gil, M.; Cremin, P.; Waterhouse, A.; Hess-Pierce, B. y Kader, A. 2001. HPLC-DAD-ESIMS Analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4748 – 4760.
20. Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.* 28, pp: 25-30.
21. Sall, J.; Lehman, A.; Creighton, L. (2001). JMP Start Statistics – A guide to statistics and data analysis using JMP and JMP in software. 2nd ed. USA. Pp. 491.

22. Manhães, L.R.T. Caracterização da polpa de buriti (*Mauritia flexuosa*, Mart.): um potente alimento funcional. Seropédica: UFRRJ, 2007. 78p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2007.
23. NEPA-UNICAMP. (2006). Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos-TACO, versão II, 2ªed., Campinas-SP: NEPA-UNICAMP.
24. Santos, L.M.P. (2005). Nutritional and ecological aspects of buriti or aguaje (*Mauritia flexuosa* Linnaeus filius): a carotene-rich palm fruit from Latin America. *Ecology of Food and Nutrition*, 44; pp. 1-14.
25. Mariath, JG; Lima, MC; and Santos, LM. (1989). Vitamin A activity of buriti (*Mauritia vinifera* Mart) and its effectiveness in the treatment and prevention of xerophthalmia. *American Journal of Clinical Nutrition*, 49; pp. 849-853.
26. Andrade, E.C.B.; Barros, A.M.; Takase, I. (2003). Avaliação as solubilidade de cobre e zinco em caldos de leguminosas. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 23(3), p: 386-388.
27. Mahan, L.K.; Escott-Stump, S. (2002). Krause. Alimentos, Nutrição & Dietoterapia 10ªed., São Paulo: Roca, 1157 p.
28. Flores, P.S. (1997). Cultivo de frutales Nativos Amazónicos. Tratado de Cooperación Amazónica. Proyecto RLA/92/g32, Lima, pp. 307.
29. Murillo, F. E. (2006). Actividad antioxidante «*in vitro*» de las bebidas de frutas Actividad antioxidante «*in vitro*» de las bebidas de frutas. Tecnología. Alfa Editores Técnicos.
30. Huss, U. (2002). Screening of ubiquitous plant constituents for COX-2 inhibition with a scintillation proximity based assay. *J Nat Prod.* 65(11), p: 1517 - 21.
31. Hinz, B. (2000). Salicylate metabolites inhibit cyclooxygenase-2-dependent prostaglandin E (2) synthesis in murine macrophages. *Biochem Biophys Res Commun.* 274(1), pp: 197 -202.
32. Baker, VI; Leitman, D.; Jaffe, RB. (2000). Selective estrogens receptor modulators in reproductive medicine and biology. *Obst Gynecol Surgery.* 55(Suppl), S:21-S47.
33. Queiroz, S. C. N.; Tassara N. R.; Scramin S. (2006). Importância dos fitoestrógenos, presentes na soja, para a saúde humana. EMBRAPA. Meio ambiente. Jaguariúna. Brasil.

## ESTUDIO DEL PROCESO DE BIOSORCIÓN DE DOS COLORANTES ESTRUCTURALMENTE DIFERENTES SOBRE RESIDUOS AVÍCOLAS

Angelina Hormaza<sup>1</sup>, Edgar Suárez García<sup>2</sup>

### RESUMEN

Se presenta el resultado de los estudios experimentales del proceso de adsorción de los colorantes azul brillante (AB) y azul de metileno (AM) sobre los residuos avícolas [plumas de gallina (P) y cáscara de huevo (H)]. Se encontró que las plumas poseen una excelente capacidad de adsorción para el colorante AB (remociones cercanas al 100%), mientras que las cáscaras de huevo mostraron resultados aceptables sólo con el colorante AM (remociones cercanas al 60%). El efecto de las principales variables del proceso, como pH, dosificación de biomasa y concentración inicial de colorante sobre el porcentaje de remoción fue evaluado. Además, se llevó a cabo los estudios de equilibrio del proceso para dos pares soluto-sorbente seleccionados.

**Palabras clave:** colorante, isoterma de adsorción, plumas, cáscara de huevo.

## COMPARATIVE STUDY OF BIOSORPTION PROCESS OF TWO STRUCTURALLY DIFFERENT DYES ON POULTRY WASTES

### ABSTRACT

Experimental results of studies carried out on sorption of two aqueous-solution dyes brilliant blue (AB) and methylene blue (AM) by poultry wastes [chicken feathers (P) and eggshells (H)] is presented. It was found that chicken feather exhibit a high biosorption capacity for Brilliant Blue (almost complete removal) while eggshell only shown an intermediate-level capacity for Methylene Blue removal (near 60% removal). The effect of main process parameters like pH, sorbent dosage and initial dye concentration on removal efficiency was evaluated. Furthermore, equilibrium process analysis was done for two solute-sorbent selected pair.

**Key words:** dye, sorption isotherm, chicken feather, eggshells.

### INTRODUCCIÓN

Con el desarrollo acelerado de las grandes industrias y el intenso crecimiento de los núcleos urbanos, la descarga de efluentes contaminados con colorantes y la disposición de residuos sólidos animales representan un grave riesgo para la salud y el medio ambiente.<sup>1</sup>

Los efluentes industriales coloreados, generados en industrias textiles, de flores, de alimentos y de medicinas, entre otras<sup>2</sup>, constituyen uno de los mayores desafíos en el tratamiento de aguas, debido en primer lugar al fuerte impacto visual sobre los ecosistemas y cuerpos de agua y en segundo lugar por su elevada carga orgánica y toxicidad. Por otro lado, su efecto

<sup>1</sup> Escuela de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia – Sede Medellín. Calle 59A No 63 – 20, Medellín – Colombia, ahormaza@unal.edu.co

<sup>2</sup> Escuela de Biociencias, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia – Sede Medellín. Calle 59A No 63 – 20, Medellín – Colombia, esuarez@unal.edu.co

principal sobre la vida acuática tiene que ver con la limitación en la actividad fotosintética como resultado de la disminución en la penetración de luz y en la toxicidad sobre algunos animales por la presencia de compuestos aromáticos, halógenos o metales.<sup>3</sup>

Debido a su diversa y compleja naturaleza reactiva, la estabilidad química de los colorantes los convierte en compuestos difíciles de tratar; ellos se encuentran clasificados en cuatro categorías: Directos o aniónicos, ácidos y reactivos, catiónicos o básicos, no iónicos o colorantes dispersos.<sup>4</sup> Diversas tecnologías han sido desarrolladas y probadas en sistemas de tratamiento de efluentes industriales coloreados. En general, los tratamientos biológicos no son eficientes para tratar grandes volúmenes de efluentes, mientras que los procedimientos fisicoquímicos han sido comúnmente usados e incluyen procesos de floculación, precipitación, oxidación química avanzada, precipitación y adsorción. Sin embargo, algunas limitaciones como la generación de lodos, el costo de operación y reactivos, y la generación de subproductos solubles, usualmente más tóxicos, impiden su uso extendido.<sup>3,4</sup> Existe entonces una justificada necesidad de búsqueda de nuevas alternativas de tratamiento, económicas y técnicamente competitivas. En este marco de referencia, la adsorción con carbón activado ha mostrado ser la estrategia más promisoriosa; sin embargo, su elevado costo restringe su implementación a gran escala; de allí que la exploración de materiales alternativos, con propiedades similares, de origen natural, fácil adquisición y por tanto mínimo valor económico, es imperiosa.<sup>5</sup>

Según reportes de FENAVI,<sup>6</sup> en el año pasado se produjeron cerca de 924896 toneladas de pollo y 8293 millones de unidades de huevo en el país. En general, las plumas han sido procesadas para luego comercializarse como harinas destinadas a alimentación ó suplemento proteico para animales, mientras que las cáscaras de huevo han sido compostadas como estrategia de disposición o usadas como fuente de calcio.<sup>7,8</sup>

El proceso de adsorción de los colorantes azul de metileno y azul brillante sobre residuos avícolas es estudiado desde el punto de vista del efecto de las principales variables del proceso (pH, dosificación de biomasa y concentración del contaminante) y desde la perspectiva del equilibrio para dos pares soluto-sorbente seleccionados.

## SECCIÓN EXPERIMENTAL

### **Preparación del adsorbente.**

Las cáscaras de huevo se obtuvieron en mercados regionales, fueron lavadas con agua destilada varias veces y dejadas en suspensión con agitación leve por dos horas. Luego se filtraron y llevaron a secado en un horno a 80°C por 24 h. Las cáscaras secas fueron molidas hasta obtener un tamaño de partícula homogéneo, de aproximadamente 0,5  $\mu\text{m}$ .

Las plumas de gallina fueron obtenidas en galpones locales. Se sometieron a lavado con agua destilada repetidas veces y se secaron en un horno a 40°C por 12 h. Luego se molieron para obtener un tamaño de partícula uniforme, de aproximadamente 1.0  $\mu\text{m}$ .

### **Preparación de los colorantes.**

Soluciones estándar de los colorantes azul de metileno (AM) y azul brillante (AB) fueron preparadas a una concentración de 1000mg/L, en agua destilada. A partir de la solución estándar se prepararon las curvas de calibración individuales y los ensayos posteriores de adsorción.

### **Análisis de la concentración de colorante.**

Las concentraciones de los colorantes fueron determinadas a partir de las curvas estándar, siguiendo la absorbancia de cada especie a su longitud de onda máxima (AB  $\lambda_m=624$  nm, AM  $\lambda_m=666$  nm) en un espectrofotómetro UV Génesis 10V.

### Estudios de bioadsorción

Los estudios de bioadsorción fueron llevados a cabo en frascos de 50mL en modo discontinuo. Las muestras experimentales se mantuvieron en un shaker orbital a temperatura ambiente y 120rpm, por un tiempo específico. Luego, las muestras se sometieron a centrifugación a 4000rpm durante 5min, usándose el sobrenadante para la determinación de las concentraciones residuales de cada colorante.

**Estudio del efecto del pH inicial.** El pH inicial de la solución de colorante fue modificado en el intervalo de interés usando NaOH o HCl 1M. La concentración inicial de colorante y la dosificación de biomasa se mantuvieron constantes. Los resultados de esta prueba fueron usados para seleccionar los pares soluto-sorbente que se sometieron a los restantes estudios.

**Estudio del efecto de la dosificación de biomasa.** El efecto de la dosificación fue evaluado variando la cantidad de biomasa adicionada en cada muestra. La concentración de colorante se mantuvo fija, mientras que el pH se ajustó al valor de óptima remoción.

**Efecto de la concentración inicial de colorante.** Ajustando a su valor óptimo los valores de pH y dosificación de biomasa, se evaluaron diferentes concentraciones de cada colorante y se determinaron los porcentajes de remoción respectivos.

**Estudios de equilibrio.** El equilibrio del proceso de adsorción fue analizado usando modelos empíricos y la cuantificación de la cantidad de colorante adherida a la biomasa fue determinada usando la siguiente relación:

$$q_{eq} = (C_o - C_{eq}) \frac{V}{W} \quad (1)$$

Con:

$q_{eq}$ : Cantidad de colorante adherido en la biomasa [mg/g].

$C_o, C_{eq}$ : Concentración inicial y de equilibrio del contaminante [mg/L].

$V$ : Volumen de la solución de colorante usada [L].

$W$ : Masa de bioadsorbente adicionada [g].

El equilibrio que se establece entre el colorante en solución y las moléculas adheridas en la superficie del sólido puede ser representado mediante isothermas de adsorción. Existen diversos modelos teóricos, sin embargo los más comunes son los modelos de *Langmuir* y *Freundlich*.

**Modelo de Langmuir.** El modelo empírico de *Langmuir* establece la existencia de una capa uniforme en la cual se considera un número finito de sitios activos equivalentes y distribuidos homogéneamente y se expresa como:

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

Con:

$q_{max}$ : Constante de *Langmuir* que denota la capacidad máxima de adsorción de la biomasa [mg/g].

$b$ : Constante de *Langmuir* que indica la afinidad por los sitios activos [l/mg].

Linealizando la ecuación 2, pueden obtenerse las constantes específicas de la isoterma despejando el intercepto y la pendiente:

$$\frac{1}{q_e} = \left(\frac{1}{Q_{max}}\right) + \left(\frac{1}{b Q_{max}}\right) \left(\frac{1}{C_{eq}}\right) \quad (3)$$

**Modelo de Freundlich.** En este modelo se considera una monocapa heterogénea en la que los sitios activos no son independientes o equivalentes y su capacidad específica de adsorción está dada por:

$$q_{eq} = K_f C_{eq}^{1/n} \quad (4)$$

Con:

$K_f$ : Constante de *Freundlich* relacionada con la capacidad de adsorción de la biomasa [L/g]

$n$ : Constante de *Freundlich* que indica la intensidad de la adsorción.

De la pendiente y el intercepto de la ecuación linealizada, pueden calcularse el valor de las constantes:

$$\ln q_{eq} = \ln K_f + \left(\frac{1}{n}\right) \ln C_{eq} \quad (5)$$

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Efecto del pH sobre la adsorción.

Se efectuaron ensayos preliminares en los que se evaluó la remoción de los colorantes en tres intervalos de pH: ácido, neutro y básico (datos no mostrados). Usando plumas, se observó una excelente remoción de azul brillante a pH ácido y una remoción muy baja a pH neutro y básico, mientras que para AM se registraron remociones muy bajas a valores de pH neutro y básico y casi nulas a valores ácidos de pH. Usando cáscara de huevo, se observaron sólo remociones importantes para azul de metileno a valores de pH en el rango básico.

A partir de estos resultados preliminares se realizaron ensayos de remoción específicos, seleccionando los pares plumas-azul brillante (P-AB) y cáscara de huevo-azul de metileno (H-AM). Las moléculas de AB y AM se muestran en las figuras 1 y 2.

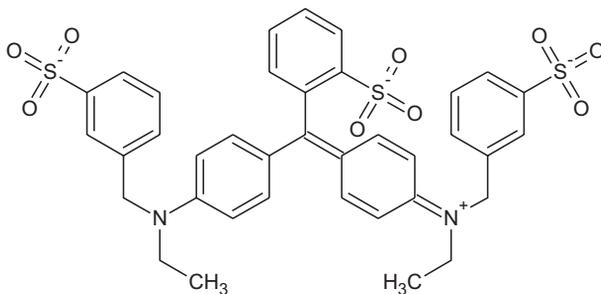


Figura 1. Estructura química del azul brillante.

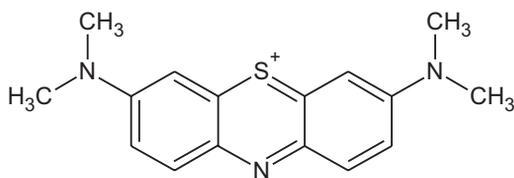


Figura 2. Estructura química del azul de metileno.

En la figura 3 se muestra el efecto del pH en la remoción de azul brillante usando plumas de gallina. Para el experimento se evaluó un rango de pH comprendido entre 2 y 7, se empleó una dosificación de biomasa de 0,1% P/V y se fijó una concentración inicial de colorante de 6 mg/L.

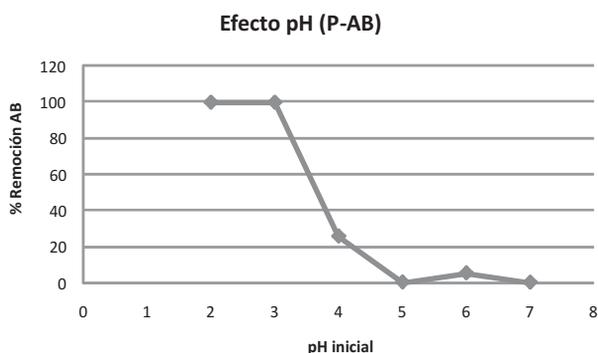
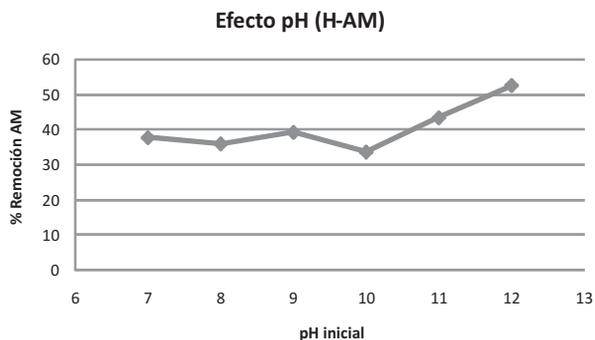


Figura 3. Efecto del pH inicial sobre la remoción de azul brillante.

Las plumas de gallina están compuestas principalmente por una proteína fibrosa llamada queratina, la cual, además, presenta una gran superficie específica.<sup>7</sup> A valores de pH ácido, la superficie de las partículas de plumas se encuentran protonadas de tal forma que se incrementa la cantidad de sitios activos disponibles cargados positivamente. Existe entonces una afinidad importante con las moléculas aniónicas del colorante AB que favorece la unión en la superficie. Además, se observa que a valores de pH cercanos a la neutralidad, la remoción de colorante es casi nula, lo que indica repulsión de cargas entre los sitios activos de la partícula y los aniones en solución.

Por otro lado, las cáscaras de huevo se componen principalmente de carbonatos de calcio.<sup>8</sup> A valores de pH básico, los iones hidroxilo cargados negativamente ocupan los sitios activos en la superficie de la partícula permitiendo la adsorción de las moléculas de AM cargadas positivamente. En la figura 4 se muestra el efecto del pH en el porcentaje de remoción de AM, evaluado en el rango básico (7-12), a una dosificación de 1%P/V y fijando una concentración inicial de colorante de 15 mg/L. Como se observa, un porcentaje de remoción máximo del 55% fue obtenido a un valor de pH 12.



**Figura 4.** Efecto del pH inicial sobre la remoción de azul de metileno.

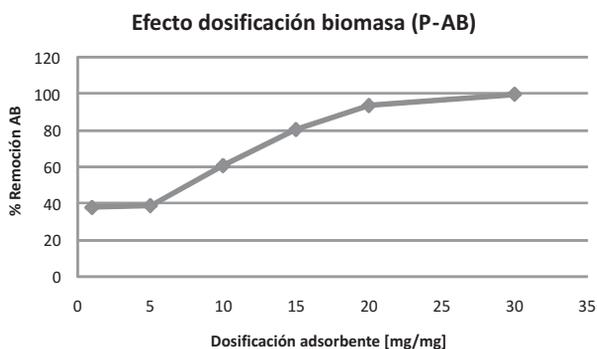
Es claro que las propiedades como buen adsorbente para las cáscaras de huevo se obtienen cuando los iones  $\text{Ca}^{2+}$  son removidos de la estructura. Es probable que un lavado con solventes o con soluciones de ácidos débiles permita en mayor medida liberar los cationes logrando una remoción más significativa de moléculas contaminantes en solución.

#### **Efecto de la dosificación de biomasa.**

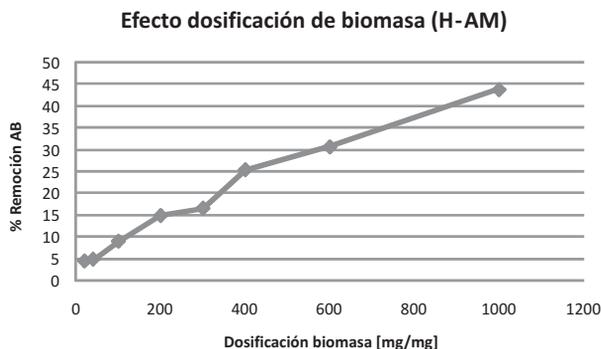
El incremento en la dosificación de biomasa conlleva a la mejora en el porcentaje de remoción de los colorantes. Como se evidencia en las figuras 5 y 6, la tendencia esperada se confirma adecuadamente.

Para el par P-AB se fijó el pH en un valor de 2,5 y se usó una concentración inicial de colorante de 6 mg/L.

Para el sistema H-AM se ajustó el pH inicial a un valor de 12 y se partió de una concentración de colorante de 15 mg/L.



**Figura 5.** Efecto de la dosificación de adsorbente en la remoción de azul brillante.

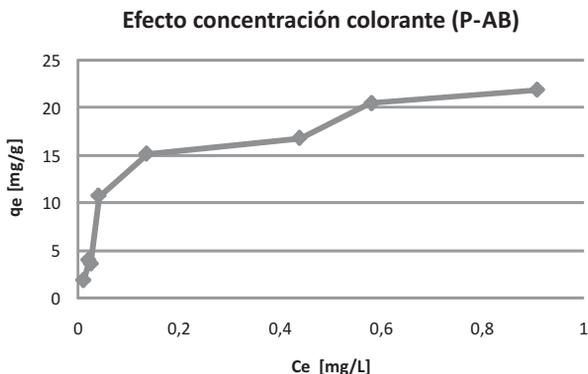


**Figura 6.** Efecto de la dosificación de adsorbente en la remoción de azul de metileno.

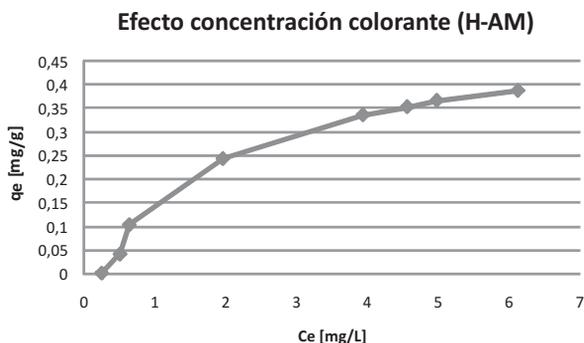
Es importante mencionar en este punto la gran diferencia en la cantidad de adsorbente requerida para la adsorción de colorante; se observa que la remoción de AB es lograda casi completamente dosificando 30mgP/mg AB presente en la solución, mientras que usando una dosificación de 1000mgH/mg AM sólo se logró una remoción del 45%. Ello implica en primer lugar, el mayor potencial de las plumas para la remoción de contaminantes sin requerimientos previos de activación, y en segundo lugar sugiere la necesidad de pretratar las cáscaras de huevo para mejorar la liberación de iones  $\text{Ca}^{+2}$  y optimizar de esta forma su capacidad como adsorbente.

#### **Efecto de la concentración inicial de colorante.**

Al incrementar la concentración inicial de contaminante, el porcentaje de remoción de la biomasa decrece, como resultado de la presencia de un número finito de sitios activos en la superficie de la biomasa; sin embargo, la capacidad específica de adsorción de la biomasa se ve incrementada al aumentar la concentración inicial, tal y como se muestra en las figuras 7 y 8.



**Figura 7.** Efecto de la concentración de colorante en la capacidad específica de adsorción de la biomasa P.



**Figura 8.** Efecto de la concentración de colorante en la capacidad específica de adsorción de la biomasa H.

Este comportamiento aparentemente paradójico se explica si se considera la saturación progresiva de la monocapa de adsorción de cada partícula de biomasa: A medida que la concentración inicial se incrementa, mayor cantidad de moléculas se van adhiriendo a la superficie saturándola progresivamente hasta un valor constante, correspondiente a la capacidad máxima de adsorción, en donde la capacidad de remoción se hace mínima. En el caso que se requiera continuar usando la biomasa, se necesita un proceso adicional de desorción, en el cual se liberan los sitios activos de la superficie de la partícula, permitiendo la adhesión de nuevas moléculas en sistemas de remoción posteriores.

#### Estudio de equilibrio del proceso adsorción

Los análisis realizados hasta este punto indican un comportamiento similar al supuesto en el modelo de *Langmuir*. En efecto, al calcular los coeficientes de correlación para cada modelo y cada par soluto-sorbente, se encuentra un ajuste más significativo al equilibrio predicho por este modelo. El resumen de los cálculos se muestra en la tabla 1.

**Tabla 1.** Resumen de los parámetros de equilibrio para los sistemas P-AB y H-AM.

Cinética	P-AB	H-AM
<i>Langmuir</i>		
b[L/mg]	5,333	0,046
q <sub>max</sub> [mg/g]	39,062	2,191
r <sup>2</sup>	0,977	0,992
<i>Freundlich</i>		
n	2,053	1,158
K <sub>f</sub> [L/g]	28,284	10,331
r <sup>2</sup>	0,889	0,967

Los datos presentados en la tabla 1 demuestran que ambos pares experimentales se ajustan más adecuadamente al modelo de *Langmuir* que al modelo de *Freundlich*. Ello implica entonces que las partículas presentan una superficie homogénea y que los sitios activos aceptan una sola molécula de colorante. Además, todos los sitios disponibles en la partícula presentan una distribución energética similar y no existe interacción entre ellos.<sup>9</sup> Los valores

de  $q_{\max}$  indican una mayor capacidad de adsorción del biosorbente P (39,06 mg/g). El bajo valor de  $q_{\max}$  para el biosorbente H (2,191 mg/g) puede ser explicado si se considera una utilización parcial de las partículas en contacto con el colorante. Experimentalmente se observó que solo una pequeña porción de las partículas de huevo lograba adsorber efectivamente moléculas de colorante, siendo entonces evidente que se requieren procedimientos de pre-tratado que incrementen el porcentaje de partículas disponibles para el intercambio. De forma similar, se determinó una alta afinidad de las moléculas de contaminante por los sitios activos en la biomasa P. Ello por su puesto indica una velocidad de remoción mayor y una capacidad específica de adsorción para el sistema P-AB que para el sistema H-AM.

Aunque ambos sistemas se ajustan al mismo modelo teórico, en la experiencia se observó que el par P-AB alcanzó el equilibrio en 180 min, en tanto que el sistema H-AM requirió un tiempo adicional del 33% para lograr el equilibrio y saturación de las partículas, es decir 240 min de contacto.

### CONCLUSIONES

Los experimentos realizados demuestran el potencial adsorbente de dos residuos de la industria avícola (plumas de gallina y cáscaras de huevo) en sistemas de remoción de dos colorantes de distinta naturaleza química (azul brillante y azul de metileno). Se evaluó el efecto de las variables pH inicial, dosificación de biomasa y concentración inicial de colorante sobre la capacidad de remoción de los bioadsorbentes, encontrándose un óptimo de remoción en el rango ácido para el par P-AB (remoción cercana al 100%) y en rango básico para el par H-AM (remoción cercana al 60%). Las curvas de dosificación de biomasa e incremento de la concentración inicial de colorante mostraron las tendencias esperadas en ambos casos. El equilibrio del proceso para ambos pares se ajusta más cercanamente al modelo de *Langmuir* y los parámetros de equilibrio indican una mayor capacidad y afinidad de la biomasa P por las moléculas en solución. Así, los estudios realizados comprueban la aplicación potencial de residuos de la industria avícola en sistemas de remoción de mezclas complejas de colorantes; sin embargo, una investigación más profunda es requerida con el propósito de optimizar las variables del proceso y potenciar las cualidades como adsorbente de los residuos usados.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a la Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín y al Sistema Nacional de Laboratorios de la Sede Medellín por todo el apoyo económico y por la dotación de infraestructura.

## REFERENCIAS

1. Vieira, R. H. S. F.; Volesky, B. Biosorption: a solution to pollution?. *Internatl. Microbiol.*, 2000, **3**: 17-25.
2. Volesky, B. Biosorption and me. *Water Research*. 2007, **41**: 4017–4029.
3. Robinson, T.; McMullan, G.; Marchant, R.; Nigam, P. Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. *Bioresource Technology*. 2001, **77**: 247-255.
4. Aksu Z. Application of biosorption for the removal of organic pollutants: a review. *Process Biochemistry*. 2005, **40**: 997–1026.
5. Crini, G. Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: A review. *Bioresource Technology*. 2006, **97**: 1061–1085.
6. Federación Nacional de Avicultores de Colombia. Producción avícola en Colombia, Año 2007. [www.fenavi.org](http://www.fenavi.org). (Agosto 15 de 2008).
7. Banat, F. Al-Asheh, S. Biosorption of phenol by chicken feathers. *Environ Engg and Policy*. 2000, **2**: 85–90.
8. Chojnacka, K. Biosorption of Cr(III) ions by eggshells.. *Journal of Hazardous Materials*. 2005, **B121**: 167–173.
9. Liu, Y.; Liu, Y.J. Biosorption isotherms, kinetics and thermodynamics. *Sep. Purif. Technol.*, 2007.

## CONFIABILIDAD ANALÍTICA EN MATRICES ARQUEOLÓGICAS MEDIANTE LA PARTICIPACIÓN EN ENSAYOS DE APTITUD

Patricia Bedregal<sup>\*a</sup>, Pablo Mendoza<sup>a</sup>, Blanca Torres<sup>a</sup>, Marco Ubillús<sup>a</sup>

### RESUMEN

Se demuestra la confiabilidad y veracidad de los resultados obtenidos en el análisis de matrices arqueológicas mediante la participación en el ensayo de aptitud conducido por la Agencia Internacional de Energía Atómica (IAEA), sobre la determinación de elementos mayores, menores y traza en cerámica china antigua. Los análisis se realizaron utilizando la técnica analítica nuclear de análisis por activación neutrónica instrumental, basada en el método del *ksubcero*, el cual ha sido validado por el laboratorio, en concordancia con los requerimientos de la norma internacional ISO/IEC 17025.

**Palabras clave:** análisis por activación neutrónica, arqueología, ensayos de aptitud

## ANALYTICAL RELIABILITY IN ARCHAEOLOGICAL MATRICES BY PROFICIENCY TEST PARTICIPATION

### ABSTRACT

The reliability and trueness of the results obtained in archaeological matrices by means of proficiency test participation are showed. The Proficiency Test on major, minor and trace elements in ancient Chinese ceramic was conducted by the International Atomic Energy Agency (IAEA). The analysis was performed using the nuclear analytical technique of instrumental neutron activation analysis, based *k zero method*, which has been validated by the laboratory, according to the ISO/IEC 17025 guidelines.

**Key words:** neutron activation analysis, proficiency test, archaeology

### INTRODUCCIÓN

La aplicación de técnicas analíticas para objetos de arte o arqueológicos es con la finalidad de proveer a la historia y/o a los arqueólogos de información cuantitativa que los pueda ayudar a comprender el estilo de vida de las culturas. Además, la información analítica puede ser utilizada para verificar la autenticidad de los objetos e identificar el fraude o tráfico ilícito de los mismos. En museos, las técnicas analíticas son también utilizadas para la restauración<sup>1</sup>.

Una de las resaltantes aplicaciones de la técnica analítica nuclear de análisis por activación neutrónica (AAN), es en la disciplina de Arqueología; utilizada para la caracterización de piezas arqueológicas, con la finalidad de obtener información sobre la composición elemental de las mismas. Esta información, la cual debe ser confiable, permite a los arqueólogos resolver preguntas respecto a la ubicación de áreas de producción prehistórica, la identificación de rutas de comercio e intercambio de materias primas y artefactos arqueológicos<sup>2</sup>, así como para rastrear piezas individuales del sitio donde se encontraron, hasta el lugar de origen.

---

<sup>a</sup> Departamento de Química. Centro Nuclear RACSO. Instituto Peruano de Energía Nuclear.  
Av. San Juan de Dios s/n, Lima 6, Perú.

\* pbedregal@ipen.gob.pe

La matriz más analizada en el Departamento de Química del Instituto Peruano de Energía Nuclear, en los últimos años, utilizando el AAN, *método k subcero*, ha sido la de cerámicos arqueológicos provenientes de proyectos de investigación y de clientes externos. Así, el laboratorio de química, ha colaborado con los análisis de piezas de cerámicos provenientes del conjunto arqueológico de Revash y de la ciudadela de Kuelap, ambos ubicados en la región Amazonas y de la ciudadela de Choquequirao, ubicada en la provincia de la Convención, Cusco.

En el marco del proyecto de investigación, “Aplicaciones de las técnicas nucleares para investigar la autenticidad de objetos de arte”, la IAEA, por intermedio del grupo de Materiales de Referencia de la Unidad de Química de los laboratorios de Seibersdorf, organizó el ensayo de aptitud IAEA-CU-2006-06, sobre la determinación de elementos mayores, menores y trazas en cerámica china antigua.

La participación en ensayos de aptitud permite una evaluación periódica del rendimiento del laboratorio, el cual se realiza mediante la distribución de un material típico, por una entidad independiente para la ejecución de los análisis por los laboratorios participantes en el ensayo<sup>3</sup>.

El objetivo de dicho ensayo de aptitud fue asegurar que las conclusiones de los estudios realizados sobre los objetos cerámicos y de arte, estén basados en resultados analíticos validados y confiables. Además, de asegurar la comparabilidad analítica de los diferentes países participantes en el proyecto<sup>4</sup>. De los 24 laboratorios participantes, 12 utilizaron la técnica de análisis por activación neutrónica instrumental.

En este reporte se presentan los resultados obtenidos en dicho ensayo de aptitud, demostrándose la calidad y confiabilidad de la información reportada a los clientes que requieren el análisis por activación neutrónica en muestras arqueológicas.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Preparación de las muestras y del comparador de sodio

Se pesaron entre 150 y 200 mg de muestra de cerámica china en viales de irradiación, previamente lavados con  $\text{HNO}_3$  al 10%.

Los comparadores de sodio se prepararon depositando 200 microlitros de solución estándar de sodio de  $10\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  dentro de pequeños viales de polietileno, que luego se secaron.

Muestras y comparadores se sellaron y acondicionaron en cápsulas de polietileno, para su irradiación.

### Irradiación y medición

Se utilizó la posición A-1 de la grilla del núcleo del reactor de investigación de 10 MW de potencia y el sistema neumático de transferencia para irradiar las muestras y comparadores de sodio a un flujo térmico de  $3 \times 10^{13}\text{ n}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ .

Para la cuantificación de los elementos Al, Ca, Dy, Mg, Mn, Ti y V las muestras se irradiaron por 20 segundos y después de 10 minutos de decaimiento, se midieron por 600 segundos. Se realizó una segunda irradiación por 1200 segundos para cuantificar As, Eu, La, Na, K, Sb, Sm, U e Yb, midiéndose 6000 segundos, después de 5 días de decaimiento, y para cuantificar Ce, Co, Cr, Cs, Fe, Hf, Nd, Rb, Sc, Ta, Tb, y Th, las muestras se midieron 20000 segundos, después de 15 días de decaimiento.

Las mediciones se realizaron utilizando un detector de Ge (HP) de 15% de eficiencia relativa. Para la evaluación de los espectros se utilizó la versión 2,0 del programa Genie 2K y los cálculos de concentración se efectuaron utilizando software desarrollado en el laboratorio.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1, se presentan los resultados de 24 elementos, los cuales corresponden al promedio de tres réplicas de muestra analizada. Dichos resultados están expresados en base seca y acompañados de la incertidumbre expandida, a un nivel de confianza del 95%, aproximadamente.

También se presentan los resultados asignados al material de referencia para cada elemento, los criterios de evaluación adoptados y la puntuación final alcanzada.

El sistema de evaluación aplicado toma en consideración la veracidad y precisión de los datos informados por el laboratorio e incluye en dicha evaluación los valores de la incertidumbre asociada, tanto, la reportada por el laboratorio como, la asignada. Este método de evaluación es adoptado en los ensayos de aptitud que utilizan muestras con una incertidumbre pequeña y bien definida.

El parámetro estadístico z-score, se calcula considerando los resultados informados por el laboratorio, el valor objetivo asignado o certificado y la desviación estándar, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$z_{score} = \frac{Valor_{laboratorio} - Valor_{asignado}}{\sigma} \quad (1)$$

El valor objetivo para la desviación estándar ( $\sigma$ ) es  $0,1 \times$  Valor asignado.

El criterio de evaluación considera el rendimiento del laboratorio como *satisfactorio* si  $|z_{score}| \leq 2$  *questionable* para,  $2 < |z_{score}| < 3$  e *insatisfactorio* para  $|z_{score}| \geq 3$ . De acuerdo a este criterio, los resultados reportados por el laboratorio lo cumplen satisfactoriamente.

El segundo criterio utilizado es el valor del u-score, donde se evalúa, no sólo el resultado obtenido, sino también la incertidumbre asociada al mismo, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$u_{test} = \frac{|Valor_{asignado} - Valor_{laboratorio}|}{\sqrt{U_{asignada}^2 + U_{laboratorio}^2}} \quad (2)$$

El criterio para la aceptación del  $u_{test}$ , a un nivel de probabilidad del 99% es el parámetro 2,58 y para determinar si el resultado cumple con el criterio y pasa el  $u_{test}$  se aplica,  $u < 2,58$ .

Además, los resultados reportados se evaluaron contra el criterio de aceptación para la veracidad y precisión con la intención de darle al resultado, el estado de “acceptable” (A), “advertencia”(W) o “no aceptable”(N).

**La veracidad** fue evaluada asignando el estado de aceptable (A), si  $A1 \leq A2$ , donde;

$$A1 = |Valor_{asignado} - Valor_{laboratorio}| \quad (3)$$

$$A2 = 2,58 \sqrt{U_{asignada}^2 + U_{laboratorio}^2} \quad (4)$$

La **precisión** fue evaluada mediante un estimador **P**, calculado de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$P = \sqrt{\left( \left( \frac{U_{asig}}{Valor_{asig}} \right)^2 + \left( \frac{U_{lab}}{Valor_{lab}} \right)^2 \right)} 100 \quad (5)$$

P depende directamente de la incertidumbre de la medición reportada por el laboratorio. El límite de precisión aceptable (LAP) para cada analito, la define el organizador del ensayo de aptitud basado en ajustes debido a la concentración e incertidumbre del elemento analizado y a la complejidad del problema analítico. El resultado es aceptable para la precisión, si  $P \leq LAP$ . El valor de LAP para la mayoría de elementos es de 20%.

Los resultados de veracidad y precisión son combinados para dar lugar al puntaje final, que indicaría la evaluación de la exactitud de los resultados obtenidos por el laboratorio.

Sólo el elemento Ti reportado, tiene una puntuación final de advertencia (W), por estar fuera del criterio de veracidad mencionado. Se ha identificado que la baja estadística de medición considerada para la evaluación del fotopico  $^{51}\text{Ti}$  de vida media corta de 5,76 minutos y la alta concentración de Al que dio lugar a tiempo muerto alto, excediendo el tiempo de decaimiento para la evaluación del fotopico de Ti, ha sido la causa.

Los demás elementos reportados cumplen satisfactoriamente con los criterios establecidos en la evaluación obteniéndose una puntuación final de aceptable.

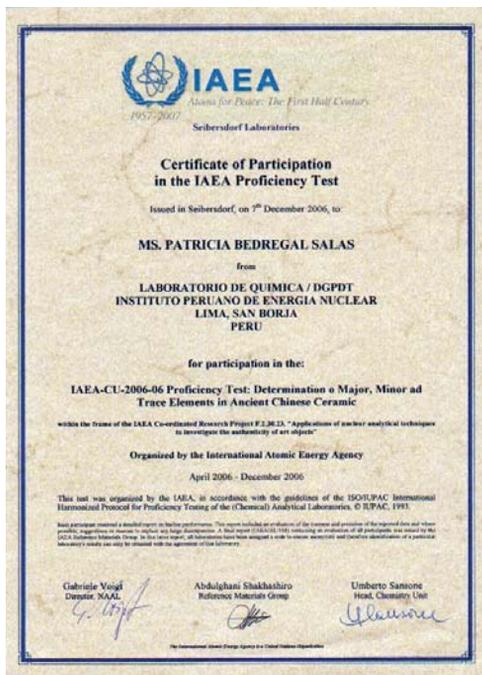


Figura 1. Certificado de participación

Tabla 1. Resultados del análisis multielemental de cerámica chin

Ele	Unidad	Valor MR ± U	Valor lab ± U	Sesgo relativo %	Z-score	U-Test	Veracidad AI A2	Score	Precisión P	Score	Score Final
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	%	23,9 ± 0,4	22,30 ± 0,8	-6,69	-0,67	1,79	1,60	2,31	3,96	A	A
CaO	%	0,55 ± 0,06	0,71 ± 0,01	-11,29	-1,13	0,90	0,07	0,20	13,57	A	A
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	%	2,7 ± 0,1	2,70 ± 0,10	0,00	0	0,00	0,00	0,36	5,24	A	A
K <sub>2</sub> O	%	2,3 ± 0,2	2,20 ± 0,08	-4,35	-0,43	0,46	0,10	0,56	9,43	A	A
MgO	%	0,70 ± 0,12	0,68 ± 0,07	-2,86	-0,29	0,14	0,02	0,36	20	A	A
MnO	%	0,026 ± 0,001	0,023 ± 0,001	-11,54	-1,15	2,12	0,003	0,004	5,8	A	A
Na <sub>2</sub> O	%	0,44 ± 0,02	0,42 ± 0,02	-4,55	-0,45	0,80	0,02	0,06	5,78	A	A
TiO <sub>2</sub>	%	0,95 ± 0,04	0,77 ± 0,05	-18,95	-1,89	2,81	0,18	0,17	7,74	N	W
Ce	mg/kg	118 ± 18	128,8 ± 4,5	9,15	0,92	0,58	10,80	47,87	15,65	A	A
Co	mg/kg	6,6 ± 1,1	6,48 ± 0,24	-1,82	-0,18	0,11	0,12	2,90	17,07	A	A
Cr	mg/kg	63,4 ± 11,1	67,6 ± 3,3	6,62	0,66	0,36	4,20	29,88	18,18	A	A
Cs	mg/kg	9,4 ± 1,6	9,70 ± 0,50	3,19	0,32	0,18	0,30	4,32	17,78	A	A
Dy	mg/kg	7,1 ± 0,9	6,50 ± 0,80	-8,45	-0,85	0,50	0,60	3,11	17,67	A	A
Eu	mg/kg	1,4 ± 0,2	1,35 ± 0,09	-3,57	0,57	0,23	0,05	0,57	15,76	A	A
La	mg/kg	68,8 ± 5,4	64,4 ± 2,2	-6,40	-0,64	0,75	4,40	15,04	8,56	A	A
Nd	mg/kg	51,9 ± 7,2	45,4 ± 2,9	-12,52	-1,25	0,84	6,50	20,03	15,27	A	A
Rb	mg/kg	113 ± 18	111 ± 8	-1,77	-0,18	0,10	2,00	50,82	17,48	A	A
Sc	mg/kg	14,9 ± 2,5	16,4 ± 0,60	10,07	1,01	0,58	1,50	6,63	17,17	A	A
Sm	mg/kg	8,7 ± 1,0	8,17 ± 0,27	-6,09	-0,61	0,51	0,53	2,67	11,96	A	A
Tb	mg/kg	1,1 ± 0,2	1,05 ± 0,12	-4,55	-0,45	0,21	0,05	0,60	21,48	A	A
Th	mg/kg	24 ± 4	23,9 ± 0,8	-0,42	-0,04	0,02	0,10	10,52	17	A	A
U	mg/kg	6,1 ± 0,5	5,59 ± 0,35	-8,36	-0,84	0,84	0,51	1,57	10,31	A	A
V	mg/kg	107 ± 6	101 ± 9	-5,61	-0,56	0,55	6,00	27,91	10,53	A	A
Yb	mg/kg	4,0 ± 0,6	3,99 ± 0,21	-0,25	-0,02	0,02	0,01	1,64	15,9	A	A

Fuente: Reporte IAE/AL/168

A = resultado aceptado

W = resultado advertencia, N = resultado no aceptado

La figura 1 muestra el certificado de participación en el ensayo de aptitud, otorgado al laboratorio de química del IPEN, permitiendo respaldar la evidencia del aseguramiento de la calidad y así cumplir con los requerimientos de la norma ISO/IEC 17025:2005<sup>4</sup>,

### CONCLUSIONES

El rendimiento del laboratorio de química del IPEN, en el ensayo de aptitud IAEA-CU-2006-06 ha sido muy bueno por haberse cumplido con los criterios de evaluación, demostrándose que la técnica y el método aplicado para el análisis de material arqueológico, es el adecuado y los resultados obtenidos son veraces, precisos y de alta exactitud, lo que garantiza la confiabilidad y calidad analítica,

### AGRADECIMIENTO

Agradecemos a la Agencia Internacional de Energía Atómica, por la oportunidad dada para participar en ensayos de aptitud y demostrar nuestra competencia técnica y por la cooperación brindada a lo largo de los años,

### BIBLIOGRAFÍA

1. Coordinated research program, Industrial Applications & Chemistry Section, NACP, IAEA, Applications of nuclear analytical techniques to investigate the authenticity of art objects, Vienna, Austria, 2004,
2. Glascock M,D y Neff H, Neutron activation analysis and provenance research in archeology; *Meas, Sci, Technol*, 14 (2003) 1516-1526,
3. Eurachem Guide, "The fitness for purpose of analytical methods"
4. IAEA/AL/168, "Report on the IAEA-CU-2006-06, Proficiency test on the determination of mayor, minor and trace elements in ancient Chinese ceramic", Seibersdorf, Nov 2006,
5. ISO/IEC 17025:2005 Guide, "General requirements for the competence of testing and calibration laboratories, ISO, Geneva, Switzerland,
6. Biró K,T, "Non destructive research in archaeology" JRNC, Vol, 265, No, 2 (2005) 235-240.

## ESTUDIO TEÓRICO DE LAS PROPIEDADES ELECTRÓNICAS Y ESTRUCTURALES A TRAVÉS DE LA EVOLUCIÓN EN EL ÁNGULO DE TORSIÓN DE CHO-OH, CHS-OH y CHS-SH

R. Pumachagua<sup>\*1</sup>, R. H. Pecho<sup>2</sup>, R. H. Pino<sup>2</sup>, E. O. Nagles<sup>3</sup>, J. J. Hurtado<sup>3</sup>

### RESUMEN

En este trabajo se analiza la evolución de propiedades electrónicas y estructurales de las moléculas: CHO-OH, CHS-OH y CHS-SH, cuando se varía el ángulo de torsión. Entre las propiedades están: distancia de enlace, energía, potencial químico ( $\mu$ ), dureza molecular ( $\eta$ ) e índice de electrofilia ( $\omega$ ). También la función *Fukui* ( $f_{(s)}^+$ ,  $f^-$ ). Los datos obtenidos son comparados con valores en la literatura. Los cálculos fueron realizados a nivel B3LYP/6-311G\*\*, en el contexto de la Teoría de los Funcionales de la Densidad, encontrándose en general que las moléculas permanecen en una geometría cercana a los 180° y 360° de torsión que les permita mayor estabilidad; de los sistemas caracterizados el más estable fue el HCO-OH.

**Palabr clave:** ángulo de torsión; teoría de los funcionales de la densidad; función de *Fukui*; ácido fórmico.

### THEORETICAL STUDY OF THE ELECTRONIC AND STRUCTURAL PROPERTIES THROUGH THE EVOLUTION IN THE ANGLE OF TWIST OF CHO-OH, CHS-OH AND CHS-SH

#### ABSTRACT

In this work the evolution of electronic and structural properties of CHO-OH, CHS-OH and CHS-SH, are analysed when the angle of twist is varied to them. Among them: distance of connection, energy, chemical potential ( $\mu$ ), molecular hardness ( $\eta$ ) and index of electrofilia ( $\omega$ ). Also the *Fukui* function ( $f_{(s)}^+$ ,  $f^-$ ). Some collected data are compared with values available in Literature. The calculations were made at level B3LYP/6-311G\*\*, in the context of the Theory of the Functional ones of the Density, being in general who the molecules remain in a geometry near the 180 and 360° of torsion that allows greater stability them; of the characterized systems most stable was the HCO-OH.

**Key words:** angle of twist; theory of the functional ones of the density; function of *Fukui*; formic acid.

#### INTRODUCCIÓN

Desde que en 1964 *Hohenberg* y *Kohn*<sup>1</sup> postularon la teoría de los funcionales de la densidad, se ha avanzado enormemente en la caracterización de diferentes propiedades estructurales y electrónicas de átomos y moléculas. Y esto gracias a un enorme avance de la química

<sup>1</sup> Universidad Nacional Federico Villarreal, Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas, Jr. Chepen s/n (El Agustino) Perú. rpumachagua@yahoo.es

<sup>2</sup> Alumnos de la Universidad Nacional Federico Villareal

<sup>3</sup> Alumno de la Universidad Santiago de Cali. Calle 5 No 69-00, Pampalinda. Cali (Valle del Cauca) Colombia.

computacional; tanto es así que este estudio se vuelve predictivo en sus análisis, permite tratar sistemas en condiciones extremas, reproducir información experimental y mecanismos de reacción a nivel atómico, para convertirse en una herramienta necesaria en la generación de nuevos trabajos y postulados para las ciencias<sup>2</sup>.

En este contexto, y debido a la importancia que tienen el ácido fórmico en la industria del vino y como coagulante del látex en la industria del caucho natural, y también como especie donadora de un ion hidrógeno o un catión del disolvente<sup>3</sup>, se hará un estudio teórico de la evolución de características como: energía, momento dipolar, potencial químico, dureza molecular, orbitales moleculares, ángulos y distancias de enlace, índice de electrofilia, electronegatividad, cargas electrónicas, cuando se le altera el ángulo de torsión y se sustituyen átomos de oxígeno por átomos de azufre al HCO-OH.

Los cálculos se llevan a cabo a nivel de (DFT) teoría funcional de la densidad, utilizando la metodología funcional de *Becke* y la correlación de *Lee-Yang-Parr*. El conjunto de bases utilizada fue 6-311G++.

### FUNDAMENTOS TEÓRICOS

El primer teorema de *Hohenberg-Kohn*<sup>1</sup> indica que la densidad electrónica  $\rho(r)$  determina el potencial externo  $\mu(r)$ . La densidad electrónica determina el número total de electrones ya que  $\rho(r)$  integra a N:

$$\int \rho(r) dr = N$$

$$E = E_v[\rho]$$

$$E = E[N, v(r)]$$

Las variaciones de la energía con respecto a N (una propiedad global) generan un conjunto de propiedades globales que dan cuenta de la reactividad del sistema.

Entre estas se encuentra el potencial químico que es propiedad global del sistema y mide la tendencia de escape de los electrones del sistema en equilibrio de manera que los electrones fluyen desde regiones de alto potencial químico hacia regiones de bajo potencial químico; este flujo ocurrirá hasta que  $\mu$  sea constante a través de todo el sistema.

$$\mu = \left( \frac{\partial E}{\partial N} \right)_v$$

La dureza molecular es una propiedad global del sistema y mide la resistencia impuesta por éste al cambio en su distribución electrónica.

En esta dirección la dureza es un descriptor de la reactividad.

$$\eta = \left( \frac{\partial \mu}{\partial N} \right)_v$$

También aparece el índice global de electrofilia: medida de la estabilización energética del sistema cuando se satura de electrones que provienen del medio externo.

$$\omega = \frac{\mu^2}{2n}$$

Por otra parte, la función de *Fukui* introducida por *Parr* y *Yang* como una generalización de los conceptos de reactividad de los orbitales frontera.

La función de *Fukui* representa la sensibilidad del potencial químico debido a una perturbación externa.

$$f(\mathbf{r}) = \left[ \frac{\delta\mu}{\delta\nu(\mathbf{r})} \right]_N$$

$$f(\mathbf{r}) = \left( \frac{\partial\rho(\mathbf{r})}{\partial N} \right)_{\nu(\mathbf{r})}$$

La función de *Fukui* representa el cambio de la densidad electrónica cuando el número de electrones cambia.

Para un ataque por parte de una especie nucleofílica se calcula de la siguiente manera:

$$f^+(r) \cong \left( \frac{\partial\rho(r)}{\partial N} \right)_{\nu(r)}^+ = [\rho_{N+1}(r) - \rho_N(r)]$$

Para un ataque por parte de una especie electrofílica se desarrolla:

$$f^-(r) \cong \left( \frac{\partial\rho(r)}{\partial N} \right)_{\nu(r)}^- = [\rho_N(r) - \rho_{N-1}(r)]$$

Para un ataque por parte de un radical:

$$f^\bullet(r) \cong \left( \frac{\partial\rho(r)}{\partial N} \right)_{\nu(r)}^\bullet = \frac{1}{2}[f^+(r) + f^-(r)]$$

### DETALLES COMPUTACIONALES

Para el desarrollo del trabajo, se requiere de un programa de cálculo como Gaussian que contiene modelos químicos teóricos y conjuntos de bases de orbitales. Gaussian, desarrollado por Gaussian Inc, es un sistema de programas conectados para ejecutar una variedad de cálculos de estructura electrónica, capaz de predecir muchas propiedades moleculares.

Para un estudio preliminar de la variación de energía total del sistema, se utilizó *Hartree-Fock* (HF) y la teoría de los funcionales de la densidad (DFT), utilizándose además B3LYP.

Las funciones de bases utilizadas para modelar los orbitales atómicos son de tipo Gaussiano y se emplearon las siguientes bases: 3-21G, 6-31G, 6-311G, 6-311G\*, 6-311G\*\*, 6-311+G, 6-

311++G, 6-311++G\*\*. Para estudiar las variaciones de propiedades electrónicas a través de la coordenada de rotación interna se utilizó B3LYP/6-311G\*\*.

En el estudio del efecto de la temperatura sobre la estabilidad molecular se varió la temperatura en intervalos de 50K.

## DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### Estudio del efecto del conjunto de bases sobre la energía total del sistema

Se iniciaron los cálculos teóricos a nivel de *Hartre-Fock* y por DFT/B3LYP, y se estudió el efecto de la base sobre la energía de los isómeros estables, para luego poder comparar propiedades en las moléculas: CHO-OH, CHS-OH y CHS-SH, cuando evoluciona el ángulo de torsión.

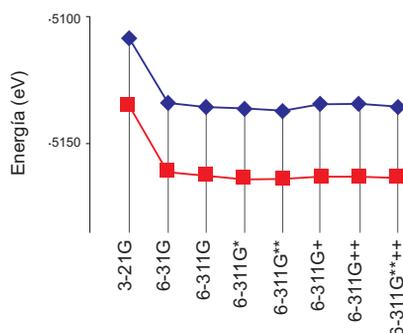


Figura 1. Efecto de la base sobre la energía para CHO-OH

Al observar la figura 1, podemos apreciar que la energía varía con el método de cálculo y la base utilizada.

Los cálculos realizados con DFT a nivel B3LYP arrojaron resultados de energías menores que los realizados con HF.

Observando las bases utilizadas, se analiza que al agregar más funciones la energía disminuye; sin embargo, el aumentar funciones polarizadas y difusas no produce significativa variación en la energía.

Teniendo en cuenta este resultado se elige la base 6-311G\*\*, ya que entrega buenas energías en relación a los otros conjuntos de bases estudiados, y el tiempo de cálculo en el computador es conveniente en comparación a bases más grandes que entregan resultados parecidos.

### Propiedades estructurales y estudio del efecto de la sustitución de O por S

En la tabla 1 apreciamos los resultados en las propiedades frente a la sustitución. La diferencia entre las energías del HOMO y del LUMO se hizo mayor; lo mismo ocurrió con las distancias de enlace, mientras la dureza presentó un comportamiento diferente. Esto se debe a las interacciones entre los átomos, pues la electronegatividad del azufre es menor que la del oxígeno. Los polos tienden a acercarse y con ello se aprecia que: la molécula más polar tiene mayor resistencia al cambio en su distribución electrónica, lo cual también se ve reflejado en el análisis de carga presente en la tabla 1.

El momento dipolar calculado es de 3,93 D para CHO-OH, que concuerda satisfactoriamente con el de literatura 3,79 D<sup>4</sup>.

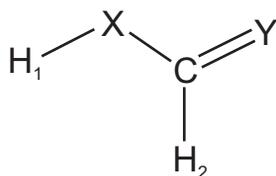
### Estudio de las propiedades estructurales y electrónicas en la rotación interna a lo largo de la coordenada de reacción

Se estudiaron las propiedades de las moléculas, a medida que evoluciona el ángulo de torsión desde 0 a 360°. Se encontró que para CHO-OH la energía aumenta al aumentar el ángulo de torsión; sin embargo, este comportamiento no es lineal, ya que al acercarse a los 180° decrece, caso similar ocurrió cerca de los 360°, como se observa en la figura 3.

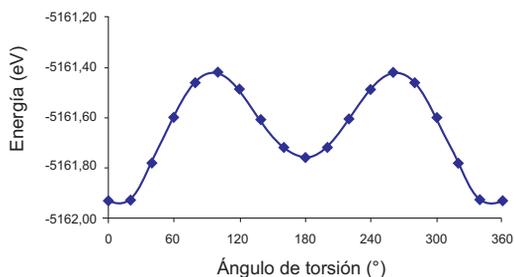
Este resultado permite observar una debilidad molecular cuando se realiza una torsión sobre alguna molécula, estrechándose la relación entre la energía y la resistencia de la molécula al cambio en su distribución electrónica. Sabemos que al aumentar el  $\mu$  disminuye la estabilidad, lo cual confirma cuáles son los ángulos de torsión más estables para la molécula, aquellos cercanos a 180 y 360°.

**Tabla 1.** Propiedades estructurales y electrónicas (eV) para las moléculas de la figura 2.

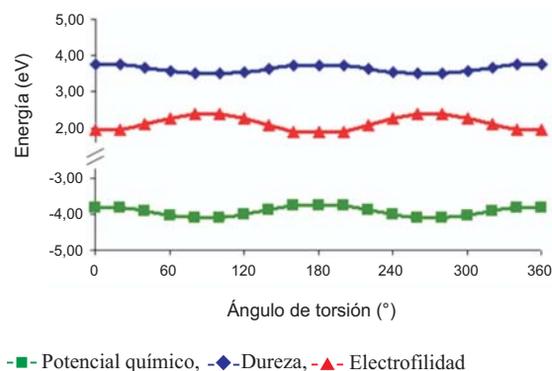
	X=O, Y=O	X=O, Y=S	X=S, Y=S
Energía total	-5161,76	-13949,66	-22737,71
$\Delta$ HOMO-	-7,51	-4,57	-3,96
Pot. químico ( $\mu$ )	-3,76	-4,05	-4,57
Dureza ( $\eta$ )	3,73	3,51	1,98
Electrofilidad ( $\omega$ )	0,04	0,04	0,03
d H <sub>1</sub> -	0,979	0,982	1,38
dX -	1,381	1,383	1,809
dC -	1,219	1,65	1,669
dC -	1,099	1,091	1,088
q Mulliken H <sub>1</sub>	0,362	0,388	0,089
q Mulliken X	-0,531	-0,483	0,196
q Mulliken C	0,412	-0,232	-0,566
q Mulliken Y	-0,449	0,065	0,052
q Mulliken H <sub>2</sub>	0,206	0,262	0,229



**Figura 2.** Etiquetado de los átomos



**Figura 3.** Variación de la energía (eV) a medida que aumenta el ángulo de torsión en CHO-OH



**Figura 4.** Variación de las propiedades electrónicas (eV), a medida que aumenta el ángulo de torsión en CHO-OH.

### Estudio de la función de Fukui en la sustitución de O por S

Como sabemos la función de Fukui nos entrega información sobre los sitios reactivos específicos en la molécula.

**Tabla 2.** Funciones de Fukui (au) para los sistemas estudiados, se utiliza la numeración provista en la figura 2.

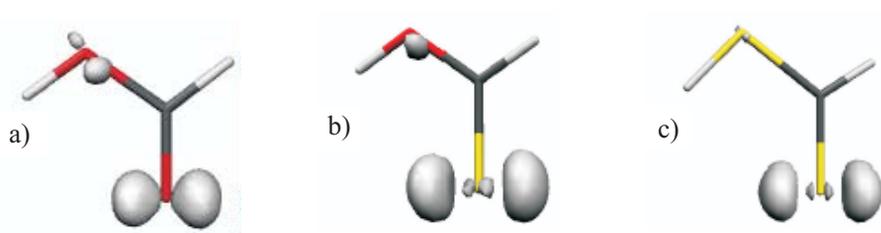
	$f^+(r)$	$f^-(r)$	$f^\bullet(r)$
<b>CHO-OH</b>			
H <sub>1</sub>	0,064	0,072	0,068
X=O	0,063	0,151	0,107
C	0,855	0,088	0,472
Y=O	0,078	0,505	0,292
H <sub>2</sub>	0,064	0,185	0,125
<b>CHO-SH</b>			
H <sub>1</sub>	0,064	0,185	0,125
X=O	0,063	0,151	0,107
C	0,855	0,088	0,472
Y=S	0,078	0,505	0,292
H <sub>2</sub>	0,064	0,072	0,068
<b>CHS-SH</b>			
H <sub>1</sub>	0,067	0,088	0,078
X=S	0,234	0,192	0,213
C	0,030	0,026	0,028
Y=S	0,589	0,588	0,589
H <sub>2</sub>	0,079	0,107	0,093

En la tabla 2 se observa que para CHO-OH el ataque por parte de una especie nucleofílica, éste se realizaría sobre el átomo de carbono. Si el ataque lo realiza una especie electrofílica, o un radical, éste se presentaría sobre el átomo de oxígeno del grupo carbonilo. Esto ocurre

porque el átomo de oxígeno tiene mayor afinidad para captar electrones comparados con el hidrógeno y el carbono, creando una zona rica en electrones.

En el caso de la molécula HCS-OH, el ataque por parte de una especie nucleofílica o un radical, se presentará sobre el carbono al igual que la molécula HCO-OH; pero un ataque por parte de una especie electrofílica se daría por el lado del azufre, como se muestra en la figura 1.

Este resultado se debe a la presencia en la molécula de un sitio más poblado de electrones que el entorno sobre el átomo de oxígeno como se podría suponer. Este también explica el resultado obtenido para CHS-SH, al estar el entorno del átomo de S poblado de electrones, será allí donde sucederá el ataque electrofílico, y además debido a su baja electronegatividad, también ocurrirá el ataque nucleofílico, tal cual lo demuestran los valores presentados en la tabla 2.



**Figura 5.** Superficies de *Fukui*, para el ataque electrofílico, en a) CHO-OH, b) CHS-OH y c) CHS-SH

### Dependencia de las propiedades con la temperatura

Las propiedades representativas en la molécula HCO-OH mostraron cierta resistencia a la variación de temperatura; sin embargo al incrementarse por encima de los 375° (el punto de ebullición de acuerdo a la literatura es 373,8 K<sup>4</sup>) se manifestó una variación razonable en los orbitales y la molécula cambió su configuración electrónica. Esto se vio traducido en una separación entre el átomo de hidrógeno y el átomo de oxígeno del grupo hidroxilo.

Las cargas atómicas de *Mulliken* en el átomo de hidrógeno se mantuvieron entre los intervalos de temperatura hasta los 375 K. Después de esta temperatura, la carga pasó de 0,369348 a 0,422818, que corrobora la inestabilidad producida por el aumento en la temperatura, El oxígeno disminuyó la fuerza de enlace sobre dicho átomo, y al observar la geometría, se visualizó la molécula con un átomo de hidrógeno separado de la estructura.

### Estudio vibracional

Se encontraron teóricamente las vibraciones de los enlaces,  $\nu(\text{O-H})$  a 3446 cm<sup>-1</sup>,  $\nu(\text{C-H})$  a 3089 cm<sup>-1</sup> y  $\nu(\text{C=O})$  a 1765 cm<sup>-1</sup>. Estos datos concuerdan con el espectro real<sup>6</sup>,

Según literatura, los valores experimentales son  $\nu(\text{O-H})$  a 3570 cm<sup>-1</sup>,  $\nu(\text{C-H})$  a 2943 cm<sup>-1</sup> y  $\nu(\text{C=O})$  a 1770 cm<sup>-1</sup>. Las otras vibraciones que muestra el cálculo computacional concuerdan con las que se observan en un espectrograma infrarrojo real. Para los otros sistemas se obtuvieron vibraciones que son análogas al CHO-OH.

### CONCLUSIONES

Las moléculas adoptan y permanecen en una geometría que les brinde mayor estabilidad, cercana a los 180 y 360° con respecto al ángulo de torsión estudiado. Estas torsiones desestabilizan a la molécula, esto se manifiesta por un aumento del potencial químico y disminución de la dureza molecular, lo que se traduce en un sistema mucho más reactivo.

La sustitución de átomos de oxígeno por azufre hizo que los sistemas caracterizados disminuyeran su momento dipolar, debido a la diferencia de electronegatividad entre oxígeno, carbono y azufre.

El incremento en la temperatura aumenta la reactividad de los sistemas estudiados, para desestabilizarlos cerca de los 400 K.

Los espectros de infrarrojo obtenidos en el estudio teórico coinciden con los datos experimentales publicados en la literatura.

### AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al Dr. William Tiznado Vásquez de la Universidad Católica de Chile, Santiago de Chile, por todo el apoyo brindado para la realización del cálculo computacional.

### REFERENCIAS

1. Hohenberg, P; Kohn. *Phys Rev B* 1964, 136, 864. *Theor Chem* 2000, 103, 259.
2. Introducción a la química Computacional. Gabriel Cuevas. Fernando Cortes, Fondo de Cult. Económica Mex, 2003.
3. Química inorgánica principios de estructura y reactividad. James E. Huheey, Ellen A. Keiter. Richard L. Keiter. Alfaomega. 2005. 345-349.
4. Organic Chemistry. Second Edition. T.W. Graham Solomons, Wiley. 1980.
5. Parr, R.G. Yang W. Density Functional Theory of atoms and molecules, *Phys Rev B* 1964, 136, 864.
6. <http://webbook.nist.gov/chemistry> NIST, Chemistry Webbook.

## ALGAS MARINAS DEL LITORAL PERUANO COMO BIOSORBENTES POTENCIALES DE ION CU (II) EN TRATAMIENTO DE EFLUENTES INDUSTRIALES

Úrsula F. Reyes<sup>a</sup>, Abel E. Navarro<sup>b</sup>, Bertha P. Llanos<sup>\*a</sup>

### RESUMEN

Se propone el uso de algas marinas para la eliminación de iones Cu (II) de soluciones acuosas. Se obtuvo que el alga *Macrocystis integrifolia* Bory (S12) es más efectiva que *Lessonia nigrescens* Bory (L13). Se logró optimizar el proceso con ambas algas a condiciones ambientales partiendo con 20 mg del adsorbente, una concentración inicial de 100 mg.L<sup>-1</sup>, un pH inicial de 6 y con una mínima fuerza iónica. Se alcanzó el equilibrio en menos de 5 minutos de iniciado el proceso, con un  $q_{\max}$  de 127,71 mg.g<sup>-1</sup> y 145,56 mg.g<sup>-1</sup> para L13 y S12, respectivamente. El proceso se ajusta a los modelos de Freundlich y Langmuir. La adsorción de Cu (II) también se ajusta al modelo de Dubinin-Radushkevich a altas concentraciones iniciales del metal, sugiriendo un mecanismo por adsorción química.

**Palabras clave:** algas marinas, ion Cu (II), biosorción, isoterma de adsorción, pH

### USE OF SEAWEEDES FOR BIOSORPTIO OF CUPRIC IONS IN AQUEOUS SOLUTIONS

#### ABSTRACT

The use of marine seaweeds is proposed for the elimination of cupric ions from aqueous solutions. The alga *Macrocystis integrifolia* Bory (S12) is more effective than *Lessonia nigrescens* Bory (L13). The process was optimized for both algae at room temperature, starting with 20 mg of the adsorbent, an initial concentration of 100 mg.L<sup>-1</sup>; an initial pH of 6 and a minimal ionic strength. The equilibrium was reached in less than 5 minutes after the initiation of the process with a  $q_{\max}$  de 127,71 mg.g<sup>-1</sup> y 145,56 mg.g<sup>-1</sup> for L13 y S12, respectively. The process was followed the models of Langmuir and Freundlich. The adsorption of Cu (II) was also adjusted to the model of Dubinin-Radushkevich at high initial concentrations of the metal, suggesting a mechanism by chemical adsorption.

**Key words:** marine seaweeds, cupric ion, biosorption, adsorption isotherm, pH.

#### INTRODUCCIÓN

El incremento de la industria de manufactura y metal-mecánica exige la extracción exhaustiva de metales pesados como materia prima, lo que conlleva una elevada presencia de metales, trayendo como consecuencia que los ambientes acuáticos presenten concentraciones de metales que exceden los criterios de calidad de agua<sup>1,2</sup>. Los metales pesados bajo su forma iónica son vertidos a ríos y mares provenientes de industrias como de curtiembre, fotográfica, pigmentos, plásticos, de baterías y metalúrgica, sin el debido control ambiental<sup>3</sup>.

<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> Graduate School of Arts and Science, New York University, 100 Washington Square East, New York, NY, 10003, US.

\* blllanos@upch.edu.pe

Las características tóxicas de los metales pesados se pueden analizar desde diferentes puntos de vista: (1) toxicidad a largo plazo; (2) transformación a formas tóxicas bajo ciertas condiciones (i.e. mercurio); (3) bio-magnificación a través de la cadena alimenticia lo que puede poner en peligro la vida humana; (4) no se degradan por ningún método, incluyendo bio-tratamientos, y finalmente, (5) la toxicidad de metales pesados ocurre, incluso a bajas concentraciones desde 1,0 a 10 mg/mL. Algunos metales, tales como cadmio y mercurio son muy tóxicos, incluso en concentraciones del orden de 0,001 a 0,1 mg/mL<sup>4,5</sup>.

Numerosos esfuerzos han sido realizados con el fin de eliminar dichos metales tóxicos de aguas de desecho, entre los que destacan: micro-precipitación, electro-deposición, ósmosis, adsorción, ultra-centrifugación, resinas de intercambio iónico, etc. obteniendo resultados satisfactorios. Desafortunadamente, dichos métodos no son efectivos a bajas concentraciones de metales pesados en disolución, tornándose altamente costosos y de bajo rendimiento a condiciones reales<sup>6,7</sup>. La biosorción se caracteriza por la retención del metal mediante una interacción fisicoquímica del metal con ligandos presentes en la superficie celular, la cual se produce con grupos funcionales expuestos hacia el exterior celular pertenecientes a partes de moléculas componentes de las paredes celulares, como por ejemplo carboxilo, amino, hidroxilo, fosfato y sulfhidrilo. Es un mecanismo de cinética rápida que no presente una alta dependencia con la temperatura y en muchos casos pueden estudiarse en detalle mediante la construcción de los modelos de isotermas de Langmuir y Freundlich<sup>8</sup>. La biosorción se ha aplicado a la eliminación de cadmio de aguas residuales, obteniendo buenos resultados mediante el uso de una variedad de biomásas entre ellas: algas<sup>9-10</sup>, hongos<sup>11</sup>, levaduras, quitosano, entre otros<sup>12</sup>. Dentro de los constituyentes de los biosorbentes podemos identificar dos tipos de grupos funcionales: a) débilmente reactivos como lípidos o glucanos en los cuales los grupos hidroxilo son reactivos y b) fuertemente reactivos como ácidos carboxílicos, aminoácidos, proteínas, ligninas, polifenoles, quitina y productos derivados<sup>13-14</sup>.

Por otro lado, el cobre es un elemento esencial para la vida. Interviene en la absorción de hierro en el tracto digestivo, formación de hemoglobina y los citocromos intermediarios redox para la transferencia de electrones. Forma parte de las enzimas fenolasa y la hemocianina que transportan oxígeno al igual que la hemoglobina. Es necesario en las plantas para la síntesis de clorofila. Sin embargo, el mal de Wilson es la enfermedad más conocida, aunque de origen genético que se manifiesta en la acumulación excesiva de cobre en el organismo, hígado y cerebro principalmente, causando daños a diversos órganos y hasta la muerte<sup>15</sup>. Por estos motivos, es menester hacer un estudio diseñado para la eliminación de ion Cu (II) de soluciones acuosas. En el presente trabajo, se plantea el uso de algas marinas del litoral peruano para la remoción de estos iones.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Acondicionamiento del biosorbente

Las algas marinas *Macrocystis integrifolia* Bory (S12) y *Lessonia nigrescens* Bory (L13) 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.

Con el fin de descartar la presencia de otros iones metálicos en los adsorbentes, las algas fueron agitadas a 250 rpm durante 3 h en una solución 3 M de HCl. Luego se lavó las algas con agua tipo I hasta que el sobrenadante dio neutro al papel de tornasol. Finalmente los adsorbentes fueron secados a temperatura ambiental, molidos y pasados a través de un tamiz

malla 100 que proporciona diámetros de partículas entre 150 y 106  $\mu\text{m}$ . Los biosorbentes se almacenaron en un desecador con sílica gel hasta su uso.

### Preparación de las soluciones de cobre (II)

Se preparó una solución stock de 1000  $\text{mg L}^{-1}$  de ion cobre (II), a partir de nitrato de cobre hidratado,  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ , de grado analítico, con agua tipo I. Las soluciones de cobre de concentraciones deseadas se prepararon por dilución de la solución stock. El pH de cada solución fue ajustado con soluciones diluidas de ácido nítrico e hidróxido de sodio, controlado por un pH-metro (Chem Cadet 5986-25 Cole Parmer).

### Pruebas de equilibrio

La biosorción de cobre se llevó a cabo en procesos discontinuos, por duplicado, a temperatura ambiente y bajo agitación orbital por 16 h a 200 rpm. Las muestras fueron filtradas y diluidas con agua tipo I. La concentración residual de cobre del sobrenadante fue analizada mediante un espectrofotómetro de Absorción Atómica de Llama Perkin Elmer 3110.

El equilibrio de un proceso de biosorción se da cuando, al entrar en contacto la superficie del adsorbente con los iones metálicos que contiene una solución, la concentración del ion metálico remanente en la solución,  $C_f$  (mg adsorbato/L de solución) así como la concentración de adsorbato que ha sido retenida en el adsorbente,  $q$  (mg de adsorbato/g de adsorbente), no sufren mayores variaciones en el tiempo en las condiciones establecidas del experimento; (pH, temperatura, velocidad de agitación, tiempo de agitación, tipo de agitación, etc.).

En las pruebas de efecto de pH, se utilizó 20 mg del adsorbente y 100 mL de soluciones 100  $\text{mg L}^{-1}$  de iones cobre en el rango de 2 a 6,2. Luego de obtener el valor de pH en el cual se optimiza la adsorción de cobre por ambos adsorbentes, se estudió el efecto de masa de adsorbente, concentración inicial del metal para la elaboración de las isotermas de adsorción y el efecto de iones interferentes. Para estas pruebas, se preparó soluciones a diferentes concentraciones de ion Cu (II) y se pesó diferentes masas de biosorbente. Para la construcción de isotermas se tomó una concentración del metal con una masa diferente de adsorbente y lo mismo con las demás concentraciones. Las otras variables de temperatura, tiempo de agitación y pH, fueron mantenidas constantes hasta alcanzar el equilibrio.

Finalmente, teniendo en cuenta los valores óptimos de pH, masa del biosorbente, presencia de iones interferentes y concentración del metal, se proyectó a 1 litro de solución de 200  $\text{mg L}^{-1}$  de ion cobre (II) con 50 mg de las algas S11 y L13, con agitación magnética constante por 8 h, donde se tomó muestras de 10 mL de solución en cada intervalo de tiempo, manteniendo constante la relación masa/volumen.

### Evaluación de los datos

La cantidad de metal adsorbido fue calculado mediante:

$$q = \frac{v (C_i - C_f)}{m}$$

donde  $q$  es la capacidad de adsorción (mg de metal/g de biosorbente),  $v$  es el volumen de la muestra (mL),  $C_i$  es la concentración inicial de metal en solución ( $\text{mg.L}^{-1}$ ),  $C_f$  es la concentración en el equilibrio de la solución ( $\text{mg.L}^{-1}$ ), y  $m$  es la cantidad de biosorbente seco. Se eligieron los modelos de adsorción por comparación a los datos experimentales:

a) Modelo de Langmuir, 
$$q = \frac{q_{\max} b C_f}{1 + b C_f}$$

donde  $q_{\max}$  es la máxima capacidad de adsorción bajo las condiciones dadas,  $b$  es una constante relacionada con la afinidad entre adsorbente y adsorbato.

b) Modelo de Freundlich, 
$$q = k C_f^{(1/n)}$$

donde  $k$  y  $n$  son las constantes de Freundlich.

c) Modelo de Dubinin-Radushkevich (D-R), 
$$q = q_{\max} \exp(-B\varepsilon^2)$$

donde  $B$  es el coeficiente de actividad vinculado a la energía de adsorción media ( $\text{mol}^2/\text{J}^2$ ) y  $\varepsilon$  es el potencial de Polanyi ( $\varepsilon = RT \ln(1+(1/C_f))$ ). La energía de adsorción media,  $E$  ( $\text{kJ/mol}$ ) se calcula mediante la ecuación:  $E = (2B)^{-1/2}$

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Efecto del pH

Es sabido que la adsorción de iones metálicos por adsorbentes de naturaleza biológica, depende del pH de la solución, ya que el pH no sólo afecta los centros activos en la superficie del adsorbente sino también la disponibilidad de iones metálicos en la solución. La figura 1 muestra un perfil de la capacidad de adsorción ( $q$ ) en función del pH, de la cual se deduce un pH óptimo cercano a 6 para ambas algas marinas. Lamentablemente no se pudo ir a valores de pH más alto debido a la precipitación de cobre, bajo su forma de hidróxido, a las concentraciones de ion Cu (II) trabajadas. Desde el punto de vista de la química de la solución del cobre<sup>16</sup>, el ion cúprico forma en medio acuoso el ion  $\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6^{+2}$  de color azul a valores de pH menores que 6. Por lo previamente descrito, el ion  $\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6^{+2}$  es el adsorbato en todo el rango de pH estudiado. El ion Cu (II) no forma hidrox-complejos solubles (i.e.  $\text{Cu}(\text{OH})^+$ ), sino que precipita inmediatamente a valores de pH mayores que 6 bajo la forma de  $\text{Cu}(\text{OH})_2$ . De este modo, la adsorción de iones cúprico dependería sólo de la naturaleza y eficacia de la superficie del adsorbente, debido a la poca complejidad de la química acuosa del ion Cu (II) dentro del rango de pH indicado.

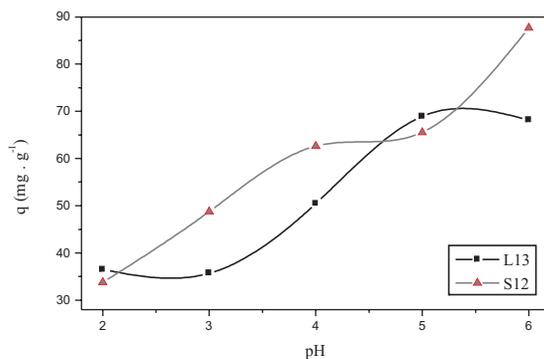
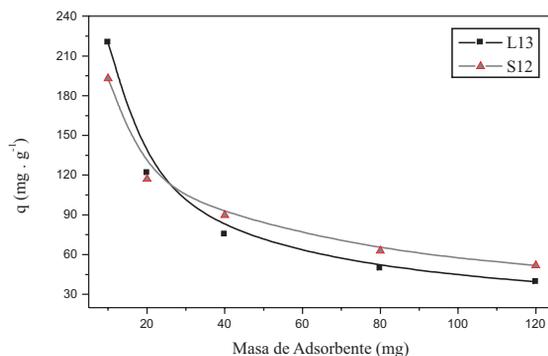


Figura 1: Efecto del pH en la capacidad de adsorción de Cu(II).

Las propiedades ácido-básicas de las algas S12 y L13 han sido estudiadas previamente<sup>17</sup>. Dichos estudios indican que el  $pK_a$  aparente de las algas es alrededor de 3,0. Estos resultados señalan que a  $pH > 3,0$ , el adsorbente está bajo su forma desprotonada (aniónica) y es capaz de atraer metales pesados, pero a  $pH < 3,0$ , el adsorbente se encuentra protonado y la afinidad ion metálico/adsorbente decrece abruptamente. Además, a bajos valores de pH los iones hidronio que se encuentran en mayor concentración compiten con el ion metálico por los centros de adsorción. Los resultados de la figura 1 concuerdan perfectamente con los hallazgos de Chaisuksant<sup>18</sup>, que reportó una máxima capacidad de adsorción de ion Cu(II) con el alga *Gracilaria fisheri* a un pH de 6. Deng *et al.*, también reportaron una máxima adsorción de ion Cu (II) a pH 6 con el alga *Cladophora fascicularis*<sup>19</sup>.

### Efecto de la masa de adsorbente

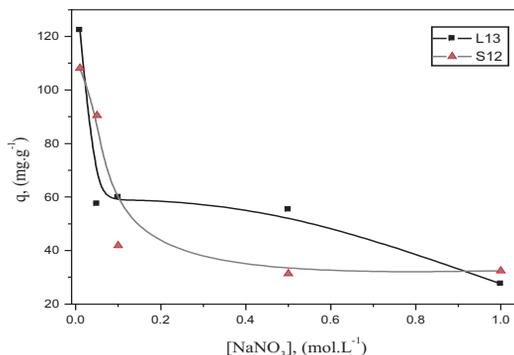
El efecto de la concentración del adsorbente en la capacidad de adsorción se muestra en la figura 2. Los resultados indican que, bajo las mismas condiciones, un aumento en la masa de adsorbente por encima de 50 mg no altera la capacidad de adsorción. Esto refleja que el aumento de más sitios activos de algas marinas no afecta el equilibrio ni mejora el proceso. Esto podría deberse a la formación de agregados de adsorbente (oligómeros) que disminuye la superficie activa del adsorbente dada la cercanía entre las partículas de las algas marinas en solución.



**Figura 2:** Efecto de la concentración del adsorbente en la capacidad de adsorción de Cu (II).

### Efecto de la fuerza iónica

La capacidad de adsorción está relacionada a diversos tipos de interacciones electrostáticas (complejación, intercambio iónico, interacciones electrostáticas, etc.) entre el adsorbente y el adsorbato. Dichas interacciones coulombicas dependen fuertemente del ambiente electrostático, el cual puede definir la existencia de la interacción. La presencia de otros iones en solución compite con el ion metálico por los sitios activos, de allí la importancia de su estudio<sup>20</sup>. La figura 3 muestra el efecto de los iones interferentes, concluyendo que la interacción entre el ion Cu (II) y el adsorbente es afectada de manera negativa por la presencia de iones sodio y nitrato, que compiten por los sitios activos del adsorbente. Esta reducción es equivalente al menos del 30% de la capacidad de adsorción en ausencia de iones interferentes para ambas algas marinas.



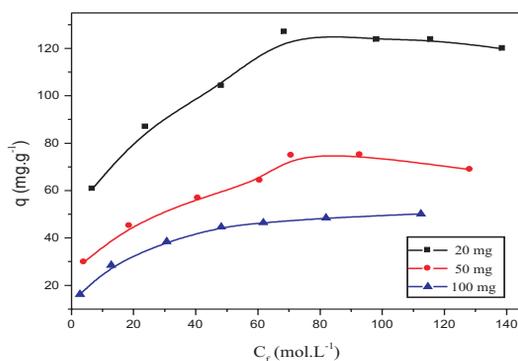
**Figura 3:** Efecto de la fuerza iónica en la capacidad de adsorción de Cu (II).

Chaisuksant también demostró un efecto negativo en la capacidad de adsorción de algas marinas en presencia de iones alcalinos y alcalino-térreos<sup>18</sup>. Futuros estudios podrían incluir el estudio del efecto de la fuerza iónica en la adsorción, evaluando diferentes sales y concluir si el efecto negativo proviene del anión o del catión de la sal del interferente.

#### Isotermas de adsorción en el equilibrio

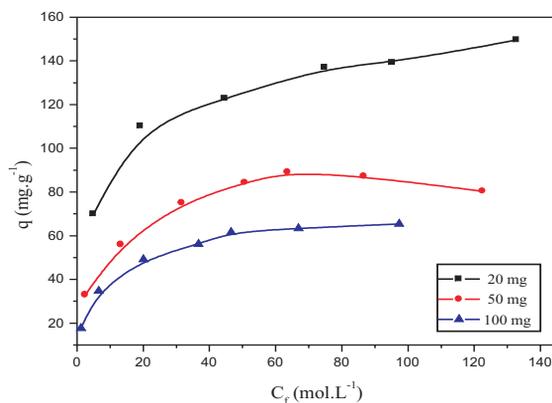
La cantidad de cobre adsorbido en las algas pardas fue determinada por espectrofotometría de absorción atómica a la llama de la solución sobrenadante. Las relaciones isotérmicas entre las concentraciones en equilibrio de cobre (II) en las algas L13 y S12 y la concentración remanente en la fase líquida ( $q$  vs  $C_i$ ) a 25°C se muestran en las figuras 4 y 5. Un resumen de los parámetros y constantes de los modelos aplicados se muestran en la tabla 1.

De acuerdo a la clasificación de Giles *et al.*<sup>21</sup>, la isoterma muestra el tipo L, indicando una alta afinidad entre el ion Cu (II) y la superficie de las algas. Las formas de las isotermas muestran claramente que el alga S12 tiene una mayor capacidad de adsorción comparada al alga L13 en todas las masas de adsorbente estudiadas. Los procesos de adsorción fueron descritos por los modelos matemáticos de Langmuir, Freundlich y Dubinin-Radushkevich (D-R). El modelo de Langmuir asume que la adsorción ocurre en sitios específicos del adsorbente y que cada proceso de adsorción tiene una energía homogénea; además, no hay interacciones entre las moléculas adsorbidas. La máxima capacidad de adsorción por monocapa de Langmuir fue de 127,71 y 145,56 mg.g<sup>-1</sup> para una masa de 20 mg de las algas L13 y S12, respectivamente (tabla 1).



**Figura 4:** Isoterma de adsorción de Cu (II) mediante el alga parda L13

La isoterma de Freundlich asume una adsorción superficial heterogénea cuyos sitios activos tienen diferentes energías de adsorción, porque no están igualmente disponibles. El modelo de Freundlich es ampliamente usado; sin embargo, no brinda información sobre la adsorción por monocapa como el modelo de Langmuir. Es más, Freundlich no predice la saturación de la superficie por las moléculas adsorbidas.



**Figura 5:** Isotherma de adsorción de Cu (II) mediante el alga parda S12

De acuerdo a la linealización del modelo de Freundlich, el valor de  $k$  indica que el alga S12 tiene una mayor capacidad de adsorción que L13 en suspensiones acuosas. Además, el valor de  $1/n$  encontrado para ambas algas indican un proceso favorable ( $0 < 1/n < 1$ ).

Los resultados obtenidos también fueron ajustados a la isoterma de D-R para determinar si la adsorción ocurre por procesos físicos o químicos. Para tal efecto, el coeficiente de correlación lineal debe ser dentro de los márgenes aceptables. Lamentablemente, los datos experimentales no se ajustaron eficientemente dentro del rango de concentración inicial de 25-200 mg L<sup>-1</sup> de Cu (II), reportando valores de  $R^2$  alrededor de 0,70. Sin embargo, el modelo D-R se ajustó bien a los resultados de las concentraciones iniciales entre 100-200 mg L<sup>-1</sup> de Cu (II), con  $R^2$  promedio de 0,96. De esto se deduce que el modelo de D-R se aplica al proceso de adsorción de Cu (II) en las algas L13 y S12 sólo a altas concentraciones iniciales del metal. Pensamos que esta reducción del rango de concentración estudiado es la causante de las discrepancias entre los valores de  $q_{max}$  obtenidos por el modelo de Langmuir y los obtenidos por el modelo de D-R (tabla 1).

**Tabla 1:** Parámetros y constantes de las isotermas de la adsorción de Cu (II) en las algas L13 y S12

Isoterma de Adsorción	<i>Lessonia nigrescens</i> Bory (L13)			<i>Macrocystis integrofolia</i> Bory (S12)		
	20 mg	50 mg	100 mg	20 mg	50 mg	100 mg
Langmuir						
$q_{\max}$ (mg.g <sup>-1</sup> )	127,71	66,62	42,52	145,56	88,97	62,34
$b$ (L.mg <sup>-1</sup> )	0,134	0,202	0,224	0,184	0,236	0,330
$R^2$	0,99	0,99	0,98	0,99	0,99	0,99
Freundlich						
$k$ (L.g <sup>-1</sup> )	35,46	20,90	12,44	47,52	25,93	17,68
$n$	3,53	3,76	3,18	4,09	3,42	3,11
$R^2$	0,98	0,97	0,98	0,98	0,98	0,99
Dubinin-Radushkevich						
$q_{\max}$ (mg.g <sup>-1</sup> )	162,35	148,04	125,46	138,51	132,80	102,23
$B \times 10^{-4}$ (mol <sup>2</sup> .J <sup>-2</sup> )	6,99	5,73	3,92	4,68	4,37	2,47
$R^2$	0,97	0,97	0,95	0,94	0,95	0,95

La importancia del modelo de D-R radica en la magnitud de E por su utilidad en la determinación del tipo de adsorción. Por ejemplo, un rango de energía entre 8-16 kJ.mol<sup>-1</sup> indica un proceso de intercambio iónico<sup>22</sup>. En el caso de  $E < 8$  kJ.mol<sup>-1</sup>, fuerzas físicas débiles, como las de Van der Waals y puentes de hidrógeno pueden ser las responsables del mecanismo de adsorción<sup>22</sup>. En el caso de  $E > 16$  kJ.mol<sup>-1</sup>, el tipo de adsorción puede ser definida como adsorción química<sup>23</sup>. Los valores de E para la adsorción del ion Cu (II) por el alga L13 fueron de 28,14 kJ.mol<sup>-1</sup>, mientras que para S12 fue de 33,81 kJ.mol<sup>-1</sup>. Esto implica que el tipo de adsorción para ambas algas pardas puede ser definida como adsorción química y que la interacción entre el ion cúprico es más fuerte con el alga S12.

### Cinética de adsorción

La cinética está gobernada netamente por un fenómeno de difusión externa (superficial). Tanto el alga S12 como L13 muestran una cinética de adsorción muy rápida, donde más de un 90% del ion Cu (II) es adsorbido en menos de 5 minutos (datos no mostrados). Esto demuestra la alta afinidad entre adsorbente y adsorbato donde en cuestión de segundos se produce el proceso de adsorción. Una rápida adsorción ha sido también reportada previamente para el alga *Gracilaria fisheri*<sup>18</sup>, donde más del 90% del ion Cu (II) fue adsorbido en menos de 10 minutos. Las algas verdes también muestran una gran afinidad hacia los iones Cu (II); por ejemplo, *Cladophora fascicularis* adsorbió la máxima cantidad de Cu (II) en menos de 30 minutos<sup>19</sup>. Esta rápida cinética de adsorción impide un análisis del proceso mediante modelos cinéticos, pero a cambio de dicha limitación, se resalta la casi inmediata difusión del ion metálico hacia los centros activos de adsorción. Este hallazgo es de vital importancia, ya que se demuestra la remoción instantánea de Cu<sup>+2</sup> de soluciones acuosas mediante ambas algas marinas S12 y L13 para su aplicación a gran escala y con soluciones reales con una alta concentración del ion metálico.

### CONCLUSIONES

El ion Cu (II) es rápidamente adsorbido en la superficie de las algas marinas *Macrocystis integrifolia* Bory (S12) y *Lessonia nigrescens* Bory (L13), a partir de soluciones acuosas. La optimización del proceso se consiguió a un pH de 6 para ambas algas marinas, con una masa de 20 mg de biosorbente, con una concentración inicial de 100 mg.L-1 de ion cobre (II) y la mínima fuerza iónica posible, alcanzó el equilibrio en menos de 5 minutos. La adsorción mediante el alga S12 es mayor que L13 en todas las masas de adsorbentes estudiadas. El estudio del equilibrio indica un comportamiento mixto, obedeciendo a las isotermas de Langmuir y Freundlich, proponiendo un mecanismo por monocapa, con ciertas interacciones entre los adsorbatos luego de la adsorción, sobre una superficie energéticamente heterogénea. El proceso de adsorción fue también sometido al modelo de Dubinin-Radushkevich, el cual se ajustó sólo a altas concentraciones iniciales de Cu (II). Este modelo indica un mecanismo de adsorción química, ya que la energía asociada al proceso es mayor de 28 kJ.mol<sup>-1</sup> para ambas algas marinas.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores deseamos agradecer 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 Norma Cuizano por su seguimiento y comentarios en esta investigación.

### REFERENCIAS

1. Gin K., Tang Y-H, Aziz M., *Water Res.* 2002; 36, 1313-1323.
2. Guibal E., Von Offenbergn., Zikan M., Vincent T., Tobin J., *Int. J. Biol. Macromol.* 2001; 28, 401-408.
3. Horsfall M., Abia A., *Water Res.* 2003; 37, 4913-4923.
4. Baran EJ., Química Bioinorgánica. Madrid: McGraw-Hill; 1995.
5. Rubio J., Schneider I., Aliaga W., Proc. III Int. Conf. On Cleaning Tech. for the Mining Ind. 2006; 85-98.
6. Raize O., Argamán Y., Yannai S., *Biotech. Bioeng.* 2004; 87(4), 451-458.
7. Sheng P., Ting Y., Chen J., Hong L., *J. Colloid Interface Sci.* 2004; 275, 131-141.
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(3), 147-157.
10. Blanco D., Llanos B., Cuizano N., Maldonado H., Navarro A., *Rev. Soc. Quím Perú* 2005; 71(4), 237-245.
11. Ramos K., Navarro A., Chang L., Maldonado H. *Rev. Soc. Quím Perú* 2004; 70(3), 136-146.
12. Navarro A., Ramos K., Campos K., Maldonado H., *Rev. Iberoamer. Polím.* 2006; 7(2), 115-128.
13. Park D., Yun Y., Jo J., Park J., *Water Res.* 2005; 39, 533-540.
14. Saeed A., Waheed M., Iqbal M., *Sep. Purif. Technol.* 2005; 45, 25-31.
15. Nason A., Biología. México: Ed. Limusa; 1975.
16. Cotton F., Wilkinson G., Química Inorgánica Avanzada. México: Ed. Limusa; 1976.
17. Navarro A., Portales R., Sun-Kou M., Llanos B. *J. Hazard. Mater.* 2008; 156, 405-411.
18. Chaisuknat Y., *Environ. Technol.* 2003; 24, 1501-1508.
19. Deng L., Zhu X., Wang X., Su Y., Su H., *Biodegradation* 2007; 18, 393-402.
20. Pagnanelli F., Esposito A., Toro L., Veglio F., *Water Res.* 2003; 37, 627-633.
21. Giles C., MacEwan T., Nakhwa S., Smith D., *J. Chem. Soc.* 1960; 111, 3973-3993.
22. Cestari A., Vieira E., Vieira G., Almeida L., *J. Colloid Interface Sci.* 2007; 309, 402-411.
23. Tahir S., Rauf N., *Chemosphere* 2006; 63, 1842-1848.

## AISLAMIENTO Y SELECCIÓN DE MICROORGANISMOS DEGRADADORES DE LIMONINA

Flavio Ccoriñaupa H.<sup>1</sup>, Víctor Meza C<sup>1\*</sup>, Alejandro Fukusaki Y.<sup>2</sup>

### RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se desarrolló una nueva metodología de aislamiento y selección de microorganismos degradadores de limonina. La parte experimental se realizó en los Laboratorios de Microbiología “Marino Tabusso” y de Fitoquímica, ambos en la Universidad Nacional Agraria La Molina. Los microorganismos fueron aislados a partir de cáscara de naranja mezclada con tierra húmeda, suelo contaminado con hidrocarburos y compost que contenía residuos de cítricos.

Se empleó un medio salino modificado (MSM) que contenía adicionalmente limonina (120 µg mL<sup>-1</sup>), pH 6,0. El procedimiento de selección constaba de tres etapas en las que se empleaba limonina en diferentes concentraciones y en la tercera etapa se realizaba una caracterización bioquímica de las cepas resultantes.

La primera selección permitió obtener 48 microorganismos potenciales degradadores de limonina. En la segunda selección se obtuvo 11 cepas que se destacaron como las que más degradaron el triterpenoide. En la tercera selección destacaron las cepas LMT-59 y LMT-69 quienes presentaron un alto porcentaje de degradación de limonina y reunieron las mejores características en la utilización de fuentes de carbono: glucosa(-), lactosa(-) y citrato(+). No obstante, las cepas LMT-47 y LMT-53 presentaron los mayores porcentajes de degradación: 89,64% y 88,89%, respectivamente. La metodología usada resulta barata y práctica para el aislamiento de microorganismos degradadores de triterpenoides tipo limonina.

**Palabras clave:** limonina, degradadores de triterpenoides, *Acinetobacter sp.*, *Arthrobacter globiformis*, compost

## ISOLATION AND SELECTION OF MICROORGANISMS THAT DEGRADE LIMONIN

### ABSTRACT

In the current research investigation a new methodology was developed for the isolation and selection of microorganisms that degrade limonin. The experimental stage was done in Marino Tabusso Microbiology Laboratory at La Molina National Agrarian University. The microorganisms were isolated from orange peelings mixed with humid soil, polluted with hydrocarbons and compost containing citric remains.

A modified saline media containing additional limonin was used (120 µg mL<sup>-1</sup>), pH 6,0. The selection procedure was done in three stages, where limonin was used in different concentrations and where in the third stage a biochemical characterization was done in the resulting strains.

---

<sup>1</sup> Departamento de Biología Univ. Nac. Agraria La Molina

\* vmeza@lamolina.edu.pe

<sup>2</sup> Departamento de Química de la Univ. Nac. Agraria La Molina

The first selection allowed us to obtain 48 potentially degrading microorganisms of limonin. In the second selection 11 strains were obtained that appeared as the ones that degraded the triterpenoid the most. In the third selection the strains LMT-59 and LMT-69 were the ones that had the highest percentage of limonin degradation and the ones that had the best characteristics in the way they used carbon sources: glucose(-), lactose(-) and citrate(+). However, the strains LMT-47 and LMT-53 were the ones that had the highest percentages of degradation, 89,64% and 88,89%, respectively. The used methodology was cheap and practical for the isolation of limonin type terpenoid degrading microorganisms.

**Key words:** limonin, terpenoid degrading, *Acinetobacter sp.*, *Arthrobacter globiformis*, compost

## INTRODUCCIÓN

La limonina es un triterpenoide organolépticamente amargo que está presente en la mayoría de los cítricos. Su importancia radica en el hecho de que la presencia de este limonoide en concentraciones que imprimen un grado de amargor fuera del espectro normal devalúa el valor comercial del zumo y reduce su aceptación como materia prima en las empresas procesadoras de cítricos<sup>1,2</sup>.

Las empresas que utilizan como materia prima zumos de cítricos son las que producen gaseosas, mayonesa, zumos concentrados, papillas para bebés y mezclas de jugos naturales, son las que se ven más afectadas en la obtención de un producto final más aceptable<sup>3</sup>.

Por otra parte, existen diversos planteamientos que buscan estabilizar el grado de amargor de los zumos de cítricos<sup>4</sup>. Así, un método químico plantea regular el índice de madurez (IM), factor que relaciona la concentración de sólidos totales (°Brix) y la acidez. Entre los métodos físicos está el de mantener el zumo a bajas temperaturas o utilizar polímeros sintéticos que absorben compuestos amargos. Sin embargo, estos métodos presentan problemas de alteración de las características nutricionales y organolépticas del zumo o su elevado costo operacional. Frente a esto la biotecnología ha planteado el uso de enzimas que permitan hidrolizar los compuestos amargos en procesos compatibles con los flujos de obtención del zumo y con el medio ambiente.

Entre los diversos limonoides amargos tenemos a la limonina, nomilina, ichangin y el ácido isolimoneico metil éster<sup>5</sup>; son también muchos los microorganismos que potencialmente poseen la capacidad de degradarlos. Las investigaciones en microorganismos que pueden ser utilizados en la prevención y/o tratamiento del grado de amargor del zumo data aproximadamente de 1973 y hasta la fecha se han recogido una serie de bacterias, en las que se ha demostrado la existencia de rutas metabólicas que permiten degradar limonoides. Así, tenemos: *Arthrobacter globiformis*<sup>6</sup>, *Pseudomonas sp.* 321-18<sup>7</sup>, *Bacterium* 342-152-1<sup>8,9</sup>, *Corynebacterium fascians*<sup>9</sup>, *Rhodococcus fascians*<sup>2</sup> y *Acinetobacter sp.*<sup>10</sup>

Las investigaciones en estos microorganismos se han orientado a la evaluación de las enzimas que hidrolizan la limonina o su precursor no amargo. Para ello, se han producido extractos enzimáticos que se han empleado en la estabilización del zumo de cítricos. Así, por ejemplo, se ha determinado que *Arthrobacter globiformis* y *Bacterium* 342-152-1 producen limonoato deshidrogenasa, enzima que actúa controlando el metabolismo de limonoides. *Corynebacterium fascians* produce limonoato transeliminasa que actúa sobre la molécula de limonoato y en *Acinetobacter sp.* la molécula de limonina es metabolizada por la vía desoxilimonoide. Mientras que en *Pseudomonas sp.* 321-18 se ha determinado que la limonina se transforma a limonina lactona y viceversa, y que también produce limonoato deshidrogenasa, limonina epoxidada y desoxilimonina hidrolasa.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Materiales y métodos.

El trabajo experimental se realizó en el Laboratorio de Microbiología “Marino Tabusso” en la Universidad Nacional Agraria-La Molina. Los microorganismos fueron aislados a partir de cáscara de naranja mezclada con tierra húmeda, suelo contaminado con hidrocarburos y compost que contenía residuos de cítricos.

Por otra parte, se empleó un medio salino modificado (MSM) que contenía  $K_2HPO_4$  1,0 ( $g L^{-1}$ ),  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0,5 ( $g L^{-1}$ ),  $NaCl$  0,1 ( $g L^{-1}$ ),  $KCl$  0,05 ( $g L^{-1}$ ),  $(NH_4)_2SO_4$  2,0 ( $g L^{-1}$ ),  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  0,01 ( $g L^{-1}$ ) más limonina ( $120 g mL^{-1}$ ), pH 6,0. También, se utilizaron varios medios de cultivo (caldo indol, caldo cianuro, agar lisina, agar Kligler, agar nitrato, agar motilidad y agar citrato) como controles bioquímicos de los microorganismos.

### Aislamiento de microorganismos y primera selección

Se tomaron 10 g del sustrato, se diluyeron en 90 mL de agua destilada a pH 4,0, se agitaron enérgicamente por 3 minutos, se tomaba 1 mL del sobrenadante y se inoculaba en 99 mL de caldo limonina ( $120 \mu g mL^{-1}$ ). Se incubó durante 7 días a 28 °C. Pasado este tiempo, se tomó una alícuota de este cultivo (0,1 mL) en placas de Petri con agar limonina (AL) ( $120 \mu g mL^{-1}$ ), agar-agua y agar MSM, respectivamente y se uniformizó con una espátula de Drigalski estéril sobre la superficie del medio. Luego, se llevó a incubación por 4 días a 28 °C. A continuación, se observaron las colonias desarrolladas y se evaluó el diámetro y el aspecto externo, aislándose en tubos de agar limonina ( $120 \mu g mL^{-1}$ ) las de mejor apariencia. Cada colonia aislada fue codificada con las siglas LMT y un número de acuerdo al orden de aislamiento. Luego, de 48 h de incubación a 28 °C se evaluó el crecimiento de cada una de las cepas, definiéndose como:

- **Cepas de crecimiento escaso**, aquellas que formaron colonias pequeñas (hasta 1 mm de diámetro) y en número reducido.
- **Cepas de crecimiento moderado**, aquellas que formaron colonias con un diámetro mayor a 1 mm pero menor a 2 mm y el número de colonias fue mayor, teniendo distancias mínimas entre las colonias.
- **Cepas de crecimiento abundante**, aquellas en la cual el crecimiento cubrió todo el área de siembra.

### Segunda selección.

Se evaluó la eficiencia de hidrólisis de limonina de cada una de las cepas aisladas determinando la concentración de limonina residual en el caldo limonina ( $120 \mu g mL^{-1}$ ).

### Tercera selección.

Se realizó la evaluación microscópica y bioquímica, de cada una de las cepas aisladas según el Test de Mac Faddin<sup>11</sup> que considera las siguientes pruebas:

- Reducción de nitrato.
- Oxidación- reducción de azúcares.
- Motilidad
- Asimilación de citrato.
- Producción de ácido sulfhídrico.
- Descarboxilación de la lisina.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos de los aislamientos realizados a partir de desperdicios de naranja, suelo con hidrocarburos y compost se presentan en el tabla 1.

**Tabla 1.** Aislamiento de microorganismos degradadores de limonina.

Número de aislamiento	Sustrato	pH	Número de colonias aisladas en AL <sup>(1)</sup>	Número de colonias desarrolladas en AMSM <sup>(2)</sup>	Número de colonias desarrolladas en agar-agua	Codificaciones de la cepa
<b>Primero</b>	Desperdicios de naranja	3,5	13	6	0	LMT 1 - LMT 13
<b>Segundo</b>	Suelo con hidrocarburos	6,5	23	9	0	LMT 14 - LMT 36
<b>Tercero</b>	Compost	5,5	37	7	0	LMT 37 - LMT 73
<b>Total</b>			73			

<sup>(1)</sup> AL: Agar limonina

<sup>(2)</sup> AMSM: Agar Medio Salino Modificado

Los tres sustratos empleados presentan un pH ácido (3,5; 5,5, y 6,5, respectivamente). Esta condición del sustrato pudo potencialmente permitir aislar microorganismos cuyo sistema de enzimas estuviera adecuado a trabajar a un pH menor a 7,0 y en consecuencia, que exista mayor probabilidad de encontrar enzimas que degraden limonina a un pH ácido; ya que este triterpenoide amargo se encuentra como tal a un pH ácido y en la forma de limonoato a un pH básico<sup>12</sup>. Se demostró que la limonina y la monolactona D-limonoato se encuentran asimilables microbianamente a pH 5,0 y que a valores de pH 4,0 sólo se puede asimilar en la forma de limonina<sup>9</sup>. No obstante, se conoce que la limonoato deshidrogenasa a nivel de laboratorio muestra una óptima actividad a pH 8,0<sup>13</sup>.

El número de colonias aisladas difiere significativamente. Así, de desperdicios de naranja, suelo con hidrocarburos y compost se aislaron 13, 23 y 37 colonias, respectivamente.

Por los resultados obtenidos se puede señalar que los desperdicios de naranja generaron un sustrato menos favorable para el crecimiento de microorganismos. Esto podría deberse al pH extremo que presentó (3,5) y también porque se contó con la presencia de aceites esenciales que pudieran inhibir el crecimiento de los microorganismos.

El número de colonias de bacterias fue mayor a partir del suelo con hidrocarburos y compost. Esto probablemente se debió a que en estos sustratos la concentración de nutrientes es menor, por lo cual se obliga a los microorganismos a metabolizar la limonina (fuente carbonada) adicionada y probablemente los mohos y las levaduras no tengan las rutas metabólicas que se requieren para degradar la limonina.

En un segundo aislamiento, se aislaron en total 23 colonias, de los cuales sólo 14 son potencialmente degradadores de limonina. Esto se puede afirmar porque 9 colonias crecieron en el medio AMSM y ninguna en el agar-agua.

En el tercer aislamiento se obtuvo un total de 37 colonias, de los cuales sólo 30, potencialmente degradan limonina; porque en el medio AMSM crecieron 7 colonias y en el agar-agua no se observó crecimiento alguno. La mayoría de las colonias aisladas del compost presentaron una mejor apariencia que las colonias del primer y segundo aislamiento.

Los resultados de la primera selección se observan en el tabla 2; en ésta se presentan las características generales de crecimiento del total de colonias aisladas a partir de los diferentes sustratos, siendo codificadas con las letras y números LMT-1 hasta LMT-73.

Como se puede apreciar, existe una mayor tendencia a un crecimiento moderado y escaso de parte de las cepas aisladas y desarrolladas sobre agar-limonina y un reducido número de cepas con crecimiento abundante. Esto podría deberse a que las condiciones a las que están

sometidas las cepas obligan a utilizar a la limonina como fuente de carbono y hace que muestren diferente crecimiento en el medio.

De 37 colonias aisladas del compost, 23 presentan un crecimiento moderado, 5 un crecimiento abundante y sólo 7 crecieron de manera escasa. El hecho de haber aislado un número mayor de cepas del compost, podría ser atribuido a que utilizaron en el proceso de compostaje, material vegetal proveniente de familias como Rutaceae y Meliaceae que presentan limonoides en sus tejidos<sup>14,15,16</sup>.

Ningún autor reporta una selección debida a la calidad del crecimiento de la colonia; esta selección permitió discriminar a los microorganismos que se inhibieron por efecto del pH y los que no tienen la capacidad de metabolizar la limonina como principal fuente de carbono por falta de iones de Zn<sup>13</sup> para la activación de sus enzimas.

De las 73 colonias, se tomaron para la segunda selección sólo los que mostraron un crecimiento moderado o abundante (48 cepas) y se conservaron en refrigeración los de crecimiento escaso para un posterior estudio; probablemente estas últimas cepas eran los falsos positivos (cepas quimiolitótrofos).

Los resultados de la segunda selección se presentan en el tabla 3; en el cual podemos apreciar que 11 cepas presentaron porcentajes de degradación entre 83,69 y 89,54 %, siendo todos originarios del compost.

Se obtuvieron porcentajes significativos de degradación de limonina similares a los obtenidos por Hasegawa<sup>4,17</sup>, quien reportó hasta un 95% de degradación de limonina con células inmovilizadas de *Arthrobacter globiformis* en gel de acrilamida y el 81% de degradación utilizando *Corynebacterium fascians* en el mismo soporte. Ambos trabajos fueron realizados en zumo de naranja a un pH promedio de 3,6.

**Tabla 2.** Primera selección

Sustrato	Cepa LMT	Características del Crecimiento en agar-limonina (120 µg mL <sup>-1</sup> )	Sustrato	Cepa LMT	Características del Crecimiento en agar-limonina (120 µg mL <sup>-1</sup> )
<b>Desperdicios De naranja</b>	1	Escaso		37	Moderado
	2	Escaso		38	Moderado
	3	Escaso		39	Escaso
	4	Escaso		40	Moderado
	5	Escaso		41	Moderado
	6	Escaso		42	Moderado
	7	Escaso		43	Moderado
	8	Moderado		44	Moderado
	9	Moderado		45	Moderado
	10	Escaso		46	Moderado
	11	Moderado		47	Moderado
	12	Moderado		48	Escaso
	13	Escaso		49	Escaso
<b>Suelo con Hidrocarburos</b>	14	Escaso	50	Abundante	
	15	Moderado	51	Escaso	
	16	Moderado	52	Moderado	

...viene de tabla 2

<b>Suelo con Hidrocarburos</b>	<b>17</b>	Moderado	<b>Compost</b>	<b>53</b>	Moderado
	<b>18</b>	Escaso		<b>54</b>	Escaso
	<b>19</b>	Escaso		<b>55</b>	Escaso
	<b>20</b>	Escaso		<b>56</b>	Abundante
	<b>21</b>	Moderado		<b>57</b>	Abundante
	<b>22</b>	Escaso		<b>58</b>	Moderado
	<b>23</b>	Escaso		<b>59</b>	Abundante
	<b>24</b>	Moderado		<b>60</b>	Moderado
	<b>25</b>	Escaso		<b>61</b>	Moderado
	<b>26</b>	Moderado		<b>62</b>	Abundante
	<b>27</b>	Moderado		<b>63</b>	Moderado
	<b>28</b>	Moderado		<b>64</b>	Moderado
	<b>29</b>	Moderado		<b>65</b>	Moderado
	<b>30</b>	Moderado		<b>66</b>	Moderado
	<b>31</b>	Moderado		<b>67</b>	Moderado
	<b>32</b>	Moderado		<b>68</b>	Moderado
	<b>33</b>	Moderado		<b>69</b>	Abundante
	<b>34</b>	Moderado		<b>70</b>	Moderado
<b>35</b>	Escaso	<b>71</b>	Moderado		
<b>36</b>	Escaso	<b>72</b>	Moderado		
			<b>73</b>	Escaso	

**Tabla 3:** Segunda selección

CEPA LMT	Concentración inicial de Limonina ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	Concentración final de Limonina ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	Porcentaje de degradación (%)	pH inicial	pH final
<b>8</b>	120,0	119,5888 $\pm$ 0,0982	0,34	6,0	6,25
<b>9</b>	120,0	104,0512 $\pm$ 0,0692	13,29	6,0	6,20
<b>11</b>	120,0	118,9912 $\pm$ 0,0579	0,84	6,0	6,30
<b>12</b>	120,0	98,3736 $\pm$ 0,0061	18,02	6,0	6,25
<b>15</b>	120,0	95,9832 $\pm$ 0,0130	20,01	6,0	6,35
<b>16</b>	120,0	86,4216 $\pm$ 0,0266	27,98	6,0	6,55
<b>17</b>	120,0	78,6520 $\pm$ 0,0416	34,46	6,0	6,50
<b>21</b>	120,0	99,8672 $+$ 0,0208	16,78	6,0	6,65
<b>24</b>	120,0	110,2926 $+$ 0,0131	8,09	6,0	6,45
<b>26</b>	120,0	104,4659 $\pm$ 0,0313	12,95	6,0	6,70
<b>27</b>	120,0	119,2896 $\pm$ 0,0594	0,59	6,0	6,70
<b>28</b>	120,0	118,4286 $\pm$ 0,0563	1,31	6,0	6,80
<b>29</b>	120,0	113,1320 $\pm$ 0,0383	5,72	6,0	6,45
<b>30</b>	120,0	118,2120 $\pm$ 0,0530	1,49	6,0	6,70
<b>31</b>	120,0	107,7528 $\pm$ 0,0129	10,21	6,0	6,60
<b>32</b>	120,0	116,1880 $\pm$ 0,0349	3,18	6,0	6,90

continua tabla 2...

...viene de tabla 3

33	120,0	107,9022	+ 0,0205	10,08	6,0	6,60
34	120,0	118,5960	+ 0,0370	1,17	6,0	6,80
37	120,0	108,6480	+ 0,0250	9,46	6,0	6,95
38	120,0	90,4240	+ 0,0135	24,65	6,0	6,50
40	120,0	110,4440	+ 0,0025	7,96	6,0	6,60
41	120,0	106,2600	+ 0,0335	11,45	6,0	6,70
42	120,0	111,9360	+ 0,0442	6,72	6,0	6,75
43	120,0	13,6288	+ 0,0012	88,64	6,0	6,30
44	120,0	63,3800	+ 0,0956	47,18	6,0	6,65
45	120,0	19,4556	+ 0,0120	83,79	6,0	6,45
46	120,0	52,1748	+ 0,0740	56,52	6,0	6,45
47	120,0	12,4336	+ 0,0050	89,64	6,0	6,75
50	120,0	17,1149	+ 0,0006	85,74	6,0	6,65
52	120,0	70,4020	+ 0,0001	41,33	6,0	6,50
53	120,0	13,3300	+ 0,0012	88,89	6,0	6,55
56	120,0	14,5252	+ 0,0042	87,90	6,0	6,40
57	120,0	17,0652	+ 0,0011	85,78	6,0	6,40
58	120,0	82,5037	+ 0,0443	31,25	6,0	7,00
59	120,0	16,9157	+ 0,0000	85,90	6,0	6,10
60	120,0	17,2145	+ 0,0064	85,65	6,0	6,75
61	120,0	96,0994	+ 0,0255	19,92	6,0	7,00
62	120,0	16,0193	+ 0,0069	86,65	6,0	6,55
63	120,0	93,4101	+ 0,0140	22,16	6,0	7,25
64	120,0	116,5198	+ 0,0286	2,90	6,0	6,80
65	120,0	39,1768	+ 0,0095	67,35	6,0	7,90
66	120,0	113,4301	+ 0,0181	5,47	6,0	6,75
67	120,0	87,2846	+ 0,0085	27,26	6,0	7,60
68	120,0	116,8725	+ 0,0180	2,61	6,0	6,90
69	120,0	15,6209	+ 0,0012	86,98	6,0	6,75
70	120,0	103,5695	+ 0,0461	13,69	6,0	6,75
71	120,0	93,5595	+ 0,0455	22,03	6,0	6,45
72	120,0	116,1871	+ 0,0117	3,18	6,0	7,05

Por otro lado, se reportó un 45 % de degradación utilizando *Acinetobacter sp.* en zumo natural de naranja ajustado a un pH de 6,0<sup>10</sup>.

Entre los microorganismos aislados de suelo con hidrocarburos se pudo determinar la presencia de una levadura, la cual presentó la mayor degradación de limonina (34,46%).

Pocos investigadores han reportado a las levaduras con la capacidad potencial de degradar limonina, y menos, aislado de un sustrato con hidrocarburos. Un primer reporte se realizó en 1966 en *Candida sp.* que presentaba propiedades degradativas de hidrocarburos<sup>18</sup>. En la literatura se reportan más géneros de bacterias que degradan hidrocarburos y también limonina, por ejemplo *Corynebacterium sp.* y *Pseudomonas sp.*, entre los más importantes.

De otro lado, se puede apreciar que el pH final se incrementó en 0,67 unidades en relación al pH inicial (6,0), existiendo una tendencia a aumentar conforme llegamos a las cepas aisladas del compost; así se aprecia un pH final promedio para las cepas aisladas de desperdicios de

naranja, de 6,25; para las de suelo con hidrocarburos de 6,63 y para las de compost de 6,74. En este último se encuentran extremos bien reconocidos; así tenemos la cepa LMT-059 con un pH de 6,1 y la cepa LMT-065 con un pH de 7,9. En el primer caso se obtuvo un porcentaje de degradación del 85,9 %, encontrándose dentro del intervalo de los mejores degradadores. En el segundo caso presentó un 67,37 % de degradación de limonina. El pH final obtenido con la cepa LMT-059, permite afirmar que la limonina fue degradada como tal durante todo el tiempo de incubación, no ocurriendo así con la cepa LMT-065; hasta un momento determinado pudo degradar la limonina, para luego inhibirse la enzima (o enzimas). Esto pudo deberse a que la limonina cambió a limonoato de sodio por efecto del pH y probablemente el microorganismo no podría haber estado preparado enzimáticamente para la degradación de esta sal orgánica.

Otro punto destacable entre los microorganismos que degradaron significativamente a la limonina es de que ésta fue degradado a un compuesto estable, reflejado en el hecho de que existe una cantidad faltante de limonina; de otra manera, el nuevo compuesto producido hubiera retornado al triterpenoide original al realizar el pre tratamiento correspondiente a la muestra del caldo “agotado” para la cuantificación de la limonina. No se descarta la posibilidad de que en el caso del resto de cepas aisladas y que tuvieron porcentajes de degradación menores, hubiera ocurrido esto. Similarmente, Hasegawa<sup>17</sup>, atribuye a la formación de limonol en lugar de 17 – deshidrolimonoato lactona de anillo A lactona, la poca efectividad y estabilidad obtenida con células de *Corynebacterium fascians* inmovilizadas en gel de acrilamida.

En esta segunda selección se puede validar los resultados obtenidos en la primera; así en el tabla 3 podemos observar que las 11 mejores cepas tuvieron un crecimiento moderado y abundante; las cepas que mejor degradaron la limonina no fueron necesariamente las que crecieron en forma abundante, pero existe una tendencia a esto; así se puede observar que 6 cepas de las 11 seleccionadas presentan un crecimiento abundante.

De esta manera, el número de cepas cuyo porcentaje de degradación se encontraron entre 83,69 y 89,64 % fue de 11, encontrándose una desviación estándar significativa de 1,743 y un C.V. del 2%, significando que estas cepas pueden estar representadas por su media 86,87; de esta manera fueron escogidas para la tercera selección.

Los resultados obtenidos en la tercera selección se presentan en el tabla 4. Como se puede observar, todas las cepas que pasaron a esta selección fueron del compost.

Una característica general de todo este grupo seleccionado es la falta de producción de indol, la reducción de nitrato a nitrito, así como también la falta de producción de ácido sulfhídrico. Adicionalmente, en forma general, excepto por la cepa LMT-62, todos responden en forma positiva a la tinción según Gram.

Las cepas LMT 45, 50, 60 y 69 presentaron reacción positiva a la prueba de la oxidasa, presentando como último aceptor de iones hidrógeno al oxígeno. Sin embargo, todas las cepas reducen nitrato a nitrito; esto podría llevar a pensar que se trata de microorganismos que en ausencia o baja concentración de oxígeno, pueden utilizar como último aceptor de iones hidrógeno al nitrato u otro compuesto aniónico. Por otro lado, generalmente, los microorganismos que presentan actividad de oxidasa, también pueden degradar peróxido de hidrógeno; esto debido a que si el último aceptor es el oxígeno, podría formarse este compuesto, siendo altamente tóxico para el microorganismo, como lo menciona Mac Faddin<sup>11</sup>.

**Tabla 4:** Caracterización bioquímica de los microorganismos

Cepa LMT	Oxi	Glu	Lis	H <sub>2</sub> S	Cit	I	Ni	Mo	NaCN	Medio Kligler	Respuesta a tinción Gram	% Degradación
43	-	Deg	+	-	+	-	+	-	Crec	Deg de Glu y Lac	+	88,64
45	+	Deg	+	-	+	-	+	+	Crec	Deg de Glu	+	83,79
47	-	Deg	+	-	+	-	+	-	Crec	Deg de Glu y Lac	+	89,64
50	+	Deg	+	-	+	-	+	+	Crec	Deg de Glu	+	85,74
53	-	Deg	+	-	+	-	+	-	Crec	Deg de Glu y Lac	+	88,89
56	-	Deg	+	-	+	-	+	-	Crec	Deg de Glu y Lac	+	87,90
57	-	Deg	+	-	+	-	+	-	Crec	Deg de Glu y Lac	+	85,78
59	-	No Deg	-	-	±	-	+	-	No Crec	No Deg de Glu ni Lac	+	85,90
60	+	Deg	+	-	+	-	+	+	Crec	Deg de Glu	+	85,65
62	-	Deg	-	-	+	-	+	+	Crec	Deg de Glu	-	86,65
69	+	Deg	-	-	+	-	+	-	Crec	No Deg de Glu ni Lac	+	86,98

**(Deg):** degradación, **(Crec):** crecimiento, **(Glu):** glucosa, **(Lac):** lactosa, **(±):** crecimiento lento

Con respecto a la motilidad de los microorganismos, sólo las cepas LMT 45, 50, 60 y 62 presentaron dicha cualidad.

Las cepas LMT 59, 62 y 69 no descarboxilaron lisina, es decir no formaron cadaverina; esta característica es importante desde el punto de vista práctico, porque para un uso comercial futuro, la formación de esta diamina sería desagradable para su presentación debido al olor característico que presenta. Por otro lado, esta característica es común en algunas bacterias de carácter patógeno.

Con respecto a la utilización de citrato, todas las cepas presentaron un crecimiento marcado, excepto la cepa LMT – 59, la cual se caracterizó por un crecimiento lento, siendo necesario hasta 48 horas para la determinación del crecimiento en citrato.

Sólo la cepa LMT – 59 presentó susceptibilidad al cianuro (CN<sup>-</sup>), no presentó turbidez a las 24 horas de incubación, como sí lo demostraron el resto de cepas.

Con respecto a la degradación de azúcares evaluados en el medio Kligler, las cepas LMT 43, 47, 53, 56 y 57 degradaron la glucosa y lactosa. Las cepas 45, 50, 60 y 62 degradaron sólo glucosa y sólo la cepa LMT 59 no lo hizo.

Un caso especial constituye la cepa LMT – 69, la cual degradó la glucosa en el medio Hugh y Leifson para azúcares, pero no lo hizo en el medio Kligler, igualmente no degradó lactosa en este último medio. En forma similar, Hasegawa<sup>7</sup>, reportó el aislamiento de una bacteria del género *Pseudomonas sp.*, la cual no degradó azúcares en el medio Hugh y Leifson, pero sí muy débilmente, la glucosa, en el medio sensitivo de Dye.

Esta caracterización es, tal vez, la más importante entre las que se han realizado. Para una degradación óptima de la limonina se requiere una cepa cuya capacidad de degradación sea, en el mejor de los casos, exclusiva. Si el microorganismo consume además de limonina, otra fuente de carbono como la glucosa, es muy probable que la ruta metabólica que emplee para la degradación del triterpenoide sea alternativa; y si ambas fuentes de carbono están presentes en el medio, consumirá probablemente la fuentes de carbono que sea afin con su ruta metabólica principal; en este caso, la ruta metabólica en la mayoría de las cepas sería la Embden-Meyerhof-Parnas (EMP), para la degradación de glucosa.

Hasegawa<sup>9</sup> reportó que tanto *Arthrobacter globiformis* y *Bacterium* 342 – 152 – 1, forman un complejo estable entre la limonoato deshidrogenasa y su sustrato (limonoato); la *Pseudomonas sp.* aislado en 1974, no forma este tipo de complejo, en este microorganismo el metabolismo de limonoides juega un papel mucho menor, mientras que en *Arthrobacter globiformis* y *Bacterium* 342 – 152 – 1, la limonoato deshidrogenasa aparentemente juega un rol en un sistema regulatorio enzimático, el cual controla el metabolismo de limonoides.

Una cepa con un sistema metabólico capaz de degradar limonina como principal fuente de carbono sería más conveniente para fines de una aplicación futura al zumo de naranja, en donde otras fuentes de carbono están presentes; así la cepa LMT – 59 estaría en mejor condición de metabolizar la limonina por la afinidad que tiene en su degradación mas no de glucosa ni lactosa. Similarmente, Hasegawa reportó que la *Pseudomonas sp.* que aisló, no degradó azúcares, pero sí limonoato de sodio. Sin embargo, el mismo autor, aisló la bacteria *Corynebacterium fascians*, la cual creciendo en medios de cultivo con fuentes de carbono azucarados y llevándolo posteriormente al zumo de naranja, degradó limonina sin alterar significativamente la composición azucarada ni de algunos ácidos orgánicos como el ácido ascórbico, cítrico y málico del zumo de naranja<sup>8</sup>.

De otro lado, se realizó un análisis estadístico con los resultados obtenidos de las 11 cepas, para determinar cuales presentan diferencias significativas. El resultado de esta prueba se observa en el tabla 5; presentando diferencia significativa las cepas LMT – 47 y LMT – 53 con respecto a la cepa LMT – 45. Esta diferencia permite afirmar, que siendo los porcentajes más altos de degradación de limonina los que presentan las cepas 47 y 53, se diferencian del resto de cepas. Sin embargo, las cepas que presentan la misma letra, presentarán porcentajes de degradación similares, pero cuyas diferencias con respecto al resto no son significativas.

**Tabla 5:** Prueba estadística de tukey

Cepa No.	% Degradación	Presentación de la significancia
LMT- 47	89,64	a
LMT- 53	88,89	a b
LMT- 43	88,64	a b c
LMT- 56	87,90	a b c d
LMT- 69	86,98	a b c d e
LMT- 62	86,65	a b c d e f
LMT- 59	85,90	a b c d e f g
LMT- 57	85,78	a b c d e f g h
LMT- 50	85,74	a b c d e f g h i
LMT- 60	85,65	a b c d e f g h i j
LMT- 45	83,79	c d e f g h i j

Nivel de significancia; 95%

En un primer momento, se puede especular que las cepas LMT – 47 y LMT – 53, representan el punto culminante en la obtención del objetivo principal de la investigación pero como se ha visto anteriormente, estas cepas se caracterizan por la descarboxilación de la lisina generadora de malos olores. Sin embargo, la descarboxilasa es adaptada o inducida bajo ciertas condiciones de crecimiento del microorganismo; característica que los hace objeto de estudio para futuras investigaciones.

Considerando la capacidad de los microorganismos para degradar limonina y las condiciones en las cuales fue desarrollada la investigación, se pudo observar en esta tercera selección, dos grupos bien definidos: aquellos microorganismos que descarboxilan lisina y aquellos que no lo hacen. En el primer grupo, se encuentran las cepas LMT 43, 45, 47, 50, 53, 56, 57 y 60, las cuales todas degradan glucosa; y en el segundo grupo se encuentran las cepas LMT 59, 62 y 69, de las cuales sólo la cepa LMT – 59 se comporta como D-glucosa y lactosa negativos. En este grupo se encontró una excepción, la cepa LMT- 69, la cual no degradó ni glucosa ni lactosa en el medio Kligler, pero sí degradó glucosa en el medio Hugh y Leifson para carbohidratos.

Aunque las 11 cepas que pasaron a esta tercera selección tuvieron un alto porcentaje de degradación de limonina, la cepa LMT – 59 es la que mejor encierra el concepto de exclusividad en la degradación del triterpenoide seguido de la cepa LMT – 69 para las condiciones de investigación desarrolladas.

De esta investigación se reporta a la cepa LMT – 59 y LMT – 69 como microorganismos degradadores de limonina a pH 6,0, en condiciones de laboratorio.

### CONCLUSIONES

- La metodología desarrollada para el aislamiento de microorganismos, basada en el crecimiento sobre agar limonina y teniendo al agar agua y al agar MSM como blancos, es eficiente y de bajo costo.
- Las metodologías empleadas para las selecciones de los microorganismos, basadas en la densidad de crecimiento (primera selección) y porcentaje de degradación de limonina (segunda selección) permitieron separarlos según su comportamiento frente al pH ácido (6,0) y su respuesta a la limonina como fuente de carbono. Asimismo, la caracterización bioquímica desarrollada en la tercera selección permitió aceptar u objetar algunas cepas seleccionadas.
- La primera selección permitió obtener 48 microorganismos potenciales degradadores de limonina. En la segunda selección se obtuvieron 11 cepas que se destacaron como las que más degradaron el triterpenoide.
- En la tercera selección destacaron las cepas LMT-59 y LMT-69 quienes presentaron un alto porcentaje de degradación de limonina y reunieron las mejores características en la utilización de fuentes de carbono; glucosa(-), lactosa(-) y citrato(+).
- Las cepas LMT-47 y LMT-53 presentaron los mayores porcentajes de degradación 89,64% y 88,89%, respectivamente.
- El compost constituyó el sustrato más apropiado para el aislamiento de microorganismos degradadores de limonina.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecemos a los Departamentos de Biología y de Química de la Universidad Nacional Agraria La Molina por su aporte en la realización de este trabajo.

## REFERENCIAS

1. Marwaha, S.; M. Puri; M. Bhullar y R. Kothari. 1994. Optimization of parameters for hydrolysis of limonin for debittering of Kinnow mandarin juice by *Rhodococcus fascians*. *Enz. Microb. Technol.* 16: 723-725.
2. Cánovas, M. y J. Iborra. 2003. Culture collections and biochemistry. *I. Microbiol.* 6: 105-112.
3. Shaw, P.; L. Baines; B. Milnes, y G. Agmon. 2000. Commercial debittering processes to upgrade quality of citrus juice products. ACS Symposium series 2000, 758 citrus limonoids, 120–131.
4. Singh, S.; R. Jain; A. Gupta y A. Dhatt. 2003. Debittering of Citrus juices – A Review. *J. Food Sc. Technol.* 40(3): 247-253
5. Khalil, A.; T. Galal y A. Khalid. 2003. Limonoids from *Citrus reticulata* Z. *Naturforsch.* 58: 165-170.
6. Hasegawa, S.; L. Brewster y V. Maier. 1973. Use of limonoate dehydrogenase of *Arthrobacter globiformis* for the prevention or removal of limonin bitterness in *Citrus* products. *J. Food Sci.* 38 : 1153-1155.
7. Hasegawa, S.; V. Maier y A. Jr. King. 1974c. Isolation of new limonoate dehydrogenase from *Pseudomonas*. *J. Agric. Food Chem.* 22 : 523.
8. Hasegawa, S.; C. Vandercook; G. Choi; Z. Heuman y P. OU 1985. Limonoid debittering of *Citrus* juice sera by immobilized cells of *Corynebacterium fascians*. *J. Food Sci.* 50 : 330-332.
9. Hasegawa, S. y V. Maier. 1983. Solutions to the limonin bitterness problem of Citrus juices. *Food Technology.* 37 (6) : 73 - 77.
10. Vaks, B.; Lifshitz, A. 1981. Debittering of Orange juice by bacteria which degrade limonin. *J. Agric. Food Chem.* 29 : 1258-1261.
11. Mac Faddin, J. 1980. Biochemical tests for identification of medical bacteria. Ed. Williams & Wilkins. Second edition. London. 527 pp.
12. Cánovas, M.; L. García-Cases y J. Iborra. 1998. Limonin consumption at acidic pH values and absence of aeration by *Rhodococcus jkscians* cells in batch and immobilized continuous systems. *Enzyme Microb. Technol.* 22: 111-116.
13. Puri, M.; L. Kaur y S. Marwaha. 2002. Partial purification and characterization of limonoate dehydrogenase from *Rhodococcus fascians* for the degradation of limonin. *J. Microbiol. Biotechnol.* 12(4): 669-673.
14. Champagne, D.; Koul, O.; Isman, M.; Scudder, G. y Towers, G. 1992. Biological activity limonoids from Rutales. *Phytochemistry* 31, 377-394.
15. Jayaprakasha, G.; R. Singh; J. Pereira y K. Sakariah. 1997. Limonoids from *Citrus reticulata* and their moulting inhibiting activity in mosquito *Culex quinquefasciatus* larvae. *Phytochemistry*, 44(5): 843-846.
16. Mandadi, K.; Jayaprakasha, G.; Bhat, N. y Patil, B. 2007. Red Mexican Grapefruit: A novel source for bioactive limonoids and their antioxidant activity. *Zeitschrift fuer Naturforschung*, 62: 179-188.
17. Hasegawa, S.; M. Patel y R. Snyder. 1982. Reduction of limonin bitterness in navel orange juice serum with bacterial cells immobilized in acrylamide gel. *J. Agric. Food Chem.* 30: 509.
18. Myns E. y A. Wiaux. 1966. Biología de los Hidrocarburos. Fac. Sci. Agron. Univ. Heverlec.

## ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DEL CHOPÉ (*Gustavia augusta* L.)

D. E. García-Torres<sup>a</sup>, V. Sotero Solís<sup>b</sup>, D.A.P. Mancini<sup>c</sup>, R. P. Torres<sup>d</sup>, J. Mancini-Filho<sup>d</sup>

### RESUMEN

Los radicales libres aparecen como un caso promisorio para incrementar los fármacos para el tratamiento de varias patologías como cáncer, aterosclerosis, infecciones virales y oxidaciones lipídicas. La oxidación puede ser prevenida por la adición de antioxidantes. Existe un gran interés, en los compuestos fenólicos de las plantas debido a su importancia como antioxidantes naturales. El chopé (*Gustavia augusta* L.), fruta nativa de la región amazónica, la cual se consume como alimento en forma directa. Las muestras de chopé fueron secadas y sometidas a extracciones secuenciales con diferentes solventes. Los resultados demuestran actividad antioxidante en todos los extractos. Se identificó los siguientes compuestos fenólicos: ácidos salicílicos, trans-cinámico, hidroxibenzoico, vanílico, cafeico y sináptico. De los resultados obtenidos se asume que los extractos de chopé pueden ser utilizados muy bien como antioxidantes.

**Palabras clave:** chopé, antioxidantes, compuestos fenólicos, *Gustavia augusta*.

## ANTIOXIDANT ACTIVITY FROM EXTRACTS OF CHOPE (*Gustavia augusta* L.)

### ABSTRACT

Free radical appears to constitute a particularly promising target for improving the drug treatment of various pathological conditions as cancer, atherosclerosis, and virus infections and in food lipids oxidations. The oxidation can be prevented by adding antioxidants. There is a great interest in plant phenolic compounds because of their potential role as natural antioxidants. Chopé (*Gustavia augusta* L.) is one fruit from Amazonian that is consumed as food. Chopé samples were dried and submitted to sequential extractions with different solvents. The results showed antioxidant activity in all extracts. Where were identified the following phenolic acids: salicylic, trans-cinamic, hydroxibenzoic, vanilic, cafeic and synaptic. The results obtained are suggesting that the chope extract can be used as antioxidant.

**Key words:** chopé, antioxidants, phenolic compounds, *Gustavia augusta* L.

### INTRODUCCIÓN

El chopé (*Gustavia augusta* L.) es un miembro de la familia lecitidaceae, nativo de la región amazónica. Sus nombres comunes son: chopé, en Perú; jeniparana y mucuraó, en Brasil;

---

<sup>a</sup> Facultad de Ingeniería Química. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Av. Freyre N° 616-Iquitos, Loreto, Perú. e-mail: dora@usp.br ; doragato@gmail.com

<sup>b</sup> Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana, Av Abelardo Quiñónez, km 2,5 -Iquitos

<sup>b</sup> División de Desarrollo Científico. Laboratorio de Virología, Instituto Butantã, São Paulo, Brasil.

<sup>c</sup> Departamento de Ciencias de Alimentos y Nutrición Experimental, Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Universidad de São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes, 580-Bloco 14, São Paulo, 05508-900, Brasil.

cócora, en Colombia, y tripa de pollo, en Ecuador. El fruto del chopé es un pixideo ovoide y alcanza hasta 6 cm. de diámetro. El fruto es de color marrón y presenta de dos a diez semillas, arregladas en serie alrededor de la pulpa, la cual es de color amarillo, es fibroso y tiene un olor característico. La pulpa del fruto es comestible, siendo consumida en su estado natural, pero también puede ser preparado en jugos y helados. La pulpa presenta una importante concentración de lípidos, cerca de 13%, siendo 68% insaturados y que pueden ser fácilmente oxidados<sup>1</sup>. Existen reportes de los extractos de la corteza del árbol de *G. augusta*, que poseen actividad antiinflamatoria, y utilizada por los nativos de la Guyana Francesa en el tratamiento de la leishmaniasis, y como principios activos se encontraron esferoides y triterpenos<sup>2</sup>.

La oxidación de los compuestos puede tener lugar durante condiciones patológicas de los organismos o en alimentos durante su almacenamiento, procesamiento y tratamiento por calor, proceso básico que causa deterioración total y rancidez. Los productos de la oxidación influyen en otros constituyentes celulares y también pueden causar cambios patológicos en las mucosas del tracto alimentario. Ellos pueden inhibir la actividad de las enzimas e incrementar el contenido de peróxidos en el plasma<sup>3</sup>. La oxidación y peroxidación pueden ser prevenidas por la adición de antioxidantes. Los antioxidantes son compuestos que pueden retrasar o prevenir el proceso de oxidación. Ellos pueden interferir con la oxidación reaccionando con los radicales libres, efectuando la quelación de los metales que actúan como catalizadores y también secuestrando el oxígeno. Atacar a los radicales libres ha incrementado la producción de fármacos para el tratamiento de los desordenes producidos por las especies reactivas al oxígeno que pueden participar en un gran número de patologías como cáncer, aterosclerosis, alteraciones neurovegetativas, alteraciones de los riñones e hígado, artritis, catarata e infecciones virales. Los compuestos naturales con propiedades antioxidantes han sido reportados a partir de fuentes vegetales, animales y microbianas<sup>4</sup>. Hoy en día existe un marcado interés en compuestos antioxidantes de origen natural, principalmente aquellos que se encuentran en las plantas debido a la tendencia mundial por la utilización de compuestos naturales en la prevención de procesos patológicos y en la conservación de alimentos<sup>5,6</sup>. Los antioxidantes naturales se encuentran en las plantas superiores y en todas sus partes. Ellos son generalmente compuestos fenólicos o polifenólicos. Las moléculas típicas de los antioxidantes son derivados o formas isoméricas de polifenoles, flavonas, isoflavonas, flavonoles, catequinas, cumarina, tocoferoles, ácido cinámico, fosfátidos, ácidos orgánicos polifuncionales y otros<sup>7</sup>.

El objetivo del presente estudio consistió en identificar los compuestos fenólicos de los extractos del chopé y evaluar su actividad antioxidante.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Material

Los frutos de chopé fueron colectados de los alrededores de la ciudad de Iquitos – Loreto - Perú, secados, molidos y tamizados en malla de 32 mesh y esta harina almacenada a -18°C, hasta los análisis posteriores.

### Métodos

La harina fue sometida a extracción con éter, etanol y agua por 60 minutos con agitación a temperatura ambiente. Los extractos etéreo, alcohólico y acuoso fueron obtenidos en forma secuencial de 20 g de fruto, incrementando la polaridad del solvente. Cada extracto fue completado a 100 mL con su correspondiente solvente.

La cantidad de materia seca en cada extracto fue determinada gravimétricamente<sup>8</sup>. La

humedad, cenizas, proteína, fibra soluble e insoluble fue determinado de acuerdo a las normas del Instituto Adolfo Lutz<sup>9</sup>. Los carbohidratos fueron obtenidos por la diferencia de 100 menos la suma de los porcentajes de agua, proteína, grasa y ceniza. Los lípidos totales fueron extraídos de acuerdo al método de Folch *et al.*,<sup>10</sup> y determinados gravimétricamente después de la evaporación del solvente. Alícuotas de los extractos lipídicos fueron usados para preparar los ésteres metílicos de los ácidos grasos de acuerdo a Arriman y Lago<sup>11</sup>. Los análisis fueron realizados con un cromatógrafo gaseoso Shimadzu modelo 17-A, equipado con detector de ionización de llama y una columna capilar de 30m x 0.25 mm de diámetro interior (Carbowax 20). La temperatura para la operación fue inicialmente 150 °C, y programada para incrementarse hasta 210 °C a 3 °C/minuto. Se utilizó una mezcla de patrones estándar de metil ésteres de ácidos grasos para obtener los tiempos relativos de retención e identificar los ácidos grasos del fruto del chopé. Se utilizó helio como gas de arrastre a razón de 1mL/min.

En el fraccionamiento de los compuestos fenólicos, se obtuvieron tres fracciones con tetrahidrofurano: ácidos fenólicos libres, ésteres fenólicos solubles y ésteres fenólicos insolubles de acuerdo al método de Krygier *et al.*,<sup>12</sup>. Los análisis de los compuestos fenólicos fueron realizados por cromatografía gaseosa, en el equipo señalado líneas arriba.

La actividad antioxidante “*in vitro*” de los extractos del chopé fueron evaluados utilizándose como sustrato  $\beta$ -caroteno/ácido linolénico, preparado con 0,2 mL de  $\beta$ -caroteno + 0,8 mL de cloroformo + 20 mg de ácido linoleico y 3 gotas de Tween 60 como emulsificante; se evapora el solvente y adiciona agua tratada con O<sub>2</sub> por 30 minutos. Este sistema se mantiene a 50°C y las medidas espectrofotométricas de absorbancia se realizaron con un espectrofotómetro Baush & Lomb, modelo Spectronic 20D, a 470 nm, cada 15 minutos, durante dos horas, siendo la primera lectura realizada a temperatura ambiente (24°C). Diferentes volúmenes de extractos y de las fracciones fenólicas de las muestras fueron medidos, de tal modo que al ser colocadas en 5 mL de solución de  $\beta$ -caroteno/ácido linolénico, alcancen una concentración de 50 y 100 ppm. Todas las determinaciones fueron realizadas con repetición y acompañadas por un control sin antioxidante y otro con solución de BHT en las mismas concentraciones. La evaluación del efecto sinérgico de la actividad antioxidante de los extractos y de las fracciones fenólicas fue realizada a través de la asociación con el antioxidante sintético BHT en la proporción de 1:1; el porcentaje de la inhibición de la actividad antioxidante se calcula de

$$\%AA = 100 - \frac{(\text{decaimiento de absorbancia de la muestra})}{(\text{decaimiento de la absorbancia del control})} 100$$

Donde % AA = porcentaje de inhibición de la oxidación

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La composición centesimal del fruto del chopé se muestra en la tabla 1 y destaca la concentración de lípidos y proteínas con 13,1% y 5,8%, respectivamente.

**Tabla 1.** Composición centesimal del fruto del chopé

Determinación	Contenido, %
Humedad	60,5 ± 0,15
Lípidos	13,1 ± 0,25
Cenizas	1,3 ± 0,02
Proteínas	5,8 ± 0,11
Fibra insoluble	12,7 ± 0,11
Fibra soluble	0,4 ± 0,11
Carbohidratos	6,2 ± 0,48

En la tabla 2, se presenta la composición en ácidos grasos presentes en la fracción lipídica: palmítico, 25,7%, heptadecenoico, 0,2%, esteárico, 5,6%, araquidónico, 0,3% oleico, 58,6%, linoleico, 6,2% y linolénico, 1,5%. Este trabajo presenta valores diferentes a los dados por otros autores<sup>14</sup> en cuanto a concentración, quienes indican una menor concentración de palmítico (7,32%), esteárico (3,05% y oleico (19,5%). El total de ácidos grasos insaturados fue de 66,3%. La elevada cantidad de ácidos grasos insaturados sugieren la existencia de algún mecanismo propio, de protección contra la oxidación.

**Tabla 2.** Composición en ácidos grasos de la grasa del chopé

Acido graso	Contenido, %
C16:0	25,7 ± 0,47
C17:0	0,2 ± 0,00
C18:0	5,6 ± 0,06
C20:0	0,3 ± 0,00
∑ Ácidos grasos saturados	31,8
C18:1	58,6 ± 0,61
C18:2	6,2 ± 0,13
C18:3	1,5 ± 0,03
∑ Ácidos grasos insaturados	66,3

Las fracciones con solubilidad específica, en solventes apolares y polares fueron obtenidas a través de procesos de extracción secuenciales. Al efectuar las extracciones con éter etílico, se obtendrán compuestos apolares, con etanol compuestos de polaridad intermedia y al realizarla con agua compuestos de alta polaridad<sup>8</sup>. El volumen final de cada extracto fue de 100 mL. La materia seca total fue de 44,0 mg/mL, 6,8 mg/ml y 25,3 mg/mL para los extractos etéreo, alcohólico y acuoso respectivamente (tabla 3). Ya Lun *et al.*<sup>15</sup>, trabajando con *Scutellaria rehderiana* obtuvo extractos con hexano, acetona y metanol por extracción secuencial y al comparar la actividad antioxidante de estos, observaron que los mejores resultados se obtuvieron con el extracto en acetona.

La actividad antioxidante fue evaluada con el sistema β-caroteno/ácido linoleico. Este método espectrofotométrico se basa en la habilidad de los diferentes extractos en proteger la oxidación del β-caroteno en una emulsión<sup>8</sup>. La actividad antioxidante de los extractos se muestran en la tabla 3. Los resultados de los extractos etéreo, alcohólico y acuoso (100 ppm de materia seca) fueron de 56,01%, 52,91% y 79,22% respectivamente, mientras que el BHT puro a la misma

concentración presento 70,49%, 69,34% y 76,63% respectivamente. Moure *et al.*<sup>16</sup>, trabajaron con *Genuina avellana*, una semilla oleosa de origen chileno, utilizando solventes con diferentes polaridades para la extracción de los compuestos fenólicos totales; encontraron que el extracto alcohólico fue más activo en los ensayos en  $\beta$ -caroteno, mientras que los extractos etanólico y metanólico inhibieron mejor la eficiencia de la oxidación del aceite de soja a 70° y 80°C, respectivamente.

El efecto global cuando decrece la absorbancia medida a 470 nm. de los extractos etéreo, alcohólico y acuoso fue utilizado para evaluar la actividad antioxidante de estos. Como se muestra en la tabla 3, la combinación de extractos (50 ppm) con BHT (50 ppm) presento una mejor actividad antioxidante que los extractos (100 ppm) o el BHT (100 ppm) puros.

**Tabla 3.** Porcentaje de inhibición de la oxidación de los extractos etéreo, alcohólico y acuoso del chopé y los extractos combinados con BHT

<i>Extractos</i>	Extracto 50ppm	BHT 50ppm	Extr.+BHT 25 ppm+25ppm	Extracto 100ppm	BHT 100ppm	Extr.+BHT 50 ppm+50ppm	Matéria Seca (mg/mL)
Etéreo	43,54	65,94	73,39	56,01	70,49	80,72	44,0 ± 0,04
Alcohólico	40,64	63,60	64,57	52,91	69,34	75,13	6,8 ± 0,02
Acuoso	72,54	65,92	76,89	79,22	76,63	83,81	25,3 ± 0,02

Con las fracciones de los compuestos fenólicos que se realizaron con tetrahidrofurano se obtuvieron tres fracciones. La materia seca de ácidos fenólicos libres (FPA), los ésteres fenólicos libres (SPE) y ésteres fenólicos insolubles (IPE) fueron de 4,5 mg/mL, 28,3 mg/mL y 0,7 mg/mL, respectivamente como se muestra en la tabla 4. La actividad antioxidante de estas fracciones (100 ppm) de FPA, SPE e IPE muestran 88,3%, 75,74% y 79,18% de inhibición respectivamente, mientras que el antioxidante sintético BHT 100%, mostró 79,24%, 75,95% y 75,34% de inhibición respectivamente. Cada fracción fenólica (50 ppm), cuando asociada con BHT (50 ppm), mostraron efectos antioxidantes sinérgicos. Resultados anteriores demuestran que en cultivos de células disminuye el crecimiento del virus de la influenza por el uso de compuestos fenólicos<sup>17</sup>

**Tabla 4.** Porcentaje de inhibición de la oxidación de las fracciones fenólicas de chopé y de la fracción combinada con BHT y de la materia seca.

<i>Fracciones</i>	Fracción 50ppm	BHT 50ppm	Fraç.+BHT 25 ppm+25ppm	Fracción 100ppm	BHT 100ppm	Fraç.+BHT 50 ppm+50ppm	Matéria Seca (mg/mL)
FPA	89,07	71,96	91,20	88,35	79,24	85,74	4,5 ± 0,13
SPE	82,91	68,78	70,46	75,74	75,95	67,51	28,13 ± 0,60
IPE	87,30	67,05	73,68	79,18	75,34	77,10	0,7 ± 0,03

FPA: ácidos fenólicos libres

SPE: ésteres fenólicos solubles

IPE: ésteres fenólicos insolubles.

Los análisis por cromatografía de los ácidos fenólicos en las fracciones de ácidos fenólicos libres, ácidos fenólicos insolubles y ésteres fenólicos insolubles muestran la presencia de los siguientes ácidos fenólicos: salicílico, transcinámico, p-hidroxibenzoico, protocatequínico,

gálico, sináptico, vinílico y cafeico. La tabla 5, muestra que el ácido salicílico (5,8-24,02 mg/g) fue el de más alta concentración en todas las fracciones,. Este ácido es un componente de la aspirina y está asociado a la prevención de ciertas patologías como los problemas coronarios, cáncer del colon y del pulmón; se le encuentra presente como salicilatos en varias frutas, como es el caso en las uvas (0,04 – 0,07 mg/1000g)<sup>18,19</sup>. La presencia de compuestos fenólicos en el fruto del chopé está relacionado con su actividad antioxidante.

**Tabla 5** Ácidos fenólicos en las fracciones de los frutos del chopé

Ácidos fenólicos	Composición, mg/g		
	FPA	SPE	IPE
Salicílico	9,50	24,02	5,8
Trans-cinamico	0,02	0,06	0,06
p-hydroxibenzoico	0,03	0,06	ND**
Protocatequínico	ND	0,09	ND
Galico	0,05	0,33	0,03
Sináptico	0,20	0,05	0,03
Vinílico	ND	0,41	ND
Cafeico	0,01	ND	ND
NI*	1,88	1,01	0,25

FPA – Ácidos fenólicos libres

SPE – Ésteres fenólicos solubles

IPE – Ésteres fenólicos insolubles

\*NI – no identificados

\*\*ND – no detectados

La actividad antioxidante de los extractos dependen del solvente, la concentración del extracto y ensayo antioxidante. Diferencias muy altas en actividad se deben a diferencias en la partición relativa entre fases en diferentes sistemas polares. Las pruebas de actividad antioxidante por el método de  $\beta$ -caroteno mostró, como resultado principal, que a mayor concentración de extracto, mayor coeficiente de actividad<sup>17</sup>. Esta propiedad ha sido observada para varios antioxidantes por otros autores<sup>20,21,22</sup>.

### CONCLUSIONES

- De acuerdo a los datos reportados indican que los extractos etéreo, alcohólico y acuosos del chopé poseen actividad antioxidante que puede ser medido por el sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.
- Las fracciones de los compuestos fenólicos del fruto del chopé rindieron tres fracciones con actividad antioxidante. La combinación de éstos con BHT demostró un alto efecto en términos de actividad antioxidante.
- Las tres fracciones fenólicas contenían varios ácidos fenólicos, y el ácido salicílico estuvo presente en las tres fracciones en mayor cantidad que los otros componentes. Los ácidos fenólicos están relacionados con la actividad antioxidante del chopé.
- Los resultados sugieren que los extractos del fruto del chopé podrían servir como fuente de antioxidantes para ser utilizado como producto nutracéutico para prevenir algunos desórdenes en el organismo.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a FAPESP por el apoyo financiero al proyecto y a CAPES-PEC/PG por la beca concedida.

### REFERENCIAS

1. Flores Paytan, S. Cultivo de frutales nativos amazónicos: manual para el extensionista. Secretaría Pro Tempore, [Tratado de Cooperación Amazónica], p.105-107. 1997.
2. Souza, A.; Rocha, a.; Pinheiro, ML.; Andrade, H.; Galotta, A.L.; Santos, M do P.S. Constituintes químicos de *Gustavia augusta* L. (Lecythidaceae) *Quimica Nova*, 2001, 24:439-442
3. Kuresh, A.; Youdim, A.M.; James, A.J. Incorporation of the elderberry anthocyanins by endothelial cells increases protection against oxidative stress. *Free Radical Biol.Med.*2000; 9:51-60.
4. Packer, L., Ong, A.S.H. Biological oxidants and antioxidants: molecular mechanisms and health. AOCS Press, 372p. 1998.
5. Amarowicz R, Naczek M, Shahidi F. J. Antioxidant activity of crude tannins of canola and rapeseed hulls. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 2000; **77**: 957-961.
6. Sanchez-Moreno, C., Satué-García, M.T., Frankel, E.N. J. Antioxidant activity of selected spanish wines in corn oil emulsions. *J. Agric. Food Chem.* 2000; 48: 5561- 5567.
7. Marinova, E.M, Yanisaleva, N.V. J. Effect of lipid unsaturation on the antioxidative activity of some phenolic acids, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1994; 71:427- 447.
8. Melo, M.O.S.O.M., Mancini-Filho, Antioxidantes naturaris da castanha do Brasil, *J. Ciênc. Tecnol. Aliment.* 1991; 11: 263-271.
9. Instituto Adolfo Lutz. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 2ed. São Paulo. . v.1, 371, 1976
10. Folch, J., Lees, M., Stanley, G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipids, *J. Biol. Chem.*, 1957. 226:497-505.
11. Hartman, L., Lago, B.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids, *Lab. Pract.*, 1973; 22:475 – 477..
12. Krygier, K, Sosulski, F.W., Hogge, L. J. Free, esterified and insoluble-bound phenolic acids. I. Extraction and purification procedure. *J. Agric. Food Chem.*, 1982; 30:330 - 334.
13. Marco, G.J.A. Rapid method for evaluation of antioxidants, *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, 1968, 45: 594-598.
14. Garcia de Sotero, d.; Sotero, V.; Garcia, L; Díaz, P.; Reis, L.L. Composición química del mesocarpio y caracterización del aceite del chopé (*Gustavia augusta* L.), *Rev. Conoc*, 1998. 4: 99-112.
15. Ya-Lun, S., Lai, K.L., Yu-Rong, B., Huang, Y., Zhen-Y.C. Antioxidant activity of flavonoids isolated from *Scutellaria rehdiana*, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2000;77: 807-812
16. Moure, A., Franco, D., Sineiro, J., Dominguez, H., Nunez, M.J., Lema, J.M.J.. Evaluation of extracts from *Gevuina avellana* hulls as antioxidants. *J. Agric. Food Chem.*, 2000;48:3890-3897,
17. Mancini, D.A.P., Dias, A.L.F., Pinto, J.R., Mancini-Filho. J. Antioxidant aqueous extract from cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*. Blume) as inhibitors of influenza virus. *Braz.J. Pharmaceutical Sciences.*; 1999; 35:155-160.

18. Blacklock CJ, Lawrence; Wiles, D. Salicylic acid in the serum of subjects not taking aspirin. Comparison of salicylic acid concentrations in the serum of vegetarians, non-vegetarians, and patients taking low dose aspirin. *J Clin Pathol.* 2001, 54:553-555.
19. Robertson, G.L. Salicylic acid in grapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 1983. 34:142-143.
20. Aruoma, O.I., Spencer, J.P.E., Warren, D., Jenner, P., Butler, J., Halliwell, B. An evaluation of the antioxidant and antiviral action of extracts of rosemary, and provencal herbs. *Food Chem. Toxicol.*, 1996, 34:449-456,.
21. Karamac, M, Amarowicz, R. Actividad antioxidante de BHA, BHT y TBHQ examinada con el test de Millar. *Grasas y Aceites*, 1997; 48:83-86..
22. Von Gadow, A, Joubert, E., Hansmann, C.F. Comparison of the antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of rooibos tea (*Aspalathus linearis*), - tocopherol, BHT, and BHA. *J. Agric. Food Chem.*, 1997; 45: 632-638

## Enseñanza de la Química

### EFFECTOS DE UN PROGRAMA DE ENSEÑANZA DE LA QUÍMICA EN SECUNDARIA BASADO EN USO DE LA TEORÍA DE LAS INTELIGENCIAS MÚLTIPLES (T.I.M.)

Rosario Margarita Santos Rodas<sup>a</sup>

#### RESUMEN

La presente investigación fue diseñada para determinar los efectos de un programa de enseñanza basado en el uso de la T.I.M. en el rendimiento escolar del área de ciencia, tecnología y ambiente en alumnas del tercer grado de secundaria. Los temas desarrollados en el programa de enseñanza fueron: materia, átomo y tabla periódica.

Mediante los resultados obtenidos en la presente investigación se ha comprobado que aplicando un programa de enseñanza basado en el uso de la T.I.M. mejora el rendimiento escolar, habiéndose obtenido un mejor nivel de comprensión de información tanto básica como inferencial en las alumnas que llevaron el programa antes mencionado. Con respecto a la indagación y experimentación también se registraron mejores resultados en las alumnas del grupo experimental, quienes lograron alcanzar los niveles de aprendizaje de aplicación, análisis y síntesis, como producto del diseño de actividades en base al uso de las inteligencias múltiples, que incentivó tanto los procesos de experimentación como de indagación. Además, permitió, como resultado de los procesos anteriores, que las alumnas pueden emitir juicios críticos respecto a las conclusiones obtenidas en las actividades desarrolladas en las sesiones de clase. En la investigación se verificó que estableciendo vínculos de comunicación adecuados en el aula, se está logrando un ambiente favorable para el aprendizaje significativo, considerando que la educación no es sólo informar o transmitir, sino también es intercambiar y socializar información, poner algo en común con otros, compartir ideas y diferentes puntos de vista.

Finalmente, se puede concluir que el uso de un programa de enseñanza basado en la T.I.M. favorece tanto el rendimiento escolar como el clima logrado en el aula.

**Palabras clave:** inteligencias múltiples, aprendizaje significativo, rendimiento escolar, clima escolar.

### EFFECTS OF A PROGRAM OF TEACHING OF THE CHEMISTRY IN SECONDARY BASED ON USE OF THE THEORY OF MULTIPLE INTELLIGENCES (T.M.I.)

#### ABSTRACT

The present investigation was designed to determine the effects of a program of teaching based on the use of the T.M.I. in the scholastic yield of the area science, technology and environment in students of the third degree of secondary. The subjects developed in the teaching program were: matter, atom and periodic table.

---

<sup>a</sup> Facultad: Escuela de Post-grado, Universidad Femenina del Sagrado Corazón, Av. Los Frutales 954, Urb. Camacho – La Molina. Lima 12, Perú, santos.rm@pucep.edu.pe

By means of the results obtained in the present investigation it has been verified that applying a program of education based on the use of the T.M.I. improves the scholastic yield. Having itself obtained a better level of understanding of basic information as much inferencial in the students who took the program indicated above. With respect to the investigation and experimentation also better results in the students of the experimental group were registered, who managed to reach the levels of application learning, analysis and synthesis, as product of the design of activities on the basis of the use of multiple intelligences, that stimulated so much the processes of experimentation as of investigation. In addition, it allowed, as a result of the previous processes, that the students can emit analyses with respect to the conclusions obtained in the developed activities in the class sessions. In the investigation, one verified that establishing suitable bonds of communication in the classroom, a propitious atmosphere for the significant learning is being obtained, considering that the education is not only to inform or to transmit, but also is to interchange and to socialize information, to put something common with others, to share ideas and different points of view.

Finally, it is possible to be concluded that the use of a program of education based on the T.M.I. favors so much the scholastic yield as the climate obtained in the classroom.

**Key words:** multiple intelligences, significant learning, scholastic yield, scholastic climate.

## INTRODUCCIÓN

El problema de la presente investigación queda formulado de la siguiente manera: ¿Cuáles son los efectos de la aplicación de un programa de enseñanza, basado en el uso de la T.I.M., en el rendimiento escolar del área de ciencia, tecnología y ambiente, en alumnas del tercer grado de secundaria de la institución educativa estatal “María Parado de Bellido” del distrito del Rímac, Lima, Perú.

La relevancia de la presente investigación radica en la posibilidad de brindar a los alumnos medios que les permitan promover el desarrollo de otros tipos de inteligencias, para la adquisición de aprendizajes reales y significativos como una alternativa instruccional en el proceso de enseñanza – aprendizaje.

El presente trabajo de investigación plantea las siguientes hipótesis: Existen diferencias entre el grupo de alumnas que llevaron el programa de enseñanza basado en el uso de la T.I.M., en comparación con el grupo de alumnas que no lo llevaron. De tal manera que el grupo de alumnas que fueron expuestas al programa de enseñanza aplicado presenta un mejor:

1. nivel de comprensión de información.
2. nivel de indagación y experimentación.
3. nivel de juicio crítico.
4. desarrollo en los componentes de la actitud ante el área.
5. rendimiento escolar en el área de ciencia, tecnología y ambiente.

La finalidad de cualquier sistema educativo es dar al alumno la educación que necesita de acuerdo con sus intereses, potencialidades y limitaciones, asegurando así la adaptación del colegio al alumno y del alumno al colegio y a la vida. En este sentido, se estima que los docentes deben cambiar el enfoque del proceso de enseñanza-aprendizaje, aplicando el concepto de las inteligencias múltiples (I.M.), desarrollando estrategias didácticas que consideren las diferentes posibilidades de adquisición del conocimiento que tiene el individuo. Si un alumno no comprende a través de la inteligencia elegida para su información, considerar que existen por lo menos otras formas diferentes más para lograr este conocimiento.

Dentro de este contexto en 1983, Howard Gardner publicó un libro titulado “*Frames of Minds: The Theory of Multiple Intelligences*” en donde desarrolló una teoría que sugiere la existencia de siete variables intelectuales asociadas con el funcionamiento del cerebro: Aptitudes verbales y lingüísticas, aptitudes matemáticas y lógicas, aptitudes musicales, aptitudes visuales y espaciales, aptitudes del cuerpo y movimiento, aptitudes interpersonales e intrapersonales. La T.I.M. es soportada a través de la hipótesis en la cual, la parte frontal del cerebro está hecha de miles de unidades modulares, las cuales son responsables, a su vez, del pensamiento consciente, la memoria y el comportamiento. Constelaciones de modularidades son responsables de la fortaleza o insuficiencia de la inteligencia de un individuo. Las modularidades sobre el lado derecho y el lado izquierdo se encuentran interconectadas a través del cuerpo caloso. Las modularidades pueden variar de tamaño, densidad y conexiones, las cuales alteran la complejidad conceptual entre los individuos.

Existen experiencias educativas que utilizan la T.I.M., como es el caso del Proyecto Spectrum, que es un programa curricular y de evaluación para niños de preescolar, el cual emplea materiales atractivos y familiares de aprendizaje en donde los niños, puedan jugar con ellos con comodidad y aprender al mismo tiempo. Por ejemplo se pueden examinar las inteligencias lógica, espacial y corporal – kinestésica de los niños haciendo que ellos desmonten y vuelvan a montar objetos domésticos familiares, como una manija de una puerta<sup>1</sup>

Otro caso, es el Proyecto SUMIT (Schools Using Multiple Intelligences Theory) dirigido por la investigadora Mindy Kornhaber y sus colegas del Proyecto Zero de la Universidad de Harvard. Este equipo de investigación ha estado estudiando cuarenta y una escuelas en todos los Estados Unidos que han aplicado la T.I.M., durante un periodo de tres años. Y los resultados son muy esperanzadores: el 78% de estos centros comunicó unos resultados positivos en las pruebas normalizadas, el 63% de este segmento atribuía la mejora a prácticas basadas en la T.I.M.; el 78% también comunicó mejoras del rendimiento en estudiantes con dificultades de aprendizaje; y un 80% comunicó mejoras en la participación de los padres que, en el 75% de los casos, se atribuyeron a la T.I.M. y el 81% comunicó una mejora en la disciplina de los estudiantes, mejora que es atribuida por el 67% de estos centros a la T.I.M.<sup>1</sup>

En el Perú, el tema de las I.M. ha sido poco tratado; sin embargo, durante los días 9, 10 y 11 de marzo de 2005, se realizó el “Congreso Nacional sobre Inteligencias Múltiples en la Educación Infantil”<sup>2</sup>, siendo una de sus finalidades de este congreso, el compartir una serie de experiencias educativas. A continuación se detalla algunas de las más interesantes.

El Colegio Trener presenta, a través de la Licenciada Mercedes García de Valenzuela, la aplicación de las I.M. como una opción innovadora en el desarrollo de actividades educativas; logra la integración de áreas no sólo como herramienta o vía para los aprendizajes del proyecto, sino para desarrollar conscientemente las diversas inteligencias; habiendo incrementado la importancia de otro tipo de actividades, en donde los alumnos tienen la posibilidad de elegir. La forma de trabajo es individual o en grupos.

El Instituto de Formación Aprendizaje Motivación Innovaciones y Liderazgo Educativo (INFAMILLE), a través del Dr. Guillermo Rivera Díaz, comparte su experiencia en la aplicación de las I.M. en talleres de capacitación docente, obteniendo las siguientes conclusiones: En el proceso de enseñanza – aprendizaje logra en los alumnos la adquisición de nuevos modelos mentales más profundos y más complejos. Además, disminuye los problemas de conducta e incrementa la autoestima y asertividad de los alumnos, desarrolla el liderazgo, aumenta el interés por aprender, el docente toma en cuenta el ritmo de aprendizaje de cada niño y finalmente cada niño tiene la oportunidad de elegir cómo aprender.

Finalmente, en los resultados del rendimiento escolar se puede evidenciar la forma como el

nuevo conocimiento ha sido adquirido, procesado y almacenado en la estructura cognitiva del alumno. Sin embargo, este rendimiento escolar puede ser afectado con el uso de estrategias apropiadas y diversas que estimulen los diferentes tipos de inteligencia, de manera que se potencie el proceso de asimilar e integrar el conocimiento.

### PARTE EXPERIMENTAL

El presente estudio corresponde a una investigación confirmatoria – causal. El diseño corresponde a un “Diseño Experimental”. Se ubica en los Diseños Cuasi -Experimentales y el nombre específico es el de: “Diseño con pre-test – post-test con grupo control”. La población de la presente investigación está constituida por 240 alumnas del tercer grado de educación secundaria, ubicadas en ocho secciones, en la institución educativa estatal “María Parado de Bellido” del distrito del Rímac. La muestra está constituida por las 180 alumnas de la población, siendo el muestreo intencional. La selección de la muestra se determinó en base a los siguientes criterios:

- La accesibilidad al grado de estudio para aplicar el programa de enseñanza basado en el uso de las I.M.
- La naturaleza de estudio del área de ciencia, tecnología y ambiente (C.T.A.) que proporciona facilidades para la aplicación del programa de enseñanza aplicado.
- Alumnas cuyas edades sean entre 13 y 15 años y que se hayan ubicado en el rango correspondiente al del promedio según los resultados en el test de inteligencia factor “g” de Catell, escala 2, forma A.

Los materiales e instrumentos en la presente investigación fueron:

- Test de los perfiles de las I.M.: Está dividido en las seis I.M a evaluar, que son aquellas de interés en la presente investigación. Al final se ubica una tabla para determinar el orden de prioridad según el tipo de inteligencia.
- Test de inteligencia factor “g” de Catell, escala 2, forma A: Contiene cuatro sub-tests, cada uno de los cuales está formado por preguntas de opción múltiple. Se adjunta una ficha de recolección de respuestas y la plantilla para la corrección.
- Pre y post- test sobre el rendimiento escolar de las alumnas del 3<sup>er</sup> grado de secundaria en el área de C.T.A.: Esta dividida en tres partes que contiene preguntas de opción múltiple, basados en las capacidades del área y los niveles del dominio cognitivo de la taxonomía de Benjamín Bloom.
- Programa de enseñanza basado en el uso de la T.I.M. aplicado en el área de C.T.A. para alumnas del 3<sup>er</sup> grado de secundaria: Consta de tres unidades didácticas, nueve fichas de aplicación, tres guías de laboratorio, seis actividades de extensión. Además, como una ayuda a la labor docente, cuenta con la respectiva explicación teórica de los temas desarrollados, así como, con las nueve sesiones de aprendizajes significativos y los nueve procesos metodológicos ejecutados<sup>3</sup>. Las unidades didácticas tienen actividades que promueven el uso de las I.M. y su contenido temático se detalla a continuación:
- Clasificación de la materia, cambio físico y cambio químico.
- Modelos atómicos, estructura atómica, configuración electrónica, números cuánticos.
- Historia y descripción de la tabla periódica, propiedades de la tabla periódica, características de las principales familias químicas.
- Encuesta sobre la actitud ante el área: Contiene preguntas de opción múltiple orientadas en los siguientes componentes actitudinales: responsabilidad, solidaridad, tolerancia y compromiso.

La recolección de datos se realizó de acuerdo a la siguiente secuencia aplicada a los grupos de control y experimental:

- El test de los perfiles de las I.M. para determinar el orden de prioridad de las I.M. a utilizar en la presente investigación.
- El test de inteligencia factor “g” de Catell, escala 2, forma A, en ambos grupos de estudio, para determinar el porcentaje de alumnas que evidenciarán un nivel promedio de inteligencia.
- El pre – test, para determinar el rendimiento escolar de las alumnas del 3<sup>er</sup> grado de secundaria en el área de C.T.A.
- El programa de enseñanza basado en el uso de la T.I.M. en el área de C.T.A. para alumnas del 3<sup>er</sup> grado de secundaria, para potenciar las habilidades, destrezas y actitudes de ellas, en las capacidades del área: comprensión de información, experimentación e indagación, juicio crítico y actitud ante el área.(se aplicó sólo al grupo experimental)
- El post - test, para determinar el rendimiento escolar de las alumnas del 3<sup>er</sup> grado de secundaria en el área de C.T.A.
- La encuesta sobre la actitud ante el área, para determinar el nivel de logro alcanzado en las alumnas.

Se utilizó una estadística inferencial empleando el test “t” de student para medias independientes cuyo nivel de significancia fue del 5% ( $\alpha = 0,05$ ), necesaria para verificar las hipótesis planteadas en la presente investigación.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La descripción de los resultados de la presente investigación, será realizada de acuerdo al orden de las hipótesis propuestas con anterioridad.

### Comprensión de información

Se procedió a calcular los niveles de comprensión de información alcanzados por las alumnas de ambos grupos, obteniéndose los siguientes resultados (tabla 1).

**Tabla 1.** Resultados obtenidos en el post-test sobre comprensión de información según grupo de comparación

Niveles	Puntaje máximo posible	n	Control			Experimental			
			$\bar{X}$	s	% de logro	n	$\bar{X}$	s	% de logro
Comprensión Básica	13,50	90	2,39	2,03	17,70	90	5,32	2,77	39,41
Comprensión Inferencial	9,00	90	2,45	1,42	27,22	90	4,37	1,75	48,56
Total	22,50	90	4,84	2,98	21,51	90	9,69	4,09	43,07

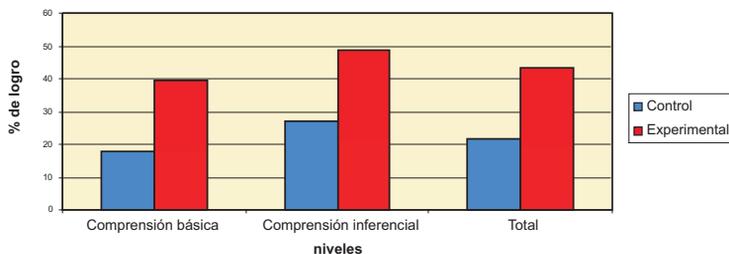
n = número de observaciones

$\bar{X}$  = media aritmética

s = desviación estándar

De acuerdo con la tabla anterior los valores de los porcentajes de logro del grupo control es menor en comparación con el grupo experimental, tendencia que se mantiene con respecto a los valores de las desviaciones estándar, lo que indica que los grupos no son homogéneos.

En la figura 1 se puede observar que el grupo experimental supera al grupo control tanto en los niveles de comprensión como en el total.



**Figura 1.** Diagrama de barras sobre el porcentaje de logro obtenido en el post-test sobre comprensión de información según grupo de comparación

Para determinar si la diferencia que se observa es significativa, usando sólo los valores del total, se aplicó el test “t” de student para medias independientes.

**Tabla 2.** Resultados de la aplicación del test “t” de student para medias independientes sobre logros en comprensión de información de los grupos en comparación en el post-test

Grupo	$\bar{X}$	$t_c$	$t_{0,05; 178}$	Criterio	Decisión
Control	4,84	9,08	1,96	“Si $t_c > t_{\alpha, gl}$ Rechazar $H_0$ ”	Rechazar $H_0$
Experimental	9,69				

$\bar{X}$  = media aritmética

0,05 = nivel de significancia

178 = grado de libertad

De acuerdo con la tabla 2 el valor del “t” empírico ( $t_c$ ) del test “t” es mayor que el valor del “t” teórico, por lo que se rechaza la hipótesis nula,  $H_0$ . Esto significa que sí existe diferencia significativa entre los puntajes obtenidos por el grupo control y el grupo experimental.

Con relación a la hipótesis 1 que establecía que las alumnas que fueran expuestas a un programa de enseñanza basado en el uso de la T.I.M. presentarían un mejor nivel de comprensión de información que las alumnas que no lo llevaron, ha sido confirmada.

David Perkins<sup>4</sup>, indica que la comprensión de información proporciona "ambigüedad óptima"; es decir, suficiente estructura como suficiente flexibilidad para satisfacer las necesidades del profesor en el aula durante el proceso de aprendizaje. En cambio para otros autores, el lector comprende un texto cuando la información contenida en el texto se integra a los conocimientos previos o esquemas del lector e influye en su proceso de comprensión<sup>5</sup>. Estos últimos, señalan que el lector trata de encontrar esquemas apropiados para explicar el texto y lograr comprender la información<sup>6</sup>; cuando se recibe la nueva información los esquemas se reestructuran, ajustan y perfeccionan.

### Indagación y experimentación

Con respecto a los niveles de indagación y experimentación alcanzados por las alumnas de ambos grupos, se obtuvo los siguientes resultados.

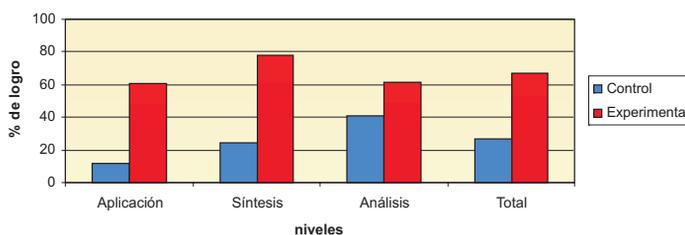
**Tabla 3.** Resultados obtenidos en el post-test sobre indagación y experimentación según grupo de comparación

Niveles	Puntaje máximo posible	n	Control			Experimental			
			$\bar{X}$	s	% de logro	n	$\bar{X}$	s	% de logro
Aplicación	9,25	90	2,15	1,88	11,47	90	5,62	2,28	60,76
Síntesis	6,00	90	1,47	1,70	24,5	90	4,70	1,82	78,33
Análisis	3,50	90	1,42	0,92	40,57	90	2,16	0,68	61,71
Total	18,75	90	5,04	2,57	26,88	90	12,48	3,40	66,56

n = número de observaciones       $\bar{X}$  = media aritmética      s = desviación estándar

De acuerdo con la tabla 3 los valores de las medias aritméticas y desviaciones estándar de los grupos de control y experimental son diferentes, lo que se puede evidenciar con los valores obtenidos en el porcentaje de logro.

Como se puede observa en la figura 2, las barras del grupo experimental es mayor en todos los niveles de indagación y experimentación y en la barra del total.

**Figura 2.** Diagrama de barras sobre el porcentaje de logro obtenido en el post- test sobre indagación y experimentación según grupo de comparación

Usando sólo los valores del total, se aplicó el test “t” de student para medias independientes.

**Tabla 4.** Resultados de la aplicación del test “t” de student para medias independientes sobre logros en indagación y experimentación de los grupos en comparación en el post – test

Grupo	$\bar{X}$	$t_c$	$t_{0,05; 178}$	Criterio	Decisión
Control	5,04	16,55	1,96	“Si $t_c \geq t_{\alpha, gl} \rightarrow$ Rechazar $H_0$ ”	Rechazar $H_0$
Experimental	12,48				

$\bar{X}$  = media aritmética      0,05 = nivel de significancia      178 = grado de libertad

Como se puede observar en la tabla 4 el valor del “t” empírico ( $t_c$ ) del test “t” es mayor que el valor del “t” teórico, por lo que se rechaza la hipótesis nula,  $H_0$ . Por lo tanto, se puede afirmar, que el grupo experimental supera significativamente en sus resultados al grupo control.

Con relación a la hipótesis 2 que establecía que las alumnas que fueran expuestas a un programa de enseñanza basado en el uso de la T.I.M. presentarían un mejor nivel de

indagación y experimentación que las alumnas que no lo llevaron, ha sido verificada.

Al respecto, Gardner<sup>7</sup> refiriéndose a la indagación y experimentación manifiesta que: "...los seres humanos están predispuestos a realizar determinadas operaciones intelectuales cuya naturaleza puede inferirse de la indagación y experimentación cuidadosas. Los esfuerzos educacionales deben aprovechar en toda su capacidad, el conocimiento de estas tendencias intelectuales así como sus puntos de máxima flexibilidad y adaptabilidad".

De acuerdo con Steve Olson y Susan Loucks-Horsley<sup>8</sup>, las ventajas que tiene enseñar a través de la indagación y experimentación es que permite en los alumnos alcanzar niveles superiores de aprendizaje, los cuales se caracterizan porque los alumnos se comprometen con su aprendizaje, dan prioridad a la evidencia que les permiten desarrollar y evaluar explicaciones dirigidas a preguntas de orientación científica, formulan explicaciones que dan respuestas a las mismas, evalúan sus explicaciones contrastándolas con explicaciones alternativas y finalmente, los alumnos comunican y justifican sus explicaciones.

### Juicio crítico

Al calcular los niveles de juicio crítico alcanzados por las alumnas de ambos grupos, se obtuvo los siguientes resultados ( tabla 5).

**Tabla 5.** Resultados obtenidos en el post-test sobre juicio crítico según grupo de comparación

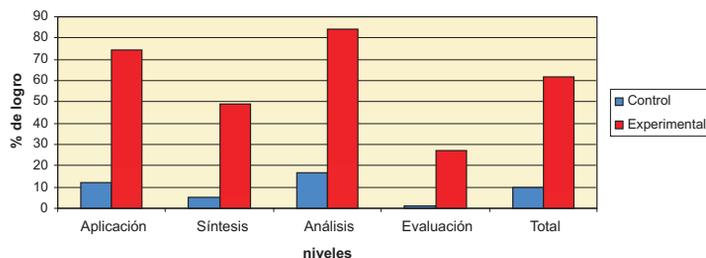
Niveles	Puntaje máximo posible	n	Control			Experimental			
			$\bar{X}$	s	% de logro	n	$\bar{X}$	s	% de logro
Aplicación	2,00	90	0,24	0,65	12,00	90	1,49	0,85	74,50
Síntesis	2,00	90	0,10	0,29	5,00	90	0,98	0,81	49,00
Análisis	9,00	90	1,49	2,87	16,56	90	7,56	2,10	84,00
Evaluación	5,75	90	0,05	0,47	0,87	90	1,56	1,97	27,13
Total	18,75	90	1,88	3,50	10,03	90	11,59	4,27	61,81

n = número de observaciones

$\bar{X}$  = media aritmética

s = desviación estándar

En esta tabla se observa que los valores de las medias aritméticas del grupo experimental son mayores que las obtenidas por el grupo control en todos los niveles y sobre todo en el total, tendencia que se mantiene en los valores de los porcentajes de logro obtenidos por cada uno de los niveles del juicio crítico en ambos grupos de comparación.



**Figura 3.** Diagrama de barras sobre el porcentaje de logro obtenido en el post- test sobre juicio crítico según grupo de comparación

Como se puede observar en la figura 3, diagrama de barras, el grupo experimental superó significativamente al grupo control en todos los niveles de juicio crítico, sobresaliendo en el nivel de evaluación, en donde casi no se aprecia al grupo control. Usando los valores sólo del total, se aplicó el test “t” de student para medias independientes, para determinar si estas diferencias son significativas.

**Tabla 6.** Resultados de la aplicación del test “t” de student para medias independientes sobre logros en juicio crítico de los grupos en comparación en el post –test

Grupo	$\bar{X}$	$t_c$	$t_{0,05;178}$	Criterio	Decisión
Control	1,88	16,66	1,96	“Si $t_c > t_{\alpha,gl} \rightarrow$ Rechazar $H_0$ ”	Rechazar $H_0$
Experimental	11,59				

$\bar{X}$  = media aritmética      0,05 = nivel de significancia      178 = grado de libertad

De acuerdo a la tabla 6, el valor del “t” empírico ( $t_c$ ) del test “t” es mayor que el valor del “t” teórico, por lo que se rechaza la hipótesis nula,  $H_0$ . Por lo tanto, se puede afirmar, que el grupo experimental supera significativamente en sus resultados al grupo control.

Con relación a la hipótesis 3 que establecía que las alumnas que fueran expuestas a un programa de enseñanza basado en el uso de la T.I.M. presentarían un mejor nivel de juicio crítico que las alumnas que no lo llevaron, ha sido confirmada.

Piaget<sup>9</sup> manifestó que: “el adolescente se vuelve capaz de pensar en una forma completamente lógica, puede expresar hipótesis en proposiciones, probarlas y revisar las proposiciones a la luz de los resultados de semejante experimentación”.

Para Gardner<sup>9</sup> el juicio crítico está relacionado con el poder sintetizador general que posea un individuo. Algunos estudios han demostrado que los sujetos que realizan alguna combinación con las siguientes habilidades: sentido común, originalidad y capacidad madurada para metaforizar o hacer analogías, pueden hacer sagaces comentarios y proponer líneas de acción bien razonadas. Al hacer uso de este poder sintetizador, el individuo emite juicios críticos, para lo cual pueden emplear dos o más I.M. en forma paralela.

### Actitud ante el área

Se utilizó un instrumento que fue una encuesta que midió los siguientes componentes de la actitud ante el área: responsabilidad, solidaridad, tolerancia y compromiso, los cuales se detallan a continuación.

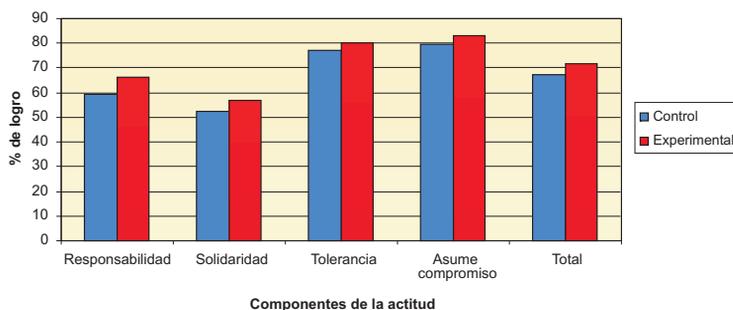
**Tabla 7.** Resultados obtenidos en la encuesta actitud ante el área según grupo de comparación

Componentes de la Actitud	Puntaje máximo posible	n	Control			Experimental			
			n	$\bar{X}$	s	% de logro	n	$\bar{X}$	s
Responsabilidad	25	90	14,78	2,52	59,12	90	16,56	2,54	66,24
Solidaridad	25	90	13,10	6,36	52,40	90	14,18	6,46	56,72
Tolerancia	25	90	19,32	3,58	77,28	90	20,08	3,39	80,32
Compromiso	25	90	19,95	4,25	79,80	90	20,74	3,48	82,96
Total	100	90	67,15	12,55	67,15	90	71,56	12,98	71,56

N = número de observaciones       $\bar{X}$  = media aritmética      s = desviación estándar

En la tabla 7 se observa que los valores de los porcentajes de logros obtenidos en el grupo experimental, presentan una pequeña diferencia favorable en todos los componentes de la actitud, medidos y en el total en comparación con el grupo control.

La figura 4 nos permite visualizar mejor estos resultados.



**Figura 4.** Diagrama de barras sobre el porcentaje de logro obtenido en la encuesta actitud ante el área según grupo de comparación.

Una vez más, se utilizaron sólo los valores del total para aplicar el test “t” de student para medias independientes.

**Tabla 8.** Resultados de la aplicación del test “t” de student para medias independientes sobre logros en la encuesta actitud ante el área de los grupos en comparación

Grupo	$\bar{X}$	$t_c$	$t_{0,05; 178}$	Criterio	Decisión
Control	67,15	2,38	1,96	“Si $t_c > t_{\alpha, gl} \rightarrow$ Rechazar $H_0$ ”	Rechazar $H_0$
Experimental	71,56				

$\bar{X}$  = media aritmética    0,05 = nivel de significancia    178 = grado de libertad

De acuerdo a la tabla 8 el valor del “t” empírico ( $t_c$ ) del Test “t” es mayor que el valor del “t” teórico, por lo que se rechaza la hipótesis nula,  $H_0$ . Por lo tanto, se puede afirmar, que el grupo experimental supera significativamente en sus resultados al grupo control.

Con relación a la hipótesis 4 que establecía que las alumnas que fueran expuestas a un programa de enseñanza basado en el uso de la T.I.M. presentarían un mejor desarrollo en los componentes de la actitud ante el área que las alumnas que no lo llevaron, ha sido verificada.

Para Gagné<sup>10</sup> la cuarta categoría en todo proceso de aprendizaje es la de las actitudes, que se trata de capacidades que influyen sobre la elección de las acciones personales; los movimientos hacia clases de cosas, hechos o personas; las reacciones emocionales, etc.

Para la presente investigación las actitudes describen el estado de preparación o predisposición para reaccionar de un modo determinado ante ciertos objetos, personas o situaciones. Las actitudes limitan o facilitan la aplicación de las técnicas y de las ideas. Si una persona, no quiere entender un argumento o una explicación, no importa su capacidad de comprensión. Las actitudes, por tanto, tienen una importante influencia en el aprendizaje, como en el respeto de la vida de las personas, en sus reacciones ante los demás, ante los objetos y ante los hechos. Sin embargo, no hay razón para considerarlas como innatas e inmutables, sino que más bien se tiene razones para pensar que son aprendidas desde la experiencia.<sup>11</sup>

Al respecto, según Kohlberg<sup>12</sup> todas las relaciones sociales ofrecen oportunidades para adoptar papeles sociales, asumir la perspectiva del otro y en consecuencia, estimulan el desarrollo moral. Si bien las relaciones con los pares probablemente sean el paso más importante durante la niñez, los entornos cada vez más amplios de la adolescencia y la edad adulta multiplican las oportunidades de crecimiento moral.

### Rendimiento escolar

Se procedió a calcular el rendimiento escolar alcanzado por las alumnas de ambos grupos, obteniéndose los siguientes resultados:

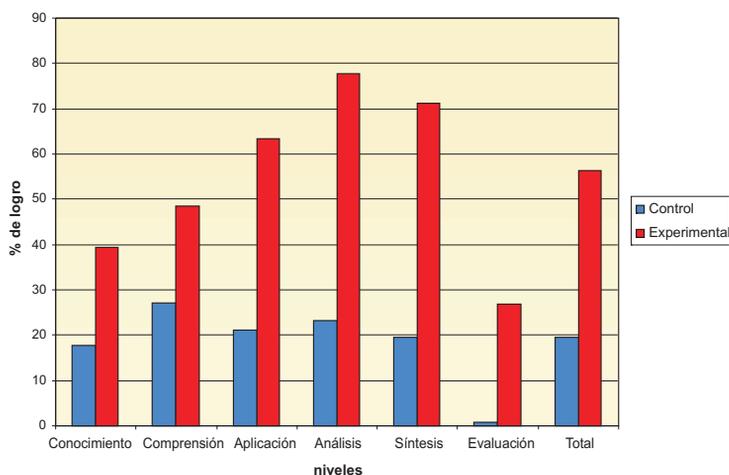
**Tabla 9.** Resultados obtenidos en el post-test sobre el rendimiento escolar de los grupos en comparación

Niveles	Puntaje máximo posible	Control			Experimental				
		n	$\bar{X}$	s	% de logro	n	$\bar{X}$	s	% de logro
Conocimiento	13,50	90	2,40	2,03	17,78	90	5,33	2,77	39,48
Comprensión	9,00	90	2,45	1,42	27,22	90	4,37	1,75	48,56
Aplicación	11,25	90	2,39	2,13	21,24	90	7,12	2,63	63,29
Análisis	12,50	90	2,91	3,19	23,28	90	9,72	2,31	77,76
Síntesis	8,00	90	1,57	1,73	19,63	90	5,69	2,03	71,13
Evaluación	5,75	90	0,05	0,47	0,87	90	1,55	1,97	26,96
Total	60,00	90	11,77	6,21	19,61	90	33,78	9,85	56,30

n = número de observaciones       $\bar{X}$  = media aritmética      s = desviación estándar

En la tabla 9 se observa que los valores de las desviaciones estándar obtenidos por el grupo experimental son mayores a los obtenidos por el grupo control en todos los niveles del aprendizaje y en el total.

En la figura 5 se visualiza mejor estas diferencias.



**Figura 5.** Diagrama de barras del porcentaje de logro obtenido en el post-test sobre el rendimiento escolar de los grupos en comparación

Para determinar si esta diferencia es significativa en todos los niveles de aprendizaje y utilizando también sólo los valores del total, se aplicó el test “t” de student para medias independientes.

**Tabla 10.** Resultados de la aplicación del test “t” de student para medias independientes sobre logros en el rendimiento escolar de los grupos en comparación en el post – test

Grupo	$\bar{X}$	$t_c$	$t_{0,05; 178}$	Criterio	Decisión
Control	11,77	17,92	1,96	“Si $t_c > t_{\alpha, gl} \rightarrow$ Rechazar $H_0$ ”	Rechazar $H_0$
Experimental	33,78				

$\bar{X}$  = media aritmética    0,05 = nivel de significancia    178 = grado de libertad

De acuerdo a la tabla 10, el valor del “t” empírico ( $t_c$ ) del test “t” es mayor que el valor del “t” teórico, por lo que se rechaza la hipótesis nula,  $H_0$ . Esto significa que si existe diferencia significativa entre los puntajes obtenidos por el grupo control y el grupo experimental.

Con relación a la hipótesis 5 que establecía que las alumnas que fueran expuestas a un programa de enseñanza basado en el uso de la T.I.M. presentarían un mayor rendimiento escolar que las alumnas que no lo llevaron, ha sido confirmada.

En una metodología activa las estrategias de enseñanza – aprendizaje se basan en la premisa de que los alumnos aprenden con mayor efectividad cuando participan activamente en la organización y búsqueda de relaciones en la información que cuando pasivamente reciben cuerpos de conocimiento dados por el docente.<sup>13</sup>

Según Benjamín Bloom, el nivel de aprendizaje se basa en la idea de que las operaciones cognitivas pueden clasificarse en seis niveles de complejidad creciente. Es decir, cada nivel depende de la capacidad del alumno para desempeñarse en el nivel o los niveles precedentes, de tal forma que la capacidad de evaluar (el nivel más alto de la taxonomía cognitiva), se basa en el supuesto de que el estudiante, para ser capaz de evaluar, tiene que disponer de la información necesaria, comprender esa información, ser capaz de aplicarla, de analizarla, de sintetizarla y finalmente, de evaluarla. Dicha taxonomía cognitiva es un intento de ordenar jerárquicamente los procesos cognitivos.<sup>14</sup>

En este sentido, para Bloom lo importante en la enseñanza no era comparar a los alumnos, sino que había que ayudarles a lograr los objetivos establecidos en el programa de estudios que estuviesen siguiendo. Desde el punto de vista pedagógico, no tenía ningún sentido esperar que todos los estudiantes emplearan el mismo tiempo para alcanzar los mismos objetivos. Existían diferencias individuales entre los estudiantes y lo importante era tener en cuenta esas diferencias para fomentar el aprendizaje, en vez de considerar el tiempo como una constante.<sup>15</sup>

## CONCLUSIONES

Como se ha comprobado en la presente investigación, un programa de enseñanza basado en el uso de la T.I.M. mejora el rendimiento escolar en el área de C.T.A. en alumnas de 3<sup>er</sup> grado de secundaria. Habiéndose obtenido un mejor nivel de comprensión de información tanto básica como inferencial en las alumnas que llevaron el programa antes mencionado. Con respecto a la indagación y experimentación también se registraron mejores resultados en las alumnas del grupo experimental, quienes lograron alcanzar los niveles de aprendizaje, de aplicación, análisis y síntesis, como producto del diseño de actividades en base al uso de las inteligencias múltiples, que incentivó tanto los procesos de experimentación como de indagación.

Además, permitió como resultado de los procesos anteriores, que las alumnas pueden emitir juicios críticos respecto a las conclusiones obtenidas en las actividades desarrolladas en las sesiones de clase. De esta forma se logró en ellas un nivel de aprendizaje superior.

### AGRADECIMIENTO

Expreso mi gratitud para las personas que forman parte de la Universidad Femenina del Sagrado Corazón UNIFÉ, en especial para mis profesores del Programa de Doctorado en Educación, quienes a través de su ejemplo me permitieron consolidar mi vocación docente, desarrollar la motivación por seguir aprendiendo e incrementar el interés por la investigación educativa y para todos los profesionales que de alguna manera me guiaron durante la elaboración de la presente investigación.

Al Dr. Agustín Campos Arenas, por su apoyo incondicional y generoso en su calidad de asesor de la presente investigación y por su calidad humana.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Gardner, H. La Inteligencia Reformulada. Barcelona: Paidós. 1999. p. 99., p.122
2. Congreso Nacional sobre Inteligencias Múltiples en la Educación Infantil. Lima. 9-11 de marzo de 2005.
3. Santos, R. Efectos de un programa de enseñanza basado en el uso de la teoría de las inteligencias múltiples en el rendimiento escolar [Tesis doctoral]. Lima, Perú, Universidad Femenina del Sagrado Corazón UNIFÉ; 2008.
4. Blythe, T. y colaboradores. La Enseñanza para la Comprensión: Guía para el docente. San Francisco: Paidós. 1998. p. 33-35.
5. Anderson, C. y Pearson, R. Enseñanza de la comprensión lectora. Madrid: Morata S.A. 1984. p. 345.
6. Quintana, C. Estrategias para la comprensión de información. Madrid: Morata. 2000. p. 154.
7. Gardner, H. Estructuras de la mente: La teoría de las múltiples inteligencias. México D.F.: Fondo de Cultura Económica, S.A. 1987. p. 47
8. Harlen, W. Enseñanza y aprendizaje de las ciencias. Madrid: Morata S.A. 1989. p. 25-26.
9. Gardner, H. Estructuras de la mente: La teoría de las múltiples inteligencias. México D.F.: Fondo de Cultura Económica, S.A. 1987. p. 33., p. 325-326.
10. Feroso, P. Teoría de la educación. España: CEAC. 1984. p. 114.
11. Harlen, W. Enseñanza y aprendizaje de las ciencias. Madrid: Morata S.A. 1989. p. 83.
12. Papalia, D. Psicología del Desarrollo de la Infancia a la Adolescencia. México: Mc Graw Hill Interamericana. 2004. p. 466.
13. Eggen, P. y Kauchak, D. Estrategias docentes: Enseñanza de contenidos curriculares y desarrollo de habilidades de pensamiento. Buenos Aires: Fondo de Cultura Económica. 1999. p.9.
14. Bloom, B. S. Taxonomía de objetivos educacionales: El dominio cognoscitivo. Madrid: Ateneo. 1975. p. 12.
15. Eggen, P. y Kauchak, D. Estrategias docentes: Enseñanza de contenidos curriculares y desarrollo de habilidades de pensamiento. Buenos Aires: Fondo de Cultura Económica. 1999. p. 432.

## INFORMACIONES

### A. De la Sociedad Química del Perú

Esta Revista cumple este año el 75 aniversario de su primera publicación (1934). Con tal motivo, la Sociedad Química ha nombrado una comisión organizadora del programa que recordará tal acontecimiento. Que una revista científica se haya venido publicando durante 75 años, con cuatro números por año nunca interrumpidos, constituye un hecho notable para cualquier institución, y como tal debe ser recordado. La fecha de celebración será el viernes 23 de octubre.

**Conferencias “Jueves Científicos”** en la Sociedad Química.

- *“Obtención de biodiesel a partir del aceite de piñón de la *Jatropha curcas* L.”*, dictada por el Dr. Jorge Martínez Herrera, el 25 de junio pasado.
- **Los procesos industriales y la formación en ambientes virtuales: Integración NTIC-E-learning:**  
1º parte: “Fundamentos para el diseño de procesos industriales sostenibles” dictada por el Mg. Jorge Eduardo Loayza Pérez (UNMSM).  
2º parte: “AVA – Ambientes virtuales de aprendizaje aplicados en ingeniería”, por Com. Soc. Martha Patricia Valbuena, de Ingenio Colombiano; ambas exposiciones tuvieron lugar el 23 de julio.
- **Estudio de vibraciones moleculares mediante espectroscopía Ir y Raman” dictada por la M. Sc. Quím. Esther Julia Ocola Torres, de A & M University Texas, USA, el 06 de agosto, 2009.**
- **Gastronomía molecular**, dictada por la Mg. Delia Haydee Cajaleón Ascencios, de la Univ. Nac. José Faustino Sánchez Carrión, el 27 de Agosto del 2009.

### Incorporación a la Academia Nacional de Ciencias

El jueves 03 de setiembre, la Dra. Olga Lock Sing. fue incorporada a la Academia Nacional de Ciencia. La ceremonia tuvo lugar en el auditorio Alberto Hurtado de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, en Miraflores. Al acto asistieron distinguidas personalidades del mundo científico y académico de nuestro medio.

En el discurso de incorporación la Dra. Lock rindió un homenaje a dos grandes químicos: los doctores Emmanuel Pozzi Escot y Xorge Domínguez.

El Dr. Pozzi Escot, químico francés, llegó muy joven aún al Perú (1906), contratado por el Gobierno de la nación. Fue un gran promotor de la industria química en nuestro país y un investigador nato, que dejó una profunda huella en sus discípulos de la Universidad Agraria, La Molina, y en la Facultad de Ciencias de San Marcos.

El Dr. Xorge Domínguez fue un químico mexicano, profesor-investigador en el Instituto Tecnológico de Monterrey, México, donde la Dra. Olga Lock obtuvo el grado de Maestría en Ciencias. El Dr. Domínguez ejerció una gran influencia sobre la especialidad, fitoquímica, que su discípula desarrollaría durante varias décadas en la Universidad Católica (PUCP).

En la segunda parte de su magistral exposición, la Dra. Olga Lock hizo una reseña sobre “Plantas andinas y amazónicas; una contribución a su conocimiento químico” (objeto de sus investigaciones). En el transcurso de su disertación fue mostrando las estructuras de muchas sustancias extraídas de plantas conocidas, en gran parte, por la medicina popular.

Los resultados de estos trabajos de investigación han sido publicados en diversas revistas dentro y fuera del Perú.

Desde esta Revista, donde se publicaron muchos de sus hallazgos, la Sociedad Química del Perú expresa sus más sinceras felicitaciones a la Dra. Olga Lock Sing, quien fuera, además, su presidenta por dos periodos (1996-2000).

#### **Curso - taller:**

**Buenas prácticas de laboratorio para el manejo seguro de sustancias y residuos químicos**, dictado por el Mg. Jorge E. Loayza Pérez, de la UNMSM, desarrollado durante los días 10,12,14 de agosto.

#### **X Jornadas de Bromatología y Nutrición**

Fueron organizadas por la Sociedad Química conjuntamente con la Unv. Nacional José Faustino Sánchez Carrión en la ciudad de Huacho, los días 25,26 y 27 de junio pasado.

A continuación se da un resumen de las principales conclusiones de las conferencias:

- El Lic. Humberto Carreño, de la UNJFSC, en u exposición sobre **Control de Calidad de Productos Alimenticios del Programa Vaso de Leche** insiste en la importancia de este control sobre las propiedades químicas, microbiológicas y sensoriales de aceptabilidad, de los productos utilizados en el programa del vaso de leche, para garantizar la calidad de estos alimentos destinados a disminuir los efectos de la desnutrición de la población beneficiaria (niños de 0 a 6 años, madres gestantes y en periodo de lactancia)
- El Dr. Alfonso Zavaleta de la UPCH, manifiesta sobre **La Hoja de Coca y La Nutrición** que las hojas de coca y su harina no proveen beneficios nutricionales significativos, pues contienen cocaína y otros alcaloides absorbibles (2 hepatotóxicos, 1 cardiotóxico y 1 inmunotóxico), potencialmente peligrosos.
- La Dra. Esperanza Torija Isasa, de España, asegura en **Los Compuestos Bioactivos y su Interés para la Salud** que el consumidor, actualmente exige alimentos de calidad y anda en búsqueda de la salud a través de la alimentación; sin embargo, los cambios que ocurren en nuestra sociedad están dando origen a enfermedades como; sobrepeso, obesidad, trastornos cardiovasculares, cáncer, osteoporosis, etc.; por ello es necesario conocer los alimentos y sus componentes con el fin de utilizarlos adecuadamente para prevenir estas enfermedades.
- La Dra. Fernández Giusti de la UNMSM con su conferencia **Polifenoles del Vino Tinto y efecto Cardiovascular** nos muestra el efecto cardiovascular del vino tinto gracias a sus compuestos polifenólicos de propiedades antiinflamatorias, antiagregantes plaquetarios, además del efecto vasodilatador y protector frente a la homocisteinemia. Así los flavonoles (quercetina y miricetina) capaces de neutralizar la acción deletérea de los radicales libres, sea donando protones o electrones o bien atrapéndolos y desplazándolos en su estructura.

**B. Otras informaciones**

- **XXIX Congreso Latinoamericano de Química.** Tendrá lugar en Cartagena de Indias, Colombia, del 27 de Setiembre al 1º de octubre del 2010. Estos congresos de la Federación Latinoamericana de Sociedades de Química tienen una frecuencia bianual. Mayor información en la secretaría de la SQP. Telf. 472-3925
- **El Comité Ejecutivo de la IUPAC** convoca a una reunión en Concepción, Chile para los días 3 y 4 de octubre del 2009, a los presidentes de las Sociedades Químicas de la región, para discutir los planes de celebración del Año Internacional de la Química, en el 2011.
- Felicitamos por el 47 aniversario de su fundación al **Capítulo de Ingeniería Química del CIP**, en la persona de su presidente Ing. Víctor Ramírez Fernández.
- **La Academia Peruana de Salud (APS)** fundada en 1993, acaba de editar los 22 tomos de la obra “Historia de la Salud en el Perú”  
En su preparación participaron 205 autores nacionales y 9 años de investigación. Estamos seguros, dada la calidad de sus autores, que una obra de esta magnitud constituirá un documento valiosísimo en cualquier biblioteca de los profesionales de la salud.  
Para mayor información dirigirse a: Telf. Fax: (511) 470-3798  
Correo electrónico: [aps1993@speedy.com.pe](mailto:aps1993@speedy.com.pe)

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