

ISSN 1810-634X

# REVISTA de la SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ

REVISTA TRIMESTRAL

VOLUMEN 84 N° 1  
ENERO - MARZO - 2018



INSTITUCIÓN CIENTÍFICA FUNDADA EN 1933

LIMA, PERÚ



**REVISTA**  
**de la**  
**SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ**

**(Rev Soc Quím Perú)**

**ISSN 1810 - 634X**

**Revista Trimestral**

**Comité Editor**

**Presidenta** : Ana María Muñoz Jáuregui  
**Editor en Jefe** : Ana Cecilia Valderrama Negrón  
**Miembros** : Julio Santiago Contreras  
Lisveth Flores Del Pino  
Julio Reynaldo Ruiz Quiroz

**Comité Consultivo**

Caramantin Soriano, María  
**Universidad de Talca, Chile**  
Dávalos Prado, Juan  
**Consejo Superior de Investigaciones  
Científicas de España**  
Calvo Buendía, Eduardo  
**Univ. Nac. Mayor de San Marcos – Perú**  
Guija Poma, Emilio  
**Universidad Científica del Sur – Perú**  
Muñoz Jáuregui, Ana  
**Universidad San Ignacio de Loyola**  
Lock Sing, Olga  
**Pontificia Universidad Católica del Perú**  
Santiago Contreras, Julio  
**Univ. Nac. Mayor de San Marcos – Perú**  
Valderrama Negrón, Ana  
**Univ. Nac. de Ingeniería, Perú**  
De La Cruz Azabache, Mario  
**Univ. Nac. de Ingeniería, Perú**

Picasso Escobar, Gino  
**Univ. Nac. de Ingeniería, Perú**  
Rueda Sánchez, Juan Carlos  
**Pontificia Universidad Católica del Perú**  
Rabinovich Jaitin, Daniel  
**University of North Carolina – USA**  
Sun Kou, María del Rosario  
**Dpto. Ciencias, Sec. Química PUCP**  
Gutiérrez Correa, Marcel  
**Univ. Nac. Agraria La Molina – Perú**  
La Rosa-Toro Gómez, Adolfo  
**Univ. Nac. de Ingeniería, Perú**  
Alarcón Cavero, Hugo  
**Univ. Nac. de Ingeniería - Perú**  
Maza Mejía, Ily  
**Univ. Nac. de Ingeniería, Perú**  
Gamboa Fuentes, Nadia  
**Pontificia Universidad Católica del Perú**

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

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

Casilla Postal 14-0576 – Lima 14 Perú

Teléfono (511) 472-3925

e-mail: [sqperu@gmail.com](mailto:sqperu@gmail.com)

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

**Ley 26905 – Hecho el depósito legal a la Biblioteca Nacional del Perú**

**Certificado N° 95-1567**

---

**Vol 84**

**ENERO - MARZO 2018**

**N° 1**

En el Perú: N° suelto S/.15

Suscripción anual: S/. 60.00

En el extranjero: Suscripción anual: \$50.00



**CONTENIDO**  
**(Vol. 84 – N° 1 – 2018)**

<b>Editorial</b> .....	1
<b>Trabajos Originales</b>	
- Caracterización de nanopartículas de ZnO sintetizadas por el método de precipitación y su evaluación en la incorporación en pinturas esmalte, por Pablo Aquino, Ana María Osorio, Efraín Ninán· Fernando Torres	5
- Remoción de colorantes azoicos rojo allura (rojo 40) mediante el uso de perlas de quitosano magnetizadas en medio acuoso, por Fátima Amanda Santillán Espinozaa, Ily Marilú Maza Mejía	18
- Determinación de micotoxinas por el método de elisa en soya para aves en producción en la provincia de Chíncha, año 2016, por Agustín Guerrero Canelo, Juan Parreño Tipian	27
- Desinfección del efluente secundario de la planta de agua residual de Ayacucho con radiación ultravioleta para su reutilización en riego agrícola, por Raúl Ricardo Véliz Flores, Edgar Gregorio Aronés Medina, Ybar Gustavo Palomino Malpartida, Rudecindo Huincho Rodríguez	41
- Determinación de ultratrazas de cadmio (II) por técnicas voltamétricas con electrodo de carbón vítreo modificado con película de bismuto, por Hugo Ítalo Romero Bonillaa, Jazmín Carolina Chiriboga Cabrera, Alisson Paola Siguenza Balladares	57
- Influencia de las zonas de crecimiento en la composición físico química del fruto de <i>Solanum betaceum</i> cav., por Arturo A. Navarro Huaynates, Deysi Guzmán Loayza, Enrique Gonzales Mora	68
- Identificación de los sitios de unión del plomo en la superficie del adsorbente de residuos de pelos de la industria curtiembre, por Carmen Carola Palomino Amorín, Lena Tellez Monzon, Lizardo Visitación Figueroa	77
- Synthesis of Ni-Cu catalysts by impregnation to obtain carbon nanofibers by catalytic decomposition of methane, por Jonathan Almirón Baca, Hermann Alcázar Rojas, Rossibel Churata Añasco, María Vargas Vilca, Leopoldo Alcázar Rojas, Fabiana Fim	91
- Efecto del consumo de una bebida a base de <i>Physalis peruviana</i> , <i>Passiflora edulis</i> , <i>Ananas comosus</i> , <i>Avena sativa</i> , <i>Linum usitatissimum</i> y <i>Stevia rebaudiana</i> , sobre el perfil lipídico y glicemia, de mujeres con sobrepeso y obesidad por Claudia M. Dolores, Elena R. Benavides, Óscar O. Osso	107
- Obtención de extractos de hojas de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana) inducidos por su efecto inhibidor de la corrosión, por Abel Vergara Sotomayor, Karín Páucar Cuba, Carlos Morales Comettant, Olivio Castro Mandujano, Pedro Pizarro Solís, José Díaz Rosado	119
- Estudio de monocapas de bromuros alquílicos en superficies hidrogenadas de silicio (100), por Yris Del Pilar Obregón Rodríguez, César R. Mayor Sánchez	133
- Síntesis de hidrogeles conmutables a partir de N-isopropilacrilamida, macromonómeros de 2-Oxazolininas y laponita, por Juan Carlos Rueda, María Malásquez, Lesly Lagos, Hartmut Komber, Stefan Zschoche, Brigitte Voit	142
- Efecto del tipo de agente de pelado, tiempo de cocción y contenido de humedad en la calidad de snacks fritos de maíz blanco gigante ( <i>Zea mays</i> ) Geimy I. Boluarte Alarcón, Cecilia P. Dionisio Fernández, y Fausto H. Cisneros	156
<b>Informaciones</b>	172

**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.

La Revista, en formato impreso o electrónico, está dividida en las siguientes secciones: artículos de investigación, comunicaciones cortas, cartas al editor, artículos de revisión, enseñanza de la química y divulgación.

Los trabajos son recibidos por el Comité Editorial, quien revisará cumplan con las "Instrucciones para los autores", la ortografía y redacción (incluida la puntuación). A continuación pasa a la Comisión de Publicaciones y Árbitros para que se pronuncien sobre el contenido científico. Si existen observaciones se comunicará al autor corresponsal para que se proceda a levantar dichas observaciones.

**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 entre 10 a 15 páginas a espacio y medio.

**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 referidos 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. 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.

**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.

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 corresponsal se realizarán vía correo electrónico. El autor corresponsal deberá responder los correos electrónicos en el plazo que se señale.

Los autores enviarán sus artículos impresos y en formato electrónico (disco compacto o al correo electrónico [sqperu@gmail.com](mailto:sqperu@gmail.com)) a la Comisión de Publicaciones, junto con una carta dirigida al editor y abonarán 30 soles por concepto de gastos administrativos, como adelanto del pago de la publicación, no reembolsables.

La publicación de cada trabajo está sujeta al pago de las siguientes sumas:

Cuando todos los autores son socios: S/. 120,00

Cuando todos los autores no son socios: S/. 200,00

Si entre los autores hay socios y no socios: S/. 150,00

Si los autores residen en el extranjero US \$ 110,00

Cuando el número de autores es superior a 3 se añadirá, además, S/. 30,00 por cada autor en exceso.

Si el trabajo es enviado del extranjero, será US \$ 15,00 más por cada autor en exceso.

Por exceso de correcciones de estilo se cobrará después de la segunda, un mínimo de S/. 30,00.

Si alguna parte del trabajo, y a pedido de los autores, necesitara ser impreso a color, asumirán el 100 % del exceso del costo señalado por la imprenta.

The publication of each work is subject to payment of the following ones:

When all the authors are partners of the Peruvian Chemical Society: S/. 120,00

When all the authors are not partners: S/. 200,00

If among the authors there are partners and non partners: S/. 150,00

If the authors reside abroad US \$ 110,00

When the number of authors is superior at 3 it will be paid, also, US \$ 15,00 for each author in excess.

## Formato para los artículos

Baje la plantilla de artículo. Los autores pueden solicitar la plantilla de artículo al correo electrónico [sqperu@gmail.com](mailto:sqperu@gmail.com)

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 3cm. Espacio 1½, 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”). Los decimales deben llevar coma.
2. Los idiomas de publicación son español e inglés.
3. El título del trabajo, que debe ser **breve y claro**, en español y en inglés (este último antes del abstract) se escribe con tamaño de fuente 16, centrado y en negritas. Los nombres completos de los autores aparecerán a continuación con tamaño de fuente 12, el autor corresponsal se identificará con un asterisco. Las instituciones de la cual proceden los autores se escriben con tamaño de fuente 10 e irán a pie de página, donde también sólo el autor corresponsal colocará su correo electrónico 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. Tanto Palabras clave como Key words se escriben a la izquierda del texto, con 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 de género y especie van en cursiva (itálica).
6. El caso de artículos originales y comunicaciones cortas, el texto debe contener las siguientes secciones: Introducción, Parte Experimental, Resultados y Discusión, Conclusiones, Agradecimientos, Referencias. Éstas se escriben con tamaño de fuente 14, en negritas y centradas. 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 que una página A4, tienen numeración arábica seguido de punto. A continuación se coloca la leyenda que explique su significado. La numeración y leyenda en una tabla, cuyo formato debe ser básico 1, se colocan en la parte superior a diferencia de las figuras y los esquemas que se ubican en la parte inferior. Las figuras deben ser originales y de alta resolución.
8. Las tablas, fotos, figuras y esquemas deben estar incluidos en el documento de Microsoft Word.
9. Las referencias, se citan en el texto correlativamente como superíndice. El número de estas referencias no debe ser excesivo. Deberían fluctuar entre 7 y 15. La sección Referencias se escribe con tamaño de fuente 14, centrado y **en negrita**. Las abreviaturas de la revistas se escribirán según el Chemical Abstracts Service Source Index (<http://www.cas.org/sent.html>) y *List of Journals Indexed in Index Medicus*, (<http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lsiou.html>) Las referencias citadas se escribirán con el tamaño de fuente 10 y se seguirá el estilo de Vancouver.



## Editorial

### CINCUENTA AÑOS DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE QUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA

La oportunidad en la que cumplimos 50 años de vida institucional, es también la oportunidad de dar una mirada retrospectiva para revisar cuánto hemos avanzado. Con la fundación de la Escuela Profesional de Química (E.P. Química), la Universidad Nacional de Ingeniería integró finalmente las Ciencias en una sola Facultad.

La especialidad de Química se creó a propuesta de la Dra. Lucía Pozzi-Escot de Herold, el 5 de enero de 1968, como sección de Química de la ex Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas de la UNI, iniciando su primer periodo de clases durante el Primer Semestre de 1969.

Estas gestiones fueron complementadas con el oficio de fecha 30 de enero de 1969, que el Ing. Hernán Sánchez Tregar, Decano de la Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, dirigió al Arq. Santiago Agurto Calvo, Rector de la UNI, solicitando autorización para que la Facultad extienda el Grado Académico de Bachiller y el Título Profesional de Químico, respectivamente.

Los primeros egresados de la Especialidad de Química fueron los estudiantes José Soriano Francia (1974-2), José Hidalgo Rodríguez (1975-1), Otilia Acha de la Cruz (1975-2), Víctor Reyna Pinedo (1975-2) y Julio Sierra Vargas (1977-1).

El camino al desarrollo no ha sido fácil, ahora tampoco lo es, la nuestra no es una especialidad de las que atraen ejércitos de postulantes, y así es en todas las especialidades de las ciencias, razón para hacer esfuerzos para difundir los objetivos de la formación en Química a través de charlas vocacionales, jornadas en las que estudiantes y docentes se movilizan a los colegios de la zona y se esfuerzan en hacer visible la importancia de la Química en el complejo mundo de hoy y así lo siguen haciendo desde hace algunos años.

Han pasado 50 años, muchos docentes y estudiantes pasaron por nuestras aulas, cada uno dejó algo en particular, no podríamos nombrar a algunos sin dejar de nombrar a otros, porque todos, de alguna manera, con sus iniciativas, optimismo, entrega y compromiso hicieron avanzar en lo que hoy se ha convertido nuestra Escuela. Hoy podemos decir que contamos con una masa crítica de doctores de primer nivel, quienes son el motor que impulsa el desarrollo de las especialidades, contamos con un número de laboratorios de investigación adecuadamente implementados con los que se ha podido sentar las bases de los programas de maestría y doctorado, de tal modo que se ha podido ganar becas FONDECYT con las que se financian los estudios de más de 30 becados. Los convenios con universidades de prestigio han permitido movilizar estudiantes y profesores para estudios de posgrados. Los proyectos de investigación básica y aplicada financiados por FONDECYT e INNOVA han inyectado fondos para implementar los laboratorios y el contrato de docentes de universidades de

prestigio. El proyecto “100000 strong in the Americas” firmado con la UCF-USA, permitirá, el presente año, movilizar a los mejores estudiantes del pregrado para su internalización y tener la oportunidad de seguir estudios de posgrado. Creo que la Escuela Profesional de Química ha sabido aprovechar las oportunidades que tuvo para lograr su desarrollo y estoy seguro que lo seguirá haciendo por la calidad y compromiso de sus docentes, de tal modo que el estudiante, que hoy estudia en nuestra Escuela, puede estar seguro que recibirá una excelente formación científica en la especialidad de Química y así su futuro está asegurado.

**Dr. Adolfo La Rosa-Toro Gómez Pinedo**

Director de la E.P. Química de la UNI

**Dr. Víctor M. Reyna**

Profesor Principal E.P.Q.





## CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ZnO SINTETIZADAS POR EL MÉTODO DE PRECIPITACIÓN Y SU EVALUACIÓN EN LA INCORPORACIÓN EN PINTURAS ESMALTE

Pablo Aquino<sup>a</sup>, Ana María Osorio, Efraín Ninán<sup>a</sup>, Fernando Torres<sup>b</sup>

### RESUMEN

El objetivo del presente estudio consiste en determinar con diversas técnicas experimentales, como TEM, XRD y DLS, el tamaño, la morfología y algunas características propias de las nanopartículas de ZnO sintetizadas por el método de la precipitación. Las nanopartículas sintetizadas fueron incorporadas en muestras de pintura esmalte y su evaluación por FTIR y GIXRD determinaron que existe compatibilidad entre ambos materiales. Además, se evaluó la resistencia a la degradación y el comportamiento de curado del composito a través de ensayos térmicos, como TGA y DSC.

**Palabras clave:** Caracterización nanopartículas ZnO, síntesis nanopartículas de ZnO por el método de precipitación, evaluación compatibilidad NPs-ZnO con pintura esmalte.

## CHARACTERIZATION OF ZnO NANOPARTICLES SYNTHESIZED BY PRECIPITATION METHOD AND ITS EVALUATION IN THE INCORPORATION IN ENAMEL PAINTS

### ABSTRACT

The objective of the present study is to determine the size, morphology and some characteristics of the ZnO nanoparticles synthesized by precipitation method using various experimental techniques, such as TEM, XRD and DLS. The synthesized nanoparticles were incorporated in samples of enamel paint and their evaluation by FTIR and GIXRD determined that there is compatibility with both materials. Also the degradation resistance and curing behavior of the composite were evaluated through thermal tests, such as TGA and DSC.

**Key words:** Characterization of ZnO nanoparticles, synthesis of ZnO nanoparticles by precipitation method, evaluation NPs-ZnO compatibility with enamel paint.

---

<sup>a</sup> Laboratorio de Nanotecnología e Innovación Tecnológica de la FQIQ - UNMSM 140291pablo@gmail.com

<sup>b</sup> Laboratorio de Polímeros y Bionanomateriales de la sección de Ingeniería Mecánica - PUCP

## INTRODUCCIÓN

Las pinturas anticorrosivas representan una barrera de protección de materiales como los metales frente a casos de corrosión. La baja durabilidad, y disminución del efecto anticorrosivo generan grandes pérdidas económicas en los sectores involucrados, pero si bien el proceso de corrosión es inevitable al ser un proceso natural, lo que se pretende es controlar su velocidad, a partir de compuestos a nivel nanométrico que permitan retrasar su efecto en el material<sup>1</sup>.

La aplicación de las nanopartículas a los recubrimientos ha sido objeto de estudios dirigidos a la producción de pinturas con diferente composición química y con diferentes aplicaciones<sup>2</sup>.

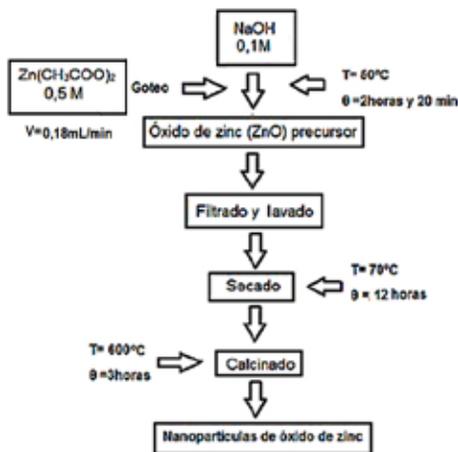
Las nanopartículas de óxido de zinc (NPs-ZnO) pueden presentar diferentes comportamientos a causa de una mayor energía y área superficial, así como una banda prohibida,  $E_g^3$ , variable. Esta última propiedad permite las aplicaciones en diferentes áreas como optoelectrónica, cosméticos, textil<sup>4</sup>, catalizadores, cerámicos, películas finas<sup>5</sup>, sensores de gas, aditivos de caucho, pigmentos<sup>6</sup>, transistores y transductores<sup>7</sup>.

En la literatura encontramos varios métodos adaptados para la preparación de NPs-ZnO como el método sol-gel<sup>8</sup>, síntesis por precipitación<sup>9-12</sup>, la síntesis química húmeda y química verde<sup>13</sup>, método hidrotermal<sup>14</sup>, entre otros.

En los trabajos mencionados<sup>8-12</sup> se emplean técnicas variadas de caracterización de NPs-ZnO como DR-X, UV-Visible, IR-TF, TEM, SEM, entre otros, para la determinación de la cristalización, tamaño y morfología. Por otro lado, la incorporación de NPs-ZnO en diversos tipos de pinturas está cobrando mucho interés por las propiedades mejoradas respecto a las convencionales<sup>15</sup>. Por otro lado la resistencia a la degradación térmica y el comportamiento de curado son realizados a través de ensayos térmicos, como TGA y DSC.

## PARTE EXPERIMENTAL

En este trabajo se ha realizado la síntesis de NPs-ZnO a través del método de precipitación, empleando como precursor  $Zn(CH_3COO)_2$  (q.p), en medio acuoso a una temperatura de reacción de 50°C. El proceso de síntesis se realizó por goteo de la solución de  $Zn(CH_3COO)_2$  en una solución de NaOH por un tiempo de 2 horas y 20 minutos. Luego se procedió a la filtración y calcinación como se muestra en el esquema 1.



Esquema 1. Procedimiento sintético de las NPs-ZnO

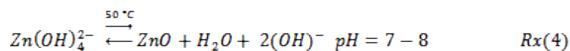
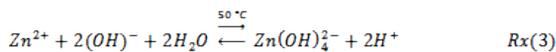
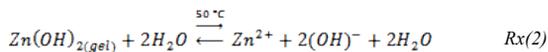
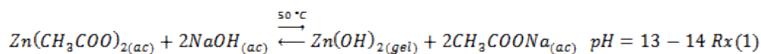
Después del proceso de síntesis se obtuvo un rendimiento de reacción de 64 %. La caracterización del grado de cristalización de las NPs-ZnO fue por difracción de rayos X (XRD), el tamaño por dispersión dinámica de Luz (DLS), el tamaño y morfología simultáneamente fue realizada por microscopía electrónica de transmisión (TEM).

La incorporación de las NPs-ZnO en la pintura esmalte fueron en porcentajes de 0,1 a 5,0%w y se caracterizaron por espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR) y difracción de rayos X de incidencia rasante (GIXRD). Además se realizaron ensayos térmicos para evaluar la resistencia a la degradación térmica y su comportamiento de curado por análisis termogravimétrico (TGA) y calorimetría diferencial de barrido (DSC), respectivamente.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Síntesis de las nanopartículas de óxido de zinc

En el esquema 2 se muestran las reacciones de la síntesis de las NPs-ZnO, la cual se llevó a cabo siguiendo el mecanismo de precipitación, que fueron reportado por Wu C.<sup>15</sup> quien explica que el  $Zn(CH_3COO)_2$  puede convertirse en  $Zn(OH)_2$  coloidal bajo una solución alcalina (pH=13-14), como se muestra en la reacción (1). Durante el proceso hidrotermal, parte del  $Zn(OH)_2$  coloidal se disocia a  $Zn^{2+}$  y  $OH^-$  de acorde a la reacción (3). Cuando la concentración de  $Zn^{2+}$  y  $OH^-$  alcanzan el grado de súper saturación, se forman núcleos de ZnO de acuerdo a la reacción (4).

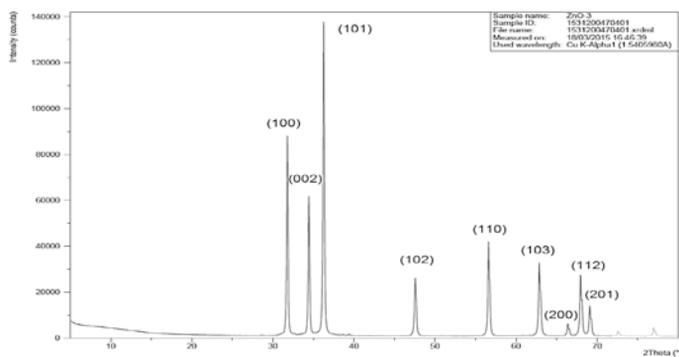


**Esquema 2.** Etapas de síntesis de NPs-ZnO por el método de precipitación<sup>15</sup>

## Caracterización de las nanopartículas de óxido de zinc

### Difracción de Rayos-X (XRD)

La figura 1 muestra el espectro de difracción de rayos X de las NPs-ZnO. El espectro muestra picos bien definidos a  $2\theta = 31^\circ, 34^\circ, 36^\circ, 48^\circ, 56^\circ, 63^\circ$  y  $68^\circ$ , respectivamente, que eran debido a las difracciones de los planos (100), (002), (101), (102), (110), (103) y (112) típico de ZnO en la estructura cristalina tipo Wurtzita. El tamaño medio del cristalito de ZnO se muestra en la tabla 1, el cual se estimó por comparación tomando dos de los máximos picos de difracción de un patrón de  $\text{LaB}_6$  y de acuerdo con la ecuación de Scherrer, el tamaño del cristalito se encuentra entre 72 y 81 nm aplicado a los picos principales  $37,48^\circ$  y  $30,42^\circ$ , respectivamente.



**Figura 1.** Difractograma de rayos X de las NPs-ZnO

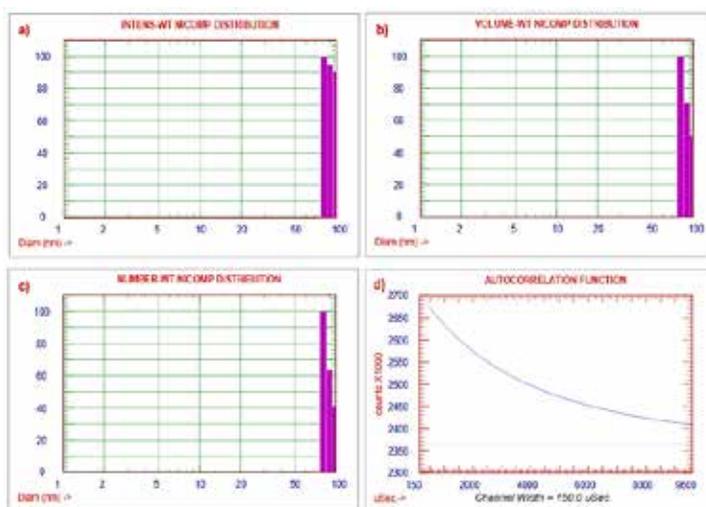
**Tabla 1.** Tamaño de los cristalitos de ZnO

Muestra	B obs. [ $^{\circ}2\theta$ ]	B std. [ $^{\circ}2\theta$ ]	Peak pos. [ $^{\circ}2\theta$ ]	B struct. [ $^{\circ}2\theta$ ]	Crystallite size[Å]
1531200470401	0.160	0.058	31.768	0.102	810
1531200470401	0.168	0.052	36.254	0.116	721
Estándar: NIST SRM660b, $\text{LaB}_6$ , picos a $30,42^\circ$ y $37,48^\circ$					

### Dispersión dinámica de luz (DLS)

El tamaño hidrodinámico de las NPs-ZnO se determinó utilizando analizador de tamaño de partícula DLS se muestran en la figura 2. El histograma de intensidad (figura 2a), volumen (figura 2b) y la distribución del número (figura 2c), muestran el tamaño de las nanopartículas que poseen un tamaño medio de  $88,3 \pm 0,62$  nm, tabla 2.

El histograma de la distribución de intensidad muestra el pico máximo de la aglomeración debido interacciones intermoleculares débiles, los cuales fue confirmada también por el histograma de distribución del volumen. La función de autocorrelación presenta una sola pendiente. Esta nos da información sobre la monodispersión que da la distribución que presentan las NPs-ZnO.



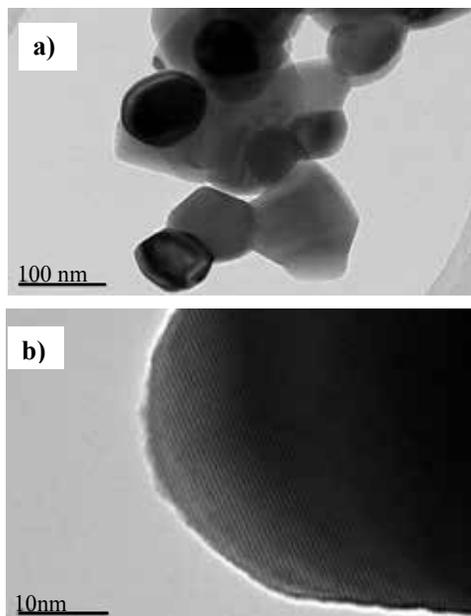
**Figura 2.** Histograma de la distribución del tamaño de partícula obtenida por DLS (a) distribución de la intensidad, (b) la distribución del volumen, (c) la distribución de número y (d) la función de correlación

**Tabla 2.** Tamaño hidrodinámico de las NPs-ZnO

Pico	Medida del Diámetro (nm)	Desviación Estándar (nm)	% Volumen
1	88,3	0,62	100

### Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)

En la micrografía TEM de las NPs-ZnO (figura 3a) se puede observar una distribución homogénea en la escala de medición de 100 nm<sup>11</sup>. Las nanopartículas presentan una morfología semi-hexagonal y una amplificación superior en la micrografía HR-TEM (figura 3b), es compatible con la naturaleza cristalina del ZnO nanopartícula en el plano basal de la estructura tipo wurtzita<sup>3,4</sup>. La distribución del tamaño de partícula se ha calculado mediante el análisis de la imagen TEM con un promedio tamaño de 90,4±10,6 nm<sup>9</sup>.



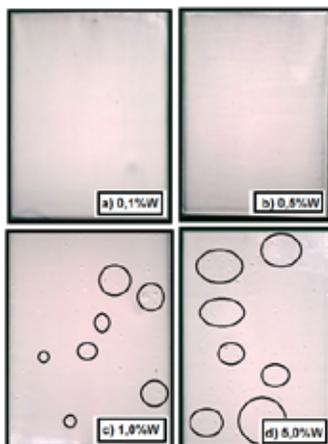
**Figura 3.** Imagen TEM de NPs-ZnO obtenidas por el método de precipitación (a) y de alta resolución de un plano de la estructura tipo wurtzita (b)

Las medición del tamaño de NPs-ZnO por DLS y por TEM, reportan tamaños similares, se puede decir que son técnicas que pueden emplearse para corroborar que el tamaño de los cristalitos obtenidos por el método de la precipitación nos permiten obtener nanopartículas, las cuáles debido a sus propiedades excepcionales pueden tener diversas aplicaciones. La variación del tamaño medidos por XRD (72-81 nm) no resulta muy precisa debido a la variación de las condiciones experimentales de medición, pero es muy valioso en la determinación del sistema de cristalización, tal como es en nuestro caso, las NPs-ZnO pertenecen al sistema cristalino hexagonal correspondiente a una estructura tipo wurtzita.

### Tratamiento e incorporación de las nanopartículas

Las NPs-ZnO se dispersaron en la matriz de la pintura esmalte en cantidades de 0,1; 0,5; 1,0 y 5,0%w como se muestra en la figura 4. Se llevó a cabo el análisis superficial de la

capa de pintura esmalte con y sin NPs-ZnO a través de fotografías y se ha observado que las nanopartículas en 0,1 y 0,5%w no efectuaron cambios significativos en la superficie de la capa de pintura, mientras que para 1,0 y 5,0%w, estas nanopartículas se aglomeran en la superficie. La coloración de la pintura no sufrió ningún cambio, ya que las partículas menores 100 nm pueden aumentar la transparencia de la película en la región de longitud de onda visible de luz.



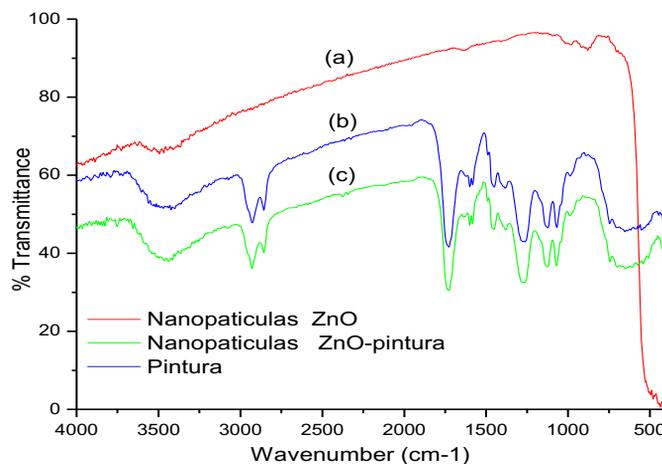
**Figura 4.** Análisis superficial de las capas de pintura esmalte con NPs-ZnO dispersadas en proporciones: a) 0,1%w, b) 0,5%w, c) 1,0%w y d) 5,0%w

#### **Evaluación la incorporación de las nanopartículas en la pintura esmalte por FT-IR**

Espectroscopia FT-IR se utilizó para evaluar si las nanopartículas se encuentran presente sobre la superficie de la película de pintura. La figura 5 muestra la superposición de espectros de las NPs-ZnO (a), de la pintura (b) y de una de las muestras 0,5% de NPs-ZnO en pintura (c).

En el espectro (a), el pico que se observa a partir de  $400\text{cm}^{-1}$  -  $500\text{cm}^{-1}$  es debido a vibraciones de las nanopartículas de Zn-O, mencionado anteriormente.

El espectro (b) de la pintura esmalte, al tener como componente principal a la resina alquídica, presentan una banda de absorción entre los  $3390$  -  $3232\text{cm}^{-1}$  que representa al grupo OH. Las bandas  $2927$  y  $2854\text{cm}^{-1}$ , corresponden a alcanos mientras que a  $1724\text{cm}^{-1}$  indica la presencia de ésteres (tensión C=O) y a  $1265\text{cm}^{-1}$  tensión C-O-C. La banda de adsorción entre  $550$ - $450\text{cm}^{-1}$  corresponde a los alcanos de cadena larga. Lo mismo se puede decir de las bandas de absorción del espectro del compuesto pintura-NPs-ZnO (c), pero existe una diferencia en el %T, debido a la dispersión homogénea de las nanopartículas sobre la matriz polimérica y la formación de interacciones intermoleculares entre los grupos carboxílicos de la resina alquídica y las NPs-ZnO.



**Figura 5.** Espectro FTIR del compuesto, NPs-ZnO dispersas en la pintura esmalte

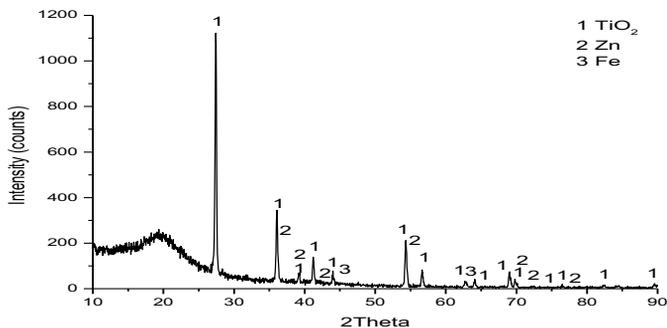
**Tabla 3.** Datos obtenidos del espectro de la pintura y pintura-NPs-ZnO

Pintura		Pintura-NPs ZnO	
Grupo Funcional	Wavenumber (cm <sup>-1</sup> )	Grupo Funcional	Wavenumber (cm <sup>-1</sup> )
(OH) <sup>-</sup>	3432	(OH) <sup>-</sup>	3448
alcanos	2927	alcanos	2927
	2854		2854
tensión C=O	1724	tensión C=O	1724
tensión C-O-C	1265	tensión C-O-C	1265
alcanos de cadena larga	516	alcanos de cadena larga	640
	466		470

### Evaluación por Difracción de Rayos X de Incidencia Rasante (GIXRD)

Con el fin de obtener una mejor comprensión de la estructura de la capa (pintura-NPs-ZnO) y ver si la incorporación de las nanopartículas se encuentra en la superficie de la capa, debajo o entre el soporte metálico y la capa de pintura, se realizaron estudios de difracción de incidencia rasante (GIXRD).

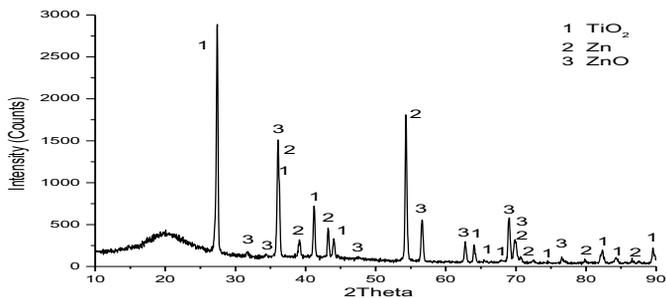
La figura 4 muestra el difractograma de la capa (pintura-0,5%wNps ZnO) a un ángulo de incidencia de  $\theta = 0^\circ$  y por análisis de fases, se observan los componentes de la pintura (tabla 6). Mientras que en la figura 7, a un ángulo de incidencia  $\theta = 5^\circ$ , se puede observar algunos picos característicos del ZnO (tabla 5), además de algunos componentes de la pintura y sustrato metálico<sup>16-18</sup>. De acuerdo a este estudio las nanopartículas de óxido de zinc se encuentran en la superficie de la película de pintura.



**Figura 6.** Difractograma por incidencia rasante de la capa (pintura-0,5%wNPs ZnO) a un ángulo de incidencia de 0°.

**Tabla 4.** Análisis de fases de Difracción de Rayos-X de Incidencia Rasante ( $\theta = 0^\circ$ ), de la capa (pintura-0,5%wNPs NPs ZnO)

Visible	Code	Ref. Code	Compound Name	Chemical Formula
*	1	01-072-1148	Rutile	Ti O <sub>2</sub>
*	2	03-065-3358	Zinc	Zn
*	3	00-006-0696	Iron <sub>2</sub> syn	Fe



**Figura 7.** Difractograma por incidencia rasante de la capa (pintura-0,5%wNPs NPs ZnO) a un ángulo de incidencia de 5°.

**Tabla 5.** Análisis de fases de Difracción de Rayos-X de Incidencia Rasante ( $\theta = 5^\circ$ ), de la capa (pintura-0,5%wNPs NPs ZnO)

Visible	Code	Ref. Code	Compound Name	Chemical Formula
*	1	01-072-1148	Rutile	Ti O <sub>2</sub>
*	2	03-065-3358	Zinc	Zn
*	3	01-070-2551	Zincite <sub>2</sub> syn	Zn O

### Ensayos térmicos del composito pintura-NPs-ZnO

Se evaluó la resistencia a la degradación térmica y el comportamiento de curado de los compositos pintura-0,1%wNPs-ZnO y pintura-0,5%wNPs-ZnO.

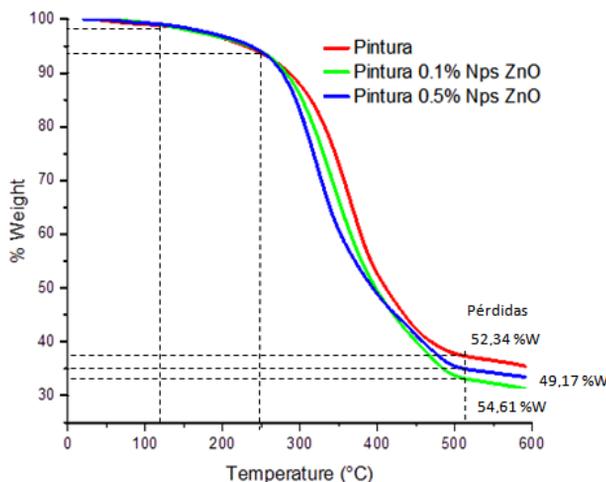
#### Análisis Termogravimétrico (TGA)

Se utilizó el análisis termogravimétrico (TGA) para examinar la estabilidad térmica de la pintura esmalte y de los compositos pintura-0,1%wNPs-ZnO y pintura-0,5%wNPs-ZnO. En la figura 8 se observa la curva termogravimétrica tomada de la pintura esmalte, el cual presenta una pérdida de peso inicial aproximadamente de 0,86 % a una temperatura entre 100-150°C, debido a la pérdida de humedad. En el caso de la pintura esmalte con 0,1 % y 0,5 %W de NPs-ZnO, los resultados indicaron pérdidas de humedad de 1,19 % y 0,84 %W, respectivamente.

Las segundas pérdidas de peso se llevaron a cabo en el intervalo de temperaturas entre 200 y 600 °C, donde la pérdida de peso después de 300° corresponde a la descomposición del polímero de la pintura esmalte.

En comparación con los compositos, la descomposición del polímero para pintura-0,1%-NPs-ZnO se mantiene similar, mientras que la descomposición del polímero se redujo en aproximadamente en 5,0 % para el caso de pintura-0,5%-NPs-ZnO, esta reducción está relacionada con la interacción fuerte en la interfaz de las NPs-ZnO y el material polimérico de la pintura<sup>19</sup>.

Las pérdidas totales para la pintura esmalte de 52,34%W, mientras 54,61%W y 49,17%W para los compositos con 0,1W% y 0,5%W de NPs-ZnO, respectivamente.



**Figura 8.** Análisis termogravimétrico (TGA) de pintura, pintura con 0,1%W NPs ZnO y pintura con 0,5%W NPs ZnO

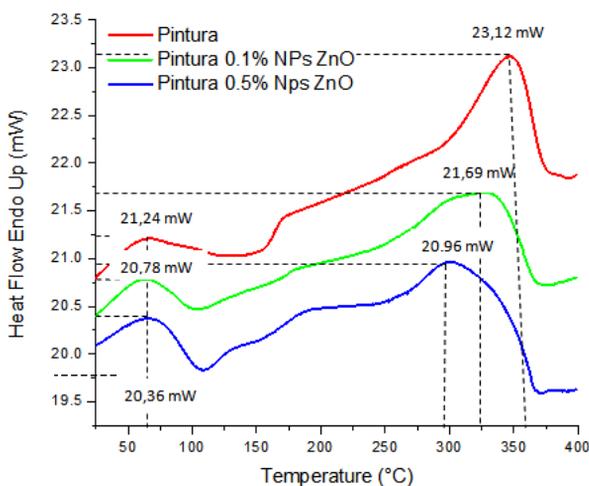
### Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

Se empleó calorimetría diferencia de barrido para estudiar el comportamiento de curado de la pintura esmalte y de los composites de pintura-0,1%NPs-ZnO y pintura-0,5%NPs-ZnO. Los termogramas DSC se muestran en la figura 9 y los valores de entalpía de curado de las muestras se observaron a partir de los diagramas DSC (tabla 6), donde los primeros picos endotérmicos, por debajo de 100 °C, están asociados a la evaporación del agua. Los picos que caen en el intervalo de temperatura de 250-350 °C están relacionados con la entalpía de curado<sup>20</sup>.

La entalpía de curado de la pintura esmalte disminuye de 23,12 mW a 21,69 mW y a 20,96 mW para los composites de pintura con 0,1%w y 0,5%w en NPs-ZnO, respectivamente. Esta disminución de la entalpía está relacionada con el impedimento estérico y las interacciones físicas entre revestimiento y nanopartículas que conducen a aumento de la viscosidad de la pintura antes del curado. También las nanopartículas pueden reducir la densidad de reticulación del revestimiento al afectar a su comportamiento de curado<sup>21</sup>.

**Tabla 6.** Valores de la entalpía de curado de la pintura esmalte con 0,0; 0,1; 0,5%W de NPs-ZnO obtenidas a partir termogramas de DSC.

Muestra	Pico 1	Pico 2
	Heat Flow (mW)	Heat Flow (mW)
0 NPs ZnO	21,24	23,12
0,1 % NPs ZnO	20,78	21,69
0,5 % NPs ZnO	20,36	20,96



**Figura 9.** Termograma de la pintura esmalte, pintura con 0,1%NPs ZnO y pintura con 0,5%NPs ZnO empleando calorimetría diferencial de barrido (DSC)

## CONCLUSIONES

- Se han sintetizado NPs-ZnO con un tamaño promedio de 90,4 nm, con diámetro hidrodinámico de 88,3 nm y estructura tipo wurtzita, a partir del método de precipitación, utilizando el acetato de zinc como precursor a 50°C con un rendimiento de 64 %.
- Las mezclas de pintura esmalte alquídica con NPs-ZnO al 0,1 % y 0,5 %w presentan mejor apariencia respecto a las formuladas con 1,0 y 5,0 %w de acuerdo al estudio de las fotografías.
- La evaluación de la incorporación NPs-ZnO se demostró en forma comparativa por la técnica instrumental FTIR, a través de la presencia de la banda entre 500 - 400 cm<sup>-1</sup>, que es debido al enlace Zn-O y a las bandas características de la resina alquídica de la pintura esmalte, que son compatibles, y determinan un sistema de dispersión estable. La evaluación por GIXRD indicó que las NPs-ZnO se encuentran en la superficie de la pintura.
- Los ensayos térmicos por TGA indicaron que se obtuvo una reducción de 0,4 % y 5,0 % en la descomposición del polímero de la pintura con 0,1 y 0,5 % de Nps-ZnO, respectivamente, originando un material de mayor resistencia a la descomposición térmica.
- Se redujo la entalpía de curado de la pintura esmalte en 6,20 y 9,40 % con adición de 0,1 y 0,5 % de NPs-ZnO, respectivamente, formulando así una pintura con mayor velocidad de secado, con respecto a la tradicional.

## AGRADECIMIENTO

A INNOVATE PERÚ, convenio N° 134-FINCYT-IA-2013, al Vicerrectorado de Investigación Proyecto CON-CON 150702031.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aguilar E, Rigal A. Evaluación de pinturas anticorrosivas de nanocompuestos a base de resinas epóxicas y nanoarcillas. [Tesis de maestría en Ingeniería Mecánica]. Guayaquil-Ecuador: Universidad de Quito; 2006.
2. Becheri A, Durr M, Lo Nostro P, Baglioni P. Synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles: application to textiles as UV-absorbers. *J Nanopart Res.* 2008; 10: 679–689.
3. Martinello B, Rodrigues L, Michael A. Síntesis de nanopartículas de ZnO por el proceso SOL-GEL. *Qualicer.* 2009; 12(1): 1-9.
4. Yadav A, Prasad V, Kathe AA, Raj S, Yadav D, et al. Functional finishing in cotton fabrics using zinc oxide nanoparticles. *Mater Sci.* 2006; 29: 641–645.
5. Pérez JA, Gallego JL, Roman WS, Riascos H. Películas nanoestructuradas de óxido de zinc (ZnO). *Scientia et Technica.* 2008; 39: 1-15.

6. Osama M, El Fekya, Hassanb EA, Fadelb SM, Hassanb ML. Use of ZnO nanoparticles for protecting oil paintings on paper support against dirt, fungal attack, and UV ageing. *J Cult Herit.* 2014; 15: 165-172.
7. Hingorani S, Pillai V, Kumar P, Multani MS, Shah DO. Microemulsion mediated synthesis of Zinc-oxide Nanoparticles for Varistor Studies. *Mat Res Bull.* 1993; 28: 1303-1310.
8. Omri K, Najeh I, Dhahri R, El Ghouli J, El Mir L. Effects of temperature on the optical and electrical properties of ZnO nanoparticles synthesized by sol-gel method. *Microelectron Eng.* 2014; 128: 53-58.
9. Wang L, Muhammed M. Synthesis of zinc oxide nanoparticles with controlled morphology. *J Mater Chem.* 1999; 9: 2871-2878.
10. Davood R. Synthesis and microstructural properties of ZnO nanoparticles prepared by precipitation method. *Renew Energ.* 2013; 50: 932-937.
11. Amrut SL, Satish JS, Raghurani SN, Ahn JS, Ramchandra BP. Low temperature dielectric studies of zinc oxide (ZnO) nanoparticles prepared by precipitation method. *Adv Powder Technol.* 2013; 24: 331-335.
12. Saleh R, Djaja NF. Transition-metal-doped ZnO nanoparticles: Synthesis, characterization and photocatalytic activity under UV light. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2014; 130: 581-590.
13. Raliya R, Tarafdar JC, Mahawar H, Rajesh K, Priya G, et al. ZnO nanoparticles induced exopolysaccharide production by *B. subtilis* strain JCT1 for arid soil applications. *Int J Biol Macromol.* 2014; 65: 362-368.
14. Maryanti E, Damayanti D, Gustian I, Salprima Y. Synthesis of ZnO nanoparticles by hydrothermal method in aqueous rinds extracts of *Sapindus rarak* DC. *Mater Lett.* 2014; 118: 96-98.
15. Wu C, Qiao X, Chen J, Wang H, Tan F. A novel chemical route to prepare ZnO nanoparticles. *Mater Lett.* 2006; 60 (15): 1828-1832.
16. Yuanfeng C, Yuguan P, Jiyue X, Guizhen S. Surficial phase-identification and structural profiles from weathered natural pyrites: A grazing-incidence X-ray diffraction study. *Appl Surf Sci.* 2009; 255: 4066-4073.
17. Gilles R, Rémi L, Leroy F. Probing surface and interface morphology with Grazing Incidence Small Angle X-Ray Scattering. *Surf Sci Rep.* 2009; 64: 255-380.
18. Tuilier MH, Pac1 MJ, Anokhin DV, Ivanov DA, Rousselot C, Thiaudière D. Nano-structured titanium and aluminium nitride coatings: study by grazing incidence X-ray diffraction and anomalous X-ray absorption and diffraction. *Thin Solid Films.* 2012; 1: 1-12.
19. Mostafaei A, Nasirpouri F. Epoxy/polyaniline -ZnO nanorods hybrid nanocomposite coatings: Synthesis, characterization and corrosion protection performance of conducting paints. *Prog Org Coat.* 2014; 77: 146-159.
20. Ramezanzadeh B, Attar MM, Farzam M. A study on the anticorrosion performance of the epoxy-polyamide nanocomposites containing ZnO nanoparticles. *Prog Org Coat.* 2011; 72: 410-422.
21. Hongwei S, Fuchun L, Enhou H, Yinghua W. Effects of Nano Pigments on the Corrosion Resistance of Alkyd Coating. *J Mater Sci Technol.* 2007; 23: 551-558.

## **REMOCIÓN DE COLORANTES AZOICOS ROJO ALLURA (ROJO 40) MEDIANTE EL USO DE PERLAS DE QUITOSANO MAGNETIZADAS EN MEDIO ACUOSO**

Fátima Amanda Santillán Espinozaa, Ily Marilú Maza Mejía\*<sup>a</sup>

### **RESUMEN**

En este estudio se evaluó el uso de perlas de quitosano magnetizadas en la remoción de colorantes azoicos de la industria textil y alimentarias (Rojo Allura) tomando en cuenta factores como el pH, concentración del colorante y cantidad de perlas magnetizadas. Para la obtención de las perlas se utilizó quitosano al 2 %, glutaraldehído y magnetita (previamente sintetizada mediante un proceso de hidrólisis oxidativa), posteriormente se caracterizaron las perlas y la magnetita mediante espectroscopía infrarroja y microscopía electrónica de barrido.

**Palabras clave:** remoción, colorantes, quitosano, magnetita.

## **REMOVAL OF AZO DYES ALLURA RED (RED 40) BY USING MAGNETIC CHITOSAN BEADS IN AQUEOUS MEDIUM**

### **ABSTRACT**

In this study it was evaluated the use of magnetic chitosan beads in removal of textile and food azo dyes (Allura Red) taking into account some factors such as pH, the concentration of the dye and the mass of beads. To obtain the beads it was used chitosan 2 %, glutaraldehyde and magnetite (previously synthesized by hydrolysis oxidative), after that the beads and magnetite were characterized by infrared spectroscopy and scanning electron microscopy.

**Key words:** removal, dyes, chitosan, magnetite.

### **INTRODUCCIÓN**

En los últimos tiempos la calidad del agua ha sido un factor determinante del bienestar humano. El uso del agua contaminada ha afectado a millones de ciudadanos ya que pese a los grandes problemas que causa, gran parte de ellos se ven obligados a usarla ya sea para beber o para otros fines.

---

\*<sup>a</sup> Facultad de Ciencias, Escuela de Química, Universidad Nacional de Ingeniería Av. Túpac Amaru 210, Lima 25, Perú, [ilyuni2002@yahoo.com](mailto:ilyuni2002@yahoo.com).

Aunque todavía hay epidemias de enfermedades bacterianas y virales causadas por agentes infecciosos transportados en el agua, la mayor preocupación en la actualidad es la presencia potencial de contaminantes químicos, entre los cuales encontramos a productos químicos orgánicos e inorgánicos, y metales pesados, procedentes de los diferentes tipos de industrias.<sup>1</sup>

La industria textil es una de las más importantes en el Perú, sin embargo, es una de las industrias con mayor consumo de agua y las aguas generadas a partir de ella contienen una gran cantidad de contaminantes, entre ellos los colorantes; los cuales son altamente resistentes incluso a la degradación microbiana, y es por ello que el uso de los tratamientos convencionales para su eliminación no es efectivo.<sup>2</sup>

Se ha encontrado que los colorantes azoicos como el Rojo Allura (*Rojo 40*) son causantes de reacciones alérgicas y de las alteraciones en el índice de hiperactividad en los niños, por lo cual es importante la propuesta de una alternativa para lidiar con ellos.<sup>3</sup>

Diversos estudios muestran que el quitosano entrecruzado presenta una gran eficiencia para remover colorantes en medios acuosos<sup>4-6</sup>. En este trabajo se desarrolló perlas de quitosano entrecruzadas y magnetizadas para aumentar tanto el porcentaje de remoción de colorantes como la fácil recuperación y no dejar productos secundarios después del proceso como otros tratamientos e incluso se propone la reutilización del material adsorbente. En resumen, este material presenta las ventajas de ser reusable, económico, estable y no tóxico al ambiente.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Síntesis de magnetita<sup>7</sup>

Se preparó una solución KOH y KNO<sub>3</sub> 7:1 (w/w), la cual se hizo gotear sobre la solución ferrosa de FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0,51 M y se dejó mezclando durante 30-60 minutos bajo atmósfera inerte de nitrógeno y en un baño María a 90°C; luego se dejó enfriar para ser centrifugado y lavar el precipitado obtenido, finalmente se secó a temperatura ambiente.

### Obtención de perlas de quitosano magnetizadas<sup>8</sup> (PQM)

Se utilizó magnetita dispersada en una solución de quitosano 2 % y ácido acético 1 % utilizando un ultrasonido durante 30 minutos, esta solución obtenida se hizo gotear en NaOH 2M, obteniéndose así las perlas de quitosano magnetizadas, las cuales fueron filtradas y lavadas. Estas perlas se dispersaron en una solución de acetona-agua 2:1 y se añadió glutaraldehído al 25 % para finalmente obtener las perlas de quitosano magnetizadas entrecruzadas, que se lavaron con acetona.

### Caracterización de magnetitas y perlas de quitosano magnetizadas<sup>9</sup>

Se utilizaron las técnicas de espectroscopía infrarroja y microscopía electrónica de barrido (SEM). En el caso de la espectroscopía infrarroja se realizó mediante dos métodos: reflectancia total atenuada (ATR) y reflectancia total difusa (DRS), esta última para una adecuada caracterización de magnetita, trabajándose ambas en un rango de 4000-400 cm<sup>-1</sup>. Para

la investigación de la morfología de la magnetita y perlas se aplicó una película conductora a la superficie de cada muestra y se operó con el equipo SEM Zeiss EVO MA 10.

### **Aplicación de perlas de quitosano magnetizadas (PQM) a los colorantes<sup>10</sup>**

Para la determinación del pH óptimo se utilizaron soluciones de colorante de 40 mg/L en un rango de pH de 2 a 10; a las cuales se le agregó 30 mg de PQM y se dejó agitando por 24 h, después se midió la absorbancia inicial y final de cada sorción ( $\lambda = 505,5$  nm) mediante curva de calibración de 2,5-20 mg/L utilizando un espectrofotómetro UV-Vis UV1800 Shimadzu.

Se trabajó con soluciones del colorante a concentraciones de 20, 50, 100, 150, 300 y 600 mg/L para determinar la concentración adecuada del colorante en la remoción con PQM, a estas soluciones se le agregó 30 mg de PQM y se dejó agitando 24 h.

Para determinar la cantidad adecuada de PQM la remoción se trabajó con una solución de colorante de 40 mg/L y se agregó 10, 20, 40 y 80 mg de PQM y se dejó agitando 24 h.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La magnetita, obtenida mediante un proceso de hidrólisis oxidativa, no pierde sus propiedades magnéticas al momento de mezclarse con el quitosano para la obtención de las perlas de quitosano magnetizadas (figura 1).



**Figura 1.** Magnetita sintetizada (izquierda), perlas de quitosano magnetizadas obtenidas (derecha).

### Espectroscopía infrarroja

Con la técnica de reflectancia difusa (DRS) se determinó las vibraciones de estiramiento y torsión de Fe-O ( $586$  y  $416$   $\text{cm}^{-1}$ ) correspondiente a la magnetita según la bibliografía<sup>9</sup> como se puede apreciar en la figura 2.

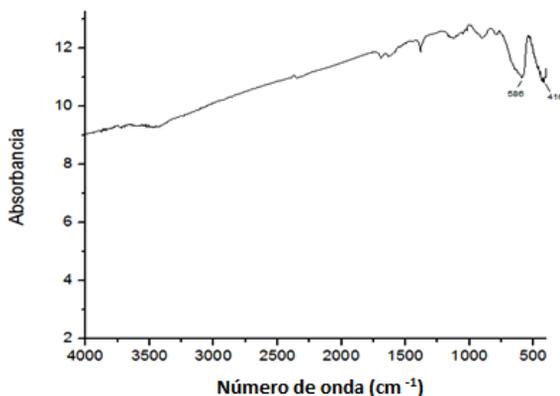


Figura 2. Espectro infrarrojo (DRS) de la magnetita sintetizada.

Mediante la técnica de reflectancia total atenuada (ATR) se obtuvieron los espectros que pueden apreciarse en la figura 3, donde aparecen los principales grupos funcionales del quitosano<sup>11</sup> (tabla 1) y la presencia de algunos de ellos de forma similar en las perlas de quitosano magnetizadas (tabla 2).

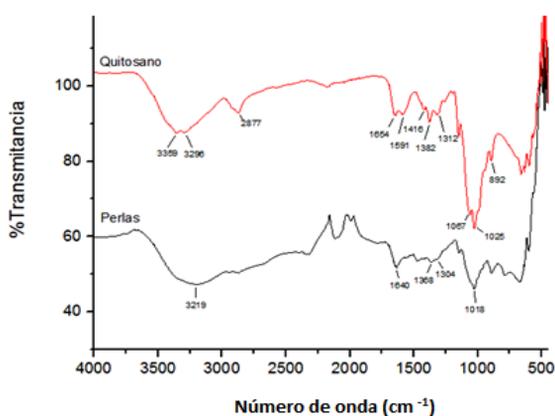


Figura 3. Espectros infrarrojos (ATR) de quitosano y perlas de quitosano magnetizadas (PQM).

**Tabla 1.** Grupos funcionales característicos para el quitosano

Nº	Grupo Funcional	cm <sup>-1</sup>	Intensidad
1	Grupo -OH	3359	V
2	Grupo -NH	3296	V
3	Grupo -CH	2877	F
4	Grupo Amida primaria	1654	M
5	Grupo -NH <sub>2</sub>	1591	M
6	Grupo -CH <sub>2</sub>	1416	M
7	-CH <sub>3</sub> y C-CH <sub>3</sub>	1382	F
8	Amida terciaria	1312	V
9	C-O-C	1067	F
10	Vibración del esqueleto	1025	V
11	C-H de los grupos monoméricos	892	M

F: Fuerte; M: Medio; V: Variable.

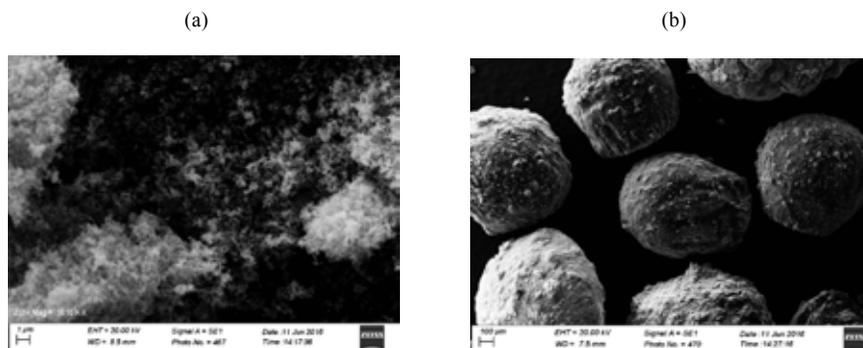
**Tabla 2.** Grupos funcionales característicos para las perlas de quitosano magnetizadas.

Nº	Grupo Funcional	cm <sup>-1</sup>	Intensidad
1	Grupo -OH y -NH	3219	V
2	Grupo -NH <sub>2</sub>	1640	M
3	-CH <sub>3</sub> y C-CH <sub>3</sub>	1368	F
4	Amida terciaria	1304	V
5	C-O-C	1018	F

F: Fuerte, M: Medio, V: Variable.

### Microscopía electrónica de barrido (SEM)

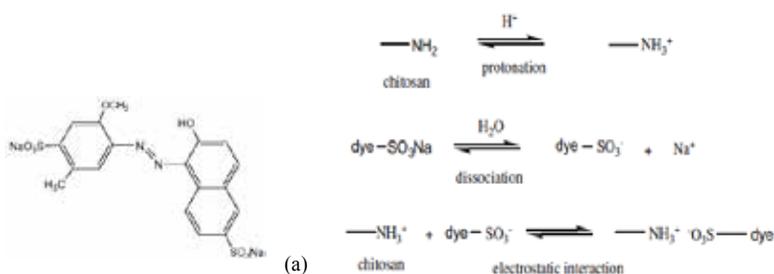
Mediante la técnica superficial de la microscopía electrónica de barrido (SEM) se obtuvo que la magnetita presentaba una distribución estrecha y se pudo notar la forma esférica de las perlas de quitosano magnetizadas además de determinar su tamaño, correspondiendo este a 1000  $\mu\text{m}$  (figura 4).



**Figura 4.** (a) Micrografías SEM de la magnetita, (b) de las perlas de quitosano magnetizadas.

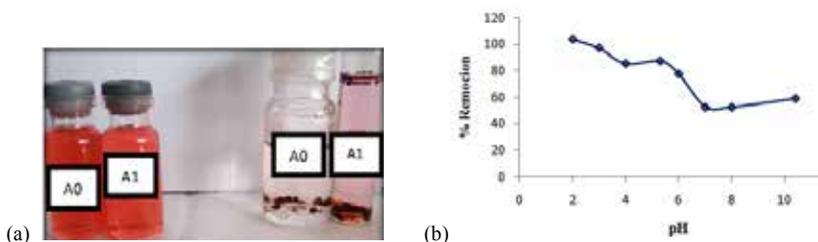
### Pruebas de sorción

Para realizar las isotermas de sorción se debe establecer las condiciones óptimas del proceso, por lo cual se procede con la evaluación previa de cada uno de estos parámetros. Con respecto al pH óptimo, se encontró un mayor porcentaje de remoción a pHs ácidos comparado con los pH básicos, debido a que bajo estas condiciones los grupos aminos del quitosano se protonan y ocurre una interacción electrostática con los grupos de  $\text{SO}_3^-$  del colorante como se muestra en la estructura del mismo permitiendo así la remoción (figura 5).



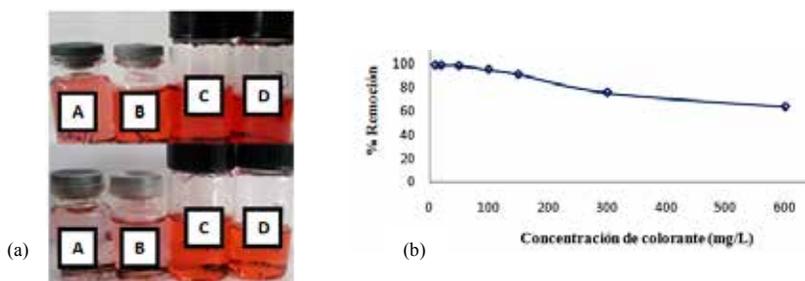
**Figura 5. (a)** Estructura del colorante Rojo Allura (Rojo 40)12 **(b)** Posible interacción de las PQM y el colorante13

Además, mediante una gráfica de % remoción vs pH se obtuvo que el pH óptimo correspondiera a 2 ya que presentó el porcentaje más alto de remoción (figura 6).



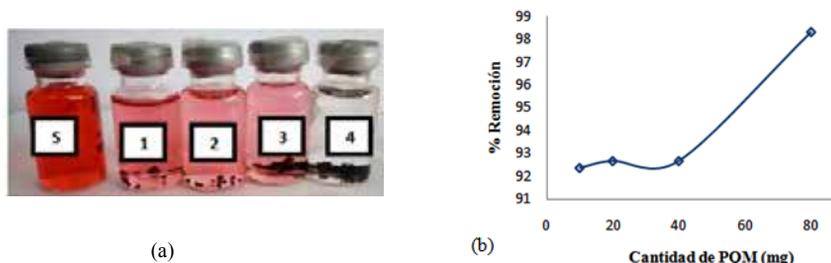
**Figura 6. (a)** Soluciones de Rojo 40 de 50mg/L a pH 2 (A0) y 3 (A1) antes y después de añadirles las PQM, **(b)** gráfica del % remoción vs pH.

A partir de las pruebas realizadas con soluciones de colorante a diferentes concentraciones, muestra una gran remoción a 20 mg/L, pero realizando una gráfica de % de remoción frente a la cantidad de colorante se obtuvo que a 50 mg/L ocurría una saturación del material adsorbente, y es por ello que esta concentración se determina como la cantidad óptima del colorante para su remoción (figura 7).



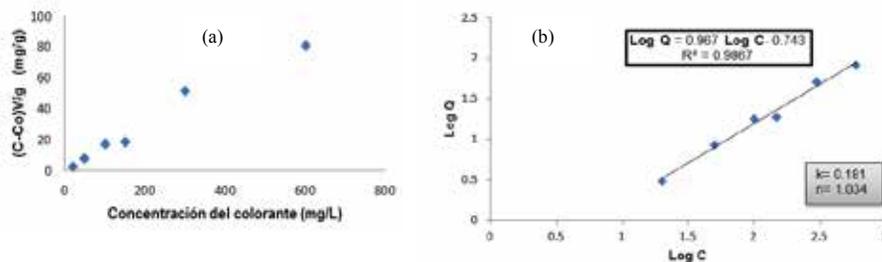
**Figura 7. (a)** Soluciones de Rojo 40 20 mg/L (A), 50 mg/L (B), 100 mg/L (C) y 150 mg/L (D) antes y después de añadirles las PQM, **(b)** gráfica de % de remoción vs cantidad de colorante.

Mediante una gráfica del % de remoción frente a la cantidad de perlas de quitosano magnetizadas agregada se obtuvo que a mayor cantidad de perlas añadidas ocurría un aumento de la remoción del colorante (teniendo en cuenta que la concentración es la misma para todas las soluciones), asimismo es notorio que agregando una mínima cantidad de perlas ocurría una gran remoción, porcentajes mayores al 90 % (figura 8).



**Figura 8. (a)** Soluciones de Rojo 40 50 mg/L (S), con 10 mg (1); 20 mg (2); 40 mg (3) y 80 mg (4) de PQM, **(b)** gráfica de % de remoción vs cantidad de PQM.

Luego de haber estudiado los factores como pH, concentración del colorante y cantidad de perlas se obtuvo la isoterma de sorción (figura 9a), de la cual su gráfica linealizada bajo el modelo de Freundlich ( $\log Q$  vs  $\log C$ ) se obtuvo los valores de los parámetros  $k$  (0,181) y  $n$  (1,034) que evidencian una quimisorción, pero como el valor de  $n$  es mayor a 1 indica que existe también una interacción física adsorbato-adsorbente (figura 9b).



**Figura 9. (a)** Gráfica de la isoterma de sorción, **(b)** isoterma de sorción linealizada según el modelo de Freundlich.

## CONCLUSIONES

Se obtuvieron las perlas de quitosano magnetizadas a partir de la magnetita preparada, que al ser entrecruzadas con glutaraldehído representan un buen aporte a la problemática ambiental debido a los altos porcentajes de remoción obtenidos (mayores al 90 %) en la remoción del colorante azoico Rojo Allura (*Rojo 40*).

## AGRADECIMIENTO

Agradezco al Laboratorio de Investigación de Análisis Instrumental y Medio Ambiente por brindarme sus instalaciones para la realización de los experimentos mostrados. Al Dr. José Díaz por las medidas realizadas en el microscopio electrónico de barrido.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Orozco S, Bandala E, Arancibia-Bulnes C, Serrano B, Suárez-Parra R, Hernández-Pérez I. Effect of iron salt on the color removal of water containing the azo-dye reactive blue 69 using photo-assisted Fe(II)/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and Fe(III)/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> systems. *J Photochem Photobiol A*. 2008; 198 (2-3):144-149.
2. Barrios-Ziolo L, Gaviria-Restrepo L, Agudelo E, Cardona Gallo S. Tecnologías para la remoción de colorantes y pigmentos presentes en aguas residuales. *DYNA*. 2015; 82 (191):118-126.
3. Anjaneyulu Y, Sreedhara Chary N, Samuel Suman Raj D. Decolourization of Industrial Effluents – Available Methods and Emerging Technologies – A Review. *Rev Environ Sci Biotechnol*. 2005; 4 (4):245-273.
4. Chen A, Chen S. Biosorption of azo dyes from aqueous solution by glutaraldehyde-crosslinked chitosans. *J Hazard Mater*. 2009; 172(2-3):1111-1121.

5. Chiou M, Chuang G. Competitive adsorption of dye metanil yellow and RB15 in acid solutions on chemically cross-linked chitosan beads. *Chemosphere*. 2006; 62 (5):731-740.
6. Du W, Xu Z, Han X, Xu Y, Miao Z. Preparation, characterization and adsorption properties of chitosan nanoparticles for eosin-Y as a model anionic dye. *J Hazard Mater*. 2008; 153 (1-2):152-156.
7. Picasso G, Vega J, Uzuriaga R, Ruiz G. preparación de nanopartículas de magnetita por los métodos sol-gel y precipitación: estudio de la composición química y estructura. *Rev Soc Quim Peru*. 2012; 78 (3):170-182.
8. Podzus P, Daraio M, Jacobo S. Chitosan magnetic microspheres for technological applications: Preparation and characterization. *Phys Rev B.: Condens Matter*. 2009; 404 (18):2710-2712.
9. Denkbaş E, Kiliçay E, Birlikseven C, Öztürk E. Magnetic chitosan microspheres: preparation and characterization. *React Funct Polym*. 2002; 50 (3):225-232.
10. Shen C, Shen Y, Wen Y, Wang H, Liu W. Fast and highly efficient removal of dyes under alkaline conditions using magnetic chitosan-Fe(III) hydrogel. *Water Res*. 2011; 45 (16):5200-5210.
11. Hernández H, Águila E, Flores O, Viveros E, Ramos E. Obtención y caracterización de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón. *Superficies y Vacío*. 2009; 22 (3):57-60.9
12. Villada Y, Hormaza A. Simultaneous analysis of the removal of brilliant blue and red 40 through spectrophotometric derivative. *Ingeniería y Desarrollo*. 2015; 33 (1):38-58. 10
13. Annadurai G, Lee D. Box-Behnken studies on dye removal from water using chitosan and activated carbon adsorbents. *J Chin Inst Chem Engrs*. 2000; 31 (6):609-615.11

## **DETERMINACIÓN DE MICOTOXINAS POR EL MÉTODO DE ELISA EN SOYA PARA AVES EN PRODUCCIÓN EN LA PROVINCIA DE CHINCHA, AÑO 2016**

Agustín Guerrero Canelo<sup>\*a</sup>, Juan Parreño Tipian<sup>b</sup>

### **RESUMEN**

Se determinó micotoxinas por ELISA en soya para aves en producción en la provincia de Chincha. El 100 % (20/20), de muestras de 20 molinos de los distritos (Chincha Alta, Pueblo Nuevo, Grocio Prado, Sunampe y Alto Larán) resultaron positivos a aflatoxina B1 (AFB1), ocratoxina A (OA) y toxina T – 2. Niveles máximos permitidos (NMP) para AFB1 (10 ppb), OA (50 ppb) y toxina T – 2 (150 ppb). OA y toxina T – 2, con 20 % y 60 % por encima del NMP. Riesgo de ocratoxicosis aguda por el consumo de soya de molinos (Grocio Prado, Sunampe y Alto Larán) y micotoxicosis aguda por toxina T – 2, de los distritos de Chincha, excepto Chincha Alta. Sin embargo, la principal alteración de la salud humana y animal, debido a micotoxina, está relacionada con exposición crónica (inducción de cáncer, toxicidad renal y inmunosupresión)<sup>4</sup>.

**Palabras clave:** Aflatoxina B1, ocratoxina A, toxina T – 2, soya, ELISA.

## **DETERMINATION OF MYCOTOXINS BY THE ELISA METHOD IN SOYBEANS FOR POULTRY IN PRODUCTION IN THE PROVINCE OF CHINCHA, 2016**

### **ABSTRACT**

Mycotoxins were determined by ELISA in soybeans for birds in production in the province of Chincha. 100 % (20/20) samples from 20 mills in the districts (Chincha Alta, Pueblo Nuevo, Grocio Prado, Sunampe and Alto Larán) were positive for aflatoxin B1 (AFB1), ochratoxin A (OA) and T toxin - 2. Maximum allowed levels (NMP) for AFB1 (10 ppb), OA (50 ppb) and T-2 toxin (150 ppb). OA and T-2 toxin, with 20 % and 60 % above the NMP. Risk of acute ochratoxicosis due to the consumption of soybean mills (Grocio Prado, Sunampe and Alto Larán) and acute mycotoxicosis by T - 2 toxin, from the districts of Chincha, except Chincha Alta. However, the main alteration of human and animal health due to mycotoxin is related to chronic exposure (cancer induction, renal toxicity and immunosuppression)<sup>4</sup>.

**Key words:** Aflatoxin B1, Ochratoxin A, T - 2 toxin, soybean, ELISA.

<sup>a</sup> Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica, Prolongación Ayabaca c9, Urbanización San José, Ica, Perú, agustingcanelo@gmail.com.

<sup>b</sup> Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

## INTRODUCCIÓN

El frijol soya es una de las leguminosas más importantes a nivel mundial en términos de producción y comercio, contiene en promedio: 17,5 % de grasa y 37,5 % de proteína cruda<sup>1</sup>. Lo cual la hace una excelente fuente de energía y proteína para dietas animales.

Sin embargo, existen factores como la palatabilidad de los alimentos, la biodisponibilidad de los nutrientes o metabolitos que puedan tener efectos tóxicos para el organismo animal. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2015), las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs), son generalmente de carácter infeccioso o tóxico. Entre las toxinas naturales con más riesgos para la salud, abarcan las micotoxinas, las biotoxinas marinas, los glucósidos cianogénicos y las toxinas de las setas venenosas.

Hongos toxigénicos, pueden generar micotoxinas al contaminar principalmente los cultivos de cereales, sus derivados y otros productos de origen vegetal; durante la etapa de campo (fitopatógeno: *Fusarium*), almacenamiento y procesamiento del alimento (saprofiticos: *Aspergillus* y *Penicillium*)<sup>2</sup>. Aunque se tenga buenas condiciones de almacenaje, la contaminación en el campo no puede eliminarse y la micotoxinas es inevitable.

Las micotoxinas se forman al principio de la fase estacionaria o al final de la fase exponencial del crecimiento del moho; son compuestos policetónicos, de bajo peso molecular, generalmente entre 300 a 400 daltons (metabolitos secundarios), generados de las reacciones de condensación en la que se interrumpe la reducción de los grupos cetónicos en la biosíntesis de los ácidos grasos (metabolitos primarios), utilizados por los mohos como fuentes de energía<sup>3</sup>.

Las micotoxicosis pueden clasificarse como agudas o crónicas. La toxicidad aguda, generalmente, tiene un inicio rápido y una respuesta tóxica (Síndrome de Turquía X, ergotismo humano, estaquibotriotoxicosis), mientras que la toxicidad crónica se caracteriza por una exposición a dosis bajas durante un largo período, lo que resulta en cánceres y otros efectos generalmente irreversibles. Casi con certeza, la principal alteración de la salud humana y animal, debido a micotoxina, está relacionada con la exposición crónica (inducción del cáncer, toxicidad renal y inmunosupresión)<sup>4</sup>.

AFB1, es producida por *Aspergillus flavus*, en más de 106 g/kg de sustratos. El hígado es el principal órgano diana<sup>4</sup>.

AFB1, es altamente estable en medio ácido del tracto digestivo y son absorbidos en el intestino para luego adherirse a sus receptores en el hígado y otros tejidos. Es hidroxilado en el hígado y convertido a AFM1, la que se excreta a través de la leche en animales mamíferos y humanos. Su acción carcinogénica se basa en la biotransformación por el sistema hepático microsomal P450 a AFB1 – 8, 9 – epóxido, un intermediario altamente reactivo capaz de unirse a las proteínas, a los ácidos ribonucleico (ARN) y desoxirribonucleico (ADN); formando un compuesto estable con el N7 de los residuos guanil que puede causar mutaciones en el codón

249 del gen p53 (supresor de tumores). Esta alteración es característica de varios carcinomas, especialmente del carcinoma hepático en el hombre. La AFB1 – 8, 9 – epóxido forma uniones covalentes (aductos) con los residuos de guanina del ADN, que se excretan por vía urinaria y pueden utilizarse como biomarcadores de exposición en los grupos de riesgo de cáncer del hígado<sup>5</sup>.

La exposición a las aflatoxinas en la dieta se considera como un importante factor de riesgo para el desarrollo de carcinoma hepatocelular primario, particularmente en individuos ya expuestos a la hepatitis B<sup>4</sup>. En un estudio de casos y controles con más de 18 000 muestras de orina recolectados durante 3,5 años en Shanghai, China, al ser analizadas, dieron como resultados: exposiciones a aflatoxina sólo arrojó un riesgo relativo de alrededor de 2, al antígeno del virus de la hepatitis B, con un riesgo relativo de alrededor de 5 y combinadas (aflatoxina y hepatitis B) produjo un riesgo relativo de alrededor de 60<sup>6</sup>. La vacunación contra el virus de la hepatitis B se recomienda como una estrategia más realista y rentable para reducir la incidencia de cáncer hepático que eliminar la aflatoxina de la dieta<sup>7</sup>.

Se considera que la soya es un sustrato pobre para la producción de aflatoxinas, de acuerdo a los siguientes reportes: Estados Unidos (1969), se analizaron 866 muestras de las cosechas de 1964 y 1965, de las cuales sólo el 0,2% (2/866), contenían 7 y 10 ug/kg de aflatoxinas, respectivamente<sup>8</sup>. Argentina (1991), procesaron 94 muestras durante las cosechas de 1986 y 1987; el 9,6 % (9/94) con trazas – 36 ppb de aflatoxinas<sup>9</sup>.

En estudios *in vitro* se ha demostrado que, cuando las semillas viables de soya son infectadas por *A. flavus*, producen la fitoalexina (gliceolina), que disminuye sustancialmente la producción de AFB1, sin afectar el crecimiento del hongo; lo que explicaría de manera parcial el por qué la contaminación con aflatoxinas en soya es tan esporádica<sup>10</sup>.

Las ocratoxinas son micotoxinas producidas por hongos del género *Aspergillus*, siendo la especie más importante *A. ochraceus*. Otras especies de importancia son *A. sulfureus*, *A. melleus*, *Penicillium viridicatum*, *P. commune*, entre otras especies. La más conocida es OA, siendo a su vez la más tóxica, posee cloro en su molécula. Se conoce además la ocratoxina B (sin cloro en su molécula) y ocratoxina C (con cloro y es un éster). A nivel molecular interfiere con la síntesis de ADN, ARN y proteínas mediante la inhibición de la enzima fenilalanina – ARNt sintetasa. La LD50 para ratas de 20 a 22 mg/kg, siendo principalmente nefrotóxica y hepatotóxica<sup>11</sup>.

Según estudios realizados en Inglaterra, las ocratoxinas parecen ser las micotoxinas más importantes de la soya y sus subproductos; con 19 – 36 % y niveles de 50 a 500 ppb de OA han sido reportados (tabla 1).

**Tabla 1.** Ocurrencia natural de ocratoxina A en frijol soya y productos de soya (Adaptado de Ministry of Agriculture, Fishenes and Food, 1980)

Sustrato	Número de muestras			Rango (ppb)
	Analizadas	Positivas	%	
Frijol soya	25	9	36,0	50 – 500
Harina de soya	21	4	19,0	50 – 500
Productos de soya	28	6	21,4	50 – 500

Niveles de 500 ppb (0,5 ppm) son potencialmente tóxicos para la mayoría de especies susceptibles a esta micotoxina tales como humanos, aves, cerdos y perros<sup>12</sup>.

Se reporta los resultados de 64 muestras de torta de soya durante los años 2007 a 2011, que ingresaron al Perú procedente de Paraguay, Argentina, Brasil y Estados Unidos; siendo positivos a OA, 46/64 (71,9 %) con  $\pm$  D. S. (1,99  $\pm$  1,63) y con rango mínimo y máximo (0,02 – 5,99 ppb)<sup>13</sup>; sin embargo, el 100 % de las muestras no sobrepasaron los NMP (0,250 ppm).

Las aves más jóvenes parecen ser más susceptibles a la OA que las aves más viejas ya que los pollos de engorde de tres semanas tienen valores de LD50 más altos que los pollos de un día<sup>12</sup>.

Tricotecenos son sesquiterpenos con un peso molecular entre 250 y 550 dalton; reciben su nombre por poseer el esqueleto tetracíclico (12,13 – epoxitricotehec – 9 – eno), presenta un doble enlace entre los carbonos 9 y 10 y un grupo epóxido entre los carbonos 12 y 13, que confiere a la molécula una gran estabilidad. Conservan su actividad bajo muy diferentes condiciones ambientales, incluyendo temperaturas de hasta 120 °C. Según su estructura y especie productora, se dividen en cuatro grupos, A, B, C y D. Grupo A, producidos por *Fusarium tricinctum*, *F. sporotrichioides*, *F. poe* y *F. equiseti*; presenta un grupo funcional no acetónico en el carbono 8 y entre sus miembros se incluyen las toxinas T – 2 y HT – 2 y el diacetoxiscirpenol (DAS)<sup>14</sup>.

Los tricotecenos inhiben la síntesis proteica y va seguida de una interrupción secundaria de la síntesis del AND y ARN<sup>12</sup>.

*Fusarium sporotrichioides* inoculado en soya produjeron Toxina T – 2 y HT – 2 que se evidencia en la tabla 2<sup>3</sup>.

**Tabla 2.** Producción de micotoxinas de *Fusarium sporotrichioides* en soya (Adaptado de Richardson *et al.*, 1985)

Soya	Humedad (%)	T – 2 (ppm)	HT – 2 (ppm)
Frijol entero	33	32	49
	50	37	80
	60	17	109
Frijol partido	33	71	111
	50	17	71
	60	15	46
Torta	33	103	285
	50	110	284
	60	92	439

Se analizaron los resultados de 144 muestras de torta de soya durante los años 2007 a 2011, que ingresaron al Perú procedente de Paraguay, Argentina, Brasil y Estados Unidos; siendo positivos a toxina T – 2, 128/144 (88,89 %) con  $\pm$  D. S. (12,96  $\pm$  9,97) y con rango mínimo y máximo (0,08 – 47,33 ppb)<sup>13</sup>; sin embargo el 100 % de las muestras no sobrepasaron los NMP (0,250 ppm).

Los tricotecenos, producen problemas agudos a nivel del tracto gastrointestinal, degeneración de la médula ósea y una inhibición muy significativa del sistema inmunitario. Hay hemorragias en la mucosa epitelial del estómago e intestino con una destrucción de los tejidos hematopoyéticos. Pueden surgir lesiones graves en la molleja de las aves. Las típicas lesiones orales en las aves consiste en una proliferación de placas blanco amarillentas caseosas en la parte inferior y superior del pico, mucosa del paladar, boca y lengua<sup>12</sup>.

Intoxicaciones crónicas con toxina T – 2, reduce el consumo de alimento y ganancia de peso, lesiones orales, necrosis de los tejidos linfoides, hematopoyéticos y mucosa oral, con eventuales trastornos nerviosos (posición anormal de las alas, reducción de reflejos), emplume anormal y reducción del espesor de la cáscara de los huevos. En ponedoras, las lesiones orales se producen en aproximadamente el 50 % de los lotes, cuando se alimenta con alimento conteniendo 2 ppm. En pollos de engorde se producen lesiones orales a partir de 1 ppm. Las aves presentan reducción del consumo de alimento, retardo en el crecimiento, alteraciones en el cuadro sanguíneo y neurotoxicidad<sup>3</sup>.

Toxina T – 2, presenta alta toxicidad para macrófagos de pollos, inhibiendo su capacidad fagocitaria. También induce la formación de peróxidos a partir de los lípidos, acarreado la disminución de la concentración de vitamina E en las aves<sup>3</sup>.

Las micotoxinas son consideradas como un contaminante inevitable de los alimentos por la Administración de Drogas y Alimentos (FDA) de los Estados Unidos. La Organización Mundial de la Alimentación y Agricultura (FAO), en el año 1996, estimó que más del 25 % de los cultivos del mundo estaban contaminados con micotoxinas. Expertos consideran a las micotoxinas como uno de los más importantes factores de riesgo de contaminantes alimenticios crónicos, por encima de los contaminantes sintéticos, plantas tóxicas, aditivos alimentarios o residuos de plaguicidas.

Numerosos autores coinciden que la principal estrategia para evitar las micotoxinas en los alimentos es la prevención, por lo que se debe implantar un sistema integrado basado en el empleo de especies vegetales resistentes, gestión de buenas prácticas agrícolas (BPA) y buenas prácticas de procesado o manufacturación (BPM), análisis de peligros y puntos críticos de control (APPCC) en las fases de producción, desde el campo hasta el consumidor final, empleo de fungicidas y descontaminación.

La producción avícola, que incluye la producción de pollos, gallinas, pavos y patos, llegó a registrar 1'202 614 TM durante el año 2013; 2,7 % más respecto del año 2012, según estadísticas del Ministerio de Agricultura y Riego (Minagri). La especie pollo es un poco más del 90 % de la población avícola y representa el 53 % del consumo total de carnes en el Perú, seguida del pescado (31 %), vacuno (8 %), porcino (6 %) y ovino (2 %), calculado en base a cifras de los ministerios de Agricultura y Riego (Minagri) y de la Producción (Produce). Lo anterior está asociado al alto consumo per cápita de carne de pollo en el país, que en el 2013 alcanzó 39 kilogramos. El consumo per cápita de pollo en el Perú se encuentra entre los más altos en la región, después de Brasil (58 kilos) y Argentina (40), superando a Bolivia (35), Chile (32) y Colombia (23), consumos calculados en base a cifras de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO).

Las principales zonas productoras avícolas en el 2013 fueron Lima (53 %), La Libertad (18 %), Arequipa (9 %) e Ica (5 %), según estadísticas del Minagri.

Por la importancia de la producción avícola en nuestro país, es necesario conocer los niveles de micotoxinas que ingieren con el alimento, para tomar medidas preventivas y eliminarlas o neutralizarlas, previniendo problemas en salud animal y salud pública.

En el presente estudio se ha realizado un screening para identificar y cuantificar las principales micotoxinas que contaminan a la soya (AFB<sub>1</sub>, OA y toxina T – 2), mediante el método ELISA competitivo directo, adoptadas en seguridad alimentaria, reduciendo el costo y el tiempo empleado. ELISA, utiliza un conjugado (micotoxina marcados con enzima, generalmente la peroxidasa, también la fosfatasa alcalina y  $\beta$ -galactosidasa), la cual compite con la micotoxina presente en la muestra en estudio por los mismos sitios de enlace presentes en el anticuerpo inmovilizado en la superficie sólida. Debido a que la concentración de conjugado y anticuerpo son constantes, la intensidad del color es inversamente proporcional a la concentración de micotoxina.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Tipo y diseño de investigación

Descriptivo, prospectivo, de corte transversal, observacional y no experimental; empleándose 20 muestras para determinar los valores de micotoxinas por el método de ELISA competitivo directo en soya para aves en producción en la provincia de Chincha.

### Unidad de análisis

Extracto de soya.

### Población de estudio

Soya de 20 molinos de cinco distritos (Alto Larán, Grocio Prado, Sunampe, Chincha Alta y Pueblo Nuevo) de la provincia de Chincha del departamento de Ica.

### Tamaño de la muestra

Para el estudio se tomó 20 muestras, una por cada molino, según la tabla 3.

**Tabla 3.** Número de muestra, según los molinos de los distritos de la provincia de Chincha.

Distrito	N° de molinos	N° de muestra	Porcentaje
Alto Larán	6	6	30
Grocio Prado	5	5	25
Sunampe	4	4	20
Chincha Alta	2	2	10
Pueblo Nuevo	3	3	15
<b>Total</b>	<b>20</b>	<b>20</b>	<b>100</b>

### Selección de la muestra

- Se seleccionó un saco de soya de cada molino.
- De cada saco se recolectó la muestra de soya de 5 puntos (4 de los extremos y 1 del centro), a través de un calador de bolsa, considerando que la distribución de las micotoxinas es heterogénea.
- Se colectó 1 kg de muestra de soya.

### Preparación de la muestra

Se trituró la muestra de soya hasta obtener partículas finas similar al café instantáneo fino, mediante un molino eléctrico.

### Extracción de AFB1:

- Se mezcló 25 gramos de la muestra triturada con 125 mL. de metanol al 70 % y se agitó vigorosamente durante tres minutos, se mantuvo en reposo durante tres minutos.

- 5 mL. del sobrenadante se filtró a través de una jeringa de 10 mL. descartable con filtro de algodón.
- El filtrado (extracto de soya) se recepcionó en viales y se conservó en refrigeración a 4°C. para ser analizado.

#### **Extracción de OA:**

- 25 gramos de la muestra se mezcló con 100 mL. de metanol al 50 % y se agitó vigorosamente durante tres minutos, se mantuvo en reposo durante tres minutos.
- 5 mL. del sobrenadante se filtró a través de una jeringa de 10 mL. descartable con filtro de algodón.
- El extracto de soya se recepcionó en viales.
- 1 mL. del extracto de soya se diluyó con 1 mL. de metanol al 50 % y se conservó en refrigeración a 4°C para ser analizado.

#### **Extracción de toxina T – 2:**

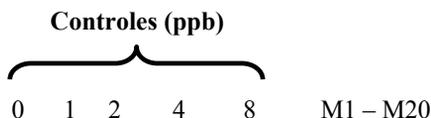
- Se mezcló 25 gramos de la muestra con 125 mL. de metanol al 70 % y se agitó vigorosamente durante tres minutos, se mantuvo en reposo durante tres minutos.
- 5 mL. del sobrenadante se filtró a través de una jeringa de 10 mL. descartable con filtro de algodón.
- 1 mL. del extracto de soya se diluyó con 1 mL. de agua destilada y se conservó en refrigeración a 4°C para ser analizado.

#### **ELISA competitivo directo con kits comerciales (Veratox® HS para aflatoxina, toxina T – 2 y ocratoxina; Neogen® corporation).**

##### **Procedimiento, según las recomendaciones del fabricante:**

- Temperar los reactivos de 18 a 30°C antes de ser utilizado.
- Ubicar en los soportes de pocillos, cinco pocillos de mezclado con la marca roja para los controles de micotoxinas y 20 pocillos para las muestras (M).

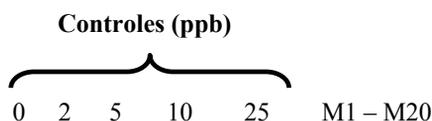
#### **Detección y cuantificación de AFB1:**



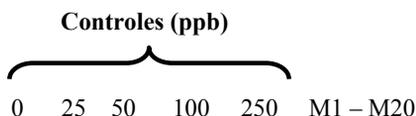
- Los reactivos se agitaron suavemente con movimientos circulares sobre la mesa de trabajo.
- Colocar 100 uL. de conjugado en cada pocillo de mezclado.
- Adicionar 100 uL. de los controles y muestras.
- Mezclar los pocillos succionando y expulsando con una pipeta multicanal de 12 canales durante tres veces.
- Transferir 100 uL. a los pocillos recubiertos con anticuerpos.
- Mezclar deslizando el soporte de micropocillos para adelante y para atrás sobre una superficie plana durante 10 a 20 segundos sin salpicar los reactivos.

- Incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente de 18 a 30°C.
- Extraer el contenido de los pocillos sacudiéndolos. Llenar los pocillos con agua destilada y luego vaciarlos (repetir por cinco veces). Invertir los pocillos y golpearlo suavemente sobre papel toalla hasta retirar el líquido remanente.
- Verter 100 uL. de sustrato en los pocillos.
- Mezclar deslizando el soporte de micropocillos para adelante y para atrás sobre una superficie plana durante 10 a 20 segundos sin salpicar los reactivos.
- Incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente.
- Adicionar 100 uL. de la solución de Red Stop en cada pocillo.
- Mezclar deslizando el soporte de micropocillos para adelante y para atrás sobre una superficie plana durante 10 a 20 segundos sin salpicar los reactivos.

### Detección y cuantificación de OA:



- Los reactivos se agitaron suavemente con movimientos circulares sobre la mesa de trabajo.
- Colocar 100 uL. de conjugado en cada pocillo de mezclado.
- Adicionar 100 uL. de los controles y muestras.
- Mezclar los pocillos succionando y expulsando con una pipeta multicanal de 12 canales durante tres veces.
- Transferir 100 uL. a los pocillos recubiertos con anticuerpos.
- Mezclar deslizando el soporte de micropocillos para adelante y para atrás sobre una superficie plana durante 10 a 20 segundos sin salpicar los reactivos.
- Incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente de 18 a 30°C.
- Extraer el contenido de los pocillos sacudiéndolos. Llenar los pocillos con agua destilada y luego vaciarlos (repetir por cinco veces). Invertir los pocillos y golpearlo suavemente sobre papel toalla hasta retirar el líquido remanente.
- Verter 100 uL. de sustrato en los pocillos.
- Mezclar deslizando el soporte de micropocillos para adelante y para atrás sobre una superficie plana durante 10 a 20 segundos sin salpicar los reactivos.
- Incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente.
- Adicionar 100 uL. de la solución de Red Stop en cada pocillo.
- Mezclar deslizando el soporte de micropocillos para adelante y para atrás sobre una superficie plana durante 10 a 20 segundos sin salpicar los reactivos.

**Detección y cuantificación de OA:**

- Los reactivos se agitaron suavemente con movimientos circulares sobre la mesa de trabajo.
- Colocar 100 uL. de conjugado en cada pocillo de mezclado.
- Adicionar 100 uL. de los controles y muestras.
- Mezclar los pocillos succionando y expulsando con una pipeta multicanal de 12 canales durante tres veces.
- Transferir 100 uL. a los pocillos recubiertos con anticuerpos.
- Mezclar deslizando el soporte de micropocillos para adelante y para atrás sobre una superficie plana durante 10 a 20 segundos sin salpicar los reactivos.
- Incubar durante cinco minutos a temperatura ambiente de 18 a 30°C.
- Extraer el contenido de los pocillos sacudiéndolos. Llenar los pocillos con agua destilada y luego vaciarlos (repetir por cinco veces). Invertir los pocillos y golpearlo suavemente sobre papel toalla hasta retirar el líquido remanente.
- Verter 100 uL. de sustrato en los pocillos.
- Mezclar deslizando el soporte de micropocillos para adelante y para atrás sobre una superficie plana durante 10 a 20 segundos sin salpicar los reactivos.
- Incubar durante cinco minutos a temperatura ambiente.
- Adicionar 100 uL. de la solución Red Stop en cada pocillo.
- Mezclar deslizando el soporte de micropocillos para adelante y para atrás sobre una superficie plana durante 10 a 20 segundos sin salpicar los reactivos.

**Lectura:**

- Limpiar la base de los micropocillos con una toalla o paño seco.
- Eliminar las burbujas de aire (para no afectar el resultado de los análisis)
- Leer la densidad óptica de cada celdilla, antes de los 20 minutos después de la adición de la solución Red Stop en el lector Biotek ELX800GIDX con filtro de 650 nm.

**Técnica de recolección de datos:**

Los valores de micotoxinas se obtuvo con el lector de ELISA. Se determinó la densidad óptica de las muestras, se procesaron en el programa Neogen y se obtuvo los niveles de absorbancia transfiriéndose a ppb ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ).

**Estándares**

En la tabla 5 se indican los NMP para la soya.

**Tabla 4.** Niveles máximos permitidos de micotoxinas para la soya.

<b>Micotoxinas</b>	<b>NMP (ppb)</b>
AFB1	10
Ocratoxina A	50
Toxina T – 2	150

Fuente. Gimeno (2010)<sup>15</sup>.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Tabla 5.** Niveles de AFB1 en soya, según distritos de Chincha Alta.

<b>Distritos</b>	<b>Muestras analizadas</b>	<b>Frecuencia</b>		<b>ppb (ug/kg)</b>		<b>NMP (%)</b>	
		<b>positivas</b>	<b>relativa</b>	<b>Media</b>	<b>Rango</b>	<b>Mayor</b>	<b>Menor</b>
Chincha Alta	2	2	100,00	1,400	1,30–1,50	00,00	100,00
Pueblo Nuevo	3	3	100,00	1,800	1,50–2,00	00,00	100,00
Grocio Prado	5	5	100,00	1,860	1,20–2,40	00,00	100,00
Sunampe	4	4	100,00	2,100	1,50–2,40	00,00	100,00
Alto Larán	6	6	100,00	1,767	1,00–3,40	00,00	100,00

Niveles máximos permitidos (NMP): AFB1= 10 ppb (Gimeno, 2010).

**Tabla 6.** Niveles de OA en soya, según distritos de Chincha Alta.

<b>Distritos</b>	<b>Muestras analizadas</b>	<b>Frecuencia</b>		<b>ppb (ug/kg)</b>		<b>NMP (%)</b>	
		<b>pos.</b>	<b>relativa</b>	<b>Media</b>	<b>Rango</b>	<b>Mayor</b>	<b>Menor</b>
Chincha Alta	2	2	100,00	31,050	17,60–44,50	00,00	100,00
Pueblo Nuevo	3	3	100,00	34,670	21,80–47,20	00,00	100,00
Grocio Prado	5	5	100,00	43,000	17,40–80,90	20,00	80,00
Sunampe	4	4	100,00	36,050	16,90–55,30	25,00	75,00
Alto Larán	6	6	100,00	34,083	03,30–78,00	33,33	67,67

Niveles máximos permitidos (NMP): OA = 50 ppb (Gimeno, 2010).

**Tabla 7.** Niveles de toxina T – 2 en soya, según distritos de Chincha Alta.

Distritos	Muestras analizadas	Frecuencia		ppb (ug/kg)		NMP (%)	
		pos.	relativa	Media	Rango	Mayor	Menor
Chincha Alta	2	2	100,00	120,950	120,00–121,90	00,00	100,00
Pueblo Nuevo	3	3	100,00	181,370	149,80–224,50	67,67	33,33
Grocio Prado	5	5	100,00	169,500	142,20–219,60	60,00	40,00
Sunampe	4	4	100,00	194,850	125,70–303,50	50,00	50,00
Alto Larán	6	6	100,00	181,033	146,70–241,30	83,33	16,67

Niveles máximos permitidos (NMP): Toxina T – 2 = 150 ppb (Gimeno, 2010).

El 100 % (20/20) de las muestras de soyas de los distritos de Chincha, considerados para el presente estudio (Chincha Alta, Pueblo Nuevo, Grocio Prado, Sunampe y Alto Larán), resultaron positivos a AFB1, con promedios y rangos de ( $\bar{x}$  = 1,825 ppb; 1,0 – 3,4 ppb); sin embargo, el 100 % no sobrepasaron el NMP (10 ppb). Cuyos resultados superan los resultados obtenidos en Argentina, 9,57 % (9/94), de trazas – 36 ppb<sup>9</sup>; y Estados Unidos, 0,23 %, de 7 – 10 ppb<sup>8</sup>. Sin embargo estos, con mayores niveles de AFB1.

Los bajos niveles de AFB1, en las diferentes partes del mundo, se sustenta en que las semillas de soya viables producen gliceolina cuando son infectadas por *A. flavus*, disminuyendo sustancialmente la producción de AFB1<sup>10</sup>.

En humanos, la exposición a las aflatoxinas en la dieta, se considera como un factor de riesgo para el desarrollo de carcinoma hepatocelular primario, particularmente en individuos ya expuestos al virus de la hepatitis B<sup>4</sup>, con un riesgo relativo de 60 en comparación de exposición sólo a aflatoxina de 2 y exposición sólo al virus de hepatitis B alrededor de 5<sup>6</sup>; por lo que se recomienda la vacunación contra el virus de la hepatitis B para reducir la incidencia de cáncer hepático<sup>7</sup>.

Con respecto a los resultados de OA del presente estudio, el 100 % (20/20) de las muestras de soyas, resultaron positivas, ( $\bar{x}$  = 36,49 ppb; 3,3 – 80,9 ppb) y el 20 % de las muestras con valores por encima de los NMP (50 ppb); = 70,025; 55,3 – 80,9 ppb. Cuyos resultados de muestras positivas, superiores a los reportados de Inglaterra, de 19 – 36 %, sin embargo, estos con mayores niveles de 50 a 500 ppb<sup>12</sup>.

El 20 % de las muestras que sobrepasaron los NMP, podrían ser un factor de riesgo para ocratoxicosis aguda; sin embargo el 80 %, serían responsables de ocratoxicosis crónica, siendo principalmente nefrotóxica, hepatotóxica<sup>11</sup>.

Referente a la toxina T – 2, el 100 % (20/20) de las muestras de soyas, resultaron positivas ( $\bar{x}$  = 174,97 ppb; 120,0 – 303,5 ppb) y el 60 % de muestras con valores por encima de los NMP (150 ppb); ( $\bar{x}$  = 200,075; 154,5 – 241,3). Con resultados de muestras positivas

superiores a los resultados de los registros de torta de soya, que ingresaron al Perú entre los años (2007 – 2011), procedente de Paraguay, Argentina, Brasil y Estados Unidos: 88,9 %, = 12,96; 0,08 – 47,3313 y el 100 % no sobrepasaron los NMP (0,250 ppm).

En ponedoras, las lesiones orales se producen aproximadamente en el 50 % de los lotes, cuando se alimenta con alimento con 2 ppm de toxina T – 2. En pollos de engorde se producen lesiones orales a partir de 1 ppm. Se reduce el consumo de alimento, retardo en el crecimiento, alteraciones en el cuadro sanguíneo y neurotoxicidad. Presenta alta toxicidad para macrófagos, inhibiendo su capacidad fagocitaria. Induce la formación de peróxidos a partir de los lípidos, disminuyendo la concentración de vitamina E<sup>3</sup>.

## CONCLUSIONES

1. En la provincia de Chincha se identificó en las muestras de soya, por el método de ELISA competitivo directo, que el 100 % resultaron positivas para micotoxinas y el 26,67 % con niveles superiores a los NMP.
2. Los valores de AFB1 fluctúan entre 1,00 – 3,40 ppb. Los cuales no sobrepasan los NMP de 10 ppb. Por lo tanto, la AFB1 no es un factor de riesgo para aflatoxicosis aguda por el consumo de soya, procedente de los molinos de los distritos de Chincha, considerados en el presente estudio (Chincha Alta, Pueblo Nuevo, Grocio Prado, Sunampe y Alto Larán),
3. Los valores para OA fluctúan entre 0,3 – 80,90 ppb. El 20 % de las muestras sobrepasan los NMP de 50 ppb. OA es un factor de riesgo para ocratoxicosis aguda por el consumo de soya en la dieta de los animales, de los distritos de Grocio Prado, Sunampe y Alto Larán.
4. Los valores de toxina T – 2, fluctúan entre 120,950 – 303,50 ppb. El 60 % de las muestras sobrepasan los NMP de 150 ppb. Siendo la de mayor magnitud en el presente estudio, sólo el distrito de Chincha Alta, obtuvieron resultados por debajo de los NMP; pudiendo ser un factor de riesgo para micotoxicosis aviar aguda por el consumo de soya procedente de los molinos de los distritos de Pueblo Nuevo, Grocio Prado, Sunampe y Alto Larán.
5. Sin embargo la principal alteración de la salud humana y animal, debido a micotoxina, está relacionada con exposición crónica (inducción de cáncer, toxicidad renal y inmunosupresión)<sup>4</sup>.

## AGRADECIMIENTO

- Al Dr. Juan Manuel Parreño Tipian, por su asesoría en el presente estudio.
- A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica, por las instalaciones para llevar a cabo los procesamientos y los análisis de las muestra.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Buitrago AJ, Portela CR, Eusse GS. Grano de soya en alimentación de cerdos y aves. Asociación Americana de Soya; 1992.
2. Yoshisawa T. General view on Mycotoxins. Mycotoxin Inspection in food trading course. Japan International Cooperation Agency JICA; 1998.
3. Mallmann CA, Dilkin P, Giacomini LZ, Rauber RH, Pereira CE. Micotoxinas en Ingredientes para Alimento Balanceado de Aves. XX Congreso Latinoamericano; Porto Alegre 25 – 28 del 2007. Brasil.
4. Bennett J, Klich M. Mycotoxins. Clin. Microbiol. Rev. 2003; 16 (3): 497 – 516.
5. Sharma R. Immunotoxicity of mycotoxins. J. Dairy Sci. 1993; 76: 892 – 897.
6. Ross R K, Yuan JM, Yu MC, Wogan GN, Qian GS, Tu JT, Groopman J, Gao Y T, Henderson BE. Urinary aflatoxin biomarkers and risk of hepatocellular carcinoma. Lancet. 1992; 339:1413–1414.
7. Henry S H, Bosch FX, Bowers JC. Aflatoxin, hepatitis and worldwide liver cancer risks. 2002: 229–320. In DeVries JW, Trucksess MW, Jackson LS (ed.), Mycotoxins and food safety. Kluwer Academic/ Plenum Publications., New York.
8. Shotwell OL, Hesseltine CW, Burmeister HR, Kwolek WF, Shannon, GM, Hall HH. Survey of cereal grains and soybeans for the presence of aflatoxin. II. Corn and soybeans. Cereal Chemistry. 1969; 46: 454 – 463.
9. Fernandez Pinto VE, Vaamonde G, Brizzio SB, Apro N. Aflatoxin production in soybean varieties grown in Argentina. Journal of Food Protection. 1991; 54: 542 – 545.
10. Song DK, Karr AL. Soybean phytoalexin, glyceollin, prevents accumulation of aflatoxin B1 in cultures of *Aspergillus flavus*. Journal of Chemical Ecology. 1993; 19: 1183 – 1194.
11. Jay J. Modern food microbiology. 6a ed. Aspen Publication; 2000. 679 p.
12. Leeson S, Diaz GJ, Summers JD. Poultry metabolic disorders and mycotoxins. University Books, Guelph, Ontario, Canada. 1995: 227–241.
13. Castro J, Alvarado A, Koga Y, Tinoco R. Cuantificación de micotoxinas en ingredientes alimenticios utilizados en la dieta de aves comerciales. Rev Inv Vet Perú. 2015; 26(4): 558 – 564.
14. Soriano del Castillo, José Migue. Micotoxinas en alimentos. Ediciones Díaz de Santos; 2007. ISBN 9788479788087.
15. Gimeno Alberto. Revisión de las concentraciones máximas tolerables para ciertas micotoxinas en animales. Consultor técnico de SPECIAL NUTRIENTS, INC., 2766 Douglas Road, Miami, Florida, 33133 USA; 2010.

## **DESINFECCIÓN DEL EFLUENTE SECUNDARIO DE LA PLANTA DE AGUA RESIDUAL DE AYACUCHO CON RADIACIÓN ULTRAVIOLETA PARA SU REUTILIZACIÓN EN RIEGO AGRÍCOLA**

Raúl Ricardo Véliz Flores<sup>a</sup>, Edgar Gregorio Aronés Medina<sup>a</sup>,  
Ybar Gustavo Palomino Malpartida<sup>a</sup>, Rudecindo Huincho Rodríguez<sup>b</sup>

### **RESUMEN**

El agua del efluente secundario de la planta de tratamiento de agua residual Totorá de Ayacucho desinfectada con cloro, vertida al río Alameda no tiene la calidad sanitaria en cuanto a microorganismos patógenos para riego agrícola; sin embargo, es reutilizada en el cultivo de verduras que se comercializan en la ciudad de Ayacucho, problema que motivó la investigación para utilizar otro método de desinfección. Las pruebas experimentales se realizaron con muestras del efluente secundario, se utilizó la desinfección con radiación ultravioleta para la desactivación y eliminación de microorganismos patógenos. Se realizaron dos tipos de pruebas experimentales a nivel de laboratorio para la desinfección ultravioleta, primero con agua del efluente secundario de la planta, tal como ingresa a la laguna de cloración y segundo realizando dos operaciones de tratamiento antes de la desinfección ultravioleta, una de filtración y otra de adsorción. Los ensayos con la primera prueba experimental de desinfección ultravioleta, presentaron poca eficiencia en cuanto a la remoción de microorganismos (20 323 NMP/100 ml), no alcanzando la calidad sanitaria para riego de vegetales no restringidos y restringidos, según los límites máximos permisibles de la norma peruana (DS-004-2017-MINAM)<sup>2</sup>, en cambio, con la segunda prueba, se mejoró notablemente la eficiencia de la desinfección y reducción de microorganismos patógenos (949 NMP/100 ml), concluyendo que con este método se obtuvo agua de buena calidad sanitaria y que puede ser reutilizada en riego de vegetales.

**Palabras clave:** Desinfección UV, PTAR, microorganismos patógenos, Ayacucho.

---

<sup>a</sup> Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Los Portales N° 57, Ayacucho 51, Perú, raul0348@yahoo.es

<sup>b</sup> Planta de Tratamiento de Agua Residual Totorá de Ayacucho

## DISINFECTION OF SECONDARY EFFLUENT FROM WASTE WATER PLANT IN AYACUCHO BY UV RADIATION FOR AGRICULTURAL IRRIGATION REUSE

### ABSTRACT

The water of the secondary effluent of the wastewater treatment plant Totora in Ayacucho disinfected with chlorine, discharged into the Alameda River, does not have the sanitary quality in terms of pathogenic microorganisms for agricultural irrigation, however, it is reused in the cultivation of vegetables. they commercialize in the city of Ayacucho, problem that motivated the investigation to use another method of disinfection. Experimental tests were carried out with samples of the secondary, by using ultraviolet disinfection for deactivation and elimination of pathogenic microorganisms. Two types of laboratory scale experimental tests were performed for ultraviolet disinfection, first with water from the secondary effluent plant, as it enters the chlorination lagoon and secondly performing two treatment operations before ultraviolet disinfection, filtration and adsorption. The first experimental test showed little efficiency in the removal of microorganisms (20 323 NMP / 100 ml), not reaching sanitary quality for irrigation with unrestricted and restricted, according to the maximum allowable limits of the Peruvian standard (DS-004-2017-MINAM),<sup>2</sup> in contrast with the second test the disinfection efficiency and pathogenic microorganisms reduction (949 NMP / 100 ml) were significantly improved, concluding that with this method water of good sanitary quality was obtained and can be reused in vegetables irrigation.

**Key words:** UV disinfection, WWTP, pathogenic microorganisms, Ayacucho.

### INTRODUCCIÓN

El efluente secundario de la Planta de Tratamiento de Agua Residual (PTAR) Totora, desinfectada con cloro y vertida al río Alameda de Ayacucho, no tiene la calidad sanitaria para riego de vegetales, en cuanto a microorganismo patógenos<sup>1</sup>. El efluente de la planta Totora, vertió el 30 de setiembre del año 2015 al río Alameda: 61,3 mg/l de demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>), 2,8x10<sup>4</sup> número más probable (NMP)/100 ml de coliformes fecales y 33 mg/l de sólidos totales en suspensión (STS), parámetros distantes de la norma peruana según el D.S. N° 004-2017-MINAM<sup>2</sup> que indica que los estándares ambientales de calidad del agua para riego de vegetales no restringido y restringido son: 15 mg/l para la DBO<sub>5</sub>, 1000 y 2000 NMP/100 ml para coliformes fecales.

Para reutilizar agua para riego de vegetales, estos dependen del tipo de riego empleado en los cultivos, la forma de consumo de los vegetales crudo o cocido y de los procesos a los cuales son sometidos los productos agrícolas. El DS 004-2017-MINAM<sup>2</sup> presenta los LMP para el agua de riego de vegetales **no restringidos y restringidos**, siendo de mayor importancia la

primera por la utilización del agua en riego de: cultivos alimenticios que se consumen crudos y en la segunda la utilización del agua en riego de cultivos alimenticios que se consumen cocidos.

Los cultivos de verduras en los valles de los ríos Alameda y Chacco en Ayacucho son regados, en parte, con agua del efluente de la PTAR Totorá, que al ser comercializadas en los mercados de la ciudad producen al consumidor enfermedades originadas por el agua producida por microorganismos patógenos, problema latente que requiere solución y que fue motivo de la investigación.

Se evaluaron algunas alternativas de solución utilizando nuevos métodos de tratamientos terciarios, como las operaciones unitarias de filtración y adsorción antes de una desinfección con radiación ultravioleta (UV), por presentar varias ventajas como lo afirma Pietroban<sup>3</sup>, proceso físico que no deja residuos químicos, no altera el sabor, el olor y la composición química del agua. La radiación UV es actualmente una de las mejores alternativas de desinfección del agua residual y potable, tanto en los países de Europa y América del Norte, toda vez que el sistema tradicional de desinfección por cloro produce subproductos peligrosos tales como las cloraminas, los trihalometanos y otros compuestos orgánicos clorados que afectan la salud humana y al medio ambiente<sup>4</sup>.

El objetivo principal de la investigación fue realizar pruebas experimentales de desinfección UV del efluente secundario de la planta Totorá, utilizando un sistema hidráulico y un reactor piloto de radiación UV, mediante dos procesos de desinfección UV, primero con el efluente secundario tal como se obtiene en la planta Totorá y segundo utilizando dos procesos terciarios de tratamiento antes de la desinfección UV. Finalmente, se evaluó si existe algún grado de mejoramiento en la calidad de agua para riego de vegetales no restringido y restringido, en cuanto a la reducción de microorganismos patógenos cuando se aplica la desinfección UV frente a la desinfección con cloro.

## **PARTE EXPERIMENTAL**

Los experimentos se realizaron con muestras del efluente secundario de la PTAR Totorá de Ayacucho, tomadas antes de la laguna de cloración (LC), figura 1a.

### **Reactor UV**

Cuando se diseña un proceso de desinfección con radiación UV, el diseño está estrechamente relacionado con el equipo hidráulico y el reactor de radiación UV. La tabla 1 presenta las características y especificaciones del equipo piloto de radiación UV.

**Tabla 1.** Características y especificaciones técnicas del reactor UV.

Características	Especificaciones
Potencia nominal	17 W
Intensidad de la corriente eléctrica	0,3 A
Vida media de funcionamiento	9000 horas
Diámetro externo de la lámpara	26 mm
Diámetro interno del reactor	63 mm
Longitud de la lámpara	30 cm
Presión de la lámpara	Baja

### Variables analizadas y métodos analíticos utilizados

La tabla 2 presenta las variables analizadas y los métodos analíticos utilizados en los análisis fisicoquímico y bacteriológico de muestras del efluente secundario antes y después de la desinfección UV.

**Tabla 2.** Variables y métodos utilizados en la caracterización del efluente secundario.

Variables y unidades	Método o equipo utilizado
Absorbancia a 254 nm, [m <sup>-1</sup> ]	Espectrofotométrico
Coliformes fecales, [NMP/100 ml]	Tubos múltiples
Conductividad, [μS/cm]	Lectura automática en un conductímetro
DBO <sub>5</sub> , [mg O <sub>2</sub> disuelto/l]	Respirométrico
pH, [unidades de pH]	pHmetro
STS, [mg/l]	Gravimétrico, filtrado a 0,45 μm y 102 °C
Temperatura, [°C]	Lectura automática en un termómetro Hg
Turbidez, [UTN]	Lectura automática en un turbidímetro

### Equipo hidráulico y unidad piloto de desinfección UV

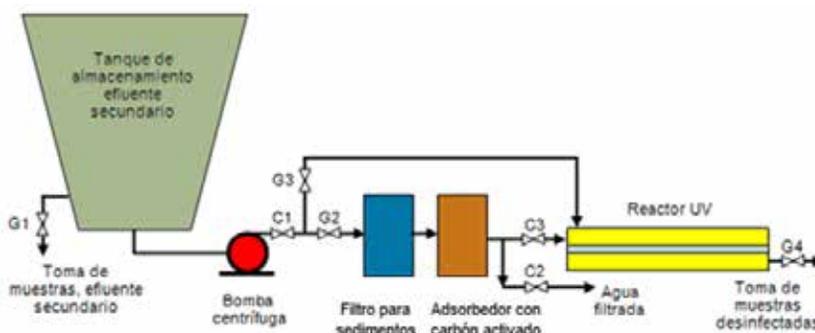
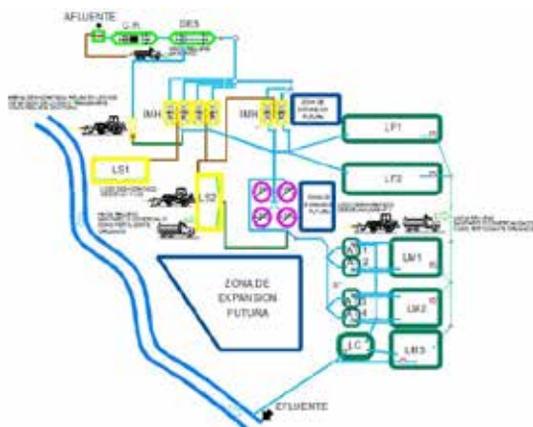
El sistema hidráulico y la unidad piloto de desinfección UV, figura 1c, consta de un tanque de almacenamiento de 50 litros, una bomba centrífuga de 1/4 hp para la impulsión del agua, un filtro para retener sedimentos mayores de 3 micras, un adsorbedor de carbón activado para retener partículas, iones y purificar, desodorizar y decolorar el agua, y un reactor de desinfección UV.

El sistema de transporte tanque-bomba-reactor está unido por tuberías de PVC de 1/2 pulgada. La carcasa del reactor es de acero inoxidable, el flujo de agua circula en dirección paralela a una lámpara inmersa que contiene vapor de Hg a baja presión, la lámpara está protegida por un tubo de cuarzo y produce radiación UV en la longitud de onda de 253,7 nm (nanómetro), energía que es absorbida por los ácidos nucleicos de los microorganismos, inactivándolos o causándoles la muerte.

(a)



(b)



**Figura 1.** (a) Esquema de la PTAR Totora-Ayacucho. (b) Foto (12-05-16), vertido de agua del efluente secundario PTAR Totora al río Alameda. (c) Esquema de la unidad piloto de desinfección UV.

## **Equipo hidráulico y unidad piloto de desinfección UV**

El sistema hidráulico y la unidad piloto de desinfección UV, figura 1c, consta de un tanque de almacenamiento de 50 litros, una bomba centrífuga de 1/4 hp para la impulsión del agua, un filtro para retener sedimentos mayores de 3 micras, un adsorbedor de carbón activado para retener partículas, iones y purificar, desodorizar y decolorar el agua, y un reactor de desinfección UV.

El sistema de transporte tanque-bomba-reactor está unido por tuberías de PVC de 1/2 pulgada. La carcasa del reactor es de acero inoxidable, el flujo de agua circula en dirección paralela a una lámpara inmersa que contiene vapor de Hg a baja presión, la lámpara está protegida por un tubo de cuarzo y produce radiación UV en la longitud de onda de 253,7 nm (nanómetro), energía que es absorbida por los ácidos nucleicos de los microorganismos, inactivándolos o causándoles la muerte.

### **Tiempo de retención hidráulica, TRH**

El tiempo de retención hidráulica se define como el tiempo que permanece el agua en el reactor de radiación UV, que fluye con flujo continuo. El TRH es igual al volumen del reactor dividido por el caudal promedio.

**Procedimiento:** Se fijó un volumen de descarga de 6 litros en el tanque de almacenamiento para las pruebas de los tiempos promedios de descarga. En el tanque de almacenamiento internamente se marcó tres líneas que sirvieron para controlar el flujo de descarga, la primera línea fue marcada tomando como base la superficie libre del agua (parte superior del tanque), esta indica el inicio de la cantidad de fluido que se debe descargar para alcanzar el estado estable, la segunda línea marcada indica el inicio de descarga del volumen de 6 l, aquí se activa el cronómetro, tomando el tiempo como tiempo igual a cero, la tercera línea marcada indica el final de descarga de los 6 litros, aquí se detiene el cronómetro y se lee el tiempo transcurrido. La variación del flujo del fluido de descarga se realizó manipulando el vástago de la válvula de globo G3, que controla el flujo de salida de la bomba.

### **Metodología experimental para el proceso de desinfección UV**

Los parámetros hidráulicos de funcionamiento y operación del reactor UV más importantes fueron monitoreados, los tiempos de residencia y caudales fueron controlados y variados mediante la manipulación del vástago de la válvula de control, los demás parámetros fueron fijados por la geometría del sistema buscando la mejor eficiencia de la desinfección. Se realizaron dos tipos de ensayos de desinfección UV:

#### **Ensayos tipo 1**

Efluente secundario de la PTAR Totorá.

Proceso de desinfección UV: tanque-bomba-reactor UV.

**Ensayos tipo 2:**

Efluente secundario de la PTAR Totorá.

Procesos previos: tanque-equipos de filtración-equipos de absorción de carbón activado.

Proceso desinfección UV: tanque-bomba-reactor UV.

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN****Tiempo y caudal promedio**

La última columna de resultados en la tabla 3 muestra los caudales promedios para seis aperturas de la válvula de control de flujo, estos fueron obtenidos dividiendo el volumen de 6 litros entre los tiempos promedios de cada ensayo.

**Tabla 3.** Tiempos promedios y caudales para un volumen de 6 litros de descarga.

Giro del vástago válvula de control	Tiempos, [s]					Tiempo promedio $t_p$ , [s]	Caudal promedio $Q_p$ , [l/s]
	$t_1$	$t_2$	$t_3$	$t_4$	$t_5$		
Totalmente abierta	8,01	7,69	7,90	7,77	7,73	7,82	0,7673
1/4 vuelta cerrada	11,36	11,47	11,32	11,02	11,53	11,34	0,5291
1/2 vuelta cerrada	14,98	14,68	15,35	14,81	15,03	14,97	0,4008
3/4 vuelta cerrada	18,35	18,66	18,02	18,71	18,16	18,38	0,3265
1 vuelta cerrada	21,89	22,15	22,01	21,70	22,20	21,99	0,2728
1 1/2 vuelta cerrada	25,94	25,57	25,75	25,14	25,50	25,58	0,2346

**Tiempo de retención hidráulica, TRH**

La tabla 4 muestra los TRH y los modelos de flujo a medida que se cierra la válvula de control. Los cuatro primeros ensayos presentan flujos turbulentos (estados estables), los dos últimos flujos en transición (estados inestables) y si se continúa cerrando la válvula se debe llegar a flujos laminares (estados estables). Estos resultados demuestran que se debe buscar ensayos con el mejor y menor TRH con flujos estables de acuerdo al modelo de flujo real que se presenta en el efluente de la PTAR Totorá.

**Tabla 4.** Tiempo de retención hidráulica (TRH) y modelo de flujo.

Giro vástago de la válvula de control	Caudal promedio $Q_P$ , [l/s]	TRH, [s] TRH= $V_{reactor}/Q_P$	Número de Reynolds	Modelo de flujo
Totalmente abierta	0,7673	1,011	10063	Turbulento
1/4 vuelta cerrada	0,5291	1,467	6960	Turbulento
1/2 vuelta cerrada	0,4008	1,936	5249	Turbulento
3/4 vuelta cerrada	0,3265	2,377	4292	Turbulento
1 vuelta cerrada	0,2728	2,845	3596	Transición
1 ½ vuelta cerrada	0,2346	3,308	3074	Transición

#### Volumen del reactor

$$V_{reactor} = V_{Total} - V_{lámpara}$$

$$V_{reactor} = \frac{\pi}{4} 6,3^2 \times 30 - \frac{\pi}{4} 2,6^2 \times 30$$

$$V_{reactor} = 775,89 \text{ cm}^3 = 0,77589 \text{ l}$$

En diseño de equipos y diseño de procesos se trabaja con estados estables y como en los dos últimos ensayos para la determinación de los TRH se presentó dos flujos en transición con estados inestables, estos ensayos fueron observados y no se tomaron en cuenta en la continuación de la investigación. Los resultados muestran que los TRH están comprendidos entre 1,011 a 2,377 s, asegurando flujos turbulentos y continuos para el proceso de desinfección UV, donde el agua debe permanecer dentro del reactor durante un tiempo igual a los TRH, tiempo de exposición, inactivación y eliminación de microorganismos (bacterias, virus, protozoos, helmintos y nematodos intestinales) dentro del reactor. Los TRH obtenidos guardan relación con el trabajo de investigación por Divino<sup>5</sup>, que utiliza un reactor de radiación UV, para desinfectar piscinas de hidroterapia.

#### Proceso de desinfección UV (30-09-15): ensayo tipo 1

**Análisis fisicoquímico:** La tabla 5 muestra los resultados de los análisis fisico-químicos del efluente secundario antes y después de la desinfección UV, ensayo tipo 1.

**Tabla 5.** Análisis fisicoquímico del efluente secundario, ensayo tipo 1.

Parámetro	Fluido del efluente secundario PTAR Totorá	Fluido después del proceso de desinfección UV
Absorbancia, [cm <sup>-1</sup> ]	0,408	0,405
Conductividad, [μS/cm]	567,1	565,7
DBO <sub>5</sub> , [mg de O <sub>2</sub> / l]	59,5	58,6
pH, [unidades de pH]	7,59	7,48
STS, [mg/l]	36	35
Temperatura, [°C]	21,8	21,9
Turbiedad, [UNT]	24,7	24,2

Los resultados de la tabla 5 muestra que los parámetros fisicoquímicos analizados no fueron afectados significativamente por la desinfección UV, y no se ha producido ninguna reacción química, afirmación que está de acuerdo con lo que concluye Vargas<sup>6</sup>, que la radiación UV ha sido ampliamente estudiada como método de desinfección de aguas por presentar una gran ventaja sobre la desinfección por cloro debido a que no deja subproductos tóxicos.

**Análisis bacteriológico:** La tabla 6 contiene los resultados de los TRH con flujos turbulentos estables en función de la cantidad de coliformes fecales (CF), antes y después de la desinfección UV, tipo de ensayo 1 y el porcentaje de remoción de microorganismos patógenos. El porcentaje de remoción de microorganismos que presenta la última columna de la tabla 6 está comprendida entre 73,83 a 80,43 %, rendimientos bajos, esto se debe a que el efluente secundario contiene mucho cantidad de sólidos en suspensión y una alta turbidez, premisa que está de acuerdo con Vargas<sup>6</sup> que indica que la radiación UV tiene algunas limitaciones para su uso que afectan la eficiencia, tales como la presencia de sólidos en suspensión de componentes coloidales y material particulado en el agua, ya que estos materiales sirven como protección a los microorganismos de la radiación UV.

Como la eficiencia de remoción de microorganismos del ensayo tipo 1 presenta valores bajos, para mejorar el proceso es necesario realizar un post tratamiento terciario (filtración y absorción) antes de la desinfección UV, a fin de reducir los sólidos en suspensión y la turbidez del efluente secundario.

**Tabla 6.** Coliformes fecales antes y después de la desinfección UV, ensayo tipo 1, porcentaje de remoción.

TRH, [s]	No, [NMP/ 100 ml] CF iniciales	N, [NMP/ 100 ml] CF sobrevivientes	Remoción %
1,011	212 328	55 591	73,82
1,467	212 328	38 548	81,85
1,936	212 328	27 797	86,91
2,377	212 328	20 323	90,43

Finalmente, para el ensayo tipo 1 desinfección UV, se concluye que con este método no se puede alcanzar la calidad sanitaria del agua para riego no restringido y restringido, porque no se aproxima a los LMP del DS-004-2014-MINAM2 (1000 y 2000 NMP/100 ml), debido a que se obtuvo en la desinfección 20 323 MNP de coliformes fecales sobrevivientes en 100 ml agua.

### Proceso de desinfección UV (30-09-15), ensayo tipo 2

**Análisis fisicoquímico:** La tabla 7 muestra los resultados de los análisis fisicoquímicos del efluente secundario, antes y después del tratamiento previo del agua mediante procesos de filtración y adsorción, para luego realizar la desinfección UV.

**Tabla 7.** Análisis fisicoquímico del efluente secundario ensayo tipo 2

Parámetro	Efluente secundario	Efluente después del filtrado y adsorción
Absorbancia, [cm <sup>-1</sup> ]	0,408	0,284
Conductividad, [μS/cm]	567,1	375,5
DBO <sub>5</sub> , [mg de O <sub>2</sub> / l]	59,5	17,2
pH, [unidades de pH]	7,59	7,68
STS, [mg/l]	36,0	10,0
Temperatura, [°C]	21,8	21,6
Turbiedad, [UNT]	24,7	5,4

En la tabla 7 se observa la disminución de los valores de los parámetros: DBO<sub>5</sub>, STS y turbiedad, valores después del tratamiento previo mediante procesos de filtración y adsorción. La disminución de la concentración de los STS de 36 a 10 mg/l es muy importante porque favorece a la desinfección UV, tal como afirma Dos Santos<sup>7</sup> que la radiación UV inactiva con mejor eficiencia a los microorganismos, cuando la concentración de STS es preferentemente inferior a 10 mg/l.

La Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA)<sup>8</sup>, informa que la temperatura del agua tiene poca o ninguna influencia en la eficiencia de la desinfección con radiación ultravioleta y la turbiedad debe ser tan baja como sea posible, en todo caso deben evitarse turbiedades mayores a 5 UNT, en la tabla 7 se observa que luego del tratamiento previo la turbiedad decrece de 24,7 a 5,4 UNT, valor que indica que se puede alcanzar una buena desinfección UV.

Vargas<sup>6</sup> llega a la conclusión de que el proceso de tratamiento de filtración y la adsorción con carbón activado, son técnicas promisoras debido a que se obtienen efluentes de alta calidad, alta capacidad de remoción de contaminantes estables y por su viabilidad económica, cuando se compara con otras metodologías de tratamiento terciario del agua.

**Análisis bacteriológico:** La tabla 8 contiene en la primera columna los TRH, en la segunda columna los microorganismos sobrevivientes luego del tratamiento previo de filtración y adsorción, en la tercera columna los microorganismos sobrevivientes al proceso de desinfección UV tipo de ensayo 2, en la cuarta columna el porcentaje de microorganismos removidos y en la quinta columna los valores de la relación  $-\log(N/N_0)$ .

**Tabla 8.** Coliformes fecales antes y después de la desinfección UV ensayo tipo 2, porcentaje de remoción.

TRH, [s]	No, [NMP/ 100 ml] CF iniciales	N, [NMP/ 100 ml] CF sobrevivientes	Remoción	
			%	-log(N/No)
1,011	190 194	5 862	96,92	1,511
1,467	190 194	2 776	98,54	1,836
1,936	190 194	1 517	99,20	2,098
2,377	190 194	949	99,50	2,302

En cuanto a la remoción de microorganismo patógenos con este método se mejoró notablemente la eficiencia alcanzando 99,50 % para un TRH de 2,377 s y 949 NMP/100 ml de microorganismos patógenos sobrevivientes.

**TRH de inactivación de coliformes fecales:** El modelo matemático de la ley de Chick permite calcular los TRH de eliminación de CF para una inactivación total de microorganismos, 1000 y 2000 NMP/100 ml de coliformes fecales sobrevivientes, valores LMP en la reutilización de agua categoría 3, riego de vegetales no restringido y restringido.

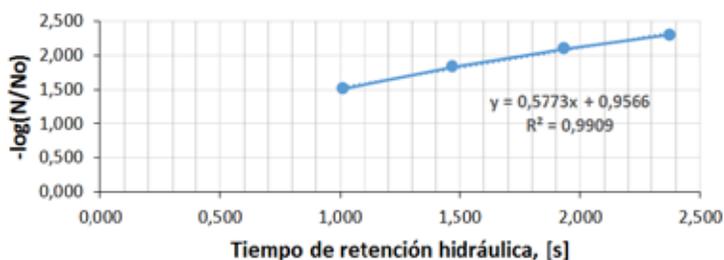
Ley de Chick<sup>9</sup>

$$\frac{N}{N_0} = e^{-kt}$$

k = constante de velocidad de reacción o de decaimiento, [s<sup>-1</sup>]  
N = concentración de microorganismos, [NMP/ 100 ml]  
t = tiempo de retención hidráulica, [s]

$$-\log\left(\frac{N}{N_0}\right) = \frac{k}{2,302585} t$$

La ecuación de Chick integrada presenta la ecuación de una línea recta, entonces al graficar en abscisas  $-\log(N/N_0)$  y en ordenadas los TRH (t) los valores de la primera y última columna de la tabla 8, se obtiene en el gráfico de la figura 2 la ecuación de la línea recta:  $y = 0,5773x + 0,9566$ . Esta ecuación permite calcular los TRH presentados en la tabla 9, según los LMP del DS-004-2017-MINAM2 para la reutilización del agua en riego de vegetales no restringido y restringido.

**Figura 2.** Gráfico de  $-\log(N/N_0)$  versus los TRH, desinfección UV tipo de ensayo 2.

**Tabla 9.** TRH de inactivación de coliformes fecales, riego de vegetales, ensayo tipo 2

Ecuación de la línea recta, figura 3: $y = 0,5773x + 0,9566$		
Coliformes fecales sobrevivientes <sup>3</sup>	Riego de vegetales <sup>2</sup>	TRH de inactivación de coliformes fecales, [s]
Inactivación total 1 NMP/100 ml	--	7,49
1 000 NMP/100 ml	No restringido	2,29
2 000 NMP/100 ml	Restringido	1,77

El TRH o de exposición a la radiación UV para la eliminación total de coliformes fecales totales de 7,49 s, está muy cercano al TRH que presenta Solsana<sup>10</sup>, que indica que las exposiciones normales de microorganismos patógenos a la radiación UV están entre 10 a 20 s.

### Cinética de inactivación: dosis

Espesor medio de la capa líquida (x), entre el reactor y la lámpara <

Área de la pared interna del reactor en contacto con el líquido

$$A_{i_{reactor}} = \pi D_{i_{reactor}} L = \pi 6,3 \text{ cm } 30 \text{ cm} = 593,76 \text{ cm}^2$$

Área exterior de la lámpara del reactor en contacto con el líquido

$$A_{lámpera} = \pi D_{e_{lámpera}} L = \pi 2,6 \text{ cm } 30 \text{ cm} = 245,04 \text{ cm}^2$$

Área media irradiada

$$A_{Media} = \frac{A_{i_{reactor}} + A_{lámpera}}{2} = \frac{593,76 + 245,04}{2} = 419,40 \text{ cm}^2$$

Volumen del reactor

$$V_{reactor} = 775,89 \text{ cm}^3$$

Espesor de la capa líquida

$$V_{reactor} = A_{Media} x$$

$$x = \frac{V_{reactor}}{A_{Media}} = \frac{775,89 \text{ cm}^3}{419,40 \text{ cm}^2} = 1,85 \text{ cm}$$

Potencia efectiva radiación UV

$$Pot_{efectiva} = Potencia_{nominal} x rendimiento = 17 x 0,65 = 11,05 \text{ W}$$

Intensidad de la fuente UV

$$I_0 = \frac{Pot_{efectiva}}{A_{lámpera}} = \frac{11,05}{245,04} = 0,0451 \frac{\text{W}}{\text{cm}^2}$$

Coefficiente de absorción  $\alpha = 2,302585 \times A = 2,302585 \times 0,284 = 0,654 \text{ cm}^{-1}$   
 $A = \text{absorbancia, [cm}^{-1}\text{]}$

Intensidad a través de la capa de agua

$$I = I_0 e^{-\alpha x} = 0,0451 \times e^{-0,654 \times 1,85} = 0,01345 \frac{W}{\text{cm}^2}$$

Dosis de inactivación

$$D = I \times \text{TRH}$$

$D = \text{Dosis, [J/m}^2\text{]}$

$I = \text{intensidad UV, [W/m}^2\text{]}$

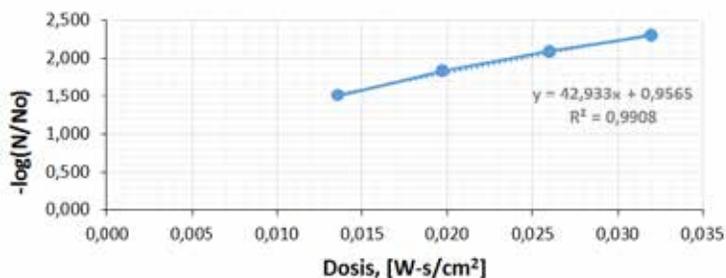
$t = \text{tiempo de exposición de la radiación, TRH, [s]}$

El modelo matemático de la ley de Chick-Watson presenta la siguiente ecuación matemática para calcular la dosis de inactivación para microorganismos:  $-\log(N/N_0) = k/2,302585 D$ . La tercera columna en la tabla 10 muestra las dosis de inactivación para coliformes fecales, ensayo tipo 2.

**Tabla 10.** Dosis de inactivación de coliformes fecales, desinfección UV, ensayo tipo 2

TRH, [s]	I, [W/ cm <sup>2</sup> ]	Dosis, [W-s/cm <sup>2</sup> ]	- log(N/No)
1,011	0,01345	0,01360	1,511
1,467	0,01345	0,01973	1,836
1,936	0,01345	0,02603	2,098
2,377	0,01345	0,03197	2,302

Los resultados de la tercera y cuarta columna de la tabla 10 fueron graficados, obteniéndose la figura 3. La línea recta y su ecuación permiten determinar las dosis respectivas para la eliminación de microorganismos tanto para riego de vegetales no restringidos y restringidos de acuerdo al LMP del DS-004-2017-MINAM<sup>2</sup>.



**Figura 3.** Gráfico de  $-\log(N/N_0)$  versus dosis, desinfección UV ensayo tipo 2

La tabla 11 muestra las dosis determinadas con la ecuación obtenida en la figura 4, dosis necesarias para la desactivación de coliformes fecales para LMP que indica el DS-004-2017-MINAM2 en la reutilización del agua para riego de vegetales.

Según Solsana<sup>10</sup> la dosificación de la radiación ultravioleta requerida para destruir los microorganismos más comunes, coliformes, *Pseudomonas* y otros, varía entre 6000 y 10000  $\mu\text{W}\cdot\text{s}/\text{cm}^2$  y las normas para la dosificación de radiación UV en diferentes países varían entre 16 000 y 38 000  $\mu\text{W}\cdot\text{s}/\text{cm}^2$ , si se comparan estos valores con los obtenidos en la tabla 11, están dentro de la premisa de Solsana.

**Tabla 11.** Dosis necesaria en la inactivación de coliformes fecales, desinfección UV ensayo tipo 2

		Ecuación de la línea recta, figura 4: $y = 42,933x + 0,9565$	
Coliformes fecales Sobrevivientes <sup>2</sup>	Riego de vegetales <sup>2</sup>	Dosis de inactivación de coliformes fecales, [s]	
		[W-s/cm <sup>2</sup> ]	[ $\mu\text{W}\cdot\text{s}/\text{cm}^2$ ]
Inactivación total	1 NMP/100 ml	--	0,1006847
	1 000 NMP/100 ml	No restringido	100 684,7
	2 000 NMP/100 ml	Restringido	0,0308083
			30 808,3
			0,0237967
			23 796,7

Finalmente, de acuerdo con los resultados obtenido en la desinfección UV ensayo tipo 2, se concluye que el agua desinfectada por este método puede ser usada para riego agrícola sin restricciones, debido a la baja carga microbiana de las mismas, 949 NMP de coliformes fecales en 100 ml, parámetro que está por debajo de los LMP establecidos por el D.S. 004-2017-MINAM<sup>2</sup> para aguas categoría 3, riego de vegetales no restringido y restringido y bebidas de animales.

## CONCLUSIONES

La prueba de desinfección UV, del efluente secundario tal como se obtiene en la planta Totorá no alcanzó la calidad sanitaria para riego de vegetales no restringidos y restringidos, toda vez que solamente se llegó a 20 323 NMP/100 ml de coliformes fecales sobrevivientes, valor distante de los LMP del DS-004-2017-MINAM<sup>2</sup> que indica 1 000 y 2 000 NMP/100 ml.

El proceso de desinfección UV del efluente secundario previamente tratada con procesos terciarios de filtración y adsorción alcanzó la calidad sanitaria que exige los LMP del DS-004-2017-MINAM<sup>2</sup> para 1 000 y 2 000 NMP/100 ml de coliformes fecales sobrevivientes con 2,29 y 1,77 s de tiempo de residencia y 30 808,3 y 23 796,7  $\mu\text{W}\cdot\text{s}/\text{cm}^2$  de dosis de inactivación, para agua de riego de vegetales de tallo bajo y alto respectivamente, concluyendo que este proceso de desinfección UV es eficiente para la reutilización del agua para riego agrícola sin restricciones.

Finalmente, se concluye que el estudio de investigación del proceso de desinfección mediante radiación UV del efluente secundario de la PTAR Totorá es una alternativa de solución para la inactivación de los microorganismos patógenos y mejorar la calidad de agua para riego de vegetales de tallo corto y alto sin restricciones, siempre en cuando se realice los procesos de tratamiento terciario de filtración y adsorción antes de la desinfección UV.

## AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen a la Planta de Tratamiento Agua Residual Totorá de Ayacucho y a la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por las facilidades prestadas en el desarrollo de la investigación en sus instalaciones.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MINAM. Decreto supremo N° 003-2010-MINAM. Límites máximos permisibles para efluentes de tratamientos de aguas residuales domésticas o municipales. [Internet] Lima: Diario Oficial El Peruano; 2010. [Citado 12 oct 2017]. Disponible en: <http://www.minam.gob.pe/disposiciones/decreto-supremo-n-003-2010-minam/>
2. MINAM. Decreto supremo N° 004-2017-MINAM. Estándares de calidad ambiental (ECA) para agua, Anexo categoría 3: riego de vegetales y bebidas de animales. [Internet] Lima: Diario Oficial El Peruano; 2010. [Citado 25 set 2017]. Disponible en: <http://www.minam.gob.pe/disposiciones/decreto-supremo-n-004-2017-minam/>
3. Tarrán EP. Desinfección por Luz Ultravioleta. [Internet]. São Paulo; 2004 [Citado 12 de abril de 2015]. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/51327083/Desinfeccion-por-luz-ultravioleta>
4. Rodrigues P. Desinfecção de efluentes de sistemas de tratamentos de esgotos sanitários por meio da radiação ultravioleta. [Tesis de maestría]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 1995 [Citado 23 jul 2015] Disponible en: [http://pelicano.ipen.br/PosG30/TextoCompleto/Paulo%20Rogerio%20Rodrigues%20Camacho\\_M.pdf](http://pelicano.ipen.br/PosG30/TextoCompleto/Paulo%20Rogerio%20Rodrigues%20Camacho_M.pdf)
5. Divino D. Utilização da radiação ultravioleta como fonte alternativa para desinfecção de piscinas de hidroterapia em ambiente fechado. [Tesis de maestría]. Ribeirão Preto: Universidade de Ribeirão Preto; 2007 [Citado 16 abril 2015] Disponible en: <http://www.unaerp.br/documentos/265-denis-divino-lara/file>
6. Vargas G. Tratamiento terciario de esgoto sanitário através de processos oxidativos avançados para obtenção de águas de reuso. [Tesis de doctorado]. Santa Catarina: Universidade de Santa Catarina; 2008 [Citado 23 jul 2015] Disponible en: <https://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/91782>
7. Dos Santos T, de Souza T. Avaliação da eficiência da aplicação de radiação UV na inativação de coliformes totais e *Escherichia coli* na ETE do Sucuri – Cuiabá/MT. *Engenharia Ambiental*. 2009; 6(3): 383-394.

8. EPA: Environmental Protection Agency. Folleto informativo de tecnología de aguas residuales, Desinfección con luz ultravioleta. [Internet] EPA. 832-F-99-064; 1999. [Citado 20 jun 2015]. Disponible en: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-06/documents/cs-99-064.pdf>
9. Franci R. Desinfecção de efluentes sanitários. 1ª Ed. Vitoria: ABES; 2003. p 214.
10. Solsona F, Méndez J. Desinfección del agua. Lima: Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente, Organización Panamericana de la Salud y Organización Mundial de la Salud; 2007. p 94.

## DETERMINACIÓN DE ULTRATRAZAS DE CADMIO (II) POR TÉCNICAS VOLTAMÉTRICAS CON ELECTRODO DE CARBÓN VÍTREO MODIFICADO CON PELÍCULA DE BISMUTO

Hugo Ítalo Romero Bonilla<sup>a\*</sup>, Jazmín Carolina Chiriboga Cabrera<sup>b</sup>,  
Alisson Paola Siguenza Balladares<sup>b</sup>

### RESUMEN

El objetivo de este trabajo consistió en la determinación de ultratrazas de cadmio mediante la técnicas voltamétricas, modificando un electrodo de carbón vítreo con película de bismuto (BiFE). *in situ* con un potencial de pre-concentración  $E_{\text{prec}} = -1,2\text{V}$  y un tiempo de deposición de  $t_{\text{prec}} = 100\text{s}$  en medio de acetato de sodio/ácido acético  $0,1\text{M}$  (pH 4,5) en ausencia de oxígeno, mediante voltamperometría de barrido lineal (LSV) con concentraciones en intervalos de  $100\text{-}800 \mu\text{g.L}^{-1}$  y  $2\text{-}10\text{mg.L}^{-1}$  y voltamperometría de onda cuadrada (SWV) con concentraciones entre  $50\text{-}800\mu\text{g.L}^{-1}$ . Se obtuvieron voltamogramas de potencial vs intensidad de la corriente y gráficos de concentración vs intensidad de la corriente, con linealidades de 0,997, 0,992 y 0,997 respectivamente. Se observó mejor sensibilidad en SWV observando picos más pronunciados tanto para cadmio y bismuto, ubicándose los potenciales de oxidación de cadmio para LSV en  $-0,701\text{V}$ ,  $-0,68\text{V}$  y SWV en  $-0,701\text{V}$ , respectivamente.

**Palabras clave:** cadmio, película de bismuto, carbón vítreo modificado, voltamperometría de barrido lineal, voltamperometría de onda cuadrada.

## DETERMINATION OF CADMIUM (II) ULTRATRACES BY VOLTAMMETRIC TECHNIQUES WITH BISMUTH FILM-MODIFIED VITREOUS CARBON ELECTRODE

### ABSTRACT

The objective of this work was to determine cadmium ultratraces using voltammetric techniques, whit a vitreous carbon electrode modified with bismuth film (BiFE). *in situ* with  $E_{\text{prec}} = -1,2\text{V}$  and a deposition time of  $t_{\text{prec}} = 100\text{s}$  in the medium of sodium acetate/acetic acid  $0,1\text{M}$  (pH 4,5) in the absence of oxygen, using linear scan voltammetry(LSV) whit concentrations of  $100\text{-}800 \mu\text{g.L}^{-1}$  and  $2\text{-}10\text{mg.L}^{-1}$  and square wave voltammetry(SWV) whit concentrations of  $50\text{-}800\mu\text{g.L}^{-1}$ . Were obtained voltamograms of potential vs intensity of the

<sup>a</sup> Grupo de Investigación Aplicaciones Electroanalíticas, Laboratorio de Electroanalítica y Bioenergía, Carrera Ingeniería Química, Universidad Técnica de Machala, Machala, El Oro, Ecuador, Código postal: 170517

\* hromero@utmachala.edu.ec

<sup>b</sup> Semillero de Investigación Carrera de Ingeniería Química, Universidad Técnica de Machala, Machala, El Oro, Ecuador.

current and graphs of concentration vs intensity of the current, with linearities of 0,997, 0,992 and 0,997 respectively. Was observed better sensitivity in SWV observing more pronounced peaks for both cadmium and bismuth, reaching the potential of oxidation of cadmium for LSV -0,701V, -0,68V and SWV in -0,701V.

**Key words:** cadmium; bismuth film; vitreous carbon electrode; linear scan voltammetry; square wave voltammetry

## INTRODUCCIÓN

El cadmio ( $Cd^{2+}$ ) es un metal pesado muy tóxico que está presente en el medio ambiente debido a las actividades industriales realizadas por el hombre, entre sus usos están galvanoplastia, anticorrosivo, estabilizantes para plásticos, aleaciones y baterías, también en agroquímicos como los fertilizantes de fosfato<sup>1</sup>. Asimismo, trazas de este metal son causante de enfermedades como difusión renal, degeneración ósea, insuficiencia pulmonar, daño hepático e hipertensión<sup>2</sup>, dado el caso que el cadmio ingerido es significativamente mayor, en comparación al cadmio que ingresa al organismo mediante vía respiratoria<sup>3</sup>.

La espectroscopía de absorción atómica (AAS), espectroscopía de emisión de plasma acoplada inductivamente (ICPOES), espectrometría de plasma por inducción (ICP-MS) son técnicas ampliamente usadas para el análisis de metales pesados, pero son caras y poco adecuadas para la medición in-situ<sup>2</sup>. En sustitución a estas técnicas analíticas está la voltamperometría de redisolución anódica (ASV), que es una técnica muy útil y versátil para la determinación de iones metálicos traza. Posee óptima sensibilidad de lectura otorgada por un proceso de preconcentración del analito, el mismo que es depositado sobre la superficie del electrodo<sup>4</sup>, lo que hace posible la cuantificación de iones de metales pesados en ppb o en casos también en ppt<sup>5</sup>. Se ha demostrado que esta técnica muestra un notorio incremento en selectividad por algunos iones metálicos, cuando se implementa el uso de electrodos modificados químicamente<sup>6</sup>.

Como herramienta de detección inevitable de iones metálicos se encuentran los electrodos de película de mercurio (MFE), debido a su renovabilidad simple, alta sensibilidad, reproducibilidad para el electroanálisis voltamperométrico<sup>7</sup>. Sin embargo, la alta toxicidad del mercurio limita su aplicación llegando hacer restringido su uso como electrodo para efectuar análisis posteriores<sup>8</sup>. Es así que, el bismuto surge como una alternativa menos contaminante para ser utilizado como electrodo de película, el cual tiene facilidad de formar aleaciones de fusión con otros metales<sup>9</sup>. Adicionalmente, la toxicidad de sus sales son despreciables, por lo cual, no posee límites máximos permisibles por la OMS, es decir no presentan riesgo a la salud<sup>10</sup>. Asimismo, posee alta conductividad eléctrica, pretratamiento rápido, bajo costo, amplia disponibilidad y baja corriente de fondo, por lo que presenta ventajas en comparación a la película del mercurio<sup>11</sup>.

Por otra parte, la concentración del electrolito soporte es importante ya que es clave primordial en la señal de ASV, pudiendo provocar interferencias al momento de la lectura<sup>12</sup>. El objetivo de este trabajo consistió en la determinación de cadmio mediante técnicas voltamétricas, con la modificación de un electrodo de carbón vítreo modificado con película de bismuto (BiFE).

## PARTE EXPERIMENTAL

### Reactivos

Se utilizó agua desionizada con una resistividad (18,2 mΩ.cm) obtenida de un sistema purificador de agua I y II para lavar y preparar las soluciones. Se preparó una solución tampón de acetato de sodio trihidratado más ácido acético (99,99%) ( $\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O} + \text{HCH}_3\text{COO}$ ) 0,1M con un pH de 4,5 como electrolito soporte a partir de reactivos de grado analítico. Se utilizó una solución estándar de  $\text{Cd}^{2+}$  con una concentración de  $1000\text{mgL}^{-1}$ . Todo el material de vidrio a utilizar se lavó previamente con una solución 1:1 de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$  64,9%) enjuagando posteriormente con agua desionizada.

### Equipo

Las mediciones voltamétricas de las soluciones se realizaron en un potenciostato PARSTAT MC Multi-Channel Potentiostat/Galvanostat marca Princeton Applied Research impulsado por software computarizado (VersaStudio) que garantiza un cómodo manejo y fácil acceso a las funciones del equipo. El cual se encontraba conectado a un sistema de tres electrodos. Se utilizó un electrodo de carbón vítreo como electrodo de trabajo de 3mm de diámetro, un alambre de platino de 0,5mm de diámetro como contraelectrodo, y como referencia un electrodo de Ag/AgCl (3M KCl). Todas las mediciones se realizaron en una celda electroquímica de vidrio con una capacidad de 25mL de solución electrolítica.

### Pre tratamiento de la superficie del electrodo de carbón vítreo

El pre tratamiento del electrodo de carbón vítreo se lo realizó antes de ser modificado con la película de bismuto, el cual fue pulido sobre discos de tela marca BUEHLER con agua y polvo de alúmina (óxido de aluminio), utilizando primero la suspensión de 1,0 micrón y luego de 0,3 micrón.

Luego del pre tratamiento se realizó la activación electroquímica del electrodo mediante voltamperometría cíclica múltiple (CV), con un barrido de potencial:  $E_i = -1\text{V}$  y  $E_f = 1\text{V}$  a una velocidad de barrido  $v = 20\text{mV} \cdot \text{s}^{-1}$  y 50 Ciclos.

### Preparación de electrodo de carbón vítreo modificado con BiFE

El estándar de bismuto se lo preparó a partir del nitrato de bismuto pentahidratado ( $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) pesando 0,1 g y aforándolo en un balón volumétrico de 100ml con el electrolito soporte. La modificación del electrodo se la realizó in-situ sobre la solución que contenía el analito, es decir, en la solución se encontraba iones  $\text{Cd}^{2+}$  e iones  $\text{Bi}^{3+}$ . Posteriormente se fijó la concentración de  $3\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  de  $\text{Bi}^{3+}$  en cada una de las muestras.

### Procedimiento

La preparación de las muestras de  $\text{Cd}^{2+}$  se realizó en balones volumétricos de 25ml a partir del estándar de  $\text{Cd}^{2+}$  de  $1000 \text{ mg.L}^{-1}$ , en cada balón se colocaron las concentraciones requeridas de  $\text{Cd}^{2+}$  y  $3 \text{ mg.L}^{-1}$  de estándar de Bi para aforar con la solución electrolítica de acetato de sodio/ácido acético (0,1M, pH 4,5). Las mediciones electroquímicas de las soluciones se realizaron en ausencia de oxígeno, purgando las muestras con gas nitrógeno por un tiempo de 300 s.

La electrodeposición de Cd sobre electrodo de carbón vítreo modificado con película de bismuto *in situ* se realizó aplicando una cronoamperometría  $E_{\text{prec}} = -1,2\text{V}$ ,  $t_{\text{prec}} = 100 \text{ s}$ .

Se aplicó voltametría de barrido lineal (LSV) a muestras con concentraciones de 100, 200, 400, 600 y  $800 \mu\text{l.L}^{-1}$  de Cd a potenciales de -1,2V a 0,2V a una velocidad de barrido de  $0,02\text{V.s}^{-1}$  y muestras con concentraciones de 2,4,6,8 y  $10 \text{ mg.L}^{-1}$  de Cd a las mismas condiciones.

Posteriormente se aplicó voltametría de onda cuadrada (SWV) a muestras con concentraciones de 50, 100, 200, 400,600 y  $800 \mu\text{g.L}^{-1}$  a potenciales de -1,1V a 0,1V, altura de pulso 25mV y una frecuencia de 75Hz. Se realizaron cuatro réplicas de las soluciones.

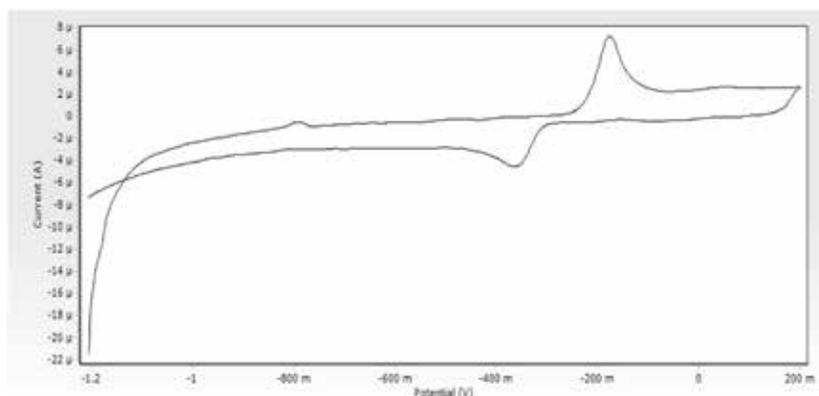
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Optimización de las condiciones analíticas

Para obtener las mejores respuestas en la determinación de cadmio se utilizó el buffer de acetato de sodio/ácido acético 0,1M (pH 4,5)<sup>13</sup>.

### Caracterización inicial de BiFE

El comportamiento redox de BiFE se examinó mediante voltametría cíclica, en electrolito soporte de acetato de sodio/ácido acético 0,1M (pH 4,5) con una concentración de  $3 \text{ mg.L}^{-1}$ , en un rango de potencial de -1,2V a 0,2V, obteniendo un pico de oxidación de -0,175V y pico de reducción de -0,363V (figura 1), siendo el óptimo para la determinación del cadmio. Para ello se utilizaron electrolitos de pH 4,5 para evitar una evolución excesiva del hidrógeno ya que esto puede dificultar el proceso de deposición<sup>14</sup>. Como el bismuto tiene una amplia ventana de potencial negativo, es importante mantener el electrodo en potenciales más negativos a este, para así evitar su oxidación. En este sentido, se mantuvo el electrodo a potenciales más negativos que -0,3V en el electrolito acetato 0,1M(pH 4,5) para mantener la integridad del revestimiento de bismuto.<sup>14</sup>



**Figura 1.** Voltamograma cíclico del comportamiento de bismuto en electrolito soporte de acetato 0,1M (pH 4,5), a potenciales de -1,2V a 0,2V , pico de oxidación de -0,175V y pico de reducción de -0,363V.

### Principio del método

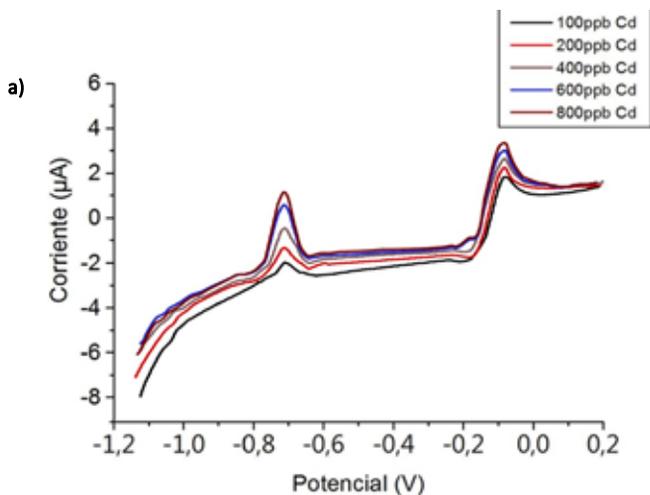
El método de ASV consiste principalmente en la deposición del cadmio ( $\text{Cd}^{2+}$  a  $\text{Cd}^0$ ) sobre la superficie del electrodo de carbón vítreo. Luego de esto, se procedió a la etapa de redisolución, donde el cadmio se oxidó a su ión más estable. El cadmio con la aplicación del barrido lineal de potencial vuelve en forma iónica a la solución dando como resultado un incremento de corriente. A medida que se aumenta la concentración aumentará la corriente, por esto la corriente es proporcional a la concentración del cadmio, lo que nos permite cuantificar y así obtener datos de calibración para poder determinar la concentración del analito ( $\text{Cd}^{2+}$ ) en muestras reales<sup>13</sup>.

### Comportamiento voltamétrico de $\text{Cd}^{2+}$

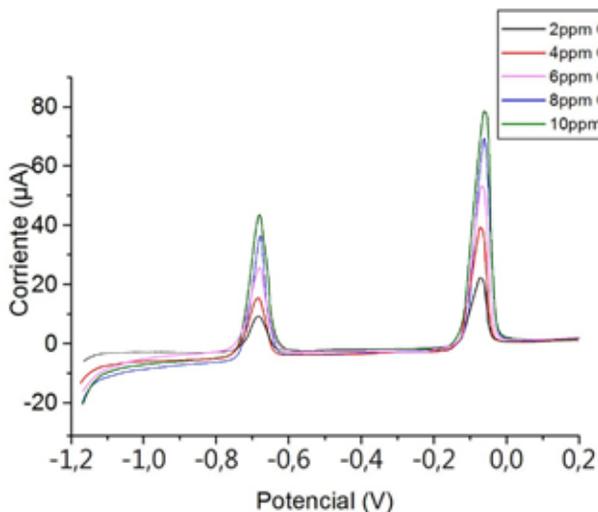
El comportamiento voltamétrico de cadmio con película de bismuto (BiFE) para el análisis ASV se realizó en muestras sintéticas por adición de solución estándar que contenían iones metálicos cadmio ( $\text{Cd}^{2+}$ ) y bismuto ( $\text{Bi}^{3+}$ ). La figura 2 (a y b) muestra una respuesta voltamétrica de barrido lineal, la cual se obtuvo en BiFE en una solución electrolítica de acetato de sodio/ácido acético 0,1M (pH 4,5). En este caso al aplicar un potencial característico inicial de -1,2V y final de 0,2V se obtiene como respuesta la corriente máxima como se observa en los voltamogramas a concentraciones de 100-800  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  en rango bajo (figura 2a) y, a concentraciones entre 2-10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  rango alto (figura 2b). En ambos casos se observan los picos anódicos definidos de cadmio, así como picos de bismuto co-depositado. Por otra parte, también se realizó la determinación de cadmio por voltametría de onda cuadrada a concentraciones de 50-800  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  como se observa en la figura 3. En ella se puede observar una mejor sensibilidad, obteniéndose picos más definidos al aplicar un potencial inicial de -1.1V y final 0.1V para lograr una mejor respuesta en corriente.

### Validación del método

Luego de la optimización de los parámetros de medición por el método de voltametría de barrido lineal se realizó la validación analítica del método, mediante la linealidad de las concentraciones por adición estándar de cadmio frente a la corriente máxima obtenida de la respuesta del ión cadmio. Las figuras 4 y 5 muestran la curva de calibración de cadmio, encontrándose una linealidad a concentraciones entre 100-800  $\mu\text{g.L}^{-1}$  (figura 4) y entre 2-10  $\text{mg.L}^{-1}$  (figura 5), obteniendo una pendiente  $6 \times 10^{-3} \mu\text{A}/\mu\text{g.L}^{-1}$  y un  $R^2$  de 0,997 para concentraciones de rango bajo y  $4,326 \mu\text{A./mg.L}^{-1}$  y un  $R^2$  de 0,992 para concentraciones de rango alto. Asimismo, la figura 6 muestra la curva de calibrado para el sistema de onda cuadrada, encontrándose la linealidad a concentraciones entre 50-800  $\mu\text{g.L}^{-1}$  con una pendiente de  $0,1012 \mu\text{A}/\mu\text{g.L}^{-1}$  y un  $R^2$  de 0,998. Esto nos permite determinar que sí se cumple con los parámetros establecidos según la FDA (Food and Drug Administration) (2001)<sup>15</sup>. Lo que nos permite cuantificar la concentración del analito ( $\text{Cd}^{2+}$ ) de manera confiable en muestras reales.



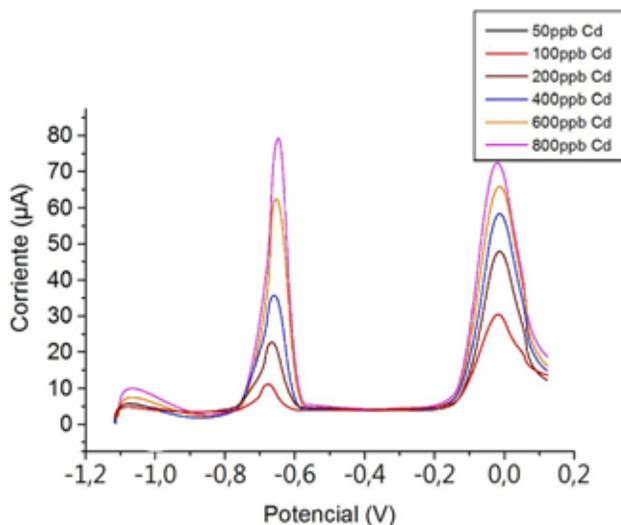
b)



Fuente: Elaboración propia

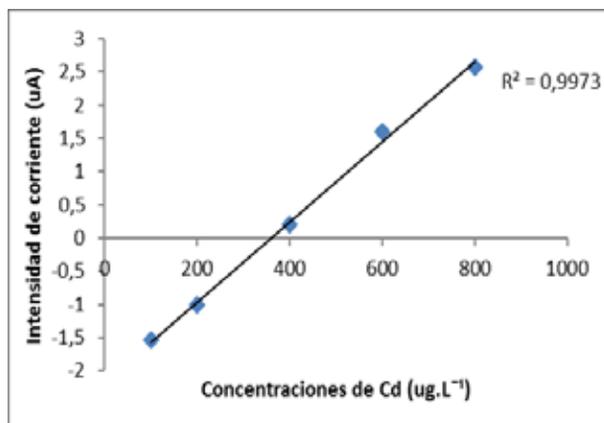
**Figura 2.** Voltamograma de barrido lineal con electrodo de carbón vítreo modificado con BiFE, en medio acetato de sodio/ácido acético 0,1M pH 4,5 a), concentración de  $Cd^{2+}$  100,200,400,600,800  $\mu g.L^{-1}$  y b) 2,4,6,8,10  $mg.L^{-1}$ , potencial de preconcentración  $E_{prec} = -1.2V$ , tiempo de deposición  $t_{prec} = 100$  s, a potenciales de -1,2V a 0,2V y velocidad de barrido de 0,02V.s<sup>-1</sup>, Potencial de Oxidación del Cdmio  $P_{oxi} = -0,701V$  y -0,68V.

c)



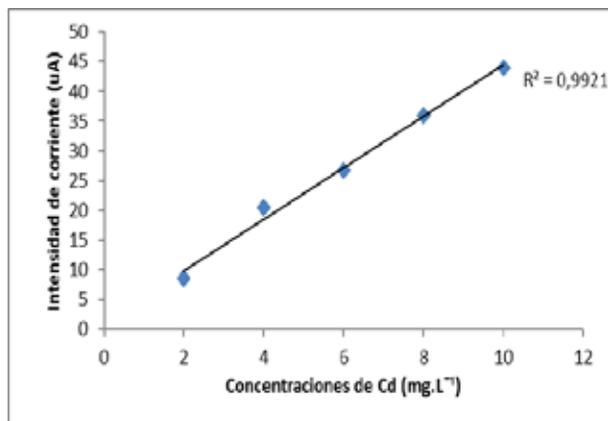
Fuente: Elaboración propia

**Figura 3.** Voltamograma de Onda Cuadrada con electrodo de carbón vítreo modificado con BiFE, en medio acetato de sodio/ácido acético 0,1M pH 4,5, concentración de  $Cd^{2+}$  50,100,200,400,600,800  $\mu g.L^{-1}$  potencial de preconcentración  $E_{prec} = -1.2V$ , tiempo de deposición  $t_{prec} = 100$  s, a potenciales de -1,1V a 0,1V, altura de pulso de 25mV y una frecuencia de 75Hz, Potencial de Oxidación del Cdmio  $P_{oxi} = -0,701V$ .



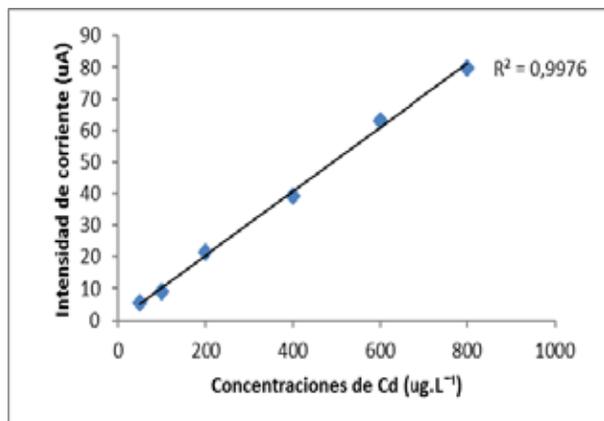
Fuente: Elaboración propia

**Figura 4.** Curva de calibración de cadmio por adición de soluciones estándar de 100, 200, 400,600 y 800  $\mu\text{g.L}^{-1}$



Fuente: Elaboración propia

**Figura 5.** Curva de calibración de cadmio por adición de soluciones estándar de 2, 4, 6, 8,10mg.L<sup>-1</sup>



Fuente: Elaboración propia

**Figura 6.** Curva de calibración de cadmio por adición de soluciones estándar de 50, 100, 200, 400, 600, 800  $\mu\text{g.L}^{-1}$

### Límite de detección, límite de cuantificación y precisión

Los límites de detección y cuantificación se obtuvieron a través de varias mediciones de corriente mediante un blanco analítico a un potencial de  $-0,7\text{V}$ , lo que permitió obtener un límite de detección de  $0,1168 \mu\text{g.mL}^{-1}$  y un límite de cuantificación de  $0,3549 \mu\text{g.mL}^{-1}$  para el método de barrido lineal, y un límite de detección de  $1,70 \mu\text{g.L}^{-1}$  y límite de cuantificación de  $5,17 \mu\text{g.L}^{-1}$  para el método de onda cuadrada. Asimismo, se determinó el coeficiente de variación de 4 muestras para 5 niveles de concentración ( $2-10 \mu\text{g.mL}^{-1}$  y  $50-800 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) a partir de estos datos se determinó la desviación estándar relativa, que según la FDA (Food and Drug Administration) (2001) debe ser menor al 20 % para concentraciones de nivel bajo y menor del 15 % para concentraciones medias y altas<sup>15</sup>. Es así que este parámetro analítico fue de 7,5 % y 6,5 %, lo que nos permite concluir que sí cumple con los parámetros establecidos de validación analítica de métodos según la FDA (Food and Drug Administration) (2001).

## CONCLUSIONES

La voltamperometría de redisolución anódica (ASV) nos permitió obtener resultados confiables, con la modificación del electrodo de carbón vítreo con película de bismuto *in situ* (BiFE) con límites de detección aceptables y una amplia ventana de potencial negativo. Se obtuvieron voltamogramas bien definidos, los cuales mostraron un incremento de la corriente al aumentar la concentración del analito. Con estos datos se realizaron las curvas de calibración que resultaron lineales para los sistemas de voltamperometría de barrido lineal

y onda cuadrada con coeficientes de correlación de 0,997; 0,992; 0,998, respectivamente. También se obtuvieron límites de detección de  $0,1168 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  y  $1,70\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  y límite de cuantificación de  $0,3549 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  y  $5,17\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  para los métodos electroanalíticos antes mencionados. Adicionalmente, la precisión de los métodos se vio reflejada en la desviación estándar relativa con valores de 7,5 % y 6,5 %, lo que nos dio la certeza de que las técnicas son confiables para la medición de trazas de este metal. Comparando las dos técnicas electroanalíticas, la voltamperometría de onda cuadrada resultó ser más sensible, con una mayor linealidad, así como también, mayor rapidez para la determinación de cadmio.

### AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al grupo y semillero de investigaciones Aplicaciones electroanalíticas de la carrera de Ingeniería Química de la Universidad Técnica de Machala por el apoyo brindado.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acosta I, Moctezuma-Zárate M de G, Cárdenas JF, Gutiérrez C. Bioadsorción de Cadmio ( II ) en Solución Acuosa por Biomosas Fúngicas. *Inf Tecnol.* 2007;18(1):9–14.
2. Li J, Guo S, Zhai Y, Wang E. Nafion – graphene nanocomposite film as enhanced sensing platform for ultrasensitive determination of cadmium. *Electrochem Commun.* 2009;11(5):1085–1088.
3. Suciú P, Vega M, Roman L. Determination of cadmium by differential pulse adsorptive stripping voltammetry. *J Pharm Biomed Anal.* 2000;23:99–106.
4. Rutyna I, Korolczuk M. Determination of lead and cadmium by anodic stripping voltammetry at bismuth film electrodes following double deposition and stripping steps. *Electroanalysis.* 2014;26(12):136–141.
5. Ouyang R, Zhu Z, Tatum CE, Chambers JQ, Xue Z-L. Simultaneous stripping detection of Zn ( II ), Cd ( II ) and Pb ( II ) using a bimetallic Hg – Bi / single-walled carbon nanotubes composite electrode. *J Electroanal Chem.* 2011;656:78–84.
6. Zhu L, Xu L, Huang B, Jia N, Tan L, Yao S. Simultaneous determination of Cd ( II ) and Pb ( II ) using square wave anodic stripping voltammetry at a gold nanoparticle-graphene- cysteine composite modified bismuth film electrode. *Electrochim Acta.* 2014;115:471–477.
7. Ashrafi AM, Vytřas K. Codeposited Antimony-Bismuth Film Carbon Paste Electrodes for Electrochemical Stripping Determination of Trace Heavy Metals. *Int J Electrochem Sci.* 2013;8:2095–2103.
8. Roohollah K, Craig B, Xiaobo J, Richard C. Electroanalytical Determination of Cadmium ( II ) and Lead ( II ) Using an in-situ Bismuth Film Modified Edge Plane Pyrolytic Graphite Electrode. *Anal Sci.* 2007;23:283–289.

9. Ho G, Kyu W, Shik J, Goon S. Determination of trace metals by anodic stripping voltammetry using a bismuth-modified carbon nanotube electrode. *Talanta*. 2008;76:301–308.
10. Carvalho LM de, Nascimento PC do, Koschinsky A, Bau M, Stefanello RF. Simultaneous Determination of Cadmium, Lead, Copper, and Thallium in Highly Saline Samples by Anodic Stripping Voltammetry (ASV) Using Mercury-Film and Bismuth-Film Electrodes. *Electroanalysis*. 2007;19(16):1719–1726.
11. Demetriades D, Economou A, Voulgaropoulos A. A study of pencil-lead bismuth-film electrodes for the determination of trace metals by anodic stripping voltammetry. *Anal Chim Acta*. 2004;519:167–172.
12. Bonfil Y, Kirowa E. "Determination of nanomolar concentrations of lead and cadmium by anodic-stripping voltammetry at the silver electrode". *Anal Chim Acta*. 2002;457:285–296.
13. Ortiz D, Betancourt H. Aplicación de técnicas electroanalíticas en la determinación de cadmio en agua potable. [Internet]. Machala: Universidad Técnica de Machala; 2015. [Citado el 22 jul 2016]. Disponible en: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/3648/1/CD000025-TRABAJO%20COMPLETO-pdf>
14. Kokkinos C, Economou A, Raptis I, Efstathiou CE. Lithographically fabricated disposable bismuth-film electrodes for the trace determination of Pb (II) and Cd (II) by anodic stripping voltammetry. *Electrochim Acta*. 2008;53:5294–5299.
15. Ramirez C, Olarte E, Tellez E, Palma M. Validación del método analítico para la determinación de mercurio total en sangre humana por espectrofotometría de absorción atómica Zeeman RA-915 + con el módulo de pirólisis PYRO-915 +. *Rev Colomb Quim*. 2013;42(3):11–66.

## **INFLUENCIA DE LAS ZONAS DE CRECIMIENTO EN LA COMPOSICIÓN FÍSICO QUÍMICA DEL FRUTO DE *Solanum betaceum* Cav.**

Arturo A. Navarro Huaynates<sup>a</sup>, Deysi Guzmán Loayza<sup>a</sup>, Enrique Gonzales Mora<sup>a</sup>

### **RESUMEN**

En el presente estudio se evaluó el fruto del sachá tomate (*Solanum betaceum* Cav.) procedente de dos zonas de la región Cajamarca, los análisis realizados fueron: morfológico, de composición, proximal, perfil mineralógico y fitoquímico. Los resultados promedio de los análisis fueron: morfológico la proporción de pulpa 79,81 %, semilla 13,13 %, cáscara 6,22 %; el peso promedio del fruto fue de 75,61 g; con respecto a las dimensiones del fruto se tiene: largo 65,23 cm y ancho 40,17 cm; de acuerdo a método cielab el color del fruto es rojo amarillento; la dureza de la pulpa fue: -1,75 Lb; contenido de humedad de 84,45 %; cenizas de 1,02 %, proteínas de 2,02 %, lípidos 0,065 %, fibra cruda de 8,03 %, extracto libres de nitrógeno de 4,37 % y sólidos solubles de 9,83 °Brix. Se identificaron metabolitos como: aminoácidos libres, taninos, flavonoides, leucoantocianidinas y alcaloides. El contenido promedio de polifenoles fue de 96,915 mg EAG/100g de pulpa y el contenido promedio de flavonoides fue de 158,64 mg EQ/100 g de pulpa. En el perfil mineralógico se destaca la presencia de Na, K, Ca, Mg y P; Fe, Cu, Zn, Mn, B y Si.

**Palabras clave:** *Solanum betaceum*, metabolitos secundarios, minerales, flavonoides, polifenoles.

## **INFLUENCE OF GROWTH ZONES ON THE PHYSICAL CHEMICAL COMPOSITION OF THE FRUIT OF *Solanum betaceum* Cav.**

### **ABSTRACT**

In the present research, the fruit of the tomato sachá (*Solanum betaceum* Cav.) From two zones of the Cajamarca region was evaluated, a morphological, compositional, proximal, mineralogical and phytochemical profile was evaluated. The average results of the analyzes were: morphological the proportion of pulp 79,81 %, seed 13,13 %, husk 6,22 %; the average weight of the fruit was 75,61 g; with respect to the dimensions of the fruit we have: length 65,23 cm and width 40,17 cm; According to cielab method the color of the fruit is yellowish

---

<sup>a</sup> Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Nacional Agraria La Molina, Av. La Molina s/n, Lima, Perú, deysigl@lamolina.edu.

red; the hardness of the pulp was: -1,75 Lb; 84,45 % moisture content; ash of 1,02 %, proteins of 2,02 %, lipids 0,065 %, crude fiber of 8,03 %, nitrogen-free extract of 4,37 % and soluble solids of 9,83 ° Brix. Metabolites were identified as: free amino acids, tannins, flavonoids, leucoanthocyanidins and alkaloids. The average content of polyphenols was 96,915 mg EAG / 100g of pulp and the average flavonoid content was 158.64 mg EQ / 100 g of pulp. In the mineralogical profile the presence of Na, K, Ca, Mg and P stands out; Fe, Cu, Zn, Mn, B and Si.

**Key words:** *Solanum betaceum*, secondary metabolites, minerals, flavonoid, polyphenols.

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad existe la necesidad de consumir o incluir en nuestra dieta diaria un porcentaje elevado de frutas y verduras, ya que estos alimentos nos favorecen con micronutrientes principalmente, tales como minerales, fibras y vitaminas además de compuestos polifenólicos<sup>1,2</sup>. *Solanum betaceum* Cav. de la familia Solanaceae, originaria de la vertiente oriental de los Andes<sup>3</sup>, comúnmente llamado sacha tomate, tomatillo en Perú, está ampliamente distribuido en nuestro territorio, esta especie crece entre los 1500 a 3000 msnm, sus frutos son consumidos en forma directa usándose en la preparación de diversos potajes, también tiene uso medicinal en el tratamiento de afecciones a la garganta, gripe, problemas hepáticos y control del colesterol<sup>2,3</sup>. Actualmente, existen muy pocos estudios reportados de este fruto en Perú, por lo general no indican la procedencia del mismo y por ello su composición varía dependiendo de la zona de origen<sup>4</sup>. En la presente investigación se planteó realizar la evaluación morfológica, nutricional, fitoquímica, cuantificar flavonoides y polifenoles y perfil mineralógico del fruto de *Solanum betaceum* Cav. para caracterizarlo en función de su procedencia.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Descripción de las zonas de estudio<sup>5</sup>

**Zona 1:** Distrito de Celendín, presenta temperatura mínima anual promedio de 9,9°C, máxima anual promedio de 19,9°C y media anual promedio de 14,2°C, la precipitación promedio total anual es de 986,41 mm, su topografía es casi llana a fuertemente inclinada, con pendiente promedio de 2-20 % sus suelos son de fertilidad media, los que pueden ser dedicados a actividades agrícolas y pecuarias, se encuentra ubicado dentro de la zona de vida conocida como Bosque húmedo-Montano bajo tropical (bh-MBT).

**Zona 2:** Distrito de Llacanora presenta una temperatura mínima anual promedio de 6,3°C, máxima anual promedio de 20,8°C y media anual promedio de 13,6°C y la precipitación promedio total anual es de 499,40 mm, presenta laderas inclinadas o muy empinadas, con pendientes entre 10 y 70 %; el suelo pertenece al grupo de leptosol, que son suelos

desarrollados mayormente a partir de rocas areniscas cuarcíticas y en partes derivados de rocas calizas y volcánicas. La fertilidad natural es baja; con niveles bajos de materia orgánica, niveles medios a bajos en nitrógeno total, medios en fósforo disponible, medios a altos en potasio disponible y saturación de bases baja a media. Su aptitud se orienta a tierras de protección como refugio de la fauna silvestre, se encuentra ubicado dentro de la zona de vida conocida como Bosque seco-Montano bajo tropical (bs-MBT).

### **Muestreo de los frutos**

Se obtuvieron 1,5 kg por árbol, seleccionándose frutos maduros, en buen estado físico y sanitario.

### **Reactivos y equipos**

Todos los reactivos utilizados fueron calidad p.a. Los equipos utilizados fueron estufa eléctrica Heraeus (temperatura máxima  $105 \pm 5^\circ\text{C}$ ), balanza digital marca Ohaus de precisión 0,1mg; colorímetro Lovibond marca LC100 para la medida del color; penetrómetro Force Gauge modelo PCE-FM200 para la determinación de la dureza o firmeza, cuantificación de polifenoles y flavonoides totales, se utilizó el espectrofotómetro Helios  $\gamma$ , como estándares se utilizaron patrones de ácido gálico con 98 % de pureza y quercetina con 95 % de pureza, EtOH al 95 %,  $\text{AlCl}_3(\text{p.a.})$ , acetato de potasio(p.a), para la cuantificación de minerales se utilizó el espectrofotómetro de plasma inducido (ICP), equipo micro Kjeldahl en la determinación de proteínas; para el análisis morfológico pie de rey, marca Vogel, sensibilidad  $150 \times 0,01 \text{mm}/6 \times 0,0005''$ .

### **Métodos de análisis**

#### **Preparación de las muestras para los análisis**

Los frutos se pulpearon en forma manual, la pulpa obtenida se secó en estufa a  $40^\circ\text{C}$  por aproximadamente una semana, una vez secas se molió y tamizó para asegurar la homogeneidad de la muestra, se empacó en bolsas plásticas y se codificaron, luego se refrigeraron hasta su análisis.

**Cuantificación de polifenoles**, se siguió la metodología descrita por Romero (2011)<sup>4</sup>, los resultados se expresaron como equivalentes de ácido gálico/100 g de pulpa (EAG).

**Cuantificación de flavonoides**, se siguió la técnica utilizada por Agudelo (2013)<sup>6</sup>, utilizando como patrón quercetina, se preparó una solución madre, pesando 10mg del patrón y disolviéndolo en etanol al 80 % hasta volumen final de 10mL y a partir de ella se realizó una curva estándar con las siguientes concentraciones 12,5; 25; 50 y 100 mg/L, obteniéndose un coeficiente de correlación de 0,9891, para las muestras se pesaron 88 gramos de pulpa fresca y se le añadió 100 mL de etanol al 80 %, se sónico por 30 min, se filtró en papel whatman N°44 y se concentró en rotavapor hasta sequedad, luego, a partir de este extracto, se pesaron

aproximadamente 0,11 g y se llevó a un volumen de 5 mL con una mezcla de MeOH:H<sub>2</sub>O (1:1); de esta solución se midieron 0,5 mL en un tubo de ensayo y se le agregaron los siguientes reactivos 1,5 mL de EtOH al 95 %, 0,1 mL de AlCl<sub>3</sub>(10 %), 0,1 mL de acetato de potasio 1M, 2,8 mL de agua destilada, se reposó a temperatura ambiente por 30 min, luego se leyó a 415 nm, los resultados se expresaron como equivalentes de quercetina/ 100 g de pulpa (EQ).

### Análisis fisicoquímico

Se utilizaron los métodos de la Association of Official Analytical Chemists AOAC (2007)<sup>T</sup> para el análisis proximal (determinación de humedad N° 930.15; determinación cenizas N°942.05; determinación de nitrógeno total N° 955.04; determinación de fibra cruda N°962.09; determinación de extracto etéreo N° 920.39).

### Análisis estadístico

El diseño fue en dos bloques (correspondientes a las dos zonas geográficas) se trabajó por cada zona con tres individuos. Se utilizaron pruebas de Levene para ver la homogeneidad de las varianzas y también la prueba de Kolmogorov-Smirnov para ver la normalidad y prueba de T de Student para determinar si las medias son iguales. En todos los ensayos se realizaron cinco repeticiones.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se presenta el análisis morfológico y observamos que la porción de pulpa de los frutos es alta de la zona 1, presentando mayor tamaño y ligeramente angostos a los reportados por Torres (2012)<sup>8</sup>.

**Tabla 1.** Análisis morfológico del fruto de sacha tomate *Solanum betaceum* Cav.

Propiedades físicas	Zona 1	Zona 2
Cáscara (g)	4,02	6,14
Pulpa (g)	52,94	76,72
Semillas (g)'	6,37	16,21
Pedúnculo (g)	0,53	9,93
Masa (g)	65,72 ± 6,58	49,89 ±8,66
Largo del fruto (mm)	68,30±4,52	62,17±4,83
Ancho del fruto (mm)	41,61± 2,03	38,74±2,27
Cromaticidad L*	47,93±3,22	47,32±3,43
Cromaticidad a*	31,33 ±1,73	27,85±2,59
Cromaticidad b*	32,47 ± 2,27	33,22±2,23
Dureza (Lb)	-1,66±0,36	-1,84±0,27

'El valor incluye al tejido locular y placentario.

Los frutos presentan coloraciones dentro de las tonalidades de rojo amarillentas, como lo demuestran los valores positivos de  $a^*$  y  $b^{*9}$  para ambas zonas, el color de la cáscara está influenciada por los cambios con el estado de madurez de los frutos<sup>10</sup>, la diferencia de valores de  $a^*$  entre ambas zonas probablemente se deba a que los frutos de la zona 1 estén más expuestos a la radiación solar, provocando que la planta sintetice componentes coloreados que los de la zona 2<sup>11,12</sup>; en cuanto a la dureza o firmeza los valores negativos significan que los frutos estaban en buen estado, no se encontraban demasiado maduros, ya que estos frutos al no ser climatéricos se deben cosechar cerca de la madurez de consumo para obtener las mejores características organolépticas<sup>13</sup>.

En el tabla 2 se observa la composición química del fruto de *sacha tomate*, en este cuadro se compara con valores determinados en Colombia<sup>14</sup>, Venezuela<sup>8</sup> y Perú<sup>13</sup> (lugar no determinado) el contenido de proteínas está dentro de los valores comparados, el de lípidos difieren mucho, siendo los más bajos de los cuatro y son los esperados ya que al tratarse de frutos estos no acumulan dichos componentes en sus tejidos; un fruto es apreciado por su contenido de fibra, por tanto los frutos de la zona 2 son los que presentan mayor contenido debido a la mayor presencia de tejido placentario rodeando a las semillas condicionando la forma, volumen, composición química y calidad de los frutos que al compararlos con los otros autores son ligeramente mayores a los reportados por Revelo (2014)<sup>14</sup>. En cuanto al contenido de las sustancias minerales representados como cenizas son valores cercanos a los reportados por Torres (2012)<sup>8</sup> y Rojas (2013)<sup>10</sup>, y estas representan el contenido mineral que el fruto ha almacenado hasta su cosecha.

**Tabla 2.** Composición química del fruto de *Solanum betaceum* Cav. por 100 gramos de porción comestible.

Componente	Contenido				
	Revelo (2014)	Torres (2012)	Rojas (2013)	Zona 1	Zona 2
Humedad (%)				84,27±0,50	84,64±0,16
Proteínas crudas (%) (factor 6,25)	3,33±0,73	1,78±0,14	1,49±0,02	2,27±0,03	1,78±0,01
Lípidos (%)	3,28±0,93	0,16	0,34±0,01	0,07±0,007	0,06±0,006
Fibras crudas (%)	5,47	4,10±0,00	1,11±0,02	6,19±0,09	9,87±0,21
Cenizas (%)	6,25±0,47	0,88±0,01	0,83±0,03	1,03±0,009	1,02±0,009
ELN (%)*	-	-	7,50±0,15	6,14±0,10	2,60±0,21
Sólidos solubles °Brix	9,05±0,23	10,51±1,20	11,09±0,27	10,17±0,89	9,50±1,08

\*ELN: Extracto libre de nitrógeno

El detalle de la composición mineral se muestra en la tabla 3, donde observamos que destacan el fósforo, magnesio, potasio y calcio, los valores para estos elementos son bajos a los reportados por otros autores para la mayoría de los elementos identificados, pero en el caso del potasio se cuantificó 3510 mg/kg para la zona 1 y 4248,687 para la zona 2 y Torres (2012)<sup>8</sup> reporta 170 mg/kg. Esta notoria diferencia en cuanto a la cantidad de los minerales se debería a que los suelos de la zona 1 tienen niveles medios de fósforo y contenidos elevados en potasio<sup>6</sup>, otra razón por la que un fruto tiende a almacenar mayor cantidad de un mineral que otro es la competencia que existe entre los minerales, así, en condiciones de exceso de potasio en el suelo, la planta incrementa el consumo de este elemento pudiendo interferir en la absorción y la disponibilidad de otros minerales como el calcio y magnesio.

**Tabla 3.** Perfil mineralógico del fruto de *Solanum betaceum* Cav.

Minerales identificados	Zona 1	Zona 2
Boro (mg/kg) (L.C: 0,25mg/kg)	0,801	0,690
Sodio (mg/kg) (L.C: 1,5mg/kg)	16,898	41,091
Magnesio (mg/kg) (L.C: 0,35mg/kg)	150,957	123,322
Silicio (mg/kg) (L.C: 0,25mg/kg)	1,802	4,411
Fósforo (mg/kg) (L.C: 0,5mg/kg)	206,974	199,378
Potasio (mg/kg) (L.C: 4,5mg/kg)	3 510,939	4248,687
Calcio (mg/kg) (L.C: 2,5mg/kg)	89,607	92,433
Manganeso (mg/kg) (L.C: 0,05mg/kg)	0,791	<0,05
Hierro (mg/kg) (L.C: 0,2mg/kg)	<0,2	0,924
Cobre (mg/kg) (L.C: 0,05mg/kg)	0,527	0,525
Zinc (mg/kg) (L.C: 0,05mg/kg)	0,879	0,661

En el análisis elemental no se identificaron elementos pesados como plomo, cromo, cadmio y mercurio. Debemos destacar que el contenido de metabolitos primarios varía de una zona a otra, en donde se puede ver notablemente la influencia de las condiciones climáticas como las horas de luz y la precipitación pluvial en el desarrollo de los frutos.

En la tabla 4 se presentan los resultados de la evaluación fitoquímica y se observa la presencia de taninos, flavonoides, leucoantocianidinas, compuestos que conforman el grupo de los polifenoles, presencia que es similar a los reportados en frutos de *S. betaceum* de El Salvador<sup>15</sup>, en *Solanum multifidum* y *Lycianthes lycioides*, de Perú<sup>6,15</sup>; y en frutos de *Solanum crinitipe*; grupos que le estarían otorgando poder antioxidante a este fruto ya que esta característica depende de la concentración y de la naturaleza de los compuestos que están presentes en él. Estos resultados evidencian la presencia de flavonoides en la familia Solanaceae y además estarían contribuyendo a la coloración roja de la cáscara.

**Tabla 4.** Identificación de los metabolitos secundarios

Metabolitos	Zona 1	Zona 2
Taninos	+	+
Flavonoides	+	+
Aminoácidos libres	+	-
Esteroides	-	-
Quinonas	-	-
Cardenólidos	-	-
Alcaloides	+	+
Luecoantocianidinas	+	+

Presencia: + no identificado: -

La familia de las solanáceas, especialmente las del género *Solanum*, son conocidas por sintetizar alcaloides<sup>15</sup>, con estos resultados positivos se comprueba su presencia, además observamos que no existe diferencia de la presencia entre la zona 1 y 2.

En base a estos resultados fitoquímicos se cuantificó los flavonoides y polifenoles, los resultados se muestran en la tabla 5.

**Tabla 5.** Cuantificación de flavonoides y polifenoles en pulpa de *Solanum betaceum* Cav.

Metabolitos	Zona 1	Zona 2
Flavonoides (mg EQ/100g pulpa)	157,78±0,405	159,50±0,168
Polifenoles (mg EAG/100g pulpa)	88,84±0,687	104,99±0,586

Algunos compuestos polifenólicos tienen un importante papel en la tolerancia al estrés en las plantas; la deficiencia de agua produce un aumento de los niveles de estos compuestos, como observamos en los valores de la zona 2 que es mucho mayor con respecto a los de la zona 1 e igualmente podemos destacar la diferencia en el contenido de flavonoides entre ambas zonas, donde apreciamos la influencia de las condiciones climáticas, como bajas temperaturas, bajas precipitaciones y suelos con baja fertilidad, características que estarían influenciando en los valores presentados para la zona 2.

## CONCLUSIONES

El lugar donde se desarrolla una planta o un conjunto de plantas influye significativamente en su desarrollo físico y composición química, como lo demuestran los resultados obtenidos. Considerando la importancia de la presencia y contenido de polifenoles y flavonoides, los frutos de la zona 2 serían de mejor calidad, también podemos destacar que se podría obtener mayor producción de estos metabolitos estimulando a la planta bajo ciertas condiciones.

Finalmente, de acuerdo a las diferentes características de las zonas de estudio, los frutos de *Solanum betaceum Cav.* tienen un importante aporte nutricional, mineralógico, además de sustancias que cumplen una función importante como protectores contra el estrés oxidativo, tales como los polifenoles, flavonoides y leucoantocianidinas.

## AGRADECIMIENTOS

Esta investigación se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Pulpa y Papel del área de Transformación Química de la Madera de la Facultad de Ciencias Forestales de la UNALM. Al Técnico de laboratorio Luis E. Cabrera Vaquerizo por su apoyo en el desarrollo de esta investigación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kuskoski EM, Asuero AG, Troncoso AM, Mancini-Filho J, Fett R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante de pulpa de frutos. *Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas* [Internet]. 2005; 25(4): 726-732. [Citado 13 ago 2016] Disponible en: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612005000400016](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612005000400016)
2. Chávez CCA, Ortiz OKA. Efecto del consumo de jugo de tomate de árbol sobre indicadores bioquímicos en el personal administrativo de la Universidad Técnica del Norte, Ibarra. Periodo 2014-2015. [Tesis]. Ibarra: Universidad Técnica del Norte, Facultad de Ciencias de la Salud; 2016.
3. Cano LAP. Extracción y uso de tres pigmentos naturales a partir de tomate de árbol árbol (*Solanum betaceum Cav.*), mortiño (*Vaccinium mytillus L.*) y mora de castilla (*Rubus glaucus*) como alternativa colorante natural para alimentos. [Tesis]. Sangolquí: Escuela Politécnica del Ejército: Departamento de ciencias de la vida; 2011.
4. Romero PS, Domínguez TG, Guzmán LD. Cuantificación de polifenoles en hojas de un clon de *Uncaria tomentosa* (Will. Ex. Shult) D.C. proveniente de tres localidades de la región Ucayali. *Rev Soc Quím Perú.* 2014; 80(3): 174-182.
5. Poma W, Alcántara G. Estudio de suelos y capacidad de uso mayor del departamento de Cajamarca 2010-2011. [Internet]. Cajamarca: Gobierno Regional de Cajamarca. [Citado 22 may 2016]. Disponible en: <http://zeoot.regioncajamarca.gob.pe/sites/default/file/INFSUELOSZEE091.pdf>.

6. Agudelo I, Wagner HL, Gurni A, Ricco A. Dinámica de polifenoles y estudio anatómico-histoquímico en *Schinus longifolius* (Lindl.) Speg. (Anacardiaceae) en respuesta a la infección por *Calophya mammifex* (Hemiptera – Calophyidae). *B Latinoam Caribe Pl.* 2013; 12(2):162-175.
7. AOAC. Official Methods of Analysis. Washington D.C.: Association Official Analytical Chemist Analytical Chemists; 2007.
8. Torres A. Caracterización física, química y compuestos bioactivos de pulpa de tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) (Cav.) Sendtn. *Arch Latinoam Nutr.* 2012; 62(4): 381-388.
9. X- Rite. Guía para entender la comunicación del color. [Internet] 2012. [Citado 6 jul 2017]. Disponible en: [http://www.mcolorcontrol.com/archivos/L10-001\\_Understand\\_Color\\_es.pdf](http://www.mcolorcontrol.com/archivos/L10-001_Understand_Color_es.pdf)
10. Rojas BDS. Efecto de la estandarización y tratamiento térmico en el contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en néctar de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.). [Tesis postgrado]. Lima, Perú: Universidad Nacional Agraria La Molina, Facultad de Industrias Alimentarias; 2013.
11. Belitz H, Grosch W, Schieberle P. Química de los Alimentos. 3ª ed. Zaragoza: Editorial Acribia; 2011.
12. Barcelo J, Nicolas G, Sabates B, Sanchez R. Fisiología vegetal. Madrid: Ediciones Piramide; 2009.
13. Chapoñan RMA, Medina VJI. Determinación del tiempo de vida útil de una salsa picante a partir de rocoto (*Capsicum Pubescens*) y tomate de árbol (*Solanum betaceum*). [Tesis]. Nuevo Chimbote, Perú: Universidad Nacional de El Santa, Facultad de Ingeniería; 2014. [Citado 3 ene 2017]. Disponible en: <http://repositorio.uns.edu.pe/handle/UNS/1947>
14. Revelo VDA. Micro encapsulación de tomate de árbol rojo (*Solanum betaceum* Cav.) mediante spray drying para aplicación en productos lácteos. [Tesis postgrado]. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrarias. 2014. [Citado 12 Jul 2017]. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/46091/1/1113639059.2014.pdf>
15. Soto M. Estudio fitoquímico de las hojas, flores y frutos de *Solanum multifidum* Lam. y *Lycianthes lycioides* (L.) Hassl. (Solanaceae) procedentes del Cerro Campana, Región La Libertad-Perú. *Arnaldoa.* 2014; 21(1): 91-104.

## **IDENTIFICACIÓN DE LOS SITIOS DE UNIÓN DEL PLOMO EN LA SUPERFICIE DEL ADSORBENTE DE RESIDUOS DE PELOS DE LA INDUSTRIA CURTIEMBRE**

Carmen Carola Palomino Amorín<sup>a</sup>, Lena Tellez Monzon<sup>a</sup>, Lizardo Visitación Figueroa<sup>a</sup>

### **RESUMEN**

La presente investigación tuvo como objetivo identificar los grupos funcionales que son responsables de la adsorción de Pb(II) sobre los residuos de pelos tratados del proceso de pelambre enzimático de las curtiembres. Para este propósito se realizó la preparación del adsorbente, que consistió en lavar los residuos de pelos con el fin de desencalar y bajar el pH de 12 a neutro, tras lo cual se secaron y se les aplicó el tratamiento de hidrólisis ácida, al término del cual estos fueron lavados, secados y molidos. Luego se colocó en agitación los pelos tratados con la solución de Pb(II) en un rango de tiempo y pH, para el estudio de isotermas de adsorción y el estudio cinético. Al término de los cuales se realizó una caracterización química, a través del análisis FTIR y del análisis DRX. Así también una caracterización física con un análisis SEM, por medio de dos detectores del equipo. Estos análisis se realizaron en tres muestras, siendo estos los residuos de pelos sin y con tratamiento y los residuos de pelos tratados usados en la adsorción de Pb(II). Los resultados obtenidos mostraron que los grupos funcionales responsables de la adsorción de Pb(II) son el carboxilo, amino y los grupos que contienen azufre (S=O), que se encuentran en la superficie del bioadsorbente.

**Palabras clave:** plomo, queratina, FTIR, bioadsorbente, bioadsorción, pelambre.

## **IDENTIFICATION OF LEAD UNION SITES ON THE HAIR ADSORBENT SURFACE OF THE TANNERY INDUSTRY**

### **ABSTRACT**

The objective of this research was to identify the functional groups that are responsible for the adsorption of Pb (II) on the treated hair residues of the enzymatic unhairing process of the tanneries. For this purpose was made the preparation of adsorbent, which consisted in washing hair residues in order to deliming and lower the pH of 12 to neutral, after which they were dried and was applied these the treatment of acid hydrolysis, at the end of which these were washed, dried and ground. Then the hairs treated with the Pb (II) solution were placed in agitation in a range of time and pH, for the study of adsorption isotherms and the kinetic

---

<sup>a\*</sup> Centro de Investigación en Química, Toxicología y Biotecnología Ambiental del Departamento de Química de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima-Perú.  
e-mail: carolapa16@gmail.com

study. At the end of which a chemical characterization was carried out through the FTIR analysis and the XRD analysis. Thus also a physical characterization with a SEM analysis, by means of two detectors of the equipment. These analyses were carried out in 3 samples being these residues of hairs without and with treatment and the residues of treated hairs used in the adsorption of Pb (II). The results obtained showed that the functional groups responsible for the adsorption of Pb (II) are the carboxyl, amino and the groups containing sulphur (S = O), which are on the surface of the bioadsorbent

**Key word:** lead, keratin, unhairing, FTIR, bioadsorbent, bioadsorption.

## INTRODUCCIÓN

La presencia de plomo en el agua potable, incluso a bajas concentraciones, puede causar enfermedades tales como anemia, hepatitis y síndrome nefrótico<sup>1</sup>. El plomo es no biodegradable y puede acumularse en los tejidos vivos, con lo que se concentra en toda la cadena alimentaria y puede ser fácilmente absorbido por el cuerpo humano<sup>2</sup>. La contaminación del agua por plomo se debe a los efluentes industriales no tratados, generados por las fábricas de tetraetilo de plomo, pinturas, baterías, municiones, cerámicas de vidrio, minería, entre otros. El plomo es un metal pesado tóxico y, debido al daño que puede producir su ingesta, la Agencia de Protección Ambiental (EPA) lo ha clasificado entre las 20 sustancias químicas más peligrosas para la salud humana; asimismo, estableció el límite máximo permisible de plomo en agua potable de 0,001 ppm<sup>3</sup>.

Existen distintas alternativas para remover el plomo en las aguas residuales como el ajuste del pH básico, coagulación sedimentación, ósmosis inversa, intercambio iónico y remoción con adsorbentes<sup>4</sup>. La adsorción, en comparación con otro método, parece ser un proceso atractivo a la vista de su eficiencia y la facilidad con la que se puede aplicar en el tratamiento de aguas residuales que contienen metales pesados<sup>5</sup>. Pero tiene una desventaja, el proceso de adsorción es caro debido a los altos costos de los adsorbentes y al proceso de regeneración. El uso de adsorbentes, a base de materiales orgánicos, surge como una alternativa industrialmente atractiva para remover metales; debido a sus ventajas en la capacidad de disminuir la concentración de iones metálicos a niveles de partes por billón (ppb), producida por su alta afinidad por los cationes metálicos principalmente, su fácil disponibilidad, así como por su relativo bajo costo de elaboración<sup>6</sup>.

Pelos y plumas son subproductos residuales de industrias, tales como las de curtido de pieles, las chacineras, los mataderos de pollos, etc. En la mayoría de los casos, estas biomásas, constituidas casi al 100 % por la proteína más abundante en el planeta, es decir, la queratina, son incineradas o biodegradadas en vertederos sin llegar a ser utilizadas en diferentes procesos tecnológicos aplicados<sup>7</sup>.

Las proteínas de queratina son materiales potencialmente útiles para usar como adsorbentes o sistemas de filtración para la eliminación de contaminantes tóxicos, debido al número

de grupos funcionales presentes en las cadenas principales y secundarias de las proteínas<sup>8</sup>, entre ellos tenemos a los grupos carboxilo (R-COOH), hidroxilo (R-OH), amino (R-NH<sub>2</sub>) y sulfhidrilo (R-SH). Estos grupos funcionales permiten la fuerte atracción de los iones metálicos a las materias queratínicas, dándoles propiedades bioadsorbentes ideales para eliminación de metales pesados de las aguas residuales<sup>9</sup>.

La presente investigación tiene como objetivo la identificación de los grupos funcionales que son responsables de la adsorción de Pb(II) sobre los residuos de pelos tratados del proceso de pelambre enzimático de la curtiembre.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Preparación del adsorbente:** 2 kg de residuos de pelos del proceso de pelambre enzimático de la curtiembre fueron lavados con 2 L de agua a 28°C, 0,1 kg de sulfato de amonio y 0,01 kg de Tandestal® BASE (desencalante que contiene sales de hidrólisis ácida y ácidos complejantes de calcio) por un tiempo de 10 minutos con el fin de desencalar y bajar el pH 12 hasta neutro, luego se les agregó 0,02 kg de Tamplex® FLA (complejante de calcio) cada 15 minutos para terminar de bajar el pH a 7. Después se lavaron con agua, se escurrieron y finalmente se secaron a temperatura ambiente. A continuación, se aplicó el tratamiento de hidrólisis ácida a las muestras de pelos, el cual se realizó por incubación de estos con HCl 8M (15.1 cm<sup>3</sup>/g pelo) durante 16.5 h<sup>7</sup>. Tras el tratamiento de hidrólisis, los pelos se lavaron repetidas veces con agua destilada y luego se secaron a temperatura ambiente. Por último, los pelos se pasaron por el cernidor, con el fin de que no se presenten grumos en la muestra.

**Caracterización del adsorbente:** Los residuos de pelos, provenientes del pelambre enzimático de la curtiembre, fueron analizados antes y después del tratamiento de hidrólisis ácida; asimismo, los pelos tratados también fueron analizados después de la adsorción de Pb<sup>2+</sup>, para los cuales se utilizó un espectrofotómetro infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) SHIMADZU IRPrestige-21, con un espectro de medición entre 4500 a 500 cm<sup>-1</sup> y con una resolución de 4 cm<sup>-1</sup> determinándose los grupos funcionales presentes en el adsorbente. También se realizó la caracterización por medio de la técnica de difracción de rayos X (DRX) usando un difractómetro de rayos X (SHIMADZU XRD-7000) con 40 Kv, 30 mA y un ánodo de cobre (Cu). Los datos fueron tomados en un rango de barrido (2θ) de 3° hasta 70°. Por otro lado, la caracterización morfológica se determinó usando el detector de electrones secundarios del microscopio electrónico de barrido (SEM) JEOL (JSM-6390LV). Adicionalmente, por el detector de electrones retrodispersados del mismo equipo, se determinó la imagen de composición, que es una micrografía que proporciona una idea acerca de la composición de la muestra basándose en el contraste de las distintas zonas que conforman la superficie del material.

**Proceso de bioadsorción:** Se realizó pruebas de adsorción tipo batch, en los cuales se realizó el estudio de las isotermas de adsorción, para lo cual se colocaron en vasos de precipitación 50 ml de soluciones de Pb<sup>2+</sup> de 25, 50, 125, 250, 500, 700 y 1000 ppm. A cada solución se

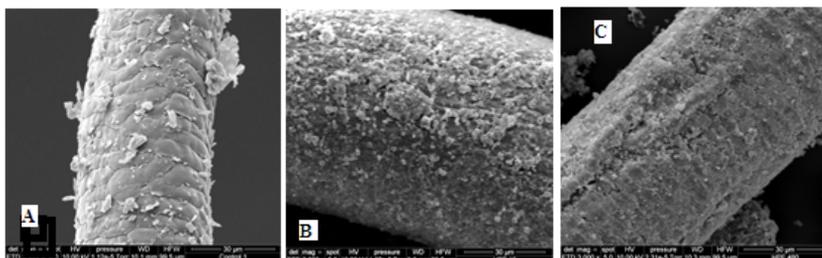
agregó 0,1 g de residuos de pelos tratados del pelambre enzimático, se ajustaron a pH óptimo (pH=7) y se mantuvieron en agitación durante 30 minutos<sup>10</sup>. Así también, se realizó el estudio cinético, para lo cual se colocaron 15 ml de una solución de 3000 ppm  $Pb^{2+}$  en vasos de precipitación y se les agregó 0,1 g de residuos de pelos tratados de pelambre enzimático, a los cuales se les reguló a un pH óptimo (pH=7) y se mantuvo las mezclas en agitación por periodos determinados (0, 5, 10, 15, 30, 60, 90, 120, 240, 360 y 480 min)<sup>6</sup>. Luego, para cada estudio, las soluciones fueron filtradas y la solución resultante fue analizada para determinar la concentración del  $Pb^{2+}$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Caracterización física del adsorbente

#### Análisis por microscopía electrónica de barrido (SEM)

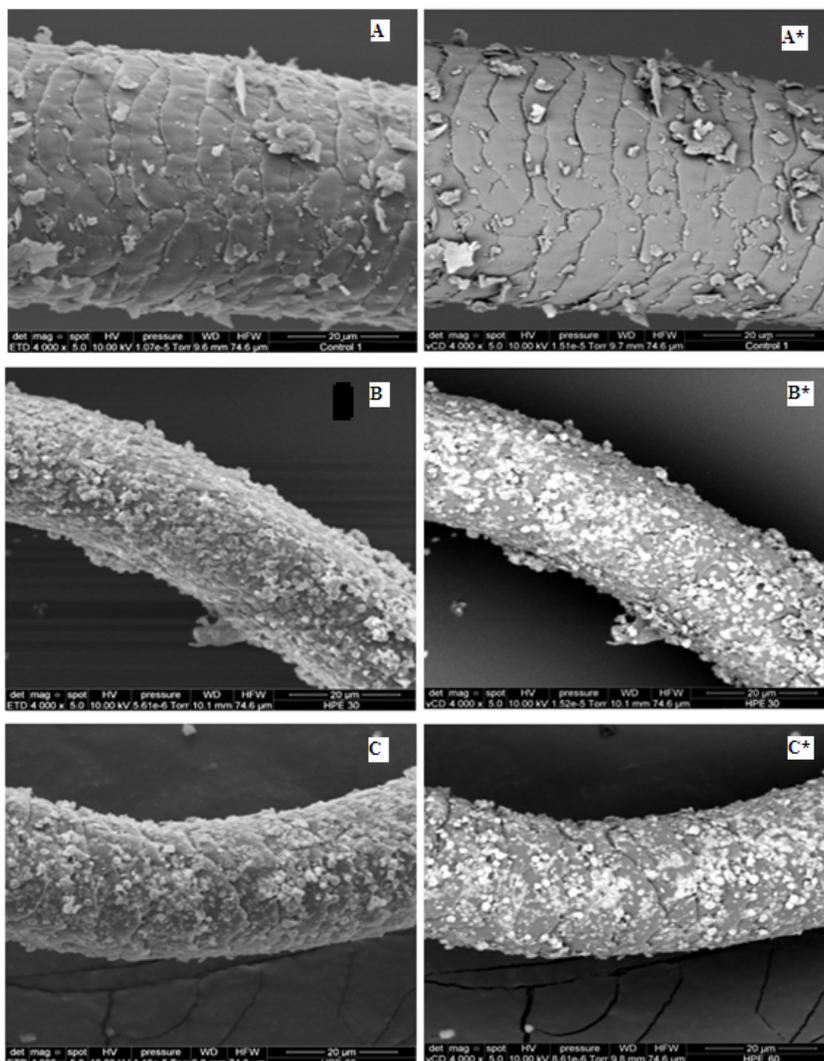
La caracterización morfológica se realizó con el SEM a través del detector de electrones secundarios, por lo que en la figura 1 se muestra las micrografías obtenidas de los residuos de pelos tratados (hidrólisis ácida) del pelambre enzimático y de estos después de la adsorción del Pb(II). Como se puede observar, la morfología de la superficie de los residuos de pelos tratados (figura 1A) cambió significativamente después de la adsorción de Pb(II) (figuras 1B y 1C) mostrando una superficie cubierta de una capa rugosa o granular con respecto a antes de la adsorción. Lo que indica que la formación de esta superficie se debe a la unión del Pb(II) con la superficie del bioadsorbente.



**Figura 1.** Micrografías obtenidas del SEM con el detector de electrones secundarios: (A) Residuos de pelos tratados del pelambre enzimático antes de la adsorción de Pb(II); (B) y (C) Residuos de pelos tratados después de la adsorción de Pb(II). Aumento 3000x.

Lo anterior es confirmado con la información dada con el detector de electrones retrodispersados del SEM, el cual permite establecer dos zonas en la superficie de una muestra; una zona oscura, que significa la presencia de elementos con un bajo número atómico (elementos ligeros) y una zona más brillante, que representa elementos de alto número atómico (elementos pesados). Esto se observó en las figuras 2B\* y 2C\*, en las que se muestra que la superficie de los residuos de pelos tratados después de la adsorción de Pb(II)

presentó zonas brillantes, lo que indicaría la presencia de elementos con número atómico alto, como el caso del plomo (metal pesado). Esto no se observó en la superficie de los pelos tratados antes de la adsorción de Pb(II), la cual se presentó de manera homogénea, es decir, no había zonas brillantes (figura 2A\*).



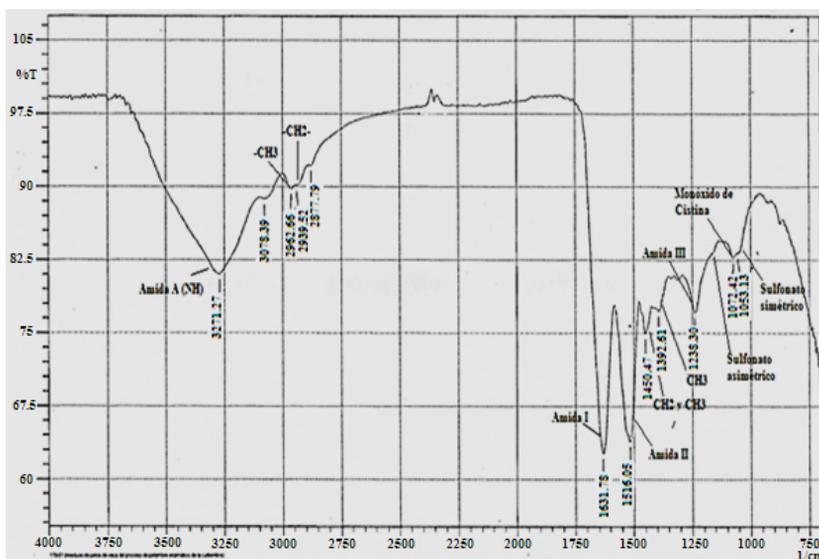
**Figura 2.** Micrografías obtenidas por el microscopio electrónico de barrido con el detector de electrones secundarios (columna izquierda) y con el detector de electrones retrodispersados (columna derecha): (A) y (A\*) corresponden a los residuos de pelos tratados del pelambre enzimático antes de ser utilizados en la adsorción de Pb(II); (B), y (B\*), (C) y (C\*) corresponden a los residuos de pelos tratados después de la adsorción de Pb(II). Se realizaron con un aumento de 4000x

## Caracterización química del adsorbente

### Análisis de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

Los resultados del estudio de los espectros infrarrojos de los residuos de pelos del pelambre enzimático de la curtiembre antes y después del tratamiento de hidrólisis ácida y del espectro infrarrojo de los residuos de pelos con tratamiento después del proceso de adsorción de Pb(II) se muestran en las figuras 3, 4 y 5, respectivamente, y en el cuadro 1.

En las figuras 3, 4 y 5 se observan las bandas del espectro infrarrojo, características de la queratina en los picos a 1631,78 y 1633,21  $\text{cm}^{-1}$  (Amida I), 1519,91, 1516,05 y 1515,64  $\text{cm}^{-1}$  (Amida II) y 1238,30 y 1237,38  $\text{cm}^{-1}$  (Amida III).



**Figura 3.** Espectro infrarrojo de los residuos de pelos del proceso de pelambre enzimático de la curtiembre.

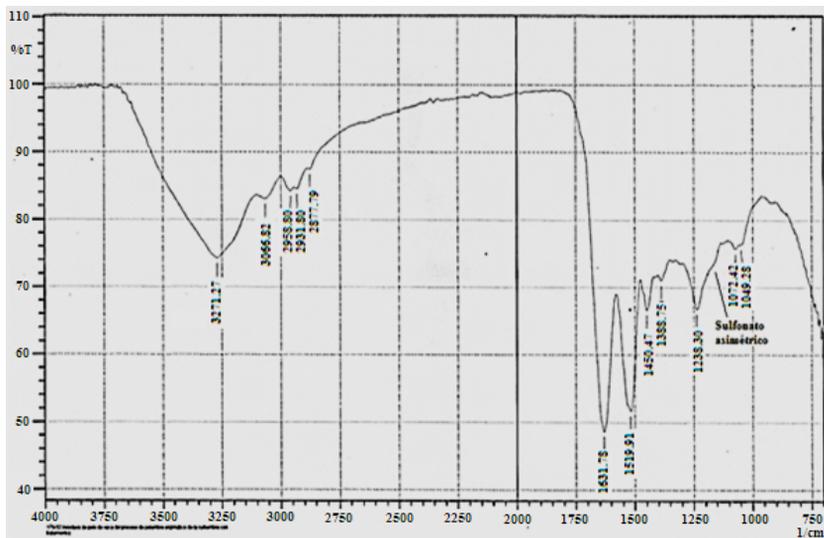


Figura 4. Espectro infrarrojo de los residuos de pelos tratados del proceso de pelambre enzimático de la curtiembre.

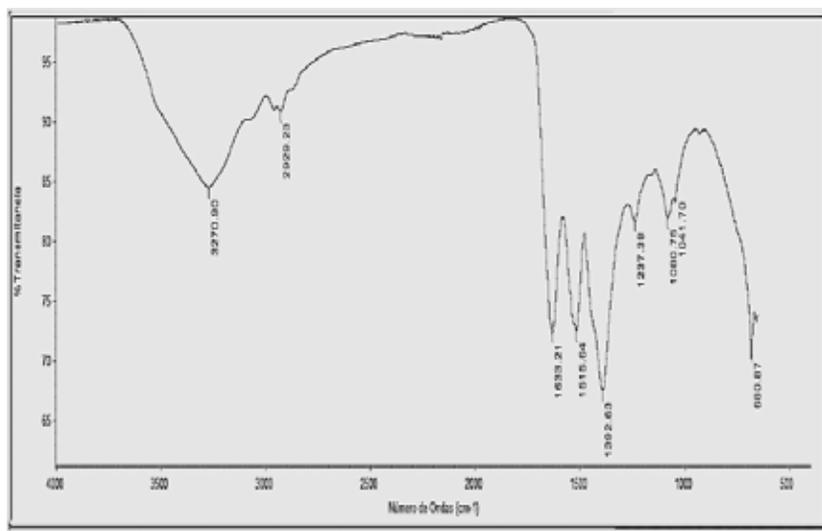


Figura 5. Espectro infrarrojo de los residuos de pelos tratados del proceso de pelambre enzimático de la curtiembre después de la adsorción del Pb(II).

En el cuadro 1 se recogen los picos encontrados en los tres espectros infrarrojos, junto con su posición (número de onda) en  $\text{cm}^{-1}$  y los posibles grupos funcionales asignados para cada pico.

**Cuadro 1.** Bandas de los espectros infrarrojos de los residuos de pelos del proceso de pelambre enzimático y asignaciones.

Posibles asignaciones	Número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) obtenido		
	Residuos de pelo del proceso de pelambre enzimático		
	Sin tratamiento	Con tratamiento	Con tratamiento después del proceso de adsorción de Pb(II)
Amida A (NH extendido)	3271,27	3271,27	3270,90
Modo asimétrico	2962,66	2958,80	
C-H extendido, modo simétrico de $-\text{CH}_3$	2939,52	2931,80	2929,23
modo simétrico de $-\text{CH}_2-$			
$-\text{CH}_3$ , doblete debido a la tensión asimétrica y simétrica del C-H.	2877,79	2877,79	
Amida I, 80% de extensión de C=O y pequeña contribución de la flexión NH.	1631,78	1631,78	1633,21
Amida II, 60% de extensión de C-N más 40% de NH en flexión plana.	1516,05	1519,91	1515,64
Modos de flexión de $\text{CH}_2$ y $\text{CH}_3$	1450,47	1450,47	
$\text{CH}_3$ modo de flexión simétrico	1392,61	1388,75	1392,63
Amida III (extensión de N-H)	1238,30	1238,30	1237,38
Sulfonatos (S=O) tensión asimétrica.	1200 – 1150	1200 – 1150	1200 – 1150
Monóxido de cistina (R-SO-S-R).	1072,42	1072,42	1080,75
Sulfonatos tensión simétrica. (S=O)	1053,13	1049,28	1041,70

**Fuente:** Elaborado con base en<sup>9,11,12</sup>

A partir del análisis FTIR, de los residuos de pelos del pelambre enzimático antes y después de ser tratados y de los residuos de pelos tratados usados en la adsorción Pb(II), se encontraron algunos hallazgos:

Se observan en el espectro infrarrojo de los residuos de pelos del pelambre enzimático (figura 3, cuadro 1) que los picos a 2962,66 (modo asimétrico de  $-\text{CH}_3$ ), 2939,52 (modo simétrico de  $-\text{CH}_2$ ), 1392,61 ( $\text{CH}_3$  modo de flexión simétrico) y 1053,13  $\text{cm}^{-1}$  (sulfonato de tensión simétrica) se desplazan a números de onda menores y cambian ligeramente las intensidades de los picos con respecto a los obtenidos en el espectro infrarrojo de los residuos de pelos tratados del pelambre enzimático (figura 4), sin embargo, el pico de la amida II (1516,05  $\text{cm}^{-1}$ ) se desplaza a un número de onda mayor y disminuye su intensidad. Con lo que se

demuestra que hay cambios en la estructura química del bioadsorbente bajo la acción de la hidrólisis ácida.

El proceso de pelambre produce la ruptura del enlace disulfuro de la cistina, ocasionando la formación de grupos tiol en los residuos de pelos. El grupo funcional sulfhidrilo o tiol (RSH) constituye una función química muy reactiva, esta elevada reactividad se debe a la alta nucleofilia de los iones tiolato ( $RS^-$ ), los cuales existen a concentraciones significativas a valores de pH neutros y débilmente alcalinos. Los tioles se oxidan fácilmente generando productos con diversos estados de oxidación, por ejemplo el ácido sulfónico. La cisteína contiene un grupo tiol y puede ser oxidada por un amplio espectro de agentes oxidantes<sup>13</sup>.

Las sustancias orgánicas que poseen el grupo S-H absorben débilmente en la región de 2600 a 2550  $cm^{-1}$  (3,85 a 3,92  $\mu m$ ), debido a la vibración de tensión del S-H<sup>11</sup>. Esto no se observó en los tres espectros infrarrojos, debido a que el grupo tiol se ha oxidado rápidamente.

La región de bandas de 1180 a 1030  $cm^{-1}$  corresponden a la cistina, en la cual se encuentran sus productos de oxidación; así, para el caso de nuestro estudio, se observaron el monóxido de cistina (1072,42 y 1080,75  $cm^{-1}$ ), sulfonatos de tensión simétrica (1053,13, 1049,28 y 1041,70) y los sulfonatos de tensión asimétrica (en el rango 1200 – 1150) en los tres espectros infrarrojos (IR). Esto se genera debido a que los pelos del pelambre enzimático fueron lavados antes y después de su tratamiento, el contacto con la luz solar, el agua clorada (pelo no tratado) y el agua destilada (pelo tratado) producen la oxidación parcial de la cistina<sup>9</sup>.

En el espectro infrarrojo de los residuos de pelos tratados del pelambre enzimático antes de la adsorción de Pb(II) (figura 4, cuadro 1) se observan que los picos, como el monóxido de cistina (1072,42  $cm^{-1}$ )<sup>9,12,14</sup>, el  $CH_3$  modo de flexión simétrica (1388,75  $cm^{-1}$ )<sup>12,15,16</sup> y la amida I (1631,78), se desplazan a números de onda mayores mientras que los picos de la amida II (1519,91), amida III (1238,30) y el sulfonato de tensión simétrica (1049,28  $cm^{-1}$ ) se desplazan a números de onda menores con respecto al espectro IR de los residuos de pelos tratados después de la adsorción del plomo (figura 5, cuadro 1). Asimismo, en este último se observa un aumento en la intensidad de los picos del monóxido de cistina, sulfonato de tensión simétrica y del  $CH_3$  modo de flexión simétrica y una disminución de intensidad en los picos de la amida I, II y III con respecto al espectro IR de los residuos de pelos tratados antes de la adsorción Pb(II) (figura 4). Estos cambios demuestran la adsorción de plomo en el bioadsorbente.

Además, el monóxido de cistina y el sulfonato de tensión simétrica presentan en su estructura al grupo S=O. Mientras que las amidas I, II, III presentan en su estructura, estiramiento de C=O y flexión NH, estiramiento de C-N y flexión plana de NH, y estiramiento de NH, respectivamente (cuadro 1). El espectro IR de una amida puede considerarse como una combinación de los espectros de los grupos carbonílico y amínico<sup>11</sup>. Los iones de metales pesados tales como  $Hg^{2+}$  y  $Pb^{2+}$  forman una fuerte unión con  $CN^-$ ,  $R-S^-$ ,  $-SH^-$ ,  $NH_2^-$  e imidazol, los cuales son grupos que contienen átomos de nitrógeno y azufre (Wang y Chen)<sup>9</sup>. Por otro lado, el  $CH_3$  modo de flexión simétrica está presente en el espectro IR debido a la existencia de

lípidos libres en la superficie de la fibra del pelo<sup>17</sup>. Existen lípidos en el cabello humano como componente libre o lípidos estructurales. Estos últimos generalmente están asociados con el CMC (complejo de membrana celular). El lípido libre del cabello humano es principalmente de origen sebáceo y existen tanto en la superficie del cabello y como en las fibras internas, el 50 % de estos son ácidos grasos libres (saturados e insaturados) (Robbins<sup>17</sup>). Capablanca y Watt<sup>18</sup> demostraron que los lípidos libres en la superficie de la fibra de queratina sirven para disminuir el punto isoelectrónico de la lana (pelo) y, por lo tanto, afectan el carácter de la carga de la superficie. Además, la cantidad de lípidos libres en la superficie de las fibras del cabello influirán en la fricción del cabello, la energía superficial y toda una gama de importantes propiedades que incluyen la adsorción de surfactantes y otros ingredientes en el cabello humano y fibras de lana. Asimismo, por medio del uso FTIRM en el estudio de sistemas biológicos, se establece que el CH<sub>3</sub> modo de flexión simétrica encontrado a 1380 cm<sup>-1</sup> representa a un lípido<sup>19</sup>. Considerando lo mencionado anteriormente y lo determinado en la comparación de los espectros IR de los residuos de pelos tratados antes y después del proceso de adsorción (figuras 4 y 5). Se puede concluir que los grupos funcionales carboxilo, amino y los grupos que contienen azufre participan en la bioadsorción del Pb (II). Es decir, participan estos grupos en la unión con el plomo.

Zhang<sup>9</sup> determinó en su investigación que la adsorción de metales pesados en biomateriales de queratina se logra por los grupos funcionales hidroxilo, amino, carboxilo y grupos conteniendo azufre como sulfonatos, resultados similares a los obtenidos en esta investigación. Además, los principales grupos ionizables de unión catiónica en los biopolímeros son los carboxilos, fosfatos y sulfatos orgánicos<sup>20</sup>. En términos de la teoría ácido base, el Pb(II) es considerado un ácido blando de Lewis que puede unirse con grupos funcionales que contienen azufre, que se comportan como bases blandas de Lewis<sup>4</sup>.

### **Análisis de difracción de rayos X (DRX)**

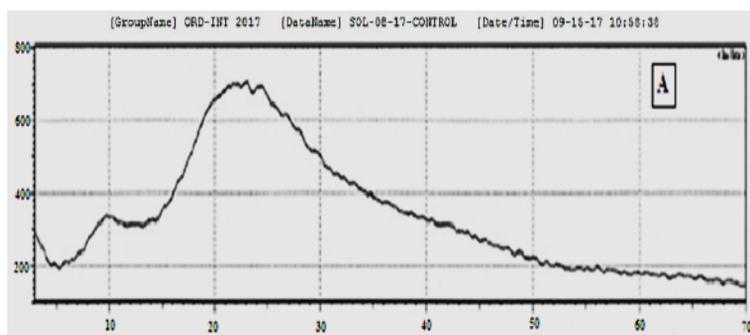
En el difractograma obtenido del análisis de difracción de rayos X de los residuos de pelos tratados antes de ser utilizados en la adsorción Pb(II), se observó que presenta una estructura o fase amorfa, es decir, no hay ordenamiento periódico, que se representa en forma de una curva y no se visualizan picos (figura 6A). Mientras que en el difractograma de los residuos de pelos tratados después ser utilizado en la adsorción Pb(II) se observó, además de la estructura amorfa (forma de curva), varios picos. Estos picos representan la presencia de un compuesto químico en alta concentración (figuras 7B y 7B\*). La estructura amorfa solapa o encubre los picos, es decir, no permite observarlos cuando el compuesto se encuentra en poca concentración. Estos picos hallados representan al compuesto químico:  $Pb_3(CO_3)_2(OH)_2$ .

En el análisis DRX de los residuos de pelos tratados utilizados en el proceso de adsorción Pb(II), se estudiaron dos muestras, una que estuvo en contacto con la solución de plomo por 15 minutos y la otra estuvo en contacto por 30 minutos, estas son muestras tomadas del estudio cinético. Para la primera muestra se determinó que la concentración de la estructura amorfa es del 91,82 % y del hidróxido de carbonato de plomo [ $Pb_3(CO_3)_2(OH)_2$ ] es de 8,18 % y para la segunda muestra se determinó que la concentración de la estructura amorfa es del 88,63 % y de  $Pb_3(CO_3)_2(OH)_2$  es de 11,37 %. Conforme el tiempo de contacto es mayor

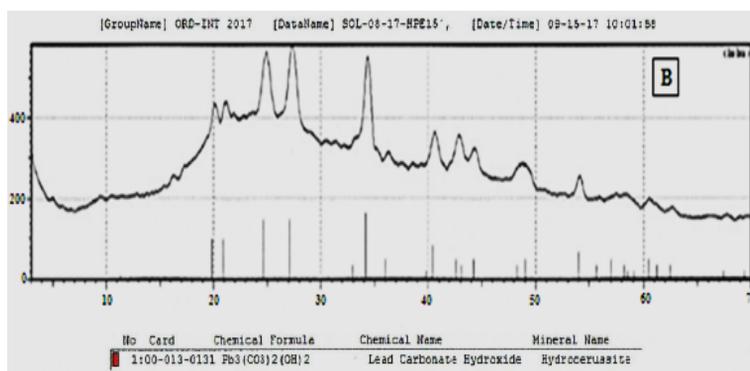
permite que el plomo esté más en contacto con el bioadsorbente, lo que da más probabilidades a que el plomo se una al bioadsorbente, esto se da hasta un tiempo máximo en el que se satura los grupos de unión del adsorbente.

Al comparar la figura 6A con las figuras 7B y 7B\* se observa que el bioadsorbente cambia su estructura después de la adsorción de Pb(II), que se evidencia por la formación de picos en el difractograma (picos más notorios en posición  $2\theta$ :  $20^\circ - 65^\circ$ ), esto demuestra la adsorción de Pb(II), que es corroborado con la formación de hidróxido de carbonato de plomo [ $\text{Pb}_3(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_2$ ]. Los resultados obtenidos contrastan parcialmente con los obtenidos en el caso de la adsorción de plomo con un biopolímero compuesto de plumas y quitosano, pero son similares en la formación de hidróxido de carbonato de plomo<sup>21</sup>.

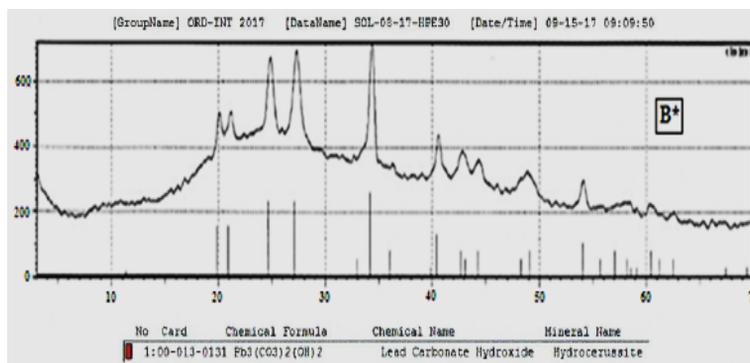
En esta investigación se dio la formación de hidróxido de carbonato de plomo debido a una microprecipitación. El cual se puede producir por una interacción entre el metal y la superficie celular a través de la formación de un complejo, seguida de su hidrólisis y la precipitación del metal en forma de una especie hidrolizada en la pared celular<sup>22</sup>.



**Figura 6.** Diffractograma obtenida del análisis de difracción de rayos X en residuos de pelos del pelambre enzimático de la curtiembre antes de la adsorción de Pb(II).



**Figura 7B.** Diffractograma obtenida del análisis DRX de los residuos de pelos tratados del pelambre enzimático de la curtiembre después de la adsorción de Pb(II), a los 15 min de contacto.



**Figura 7B\*.** Difractograma obtenida del análisis DRX de los residuos de pelos tratados del pelambre enzimático de la curtiembre después de la adsorción de Pb(II), a los 15 min de contacto.

### Proceso de bioadsorción:

En un trabajo previo<sup>23</sup> se realizaron los estudios de las isothermas de la adsorción y de la cinética de la adsorción de Pb(II) sobre los residuos de pelos tratados del pelambre enzimático, a partir de los cuales se determinó que el modelo de la isoterma de la Langmuir se ajusta mejor a los resultado experimentales obtenidos ( $R^2=0,98$ ), a través del cual se determinó que la capacidad máxima de adsorción de Pb (II) sobre los residuos de pelos tratados a pH óptimo es de 321,20 mg de Pb(II)/g de bioadsorbente. Con respecto al estudio cinético se determinó que los datos experimentales obtenidos se ajustan al modelo cinético de pseudo-segundo orden, dado que se obtiene un coeficiente de correlación promedio de  $R^2 = 0,98$ . Además, el valor promedio de la capacidad de adsorción calculada con el modelo ( $q_e$  (cal) = 400) es similar al valor promedio de la capacidad de adsorción determinada experimentalmente ( $q_e$  (exp) = 435.24); lo cual corrobora la afirmación anterior. Estos resultados sugieren que el paso limitante de la velocidad es el proceso de adsorción química (quimisorción).

## CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos, se concluye que el adsorbente conseguido por medio del tratamiento de hidrólisis ácida de los residuos de pelos del proceso de pelambre enzimático de la curtiembre presenta varios grupos funcionales en la superficie que permiten la unión de Pb(II), por lo cual son materiales potencialmente útiles para usar como adsorbentes para la remoción de plomo de efluentes. Según el análisis FTIR se determinó que el bioadsorbente permite la unión del Pb(II) a su superficie por medio de los grupos funcionales carboxilo, amino y grupos que contienen azufre como los sulfonatos de tensión simétrica. Y por el análisis DRX se estableció la presencia y la unión del Pb (II) en la superficie de bioadsorbente debido a que se obtuvo un 8,18 % y un 11,37 % de hidróxido de carbonato de plomo. Esto se corroboró con el detector de electrones retrodispersados del SEM, que determinó la presencia de Pb (II) en el bioadsorbente, debido a que se generó zonas brillantes en su superficie, indicativo de la presencia de elementos con número atómico alto. Finalmente, en un trabajo

previo, se mencionó que la capacidad máxima de adsorción fue de 321,20 mg de Pb(II)/g de bioadsorbente. Estos resultados nos permitirían aprovechar un residuo que era dispuesto en vertederos, generando contaminación, en nuevas tecnologías o tecnologías alternativas como la bioadsorción. Además, es adecuada económicamente debido a su fácil disponibilidad; así como por su relativo bajo costo de elaboración.

## AGRADECIMIENTO

Se agradece al INGEMMET, Instituto Geológico, Minero y Metalúrgico, por el apoyo brindado en la realización del análisis de Difracción de Rayos X en el Laboratorio de rayos X del instituto. Asimismo, se agradece al Centro de Investigación en Química, Toxicología y Biotecnología Ambiental (CIQTOBIA) del Departamento Académico de Química de la UNALM por el apoyo brindado para la realización de la investigación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Waihung L, Hong C, Kim L, Shu B. A comparative investigation on the biosorption of lead by filamentous fungal biomass. *Chemosphere*. 1999; 39: 2723-2736.
2. Wong K, Lee C, Low K, Haron M. Removal of Cu(II) and Pb(II) by tartaric acid modified rice husk from aqueous solutions. *Chemosphere*. 2003; 50: 23-28.
3. Lavado MC, Sun KM, Bendezú S. Adsorción de plomo de efluentes industriales usando carbones activados con H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. *Rev Soc Quím Perú*. 2010; 76 (2): 165-178.
4. Valencia RJS, Castellar OGC. Predicción de las curvas de ruptura para la remoción de plomo (II) en disolución acuosa sobre carbón activado en una columna empacada. *Rev Fac Ing Univ Antioquia*. 2013; 66: 141-158
5. Goel J, Kadirvelu K, Rajagopal Ch, Garg VK. Removal of lead (II) by adsorption using treated granular activated carbon: Batch and column studies. *J Hazard Mater*. 2005; B125: 211-22
6. Hawkins TR. Remoción de cromo total de efluentes de la industria de galvanoplastia por adsorción con gel SOW-Fe. [Tesis para optar el título de Ingeniero Ambiental]. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina, Perú; 2012.
7. García Roig M, Ramírez PFI, Manzano MT. Bioadsorción de metales pesados de aguas ácidas de minas (y II) sobre residuos con queratina (pelos de cerdo, pluma de ave) y quitina (caparazones de crustáceos). *Ingeniería Química*. 2004; 402: 184 – 204.
8. Ghosh A, Collie SR. Keratinous Materials as Novel Absorbent Systems for Toxic Pollutants. *Def Sci J*. 2014; 64(3): 209-221.
9. Zhang H. Biosorption of heavy metals from aqueous solutions using keratin biomaterials. [Tesis doctoral]. Barcelona: Universidad Autónoma de Barcelona; 2014.
10. Larenas UC, Andrango D, Inga P. Estudio isotérmico de biosorción de plomo en aguas utilizando residuos vegetales. *La Granja*. 2008; 8(2): 3-8.
11. Conley RT. 1979. *Infrared Spectroscopy*. 2nd. Ed. Boston, Massachusetts: Allyn and Bacon Inc. 1979.

12. Bantignies JL, Carr GL, Lutz D, Marull S, Williams GP, Fuchs G. Chemical imaging of hair by infrared microspectroscopy using synchrotron radiation. *J Cosmet Sci.* 2000; 51: 73-90
13. Sardi PF. Caracterización de la acidez y nucleofilia de tioles de bajo peso molecular y tioles proteicos. [Tesis de grado para obtener la licenciatura en Bioquímica]. Montevideo: Universidad de la República; 2011.
14. Dankers LM. Physical analysis of human hair. [Masters Theses]. Rolla, Missouri: Missouri University of Science and Technology; 2007.
15. Taddei P, Monti P, Freddi G, Arai T, Tsukada M. Binding of Co(II) and Cu(II) cations to chemically modified wool fibres: an IR investigation. *J Mol Struct.* 2003; 650: 105–113.
16. Lau K, Hedegaard M, Kloepper J, Paus R, Wood B, Deckert V. Visualization and characterization of defined hair follicle compartments by Fourier transform infrared (FTIR) imaging without labeling. *J Dermatol Sci.* 2011; 63: 191–198.
17. Panayiotou H. Vibrational spectroscopy of keratin fibres a forensic approach. [Tesis de Ph. D.]. Brisbane: Queensland University of Technology; 2004.
18. Robbins CR. Chemical composition of different hair types. En *Chemical and physical behavior of human hair*. New York: Springer-Verlang; 2002. p105-176. DOI 10.1007/978-3-642-25611-0\_2.
19. Barraza GG, De la Rosa LA, Martínez MA, Castillo M H, Cotte M, Alvarez PE. La microespectroscopía de infrarroja con transformada de Fourier (FTIRM) en el estudio de sistemas biológicos. *Rev Latinoamer Quím.* 2013; 41(3):125-148.
20. García RM, Ramírez PFI, Manzano MT. Bioadsorción de metales pesados de aguas ácidas de minas (I): Sobre residuos de levaduras cerveceras. *Ingeniería Química.* 2003; 400: 158-168.
21. Ratna Kumaria A, Sobhab K. Removal of lead by adsorption with the renewable biopolymer composite of feather (*Dromaius novaehollandiae*) and chitosan (*Agaricus bisporus*). *Environmental Technology & Innovation.* 2016; 6: 11–26.
22. Viglio F, Beolchini F. Removal of metals by biosorption: a review. *Hydrometallurgy.* 1997; 44:301-316.
23. Palomino Amorín C, Vargas PR, Visitación FL. Aprovechamiento de pelos de vacuno del proceso de pelambre enzimático de las curtiembres en la remoción de plomo. *Rev Soc Quím Perú.* 2016; 82 (2).

## **SYNTHESIS OF Ni-Cu CATALYSTS BY IMPREGNATION TO OBTAIN CARBON NANOFIBERS BY CATALYTIC DECOMPOSITION OF METHANE**

Jonathan Almirón Baca<sup>a</sup>, Hermann Alcázar Rojas<sup>a</sup>, Rossibel Churata Añasco<sup>a</sup>,  
María Vargas Vilca<sup>a</sup>, Leopoldo Alcázar Rojas<sup>b</sup>, Fabiana Fim<sup>c</sup>

### **ABSTRACT**

This paper reports the synthesis by impregnation method and the characterization of Ni-Cu catalyst supported on alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ). Three catalysts with different Ni-Cu atomic ratios (7:1, 9:1 and 11:1) were synthesized. These catalysts were characterized by X-ray diffraction (XRD), X-ray fluorescence (XRF), scanning electron microscopy (SEM), thermogravimetric analysis (TGA), textural BET analysis and TPR. In addition, it has been produced carbon nanofibers by catalytic decomposition of methane at 600 °C. The results suggest that nickel loading influences the carbon deposited on. Thus, the catalyst with greater Ni:Cu atomic ratio of 11:1 showed the better carbon yield (19,4 gC/gcat). Moreover, the structural properties of the carbon deposited are dependent of the catalyst composition, going on from a thin and long carbon over Ni-Cu 11:1 catalyst to a broad and shorter carbon over Ni:Cu 7:1 and 9:1 catalysts.

**Key words:** Supported catalyst, Ni-Cu/ $\text{Al}_2\text{O}_3$ , impregnation, decomposition of methane, carbon nanofiber.

## **SINTESIS DE CATALIZADORES EN BASE A Ni-Cu POR IMPREGNACIÓN PARA LA OBTENCIÓN DE NANOFIBRAS DE CARBONO POR DEPOSICIÓN CATALÍTICA DEL METANO**

### **RESUMEN**

Se prepararon y caracterizaron catalizadores de Níquel-Cobre soportados sobre alúmina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) mediante el método de impregnación, en el cual se realizaron variaciones en las proporciones Ni:Cu de 7:1, 9:1 y 11:1. Se caracterizó el catalizador por difracción de rayos X, Fluorescencia de Rayos X, microscopia electrónica de barrido, análisis Termogravimétrico y la medición de superficie de área BET; además se realizaron ensayos de síntesis de nanofibras

---

<sup>a</sup> Escuela Profesional de Ingeniería Mecánica, Mecánica Eléctrica y Mecatrónica, Facultad de Ciencias e Ingenierías Físicas y Formales, Universidad Católica de Santa María UCSM, Samuel Velarde N° 320, Arequipa, Perú, \*jalmiron@ucsm.edu.pe

<sup>b</sup> Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal da Paraíba UFPB, João Pessoa, Brasil.

<sup>c</sup> Departamento de Engenharia Materiais, Universidade Federal da Paraíba UFPB, João Pessoa, Brasil.

de carbono mediante la descomposición catalítica de metano a 600°C. Los resultados sugieren que la carga del Níquel influye en la deposición de carbono, siendo la relación con el mayor contenido de Níquel (Ni:Cu 11:1) la que mostró mayor rendimiento (19,4 gC/gcat). Además las propiedades estructurales del carbono depositado dependían de la composición del catalizador, pasando de un carbono fino y largo sobre el catalizador Ni:Cu 11:1 a un carbono ancho y algo más corto sobre las muestra de Ni:Cu 7:1 y 9:1.

**Palabras clave:** Catalizador soportado, Ni-Cu/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, impregnación, descomposición de metano, nanofibra de carbono.

## INTRODUCTION

In recent years, the catalytic decomposition of methane (CDM) has attracted the attention of the scientific community due to its potential to produce CO<sub>x</sub>-free hydrogen<sup>1</sup> and carbon deposited on the catalyst in the shape of layers, filaments, fibers, or nanotubes<sup>2</sup>. A broad range of potential applications, for this carbon, can be identified as: catalysts, catalyst supports, composite materials, among others<sup>3</sup>.

Catalyst based on Ni, Fe and Co metals over metal oxide supports (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> or SiO<sub>2</sub>) are widely used for the growth of carbon nanofibers (CNFs) from methane<sup>4</sup>. Especially nickel catalyst with high loading is commonly used for the catalytic decomposition of methane (CDM) into hydrogen and carbon<sup>4</sup>. Among methane decomposition reactions, Ni based catalyst has shown a better performance than Fe and Co, in a reaction range temperature between 500 °C and 700 °C<sup>5</sup>.

Temperatures higher than 600 °C proved to be very active for Ni/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, followed by Co/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> and Fe/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>6</sup>. But, higher temperatures can destabilize the catalyst and a promotor, such as copper, must be added to ensure stability and durability, avoiding its deactivation<sup>7</sup>. It was reported that the use copper as promoter increases the methane decomposition activity of nickel, improves nickel dispersion over the support, and enhances thermal stability of the catalyst<sup>7</sup>.

An issue in catalyst preparation procedure is to seek for a method that allows exposing the maximum active sites to the reagents. In a metallic supported catalyst, the goal is to disperse as much as possible the metallic active phase (Ni) over the support (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), in order to maximize the surface density of the active sites and the catalyst performance<sup>5</sup>. The literature reports several preparation methods to achieve this desire metal dispersion. Precipitation, co-precipitation and wet-impregnation are the preparation methods most frequently mentioned. The last one, wet-impregnation, has a simple procedure and gives a better way of controlling metal dispersion by the manipulation of experimental process variables, for this reason it has been chosen for the preparation of the catalysts in this work.

Previous works, with NiAl and NiCuAl catalysts, showed the influence of the preparation methods to the observed yields for hydrogen and carbon fibers in the catalytic decomposition of methane<sup>8</sup>. They concluded that the preparation method and addition of copper to the Ni-supported catalyst had a major influence on the nickel dispersion and the mean size of the nickel crystallites<sup>9</sup>. The domain sizes of NiO in the calcined samples are highly dependent on the preparation method of the catalyst used. Therefore, fusion method seems to enhance the formation of NiO with smaller crystal sizes; while on the other hand, the impregnation method promotes the formation of higher NiO crystallites. These domain sizes are in contrast with the results obtained using Al as a textural promoter, in which case impregnation and fusion methods led to obtain similar NiO domain sizes while the co-precipitation method promotes the formation of very small NiO crystallites<sup>8</sup>.

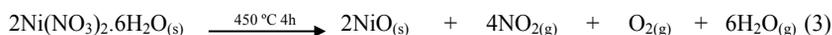
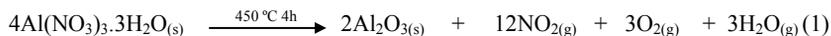
This paper reports the synthesis of Ni-Cu catalysts supported over alumina with Ni/Cu atomic ratios of 7:1, 9:1 and 11:1 prepared by thermal decomposition in the first step and then supported over alumina by successive copper-nickel impregnation-calcination, characterized by X-ray diffraction (XRD), X-ray fluorescence (XRF), scanning electron microscopy (SEM), thermogravimetric analysis (TGA) and nitrogen sorption (BET analysis). Catalytic tests for the decomposition of methane were performed in a customized unit (as detailed in the experimental section) at 600°C.

## EXPERIMENTAL DETAILS

### Catalyst preparation

Three Ni-Cu based catalysts supported over alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) were prepared by thermal decomposition in the first step and then supported over alumina through impregnation with Ni:Cu atomic ratios of 7:1, 9:1, and 11:1. For notation purposes these materials are denoted as 7Ni, 9Ni and 11Ni, respectively. The support  $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$  was obtained from  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  P.A. precursor followed by calcination at 450 °C for 4 h.

Two stock solutions of Cu and Ni were prepared by dissolving  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  P.A. and  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  P.A. salts, respectively, and then diluted in distilled water. In order to have a better control of the Cu and Ni depositions, the impregnations were done sequentially<sup>10</sup>. The impregnation was done first with Cu and then by Ni successively, employing similar procedures. In a recipient, loaded previously with alumina, is added the Cu stock solution and kept stirred (450 rpm) at 70 °C for 3 h. The impregnated alumina is dried at 105°C for 3h or until constant weight is attained, milled, and calcined at 350°C for 3 h. After cooling, the impregnation procedure is repeated for Ni stock solution. The resultant suspension is aged for 24 h at room temperature, dried for 6 h at 105°C, milled and calcined at 450°C in a muffle for 4 h. The following reactions belong to the synthesis of catalyst:



The nominal metallic loadings are presented in Table 1.

### **Catalysts characterization**

The X-ray fluorescence (XRF) was carried out in an EDX-720 Shimadzu spectrometer to determine the chemical composition of catalysts (in oxide base).

The structural phases of the crystalline alumina as well as the metal oxides were obtained by XRD (X Ray Diffractometry) using a Bruker (D8 Avance Davinci) diffractometer with  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda = 0,1542$  nm) radiation operated at 40 kV, 40 mA with a  $2\theta$  range from  $5^\circ$  to  $90^\circ$  and a  $0,6^\circ/\text{min}$  scan rate.

The homogeneity and dispersion of nickel and copper oxides over the support, as well as the surface morphology, were carried out on a LEO (1430 ZEISS model) scanning electron microscope (SEM) operated at 15 kV. Every sample was pretreated previous to the scan by fixing it on a carbon tape and coated with gold by conventional sputtering techniques.

Textural analysis for the support and non-reduced catalysts samples were performed by BET adsorption and desorption isotherms of nitrogen at 77 K in an ASAP 2020 Micromeritics apparatus. The specific surface area was determined by BET analysis, while pore volume distribution and average pore diameter ( $D_p$ ) were calculated by the BJH method based on the desorption isotherms of nitrogen.

Thermal behavior of the catalysts was evaluated by thermogravimetric analysis (TGA) in a TA Instruments SDT – Q60 device. The samples (10-20 mg) were loaded into aluminum crucibles and heated from 30 to 800 °C, under a linear temperature rate of 10 °C/min, for  $\text{N}_2$  and air atmospheres with flow rates of 50 ml/min.

The metal-support and metal-metal interactions were observed through TPR tests in a Micromeritics apparatus. Before the reduction, 100 mg samples were charged into the quartz reactor and cleaned under  $\text{N}_2$  flow at 300 °C. After cooling TPR experiments ran at  $5^\circ\text{C}/\text{min}$  heating rate from 25 to 800°C, with a 10%  $\text{H}_2/\text{N}_2$  reducing mixture flow of 25 sccm. The system was equipped with a TCD detector for monitoring the hydrogen consumption. The quantification of  $\text{H}_2$  consumption was performed using  $\text{Ag}_2\text{O}$  as standard reference.

### **Catalytic evaluation**

The evaluation of the catalytic activity was carried out in a tubular quartz chamber, 1200 mm length and 50 mm internal diameter. The catalysts samples (approximately 200 mg) were placed on a rectangular (50 x 20 mm) alumina crucible and centered in the tubular chamber. All runs were performed at nearly atmospheric pressure.

The catalysts were activated by passing through a  $\text{H}_2:\text{N}_2$  gas mixture (40:60) at 250 sccm for 2 h and 500 °C. Then, a  $\text{N}_2$  stream is switched and set to 150 sccm. The temperature was rise at  $20^\circ\text{C}/\text{min}$  and fixed at 600 °C. Following, a  $\text{CH}_4\text{-N}_2$  stream was aligned with 55 and 83 sccm flow rates respectively, taking this event as the initial point for the methane decomposition

reaction. The reaction was carried for 5 hours and then cooled to room temperature. The solid products deposited were weighed and characterized by SEM.

### Microactivity Test

The microactivity test was done in a 1200C LTG-01 reactor, CI-Precision thermobalance provided with massflow controllers. A 10 mg of sample is charged in a Pt mesh. The sample was cleaned in N<sub>2</sub> flow (200 sccm) from room to 500 °C. Then H<sub>2</sub> is feed in a 12% H<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> flow (200 SCCM) until the reduction is over. Again the system is cleaned with N<sub>2</sub> and a then heated to reaction temperature. A 60% CH<sub>4</sub>/N<sub>2</sub> reaction mixture is switched to begin the reaction. The reaction is run over time until stabilization (no mass change) is detected.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Catalysts characterization

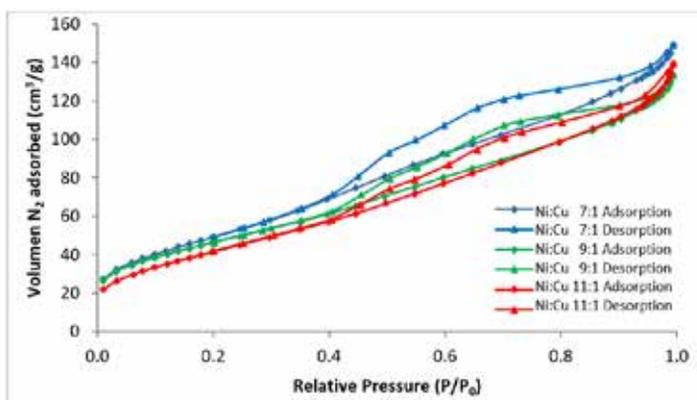
Table 1 presents the compositions (from the EDX) and textural parameters of the different Ni-Cu calcined materials. Taking the pure alumina (Al) as texture reference, the other three materials exhibit the following common departure pattern: An increase in the nickel loading results in a decrease in specific area and an increment in the pore diameter, as reported by Ashour<sup>9</sup>. This is typical of micro-pore blockage, due to the deposition of the Ni and Cu oxides. When comparing 7Ni with our reference (Al) it seems to follow the stated pattern, but the pore volume and specific area of 7Ni is greater than Al, telling that new pores (mesopores) are created.

**Table 1.** Chemical characteristics and textural properties of the catalysts and the support.

Sample	% NiO	% CuO	% Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	BET specific area (S <sub>BET</sub> ) (m <sup>2</sup> /g)	Pore Volume (V <sub>P</sub> ) (cm <sup>3</sup> /g)	Pore Diameter (D <sub>P</sub> ) (Å)
Ni:Cu 7:1	20,23	3,65	76,13	181,48	0,2218	47,203
Ni:Cu 9:1	28,38	3,84	67,78	169,52	0,1888	49,669
Ni:Cu 11:1	37,43	4,05	58,52	155,24	0,2065	51,392
Alumina	-	-	100,00	175,53	0,1832	41,322

For the other modified materials, the specific areas are below the reference, as expected, but again the 9Ni catalyst presents a higher pore volume<sup>7</sup>. This behavior can be explained, considering the alumina not only as a support, but as a texture promoter to prevent the coalescence of metallic particles<sup>5</sup>. Probably, the metallic (or oxide) particles finely disperse can present an extra area and pore volume simultaneously with a pore blockage of the support. These are two contrary effects and apparently, at low loadings (Ni:Cu 7), the first effect prevails and the second effect is more intense for high loadings (Ni:Cu 11, Ni:Cu 9).

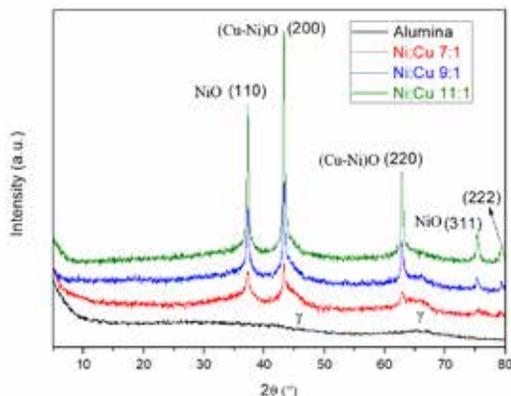
As shown in Figure 1, according to IUPAC classification, the isotherms of all the catalysts belong to type IV<sup>11</sup>. They exhibit the hysteresis cycle and are characterized for being mesoporous solids.



**Figure 1.** Adsorption–desorption isotherms of catalysts: Catalysts impregnated with nitrate salts.

The XRD profiles of the support and synthesized catalysts are depicted in Figure 2. The XRD spectra of the Ni-Cu catalysts, despite the intensity of the Ni peaks, did not show any significant difference. As expected, more Ni loading results in higher Ni peaks. It was observed at 68° a wide peak of low intensity attributed to the support, in concordance with Orellana *et al.*<sup>12</sup> and De Llobet *et al.*<sup>13</sup>, that assigned it to gamma alumina. Similarly, Yalamac *et al.*<sup>14</sup> reported that the XRD spectrum of alumina presents a well-defined and with high intensity peak corresponding to alpha phase ( $\alpha$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), while those of the gamma phase ( $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) were barely noticeable with a peak at 46°, indicating that  $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> exhibits a low intensity signal compared to  $\alpha$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. This peak has been obtained in our sample of the support that is shown in Figure 2, as well. Therefore, the XRD support spectra in the present research indicates the presence of  $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> which is amorphous.

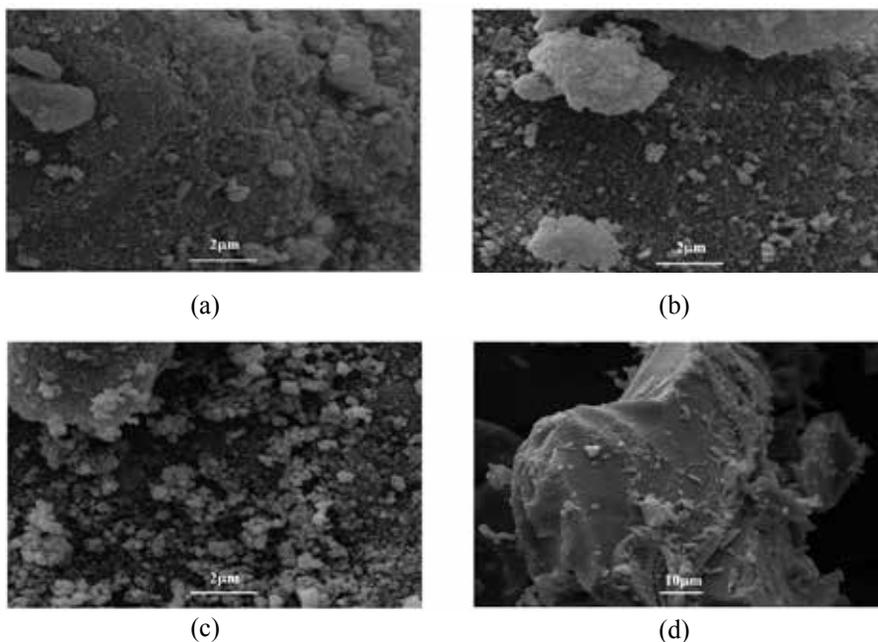
The peaks at 37,2°, 43,2°, 62,8° and 75,3° in the XRD have been assigned to NiO by Jiménez<sup>15</sup> and De Llobet *et al.*<sup>16</sup>, in accordance with the letter (JCPDS 78-0645) for a mixture of nickel and copper oxide. Lee *et al.*<sup>17</sup> attribute the 43,3° and 62,8° peaks to the crystalline structure of (Ni-Cu)O. Besides it was observed a few formations of spinel like-structures (NiAl<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) with characteristics peaks in angular positions at 2 $\theta$  37.0°, 45.5°, 59.5° and 66.2° (Li J., y otros, 2016). This structure with strong interaction metal - support reduces the deposition of carbon.



**Figure 2.** Diffractograms of the support and Ni-Cu/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> catalysts.

The morphological appearance of the 7Ni, 9Ni and 11Ni oxide catalysts is shown in Figure 3(a), 3(b) and 3(c) respectively. The samples appear as large agglomerates of particles. The sizes of individual particles in the agglomerate cannot be clearly set. The small particles of Ni and Cu supported on Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> structures are similar to those observed in previous works<sup>7,16</sup>. Also, it was identified the formation of these agglomerates, that were hardly obtained by SEM, TEM analysis would preferable.

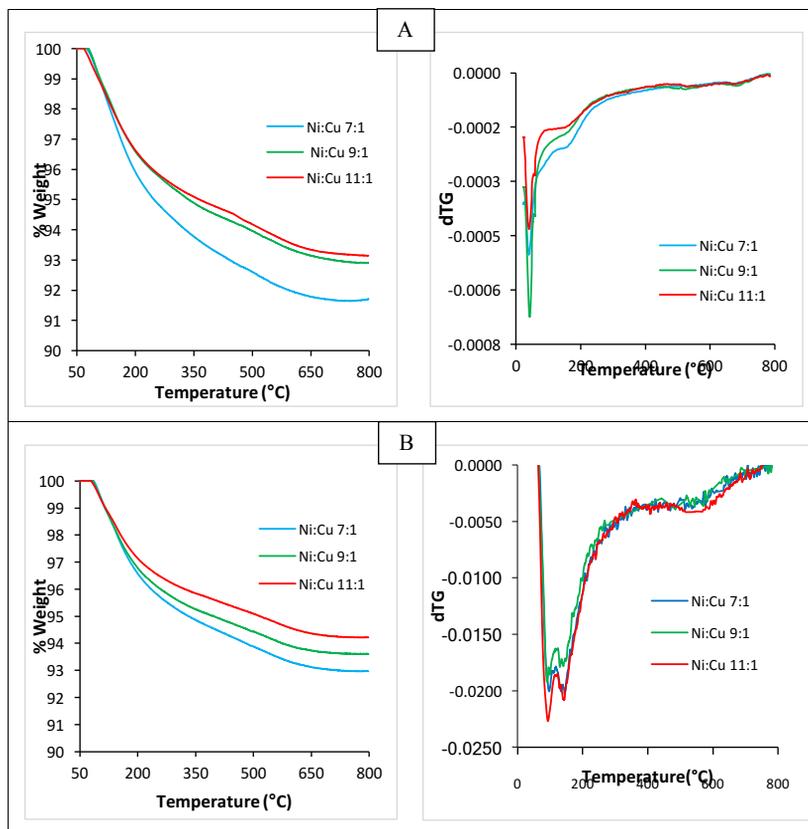
Figure 3 (d) shows the micrograph of alumina support, which evidences an irregular size and shape as it was expected according to the alumina diffractogram (amorphous phase). It is important to mention that Orellana *et al.*<sup>12</sup> carried out a SEM analysis to  $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, the micrograph neither had a homogeneous shape or size; however, is observed an agglomerate of the nanoparticles. In addition, Yalamac *et al.*<sup>14</sup> had observed that the shape of the gamma alumina are mainly vermicular (worm type) or small corrugated platelets.



**Figure 3.** SEM micrographs of Ni-Cu/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> fresh catalysts and support: (a) Ni:Cu 7:1 catalyst; (b) Ni:Cu 9:1 catalyst; (c) Ni:Cu 11:1 catalyst and (d) support.

The thermal stability of the calcined catalysts was studied by TG-DTG profiles, depicted in Figure 4, in an oxidant and inert flow using nitrogen and air respectively.

The results for all catalysts in both atmospheres are similar, in other words, the weight loss occurs at temperatures between 80-200 °C that may be due to the presence of adsorbed water. At higher temperatures, no weight loss peaks were observed for the three catalysts. This behavior is expected since these are calcined materials and all thermal decompositions should already have been occurred. Nevertheless, the weight loss is greater for the material with lower Ni content (7Ni). Since adsorption is a surface process, it is in accordance with the textural results where this material presents the highest specific area. This trend is followed by the other two materials. Note that in an inert atmosphere the loss weight for every material was higher when compared with air atmosphere. This can be attributed to local equilibrium between adsorbed water and moisture content in the air.



**Figure 4.** TGA profiles of the used catalysts in nitrogen (A) and air atmosphere (B).

Figure 5 shows the Temperature Programmed Reduction (TPR) profiles of the three catalysts, identifying three zones. The hydrogen consumption increases in accordance with the metal loading (Table 2). As reported<sup>17</sup>, the peaks around 240, 300 and 570°C correspond to Cu-Ni alloy oxide, NiO (nickel oxide isolated) and NiOAl<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, respectively. These distribution are shown in the deconvolution of the TPR curves in Table 3 and Figure 6 for the Ni:Cu 11:1 material. The broad peak of NiAl<sub>2</sub>O<sub>4</sub> appears as a consequence of increasing temperature (>500 °C) due to the fact that solid state reactions are carried out between the support and the deposited phase, this occurs in all samples, almost irrespective of Ni loading. This specie appears in materials with calcination temperatures below 800°C. The first peak represents the Cu-Ni interaction and seems to follow the Ni and Cu loading. The NiO peak appears sharply at high Ni loading (Ni:Cu 11:1) and much broadly in low Ni content. A shift toward lower reduction temperature of NiO can be identify, due to the presence of Cu. Another important feature is that this phase exhibits the highest sensitivity toward the Ni loading, changing the phase percent from 27% - 34% - 49% approximately.

The following reaction shows the NiO, CuO, and NiAl<sub>2</sub>O<sub>4</sub> hydrogenation reactions:

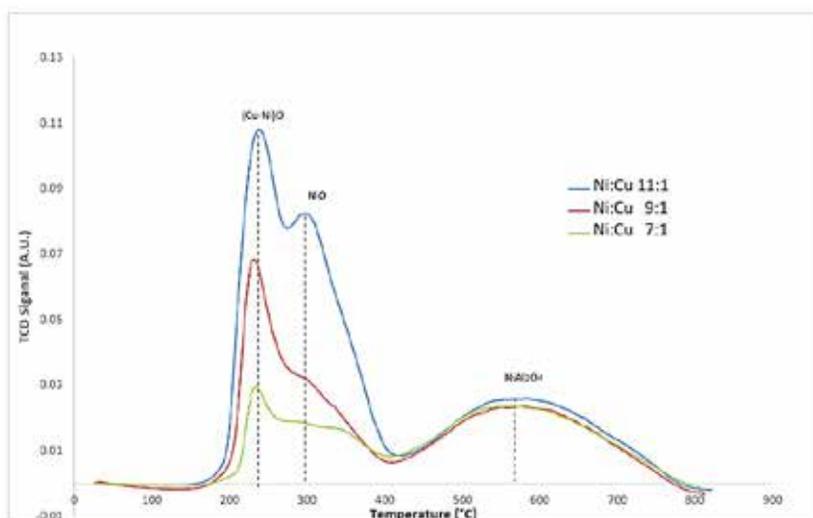


**Table 2.** Reducing properties of Ni:Cu 7:1, 9:1 and 11:1 catalysts

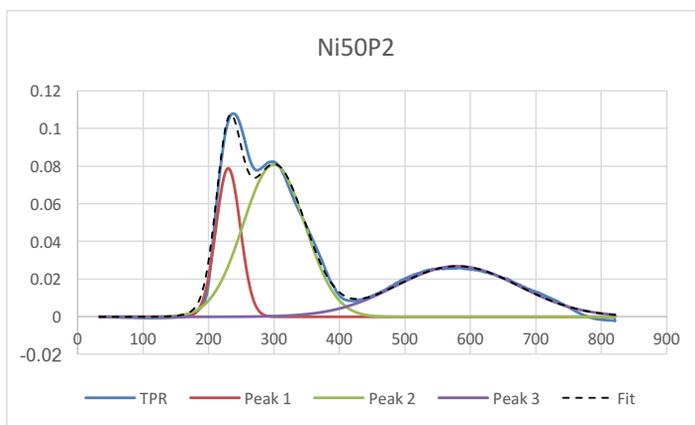
Sample	Masa de muestra (mg)	Volumen de H <sub>2</sub> -exp. (mL-STP/g <sub>cat</sub> )	Volumen de H <sub>2</sub> -Teo. (mL-STP/g <sub>cat</sub> )
Ni:Cu 7:1	102.8	48.1	71.0
Ni:Cu 9:1	105.2	57.0	96.0
Ni:Cu 11:1	117.7	83.0	123.7

**Table 3.** Peak deconvolution data of TPR curves.

	Ni:Cu 11:1				Ni:Cu 9:1				Ni:Cu 7:1			
	Peak	Deviation	Area	Phase %	Peak	Deviation	Area	Phase %	Peak	Deviation	Area	Phase %
CuO-NiO	230	18.48	3.65	18.6	233.2	15.58	2.10	17.8	236.3	13.29	0.70	7.7
NiO	300	47.27	9.57	48.8	293.1	47.64	3.97	33.8	303.7	52.28	2.48	27.2
NiO-Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	580	94.57	6.37	32.5	573.0	92.29	5.69	48.4	569.1	96.27	5.94	65.1



**Figure 5.** TPR profiles of the calcined catalysts.



**Figure 6.** Deconvolution of TPR curve for NiOP2 material.

### Catalytic evaluation

The results of the catalytic evaluation are depicted in Table 4. All the catalysts were tested under similar reactions conditions, taking the carbon deposited on the material as a performance and its dependence to nickel loading. As a general trend, the catalyst performance increases with the Ni loading<sup>18</sup>. But, when analyzing the carbon deposited per Ni loading the apparent trend is not followed, the 9Ni material appears to be the most active per Ni loading. Figure 7 shows the carbon deposited over time for 11Ni catalyst, where 82% of carbon is deposited in the first 5 hours.

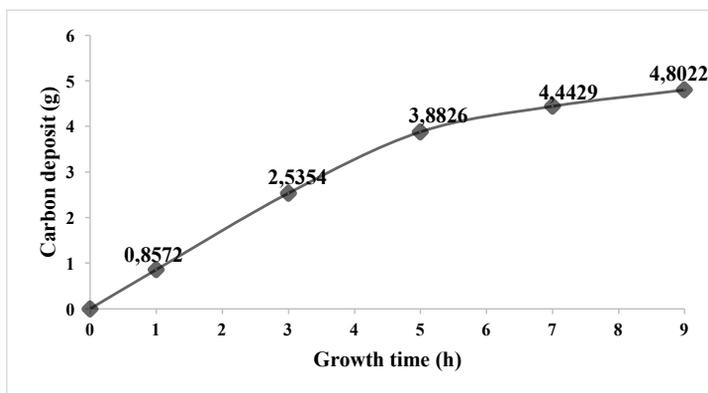
**Table 4.** Catalytic performance at 600 °C and 5 hours of reaction

Sample	C (g)	C <sub>g</sub> (g/g)	C <sub>Ni</sub>
Ni:Cu 7:1	1,8989	9,5	46,96
Ni:Cu 9:1	3,5215	17,6	62,02
Ni:Cu 11:1	3,8826	19,4	51,83

C: carbon deposited on catalyst

C<sub>g</sub>: carbon deposited on catalyst per catalyst weight

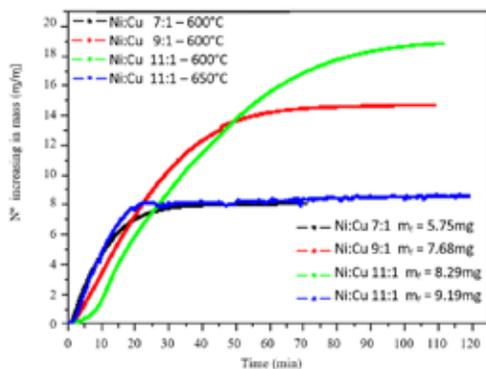
C<sub>Ni</sub>: carbon deposited on catalyst per Ni loading



**Figure 7.** Carbon deposition as a function of reaction time over Ni:Cu 11:1 catalyst at 600°C.

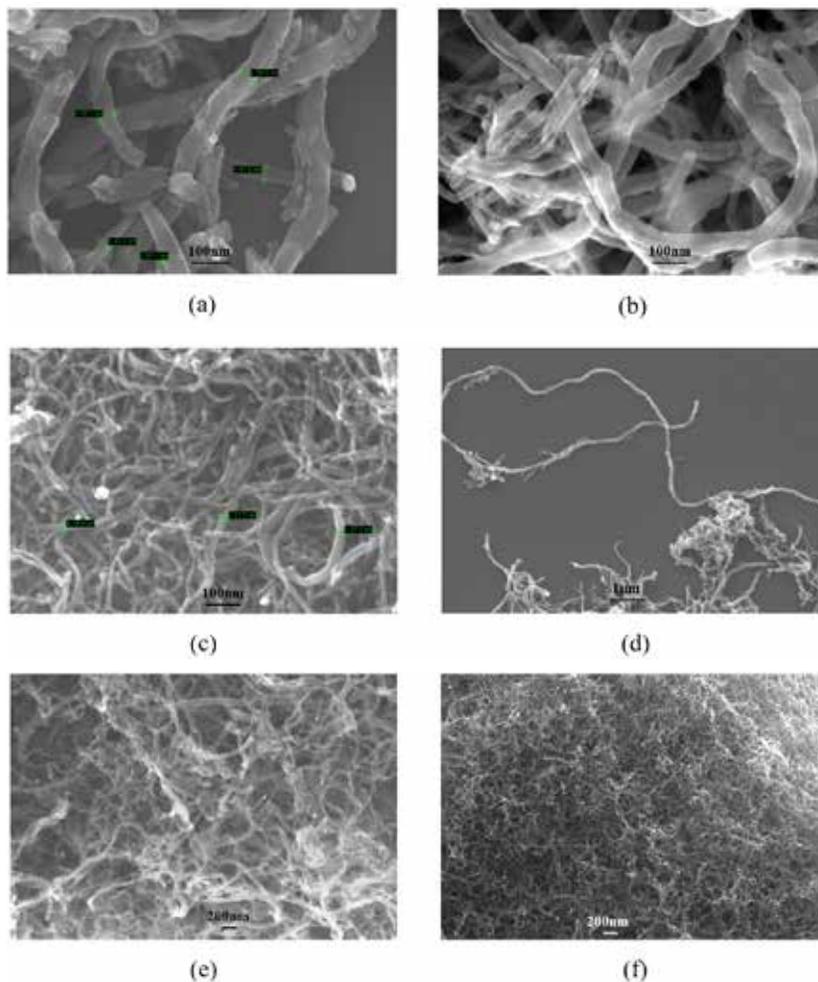
### Microactivity Test

The catalytic activity of the catalyst toward carbon formation was also studied in a differential reactor in order to have a preliminary idea of the kinetics involved is presented in Figure 8. We will focus to the initial time reaction, since at the beginning of the reaction, the surface is clean, we can attribute the slope of the curve as the intrinsic reaction rate. Surprisingly, the slope decreases with the Ni loading for the same temperature (at 600 °C), meaning that the Ni loading itself cannot explain the reaction mechanism. As the TPR shows, there are three types of Ni species before the reduction. The  $\text{NiAl}_2\text{O}_4$  seems that does not depend on Ni loading, and the nickel oxide isolated appears at high Ni loading. So the interaction Cu-Ni seems to diminish with Ni loading. This trend can explain the slope change in Figure 6 and three important conclusions can be extracted. The first is that  $\text{NiAl}_2\text{O}_4$  seems that does not have the major influence in the reaction rate. Second that the interaction Cu-Ni is very important to describe the reaction rate. Third the Ni isolated has an important contribution to the reaction but not as much as the Cu-Ni alloy.



**Figure 8.** Kinetic of carbon deposition

SEM analysis was carried out to observe the morphology of carbon deposits obtained at 5 hours of reaction for all catalysts. Figure 9 shows the micrographs that evidence the production of carbon nanofibers (CNF) by all catalysts. The CNF obtained showed a wide range of diameters ranging from 20 to 110 nm and fibers in shape of twisted filamentous.



**Figure 9.** SEM micrographs of the products obtained by methane decomposition using Ni-Cu/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> catalysts: (a) Micrograph to 100Kx of Ni:Cu 7:1 catalyst; (b) Micrograph to 100Kx of Ni:Cu 9:1 catalyst; (c) Micrograph to 100Kx of Ni:Cu 11:1 catalyst; (d) Micrograph to 10Kx of Ni:Cu 7:1 catalyst; (e) Micrograph to 20Kx of Ni:Cu 9:1 catalyst and (f) Micrograph to 20Kx of Ni:Cu 11:1 catalyst.

It has been observed differences related to the catalyst composition, in figure 9 (a) and 9 (b), that correspond to 7Ni and 9Ni, respectively. The carbon nanofibers appear to be shorter and with larger diameters, which is consistent with the low carbon yield, than the obtained with 11Ni catalyst where the fibers are thinner and longer. What seems interest is that Ni isolated is only seen in this material, though it can be attributed to this specie the formation of this type of carbon fiber.

A quantitative analysis of the carbon fiber yields should be done in future works. A relation between carbon fiber parameters as fiber length or fiber diameters and metal loading (Cu, Ni) is not straight forward. To have a more clear view of the system a mechanism for the fiber growth must be elucidated establishing the type of site(s) that promotes this growth.

## CONCLUSIONS

Three Ni-Cu catalysts supported on alumina in gamma phase ( $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), synthesized by impregnation were active toward the production of carbon fibers.

The XRD results identified three species before the reduction corresponding to (Cu-Ni)O and NiO with characteristics peaks at 37,2 °, 43,2°, 62,8 °, 75,3 ° and 79,0 °. In addition, it was observed peaks at 68 ° and 46 ° (2 $\theta$ ) that correspond to the gamma phase ( $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) of the amorphous alumina support.

The TPR showed that NiAl<sub>2</sub>O<sub>4</sub> appears at higher temperatures from 500 °C and does not depend directly on the Ni loadings. Besides, Cu-Ni interacts in every Ni content, but cannot explain the catalyst activity.

The catalyst composition substantially affects the methane decomposition so a higher amount of nickel (11Ni) produces a major carbon deposited (3.8826 g) than 7Ni and 9Ni catalysts with values of 1,8989 g and 3,5215 g, respectively.

The 11Ni catalyst has produced thin and elongated carbon nanofibers probably due to its nickel loading that is higher than the others catalysts; and according TPR it had the major consumption of hydrogen and therefore, major amount of active metal.

## ACKNOWLEDGEMENT

The authors are grateful to CONCYTEC-FONDECYT (Proyecto PIBAP N°000141-2015) for financing this research, to the Universidad Católica de Santa María (UCSM) for co-financing and overall support, and to the Universidade Federal da Paraíba (UFPB) for their help and technical support.

## REFERENCES

1. Li, Y., Li, D., & Wang, G. (2011, March). Methane decomposition to CO<sub>x</sub>-free hydrogen and nano-carbon material on group 8–10 base metal catalysts: A review. *Catal. Today*, 162(1), 1-48.
2. J., Ruppel, G. (2015). Surface modification processes during methane decomposition on Cu-promoted Ni–ZrO<sub>2</sub> catalysts. *Catal. Sci. Technol.*, 5(2), 967-978.
3. Tessonnier, J.- P., & Su, D. S. (2011). Recent Progress on the Growth Mechanism of Carbon Nanotubes: A Review. *ChemSusChem*, 4(7), 824-847.
4. Ermakova, M. A., Ermakov, D. Y., Kuvshinov, G. G., & Plyasova, L. (1999). New Nickel Catalysts for the Formation of Filamentous Carbon in the Reaction of Methane Decomposition. *J. Catal.*, 187, 77-84.
5. Wang, Y., Peng, J., Zhou, C., Lim, Z.-Y., Wu, C., Ye, S., & Wang, W. G. (2014). Effect of Pr addition on the properties of Ni/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> catalysts with an application in the autothermal reforming of methane. *Int. J. Hydrogen Energy*, 39, 778-787.
6. Ogihara, H., Takenaka, S., Yamanaka, I., Tanabe, E., Genseki, A., & Otsuka, K. (2006). Formation of highly concentrated hydrogen through methane decomposition over Pd-based alloy catalysts. *J. Catal.*, 238, 353-360
7. Ashok, J., Reddy , P. S., Raju , G., Subrahmanyam , M., & Venugopal , A. (2009). Catalytic Decomposition of Methane to Hydrogen and Carbon Nanofibers over Ni–Cu–SiO<sub>2</sub> Catalysts. *Energ. Fuel.*, 23(1), 5-13.
8. Lázaro, M. J., Echegoyen, Y., Suelves, I., Palacios, J. M., & Moliner, R. (2007). Decomposition of methane over Ni-SiO<sub>2</sub> and Ni-Cu-SiO<sub>2</sub> catalysts: Effect of catalyst preparation method. *Appl. Catal. A Gen.*, 329(1), 22-29.
9. Ashour, S. S. (2014). Structural, textural and catalytic properties of pure and Li-doped NiO/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> and CuO/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> catalysts. *J. Saudi Chem. Soc.*, 18(1), 69-76.
10. Gregg, S., & Sing, K. (1982). Adsorption, surfacearea and porosity. London: Academic Press Inc.
11. Orellana, F., Lisperguer, J., & Nuñez, C. (2014). Synthesis and characterization of polypropylene-silica, alumina and titania nanoparticles, prepared by melting. *J. Chil. Chem. Soc.*, 59(1), 2389-2393.
12. De Llobet , S., Purón , H., Pinilla , J., Moliner , R., Millán , M., & Suelves , I. (2013). Tailored synthesis of organised mesoporous aluminas prepared by non-ionic surfactant templating using a Box-Wilson CCF design. *Micropor. Mesopor. Mat.*, 179, 69-77
13. Yalamaç, E., Trapanib, A., & Akkurt, S. (2014). Sintering and microstructural investigation of gamma alpha alumina powders. *J. Chil. Chem. Soc.*, 17, 2-7.
14. Jiménez , V. (2011). Síntesis, activación química y aplicaciones de nanoestructuras de carbono. *tesis para optar el grado de Doctor en Ingeniería Química*(Universidad de Castilla – La Mancha).
15. De Llobet, S., Pinilla, J. L., Moliner, R., & Suelves, I. (2015). Effect of the synthesis conditions of Ni/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>catalysts on the biogasdecomposition to produce H<sub>2</sub>-rich gas and carbon nanofibers. *Appl. Catal. B Environ*, 165, 457–465.

16. Lee, J.-H., Lee, E.-G., Joo, O.-S., & Jung, K.-D. (2004). Stabilization of Ni/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> catalyst by Cu addition for CO<sub>2</sub> reforming of methane. *Appl. Catal. A Gen.*, 269, 1-6.
17. Chen, J., Li, Y., Ma, Y., Qin, Y., & Chang, L. (2001). Formation of bamboo-shaped carbon filaments and dependence of their morphology on catalyst composition and reaction conditions. *Carbon*, 39, 1467-1475.

## EFFECTO DEL CONSUMO DE UNA BEBIDA A BASE DE *Physalis peruviana*, *Passiflora edulis*, *Ananas comosus*, *Avena sativa*, *Linum usitatissimum* y *Stevia rebaudiana*, SOBRE EL PERFIL LIPÍDICO Y GLICEMIA, DE MUJERES CON SOBREPESO Y OBESIDAD

Claudia M. Dolores<sup>1\*</sup>, Elena R. Benavides<sup>1</sup>, Óscar O. Osso<sup>2</sup>

### RESUMEN

Se elaboró una bebida a base de pulpa de *Physalis peruviana* (12 %), *Passiflora edulis* (9 %) y *Ananas comosus* (9 %), con fibra de *Avena sativa* (12 %) y *Linum usitatissimum* (33 %), endulzada con *Stevia rebaudiana* (1 %), la misma que cumplió con los parámetros fisicoquímicos, bromatológicos, microbiológicos y sensoriales para ser apta para consumo humano. El estudio del efecto de la bebida fue cuasi experimental en 10 mujeres voluntarias entre los 21 y 39 años de edad, estudiantes de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM, todas ellas presentaban sobrepeso u obesidad de acuerdo a su índice de masa corporal y clasificación dictada por la OMS, quienes consumieron la bebida con una frecuencia de cuatro veces por semana durante el periodo de tres meses, con seguimiento mensual de mediciones antropométricas y análisis bioquímicos de triglicéridos, colesterol total, HDL, LDL, glucosa y hemoglobina. Los resultados fueron analizados aplicando t-student para muestras pareadas, con nivel de significancia del valor  $p \leq 0,05$ . Obteniéndose resultados estadísticamente significativos respecto a triglicéridos ( $p = 0,034$ ) y glucosa ( $p = 0,002$ ). Por lo que se concluye que la bebida elaborada posee propiedad hipolipemiente en cuanto a triglicéridos y un efecto hipoglicemiente.

**Palabras clave:** sobrepeso, obesidad, fibra, hipolipemiente, hipoglicemiente.

---

\* Jr. Puno 1002. Lima 1. Clau.melidolores@gmail.com

<sup>1</sup> Facultad de Farmacia y Bioquímica, UNMSM.

<sup>2</sup> Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión

## EFFECT FROM CONSUMPTION OF A DRINK WITH *Pysalis peruviana*, *Passiflora edulis*, *Ananas comosus*, *Avena sativa*, *Linum usitatissimum* and *Stevia rebaudiana*, ABOUT THE LIPID PROFIL AND GLICEMIA, FROM WOMEN WITH OVERWEIGHT AND OBESITY

### ABSTRACT

A pulp-based drink was made from *Physalis peruviana* (12 %), *Passiflora edulis* (9 %) and *Ananas comosus* (9%), with fiber of *Avena sativa* (12 %) and *Linum usitatissimum* (33 %), sweetened with *Stevia rebaudiana* (1 %), fulfilled the physicochemical, bromatological, microbiological and sensorial parameters to be suitable for human consumption. The study of the effect of the drink was quasi-experimental in 10 volunteer women between 21 and 39 years of age, students of the Faculty of Pharmacy and Biochemistry of the UNMSM, all of them were overweight or obese according to their body mass index and classification dictated by the WHO, who consumed the drink with a frequency of four times a week during the three-month period, with monthly monitoring of anthropometric measurements and biochemical analysis of triglycerides, total cholesterol, HDL, LDL, glucose and hemoglobin. The results were analyzed by applying t-student for paired samples, with level of significance of the p value  $\leq 0.05$ . Statistically significant results were obtained in terms of triglycerides ( $p = 0.034$ ) and glucose ( $p = 0.002$ ). Therefore, it is concluded that the elaborated drink possesses lipid-lowering property in terms of triglycerides and a hypoglycemic effect. Conclusion: Therefore, the elaborated beverage possesses lipid-lowering properties in terms of triglycerides and a hypoglycemic effect was found, but these effects are insufficient for the control of overweight and obesity.

**Key words:** overweight, obesity, fiber, hypolipidemic, hypoglycemic.

### INTRODUCCIÓN

En el Perú, el 62,3 % de la población, entre los 30 y 59 años, tres de cada cinco, sufre de sobrepeso u obesidad, según estudios del sector Salud<sup>1</sup>, siendo esta prevalencia mayor en mujeres. La obesidad favorece la expresión de los mismos fenotipos principales descritos en otras formas de resistencia a la insulina, principalmente los de la hipertensión arterial sistémica, la hiperglicemia de ayuno y postprandial, y la dislipidemia caracterizada por elevación de triglicéridos (TG), producción de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y reducción de las lipoproteínas de alta densidad (HDL), la obesidad, la dislipidemia y el riesgo cardiovascular que conlleva deberían revertir con dietas hipocalóricas; sin embargo, hasta el momento no hay estudios que lo corroboren<sup>2</sup>; por ello, la elaboración de una bebida, de fácil disponibilidad, que ayude a controlar la dislipidemia, puede contribuir a reducir los índices de riesgo en la salud, por lo que, pensando en las poblaciones con sobrepeso y obesidad, se desarrolló un producto saludable, agradable, inocuo y de fácil disponibilidad,

con presentación ideal. La bebida elaborada es una alternativa para la industria alimentaria por sus propiedades funcionales, al ser una bebida baja en calorías, recomendable para una alimentación saludable complementando la dieta diaria, con aporte de fibra soluble que disminuya la absorción de lípidos y carbohidratos, que a su vez proteja las paredes del estómago y al hidratarse genere sensación de saciedad al consumidor<sup>3</sup>.

El objetivo de este estudio fue elaborar una bebida con efecto hipolipemiante e hipoglicemiante formulada a base de pulpa de *Physalis peruviana* (aguaymanto), *Passiflora edulis* (maracuyá) y *Ananas comosus* (piña), fibra de *Avena sativa* (avena) y *Linum usitatissimum* (linaza), endulzada con *Stevia rebaudiana* (stevia).

## PARTE EXPERIMENTAL

Materia prima: se utilizó pulpa de aguaymanto, maracuyá y piña, fibra de avena y linaza extraída por proceso térmico en agua a 90 °C durante 15 minutos, adaptado del método empleado por Thakur<sup>4</sup>.

Insumos: se utilizaron insumos permitidos de acuerdo a las normas nacionales de INDECOPI<sup>5</sup> y Codex Alimentarius<sup>6</sup>, tales como: stevia en polvo, agua blanda, carboximetilcelulosa (CMC) y sorbato de potasio.

Equipos y reactivos: propios de laboratorio de alimentos y para análisis bioquímicos.

Tipo de investigación: diseño cuasi experimental de casos y controles.

Población y muestra de estudio: Diez (10) estudiantes mujeres, entre 21 y 39 años de edad con sobrepeso u obesidad, de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Metodología: Se estableció la formulación apropiada, que cumpla con las especificaciones de la NTP<sup>5</sup>, el Codex Alimentarius<sup>6</sup>, el análisis proximal de la AOAC<sup>7</sup>; así como la buena aceptabilidad ante la evaluación sensorial. Siendo esta de base de pulpa de *Physalis peruviana* (12 %), *Passiflora edulis* (9 %) y *Ananas comosus* (9 %), con fibra de *Avena sativa* (12 %) y *Linum usitatissimum* (33 %), endulzada con *Stevia rebaudiana* (1 %).

Se les dio a beber al grupo muestral con una frecuencia de cuatro veces por semana y un volumen de 300 mL por vez. Esta frecuencia se planteó al revisar otras investigaciones en las que se ha observado un efecto hipolipemiante y/o hipoglicemiante en pacientes con sobrepeso u obesidad, siendo el tiempo referencial igual o mayor a un mes. Previo a la primera ingesta y al término del primero, segundo y tercer mes de consumo, se determinaron las medidas antropométricas (peso, talla y perímetro de cintura); así como, los niveles de hemoglobina, glucosa y perfil lipídico (triglicéridos (TG), colesterol total, LDL y HDL). Los resultados fueron analizados aplicando t-student para muestras pareadas, con nivel de significancia del valor  $p \leq 0,05$ .

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinaciones antropométricas: Mediante el test de normalidad Shapiro–Wilk (S-W) comparación de muestras relacionadas, en Peso, no cumplió con los criterios de normalidad ( $S-W_{\text{Inicio-final}} = 0,794$ ;  $p = 0,012$ ), al aplicar test de Wilcoxon no hubo variaciones estadísticamente significativas. En la figura 1 podemos observar la evolución del grupo de estudio en cuanto al peso, en la figura 2 la evolución en cuanto al IMC y en la figura 3 la correspondiente al perímetro de cintura.

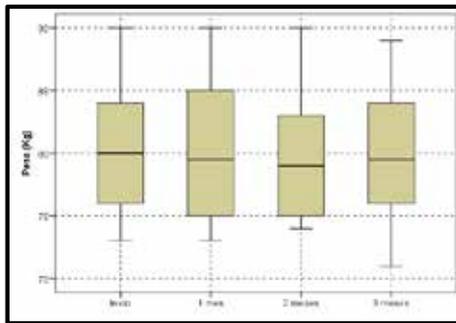


Figura 1. Evolución del grupo de estudio en cuanto al peso.

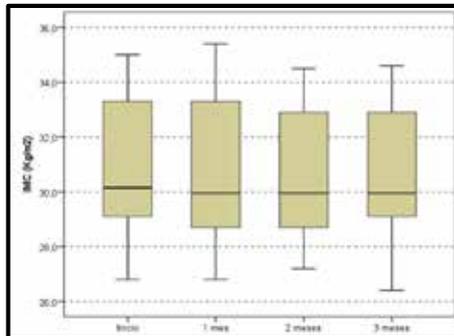


Figura 2. Evolución del grupo de estudio en cuanto al IMC.

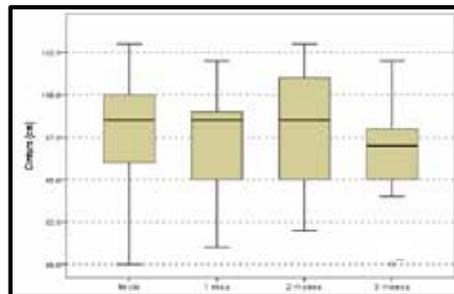


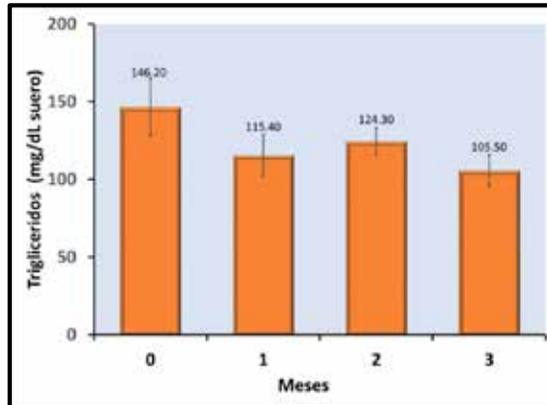
Figura 3. Evolución del grupo de estudio en cuanto al perímetro de cintura.

Los resultados antropométricos no presentaron diferencia significativa en la disminución de los índices relacionados con el sobrepeso y la obesidad, por lo cual la bebida no posee *per se* un efecto que ayude a contrarrestar y/o controlar los niveles de obesidad, podemos decir que la razón de los resultados observados es debido a que el grupo de estudio consumió la bebida formulada, pero sin intervención en la dieta, ni en la actividad física; siendo la combinación de estos más efectivo en el tratamiento de la obesidad, que cada uno de forma separada, según la OMS<sup>8</sup>. Estos resultados son comparables con lo reportado por Alonso<sup>9</sup>, no encontrando diferencias estadísticamente significativas en la disminución del IMC por consumo de licuado de avena con manzana en pacientes con sobrepeso y obesidad, pero en contraste con el presente estudio, sí reportaron una disminución significativa en el perímetro abdominal.

Probablemente el consumo de la bebida podría servir como apoyo en un régimen de pérdida de peso con una dieta saludable y actividad física, lo cual puede evaluarse en investigaciones futuras.

La comparación de los resultados de triglicéridos (TG) aplicando t-student para muestras pareadas, no cumplió con los criterios de normalidad (S-W Inicio-1 mes = 0,931,  $p = 0,460$ ; S-W 2 mes-3 mes = 0,944,  $p = 0,601$ ; S-W Inicio-Final = 0,925,  $p = 0,403$ ), excepto entre el primer y segundo mes (S-W 1 mes-2 mes = 0,737,  $p = 0,003$ ). Mientras que entre el segundo y tercer mes existe diferencia estadísticamente significativa,  $t = 2,485$ ,  $p = 0,035$ , donde el tamaño del efecto fue de magnitud media ( $d = 0,786$ ) usando los criterios de Cohen<sup>10</sup>; además, la comparación inicial con final del estudio indican una diferencia estadísticamente significativa,  $t = 2,504$ ,  $p = 0,034$ , con efecto de magnitud media ( $d = 0,792$ ).

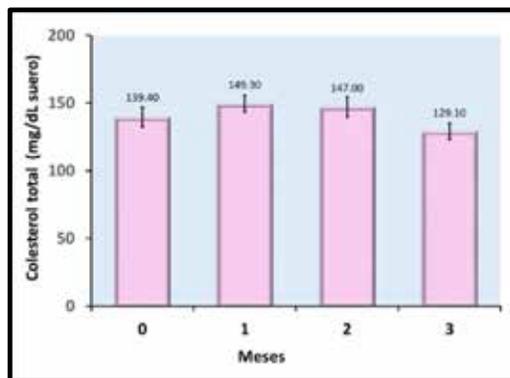
El consumo de la bebida, entonces, provocó la disminución de los niveles séricos de TG, manteniéndolos en niveles óptimos, según se puede observar en la figura 4, cuyo inicio fue de 146,20 mg/dL con disminución estadísticamente significativa ( $p = 0,035$ ), hasta 105,50 mg/dL después de los tres meses de consumo. Resultados comparables a lo reportado por Alonso<sup>9</sup>, quien encontró una disminución significativa ( $p = 0,029$ ) de TG séricos en un grupo de estudio con sobrepeso y obesidad después del consumo de un licuado de avena con manzana, semejante a lo reportado por Khoury<sup>11</sup>, encontrándose relación entre el consumo de avena sobre los niveles plasmáticos de lípidos, debido a la fibra soluble ( $\beta$ -glucanos) e insoluble, que evita la absorción de los lípidos durante la digestión; asimismo, Thakur<sup>4</sup> encontró relación entre el consumo de goma de linaza y la disminución de TG en sangre, por lo que esta variación estaría provocada por la fibra de avena y linaza de nuestra bebida.



**Figura 4.** Evolución de los niveles séricos de triglicéridos del grupo de estudio con el consumo de la bebida durante tres meses.

Colesterol total: La comparación de muestras relacionadas en colesterol total cumplieron con los criterios de normalidad (S-W Inicio-1 mes = 0,912,  $p = 0,294$ ; S-W 1 mes-2 mes = 0,970,  $p = 0,890$ ; S-W 2 mes-3 mes = 0,877,  $p = 0,120$ ; S-W Inicio-Final = 0,966,  $p = 0,855$ ), con diferencia estadísticamente significativa entre el segundo y tercer mes,  $t = 2,852$ ,  $p = 0,019$ , efecto de magnitud alta ( $d = 0,902$ )<sup>9</sup>.

Pero, la disminución entre el inicio y final no muestra diferencia estadísticamente significativa ( $p = 0,216$ ) de 139,40 mg/dL a 129,10 mg/dL, respectivamente.

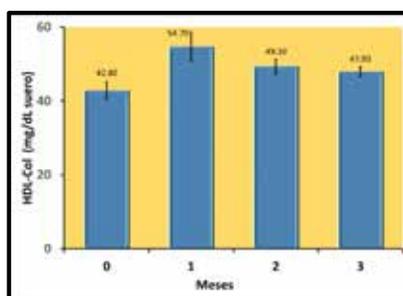


**Figura 5.** Evolución de los niveles séricos de colesterol total del grupo de estudio con el consumo de la bebida durante tres meses.

Sin embargo, las concentraciones se mantuvieron en niveles óptimos (140 mg/dL a <200 mg/dL). Comparable al estudio de Alonso<sup>9</sup>, donde no se encontró una disminución significativa ( $p = 0,173$ ) de los niveles séricos de colesterol total y con lo reportado por Colonia<sup>12</sup>, en la evaluación de consumo de linaza sobre el perfil lipídico, tampoco encontró diferencia significativa para los niveles de colesterol total en un grupo de adultos aparentemente sanos, mientras que Thakur<sup>4</sup> encontró una disminución significativa de colesterol total después de un consumo de goma de linaza. Podemos suponer que nuestros resultados sean debido a la variabilidad en la dieta del grupo de estudio; otra razón, puede ser, que a diferencia de los TG, que son usados como fuente de energía, el colesterol, los fosfolípidos y derivados de ellos, se utilizan en todo el organismo para llevar a cabo otras funciones, Guyton<sup>13</sup>.

**Colesterol HDL:** La comparación de muestras relacionadas en HDL cumplieron con los criterios de normalidad, (S-W Inicio-1 mes = 0,967,  $p = 0,858$ ; S-W 1 mes-2 mes = 0,865,  $p = 0,087$ ; S-W 2 mes-3 mes = 0,942,  $p = 0,575$ ; S-W Inicio-Final = 0,945,  $p = 0,605$ ). Existe diferencia estadísticamente significativa solo entre el inicio del estudio y el primer mes,  $t = 2,659$ ,  $p = 0,026$ , con efecto de magnitud alta ( $d = 0,841$ )<sup>10</sup>; pero, entre el inicio y el final se presentó un efecto de magnitud mediana ( $d = 0,624$ )<sup>10</sup>; podemos decir que el consumo de la bebida contribuye medianamente en aumentar los niveles de HDL y equilibrar a los niveles óptimos en sangre (figura 6).

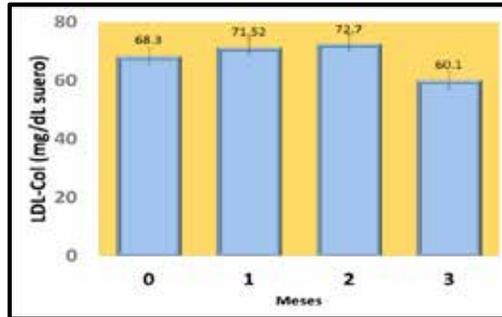
Sin embargo, al no ser estadísticamente significativo ( $p = 0,080$ ), nos indica en el consumo de la bebida no presenta un efecto significativo en los niveles séricos de HDL-col.



**Figura 6.** Evolución en los niveles séricos de colesterol HDL del grupo de estudio con el consumo de la bebida durante tres meses.

**Colesterol LDL:** La comparación de muestras relacionadas en LDL, cumpliendo los criterios de normalidad (S-W Inicio-1 mes = 0,925,  $p = 0,400$ ; S-W 1 mes-2 mes = 0,945,  $p = 0,613$ ; S-W 2 mes-3 mes = 0,860,  $p = 0,077$ ; S-W Inicio-Final = 0,938,  $p = 0,534$ ). Solo entre el segundo y tercer mes se presenta diferencia estadísticamente significativa,  $t = 2,819$ ,  $p = 0,020$ , con efecto de magnitud alta ( $d = 0,891$ )<sup>9</sup>, el consumo de la bebida no provocó disminución de LDL, aunque estos se mantuvieron en el rango óptimo.

La figura 7 muestra los niveles séricos de LDL, antes 68,3 mg/dL y al final 60,1 mg/dL disminución no significativa estadísticamente ( $p = 0,232$ ), resultados comparables a los de Colonia<sup>12</sup>.

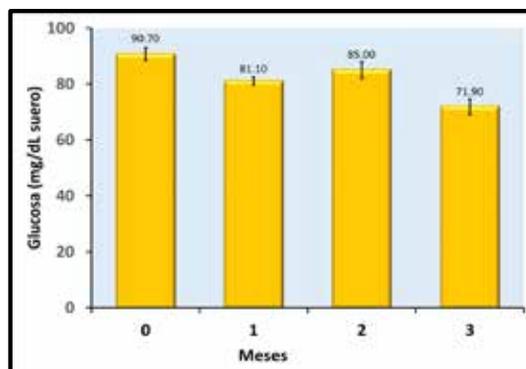


**Figura 7.** Evolución en los niveles séricos de colesterol LDL del grupo de estudio con el consumo de la bebida durante tres meses.

Glucosa: La comparación de los resultados aplicando t-student para muestras pareadas, esta comparación demostró cumplir con los criterios de normalidad (S-W Inicio-1 mes = 0,918,  $p = 0,338$ ; S-W 1 mes-2 mes = 0,885,  $p = 0,148$ ; S-W 2 mes-3 mes = 0,951,  $p = 0,680$ ; S-W Inicio-Final = 0,939,  $p = 0,538$ ).

Existe diferencia estadísticamente significativa entre el inicio y el final del estudio,  $t = 4,342$ ,  $p = 0,002$ , con efecto de magnitud alta ( $d = 1,373$ )<sup>10</sup>, y entre meses, excepto entre el primer y segundo mes,  $t = 0,288$ ,  $p = 0,288$ ; podemos decir que el consumo de la bebida tiene efecto en la disminución de la glicemia y su relación en niveles óptimos.

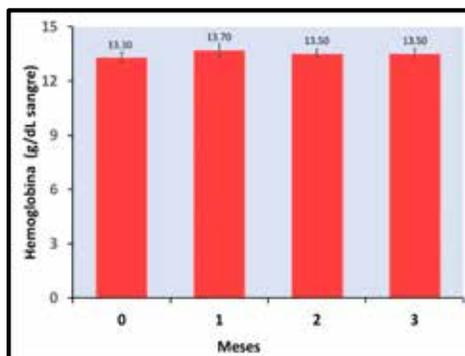
En la figura 8 se observan los niveles séricos de glucosa desde antes del consumo de la bebida con 90,70 mg/dL, con disminución estadísticamente significativa ( $p = 0,002$ ) al término del estudio a 71,90 mg/dL. Resultados comparables a lo reportado por Biörklund<sup>14</sup> en glicemia (postprandial) por consumo diario de 5 g de  $\beta$ -glucanos de avena en una bebida, por hombres y mujeres con colesterol medianamente elevado; y a Thakur<sup>4</sup>, quien encontró disminución significativa ( $p = 0,03$ ) de glicemia en ayunas por consumo de goma de linaza por un periodo de tres meses; efecto atribuido a la fibra de avena y linaza contenida en la bebida, que hace la digestión y absorción de carbohidratos más lenta por el revestimiento de la mucosa intestinal<sup>4,14</sup>. El empleo de stevia, cero calorías, debido a los glucósidos (esteviósidos y rebaudiosidos) que no producen energía<sup>15</sup>, ayuda a generar una menor respuesta glicémica.



**Figura 8.** Evolución de la glicemia del grupo de estudio con el consumo de la bebida durante tres meses.

Hemoglobina: La comparación de los resultados aplicando t-student para muestras pareadas, demostrando que no cumplieron con los criterios de normalidad (S-W Inicio-1 mes = 0,717,  $p = 0,001$ ; S-W 1 mes-2 mes = 0,820,  $p = 0,025$ ; S-W 2 mes-3 mes = 0,658,  $p = < .001$ ; S-W Inicio-Final = 0,751,  $p = 0,004$ ).

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el inicio del estudio y el tercer mes, esto es debido a que los valores de hemoglobina se mantuvieron constantes, demostrando que la bebida no provocó cambios en la hemoglobina sérica (figura 9). Lo antes indicado es favorable para el estudio ya que tradicionalmente se ha considerado a la fibra dietética como inhibidor de la absorción de minerales<sup>16</sup>; en la absorción de hierro hemo y no-hemo tiene lugar fundamentalmente en el duodeno<sup>17</sup>; únicamente el 10 % del hierro ingerido se absorbe en este tramo del intestino<sup>18</sup>, la no disminución en los niveles de hemoglobina evidencia una absorción normal del hierro hemo, debido al medio ácido en el intestino que favorece la absorción de minerales en general, pues a pH bajo se mantienen en solución. El consumo de fibra soluble favorece a las bacterias beneficiosas en el tracto intestinal manteniendo un pH ácido en el medio, siendo ese el rol de la fibra de avena y linaza en la bebida. Asimismo, se ha documentado el papel estimulante que ejerce la vitamina C en la absorción de hierro<sup>18,19</sup>, lo que se garantiza con la pulpa de frutas utilizada en nuestra bebida.



**Figura 9.** Evolución en los niveles séricos de hemoglobina del grupo de estudio con el consumo de la bebida durante tres meses.

Mediante este estudio podemos comprobar que hay resultados estadísticamente significativos en comparación del inicio y final del estudio en cuanto a los niveles séricos de triglicéridos y glucosa, la posible relación de este efecto puede ser atribuido al consumo de fibra de avena y linaza que ayuda a disminuir la absorción de lípidos y carbohidratos<sup>4</sup>. La fibra soluble, una vez que ingresa al estómago, enlentece el vaciamiento gástrico, origina distensión y aumenta la saciedad. En el intestino delgado también enlentece el tránsito. Esta fibra aumenta el espesor de la capa de agua que han de pasar los solutos para llegar al enterocito, de esta manera disminuye la absorción de glucosa, lípidos y aminoácidos<sup>20</sup>.

Los índices de colesterol total, HDL y LDL, fueron variables durante el estudio. Asimismo, como variables son las investigaciones al respecto, probablemente por falta de restricciones en la dieta del grupo de estudio o que los evaluados no fueron hiperlipidémicos, o sufrían alguna enfermedad, por ejemplo Thakur<sup>4</sup>, encontró una disminución de colesterol total y glucosa por consumo de goma de linaza, en pacientes con diabetes tipo 2. En nuestro caso, probablemente, debido a que encontramos al grupo de estudio entre los niveles óptimos de colesterol total, HDL y LDL antes del inicio del consumo de la bebida, estos se mantuvieron en el tiempo. Por otro lado, el exceso de carbohidratos en la dieta se convierte en triglicéridos, que se depositan en el tejido adiposo, lo cual está relacionado al aumento del IMC y perímetro de cintura; sin embargo, estos índices antropométricos, relacionados al sobrepeso y la obesidad, no mostraron disminución significativa, probablemente debido a que no solo es necesario con una dieta saludable sino también actividad física diaria<sup>8</sup> y en el estudio realizado no se hizo una restricción a la dieta del grupo de estudio, ni hubo influencia de actividad física incorporada. Finalmente, se comprobó que la bebida posee propiedad hipolipemiente en cuanto a triglicéridos e hipoglicemiente, con resultados estadísticamente significativos,  $p = 0,035$  y  $p = 0,002$ , respectivamente.

## CONCLUSIONES

La bebida evaluada evidenció un efecto hipolipemiante en los niveles séricos de triglicéridos, siendo la variación estadísticamente significativa. El consumo de la bebida evaluada provocó un efecto hipoglicemiante, estadísticamente significativo. No se evidenciaron cambios estadísticamente significativos en las medidas antropométricas, ni en los de hemoglobina.

## AGRADECIMIENTOS

- Al Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por el financiamiento en la investigación
- Al laboratorio de Investigación de Bioquímica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por el uso de sus instalaciones.
- Al Servicio Académico Asistencial de Análisis Clínicos de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Álvarez D, Sánchez J, Gómez G, Tarqui C. Sobrepeso y obesidad: Prevalencia y determinantes sociales del exceso de peso en la población peruana (2009-2010). *Rev Perú Med Exp Salud Pública*. 2012; 29(3): 303-13.
2. Troyo P. Obesidad y dislipidemias. *Gac Méd Méx*. 2004; 140(Supl. 2): S49-S58.
3. Matos A, Chambilla E. Importancia de la Fibra Dietética, sus Propiedades Funcionales en la Alimentación Humana y en la Industria Alimentaria. *Rev Investg Cienc Tecnol Aliment*. 2010;1(1): 4-17.
4. Thakur G, Mitra A, Pal K, Rousseau D. Effect of flaxseed gum on reduction of blood glucose & cholesterol in Type 2 diabetic patients. *Int J Food Sci Nutr*. 2009; 60(Suppl 6): 126-36
5. INDECOPI. NTP 203.110:2009 .Jugos, néctares y bebidas de fruta. Requisitos.
6. FAO/WHO. Codex Alimentarius. Zumos, jugos de fruta y productos afines. Segunda Edición. Roma: FAO; 1992.
7. Horwitz W, Latimer G. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Official Methods of Analysis. Gaithersburg: Association of Officiating Analytical Chemists; 2007.
8. Organización mundial de la salud (OMS). Obesidad y sobrepeso. [Internet] Junio, 2016. [Ciltado 03 oct 2016]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>
9. Alonso J, Bautista R, Calzada D, Gutiérrez M, Mendoza R. Efecto del licuado de avena con manzana sobre dislipidemias y sobrepeso-obesidad. *CuidArte* [Internet] 2012 [Citado 07 oct 2016]; 1(2): 24-33. Disponible en: <http://journals.iztacala.unam.mx/index.php/cuidarte/article/viewArticle/217>

10. Cohen J. Statistical power analysis for the behavioral sciences. 2a ed. Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum. 1988.
11. El Khoury D, Cuda C, Luhovyy BL, Anderson GH. Beta Glucan: Health Benefits in Obesity and Metabolic Syndrome. *J Nutr Metab.* 2012; 2012:851362. Doi:10.1155/2012/851362.
12. Colonia A. Efecto del consumo de linaza (*Linum usitatissimum*) sobre el perfil lipídico de adultos aparentemente sanos. [Tesis] Lima: Universidad Nacional de San Marcos, Facultad de Medicina Humana; 2011.
13. Guyton A.C., Hall J.E. Tratado de Fisiología Médica. Madrid: Elsevier; 2006.
14. Biörklund M, Van Rees A, Mensink RP, Onning G. Changes in serum lipids and postprandial glucose and insulin concentrations after consumption of beverages with beta-glucans from oats or barley: a randomised dose-controlled trial. *Eur J Clin Nutr.* 2005; 59(11): 1272-1281.
15. Gupta E, Purwar S, Sundaram S, Rai G. Nutritional and therapeutic values of *Stevia rebaudiana*: A review. *J Med Plants Res.* 2013; 7(46): 3343-3353.
16. Toxqui L, de Piero A, Courtois V, Bastida S, Sánchez-Muniz FJ, Vaquero M<sup>a</sup>P. Deficiencia y sobrecarga de hierro; implicaciones en el estado oxidativo y la salud cardiovascular. *Nutr Hosp.* 2010; 25(3): 350-365.
17. Sharp P, Srai SK. Molecular mechanisms involved in intestinal iron absorption. *World J Gastroenterol.* 2007; 13(35): 4716-4724.
18. Slavin JL. Position of the American Dietetic Association: health implications of dietary fiber. *J Am Diet Assoc.* 2008; 108(10): 1716-31.
19. Debnath P, Dey P, Chanda A, Bhakta T. A Survey on Pineapple and its medicinal value. *SAJP.* 2012; 1(1):24-29.
20. Escudero E, Gonzales P. La fibra dietética. *Nutr Hosp.* 2006; 21(Supl.2): 61-72.

## OBTENCIÓN DE EXTRACTOS DE HOJAS DE *Annona muricata* L. (GUANÁBANA) INDUCIDOS POR SU EFECTO INHIBIDOR DE LA CORROSIÓN

Abel Vergara Sotomayor<sup>1\*</sup>, Karín Páucar Cuba<sup>1</sup>, Carlos Morales Comettant<sup>1</sup>,  
Olivio Castro Mandujano<sup>2</sup>, Pedro Pizarro Solís<sup>1</sup>, José Díaz Rosado<sup>3</sup>

### RESUMEN

En el presente estudio fueron obtenidos los extractos etanólico y acuoso de las hojas de *Annona muricata* L. Las condiciones de extracción se establecieron a partir del contenido de sólidos solubles totales y el efecto inhibidor de la corrosión obtenido a partir de la resistencia a la polarización,  $R_p$  ( $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ), del acero 1008 en una solución de HCl 1M en ausencia y presencia del extracto inhibidor. Los extractos con mayor efecto inhibidor de corrosión fueron caracterizados por tamizaje fitoquímico, cuantificación de fenoles totales, alcaloides, flavonoides y actividad antioxidante (DPPH). El extracto etanólico presentó un efecto inhibidor de la corrosión 1,5 veces mayor que el extracto acuoso. El tamizaje fitoquímico estableció que ambos extractos contienen principalmente fenoles, alcaloides, flavonoides, taninos y lactonas sesquiterpenoides. Entre los extractos estudiados, el extracto etanólico presentó el mayor contenido en fenoles totales (582,99 y 523,34  $\mu\text{g}$  EAG /mL EE), alcaloides (3,76 y 1,52 % lupanina) y flavonoides (1,14 y 0,76 mg quercetina/mL de extracto), pero la menor actividad antioxidante (91,45 y 94,93 % de DPPH). Las imágenes obtenidas por SEM y el análisis EDS para el acero expuesto a la solución ácida en ausencia y presencia del extracto inhibidor evidenciaron su carácter protector contra la corrosión.

**Palabras clave:** *Annona muricata*, extracto, alcaloides, carbón steel.

---

<sup>1</sup> Gabinete de Corrosión. Laboratorio N°23. Facultad de Ingeniería Química y Textil. Universidad Nacional de Ingeniería. Av. Túpac Amaru 210. Rímac. Lima. 25. avergara@uni.edu.pe

<sup>2</sup> Laboratorio de Físicoquímica. Sección Química. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Católica del Perú. Av. Universitaria 1801. San Miguel. Lima 32.

<sup>3</sup> Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Ingeniería. Av. Túpac Amaru 210. Rímac. Lima. 25.

## OBTAINING AND PHYTOCHEMICAL STUDY OF EXTRACTS OF *Annona muricata* (GUANÁBANA) INDUCED BY ITS CORROSION INHIBITING EFFECT

### ABSTRACT

In the present study, the ethanolic and aqueous extracts of the leaves of *Annona muricata* L. were obtained.

The extraction conditions were established from the total soluble solids content and the corrosion inhibiting effect obtained from the polarization resistance,  $R_p$  ( $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ), of the steel 1008, in a 1 Molar solution of HCl in the absence and presence of the inhibitor extract. The extracts with greater corrosion inhibiting effect were characterized by phytochemical screening, quantification of total phenols, alkaloids, flavonoids and antioxidant activity (DPPH). The ethanolic extract had a 1.5 times greater corrosion inhibiting effect than the aqueous extract. The phytochemical screening established that both extracts contain a wide variety of secondary metabolites, such as phenols, alkaloids, flavonoids, tannins and sesquiterpenoid lactones.

Among the studied extracts, the ethanolic extract had the highest content in total phenols (582.99 and 523.34  $\mu\text{g}$  EAG / mL EE), alkaloids (3.76 and 1.52 % lupanin) and flavonoids (1.14 and 0.76 mg quercetin/mL of extract), but the lowest antioxidant activity (91.45 and 94.93 % of DPPH).

The images obtained by SEM and the EDS analysis for the steel exposed to the acid solution in the absence and presence of the inhibitor extract showed its protective against corrosion.

**Key words:** *Annona muricata*, extract, alkaloids, carbon steel.

### INTRODUCCIÓN

La *Annona muricata* L. (guanábana) es una especie frutícola perteneciente a la familia de las Annonaceas, originaria de América tropical y subtropical. En Perú, la presencia de la *Annona muricata* (guanábana) data de los años 1200 a.c. con su representación en la cerámica de nuestras antiguas culturas y actualmente su cultivo se realiza en los departamentos de Loreto, San Martín, Ucayali y parte de Cajamarca, y bajo riego en la costa, en Lambayeque, La Libertad, Junín, Ica y Lima; con una exportación que se ha incrementando en los últimos años<sup>1</sup>. Debido al interés taxonómico y farmacológico, las investigaciones químicas sobre los extractos de diferentes partes de esta planta (pulpa, hojas y cáscaras, entre otros, mantienen su especial interés)<sup>2,3</sup>. A través de diferentes estudios se ha permitido evidenciar la presencia de compuestos fenólicos, alcaloides, flavonoides y taninos, entre otros compuestos orgánicos<sup>4,6</sup> que, en general, contienen en su estructura la presencia de anillos o cadenas largas de carbono, radicales OH o elementos como el oxígeno o nitrógeno. La presencia de estos metabolitos secundarios en extractos de hojas, tallos, raíces, frutos y cáscaras, entre otros, en diferentes plantas viene siendo de mucho interés en la comunidad científica para la obtención de

inhibidores ecológico de la corrosión de metales en diferentes medios corrosivos<sup>7</sup>. Dentro de las principales técnicas usadas para su evaluación se tiene: ensayos gravimétricos, resistencia a la polarización lineal (RPL), curvas de polarización (pendientes de Tafel) e impedancia electroquímica, entre otras<sup>8-10</sup>. A nivel internacional existen muy pocas investigaciones sobre extractos etanólico o acuoso de la *Annona muricata* L. (guanábana) usados como inhibidores de la corrosión<sup>10</sup> y en Perú este campo aún es incipiente<sup>11</sup>. Por tal motivo, en la presente investigación se pretendió obtener *in situ* los extractos etanólico y acuoso con las mejores propiedades de inhibición usando la variación de la medida de la resistencia a la polarización,  $R_p$  ( $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ) como parámetro electroquímico para cuantificar el proceso de extracción de metabolitos secundarios que aporten poder de inhibición de la corrosión del acero en medio ácido, para ello, también se harán mediciones del contenido de sólidos solubles totales y la composición fitoquímica de los extractos.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Muestra

Las hojas de *Annona muricata* L. fueron recolectadas en el Vivero “FORTU”, ubicado en el kilómetro 23 de la Panamericana Sur, departamento de Lima.

### Taxonomía

Una parte de la planta fue llevada al Museo de Historia Natural de la UNMSM para su identificación. Según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988) la especie vegetal en estudio es *Annona muricata* L. (Constancia No 2-USM-2015).

### Acondicionamiento de la muestra

Las hojas recolectadas de *Annona* fueron secadas a temperatura ambiente sobre corriente de aire natural. Luego fueron molidas en un molino manual y reducidas hasta pasar por Malla Tyler N°10 y almacenadas en bolsas de papel en un desecador.

### Materiales y equipos

El solvente etanol usado fue de grado analítico 99,9 % (Darmstadt, Merk), el agua destilada tuvo pH 6,5. El ácido clorhídrico, 37 % (Darmstadt, Merck) y los demás reactivos fueron de Sigma-Aldrich.

Para la determinación del contenido de humedad se utilizó una estufa EC 55 Ecocell. El análisis elemental se realizó con un CHNS 2400 Serie II de Perkin Elmer. La obtención de los extractos se realizó por agitación/calentamiento usando un termorregulador digital Arex Velp Scientifica. La medición de los sólidos solubles totales en balanza analítica TE214S Sartorius 0,1 mg. La densidad y pH se midieron usando un picnómetro Weld de 5 ml DIN Witeg y un pHmetro Hanna Instruments, respectivamente. Las medidas de la resistencia a la polarización ( $R_p$ ) se midieron usando un potencióstato/galvanostato/ZRA Reference 600 de Gamry Instruments y una celda conformada por un electrodo auxiliar de platino de Metrohm,

UK y un electrodo de referencia de Calomel sat. de Gamry Instruments. La cuantificación de fenoles, flavonoides y la actividad antioxidante se realizaron en un espectrofotómetro Helios Z UV-Visible del CCA de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM.

### **Caracterización fisicoquímica de hojas de la *Annona muricata* L.**

#### **Contenido de humedad**

En un crisol se masó 1,0000 g de hojas y se llevó a estufa a temperatura de 104°C hasta que la variación de masas sea igual a 0,1 mg., se realizaron mediciones por triplicado<sup>12,13</sup>.

#### **Contenido de cenizas**

Se masó por triplicado 2,0000 g de hojas en crisoles. La temperatura de la mufla se elevó hasta 350°C durante una hora, 550°C durante la siguiente hora y 700°C una hora más. Se verificó la calcinación de la muestra con la observación de un color blanco de las cenizas. Los crisoles fueron enfriados en desecador, luego masados y por diferencia de masas se obtuvo el porcentaje de cenizas del material<sup>12, 13,14</sup>.

#### **Análisis elemental (C.H. N y S)**

Se masaron 2,00 mg. de hojas, se encapsularon en estaño y se introdujeron al instrumento. La muestra pasó a una cámara de combustión, los gases fueron arrastrados a una cámara de reducción donde se transformó a dióxido de carbono, agua, dióxido de nitrógeno y dióxido de azufre. Estos gases fueron separados en una columna cromatográfica y leídos en un detector TCD. El instrumento fue calibrado con cisteína<sup>15</sup>.

### **Obtención de los extractos etanólico y acuoso, medición de sólidos solubles totales y de la resistencia a la polarización (Rp)**

#### **Obtención de los extractos etanólico y acuoso**

- En un vaso de precipitado conteniendo 100 mL de solvente etanol o agua y manteniendo el tiempo de agitación magnética constante, se adicionaron diferentes masas de hojas a temperatura ambiente y a diferentes temperaturas.
- Transcurrido el tiempo de agitación se realizó la filtración al vacío de cada uno de los extractos.
- El volumen filtrado fue enrasado con solvente etanol o agua hasta completar el volumen de 100 mL.
- Medición de los sólidos solubles totales, se realizó masando 80 mL del extracto en una placa petri y secando en una estufa a  $40 \pm 1^\circ\text{C}$  hasta variación de la masa en 0,1 mg. Las mediciones se realizaron por triplicado<sup>16</sup>.

#### **Medición de la resistencia a la polarización (R<sub>p</sub>)**

La medición se realizó usando un potencióstato y un sistema de tres electrodos. Un electrodo de referencia de calomel saturado (ECS), un electrodo auxiliar de platino y un electrodo de trabajo (acero al carbono). El electrodo de trabajo consistió en planchas de acero al carbono SAE 1008 de 2,5 x 5,0 x 0,02 cm las cuales fueron desbastadas sucesivamente usando lija de N°80 hasta N°1000, fueron limpiadas usando baño ultrasonido y secados con alcohol

isopropílico antes de la exposición de 0,7238 cm<sup>2</sup> a una solución corrosiva de HCl 1M en ausencia y presencia del extracto inhibidor (2 % en volumen del extracto etanólico o acuoso de las hojas de *Annona muricata* L.). La medición de la resistencia a la polarización ( $R_p$ ) se midió en un rango de  $\pm 20$  mV del potencial de reposo y a una velocidad de barrido de 0,166 mV/s<sup>17</sup>. El potencial de reposo se obtuvo después de 1h de inmersión de la muestra en solución ácida con y sin inhibidor. En todos los casos las mediciones se realizaron por duplicado. El método RPL, desarrollado por Stern y colaboradores<sup>8</sup>, se basa en que las curvas de polarización de una celda de corrosión en un pequeño entorno del potencial de corrosión son prácticamente rectas. Esencialmente, este método consiste en la medida de la corriente,  $I$  (A) entre el electrodo de trabajo y el electrodo auxiliar, correspondiente a una pequeña modificación del potencial,  $E$  (V) a partir del potencial de corrosión,  $E_{\text{corr}}$  (V). La resistencia a la polarización  $R_p$  ( $\Omega$ ) viene dada por  $(\Delta I/\Delta E)$ , con lo cual, siendo:  $I_{\text{corr}} = B/R_p$ , donde  $B$  es una constante que varía entre límites muy estrechos y permite establecer una relación inversamente proporcional entre  $I_{\text{corr}}$  y  $R_p$ .

Si se divide  $I_{\text{corr}}$  por el área (cm<sup>2</sup>) de la muestra, se tiene la densidad de corriente,  $i_{\text{corr}}$  (A•cm<sup>-2</sup>), la cual está relacionada directamente proporcional con la velocidad de corrosión,  $V_{\text{corr}}$  y, por tanto, también, inversamente proporcional a  $R_p$  ( $\Omega$ •cm<sup>2</sup>). Así, la eficiencia de inhibición de un inhibidor de corrosión, también puede ser estimada a partir de la relación<sup>18,19</sup>:

$$\text{Eficiencia de inhibición (\%)} = (R_p - R_p^*)/R_p \times 100$$

Donde:  $R_p^*$  y  $R_p$  son la resistencia a la polarización en ausencia y presencia del inhibidor, respectivamente.

## Caracterización fisicoquímica y fitoquímica de los extractos

### Densidad, índice de refracción y pH

La medida de densidad de los extractos se realizó midiendo la masa de un picnómetro de Weld de 5 mL sin y con extracto a 20°C. Para la medición del índice de refracción se utilizó un refractómetro en el cual se colocó sobre el medidor aproximadamente 0,3 mL del solvente usado para la extracción y se ajustó a cero. Se adicionó 0,3 mL del extracto a analizar y se anotó el valor medido. Para la medición de pH, previamente se calibró el equipo con soluciones tampón de pH 4,01 y 7,01. La medición del pH se realizó usando 20 mL de cada extracto. Las mediciones en todos los casos se realizaron por triplicado<sup>16</sup>.

### Tamizaje fitoquímico

Se empleó diferentes reacciones específicas sobre el extracto para identificar la presencia de metabolitos secundarios: fenoles, taninos, saponinas, flavonoides, lactonas sesquiterpénicas (reacción de Legal) y alcaloides (Mayer, Dragendorff, Bouchadart, Wagner, Sonneschein y Popoff)<sup>10,16,20</sup>.

### Contenido de fenoles totales

La concentración de fenoles totales fue medida por espectrofotometría UV-Visible, basándose en una reacción colorimétrica de óxido-reducción. El agente oxidante utilizado fue el reactivo de Folin-Ciocalteu. Se utilizó ácido gálico como estándar para preparar una solución madre de 100 ppm (0,1mg/mL)<sup>21</sup>. Todo esto sobre la base como solvente el agua destilada.

### Contenido de alcaloides

Para la extracción de los alcaloides se utilizó 100 mL de extracto etanólico o acuoso de las hojas y se filtró sobre papel Whatman N° 2. Se concentró en rotavapor a 60°C por 5 horas hasta 1/10 de su volumen inicial. Se agregó 15 mL de HCl 10 % y se llevó a baño maría a 60°C por 30 minutos. Tras agitación constante, se enfrió y filtró. El filtrado fue trasvasado a una pera de decantación, se agregó éter de petróleo y se extrajo la parte acuosa (el alcaloide en forma de sal). Luego se alcalinizó con NaOH 1N hasta pH = 12 y se dejó en reposo por 24 horas. Se extrajo el alcaloide en forma básica con tres porciones de 15 mL de diclorometano en una pera de decantación. Se dejó en reposo por 1 día. Se separó la fase orgánica y se evaporó hasta ¼ del volumen inicial. Se tomó una alícuota de 1 mL para reconstituir en medio ácido. Para la cuantificación volumétrica se tomó una alícuota de 1 mL y se reconstituyó con 10 mL de ácido acético, luego se agregaron 5 mL de ácido fórmico, 3 mL de anhídrido acético y 3 gotas de cristal violeta. Se valoró con ácido perclórico 0,01N hasta el punto de equivalencia (cambio de coloración, de azul a verde)<sup>10,22</sup>.

### Cuantificación de flavonoides

Para la cuantificación se tomó una alícuota de 1 mL del extracto etanólico y 0,5 mL de extracto acuoso, se agregó 200 µL de acetato de sodio y 200 µL de solución de nitrato de aluminio al 10 % y se enrasó con etanol en una fiola de 25 mL. Se dejó en reposo 40 minutos y se realizó la lectura a 415 nm en el espectrofotómetro UV-Visible<sup>23</sup>. Este procedimiento toma como base el etanol grado 96.

### Actividad antioxidante

La actividad antioxidante se determinó a través del ensayo del radical DPPH basado en el método propuesto por Brand-Williams<sup>15,24</sup>. El método consiste en que este radical tiene un electrón desapareado y es de color azul violeta decolorándose hacia amarillo pálido por una reacción con una sustancia antioxidante. La absorbancia fue medida espectroscópicamente a 517 nm. La diferencia de absorbancias, permite obtener el porcentaje de captación de radicales libres. Para la preparación de solución patrón (A) se masó 0,002 g de reactivo 2,2-difenil-1-picril hidrazilo (DPPH) y se diluyó con metanol en una fiola de 10 mL. Se tomó una alícuota de 2,5 mL y se llevó a una fiola de 25 mL la cual fue enrasada con metanol. De esta manera se obtuvo una solución patrón de 20 ppm. Para la preparación de solución control 1 % (B) se masó 0,1 g de vitamina C y se llevó a una fiola de 10 mL. Se enrasó con agua destilada. La preparación de la muestra problema (C) se realizó tomando una alícuota de 0,1 mL y se diluyó en una fiola de 10 mL con agua destilada. Para realizar, la medida de la actividad antioxidante o absorbancia correspondiente, los reactivos A, B y C se prepararan de la siguiente forma:

1. Mezclar 1,5 mL de metanol con 3 mL de solución A. (Absorvancia patrón de referencia)
2. Mezclar 1,5 mL sol. B con 3 mL de solución A. (Absorvancia de control)
3. Mezclar 1,5 mL sol. B con 3 mL de Metanol. (Absorvancia blanco de control)
4. Mezclar 1,5 mL sol. C con 3 mL de sol. A. (Absorvancia m.p.)
5. Mezclar 1,5 mL sol. C con 3 mL de Metanol. (Absorvancia blanco m.p.)

### Evaluación superficial

Las muestras de acero después de su inmersión en la solución acuosa de HCl 1M, durante 2 horas, en ausencia y presencia del extracto inhibidor etanólico y acuoso, fueron lavados con agua, secados con alcohol isopropílico y almacenados en desecador hasta su evaluación. La evaluación superficial de las muestras de acero se realizó en un microscopio electrónico de barrido (SEM), EVO MA10 Carl Zeiss y el análisis de los elementos sobre su superficie a través de la espectroscopia de energías dispersivas (EDS)<sup>25</sup>.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Caracterización fisicoquímica.

La caracterización inicial de las hojas de *Annona muricata* L., a partir del contenido de humedad, cenizas y el análisis elemental se muestra en la tabla 1.

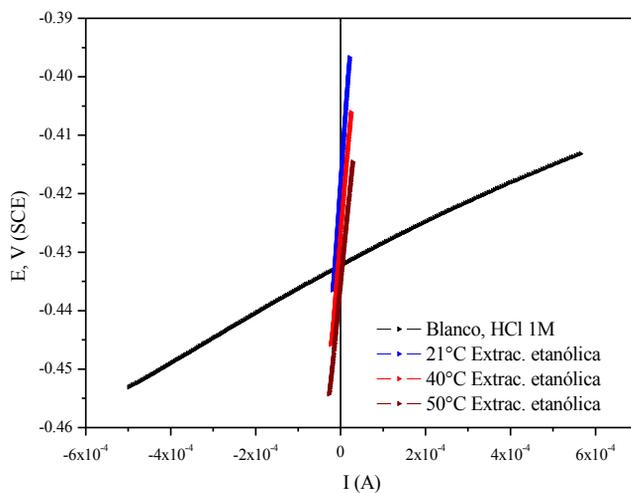
**Tabla 1.** Contenido de humedad, cenizas y análisis elemental de hojas de *Annona muricata* L.

Contenido de humedad (%)	Contenido de cenizas (%)	Análisis elemental			
		%C	%H	%N	%S
7,09 ± 0,07	8,43 ± 0,21	42,35 ± 0,55	6,0 ± 0,20	2,38 ± 0,18	0,88 ± 0,03

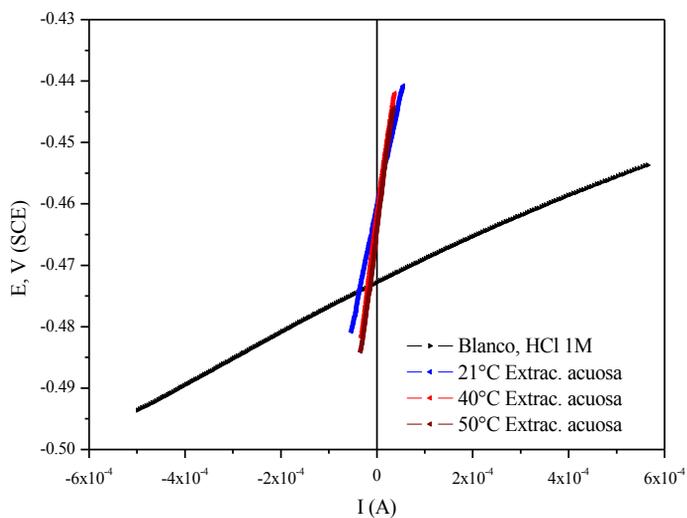
El contenido de humedad y cenizas se encuentra dentro de los valores típicos para hojas de *Annona muricata* L. reportado por otros autores<sup>26</sup>.

### Determinación de sólidos totales de los extractos etanólico y acuoso y medidas de resistencia a la polarización lineal (RPL).

Las figuras 1 y 2 muestran las curvas de polarización del acero en medio HCl 1M en ausencia (blanco) y presencia del inhibidor obtenido a partir de los extractos etanólico y acuoso de las hojas de *Annona muricata* L. a diferentes condiciones de temperatura de extracción. La linealidad de las curvas permite determinar los valores de resistencia a la polarización,  $R_p$  ( $\Omega$ ), del acero en medio ácido.



**Figura 1.** Curva de polarización del acero en HCl en ausencia y presencia del extracto etanólico a diferentes temperaturas de extracción (21°C, 40°C y 50°C)



**Figura 2.** Curva de polarización del acero en HCl en ausencia y presencia del extracto acuoso a diferentes temperaturas de extracción (21°C, 40°C y 50°C)

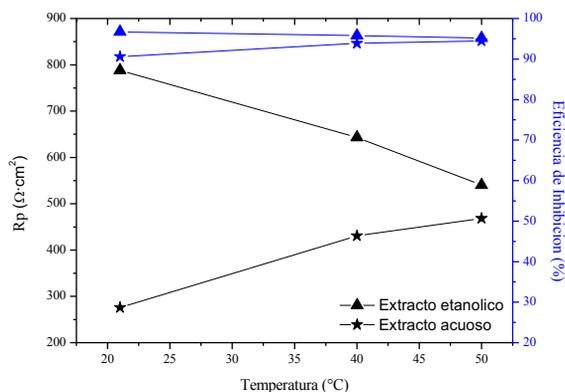
En las tablas 2 y 3 se reporta el contenido de sólidos solubles totales, el potencial de corrosión ( $E_{\text{corr}}$ ), la resistencia a la polarización ( $R_p$ ) y la eficiencia de inhibición (%) de los extractos etanólico y acuoso obtenidos por agitación a diferentes condiciones de temperatura de extracción. Para la solución acuosa de HCl 1M sin inhibidor el valor de  $R_p$  fue de  $25,9 \Omega \cdot \text{cm}^2$  a un potencial ( $E_{\text{corr}}$ ) de  $-473,5 \text{ mV}$ .

**Tabla 2.** Extracción etanólica de hojas de *Annona muricata* L. a 21, 40 y  $50 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Temp. de extracción ( $^\circ\text{C}$ )	Masa de sólidos solubles totales (g)	$E_{\text{corr}}$ (mV)	$R_p$ ( $\Omega \cdot \text{cm}^2$ )	Eficiencia de inhibición (%)
21	Blanco	-473,5	25,9	---
21	$0,7900 \pm 0,0079$	-460,6	275,8	90,6
40	$0,9844 \pm 0,0092$	-462,2	430,7	93,9
50	$0,9907 \pm 0,0098$	-464,8	468,6	94,5

**Tabla 3.** Extracción acuosa de hojas de la *Annona muricata* L. a 21, 40 y  $50 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Temperatura de extracción ( $^\circ\text{C}$ )	Masa de sólidos solubles totales (g)	$E_{\text{corr}}$ (mV)	$R_p$ ( $\Omega \cdot \text{cm}^2$ )	Eficiencia de Inhibición (%)
21	Blanco	-473,5	25,9	---
21	$1,0821 \pm 0,0149$	-463,0	788,2	96,7
40	$1,5016 \pm 0,0276$	-466,7	643,2	95,8
50	$1,5280 \pm 0,0204$	-475,3	540,3	95,2



**Figura 3.** Variación de  $R_p$  y eficiencia de inhibición de los extractos etanólico y acuoso de las hojas de *Annona muricata* L. en función de la temperatura de extracción.

A diferentes temperaturas de extracción, un apreciable incremento del valor de  $R_p$  ( $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ) fue mostrado como producto de la adición de 2 % v/v del extracto inhibidor a la solución corrosiva de HCl 1M sobre el acero, respecto a la solución sin inhibidor. Este resultado evidencia el efecto inhibidor de corrosión de los extractos etanólico y acuoso de las hojas de *Annona muricata* L., siendo las eficiencias de inhibición de la corrosión alcanzadas superiores

al 90 %. La adición de los extractos inhibidores de la corrosión, en general, afectó el potencial de corrosión hacia valores más anódicos. A temperatura ambiente, 21°C, el extracto inhibidor etanólico alcanzó un valor de 1,5 veces mayor de  $R_p$  que el acuoso, lo cual está asociado al mayor contenido de sólidos solubles totales obtenidos. Un contenido de sólidos solubles total similar fue alcanzado por los extractos etanólico y acuoso a 21°C y 50°C, respectivamente con valores de  $R_p$  de 788,2 y 468,2  $\Omega \cdot \text{cm}^2$ , respectivamente. En la figura 3 se muestra que un incremento de hasta 30°C en la temperatura de extracción produce un ligero decremento en la eficiencia de inhibición para el extracto etanólico mientras que para el extracto acuoso se observa un incremento del 5 %.

### Caracterización fisicoquímica y fitoquímica de los extractos

En la tabla 4 se presenta la caracterización inicial de los extractos etanólico y acuoso de hojas de *Annona muricata* L. obtenidos por agitación con los mayores valores obtenidos de  $R_p$ , 788,2 y 468,6  $\Omega \cdot \text{cm}^2$ , respectivamente; asociados a un mayor efecto inhibidor.

**Tabla 4.** Propiedades fisicoquímicas de los extractos de hojas de *Annona muricata* L.

	Densidad (g/mL)	Índice de refracción	pH
Extracto etanólico	0,8054 ± 0,0001	1,3649 ± 0,0001	5,51 ± 0,02
Extracto acuoso	1,0112 ± 0,0003	1,3351 ± 0,0003	6,00 ± 0,02

Comparando los valores de densidad e índice de refracción de los extractos obtenidos en la tabla 4 y de los solventes puros<sup>27,28</sup>, esto es densidad de 0,7852 e índice de refracción de 1,3592 para el solvente etanol, y densidad de 0,9971 e índice de refracción de 1,3328 para el solvente agua; se comprueba que la extracción de metabolitos secundarios se llevó a cabo a las condiciones de extracción previamente establecidas.

Los extractos etanólico y acuoso con los mayores valores de  $R_p$  fueron caracterizados desde el punto de vista fitoquímico (tablas 5 y 6). Del tamizaje fitoquímico de los extractos etanólico y acuoso se observa que los extractos contienen fenoles, alcaloides, taninos, flavonoides, principalmente. En relación a los valores de fenoles totales reportados en los extractos etanólico y acuoso, estos son similares a los reportados para plantas de *Annona muricata* L. de origen africano<sup>6</sup>. La actividad antioxidante expresada como captación al radical DPPH de los extractos etanólico o acuoso fue mayor al 90 %, siendo ligeramente mayor el del extracto acuoso, ver tabla 6.

**Tabla 5.** Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico y acuoso.

	Extracto etanólico	Extracto acuoso
Fenoles	++	+++
Flavonoides	++	+++
Alcaloides		
Reacción de Mayer	+	+
Reacción de Dragendorff	++	++
Reacción de Bouchardat	++	+
Reacción de Wagner	+	+
Reacción de Sonneschein	++	+
Reacción de Popoff	+	-
Taninos	++	++
Lactonas sesquiterpenoides	++	+
Saponinas	-	-

(-) no se observa presencia del metabolito, (+) baja evidencia, (++) evidencia, (+++) alta evidencia.

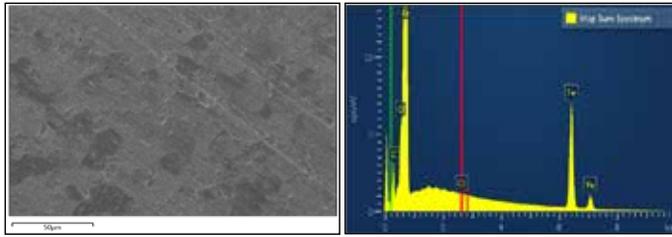
**Tabla 6.** Contenido de fenoles, alcaloides, flavonoides y actividad antioxidante de los extractos etanólico y acuoso de hojas de *Annona muricata* L.

Extractos	Extracto etanólico	Extracto acuoso
FENOLES TOTALES ( $\mu\text{g}$ EAG/mL)	582,99 $\pm$ 3,36	523,34 $\pm$ 8,16
ALCALOIDES (% de lupanina)	3,67 $\pm$ 0,02	1,52 $\pm$ 0,07
FLAVONOIDES (mg quercetina/mL)	1,14 $\pm$ 0,01	0,76 $\pm$ 0,02
ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE (%)	91,45 $\pm$ 0,19	94,93 $\pm$ 0,40

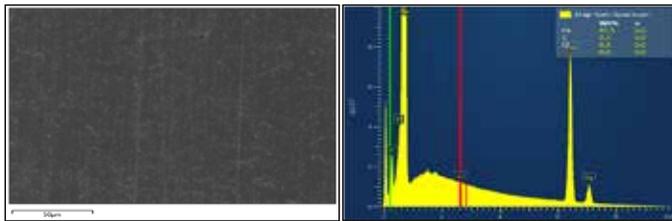
EAG: Equivalente de Ácido Gálico

### Evaluación superficial

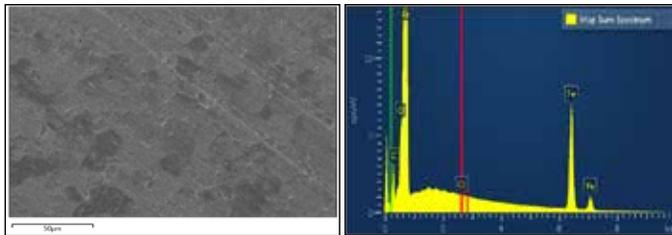
Las figuras 4 al 6 muestran las imágenes SEM y EDS de la superficie de las muestras de acero 1008 expuestas en HCl 1M en ausencia y en presencia de los extractos obtenidos de las hojas de *Annona muricata* L. Las imágenes SEM muestran la reducción del deterioro superficial que experimentaron las muestras de acero en presencia de los extractos, confirmando la capacidad inhibidora de la corrosión de estos extractos frente al medio agresivo HCl 1M, el cual produjo un severo daño del acero. Los espectros EDS muestran una reducción del porcentaje en masa de Fe en ausencia del inhibidor de 95,6 % en comparación con la presencia de los extractos inhibidores de 97,5 % y 97,3 % para el extracto etanólico y acuoso, respectivamente.



**Figura 4.** Imágenes SEM y EDS del acero 1008 en HCl 1M en ausencia del inhibidor.



**Figura 5.** Imágenes SEM y EDS del acero 1008 en HCl 1M en presencia de inhibidor etanólico de *Annona muricata* L.



**Figura 6.** Imágenes SEM y EDS del acero 1008 en HCl 1M en presencia de inhibidor acuoso de *Annona muricata* L.

## CONCLUSIONES

La agitación magnética permitió la obtención de extractos con poder de inhibición de la corrosión a partir de las hojas de *Annona muricata* L. que crecen en la ciudad de Lima.

Las condiciones de extracción óptima de metabolitos secundarios de las hojas de *Annona muricata* L. que aportan poder de inhibición de la corrosión como función de la variación de sólidos solubles totales y la temperatura se establecieron *in situ*, indirectamente con el seguimiento en el cambio del valor de  $R_p$  de los extractos.

Los extractos etanólico y acuoso obtenidos presentaron propiedades inhibidoras de la corrosión debido a la presencia de metabolitos secundarios que, según el tamizaje fitoquímico

y las cuantificaciones realizadas, están relacionados con la presencia de fenoles, alcaloides y flavonoides, principalmente.

El mayor efecto inhibidor de la corrosión para el acero, en solución ácida HCl 1M, se alcanzó con el extracto etanólico obtenido a 21°C y el extracto acuoso obtenido a 50°C.

Las imágenes SEM y EDS evidenciaron la reducción del daño superficial del acero debido a la capacidad protectora de la corrosión que produjeron los extractos etanólico y acuoso.

### AGRADECIMIENTO

A FINCYT por el apoyo económico brindado en el proyecto de investigación 371-PNICP-PIAP-2014 y al CCA de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Moreno M. La Guanábana: producto de exportación. *Rev AZ Gest.* 2012; 8: 12-13.
2. Amiel D, Amiel J. Metodologías usadas en la investigación de plantas antitumorales: descripción y comentarios. *Rev Cie.* 2007; 4 (5): 19-26.
3. Barahona V. Evaluación de la actividad antioxidante y valor nutraceutico de las hojas y frutos de la Guanábana (*Annona muricata*). [Tesis de grado]. Riobamba, Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2013.
4. Sandoval L, Ettiene G, Pérez-Pérez E, Fuenmayor M, Raga J, Silva N. Determinación de flavonoides en frutos de *Annona muricata* L. provenientes de plantas diferentes empleando cromatografía líquida de alta resolución. *Rev Facu Agron.* 2014; 1: 785-800.
5. Moncada M, Giraldo A, Landazuri P. Actividad antioxidante de los extractos etanólicos y acuosos de la cáscara y la semilla de *Annona muricata* y de las hojas brownia ariza. *Rev Asoc Colomb Cie Bio.* 2012; 24: 143 - 151.
6. Gordillo J, Ortiz D, Larrahondo J, Sánchez M, Pachón H. Actividad antioxidante en guanábana (*Annona muricata* L.): una revisión bibliográfica. *Bol Latin Car Plant Medic Arom.* 2012; 11 (2): 111 - 126.
7. Kesavan D, Gopiraman M, Sulochana N. Green inhibitors for Corrosion of Metals: A Review. *Chem Sci Rev Let.* 2012, 1 (1): 1-8.
8. González J. Control de la Corrosión estudio y medida por técnicas electroquímicas. Madrid: CSIC; 1989.
9. Esparza B. Evaluación de inhibidores de corrosión en medio ácido amargo. [Tesis]. Pachuca: Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería; 2007.
10. Rosaline J, Leema A, Raja S. A study on the phytochemical analysis and corrosion inhibition on mild steel by *Annona Muricata* L. leaves extract in 1 N hydrochloric acid. *Der Chem Sin.* 2012; 3 (3): 582-588.
11. Vergara A, Paucar K, Pizarro P, Jara A. Alcaloides del extracto de hojas de *Annona muricata* L. y su uso como inhibidor de la corrosión del acero en medio ácido. Proyecto de investigación FIQT-UNI; 2013.

12. American Society for testing and materials. ASTM D2216-10, Laboratory Determination of Water (Moisture) Content of Soil and Rock by Mass. West Conshohocken, PA: ASTM International; 2010.
13. Vidaurre M, Querevalú L, De Los Rios E, Ruiz S. Características farmacognósticas de las hojas de *Capparis avicennifolia*. *Rev Med Val*. 2007; 4 (2): 122.
14. American Society for testing and materials. ASTM D2974-14, Standard Test Methods for Moisture, Ash, and Organic Matter of Peat and Other Organic Soils. West Conshohocken, PA: ASTM International; 2014.
15. García R. Estudio sobre la capacidad antioxidante de extractos de hoja de *Moringa oleifera* de diferente origen geográfico. Coruña: UDC; 2017.
16. Ochoa A, Marin J, Rivero D, Aguilera E. Caracterización física, físico-química y química de extractos totales de hojas frescas de *Petiveria alliacea* L. con acción antimicrobiana. *Rev Mex Cienc Farm*. 2013; 44 (1): 52-59
17. American Society for testing and materials. ASTM G59-97(2014), Standard Test Method for Conducting Potentiodynamic Polarization Resistance Measurements. West Conshohocken, PA: ASTM International; 2014.
18. García R. Inhibidores de corrosión de acero en medios ácidos a partir de extractos naturales. [Tesis Doctoral]. México: CENIM; 2014.
19. Lebrini M, Robert F, Roos C. Inhibitive Effect of *Siparuna Guianensis* Extracts on the Corrosion of Low Carbon Steel in Acidic Media. *Int J Electrochem Sci*. 2011; 6: 5249 – 5264.
20. Arroyo A, Bonilla R, Tomás Ch, Huamán M. Estudio fitoquímico del extracto etanólico y de las fracciones de las hojas de *Piper Aduncum* “Matico”. *Rev Per Quím Ing Quím*. 2011; 14 (1): 62-67.
21. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Viti*. 1965; 16: 144-158.
22. Lock de Ugaz O. Métodos en el estudio de productos naturales. 2aed.. Lima: PUCP; 1994.
23. Kostennikova Z. UV spectrophotometric quantitative determination of flavonoid in calendula tincture. *Farmatsiya*. 1983; 33 (6): 83-86.
24. Brand W, Cuvelier M, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity *LWT. Food Sci Tech*. 1995; 28 (1): 25-30.
25. Okoronkwo A, Olusegun S, Olaniran O. Acid extract of *Gliricidia sepium* leaves as green corrosion inhibitor for mild steel in HCl solutions. *Afr Corros J*. 2015; 1 (1): 30-3.
26. Vit P, Santiago B, Pérez-Pérez E. Composición química y actividad antioxidante de pulpa, hojas y semilla de *Guanábana*. *Annuaire Interdisciplinaire de la Recherche Scientifique*. 2014; 39 (5): 350-353.
27. Anouti M, Caillon-Caravanier. M, Dridi. Y, Jacquemin J, Hardacre C, Lemordant D. Liquid densities, heat capacities, refractive index and excess quantities for protic ionic liquids + water binary system. *J Chem Thermodyn*. 2009; 41: 799-808.
28. Orge B, Rodríguez A, Canosa. J, Marino. G, Iglesias. M, Tojo J. Variation of densities, refractive indices and speeds of sound with temperature of methanol or ethanol with hexane, heptanes and octane. *J Chem Eng Data*. 1999; 44: 1041-1047.

## ESTUDIO DE MONOCAPAS DE BROMUROS ALQUÍLICOS EN SUPERFICIES HIDROGENADAS DE SILICIO (100)

Yris Del Pilar Obregón Rodríguez<sup>a</sup>, César R. Mayor Sánchez<sup>b</sup>

### RESUMEN

Las monocapas orgánicas de cadenas alquílicas saturadas enlazadas al sustrato de silicio son usadas para el desarrollo de dispositivos con importantes propiedades electrónicas.

En este estudio, gracias al empleo de las moléculas 10-bromo-1-deceno y 11-bromo-1-undeceno en superficies de silicio, se logra la formación de un sistema potencialmente aplicable en la modificación de los grupos terminales de la cadena carbonada en las monocapas orgánicas, es decir la funcionalización de la monocapa permitiendo un mejor transporte de carga a través de las moléculas.

La superficie de silicio (libre de óxidos) se pasivó por hidrogenación. Respecto a la formación de la monocapa orgánica, la superficie de silicio hidrogenada fue sometida a 200°C con cada una de las moléculas orgánicas mencionadas.

Tanto la superficie hidrogenada como las monocapas orgánicas fueron caracterizadas por medición del ángulo de contacto entre gotas de agua y la superficie, y microscopía de fuerza atómica.

Finalmente, mediante cálculos moleculares a nivel 3-21(G) sobre clusters de Si<sub>7</sub>H<sub>6</sub>, Si<sub>7</sub>H<sub>15</sub>C<sub>10</sub>H<sub>20</sub>Br y Si<sub>7</sub>H<sub>15</sub>C<sub>11</sub>H<sub>22</sub>Br, se proponen posibles reacciones de formación de las monocapas orgánicas estudiadas experimentalmente.

**Palabras clave:** monocapas alquílicas en Si (100), ángulo de contacto, microscopía de fuerza atómica (AFM), clusters de hidruros de silicio.

## STUDY OF ALKYL-BROMIDE MONOLAYERS ON HYDROGEN-TERMINATED SILICON (100) SURFACES

### ABSTRACT

The organic monolayers of saturated alkyl chains linked to silicon substrates are used for the development of devices with important electronic properties. In this study, thanks to the use of 10-bromine-1-decene and 11-bromine-1-undecene molecules on silicon surfaces, the formation of a system potentially applicable in the modification of the end groups of the carbon chain is achieved in the organic monolayers, that is to say the functionalization of the monolayer allowing a better charge transport through the molecules.

<sup>a</sup> Facultad de Ciencias e Ingeniería – Sección Química, Pontificia Universidad Católica del Perú (PUCP), Av. Universitaria 1801, San Miguel, Lima 32, Perú, yares2605@gmail.com

<sup>b</sup> Facultad de Ingeniería Industrial - Mecánica (FIME), Universidad Tecnológica del Perú (UTP).

The silicon surface (oxide-free) was passivated by hydrogenation. Respect to the formation of the organic monolayer, the hydrogen-terminated silicon surface was subjected to 200°C with each of the mentioned organic molecules.

Both the hydrogenated surface and the organic monolayers were characterized by the measurement of the contact angle between water droplets and the surface, and atomic force microscopy.

Finally, by means of molecular calculations at levels 3-21(G) on clusters of Si<sub>7</sub>H<sub>6</sub>, Si<sub>7</sub>H<sub>15</sub>C<sub>10</sub>H<sub>20</sub>Br and Si<sub>7</sub>H<sub>15</sub>C<sub>11</sub>H<sub>22</sub>Br, possible reactions of formation of the organic monolayers previously studied experimentally, are proposed.

**Key words:** Alkyl monolayers on Si (100), contact angle, atomic force microscopy (AFM), silicon hydride clusters.

## INTRODUCCIÓN

Los trabajos sobre las superficies de silicio han sido profundamente estudiados en los últimos años debido a su importancia en la tecnología moderna. Las propiedades electrónicas de moléculas orgánicas depositadas sobre los sustratos de silicio proporcionan un gran estímulo para investigar y diseñarlos como componentes electrónicos<sup>1,2</sup>.

Asimismo, cabe comentar que, la evolución de la tecnología electrónica ha estado ligada a la continua miniaturización de componentes y multiplicación de su velocidad de proceso computacional, dado por la popular Ley de Moore<sup>3,4</sup>.

La investigación en el desarrollo, entre el campo de la electrónica y la química orgánica, se basa en la aplicación práctica de los materiales orgánicos en dispositivos optoelectrónicos debido a su capacidad de graduar bandas electrónicas en el semiconductor<sup>5</sup>.

La facilidad de fabricación y la posibilidad de producir estructuras en capas controladas con precisión hacen de este material adecuado para su uso en una amplia gama de campos, tales como óptica, microelectrónica, optoelectrónica, detección química o aplicaciones biomédicas<sup>3</sup>.

Las metodologías sintéticas brindadas para la fabricación de estos dispositivos modulan las propiedades de este tipo de materiales, potenciando su aplicabilidad. Las características peculiares generadas por estos materiales, unidos a su mayor disponibilidad y accesibilidad, ligereza o facilidad de procesamiento, hacen que los materiales orgánicos puedan ser fabricados reduciendo la cantidad de material empleado. Es por ello, que la búsqueda de nuevos materiales semiconductores orgánicos es motivo de muchas investigaciones actualmente. La amplia variedad de semiconductores orgánicos los hay tanto de naturaleza molecular como polimérica (polímeros conductores). Sin embargo, los derivados moleculares pueden ser sintetizados de forma reproducible y con una estructura perfectamente conocida, hecho que refuerza su potencial en su aplicación tecnológica<sup>3,4</sup>.

Las aplicaciones tecnológicas de estos materiales encuentran su uso práctico en biosensores, transistores de efecto campo MOSFET (metal-oxide semiconductor field effect transistor), diodos orgánicos, dispositivos emisores de luz, células solares orgánicas OSCs (Organic Solar Cells), dispositivos de almacenamiento de memoria, filtrados fotodetectores, sensores ópticos, entre otros<sup>3,4</sup>.

La ventaja en la fabricación de estos semiconductores unidos covalentemente a las moléculas orgánicas radica en la funcionalización bajo condiciones atmosféricas, dando como resultado las monocapas orgánicas en superficies de silicio (sin la capa interfacial del óxido de silicio), lo cual son una interesante nueva clase de monocapas en sustratos de sólidos que es un tópico de intensa investigación.

Debido a que el enlace covalente Si-C, que es formado entre la superficie de silicio y el compuesto orgánico, las monocapas muestran una notable estabilidad tanto térmicamente como químicamente<sup>6,7</sup>.

En este estudio se recurre a la reacción entre bromuros alquílicos insaturados y la superficie hidrogenada de Si (100) para formar monocapas orgánicas ordenadas sobre sustratos de silicio, lo cual ofrece la posibilidad de desarrollar dispositivos con importantes propiedades electrónicas. Tanto la superficie hidrogenada (realizada por la reacción de pasivación<sup>8,9</sup>) como las monocapas orgánicas son caracterizadas por medición del ángulo de contacto entre gotas de agua y la superficie en cuestión, como la microscopía de fuerza atómica (AFM) y también mediante cálculos teóricos GaussView 5.0 y Gaussian 09W<sup>10</sup>.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Limpieza previa y pasivación del sustrato de silicio

Se tomaron obleas de silicio de área aproximada de 1x1 cm<sup>2</sup>, las cuales fueron lavadas y desengrasadas sucesivamente con etanol y acetona, y luego secadas con N<sub>2</sub>. Después se lavaron con solución de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30 % y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1:2) comúnmente conocida como *solución piraña* por 2 horas a 90°C. Posteriormente, las piezas de silicio fueron enjuagadas con agua destilada por cinco minutos.

Luego fueron tratadas pasivando las piezas de silicio de 1x1 cm<sup>2</sup> con una solución de HF al 2 % por espacio de dos minutos, con la finalidad de obtener grupos funcionales Si-H en la superficie.

### Preparación de monocapas de bromuros alquílicos

Las monocapas de bromuros alquílicos, tanto de 10-bromo-1-deceno como de 11-bromo-1-undeceno, fueron preparadas por inmersión de las obleas en un tubo de ensayo con 2 ml del respectivo precursor previamente desoxigenado haciendo burbujear nitrógeno por toda la noche y se colocó en un baño de aceite aproximado a 200°C por 20 horas bajo flujo de N<sub>2</sub>. Luego de la formación de la monocapa se retira del baño y finalmente se secó con gas N<sub>2</sub>.

## Caracterización de monocapas de bromuros alquílicos

**Ángulo de contacto.** Empleando 0,3 ml de agua destilada sobre la superficie preparada, se midió el ángulo de contacto respecto al sustrato. Tales mediciones se realizaron tanto en el Laboratorio 2 de Química (PUCP) como en el Laboratorio de Materiales Nanoestructurados (UNI). En este último caso, se empleó MATLAB 7.0 para el cálculo del ángulo a partir de tratamiento de imágenes fotografiadas de las gotas.

**Microscopía de fuerza atómica (AFM).** El registro de las imágenes por AFM de las muestras de silicio modificadas con bromuros alquílicos, fue obtenido con el equipo EasyScan 2 del fabricante Nanosurf®, en modo de contacto con resolución de 256 x 256 píxel, sistema de piezo barrido de 5 x 5 mm<sup>2</sup> y sonda tipo ultralever de 600 nm de diámetro. Estos ensayos fueron realizados en el Laboratorio de Fuerza Atómica del Instituto Peruano de Energía Nuclear (IPEN) siendo las mejores imágenes obtenidas usando el equipo mencionado.

**Cálculos energéticos empleando clusters de silicio.** Empleando clusters de Si<sub>7</sub>H<sub>16</sub>, Si<sub>7</sub>H<sub>15</sub>C<sub>10</sub>H<sub>20</sub>Br y Si<sub>7</sub>H<sub>15</sub>C<sub>11</sub>H<sub>22</sub>Br, creados y programados mediante GaussView 5.0 y Gaussian 09W, se calculó el cambio de energía en la reacción:

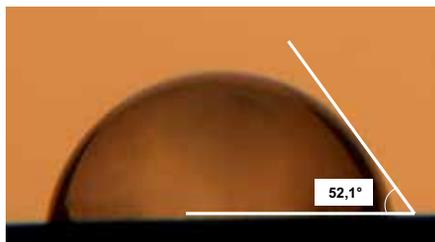


Los cálculos se realizaron a nivel 3-21(G).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

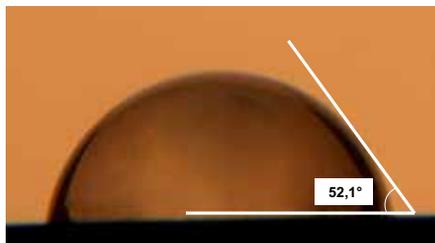
### Ángulo de contacto

Las micrografías para gotas de agua sobre el sustrato de silicio muestran que la superficie no pasivada forma un ángulo de contacto de 52,1°, debido a la presencia de fuerzas intermoleculares (ligero carácter hidrofóbico) en la superficie (figura 1).

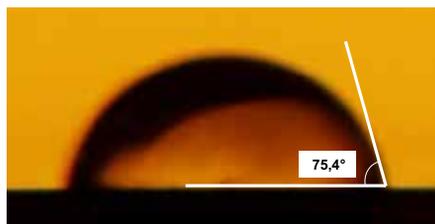


**Figura 1.** Ángulo de contacto de una superficie no pasivada (SiO<sub>2</sub>).

En cambio, para las monocapas orgánicas sobre silicio, se observa un comportamiento altamente hidrofóbico con ángulos de contacto de  $71,7^\circ$  y  $75,4^\circ$  de las moléculas orgánicas silicio-decano-bromo  $\text{Si-C}_{10}\text{H}_{20}\text{-Br}$  y silicio-undecano-bromo  $\text{Si-C}_{11}\text{H}_{22}\text{-Br}$ , respectivamente (figuras 2 y 3). Es decir, indicando una mayor hidrofobicidad entre el agua y la cadena alquílica auto-ensamblada sobre la superficie de silicio.



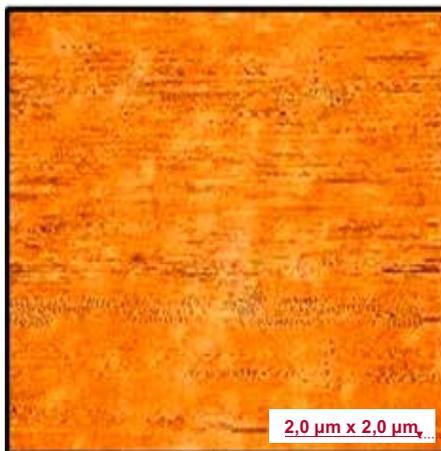
**Figura 2.** Ángulo de contacto de una monocapa orgánica sobre silicio (silicio-decano-bromo  $\text{Si-C}_{10}\text{H}_{20}\text{-Br}$ ).



**Figura 3.** Ángulo de contacto de una monocapa orgánica sobre silicio (silicio-undecano-bromo  $\text{Si-C}_{11}\text{H}_{22}\text{-Br}$ ).

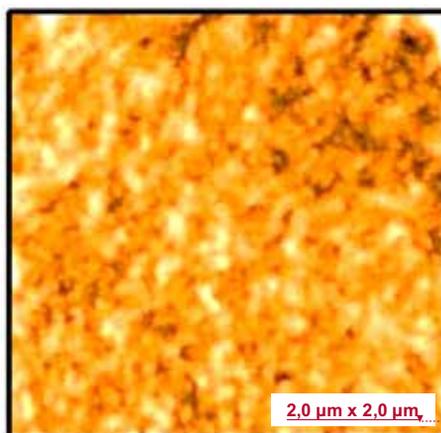
### Microscopía de fuerza atómica (AFM)

El análisis AFM en la superficie de silicio sin tratamiento (figura 4) revela una muestra con una textura superficial casi lisa, notándose una superficie homogénea con casi la misma tonalidad en todo el sustrato. Lo cual conlleva a deducir la presencia del óxido nativo del silicio ( $\text{SiO}_2$ ) como también podría ser de otras sustancias producto de la exposición al medio ambiente.



**Figura 4.** Superficie no tratada.

El resultado del análisis AFM en la superficie de silicio bajo el tratamiento de pasivación por hidrogenación (figura 5) presenta una amplia gama de texturas superficiales que indican que el ataque del HF en casi todo el sustrato fue óptimo, lo cual nos sugiere cambios en el perfil topográfico del sustrato de silicio pasivado, mostrando una imagen rugosa y con zonas granuladas de color blanco y de tamaño irregular en casi toda la superficie. También se logra observar, en pequeñas partes del sustrato, manchas de color marrón oscuras deduciendo que corresponden a zonas con poco ataque o zonas defectuosas del material que no fueron afectadas por el tratamiento de pasivación.

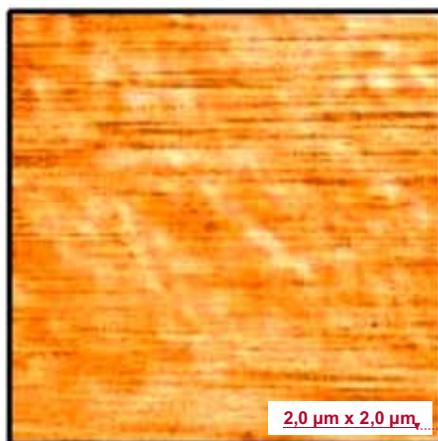


**Figura 5.** Superficie hidrogenada (Si-H).

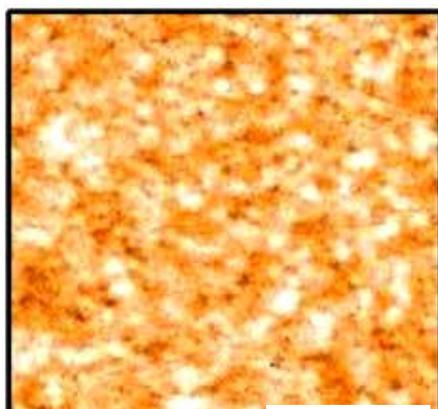
En cuanto a la monocapa orgánica auto-ensamblada en el sustrato de silicio (figuras 6 y 7: silicio-decano-bromo y silicio-undecano-bromo, respectivamente), también observamos diferentes tonalidades, lo cual nos sugiere nuevamente cambios en el perfil morfológico de ambas muestras mencionadas.

La imagen topográfica de la figura 6 presenta zonas nebulosas, formando geometrías rectangulares en casi toda la superficie; a diferencia de la figura 7 que muestra zonas granuladas muy tupidas de color blanco por todo el sustrato. Lo cual indicaría que en ambas muestras (figuras 6 y 7) se produjo efectivamente la respectiva formación de las monocapas orgánicas en las superficies de silicio.

Cabe resaltar que el AFM es una técnica de caracterización topográfica de superficies, no proporcionando información sobre el tipo de molécula presente en el sustrato, tan sólo presumir la presencia de moléculas empleadas en cada uno de los tratamientos.



**Figura 6.** Superficie auto-ensamblada de silicio-decano-bromo ( $\text{Si-C}_{10}\text{H}_{20}\text{-Br}$ ).



**Figura 7.** Superficie auto-ensamblada de silicio-undecano-bromo ( $\text{Si-C}_{11}\text{H}_{22}\text{-Br}$ ).

### Cálculos energéticos empleando clusters de silicio

Para la adsorción de ambos precursores orgánicos se usó valores obtenidos descritos en la tabla 1, determinándose el valor energético en cada reacción (tabla 2).

Con esta variación de bajo valor de energía obtenido del modelo propuesto, podemos predecir la reacción para la formación de monocapas de bromuros alquílicos sobre hidruros de silicio, generando también, con este valor, que la cadena orgánica tienda a ser repelida por la superficie de silicio (figura 8).

**Tabla 1.** Valores energéticos de los clusters en unidades de Hartree.

Clusters	Energía total (Hartree)
Si <sub>7</sub> H <sub>6</sub>	-2021,03
C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> Br	-2948,16
Si <sub>7</sub> H <sub>15</sub> C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> Br	-4968,68
C <sub>11</sub> H <sub>21</sub> Br	-2986,98
Si <sub>7</sub> H <sub>15</sub> C <sub>11</sub> H <sub>22</sub> Br	-5007,52

**Tabla 2.** Variación de la energía (kJ/mol) de cada reacción química.

Reacción química	Variación de la energía (kJ/mol)
Si <sub>7</sub> H <sub>16</sub> + C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> Br → Si <sub>7</sub> H <sub>15</sub> C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> Br	-1559,55
Si <sub>7</sub> H <sub>16</sub> + C <sub>11</sub> H <sub>21</sub> Br → Si <sub>7</sub> H <sub>15</sub> C <sub>11</sub> H <sub>22</sub> Br	-1612,06



**Figura 8.** Superficie auto-ensamblada de la molécula orgánica.

## CONCLUSIONES

- Las monocapas de bromuros alquílicos, en la superficie de silicio, tienden a formar un empaquetamiento ordenado, que resulta de una adsorción energéticamente favorable, y con alto grado de repulsión entre la cadena orgánica y el sustrato de silicio.
- Se ha verificado que gracias a la medida del ángulo de contacto y AFM, se logró comprobar la presencia de monocapas alquílicas de Br-terminadas con una activación térmica aproximada a 200°C y en condiciones de protección atmosférica menos exigentes que las reportadas por Cohen y colaboradores.
- Se pudieron predecir con la energía obtenida mediante cálculos moleculares a nivel 3-21(G) sobre clusters de  $\text{Si}_7\text{H}_{16}$ ,  $\text{Si}_7\text{H}_{15}\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{Br}$  y  $\text{Si}_7\text{H}_{15}\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{Br}$ , una reacción favorable a la formación de monocapas orgánicas de cadenas de Br-alquílicas sobre la superficie de silicio.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo brindado para este trabajo de investigación al Dr. Maynard Kong de la Sección Química y Dirección de Gestión a la Investigación (DGI) de la PUCP. Asimismo, al doctor Abel Gutarra del Laboratorio de Materiales Nanoestructurados de la Facultad de Ciencias (UNI), como también, al doctor José Solís, del Laboratorio de Microscopía de Fuerza Atómica - Instituto Peruano de Energía Nuclear (IPEN).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Y. S. Cohen YS, A. Vilan A, I. Ron I, D. Cahen D. Hydrolysis Improves Packing Density of Bromine-Terminated Alkyl-Chain, Silicon-Carbon Monolayers Linked to Silicon *J Phys Chem C*. 2009; 113(15): 6174-6181.
2. Midwood KS, Carolus MD, Danahy MP, Schwarzbauer JE, Schwartz J. Easy and efficient bonding of biomolecules to an oxide surface of silicon. *Langmuir*. 2004; 20: 5501-5505.
3. Torres-Costa V, Martín-Palma RJJ. Application of nanostructured porous silicon in the field of optics. A review. *J Mater Sci*. 2010; 45(11): 2823-2838.
4. Más Montoya M. Síntesis de Nuevos Sistemas Heteroacénicos y Estudio de sus Propiedades como Semiconductores Orgánicos para su Aplicación en Electrónica Molecular. [Tesis doctoral]. Murcia: Universidad de Murcia; 2015.
5. Honeyman B, Bedzyk M, Hersam M, Hua Jin C, Kinser R. Stability Study of Self-Assembled Monolayers on Silicon(111). *Nanoscape*. Spring 2005; 2(1): 89-95.
6. Sieval AB, Demirel AL, Nissink JWM, Linford MR, Van der Maas JH, De Jeu WH, et al. Highly Stable Si-C Linked Functionalized Monolayers on the Silicon (100) Surface. *Langmuir*. 1998; 14 (7): 1759-1768.
7. Sieval AB, Huisman CL, Schönecker A, Schulman's FM, Van Der Heide ASH, Goossens A, et. al. Silicon Surface Passivation by Organic Monolayers: Minority Charge Carrier

- Lifetime Measurements and Kelvin Probe Investigations. *J Phys Chem B*. 2003; 107: 6846-6852.
8. Sieval AB, Opitz R, Maas HPA, Schoeman MG, Meijer G, Vergeldts FJ, et al. Monolayers of 1-Alkynes on the H-Terminated Si(100) Surface. *Langmuir*. 2000; 16(26): 10359-10368.
  9. Sieval AB, Vleeming V, Zuilhof H, Sudhölter EJR. An Improved Method for the Preparation of Organic Monolayers of 1-Alkenes on Hydrogen-Terminated Silicon Surfaces. *Langmuir*. 1999; 15: 8288-8291.
  10. Sieval AB, Linke R, Heij G, Meijer G, Zuilhof H, Sudhölter EJR. Amino-Terminated Organic Monolayers on Hydrogen-Terminated Silicon Surfaces. *Langmuir*. 2001; 17(24): 7554-7559.

## SÍNTESIS DE HIDROGELES CONMUTABLES A PARTIR DE N-ISOPROPILACRILAMIDA, MACROMONÓMEROS DE 2-OXAZOLINAS Y LAPONITA

Juan Carlos Rueda<sup>a</sup>, María Malásquez<sup>a</sup>, Lesly Lagos<sup>a</sup>, Hartmut Komber<sup>b</sup>, Stefan Zschoche<sup>b</sup>, Brigitte Voit<sup>b</sup>

### RESUMEN

Fueron elaborados nuevos hidrogeles a partir de la copolimerización radicalar, en medio acuoso, de la N-isopropilacrilamida (NiPAAm) y macromonómeros de 2-oxazolinas en presencia de la arcilla Laponita XLS (Hectorita sintética). Los macromonómeros utilizados, M1 y M2, fueron copolímeros estadísticos de 2-(2-metoxycarboniletil)- y 2-metil-2-oxazolona, con grados de polimerización de 20 y 24 unidades y un contenido de 23 y 49 % molar del monómero 2-(2-metoxycarboniletil)-2-oxazolona, respectivamente y contuvieron un grupo vinilo en el extremo de la cadena polimérica. La síntesis de los hidrogeles fue llevada a cabo utilizando el sistema de iniciación: persulfato de amonio (APS) y N, N, N, N-tetrametiletilendiamina (TEMED) y como entrecruzador la Laponita XLS. Los grupos ésteres de los hidrogeles sintetizados fueron hidrolizados *in situ* para obtener grupos ácido carboxílicos y finalmente se obtuvieron hidrogeles con buena consistencia mecánica, transparencia y sensibilidad a la temperatura y al pH. Los hidrogeles fueron caracterizados estructuralmente vía resonancia magnética nuclear (RMN), y también por su capacidad de absorción de agua, estabilidad mecánica y su sensibilidad a la temperatura y al pH. La distribución del contenido de las partículas de Laponita dentro del hidrogel fue homogénea y fue determinada mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM). Los hidrogeles mostraron sensibilidad a la temperatura debido a su contenido de segmentos de poli(N-isopropilacrilamida) y sensibilidad al pH, por su contenido de grupos ácido carboxílicos.

**Palabras clave:** N-isopropilacrilamida, macromonómero, 2-oxazolinas, Laponita XLS, hidrogeles, sensibilidad térmica.

---

<sup>a</sup> Pontificia Universidad Católica del Perú, jrueda@pucep.edu.pe

<sup>b</sup> Leibniz Institute for Polymer Research Dresden, Germany

## SYNTHESIS OF CONMUTABLES HYDROGELS BASED ON N-ISOPROPYLACRYLAMIDE, 2-OXAZOLINE MACROMONOMERS AND LAPONITE

### ABSTRACT

New hydrogels were synthesized based on free radical polymerization of N-isopropylacrylamide (NiPAAm) and macromonomers of 2-oxazolines in presence of clay Laponite XLS (synthetic hectorite). The used macromonomers were statistical copolymers of 2-(2-methoxycarbonylethyl)- and 2-methyl-2-oxazoline, with a polymerization degree of 20 and 24 units and a content of 23 and 49 mol-% of 2-(2-methoxycarbonylethyl)-2-oxazoline, respectively, and had a vinyl group at the chain end. The hydrogel synthesis was carried out using ammonium persulfate (APS) and N,N,N,N-tetramethylethylenediamine (TEMED) as initiating system and Laponite XLS as crosslinker. After polymerization, the esters groups of the obtained hydrogels were hydrolyzed *in situ* to obtain carboxylic acids groups. Finally, hydrogels were obtained with high mechanical stability, transparency, and responsivity to temperature and pH. The hydrogels were characterized structurally via nuclear magnetic resonance (NMR) and in addition, water absorption capacity, mechanical stability and temperature and pH-responsivity were determined. The distribution of Laponite particles inside hydrogels was homogenous as confirmed by transmission electronic microscopy (TEM). The hydrogels showed temperature responsivity due to the poly (NiPAAm) segments and pH-responsivity due to the carboxylic acids content.

**Key words:** N-isopropylacrylamide, macromonomer, 2-oxazolines, Laponite XLS, hydrogels, thermoresponsive hydrogel.

### INTRODUCCIÓN

Las 2-oxazolininas son sustancias heterocíclicas, que polimerizan vía una polimerización catiónica por apertura de anillo, la cual es iniciada por grupos electrófilos. La polimerización de las 2-oxazolininas transcurre en una forma “viva”, y se pueden predeterminar, desde el inicio de la polimerización, el peso molecular del polímero y su distribución así como su funcionalidad<sup>1-3</sup>.

Con las 2-oxazolininas se pueden elaborar macromonómeros, copolímeros en bloque e injertados<sup>2,3</sup>. La polimetil- y polietil-oxazolinina, tienen un carácter hidrofílico.

Los hidrogeles tienen como propiedad principal la de absorber agua en relativamente grandes cantidades pero al hacerlo pierden estabilidad mecánica. Haraguchi y colaboradores por primera vez utilizaron la arcilla Laponite XLS como elemento entrecruzador de las cadenas de poli(NiPAAm) para obtener hidrogeles termoconmutables y con buenas propiedades mecánicas<sup>4,5</sup>. Sin embargo, al intentar conseguir una sensibilidad al pH mediante la

introducción al sistema de polimerización anterior del ácido acrílico no tuvo éxito ya que los grupos ácidos formaban complejos con las placas de Laponita y se perdían las buenas propiedades mecánicas y la transparencia.

En la presente investigación se utilizó la estrategia de elaborar primero el hidrogel de poli(NiPAAm) conteniendo grupos protectores ésteres (provenientes de los macromonómeros de 2-oxazolinas) y después hidrolizar estos, *in situ*, en el hidrogel ya formado, para obtener los grupos ácido carboxílico dentro de su estructura y evitar así, en lo posible, la formación de complejos entre los grupos ácido y la Laponita XLS.

## PARTE EXPERIMENTAL

Las sustancias utilizadas en esta investigación fueron obtenidas de las firmas Aldrich y Merck y fueron purificadas según métodos estándar de la literatura<sup>3,6</sup>. La 2-metil- y 2-(2-metoxycarboniletil)-2-oxazolina fueron sintetizadas en el laboratorio mediante los procedimientos descritos en la literatura<sup>6</sup>. Los macromonómeros de 2-oxazolinas fueron elaborados según método descrito en publicación anterior<sup>3</sup>.

**Síntesis de los hidrogeles utilizando Laponita XLS como entrecruzador:** Procedimiento típico (Ej. Hidrogel HGL-3): En un vaso de 50 mL, se disolvieron 1,0 g (8,8 mmol) de NiPAAm, 0,2 g (0,10 mmol) de macromonómero M1 sin hidrolizar, 0,2 g de Laponita XLS, 0,030 g de TEMED en 4 mL de agua hasta disolución total. Luego, esta mezcla se colocó en un recipiente cerrado y se burbujeó nitrógeno gaseoso durante 15 minutos. Posteriormente, el sistema fue cerrado y colocado en un baño de agua con hielo (5°C) durante 15 minutos. En forma paralela, en otro vaso de 25 mL se disolvió 0,025 g de APS en 1 mL de agua y se burbujeó nitrógeno por 15 minutos. A continuación, se agregó la solución de APS a la primera solución y se mezcló bien. La reacción siguió su curso en el baño de agua fría hasta la formación de un hidrogel.

La purificación del hidrogel se realizó mediante lavado con agua destilada. Para esto el hidrogel fue colocado en un litro de agua destilada por 24 horas para eliminar restos de monómeros y de iniciador que no hubieran reaccionado, durante este período el agua fue cambiada cuatro veces. Finalizada la purificación, el hidrogel fue secado a 30°C hasta peso constante y guardado en un desecador. El hidrogel fue caracterizado por espectroscopia RMN, mediante la técnica HR-MAS (giro de ángulo mágico de alta resolución).

Para la síntesis de otros hidrogeles, el procedimiento descrito anteriormente fue el mismo solo que se varió las cantidades de los componentes. En la tabla 1 de la discusión de resultados se exponen las composiciones para todos los hidrogeles elaborados.

**Hidrólisis de los hidrogeles:** Procedimiento típico (Ej. Hidrogel H-HGL5): En un vaso de 250 mL, se agregó 1,0 g de hidrogel y se adicionó cuatro equivalentes gramos de una solución de NaOH 0,1 N en agua, todo este sistema se calentó a 40°C por 48 horas. Pasado

este tiempo, el sistema fue enfriado y neutralizado con solución HCl 0,1N hasta un pH=5,6, aproximadamente. Después de la neutralización, se purificó el hidrogel mediante lavado con agua destilada. Para esto los hidrogeles fueron sumergidos en un balón de un litro de agua durante 48 horas donde cada 12 horas se cambió el agua destilada. Terminado este tiempo, el agua contenida en el hidrogel fue eliminada mediante calentamiento a 32°C hasta obtener un hidrogel seco.

El hidrogel hidrolizado H-HGL5 fue caracterizado estructuralmente por su espectro de resonancia magnética nuclear de hidrógeno.

Espectroscopía RMN: Los espectros <sup>1</sup>H- y <sup>13</sup>C-RMN fueron obtenidos en un equipo RMN Avance III 500 (Bruker, Alemania) a 500 MHz para <sup>1</sup>H y 125,7 MHz para <sup>13</sup>C.

**Prueba de absorción de agua:** Se colocó en un vaso una porción de hidrogel hidrolizado seco (peso inicial=W<sub>s</sub>) en 80 mL de agua destilada a temperatura ambiente durante 24 horas. Luego de este tiempo se extrajo el hidrogel hinchado en agua y se pesó (W<sub>h</sub>). El grado de absorción de agua del hidrogel fue calculado mediante la ecuación:  $Q=(W_h-W_s)/W_s$ , donde Q es el grado de absorción de agua del hidrogel (g H<sub>2</sub>O/g de HG seco).

**Prueba de sensibilidad a la temperatura:** Se determinó el grado de contracción del volumen de los hidrogeles al aumentar la temperatura. Se asumió que el peso del hidrogel fue siempre proporcional a su volumen. El peso del hidrogel a 25°C es proporcional al volumen inicial del hidrogel. El porcentaje de contracción, en respuesta al aumento de temperatura, se determinó mediante la ecuación:  $\% \text{ Contracción}=100*(W_{\text{inicial}}-W_{\text{final}})/W_{\text{inicial}}$

Procedimiento: En un vaso se colocó una porción del hidrogel en 80 mL de agua a temperatura ambiente por 24 horas. Pasado este tiempo, se sacó el hidrogel del agua y se determinó su peso (W<sub>inicial</sub>). Seguidamente, la misma porción de hidrogel se sumergió nuevamente en un recipiente con agua y este fue colocado en un baño termostático a una temperatura determinada durante 60 minutos; luego, el hidrogel nuevamente se sacó del agua y se pesó (W<sub>final</sub>). Se determinó el peso remanente del hidrogel a esta temperatura mediante la ecuación:  $\text{Peso remanente (\%)}=100*(\text{Peso}_{\text{final}}/\text{Peso}_{\text{inicial}})$ . La contracción del hidrogel es la diferencia entre el peso inicial y el peso remanente. Para cada temperatura, se obtuvo un peso remanente (%) del hidrogel y estos valores fueron ploteados versus la temperatura (°C).

**Prueba de sensibilidad al pH:** Procedimiento típico: En un vaso de 100 mL, se sumergió una porción de hidrogel hidrolizado en agua a pH=6,5 a la temperatura ambiente (20°C) por 24 horas hasta alcanzar el equilibrio. Luego se pesó el hidrogel, este peso fue denominado “Peso inicial (W<sub>inicial</sub>)”. Seguidamente, se procedió a ajustar el pH del medio a un pH=1 agregando para esto solución de HCl, pH=1, dejando nuevamente el hidrogel sumergido por 24 horas en este medio ácido. Cuando el equilibrio fue alcanzado, el hidrogel fue extraído y pesado, a este peso se le denominó “Peso final (W<sub>final</sub>)”. Para ensayar la sensibilidad al pH básico (pH=10), se repite el procedimiento anteriormente descrito, pero agregando solución de pH=10. La variación del volumen que mostró el hidrogel en respuesta al cambio del

pH, ácido o básico, fue determinado mediante la relación:  $\% \text{Contracción} = 100 * (\text{Peso}_{\text{inicial}} - \text{Peso}_{\text{final}}) / \text{Peso}_{\text{inicial}}$ .

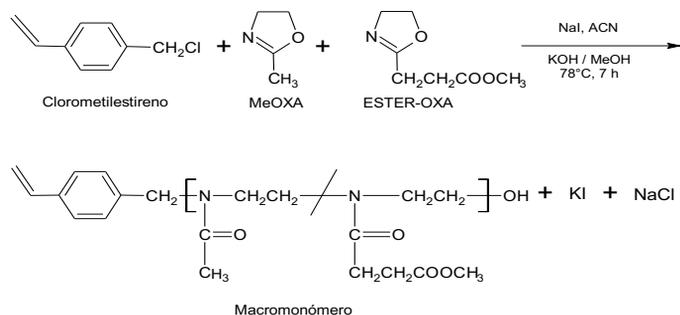
**Análisis por microscopía electrónica de transmisión (TEM):** Las muestras fueron analizadas por la Química Sra. Ute Reuter del Instituto Leibniz de Investigaciones en Polímeros de Dresden, Alemania, aplicando el procedimiento estándar. Microscopio TEM: Marca: Zeiss, Modelo: Libra 120, Resolución máxima: 0,4 nm.

## DISCUSIÓN DE RESULTADOS

**Síntesis de los macromonómeros:** Como fue descrito en una publicación anterior<sup>3</sup> la síntesis de los macromonómeros M1 y M2 fue realizada a partir de la polimerización catiónica por apertura de anillo de la 2-metil-2-oxazolina (MeOXA) y la 2-(2-metoxycarboniletil)-2-oxazolina (ESTER-OXA) iniciada por el clorometilestireno (CMS) en presencia del catalizador yoduro de sodio. Debido a la iniciación por el CMS, el grupo vinilo fue introducido en el extremo de la cadena polimérica desde el inicio de la polimerización.

La reacción se realizó a una temperatura relativamente baja, de 78°C, durante siete horas y con una baja concentración del iniciador en el medio de reacción. Esto se realizó así para evitar una polimerización prematura del grupo vinilo del CMS. Sin embargo, estas condiciones de reacción sí fueron suficientes para conseguir la polimerización completa de las 2-oxazolininas. Se usó como solvente el acetonitrilo. Bajo estas condiciones de reacción, los macromonómeros M1 y M2 fueron obtenidos con pesos moleculares de 2220 y 3023 (o grados de polimerización de 20 y 24, respectivamente) y con un contenido de grupos ésteres de 23 y 49 mol%, respectivamente. Se obtuvieron rendimientos de polimerización cercanos al 100 %. La reacción de polimerización se muestra en el esquema 1.

La polimerización fue favorecida por tres factores: la mayor nucleofilicidad de las oxazolininas respecto del ión yoduro, la tensión en el anillo oxazolinínico, y la gran estabilidad del grupo amida resultante de la misma. Por ello, la reacción procedió vía el mecanismo iónico, reaccionando las cadenas propagantes solo con los monómeros de 2-oxazolininas y la reacción se llevó a cabo de forma “viva”, es decir, ocurrió sin reacciones de terminación o de transferencia de cadena.



**Esquema 1.** Síntesis de los macromonómeros

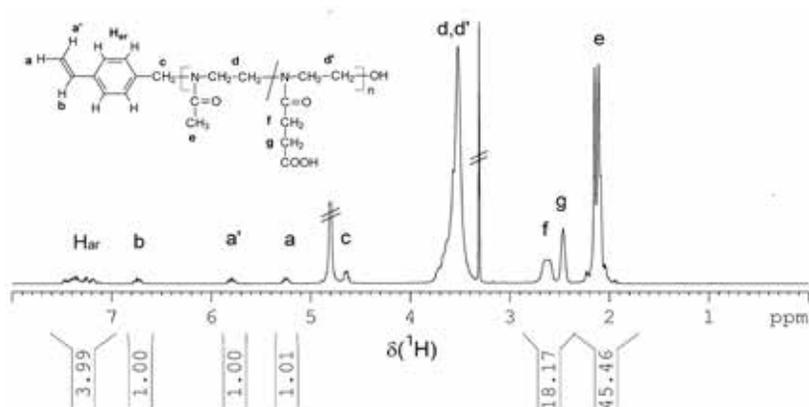
El macromonómero M1 fue caracterizado estructuralmente mediante sus espectros de resonancia magnética nuclear de hidrógeno y carbono (ver  $^1\text{H}$  RMN del macromonómero M1 hidrolizado en figura 1). Para M2 el espectro fue similar. Todas las mediciones se realizaron a  $30^\circ\text{C}$  utilizando metanol deuterado ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ).

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 21,3-21,8 ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ); 28,5 ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_2$ ); 30 ( $\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3$ ); 44-48 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ); 52,2 ( $\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3$ ); 54,1 ( $\text{Ar}-\text{CH}_2$ ); 61 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ); 115 ( $\text{CH}_2=$ ); 125-131 ( $\text{CH}_{\text{ar}}$ ); 137-140 ( $\text{C}_{\text{ar}}$ ); 137,5 ( $-\text{CH}=\text{}$ ); 173,6 ( $\text{COCH}_3$  y  $\text{COCH}_2$ ); 175,1 ( $\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3$ ).

El espectro  $^1\text{H}$ -RMN de M1 tiene una señal a 3,6 ppm que corresponde al metilo del grupo éster del monómero ESTER-OXA. Posteriormente, esta señal desapareció al realizarse la hidrólisis de los grupos éster y se formaron grupos ácido carboxílicos dentro del hidrogel (Fig. 1). Asimismo, la señal a 52,2 ppm del espectro  $^{13}\text{C}$ -RMN correspondiente al átomo de carbono del grupo metilo del éster desapareció al ser hidrolizado el hidrogel, indicando esto que la hidrólisis fue cuantitativa (100 %).

La presencia en los espectros RMN de las señales correspondientes a los diferentes tipos de protones y átomos de carbono de la estructura teórica del macromonómero, confirman que ocurrió la formación del copolímero a partir de los monómeros MeOXA y ESTER-OXA.

Del análisis cuantitativo del espectro  $^1\text{H}$ -RMN se determinó el grado de polimerización de M1 y M2, que fue de 20 y 24, respectivamente, y también el porcentaje molar de ESTER-OXA y MeOXA en los macromonómeros. Los valores fueron determinados a partir de la comparación de las integrales de las señales de los hidrógenos metilénicos de  $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{COO}$  (f, g, 2,4-2,8 ppm) del ESTER-OXA, de las integrales de la señal del metilo  $\text{CH}_3\text{CO}$  (e, 2,11 ppm) del MeOXA y de los protones del grupo iniciante CMS (a, a', b, Har, 5,25; 5,8; 6,75 y 7,1-7,5 ppm). Los porcentajes molares calculados de ESTER-OXA fueron de 23 % y 49 % para los macromonómeros M1 y M2, respectivamente. Estos resultados confirman que en la polimerización no hubo reacciones secundarias de transferencia de cadena o terminación, es decir, la polimerización se realizó en forma "viva" y sin la polimerización prematura de los grupos vinilo de los macromonómeros.



**Figura 1.** Espectro  $^1\text{H}$ -RMN del macromonómero hidrolizado H-M1 a  $30^\circ\text{C}$  en  $\text{CD}_3\text{OD}$ .

### Síntesis de los hidrogeles

El objetivo de sintetizar hidrogeles basados en copolímeros de NiPAAm y macromonómeros de 2-oxazolininas utilizando Laponita XLS como agente entrecruzante fue el de obtener materiales que sean sensibles a la temperatura y al cambio de pH del medio, y que a la vez posean mejores propiedades mecánicas que los hidrogeles convencionales que utilizan un agente entrecruzante orgánico.

La estrategia seguida fue sintetizar primero los hidrogeles con los grupos éster de los macromonómeros contenidos en su estructura y luego, recién en un siguiente paso, hidrolizar los grupos éster para obtener grupos ácidos. Esta estrategia difiere de la de Haraguchi *et al.*, quien sintetizó hidrogeles a partir de N-isopropilacrilamida (NiPAAm), ácido acrílico y Laponita lo que condujo a una estructura heterogénea con pobres propiedades mecánicas de los mismos. Esto se atribuyó a la formación de complejos entre el ácido acrílico y la superficie de la Laponita, cargada negativamente.

Los hidrogeles fueron obtenidos mediante la copolimerización por radicales libres de la N-isopropilacrilamida (NiPAAm), macromonómeros de 2-oxazolinina (M1 o M2 sin hidrolizar) en presencia de Laponita XLS. La polimerización se realizó en medio acuoso y fue iniciada por un sistema de iniciación redox basado en persulfato de amonio (APS) y catalizador N,N,N',N'-tetrametilendiamina (TEMED) (esquema 2).

Se obtuvieron hidrogeles con buena consistencia mecánica y transparencia y que contenían grupos éster. La velocidad de la reacción fue alta, produciendo hidrogeles en solo 10 minutos. Los detalles experimentales y resultados obtenidos en la síntesis de los hidrogeles se resumen en la tabla 1.

**Tabla 1.** Síntesis de hidrogeles con Laponita XLS (datos experimentales y resultados)

HGL <sup>a)</sup>	NiPAAm <sup>b)</sup> (g)	MM <sup>c)</sup> (g)	LAP <sup>d)</sup> (g)	NiPAAm/MM <sup>e)</sup>	R <sup>b)</sup> (%)
HGL-1	1,0	0	0,2	-	88
HGL-2	1,0	0,20	0,2	98,3	75
HGL-3	1,0	0,10	0,2	196,6	86
HGL-4	1,0	0,05	0,2	393,2	82
HGL-5	1,0	0,40	0,2	59,1	82
HGL-6	1,0	0,10	0,2	236,3	88

Donde:

<sup>a</sup> Hidrogel sintetizado, <sup>b</sup>NiPAAm: N-isopropilacrilamida, <sup>c</sup>MM: Macromonómero, <sup>d</sup>LAP: Laponita XLS, <sup>e</sup> Relación molar inicial de monómeros de NiPAAm/MM, <sup>f</sup>Rendimiento (%)= 100\*(Peso HGL obtenido/ ΣPesos de reactivos (NiPAAm, macromonómero y Laponita)). En los hidrogeles HGL-2, -3, y -4 se usó el macromonómero M1 (con 23% de Esteroxa y PD=20) y en los hidrogeles HGL-5, -6 se usó el macromonómero M2 (con un 49% molar de Esteroxa y PD=24). En el hidrogel HGL-1 no se usó macromonómero. <sup>h</sup> El sistema iniciador fue APS: Persulfato de amonio, y TEMED: N,N,N',N'-tetrametiletilendiamina. En todos los experimentos se usó 0,025 gramos de APS y 0,030 gramos de Temed y 5 mL de agua como solvente.

Como producto de la polimerización se obtuvo un hidrogel conteniendo meros de NiPAAm y macromonómeros de MeOXA y ESTER-OXA. Estas cadenas poliméricas estarían adheridas a las plaquetas de Laponita XLS que funcionarían como agente entrecruzador. Los rendimientos obtenidos estuvieron entre 75 y 97 % (tabla 1).

Los hidrogeles fueron caracterizados estructuralmente vía la técnica RMN-HR-MAS (*high resolution magic angle spinning*). Todas las mediciones se realizaron a 30°C utilizando agua deuterada (D<sub>2</sub>O).

En la figura 2 se muestra el espectro <sup>1</sup>H-RMN (técnica HR-MAS) para el hidrogel HGL-5. A continuación se indican las asignaciones de las señales observadas. Cabe señalar que los espectros para todos los hidrogeles elaborados fueron similares.

<sup>1</sup>H-RMN-HR-MAS (D<sub>2</sub>O) δ: 1,15-1,25 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 1,4-2,2 (CH<sub>2</sub>CH); 2,1-2,2 (CH<sub>3</sub>CO); 2,45-2,8 (C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)OCH<sub>3</sub>); 3,3-3,6 (NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 3,71 (C(O)OCH<sub>3</sub>); 3,9-4,0 (CH).



**Hidrólisis de los hidrogeles:** La hidrólisis de los hidrogeles fue llevada a cabo en medio básico diluido (0,1N NaOH) y a temperatura relativamente baja (45°C) para hidrolizar selectivamente los grupos éster a grupos ácido carboxílico y evitar la hidrólisis de los grupos amida. Como producto de la hidrólisis, se obtuvo un hidrogel transparente y con buena consistencia mecánica. A continuación se muestran las señales obtenidas para el hidrogel hidrolizado H-HGL2.

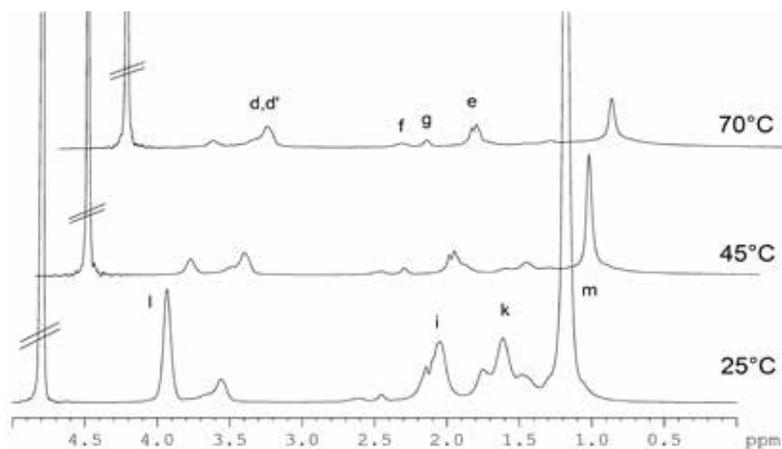
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$ : 1,15-1,25 ( $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ); 1,4-2,2 ( $\text{CH}_2\text{CH}$ ); 2,1-2,2 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ); 2,45-2,7 ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ ); 3,3-3,8 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ); 3,9-4,0 ( $\text{CH}$ ).

Los resultados indican que ocurrió un 100 % de hidrólisis ya que la señal h a 3,71 ppm del grupo éster ( $\text{CH}_3\text{O}$ ) ha desaparecido completamente en el espectro (Fig. 3, espectro a 25°C).

### Análisis de hidrogeles por microscopía electrónica de transmisión (TEM)

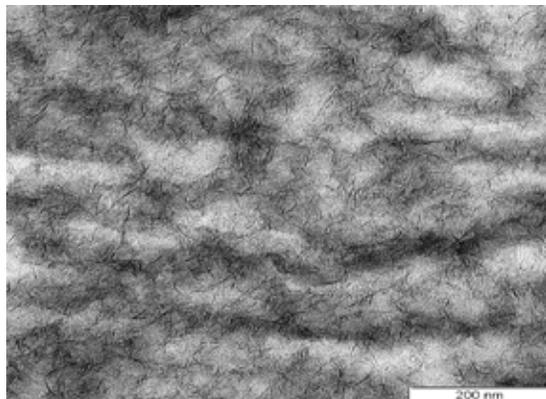
La caracterización morfológica, del hidrogel hidrolizado H-HGL2, mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) (figura 4, HGL-2) mostró que la distribución de las plaquetas de Laponita XLS fue homogénea dentro del hidrogel, formando una red entrecruzada. Esto es similar a lo encontrado por Haraguchi<sup>4</sup> *et.al*.

**Estabilidad mecánica de los hidrogeles:** Los hidrogeles mostraron una buena estabilidad mecánica. Mediante un ensayo cualitativo, se estiró el hidrogel HGL-2 (sin hidrolizar) mostrando una gran capacidad elástica, se alargó más del 50 % de su dimensión (figura 5). Estas remarcables mejoras en las propiedades mecánicas de los hidrogeles elaborados pueden ser atribuidas a su estructura entrecruzada homogénea de polímero-arcilla inorgánica.

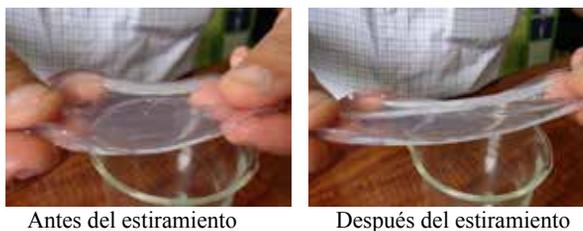


**Figura 3.** Espectros  $^1\text{H-RMN}$ - (técnica HR-MAS) del hidrogel hidrolizado H-HGL2 a diferentes temperaturas en  $\text{D}_2\text{O}$ .

**Absorción de agua:** los hidrogeles hidrolizados H-HGL2, H-HGL3 y H-HGL4, todos con macromonómero M1 (23% ESTER-OXA), mostraron que la absorción de agua se incrementa cuando aumenta la relación molar macromonómero (MM)/NiPAAm (los valores de absorción de agua para H-HGL2, H-HGL-3, y H-HGL-4 son 38,5, 16,5, y 12,5 g agua/g hidrogel seco, respectivamente). Este resultado es debido a la mayor hidrofiliidad de los grupos carboxilatos y carboxilos, contenidos en el macromonómero.



**Figura 4.** Microscopía electrónica de transmisión (TEM) para el hidrogel hidrolizado H-HGL2 con una magnificación de 40,000X.



**Figura 5.** Hidrogel HGL-2 (sin hidrolizar) con buena consistencia mecánica.

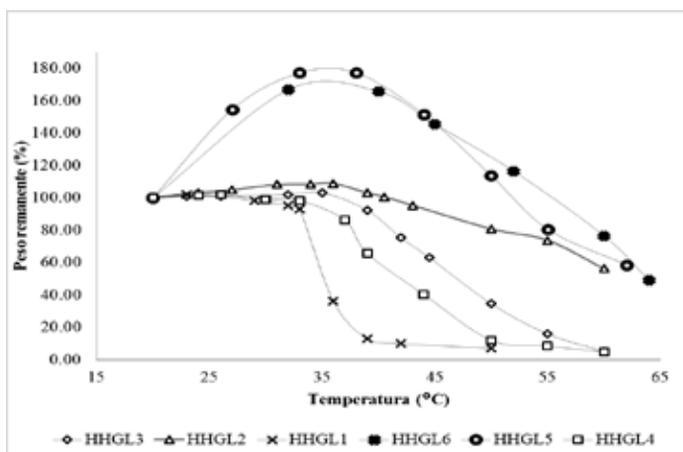
En el caso de los hidrogeles H-HGL5 y H-HGL-6 los valores de absorción de agua fueron 43 y 33,3 g agua/g de hidrogel seco. La absorción de agua del primero de ellos fue mayor debido a que contiene mayor cantidad de macromonómero M2, el cual es aún más hidrofílico que M1 debido a que contiene más grupos ácido carboxílicos (49 vs 23 %).

**Sensibilidad a la temperatura:** Los hidrogeles presentaron sensibilidad a la temperatura. Esta sensibilidad se expresó como una contracción del volumen del hidrogel al aumentar la temperatura. Debido a la forma irregular del hidrogel no fue posible medir su volumen, por eso se midió el peso del hidrogel y se asumió que este fue siempre proporcional al volumen del mismo. En la figura 6 se observa la variación del peso de los hidrogeles al aumentar la temperatura.

En todos los casos hubo una contracción del hidrogel al aumentar la temperatura aunque con las muestras H-HGL-5 y H-HGL-6 hubo primero una expansión y luego una contracción. El hidrogel HHGL-1 solo contiene poliNiPAAm y se contrae a una temperatura menor a los demás (transición conformacional a 35°C) debido a que contiene menor hidrofiliicidad por no contener macromonómero. En los demás hidrogeles a mayor relación molar NiPAAm/macromonómero dentro del hidrogel, la contracción es mayor y ocurre de forma más rápida debido a que existe mayor cantidad del elemento termosensible (poliNiPAAm) en el mismo. Al aumentar el contenido de macromonómero, la temperatura a la cual ocurre la contracción (transición conformacional) se incrementa debido a que aumenta la hidrofiliicidad del hidrogel por el contenido de macromonómero y, asimismo, se observa que la transición disminuye en intensidad.

Los hidrogeles H-HGL5 y H-HGL6 tienen un relativo alto contenido de grupos ácido carboxílicos y carboxilatos (provenientes de la gran cantidad del macromonómero M2 usada en su síntesis), por esto poseen una fuerte hidrofiliicidad y a mayor temperatura esta fuerza es mayor que la fuerza de contracción del NiPAAm haciendo que los hidrogeles primero se expandan hasta un punto para luego empezar a contraerse.

En la figura 3 se muestran los espectros  $^1\text{H}$ -RMN para el hidrogel hidrolizado H-HGL2 a temperaturas de 25°C, 45°C y 70°C en D<sub>2</sub>O. Se observa claramente que a medida que la temperatura aumenta disminuyen en intensidad las señales i - m correspondientes a los segmentos del poliNiPAAm contenidos en los hidrogeles debido al colapso de estas cadenas poliméricas. En tanto que las cadenas laterales de polioxazolinias muestran buena movilidad incluso a 70°C y por esto se pueden observar en el espectro (señales d-g).



**Figura 6.** Temperatura (°C) versus peso remanente (%) de los hidrogeles.

**Prueba de sensibilidad al pH:** Debido a su contenido de grupos ácido carboxílicos, provenientes del macromonómero de 2-oxazolina, los hidrogeles mostraron sensibilidad al pH del medio. Para la interpretación de los resultados, hemos tomado como referencia que el hidrogel al pH=6,5 tiene un volumen inicial que asumimos corresponde al 100 %, y el cambio de volumen a diferentes pH (1 y 10) se refieren a ese porcentaje inicial. La contracción o expansión del volumen fue evaluada mediante la pérdida o ganancia de peso del hidrogel.

Fueron evaluados algunos hidrogeles. Los hidrogeles H-HGL2 y H-HGL-3 se contrajeron 35 y 32 % a un pH=1, respectivamente. En tanto que a un pH=10 estos mismos hidrogeles se contrajeron 16 y 35 %, respectivamente.

A pH 6,5 (pH del agua destilada utilizada) el hidrogel esta hinchado en agua y el hidrogel hidrolizado absorbe agua debido a la polaridad por la disociación parcial de los grupos ácido carboxílicos. A un pH bajo (pH=1) el hidrogel se contrae debido posiblemente por la formación de enlaces de hidrógeno entre los grupos ácidos y los grupos amida dentro del hidrogel. A un pH intermedio el hidrogel se expande debido a la repulsión electrostática entre los grupos carboxilato de sodio. A un pH más elevado, como pH=10, el hidrogel debería seguir expandiéndose pero no ocurre esto y el hidrogel se contrae de nuevo, no hemos encontrado una explicación para este fenómeno

## CONCLUSIONES

Es posible elaborar hidrogeles mediante la copolimerización radicalar de N-isopropilacrilamida (NiPAAm) y macromonómeros de 2-oxazolinas en medio acuoso en presencia de la arcilla Laponita XLS e iniciada por APS/TEMED. Los macromonómeros utilizados, M1 y M2, tuvieron un porcentaje molar de monómero ESTER-OXA de 23 % y 49 % y grados de polimerización 20 y 24, respectivamente.

El grado de absorción de agua de los hidrogeles fue directamente proporcional al contenido de los macromonómeros hidrolizados de 2-oxazolinas en los mismos.

Los hidrogeles sintetizados presentaron buenas propiedades mecánicas comparadas con los hidrogeles convencionales. La Laponita XLS funciona en estos sistemas de polimerización como un elemento entrecruzador y de refuerzo mecánico. El hidrogel fue caracterizado morfológicamente mediante el ensayo de microscopía electrónica de transmisión (TEM) y se demostró que la Laponita estaba homogéneamente dispersa en la red del hidrogel contribuyendo esto a la estabilidad mecánica.

Los hidrogeles presentaron sensibilidad a la temperatura debido a los segmentos de PoliNiPAAm, esta sensibilidad se manifiesta mediante una contracción de su volumen al aumentar la temperatura. La temperatura de transición, que es el valor medio del rango de temperatura, aumenta al incrementarse en contenido del macromonómero.

La sensibilidad al pH de los hidrogeles fue evidenciada mediante una contracción del hidrogel al elevarse o disminuirse el pH del medio respecto del pH neutro. La contracción del hidrogel a pH ácido es probablemente causada por los enlaces de hidrógeno entre la amida y los grupos ácidos provenientes del macromonomero dentro del hidrogel. A pH alto, la contracción puede estar relacionada a la alta carga iónica total dentro del hidrogel.

### AGRADECIMIENTOS

Al Fondo para la Innovación, Ciencia y Tecnología (Fincyt), a la Pontificia Universidad Católica del Perú (PUCP) y al Instituto Leibniz de Investigaciones en Polímeros de Dresden (IPF), Alemania por el financiamiento de esta investigación mediante el proyecto FINCYT-212-2013-IA (“hidrogeles actuadores con doble sensibilidad y su aplicación en transistores químicos”).

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aoi K, Okada M. Polymerization of oxazolines. *Prog Polym Sci.* 1996; 21: 151-208.
2. Kobayashi S, Saegusa T. Block and graft copolymers of 2-oxazolines. *Macromol Chem Phys.* 1985; 12: 11-24.
3. Rueda J, Campos E, Komber H, Zschoche S, Voit B. Synthesis and characterization of new pH- and thermo-responsive hydrogels based on N-isopropylacrylamide and 2-oxazolines. *Des Monomers Polym.* 2014; 17: 208-216.
4. Haraguchi K, Takehisa T. Nanocomposite Hydrogels: A Unique Organic–Inorganic Network Structure with Extraordinary Mechanical, Optical, and Swelling/De-swelling Properties. *Adv Mater.* 2002; 14: 1120-1124.
5. Schild HG. Poly(N-isopropylacrylamide): experiment, theory and application. *Prog Polym Sci.* 1992; 17: 163-240.
6. Witte H, Seeliger W. Cyclische Imidsäureester aus Nitrilen und Aminoalkoholen. *Liebigs Ann Chem.* 1974; 1974(6): 996-1009.

## **EFFECTO DEL TIPO DE AGENTE DE PELADO, TIEMPO DE COCCIÓN Y CONTENIDO DE HUMEDAD EN LA CALIDAD DE SNACKS FRITOS DE MAÍZ BLANCO GIGANTE (*Zea mays*)**

Geimy I. Boluarte Alarcón, Cecilia P. Dionisio Fernández, y Fausto H. Cisneros\*

### **RESUMEN**

Con el objetivo de mejorar las características organolépticas del snack frito de maíz gigante, se estudiaron los efectos del tipo de agente de pelado químico (CaOH o NaOH), el remojo en la solución de pelado, el tiempo de cocción y contenido de humedad del grano antes de la fritura.

Se encontró que NaOH era más eficiente que CaOH para el pelado químico del maíz, y cuando se dejaban remojando los granos por 6 h en la solución de pelado de NaOH, se desarrollaba mejor el sabor nixtamalizado, y además se obtenía un color más claro del snack. Un mayor tiempo de cocción (0, 8, 16 min), producía una mayor expansión del snack, y el ajuste del contenido de humedad mediante el secado, previo a la fritura, permitía controlar la textura del snack. Contenidos de humedad altos, > 42 % (b.h.) producían snacks crocantes pero duros; mientras que contenidos de humedad bajos, <26 % (b.h.), producían snacks suaves y secos. Para obtener snacks de textura crocantes y suaves se debía ajustar la humedad a aproximadamente 32 % (b.h.).

**Palabras clave:** maíz gigante, *Zea mays*, nixtamalización, snacks fritos, gelatinización, textura

## **THE EFFECT OF TYPE OF PEELING AGENT, COOKING TIME AND MOISTURE CONTENT ON GIANT WHITE CORN (*Zea mays*) FRIED SNACK QUALITY**

### **ABSTRACT**

In order to improve the organoleptic properties of giant corn fried snack, the effects of chemical peeling agent type (CaOH or NaOH), immersion in peeling solution, cooking time, and grain moisture content before frying, were studied.

---

\* Departamento de Ingeniería Agroindustrial y Agronegocios, Facultad de Ingeniería, Universidad San Ignacio de Loyola, Avenida La Fontana 550, Lima 12, Perú. fcisneros@usil.edu.pe

NaOH was found to be more effective than CaOH as a peeling agent of corn. Nixtamalization flavor was best developed and a lighter snack color was obtained when corn grains were immersed in the peeling solution of NaOH for 6 h. A longer cooking time (0, 8, 16 min) yielded a larger grain expansion. By adjusting grain moisture content (before frying) by drying, the texture of the snack could be controlled. High moisture contents, > 42 % (w.b.) produced crunchy but hard-textured snacks; whereas, low moisture contents, < 26 % (w.b.) gave soft but dry-textured snacks. Therefore, in order to obtain crunchy but soft snacks, moisture content must be adjusted to approximately 32 % (w.b.).

**Key words:** Giant corn, *Zea mays*, nixtamalization, fried snacks, gelatinization, texture

## INTRODUCCIÓN

El maíz gigante es nativo de los Andes centrales de Sudamérica donde viene siendo cultivado desde épocas preincas, especialmente en la zona del Cusco<sup>1</sup>. Actualmente en el Perú es cultivado, principalmente, por pequeños productores para su consumo en fresco como choclo o deshidratado para su venta como mote. Este es usado como materia prima por algunos procesadores de alimentos para elaborar un snack frito nixtamalizado de grano entero de maíz gigante. Sin embargo, la textura de este tipo de snack presenta el problema de un exceso de dureza. Por lo que sería deseable que los fabricantes de este tipo de snack pudieran ajustar sus parámetros de procesamiento para reducir el nivel de dureza. La reducción de la dureza no solamente redundaría en una mejora de la calidad organoléptica del snack de maíz, sino también en reducir la posibilidad que afecte la dentadura del consumidor, especialmente el de la tercera edad.

El enfoque usado en este estudio para resolver este problema específico de calidad del snack frito de maíz gigante, es uno que utiliza el conocimiento de la ciencia de los alimentos, específicamente, del almidón y sus propiedades funcionales para formar textura en alimentos bajo diferentes condiciones de procesamiento. Una importante propiedad del almidón es la de la gelatinización, en la que el almidón interactúa con el agua bajo ciertas condiciones de calentamiento. En esta interacción, los grupos hidroxilo del almidón dejan de formar puentes de hidrógeno entre sí, y en su lugar forman puentes de hidrógeno con el agua. Dependiendo del contenido de humedad, el almidón puede formar soluciones viscosas, formar geles, o formar una matriz vítrea. Cuando, junto con el almidón, están presentes otros componentes en el alimento, entonces hay que tomar en cuenta la influencia de estos otros componentes presentes (proteínas, azúcares, grasas, fibra, etc.) en la creación de textura del alimento. Específicamente, estudiamos el efecto del tipo de agente de pelado químico (NaOH o CaOH), el remojo por 6 h en la solución de pelado químico, tiempo de cocción (0, 8, 16 min) y contenido de humedad del grano antes de la fritura, sobre la calidad general del snack frito de maíz, especialmente su textura.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Equipos

Horno de convección marca Tagliavini, modelo Termoven de 10 bandejas (Parma, Italia). Cocina industrial de dos hornillas marca Sanson. Estufa marca JP Selecta S.A. (Barcelona, España). Equipo de Soxhlet. Texturómetro QTS-Brookfield, con accesorio barra de penetración de 4 mm diámetro.

### Reactivos

Éter de petróleo; ácido sulfúrico, sulfato de sodio anhidro; hidróxido de sodio; ácido bórico; ácido clorhídrico. Los reactivos fueron del laboratorio Sigma-Aldrich de grado reactivo.

### Muestras

Se trabajó con un lote de maíz blanco gigante grano seco de segunda (calibre: 28-32) (malla: 13,0 mm) con contenido de humedad de 16,3 % (base húmeda).

### Proceso de elaboración de snack frito de maíz gigante

El maíz gigante fue sometido a las operaciones de pelado químico, remojo (nixtamalización), lavado, cocción, secado, fritura, salado y envasado.

*Pelado químico.* Se llevó a cabo sumergiendo el maíz seco en una solución de agente alcalino a 100°C por un tiempo determinado, con la finalidad de aflojar y separar la cáscara (pericarpio) del grano.

*Remojo o nixtamalización.* El maíz se dejó sumergido en la misma solución alcalina del pelado por 6 h, pero sin calentamiento adicional.

*Lavado.* Los granos de maíz fueron retirados de la solución alcalina y lavados bajo un chorro de agua potable, frotando los granos uno contra otro para poder retirar por completo los restos de cáscara del grano y eliminar el álcali residual de la superficie del grano.

*Cocción.* Se efectuó sumergiendo los granos en agua a 100°C por un tiempo determinado.

*Secado.* El contenido de humedad de los granos fue ajustado mediante el secado con aire caliente a 60°C usando un horno de convección por un tiempo determinado.

*Fritura.* El maíz fue frito en aceite (oleína) de palma a 180°C, por un tiempo determinado hasta que el snack alcanzó un color ligeramente dorado. La relación maíz: aceite usada fue de 1:20.

*Salado.* Inmediatamente después de la fritura se espolvoreó sal en una cantidad aproximada al 1 % de la masa del maíz frito, revolviendo los granos para una distribución homogénea.

*Envasado.* Los snacks de maíz fueron envasados en frascos de vidrio herméticos a temperatura ambiente y mantenidos en la oscuridad.

### **Variables de estudio**

El desarrollo de esta investigación se dividió en dos fases. La primera fase consistió en el estudio del tipo de agente químico alcalino (CaOH o NaOH) en el pelado y en la nixtamalización o remojo para determinar su efecto sobre el desarrollo del sabor nixtamalizado de los snacks fritos de maíz y su efectividad en el pelado del grano.

Una vez que se determinó el tipo de agente de pelado y de nixtamalización a utilizar, se pasó a la segunda fase, que consistió en investigar los efectos del tiempo de cocción y el contenido de humedad del grano en las características de calidad de los snacks fritos de maíz, especialmente en la textura.

### **Efecto de tipo de agente alcalino en el pelado y nixtamalización (primera fase)**

En esta primera fase se estudió el efecto del tipo de agente alcalino (CaOH o NaOH) en la efectividad del pelado químico y en el desarrollo del sabor nixtamalizado y aspecto, mediante el remojo en la solución alcalina, de los snacks fritos de maíz.

Se emplearon dos condiciones de pelado: a) solución de CaOH al 0,8 % (p/v) en una relación maíz: solución de 1:3 por 45 min a 100°C. b) solución de NaOH 0,5 % (p/v), relación maíz:solución de 1:2 por 10 min a 100°C.

Inmediatamente después del pelado, la mitad de los granos fueron sometidos a un remojo por 6 h en la misma solución de pelado pero sin efectuar calentamiento adicional, con el fin de desarrollar el sabor nixtamalizado en el maíz frito.

Para el desarrollo de esta fase se empleó un tiempo de cocción de 16 minutos, y no se hizo ajuste en el contenido de humedad mediante secado, ya que solo se dejó orear para la evaporación de la humedad superficial del grano.

### **Efecto de tiempo de cocción y contenido de humedad antes de la fritura (segunda fase)**

Una vez establecido el agente alcalino a utilizar y la decisión de aplicar la nixtamalización mediante remojo, entonces se pasó a la segunda fase en la que se evaluaron tres niveles de tiempo de cocción, 0, 8, y 16 min; y seis niveles de contenido de humedad (base húmeda), 17, 20, 30, 40, 45 y 50 %; con lo cual se obtuvieron 18 tratamientos al aplicar un diseño completamente al azar.

El pelado, nixtamalización, lavado y oreo, se realizaron en un día. Para el oreo, los granos se esparcieron sobre unas mesas de acero inoxidable hasta al día siguiente en que se realizó la operación de cocción, y nuevamente los granos de maíz fueron sometidos a un oreo hasta al día siguiente, en que se realizó el secado. Esta operación se realizó en un día, y los granos de maíz secados se conservaron en frascos de vidrio herméticos hasta al día siguiente con el fin de que el contenido de humedad de los granos se equilibre.

La operación de fritura se realizó empleando aceite (oleína) de palma con cambio de aceite cada cuatro frituras. Con la finalidad de que los granos de maíz no flotaran en el aceite y

poder obtener un dorado uniforme, se emplearon, además de las canastillas, unas planchas agujereadas de acero inoxidable para sumergir los granos. Los snacks fritos de maíz fueron envasados en frascos de vidrio herméticos y almacenados protegidos de la luz.

### **Análisis químico y evaluación**

#### **Contenido de humedad**

Se hizo la determinación para las 18 muestras de maíz, tanto después del secado como en el snack frito. Se utilizó el método de estufa<sup>2</sup> a 135°C.

#### **Contenido de grasa cruda**

Se realizó para las 18 muestras de snacks fritos de maíz gigante, mediante el método Soxhlet<sup>3</sup>

#### **Análisis sensorial**

Se aplicó a cuatro muestras pre-seleccionadas del total de 18 muestras. La pre-selección la realizó un grupo de 13 panelistas, basándose en color y apariencia, sabor y textura. Las cuatro muestras seleccionadas fueron evaluadas mediante análisis sensorial de tipo afectivo usando escala hedónica por 50 panelistas. Los datos obtenidos del análisis sensorial fueron sometidos a análisis de varianza de una vía y la prueba de comparaciones apareadas de Tukey.

#### **Textura instrumental**

Para medir el grado de dureza del maíz frito se realizó el análisis de textura instrumental a las mismas cuatro muestras evaluadas en el análisis sensorial. Se utilizó el texturómetro QTS-Brookfield, con una barra de penetración de 4 mm como accesorio para comprimir y penetrar el grano hasta producir su fractura. La velocidad de penetración fue de 60 mm/min. El instrumento estuvo conectado a una computadora con un programa de recolección de datos, que automáticamente registró los datos de fuerza y distancia correspondientes.

#### **Análisis proximal**

Se realizó sobre la materia prima y el snack frito que obtuvo el mayor puntaje en el análisis sensorial. Los análisis fueron: Carbohidratos, por diferencia<sup>4</sup>; Energía total, por cálculos<sup>4</sup>; Ceniza totales<sup>5</sup>; Fibra cruda<sup>5</sup>; Grasa cruda<sup>5</sup>; Contenido de humedad<sup>5</sup>; Proteína cruda<sup>5</sup>.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Efecto de tipo de agente alcalino en el pelado y nixtamalización (primera fase)**

#### *Pelado químico y nixtamalización (remojo)*

Para el pelado químico con CaOH se empleó una relación de maíz: solución de 1:3, relación mayor en comparación con el pelado con NaOH, que fue de 1:2. Esta diferencia se debe a que el tiempo requerido para el pelado con CaOH fue de 45 min, bajo condiciones de ebullición, con lo que el volumen inicial de la solución se reduce significativamente por evaporación. En comparación, el pelado con NaOH fue de sólo 10 minutos a temperatura de ebullición, y no hubo mayor cambio en el volumen de la solución.

Una diferencia notoria entre el pelado con CaOH y el pelado con NaOH, es que en el primer caso no se logra un desprendimiento completo de la cáscara del grano, por lo que para lograr un pelado completo del grano de maíz se requiere efectuar un frotamiento entre los granos. En cambio, en el pelado con NaOH, sí se logra un desprendimiento completo de las cáscaras en la mayoría de los granos de maíz sin necesidad de frotamiento.

Los granos de maíz pelados con CaOH, con y sin remojo, tuvieron la misma apariencia después del pelado: ausencia de cáscara, de color blanco y conservando la piloriza. Cuando los granos de maíz fueron pelados con NaOH pero sin remojo, aquellos se presentaron sin cáscara, de color amarillo oscuro tenue, conservando la piloriza pero oscurecida. Mientras que los granos de maíz pelados con NaOH y con remojo, se presentaron sin cáscara, de color amarillo claro y sin piloriza.

El grado de dureza en la textura del snack frito del maíz gigante, en esta primera etapa, fue la siguiente, siguiendo el orden de mayor dureza a menor dureza: maíz gigante pelado con NaOH sin remojo, maíz gigante pelado con NaOH con remojo, maíz gigante pelado con CaOH sin remojo y maíz gigante pelado con CaOH con remojo. Esta diferencia podría deberse a que el maíz gigante pelado con CaOH estuvo sometido a 100°C durante más tiempo (tiempo pelado, 45 min y tiempo cocción, 16 min) que con NaOH (tiempo pelado, 10 min y tiempo cocción, 16 min). El remojo también contribuyó a obtener una muestra más suave, considerando que comienza con una temperatura de 100°C para luego disminuir hasta temperatura ambiente en un lapso de seis horas.

Los rendimientos para diferentes etapas del proceso de elaboración de snacks fritos de maíz, al usar diferentes agentes de pelado con y sin remojo, se muestran en el cuadro 1. Se observa que los rendimientos aumentan después del pelado, remojo y lavado al compararlo con el grano seco inicial, lo cual es esperado debido a la absorción de agua del grano seco que ocurre principalmente durante el pelado y remojo. Sin embargo, los mayores rendimientos se observan para las muestras que fueron peladas con CaOH, independientemente de si hubo remojo o no, en comparación con las que fueron peladas con NaOH. Esto se debería al mayor tiempo en que los granos fueron sometidos a temperaturas de ebullición durante el pelado con CaOH (45 min) en comparación con NaOH (10 min), lo cual produjo mayor absorción de agua en los granos. El remojo en solución de CaOH no produjo absorción de agua adicional, probablemente debido a que el grano ya habría alcanzado su máxima absorción de agua. En cambio, cuando el grano fue pelado con NaOH, el remojo posterior sí causó un incremento adicional del rendimiento, probablemente debido a que el corto tiempo de pelado no permitió que el grano alcanzara su máxima hidratación, entonces durante el remojo posterior continuó hidratándose.

En el cuadro 1 se observa que durante la cocción el rendimiento aumentó aún más, pero esta vez, los granos que fueron sometidos al remojo, sí mostraron un mayor rendimiento en comparación con los que no fueron sometidos a remojo, para ambos agentes de pelado. Esta diferencia se debería a que la nixtamalización (debido al remojo) de los granos de maíz, produciría cambios químicos en el almidón y en la microestructura del grano que facilitaría una mayor absorción del agua<sup>6</sup>.

**Cuadro 1.** Resultados de los rendimientos de los snacks fritos por operación.

Operación	Pelado con CaOH		Pelado con NaOH	
	Sin remojo	Con remojo	Sin remojo	Con remojo
Grano seco	100 %	100 %	100 %	100 %
Pelado y lavado	153 %	153 %	130 %	140 %
Cocción	158 %	168 %	153 %	171 %
Fritura	89 %	88 %	87 %	84 %

En el caso de la operación de la fritura el rendimiento disminuye; esto se debería a la evaporación acelerada de agua que se produce cuando los granos de maíz se ponen en contacto con el aceite caliente. Después de esta evaporación violenta del agua del grano y durante el enfriamiento posterior se genera un vacío en el interior del mismo, lo cual facilita el ingreso del aceite al interior del grano. Sin embargo, la masa de aceite absorbido no compensaría la cantidad de agua perdida<sup>7,8</sup>.

### Desarrollo del sabor nixtamalizado

Para determinar el efecto del tipo de agente alcalino usado para el pelado químico y el efecto del remojo sobre la apariencia y el sabor nixtamalizado del snack de maíz frito, se evaluaron sensorialmente las cuatro muestras de snacks fritos del maíz gigante entre un grupo pequeño de panelistas (13). Se evaluó la apariencia y sabor, siendo de interés principal este último, por lo que se le pidió al grupo de panelistas que evaluaran el desarrollo del sabor nixtamalizado asociándolo con el sabor característico de un snack comercial de hojuelas de maíz nixtamalizada. En el cuadro 2 se reporta la apariencia y sabor del maíz frito de cada una de las cuatro muestras evaluadas.

Los panelistas determinaron que el pelado con NaOH y con remojo por 6 h fue el tratamiento que dio una mejor apariencia (menor oscurecimiento) y desarrolló el sabor a nixtamalización deseado. El efecto negativo sobre la apariencia se debió básicamente por el oscurecimiento del germen y la piloriza durante la fritura, que fue menor cuando se peló con NaOH y se aplicó remojo. Por lo tanto, para la segunda fase de este estudio se usó NaOH al 0,5 % (p/v) por 10 min para el pelado químico, seguido de un periodo de remojo de seis horas.

**Cuadro 2.** Resultados de la evaluación sensorial preliminar del snack frito de maíz gigante.

Tratamiento	Apariencia	Sabor
Pelado con CaOH sin remojo	No muy buena, con el germen completamente oscurecido	Sin sabor nixtamalizado
Pelado con CaOH, con remojo	No muy buena, con el germen oscurecido	Ligero sabor nixtamalizado
Pelado con NaOH, sin remojo	Regular, con el germen ligeramente oscurecido	Sin sabor nixtamalizado
Pelado con NaOH, con remojo	Buena, los granos de color dorado uniforme	Sabor característico nixtamalizado

### **Efecto de tiempo de cocción y contenido de humedad antes de la fritura en la textura de snacks fritos de maíz (segunda fase)**

En esta fase del estudio se evaluaron diferentes tiempos de cocción (0, 8 y 16 min) y de contenido de humedad del maíz antes de la fritura, mediante secado y su efecto en la aceptabilidad del snack frito.

En base a las curvas de secado, determinadas previamente, se estimó los tiempos de secado aproximados necesarios para llegar a los contenidos de humedad objetivos de 50, 45, 40, 30, 20 y 17 % (b.h.). A las 18 muestras sometidas a secado se les determinó su contenido de humedad real (cuadro 3). Se puede observar que estos valores de humedad obtenidos son cercanos a los valores objetivos. También observamos que a mayor tiempo de cocción hay una tendencia a que el contenido de humedad obtenido sea ligeramente mayor para un tiempo de secado dado. Esto podría deberse a que el mayor tiempo de cocción produjo una mayor gelatinización, lo cual a su vez permitió una mayor absorción de humedad del grano, fenómeno que también pudo observarse en la primera etapa de este estudio al evaluarse los rendimientos.

Las 18 muestras de snack frito de maíz gigante obtenidas como resultado de emplear tres tiempos de cocción y seis contenidos de humedad pre-fritura, presentaron las características organolépticas descritas en el cuadro 4. Se puede observar que las 18 muestras obtenidas presentaron un color homogéneo pero diferentes apariencias debido a diferentes grados de hinchamiento de los granos fritos influenciados por los diferentes tiempos de cocción al que fueron sometidos. Los granos cocidos por un mayor tiempo (16 min), mostraron un mayor grado de hinchamiento, mientras que los granos de maíz con tiempo de cocción intermedio (8 min) presentaron un ligero hinchamiento, y por último los granos de maíz que no fueron cocidos (0 min) tuvieron una apariencia plana, es decir, un hinchamiento mínimo. Esto puede deberse a que un mayor tiempo de cocción produce un mayor grado de gelatinización, lo cual a su vez permite un mayor hinchamiento del grano<sup>9,10</sup>. Una observación importante es que los

granos que más hincharon mostraron cavidades internas grandes, en lugar de una estructura interna uniforme formada por varias celdas pequeñas. Una posible explicación podría ser que la cocción creó unos cuantos núcleos (pequeñas cavidades) en la estructura interna del grano no frito. Estos núcleos luego sirvieron de puntos de formación de burbujas de vapor durante la fritura, y que durante el enfriamiento se convirtieron en las grandes celdas observadas.

**Cuadro 3.** Contenido de humedad de maíz antes de fritura, contenido de grasa cruda (b.s.), de los snacks fritos de maíz y tiempo de fritura.

Muestra	Contenido de humedad (%) (b.h.)	% grasa (b.s.)	Tiempo de fritura (s)
C0 H 50 %	51,7 ± 1,6	15,1%	11 ± 1
C8 H 50 %	52,1 ± 0,6	15,3%	13 ± 0
C16 H 50 %	54,4 ± 0,7	15,4 %	13 ± 0
C0 H 45 %	43,9 ± 0,4	14,7 %	9 ± 0,6
C8 H 45 %	46,2 ± 0,3	15,0 %	10 ± 0,6
C16 H 45 %	46,7 ± 1,6	15,0 %	10 ± 0
C0 H 40 %	42,8 ± 1,2	14,2 %	10 ± 0
C8 H 40 %	43,8 ± 0,5	14,2 %	11 ± 0,9
C16 H 40 %	42,0 ± 1,4	14,4 %	11 ± 0,6
C0 H 30 %	33,6 ± 1,7	13,3 %	7 ± 0,6
C8 H 30 %	31,6 ± 0,8	13,4 %	8 ± 0
C16 H 30 %	32,6 ± 0,5	14,0 %	10 ± 0
C0 H 20 %	22,3 ± 1,7	12,3 %	6 ± 1,3
C8 H 20 %	25,9 ± 5,2	12,4 %	9 ± 0,6
C16 H 20 %	26,4 ± 3,1	13,1 %	8 ± 1,7
C0 H 17 %	18,4 ± 0,6	11,8 %	6 ± 0
C8 H 17 %	19,4 ± 1,7	12,0 %	8 ± 0,8
C16 H 17 %	19,3 ± 2,1	12,7 %	8 ± 0,5

C0 = Tiempo de cocción 0 minutos; C8 = Tiempo de cocción 8 minutos; C16 = Tiempo de cocción 16 minutos; H = Contenido de humedad (b.h.)

Una propiedad que tuvo una gran variación, como respuesta al contenido de humedad del grano antes de la fritura, fue la textura, ya que las muestras más húmedas (40, 45, y 50 %) fueron muy duras y crocantes, mientras que las muestras menos húmedas (17 y 20 %) fueron secas y suaves. Una posible explicación es que los granos con alto contenido de humedad al ser calentados rápidamente durante la fritura produjeron una evaporación de agua masiva, creando burbujas que crecieron rápidamente hasta el punto de producir una coalescencia extensiva de burbujas, resultando en la presencia de pequeña cantidad de grandes celdas con paredes gruesas en la estructura interna del producto frito final. Por otra parte, los granos con bajo contenido de humedad produjeron una evaporación más limitada de vapor de agua, y por tanto, burbujas de vapor pequeñas que no causaron mayor coalescencia de burbujas, lo cual condujo a la formación de numerosas celdas pequeñas de paredes delgadas en la estructura interna del producto frito final. Las paredes gruesas de las celdas grandes serían las responsables de la textura dura del grano frito, mientras que las paredes delgadas de las celdas pequeñas serían responsables de la textura suave<sup>11</sup>.

Cabe indicar que el tiempo de cocción tuvo una influencia menor en la textura del maíz frito comparado con el contenido de humedad del grano antes de la fritura.

**Cuadro 4.** Características organolépticas de diferentes muestras del snack frito del maíz gigante, para diferentes tiempos de cocción y humedades antes de la fritura.

Muestra	Color y apariencia	Sabor	Textura
C0 H 50%	Color dorado uniforme, el grano se presenta de forma plana circular.	Característico a nixtamalizado.	Muy duro y crocante. Inaceptable.
C8 H 50%	Color dorado uniforme, el grano se presenta ligeramente hinchado.	Característico a nixtamalizado.	Muy duro y crocante. Inaceptable.
C16 H 50%	Color dorado uniforme, el grano se presenta completamente hinchado.	Característico a nixtamalizado.	Muy duro y crocante. Inaceptable.
C0 H 45%	Color dorado uniforme, el grano se presenta de forma plana circular.	Característico a nixtamalizado.	Muy duro y crocante. Inaceptable.
C8 H 45%	Color dorado uniforme, el grano se presenta ligeramente hinchado.	Característico a nixtamalizado.	Muy duro y crocante. Inaceptable.
C16 H 45%	Color dorado uniforme, el grano se presenta completamente hinchado.	Característico a nixtamalizado.	Duro y crocante. Aceptable.
C0 H 40%	Color dorado uniforme, el grano se presenta de forma plana circular.	Característico a nixtamalizado.	Duro y crocante. Aceptable.
C8 H 40%	Color dorado uniforme, el grano se presenta ligeramente hinchado.	Característico a nixtamalizado.	Duro y crocante. Aceptable.
C16 H 40%	Color dorado uniforme, el grano se presenta completamente hinchado.	Característico a nixtamalizado.	Duro y crocante. Aceptable.
C0 H 30%	Color dorado uniforme, el grano se presenta de forma plana circular.	Característico a nixtamalizado.	Un poco duro y crocante. Aceptable.
C8 H 30%	Color dorado uniforme, el grano se presenta ligeramente hinchado.	Característico a nixtamalizado.	Un poco duro y crocante. Aceptable.
C16 H 30%	Color dorado uniforme, el grano se presenta completamente hinchado.	Característico a nixtamalizado.	Un poco duro y crocante. Aceptable.
C0 H 20%	Color dorado uniforme, el grano se presenta de forma plana circular.	Característico a nixtamalizado.	Seco y un poco suave. Aceptable.
C8 H 20%	Color dorado uniforme, el grano se presenta ligeramente hinchado.	Característico a nixtamalizado.	Seco y un poco suave. Aceptable.
C16 H 20%	Color dorado uniforme, el grano se presenta completamente hinchado.	Característico a nixtamalizado.	Seco y un poco suave. Aceptable.
C0 H 17%	Color dorado uniforme, el grano se presenta de forma plana circular.	Característico a nixtamalizado.	Seco y suave. Aceptable.
C8 H 17%	Color dorado uniforme, el grano se presenta ligeramente hinchado.	Característico a nixtamalizado.	Seco y suave. Aceptable.
C16 H 17%	Color dorado uniforme, el grano se presenta completamente hinchado.	Característico a nixtamalizado.	Seco y suave. Aceptable.

C0 = Tiempo de cocción 0 minutos; C8 = Tiempo de cocción 8 minutos; C16 = Tiempo de cocción 16 minutos; H = Contenido de Humedad (b.h.)

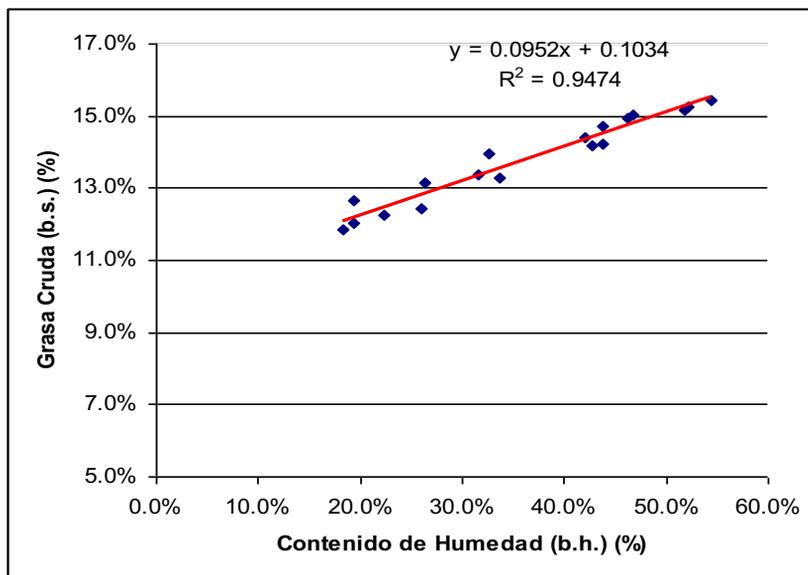
## Análisis del snack frito de maíz gigante

### Contenido de grasa

En el cuadro 3 se muestran los contenidos de grasa después de la fritura y el contenido de humedad antes de la fritura de las 18 muestras sometidas a distintos tiempos de cocción y de secado. Se puede observar que hay una buena correlación entre el contenido de grasa del grano frito y su contenido de humedad previo a la fritura (figura 1), tal como se ha establecido plenamente en estudios anteriores para otras frituras<sup>12</sup>. Es decir, manipulando los parámetros de contenido de humedad del maíz antes de la fritura y el tiempo de cocción, podemos controlar el contenido de grasa final del snack frito de maíz gigante dentro de cierto rango.

El agua contenida en el maíz, al entrar en contacto con el aceite caliente, sale en forma de vapor, permitiendo el ingreso del aceite al espacio dejado por el agua al interior del producto<sup>7,8</sup>. Por ello, las muestras fritas con mayor contenido de aceite correspondieron a aquellas muestras que tuvieron un mayor contenido de humedad antes de la fritura.

El tiempo de fritura parece estuvo influenciado por el contenido de humedad del grano de maíz antes de la fritura, a mayor contenido de humedad, mayor fue el tiempo de fritura requerido (cuadro 3).



**Figura 1.** Correlación entre grasa cruda % (b.s.) del snack frito de maíz gigante y el contenido de humedad % (b.h.) del maíz gigante antes de la fritura.

Durante la fritura, parte del agua del alimento se transforma en vapor y se elimina mediante burbujeo a través del aceite, que disminuye gradualmente a medida que el alimento se cocina en el aceite. Cantidades excesivas de humedad en la superficie del alimento produce un burbujeo violento y también facilita la liberación de los ácidos grasos libres que contribuyen a un deterioro temprano del aceite<sup>13</sup>. Por esta razón, se frieron primero los granos de maíz con menor contenido de humedad y al final los de mayor humedad, de tal manera que la hidrólisis de los triglicéridos del aceite no ocurriera tempranamente durante la fritura.

#### *Análisis sensorial de snacks fritos de maíz*

El análisis sensorial se aplicó a 4 de las 18 muestras. La selección de las cuatro muestras se basó en la obtención de muestras con diferentes contenidos de humedad y con un tiempo de cocción de 16 min. La evaluación sensorial de las muestras seleccionadas fue llevada a cabo por 50 panelistas. En el cuadro 5 se puede observar el puntaje promedio de cada atributo (color y apariencia, sabor y textura), así como el puntaje total promedio de la suma de los tres atributos para cada muestra.

**Cuadro 5.** Puntaje total del promedio de las muestras de snack frito de maíz gigante.

Atributos	Muestras			
	C 16 H 45 %	C 16 H 40 %	C 8 H 30 %	C 16 H 20 %
Color y apariencia	5,64 <sup>a</sup>	6,04 <sup>a</sup>	5,56 <sup>a</sup>	6,10 <sup>a</sup>
Sabor	6,36 <sup>a</sup>	5,84 <sup>a</sup>	6,10 <sup>a</sup>	5,82 <sup>a</sup>
Textura	5,52 <sup>a</sup>	5,68 <sup>ab</sup>	6,64 <sup>b</sup>	6,36 <sup>ab</sup>
Puntaje total	17,56 <sup>a</sup>	17,56 <sup>a</sup>	18,30 <sup>a</sup>	18,28 <sup>a</sup>

C 16 H 45 % = Tiempo de cocción 16 minutos y contenido de humedad de 45 %; C 16 H 40 % = Tiempo de cocción 16 minutos y contenido de humedad de 40 %; C 8 H 30 % = Tiempo de cocción 8 minutos y contenido de humedad de 30 %; C 16 H 20 % = Tiempo de cocción 16 minutos y contenido de humedad de 20 %.

Las comparaciones se realizan en una misma fila, donde letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas.

Los puntajes de color y apariencia, así como sabor, de las cuatro muestras (cuadro 5), no mostraron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ). En cambio las muestras C8H30 % y C16H20 %, sí mostraron diferencias significativas con respecto a C16H45 % y C16H40 %, en cuanto a textura ( $p > 0,05$ ). En este caso se puede ver el efecto del contenido de la humedad antes de la fritura sobre la textura del maíz frito. Las dos primeras muestras, con un contenido de humedad nominal más bajo (20 y 30 %), tuvieron un puntaje significativamente más alto que las dos últimas muestras, con contenido de humedad nominal más alto (40 y 45 %).

De acuerdo a los comentarios de los panelistas, las muestras de snack frito de maíz C16H40 % y C16H45 % tuvieron una textura algo dura, mientras que la muestra C8H30 % tuvo una textura crocante y suave; en tanto, la muestra de C16H20 % exhibió una textura no tan crocante pero suave. Cabe indicar que los contenidos de humedad reales de las muestras C16H45, C16H40, C8H30 y C16H20 fueron 47, 42, 32 y 26 %, respectivamente, según se puede apreciar en el cuadro 3.

En resumen, entre los atributos evaluados sensorialmente de color y apariencia, sabor y textura del snack frito de maíz gigante, sólo los puntajes correspondientes a textura, mostraron diferencias significativas entre las muestras evaluadas, siendo las muestras C8H30 % (tiempo de cocción 8 min y contenido de humedad nominal 30 %) y C16H20 % (tiempo de cocción 16 min y contenido de humedad nominal 20 %) las que obtuvieron los puntajes más altos. Cabe resaltar que estas fueron las muestras con contenido de humedad antes de la fritura reales en el rango 26 – 32 %; valores de humedad mayores dieron como resultados snacks fritos de mayor dureza.

#### *Textura instrumental*

Según los resultados obtenidos en el análisis de textura instrumental, la muestra que presentó mayor fuerza del pico fue C16H45 con 58,8 N/mm, seguido de C16H40 % con 53,5 N/mm, C8H30 % con 42,9 N/mm y por último C16H20 % con 38,0 N/mm. Estos resultados establecen que a mayor contenido de humedad antes de la fritura, mayor es la fuerza del pico para el snack frito de maíz gigante. Además, estos resultados confirman los comentarios de los panelistas de la evaluación sensorial en cuanto a la dureza de los snacks.

## CONCLUSIONES

En conclusión, se determinó que NaOH es más eficiente que CaOH para el pelado químico del maíz, y cuando se dejaban remojando los granos por 6 h en la solución de pelado de NaOH, se desarrollaba mejor el sabor nixtamalizado, además de obtenerse un color más claro del snack de maíz. Un mayor tiempo de cocción del maíz (0, 8, 16 min) produjo una mayor expansión del snack, y el ajuste de la humedad mediante el secado, previo a la fritura, permitió controlar la textura del snack. Contenidos de humedad del maíz (antes de la fritura) altos, 42 – 47 % (b.h.) producían snacks crocantes pero duros; mientras que contenidos de humedad bajos, menores a 26 % (b.h.), producían snacks suaves y secos. Para obtener snacks de textura crocantes y suaves, se debía ajustar el contenido de humedad a aprox. 32 % (b.h.).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Productores y Mercados del Agro de la Sierra del Perú . Estudio Histórico Cultural sobre el Maíz Blanco Gigante Cusco. [Internet]. Servicio de Gestión del Conocimiento para Latinoamérica y el Caribe; s/f. [Citado el 25 Nov 2017]. Disponible en: [http://www.asocam.org/biblioteca/P0131\\_completo.pdf](http://www.asocam.org/biblioteca/P0131_completo.pdf).
2. American Association of Cereal Chemists (AACC). Approved Methods of the AACC, 9th ed. St. Paul MN: American Association of Cereal Chemists; 1995
3. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Official Methods of Analysis, 15th ed. Washington: Association of Official Analytical Chemist; 1990.
4. Collazos C. La composición de alimentos de mayor consumo en el Perú. 6ta ed. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Nutrición; 1993.
5. FAO. Food Analysis: General techniques, additives, contaminants and composition. FAO Food and Nutrition Paper, Vol. 14/7. Roma (Italia); 1986.
6. Gómez MH, Lee JK, McDonough CM, Waniska RD, Rooney LW. Corn starch changes during tortilla and tortilla chip processing. *Cereal Chem.* 1992; 69(3): 275-279.
7. Bouchon PB, Aguilera JM, Pyle DL. Structure Oil-Absorption Relationships During Deep-Fat Frying. *J Food Sci.* 2003; 68(9): 2711-2716.
8. Moreno MC, Bouchon PB. A Different Perspective to Study the Effect of Freeze, Air, and Osmotic Drying on Oil Absorption during Potato Frying. *J Food Sci.* 2008; 73(3): E122-E128.
9. Case SE, Hamann DD, Schwartz SJ. Effect of starch gelatinization on physical properties of extruded wheat- and corn-based products. *Cereal Chem.* 1992; 69(4): 401-404.
10. Mason WR. Starch use in foods. En *Starch: Chemistry and Technology*, 3ra Ed. BeMiller J, Whistler R. (Eds.). Burlington, MA: Elsevier; 2009.
11. Gao X, Tan J, Shatadal P, Heymann H. Evaluating expanded-food sensory properties by image analysis. *J Texture Studies.* 1999; 30(3): 291-304.
12. Ziaifar AM, Achir N, Courtois F, Trezzani I, Trystam G. Review of mechanisms, conditions, and factors involved in the oil uptake phenomenon during the deep-fat frying process. *Int J Food Sci & Technol.* 2008; 43(8): 1410-1423.
13. Lawson H. Fritura por Inmersión. En *Aceites y Grasas Alimentarios. Tecnología, Utilización y Nutrición.* Zaragoza: Ed. Acribia; 1996.

## INFORMACIONES

### CONGRESO IBEROAMERICANO DE QUÍMICA: 85 AÑOS DE LA SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ Y XXIX CONGRESO PERUANO DE QUÍMICA

La Sociedad Química del Perú (SQP) organiza el Congreso Iberoamericano de Química y XXIX Congreso Peruano de Química con motivo del 85 aniversario de su creación, los que se realizarán del 16 al 19 de octubre del 2018 en la ciudad de Lima, Perú.

Conferencistas de diferentes países que a la fecha han confirmado su participación:

1. Benzo Moreira, Fabián: Universidad de la República, Uruguay
2. Cárdenas Jirón, Gloria: Universidad de Santiago de Chile, Chile
3. Cea Olivares, Raymundo: Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), México
4. Cechinel Filho, Valdir: Universidad de Itajai (UNIVALI), SC, Brasil
5. Chamorro, Eduardo: Universidad Andrés Bello, Santiago de Chile, Chile
6. Chifa, Carlos: Universidad Nacional del Chaco Austral-UNCAus, Argentina
7. García Martínez, Javier: Universidad de Alicante, Alicante, España
8. Giménez Turba, Alberto: Universidad San Andrés, La Paz, Bolivia
9. Fratila, Raluca : Instituto de Ciencia de Materiales de Aragón, España
10. Leidinger Ayllón, Walter: Laboratorios Bayer, Alemania
11. Morallón Nuñez, Emilia: Universidad de Alicante – España
12. Navarro Acosta, Maribel: Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais – Brasil
13. Rivas Quiroz, Bernabé: Universidad de Concepción, Concepción, Chile
14. Ruiz Pérez, Catalina: Universidad de La Laguna, Tenerife, España
15. Sauvain, Michael: Instituto de Investigación para el Desarrollo, Francia- Universidad Peruana Cayetano Heredia, Perú (IRD-UPCH)
16. Tiznado Vásquez, William: Universidad Andrés Bello, Santiago de Chile, Chile
17. Valdez Gauthier, Carmen: Florida Southern College, Estados Unidos.
18. Visbal Silva, Gonzalo: Instituto Nacional de Metrología INMETRO, R.J. – Brasil
19. Wolfender, Jean Luc: Universidad de Geneva, Suiza

### SECCIONES TEMÁTICAS

Educación, Historia y Filosofía de la Química, Química como Ciencia Básica, Química para la Vida, Química Verde, Química de los Productos Naturales, Química de los Materiales, Química Ambiental, Ingeniería Química.

### ACTIVIDADES A DESARROLLAR

Conferencias Plenarias, Conferencias Temáticas, Simposios, Mesas Redondas, Cursos, Posters, Charlas Técnicas, QUIMITEC, Concurso La Química y Yo, Festival de Química.

## FECHAS IMPORTANTES

FECHAS IMPORTANTES	
1 de diciembre de 2017 al 31 de mayo 2018	Recepción de los resúmenes de investigación
1 al 15 de junio 2018	Comunicación a los autores sobre la aceptación del resumen enviado
30 de junio 2018	Límite para la inscripción de los autores de los trabajos aceptados

## INVERSIÓN

Para Residentes

1- INSCRIPCIONES (Soles)	Hasta el 30 de Junio	Después del 30 de Junio
Profesionales	420.00	500.00
Socios SQP, *Docentes Universitarios, *Est. Posgrado	320.00	380.00
*Estudiantes Pre-grado	200.00	250.00

\*Deben acreditar su condición

## TARIFAS CORPORATIVAS

- Estudiantes de Pregrado: 10% de descuento sobre el total de la inscripción de 10 alumnos de la misma institución
- Socios, Docentes Universitarios, Estudiantes de Posgrado: 10% de descuento a partir de cinco o más participantes de la misma institución.
- Profesionales: 10% de descuento a partir de cinco o más participantes de la misma institución.

Para No Residentes

2- INSCRIPCIONES (Dólares)	Hasta el 30 de junio	Después del 30 de junio
Profesionales	200.00	250.00
*Socios de Sociedades Químicas de Países Iberoamericanos	150.00	180.00
*Estudiantes Posgrado	150.00	180.00
*Estudiantes Pre-grado	100.00	140.00
Acompañantes	100.00	

\*Deben acreditar su condición. Se aplican las tarifas corporativas señaladas en parte superior.

**Nota:** Estamos gestionando algunas becas de inscripción para estudiantes que presenten trabajos de investigación. De ser positiva la gestión se estará difundiendo por este medio o en la web de la SQP.

Las inscripciones se iniciarán el 02 de enero 2018

### **INFORMES**

Sociedad Química del Perú

Secretaría de la Institución

Lunes a viernes de 10:00 a 13:00 y de 15:30 a 18:30 horas,

Av. Nicolás de Araníbar 696, Santa Beatriz, Lima 01

Teléfono 472 3925, e-mail: [sqperu@gmail.com](mailto:sqperu@gmail.com)

Mayor información en nuestra página web: [www.sqperu.org.pe](http://www.sqperu.org.pe)

### **† OBITUARIO**

Ponemos en conocimiento, el sensible fallecimiento de nuestra socia Ing. Quím. MARINA VICTORIA SILVA MEZA DE LOAYZA quien partió a los brazos del Señor el 23 de Marzo del 2018.

Nuestras más sentidas condolencias para toda su familia y elevamos nuestras oraciones por su descanso eterno.



**CONGRESO IBEROAMERICANO DE QUÍMICA  
XXIX CONGRESO PERUANO  
LIMA - PERÚ  
Del 16 al 19 de Octubre 2018**