

ISSN 1810-634X

REVISTA de la SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ

REVISTA TRIMESTRAL

VOLUMEN 76 Nº 1
ENERO - MARZO 2010



INSTITUCIÓN CIENTÍFICA FUNDADA EN 1933

LIMA , PERÚ

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

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

Comisión de Economía y Finanzas

Presidente: Dr. José Amiel Pérez

Comisión de Publicaciones

Presidente: Dr. Mario Ceroni Galloso

Comisión de Actuaciones Científicas

Presidenta: Dra. Ana María Muñoz Jáuregui

INSTITUCIONES Y EMPRESAS PROTECTORAS DE LA
SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ

CORPORACIÓN INFARMASA S.A.

LABORATORIO DANIEL ALCIDES CARRIÓN S.A.

MERCK PERUANA S.A.

UNIÓN DE CERVECERÍAS PERUANAS BACKUS & JHONSTON S.A.

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA - UNMSM

UNIVERSIDAD NORBERT WIENER

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

DIRECTOR:
Mario Ceroni Galloso

EDITOR:
Luis Valles Fernández

EDITOR ASOCIADO:
Naldo Balarezo Genstein

Comisión Revisora (árbitros)

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

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

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

Casilla Postal 14-0576 – Lima 14 Perú

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

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

Portal web: www.sqperu.org.pe

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

Vol 76

ENERO - MARZO, 2010

N°1

En el Perú: N° suelto S/.15

Suscripción anual: S/. 60.00

En el extranjero: Suscripción anual: \$50.00

CONTENIDO

(Vol 76 N° 1 - 2010)

-	<i>Editorial</i>	5
Trabajos originales		
-	A study of the complexation of picolinic acid derivatives with Cd ²⁺ , Ni ²⁺ and Zn ²⁺ , by Lothar Beyer, Frank Dietze, María José González and Mamoun Muhammed.	7
-	Evaluación de la purificación de biodiésel en la etapa final de producción, por Mary Flor Césare C., Liliana Castillo, Víctor Beteta A., José Luis Calle M. y Juan José León C.	25
-	Estudio farmacognóstico, actividad antioxidante y toxicidad a dosis límite de <i>Triplaris americana</i> L. (tangarara colorada), por Miguel Ángel Inocente Camones, César Fuertes Ruitón, Bertha Jurado Teixeira, Iris Giovana Mondragón Tarrillo, Eveling del Rosario Taype, Espinoza y Henry Ostos Flor.	34
-	Correlación entre la estructura cristalina y la Tc en un superconductor de óxido de cobre: el caso Ca La Ba Cu ₂ Oy, por J. Feyjoo, A. Bustamante, L. De Los Santos, B.L. Williams, A. Osorio y J. C. González.	43
-	Effects of deposition period on the chemical bath deposited Cu ₄ SnS ₄ thin films, for Anuar Kassim, Saravanan Nagalingam, Tan Wee Tee and Ho Soon Min.	54
-	Antocianinas, polifenoles, actividad anti-oxidante de sachapapa morada (<i>Dioscorea trifida</i> L.) y evaluación de lipoperoxidación en suero humano, por Fernando Ramos – Escudero, Ana María Muñoz, Carlos Alvarado-Ortiz Ureta y Jaime A. Yáñez.	61
-	Actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de cuatro plantas medicinales y estimulación de la proliferación de fibroblastos, por Javier Enciso Gutiérrez, José Amiel Pérez, Emilio Guija Poma, Alejandro Fukusaki Yoshizawa, Óscar Reátegui Arévalo, David Amiel Peña, Nathaly Enciso Benavides, Elfer Valdívía, Raquel Rodríguez Bayona y Katia Neira Landa.	73
-	Evaluación de los parámetros de rendimiento del método espectrofotométrico para la determinación de NO ₂ en el medio ambiente, por Heloína Berroa Atencio, Yolanda Condori de Zegarra, Juana Ticona Quea y Kattia Martínez Rivera.	80
-	Estudio teórico de las propiedades estructurales y reactividad para los sistemas cis y trans-2R-butadieno (R=H, OH, NH ₂ y CN), por R. Pumachagua, R. H. Pecho, R. H. Pino, E. O. Nagles y J.J. Hurtado.	92
-	Determinación de fenoles totales, fructanos y pungencia en seis cultivares de ajos (<i>Allium sativum</i> L.) en el Perú, por Fernando Wilson Espinoza Cáceres, Elva María Ríos Ríos y Carlos César A. Elías Peñafiel.	101
-	Pedido de corrección.	110
Historia de la química		
-	Centenario del nacimiento del Maestro Juan de Dios Guevara Romero.	111
Informaciones		
A.	De la Sociedad Química del Perú	
-	Cien años del nacimiento del Dr. Juan de Dios Guevara Romero (01 de marzo de 1910).	115
-	XXV Congreso Peruano de Química.	115
-	Conferencias de los “Jueves Científicos” en la SQP.	117
-	Reconocimiento a la investigación.	117
B.	Otras Informaciones	118

Revista Arbitrada

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

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

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

La publicación de cada trabajo está sujeta al pago siguiente: Cuando todos los autores son socios, S/. 90,00; cuando todos los autores no son socios, S/. 180,00; si entre los autores hay socios y no socios, S/. 135,00; cuando los autores residen en el extranjero, US \$ 100,00. Cuando el número de autores es superior a 3 se pagará, además, US \$ 10 por cada autor en exceso.

Formato para los artículos

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

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

Editorial

¿Investigación básica, aplicada o sólo investigación?

De un tiempo a esta parte es cada vez más frecuente escuchar a funcionarios de la universidad (pública o privada), y de organismos del estado, como CONCYTEC, que sólo se debe financiar la investigación aplicada. Los fondos no alcanzan, dicen, como para invertirlos en investigación básica.

Esta tendencia no parece darse exclusivamente en países poco desarrollados, tal como se puede deducir del artículo “Funding complexity” de Bruce C. Gibbs, en *Nature Chemistry* vol 1, octubre 2009, p. 513-514, también se estaría dando en otros más desarrollados.

Es curioso que la llamada investigación básica tenga varias expresiones en inglés: basic research, curiosity-driven research, blue-skies reseach, curiosity - lead research. En español la llamamos investigación básica o investigación pura. Asimismo, la investigación aplicada recibe las denominaciones: applied science research, research designed to answer specific questions, solution-driven research y goal-driven research.

También muchos científicos piensan que esta discusión sobre si hacer investigación básica o investigación aplicada, carece de sentido, y que más bien habría que preguntarse por qué y para qué se hace investigación; es sólo por curiosidad humana o porque se requiere resolver un problema concreto? De hecho, es frecuente que una investigación básica logre el objetivo de una aplicada -a veces en forma inmediata- ; en otros muchos casos, sólo es cuestión de tiempo.

El recuerdo de dichos y hechos de algunos grandes científicos puede ser muy ilustrativo: J.J. Thomson, físico inglés, descubridor del electrón, decía: “Por investigación en ciencia pura yo entiendo una investigación hecha sin ninguna idea de su aplicación industrial, pero sí con la visión de extender nuestro conocimiento de las leyes naturales. Él mismo nos recuerda el caso de los rayos X: -no fue el resultado de una investigación científica ni aplicada, se produjo al azar-. Sin embargo, llegó a aplicarse en medicina, al poco tiempo.

El complejo de platino cis $[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$, fue sintetizado por M. Peyrone en 1844; en 1893 fue caracterizado por Alfred Wegner. En los años 60 pasados, durante un experimento que buscaba medir el efecto de la corriente eléctrica sobre los E-coli, usando electrodos de platino, se observó que producía células unas 300 veces más grandes que las normales. Se encontró, poco más tarde, que la sustancia que prevenía la división celular era el compuesto cis-platino, sintetizado por Peyrone. Se hicieron estudios clínicos en 1971, y en 1978 se aprobó su uso como medicamento en el tratamiento de algunos tipos de cáncer.

Imaginémonos a Peyrone, en esos tiempos, buscando financiamiento para su proyecto. (Él tiene la curiosidad de saber qué sucede al mezclar el cloruro de platino con amoníaco). Está llenando la ficha que le entregan para financiar su proyecto y llega al punto donde le piden las aplicaciones de su investigación. No me imagino a nuestro investigador escribiendo: “uso como medicamento para curar el cáncer”.

Como se ve, la frontera entre investigación básica y la aplicada suele ser bastante difusa. Una frase de Richard Feynman nos ilustra en este punto: “La física es como el sexo: seguro que da alguna compensación práctica, pero no es por eso por lo que la hacemos”.

Por otro lado, la investigación aplicada nos puede conducir a conocimientos científicos básicos importantes. Por los años 50 hubo la necesidad de encontrar combustibles altamente energéticos para cohetes. Tanto los Estados Unidos como la URSS invirtieron muchos millones de dólares en el estudio de los boranos, como posible combustible. Después de muchas investigaciones se llegó a la conclusión que estos compuestos, si bien tienen un alto valor energético, eran muy inestables, además de muy costosos. A pesar de este fracaso práctico, las investigaciones dieron lugar al descubrimiento de nuevos aniones borano y al desarrollo de toda una química de los carboranos. La aplicación de los carboranos es muy grande; pueden usarse como ligandos, catalizadores, en materiales cerámicos y medicamentos contra el cáncer.

El fracaso de una investigación práctica llevó al desarrollo de una serie importante de investigaciones básicas; y éstas, a su vez, dieron lugar a todo un grupo de compuestos con aplicaciones prácticas importantes.

Volviendo al principio de estas líneas podríamos preguntar a nuestros funcionarios que cuestionan la investigación básica por falta de fondos: ¿Es el Perú un país tan pobre como para darse el lujo de no financiar la investigación básica?

El problema no está en financiar una u otra investigación. Ambas son necesarias. Su efecto es sinérgico.

Dr. Mario Ceroni Galloso
Director

A STUDY ON THE COMPLEXATION OF PICOLINIC ACID DERIVATIVES WITH Cd^{2+} , Ni^{2+} AND Zn^{2+}

Lothar Beyer^{1*}, Frank Dietze¹, María José González² and Mamoun Muhammed²

Dedicated to the Memory of Prof. Dr. Juan de Dios Guevara, great peruvian chemist, in occasion of his 100 birthday on 1 march 2010

ABSTRACT

In the present study we report the complexation of picolinic acid and two of its derivatives, 4-(3-heptyl)pyridine-2-carboxylic acid (43HP2CA) and 6-(3-pentyl)pyridine-2-carboxylic acid (63PP2CA) with Ni^{2+} , Zn^{2+} and Cd^{2+} . The acid dissociation of the three ligands and complex formation constants with these metal ions were determined by potentiometry in dioxane/water 75% (v/v) as solvent at 25°C. The complexation of either ligands with the metal ions studied follows the order $\text{Ni}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Cd}^{2+}$.

The acid dissociation constants of 43HP2CA measured potentiometrically in various dioxane/water mixtures with a composition in the range of 85-15% (v/v), show that the pK_a value increases with the increase of the concentration of dioxane in the medium. The stability constants of 4-(3-heptyl)pyridine-2-carboxylic acid with Zn^{2+} and Cd^{2+} were estimated in water solutions at different temperatures and it was found that the processes were exothermic in both cases.

Key words: extraction of cadmium, nickel and zinc; picolinic acids; acid dissociation - and stability constants

RESUMEN

Presentamos, en esta contribución, un informe sobre la formación de complejos del ácido picolínico y dos de sus derivados, 4-(3-heptil)piridina-2-ácido carboxílico (43HP2CA) y 6-(3-pentil)piridina-2-ácido carboxílico (63PP2CA) con Ni^{2+} , Zn^{2+} y Cd^{2+} . Las constantes de acidez de los tres ligandos y las constantes de formación de complejos con los metales mencionados han sido determinados por potenciometría en mezcla dioxano/agua 75% (v/v) como solvente a temperatura 25°C. La formación de complejos de cada uno de los ligandos con los metales sigue la serie $\text{Ni}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Cd}^{2+}$.

La constante de acidez de 43HP2CA ha sido medida por potenciometría en varias mezclas de dioxano/agua en un rango de 85-15% (v/v). Estas medidas confirman que los valores pK_a se aumentan con el aumento de la concentración del dioxano en el sistema. Las constantes de la estabilidad del ácido 4-(3-heptil)piridina 2-carboxílico con Zn^{2+} and Cd^{2+} han sido valoradas en solución acuosa a temperaturas diferentes. Hemos encontrado que los procesos son exotérmicos en los dos casos.

¹ Universität Leipzig, Institut für Anorganische Chemie, Johannisallee 29, D-04103 Leipzig/Germany;

² Materials Chemistry Division, Department of Materials Science and Technology, Royal Institute of Technology, S-10044 Stockholm/Sweden

* Correspondencia al autor responsable: Prof. Dr. Dr. h. c. Lothar Beyer, Universität Leipzig, Institut für Anorganische Chemie, Johannisallee 29, D-04103 Leipzig/Alemania. Fax: +49-341-36199; e-mail: beyinorg@chemie.uni-leipzig.de

Palabras clave: extracción de cadmio, níquel y zinc ; ácidos picolínicos ; constantes de acidez y estabilidad de complejos

INTRODUCTION

Development of chelating agents for liquid-liquid extraction of metal ions has received great interest, in particular for their application in the recovery and the recycling of base metals in solution with low pH.

Picolinic acid, pyridine-2-carboxylic acid, forms stable complexes with base metal Ni^{2+} , Zn^{2+} , and Cd^{2+} .^{1,2} This compound is water-soluble and it cannot be used as an extraction reagent. The introduction of a lipophilic group renders the reagent to be water insoluble, hence becomes suitable for liquid-liquid extraction. Several lipophilic groups, nucleophile, and electrophile³⁻⁵ can be introduced at different positions, affecting, but not drastically altering, the interaction of the functional group and the metal ions. However, the position of the substituted lipophilic group on the pyridine nucleus is important for the ability of the reagent to react with metal ions as it may limit the formation of the chelating ring. The electronic nature of the substituent may also be important due to the electron withdrawing which reduces the electron donor capacity of nitrogen atom.

The study of the complexation of these ligands with different metal ions enables us to predict the extraction characteristics. The use of dioxane-water mixtures makes possible to study the water-insoluble derivatives of picolinic acid equilibria in one phase. The advantage of using dioxane is that it is miscible with water through the entire composition range and there are thermodynamic data available (e. g. dielectric constants, ionization products)⁶⁻⁸ for mixtures with different composition. The formation constants of the complexes between transition metals and similar reagents to these studied here; 4-chloro and 4-amino picolinic acid N-oxide have been studied in aquo organic media; it has been observed that the stability of these complexes increases compared to aqueous system for all the mixed aqueous system studied, dioxane-water, acetone-water, isopropanol-water, and ethanol-water⁶. The stability of complexes containing either O-H or O-M bonds increases with increasing organic content of the solvent⁷ due to the decrease in the dielectric constant of the bulk solvent. In studies of the protonation and complexation of ligands with metal ions as acetyl acetone⁸, N-benzoyl N-phenyl hydroxylamine⁹, and other ligands containing O and N as donors^{10,11} it has been also observed an increase on the complex stability with the increase of the organic concentration in the organic-aqueous mixtures. As the dielectric constant decreases, the ion-ion interaction involving protons or metal-ion and the anionic oxygen donor of the ligand increases to a greater extent than the ion-dipole interaction between the cations and the solvent molecules. However, there is apparently no simple relationship between the stability of complexes containing N-M bonds and solvent composition. The effect of solvent composition on the stability of chelates containing O-M-N bonds might be an indication of the relative importance of these bonds.

The objective of the present work is to study the equilibria between picolinic acid and two of its derivatives (figure 1) with three divalent metal ions, Ni^{2+} , Zn^{2+} , and Cd^{2+} in water-dioxane mixtures at 25°C. Firstly, we determined the dissociation constant of the picolinic acid and their derivatives as well as their complexation with the metal ions in these media. Secondly, we characterized one of the ligands in different dioxane-water mixtures and propose a model to extrapolate thermodynamic data from organic-water mixtures into pure water solutions or pure organic solutions. This information is useful for making use of the reagents in liquid-liquid distribution studies, which is important for the extraction of metals from different aqueous solutions.

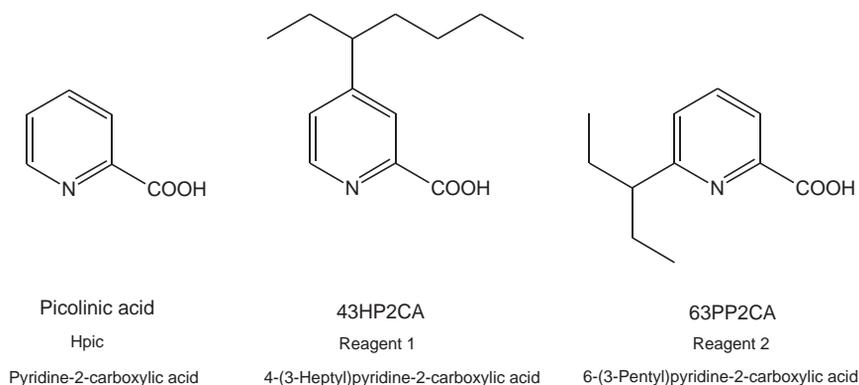


Figure 1. Chemical structure of picolinic acid derivatives.
 Reagent 1: 4-(3-heptyl)pyridine-2-carboxylic acid (43HP2CA)
 Reagent 2: 6-(3-pentyl)pyridine-2-carboxylic acid (63PP2CA).

EXPERIMENTAL

Materials and reagents

Picolinic acid (figure 1) supplied by SIGMA chemicals was purified by recrystallization and used for the preparation of solutions for the potentiometric studies. Two derivatives of picolinic acid were synthesized according to the method and scheme reported in references¹², (also see References) and briefly described below.

Reagent 1, 4-(3-heptyl)pyridine-2-carboxylic acid, 43HP2CA, and reagent 2, 6-(3-pentyl)pyridine-2-carboxylic acid, 63PP2CA.

Reagent 1, c/o in figure 1, were prepared by dissolving $2.88 \cdot 10^{-2}$ mol of $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ (p.a. MERCK) in 40 ml of water and adding this solution to a mixture of $1.92 \cdot 10^{-2}$ mol of 2-cyanopyridine (SIGMA chemicals), $9.65 \cdot 10^{-2}$ mol of 2-ethylhexanoic acid (p.a. MERCK), $1.92 \cdot 10^{-3}$ mol of AgNO_3 (LABASCO, Sweden), and 58 ml of H_2SO_4 1 M (p.a. MERCK) at 70°C . The yield of this first step was 3.56 g of crude product, which was chromatographed by silica gel column with CH_2Cl_2 (p.a. MERCK) as the mobile phase. Two different products were obtained; 2-cyano-6-(3-heptyl)pyridine, and 2-cyano-4-(3-heptyl)pyridine. An aliquot of $9.32 \cdot 10^{-3}$ mol of 2-cyano-4-(3-heptyl)pyridine was reacted with $9.32 \cdot 10^{-2}$ mol of KOH (MERCK) in ethylene glycol at 130°C .

Reagent 2, figure 1, was obtained in the way described above but by using 2-ethylbutyric acid instead of 2-ethylhexanoic acid. The second part of the reaction was initiated with 2-cyano-6-(3-pentyl)pyridine. The products obtained were characterized by elemental analysis, NMR spectroscopy (GEMINI-200BB "G-2000") and IR-FT (Perkin Elmer 200).

$[(\text{CH}_3)_4\text{N}]\text{NO}_3$, (p.a. FLUKA) was recrystallized before use. HNO_3 (65% p.a. MERCK) was used as supplied to prepare 0.1 M solutions, standardized with KHCO_3 (p.a. MERCK) which was recrystallized before use. KOH (p.a. MERCK) 0.02 M solutions were used as titrating solution in the potentiometric studies.

Metal salts $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ and $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ (p.a. MERCK), were purified by recrystallization and used to prepare stock solutions of the metal ions to be studied.

1,4-dioxane (p.a. MERCK) was used without purification and mixed with distilled water to prepare the different mixtures. The composition of the dioxane-water mixtures used were in the range of 15-85% v/v.

Methodology

The potentiometric titration technique was used in one phase. The $[H^+]$ in the solution was measured using a glass electrode (METROHM 6.0101.000) and a reference electrode Ag/AgCl (METROHM 6.0726.100). The reference electrode contained two different solutions. The inner solution was a Ag/AgCl saturated solution with NaCl 10 mmol and ionic strength equal to 0.1 M. The outer solution of the reference electrode was $[(CH_3)_4N]NO_3$ 0.1 M. In both cases, a mixture of dioxane-water (15-85%) was used as a solvent. The potential, E , of the cell were measured with a precision 0.02 mV through a computer controlled system connected to a switch/control unit (HEWLETT PACKARD 3488 A) and a digital voltmeter (HEWLETT PACKARD 3456 A) The solution was added by an automatic burette (METROHM 715 Dosimat) controlled with the computer system. After the addition of the reagent, E_n became constant within 20-30 min and remained constant within 0.05 mV for a least 12 h. The emf measurements were carried out in an air thermostatic box kept at $25.00 \pm 0.05^\circ C$. The ionic strength in the solvent was kept constant at 0.1 M using tetramethylammonium nitrate as an inert electrolyte. In this way, the activity coefficients of the different reacting species are kept constant¹³.

The dissociation reaction of an acid HL in solutions is given by equation (1)



And the dissociation constant is given by K_a . The study was carried out by varying the total concentration of H_{tot} by the addition of HNO_3 in tetramethylammoniumnitrate. The concentration of free hydrogen ions, h or $[H^+]$, was measured potentiometrically. The values of the total concentration of the reagent that was kept constant, L_{tot} , and the total amount of proton, H_{tot} , were analytically determined. The mass balance expressions are given by equation (2)

$$L_{tot} = [L^-] + [HL] \quad (2)$$

$$H_{tot} + [OH^-] = [H^+] + [HL] \quad (3)$$

The formation function, Z , i.g. the fraction of reagent bound to the proton, and is expressed by equation (4)

$$Z = \frac{[HL]}{L_{tot}} = \quad (4a)$$

$$= \frac{H_{tot} - [OH^-] - [H^+]}{L_{tot}} = \quad (4b)$$

$$= \frac{K_a^{-1} [H^+]}{K_a^{-1} [H^+] + 1} \quad (4c)$$

This relationship indicates that Z is a function only of the concentration of the free hydrogen ions. The complex formation reactions of the reagents with the metal ions in solution can be expressed by the following general equation (5)



As the study was carried out at low metal concentration range (the low concentration should be given in figures), it is reasonable to assume that $p = 1$ i.e. the complexes formed are mononuclear with respect to the metal, while $q = (1, 2, \dots, n)$. And the overall constants are thus given by equation (6)

$$\beta_q = \frac{[\text{MeL}_q^{2-q}]}{[\text{Me}^{2+}] [\text{L}^-]^q} \quad (6)$$

Where the activity coefficient terms, γ , are included in the β_q , being conditional equilibrium constants. The amount of ligand bounded to metal ion in solution, Z , is expressed by equation (7)

$$Z = \frac{L_T - [\text{HL}] - [\text{L}^-]}{MT} \quad (7a)$$

$$Z = \frac{H_2 \sum_{q=1}^n q \beta_q [\text{L}^-]^q}{H_2 \sum_{q=0}^n \beta_q [\text{L}^-]^q} \quad (7b)$$

In this case, Z depends on the concentration of free ligand, which is measured experimentally. Back-titrations were performed to test the reversibility of the reactions. The agreement of the data within the limit of the experimental error on both titrations indicated the reversibility of the reactions and that the equilibrium was reached.

RESULTS AND DISCUSSION

Determination of the acid dissociation constant, pK_a

The pK_a values of picolinic acid and the two reagents, 43HP2CA, and 63PP2CA were determined in a dioxane/water mixture 75% (v/v). The ionization constant for water reported by Uhlig et al¹⁴ is $pK_w = 16.74$.

Emf titrations were performed by varying H_{tot} and L_{tot} for each reagent, the concentration range was 1.5 – 3.3 mM. A generous set of H_{tot} , L_{tot} and $[H^+]$ or h data, were generated and processed. The data were treated using graphical and numerical methods.

Graphical treatment of the data

The experimental data expressed as Z_{exp} is easily using equation (4b), which has been transformed to equation (8) to calculate, graphically, the dissociation constant

$$\frac{Z_{\text{exp}}}{1 - Z_{\text{exp}}} = K_a^{-1} [H^+] \quad (8)$$

Equation (8) gives a linear relationship between $Z/1-Z$ as a function of $[H^+]$ with a slope equal to K_a^{-1} . The experimental data were fitted using linear regression, figure 2, showing the straight line that is the fit of the equation to the experimental points and pK_a values of 6.27 for picolinic acid, 6.62 for 43HP2CA, and 6.40 for 63PP2CA, were obtained.

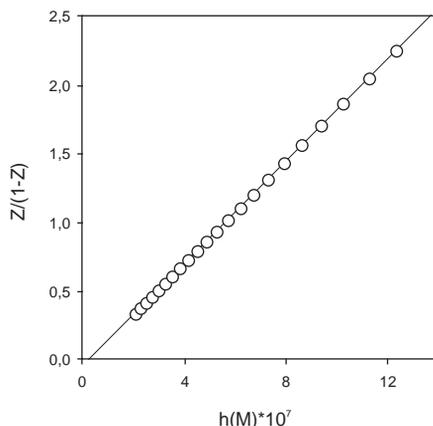


Figure 2. A plot for the experimental data given as $Z/(1-Z)$ versus the concentration of H^+ in solution. The straight line is obtained by fit measured linear regression.

Numerical analysis of the data

The general minimizing LETAGROP program^{15,16} was used for determining the “best” values of the equilibrium constants for complex formation from potentiometric titrations data. LETAGROP solves the set of mass balance equations for each component, as given by the equations (9) and (10)

$$A_{\text{tot}} = H_{\text{tot}} = h + \sum p \beta_{pq} h^p b^q \quad (9)$$

$$B_{\text{tot}} = B = b + \sum q \beta_{pq} h^p b^q \quad (10)$$

Where A and B are the analytical (total) concentrations of proton and ligand, respectively. The program determines the values of h and b, by solving the mass balance equations at a given set of conditions. The program varies the values of β_{pq} in order to minimize the error square-sum function U, defined by equation (11)

$$U = \sum_{i=1}^N (Z_{\text{calc}} - Z_{\text{exp}})^2 \quad (11)$$

where Z_{calc} is obtained using σ_{pq} in equation (4c).
And Y, is defined by equation (12)

$$\sigma Y = (U/N)^{1/2} \quad (12)$$

The best fit of the experimental data is that which gives the lowest values of U and Y. We first determined the mono-protonation of the three reagents, picolinic acid, 43HP2CA, and 63PP2CA. The pK_a values obtained are given in table 1. These values are in excellent agreement with the pK_a calculated with the graphical method (1).

Table 1

PK_a values of picolinic acid and its derivatives in dioxane/water 75 % at 25°C calculated by graphical method and numerical analysis. The error is given as 3 (= standard deviation)

Ligand	pK_a	
	Graphical Method	Numerical Method
Picolinic acid	6.27 ± 0.06	6.30 ± 0.04
43HP2CA*	6.62 ± 0.06	6.62 ± 0.02
63PP2CA**	6.40 ± 0.02	6.37 ± 0.02

* 4-(3-heptyl)pyridine-2-carboxylic acid ** 6-(3-pentyl)pyridine-2-carboxylic acid

Figure 3 shows the goodness of the fit of Z (pH) the curves using the pK_a determined obtained from the LETAGROP program. The symbols represent the experimental Z values, and the curve represents the Z values calculated by equation (4c) where the dissociation constant value $pK_a = 6.27$ for picolinic acid was used. Similar procedures were applied for the other two reagents. The fact that the Z curves for different concentrations of free reagent fall on the same line indicates that only mononuclear species with respect to the reagent are formed, which validate the earlier assumption made.

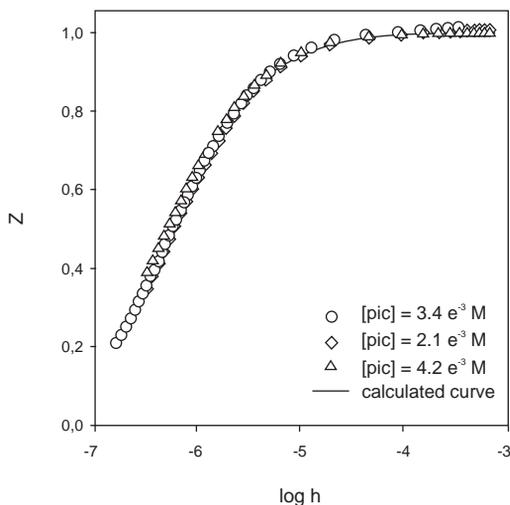


Figure 3. The formation function Z is plotted against the logarithm of the free hydrogen concentration. The symbols \hat{i} , \diamond , and \triangle represent the experimental data for different concentration of picolinic acid, while the line shows the calculated Z values using equation (8).

From the results, it is found that the acidity of the ligands decreases with the length of the hydrocarbon chain, with the picolinic acid being the most acidic followed by reagent 2, with 5-C in the alkyl chain and the most basic is reagent 1, with 7-C in the alkyl chain. It seems that the position of the alkyl chain does not affect the protonation of the ligands as can be expected for bigger ions.

Complexation of picolinic acid derivatives with Ni^{2+} , Zn^{2+} , and Cd^{2+}

We have also studied the complex formation of picolinic acid, 43HP2CA, and 63PP2CA with Ni^{2+} , Zn^{2+} , and Cd^{2+} . The studies were carried out in dioxane/water mixtures 75% (v/v) as a solvent. The experiments were carried out using different ligand to metal molar ratio L_T/M_T in the range 2.5 to 15. Under these conditions, the formation of polynuclear species with respect to metal could be neglected. The stability constants for the different species have been determined by graphical and numerical methods.

A set of data was generated by varying M_{tot} , H_{tot} , and L_{tot} for each constant reagent concentration. The working range of reagent and metal concentration was 1.5 – 3.3 mM and 0.2 – 0.6 mM respectively. An abundant set of data were collected and processed to determine the value of the stability constants.

Graphical treatment of the data

The experimental data expressed as Z_{exp} are obtained using equation (7a). The data was used to graphically calculate the complex formation constant using the equation (13), which is obtained from equation (7b) assuming the formation of two species

$$\frac{Z_{\text{exp}}}{(1 - Z_{\text{exp}}) [\text{L}]} = \beta_1 + \beta_2 \frac{(2 - Z_{\text{exp}})}{(1 - Z_{\text{exp}})} [\text{L}] \quad (13)$$

Equation (13) shows a linear relationship of $Z/(1-Z)[\text{L}]$ as function of $[\text{L}]$ with the slope equal to β_2 and the intercept equal to β_1 . Figure 4 shows that a straight line that is fitted to the experimental points for the system Cd-picolinic acid at 25°C. Similar calculations were applied for the other systems studied.

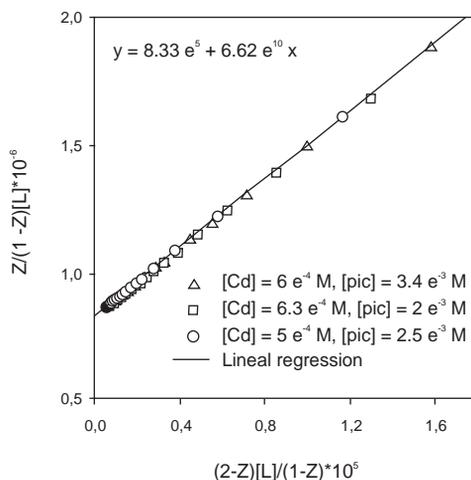


Figure 4. A plot for the experimental data given as $Z/(1-Z)[\text{L}]$ versus $(2-Z)[\text{L}]/(1-Z)$. The straight line is obtained by fit measured linear regression.

Numerical analysis

Using the LETAGROP program we determined the complexation of 43HP2CA, 63PP2CA, and picolinic acid with the metal ions. TABLE 2 gives a summary of the stability constants of the three ligands determined. These values are in good agreement with those obtained graphically. The system Ni-picolinic, and Ni-43HP2CA were also studied but even at low pH (pH 1) the metal was complexed with these reagents and as the method is interpreted from the difference between the analytical and measured hydrogen concentrations the method becomes increasingly insensitive at low pH values.

Table 2. The determined complex formation constants of picolinic acid and its derivatives in dioxane/water 75 % v/v at 25°C

System	Graphical Method		Numerical Method	
	$\log \beta_1$	$\log \beta_2$	$\log \beta_1$	$\log \beta_2$
Ni-63PP2CA	5.98 ± 0.06	12.13 ± 0.05	6.04 ± 0.03	12.16 ± 0.02
Zn-pic ^a	7.20 ± 0.06	12.50 ± 0.04	7.24 ± 0.03	11.46 ± 0.02
Zn-43HP2CA ^b	7.72 ± 0.05	12.66 ± 0.05	7.69 ± 0.04	12.64 ± 0.02
Zn-63PP2CA ^b	5.48 ± 0.06	11.32 ± 0.06	5.53 ± 0.06	11.35 ± 0.02
Cd-pic ^a	5.94 ± 0.05	10.87 ± 0.05	5.92 ± 0.02	10.82 ± 0.03
Cd-43HP2CA ^b	7.20 ± 0.04	12.53 ± 0.04	7.16 ± 0.04	12.54 ± 0.04
Cd-63PP2CA ^c	5.33 ± 0.06	11.35 ± 0.05	5.29 ± 0.05	11.31 ± 0.02

^a Picolinic acid, ^b 4-(3-heptyl)pyridine-2-carboxylic acid, ^c 6-(3-pentyl)pyridine-2-carboxylic acid

Figure 5 shows the goodness of the fit for the curve $Z(\log[\text{pic}])$ using the stability constants obtained by LETAGROP program. All the experimental data falls on the same line, which indicates that there is formation of only mononuclear species with respect to the metal ions Ni^{2+} , Zn^{2+} and Cd^{2+} .

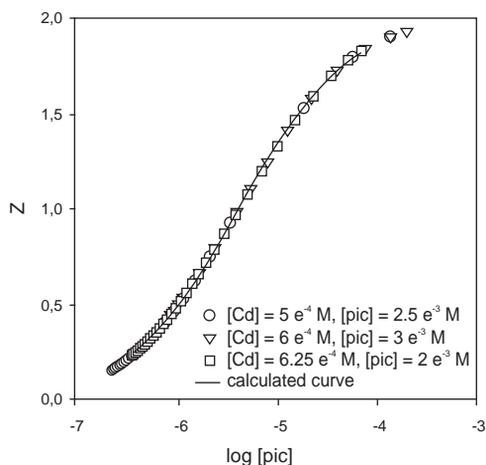


Figure 5. The formation function, Z , is plotted versus the logarithm of the concentration of the free picolinate in solution for the system Cd-picolinic acid.

Determination of the dissociation constants of 43HP2CA in dioxane/water mixtures

The acid dissociation constants of 4-(3-heptyl)pyridine-2-carboxylic acid (43HP2CA) have been measured pH-potentiometrically in dioxane/water mixtures ranging from 85% to 15% (v/v), the ligand is not soluble in mixtures containing dioxane in a concentration below 15% (v/v). The measurements were carried out following similar procedures and the conditions were identical to the ones explained in previous sections (A and B).

The data was treated graphically and numerically with LETAGROP program. The constants obtained are reported in table 3 as well as the values of the pK_w of the different dioxane/water mixtures from reference ¹⁴.

Table 3. pK_w at different dioxane/water mixtures and pK_a of 43HP2CA at different ratio of dioxane/water. The error is given as 3 (=standard deviation)

% Dioxane	pK_w *	pK_a **
0	13.74	
15	14.12	5.71 ± 0.05
25	14.44	5.72 ± 0.04
40	15.00	5.92 ± 0.02
50	15.40	6.13 ± 0.02
60	15.86	6.25 ± 0.02
75	16.74	6.62 ± 0.02
85	18.00	7.13 ± 0.05

* from reference ¹⁴

** determined experimentally at 25°C

The results reveal that the increase of the dioxane concentration in the reaction medium gives lower values of the acid dissociation constant. The dissociation constant in dioxane-water mixtures solvent is influenced by the different solvent characteristics as, the dielectric constant of the medium, and the structure of water and change in hydrogen bonding in water by dioxane ^{9,8}.

From the linear relation between pK_a of 43HP2CA and pK_w it is possible to obtain the value of the dissociation constant of 43HP2CA in 100% water and ionic strength equal to 0.1 M $[(CH_3)_4N]NO_3$. From figure 6, the calculated pK_a of 43HP2CA in 100% water is 5.440.05, which is comparable with the picolinic acid dissociation constant found in literature for $I = 0.1$ M which is 5.21 ^{18,19}.

In this case, the substituted picolinic acid has a higher basic character as was seen in the studies with dioxane/water 75% v/v mixture.

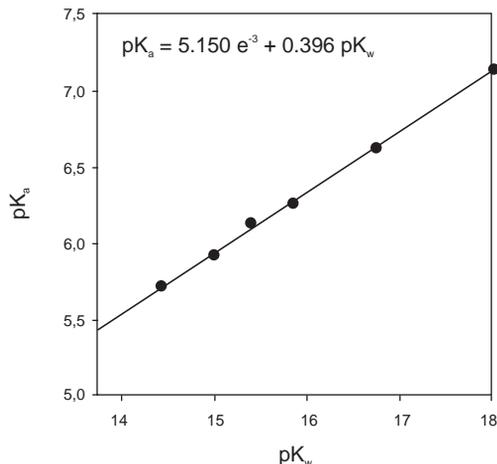


Figure 6. The pK_a of 43HP2CA is plotted versus pK_w of water in dioxane/water mixtures at 25°C.

Another way to determine the dissociation constant in water is from the relationship between the dissociation constant and the concentration of dioxane in water. The results were treated by regression analysis and the following relation is obtained (equation 14):

$$pK_a = 5.46 + 0.14 e^{0.029 (\% \text{Dioxane})} \quad (14)$$

where this pK_a value of 43HP2CA in water which is 5.46, in a good agreement with the value obtained in figure 6, that is 5.44.

For the pK_w of water, we obtained by equation (15)

$$pK_w = 13.71 + 0.41 e^{0.028 (\% \text{Dioxane})} \quad (15)$$

where the ionization product of water determined is 13.71 under the conditions studied, which is in very good agreement with the value reported in literature of 13.74 by Uhlig et al¹⁴.

Estimation of the stability constants of Zn²⁺, and Cd²⁺ with 43HP2CA in water

Water and 1,4-dioxane are miscible in all proportions, and at 25°C, the dielectric constants, D, of pure water and pure dioxane are 78.2 and 2.2, respectively. The dielectric constant for different dioxane/water composition data over the entire composition range of dioxane/water mixtures has been reported by Jahagirdar et al²⁰ and Clemett et al²¹. The data could be fitted to the polynomial equation given by equation (16)

$$D = 78.41 - 93.36 w - 7.80 w^2 + 24.8 w^3 \quad (16)$$

where D is the solution dielectric constant at $25^\circ C$, and w is the weight fraction of 1,4-dioxane in water. The electrostatic energy of an isolated pair of ions, of fixed charges and radii, separated from each other by a distance a in a medium of dielectric constants, D , is given by equation (17)²²

$$u = \frac{e_i^2}{2 D r_i} + \frac{e_j^2}{2 D r_j} + \frac{e_i e_j}{D a} \quad (17)$$

There is a gain in energy, Δu , when the ions are removed to infinity from their closest distance. Δu is given by equation (18)

$$\Delta u = u_{a=\infty} - u_{a=r_i + r_j} = - \frac{e_i e_j}{D (r_i + r_j)} \quad (18)$$

By including an electrostatic component into the expression for the total energy required for ionizing a given molecule, the standard gain in chemical potential attending ionization may thus be written as equation (19)

$$\Delta \mu^0 = \Delta \mu_n^0 - \frac{e_i e_j}{D (r_i + r_j)} \quad (19)$$

where $\Delta \mu_n^0$ represents all non-electrostatics contributions to the standard gain in chemical potential. Since $\Delta A^0 = -kT \ln K$, it follows equation (20):

$$\ln K = \ln K^0 + \frac{e_i e_j}{D (r_i + r_j)} \quad (20)$$

Equation (20) can be rewritten as equation (21)²³

$$K = K^0 \exp \left\{ - \left[\frac{(z q)^2}{(2 \langle b \rangle k T)} \right] \frac{1}{D} \right\} \quad (21)$$

In this expression (21), K^0 is the equilibrium constant in pure solvent, q is the unit electrostatic charge, $4.802 \cdot 10^{-10}$ e.s.u. , b is the mean ionic radius, $k = 1.3803 \cdot 10^{-16}$ erg/deg/K, and T is temperature.

The acid dissociation constant for the reagent, determined at different dioxane/water mixtures, is plotted against the reciprocal of the dielectric constant, as seen in figure 7;

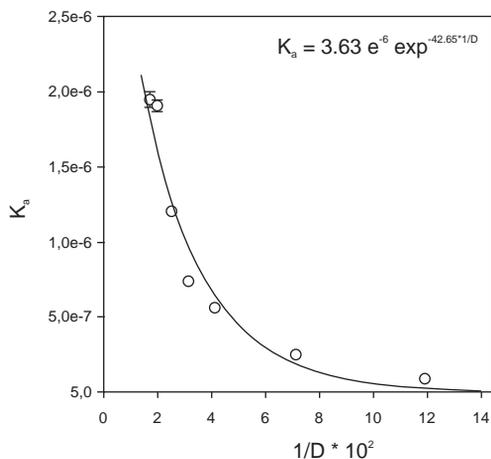


Figure 7. The dependence of pK_a of 43HP2CA on the dielectric constant in dioxane/water mixtures. The curve is calculated using equation (22)

and is fitted by regression analysis to a 2-parameters exponential equation. Equation (22) gives a good fit to the experimental data

$$y = A e^{-B \frac{1}{x}} \quad (22)$$

$$K_a = 3.63 \cdot 10^{-6} e^{-42.65 \frac{1}{D}} \quad (22a)$$

The coefficient A gives the K_a of 43HP2CA in water. The second parameter B can be used for the calculation of the ionic Stokes radii of the studied ligand in water, and a value of $r_{43HP2CA} = 6.32 \text{ \AA}$ is obtained. The value seems to be reasonable as compared with to radii of picolinic acid, $r_{pic} = 3.08 \text{ \AA}$ ²⁴, considering that the picolinic acid derivative studied has a lipophilic chain of seven carbons attached to the picolinic acid ring.

This information makes it possible to calculate the stability constants for the complex formation between Zn^{2+} , Cd^{2+} , and 43HP2CA in 100% water and ionic strength 0.1 M $[(CH_3)_4N]NO_3$. The Stokes radii for the metals are $r_{Zn^{2+}} = r_{Cd^{2+}} = 1.70 \text{ \AA}$ ²⁴, and values of the complex formation are given in table 4 for comparing the value of the complex formation constants of the two metal ions with picolinic acid in water^{18,19} are also given.

Table 4. Estimates of the stability constants of Zn^{2+} and Cd^{2+} with 43HP2CA and picolinic acid in water determined by extrapolation towards dioxane concentration

Metal	43HP2CA		Picolinic acid	
	$\log \beta_1$	$\log \beta_2$	$\log \beta_1$	$\log \beta_2$
Zn^{2+}	5.53	10.23	5.23	9.56
Cd^{2+}	5.00	10.13	4.36	7.99

As seen, the reagent 43HP2CA forms stronger complexes with both Zn and Cd compared to the picolinic acid.

Determination of ΔH^0 for the formation of Zn^{2+} , Cd^{2+} and 43HP2CA complexes

Using equation (21) it is possible to establish a relation between the stability constants obtained potentiometrically and the constants determined by solvent extraction experiments at different temperatures obtained for the study of the extraction of metal ions from aqueous solutions¹².

The complex formation constants of Zn^{2+} , and Cd^{2+} with 43HP2CA in organic solution of Shellsol A (Trade Mark of Shell) were measured. This solvent has a dielectric constant, $D = 2.4$ ²⁵. Table 5 gives a list of the complex formation between the reagent 43HP2CA and the metal ions Cd and Zn at different temperatures determined from the distribution studies in Shellsol A and water calculated using equation (21).

Table 5. Stability constants of 43HP2CA with Zn^{2+} , and Cd^{2+} in water and in Shellsol A at different temperature

T (°C)	Aqueous solution				SHELLSOL A ^(TM)			
	Zn^{2+}		Cd^{2+}		Zn^{2+}		Cd^{2+}	
	log β_1	log β_2	log β_1	log β_2	log β_1	log β_1	log β_1	log β_1
25	5.53	10.23	5.00	10.13	4.38	7.32	2.55	5.27
35	5.19	9.91	4.81	9.53	4.08	7.09	2.44	4.83
55	4.85	9.41	4.33	8.72	3.81	6.77	1.96	4.02
70	4.55	8.75	3.65	7.91	3.55	6.22	1.53	3.69
^a ΔH^0_{calc}	-17	-31.3	-24.8	-40.67	-	-	-	-
^b ΔH^0_{lit}	-16	-33	-	-	-	-	-	-

^a ΔH^0_{calc} (kJ/mol), calculated standard variation of enthalpy.

^b ΔH^0_{lit} (kJ/mol), standard variation enthalpy published (I = 0.1M)

The two ^b ΔH^0_{lit} values of the zinc complex of 43HP2CA in aqueous solution have been taken from the zinc complex of picolinic acid at I = 1.0 M (NIST 46)

It is found that the formation constants for Zn^{2+} and Cd^{2+} with 43HP2CA decrease with the increase of the temperature, which indicates that the complex formation process of the studied ligand with both metal ions, Cd and Zn, is exothermic. The temperature-dependence of a stability constant is obtained from the thermodynamic second-law equation (23)

$$\Delta G_n^0 = \Delta H_n^0 - T \Delta S_n^0 = -R T \ln \beta_n \quad (23)$$

where ΔG_n^0 , ΔH_n^0 and ΔS_n^0 are the standard changes in free energy, enthalpy and entropy accompanying the complex formation equations (6,7) for which β_n is the equilibrium constant. It follows that equation (24),

$$\ln \frac{\beta_{n'}}{\beta_{n''}} = - \frac{\Delta H_n^0}{R} (1/T' - 1/T'') \quad (24)$$

where β_n and $\beta_{n'}$ are the values of the formation constant of the complexes between the reagents and metal ions at temperatures T' and T'' in a range through which the standard variation of enthalpy is constant. As the logarithm of the constants vary linearly with the temperature in all the cases, as seen figure 8, it can be assumed that $\Delta H^0 \beta_n$ is constant in the range of temperature studied.

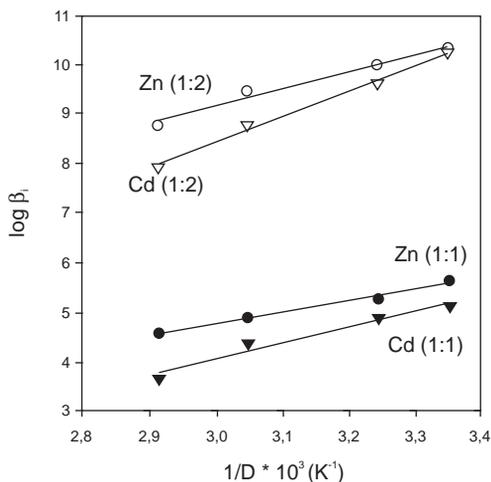


Figure 8. A gradient plot of the logarithm of the formation constant plotted against the reciprocal of the temperature (K⁻¹). ○ Zn(43HP2CA)₂; ▽ Cd(43HP2CA)₂; ● Zn(43HP2CA); ▼ Cd(43HP2CA)

The results are given in table 5, where the determined values are compared with the ones reported in the literature^{18,19}. For the system Zn-43HP2CA, the values of the thermodynamic quantities calculated are very similar with the ones reported by Martell et al^{18,19} for the Zn-picolinic acid. On the other hand, there are no published data for the Cd-picolinic acid and Cd-43HP2CA systems.

CONCLUSIONS

- We reported the preparation of two water-insoluble picolinic acid derivatives by introduction of a lipophilic chain of different lengths and in different positions.
- The acidic character of the ligands decreases with the length of the substituted alkyl chain, and is in the order picolinic acid > 63PP2CA > 43HP2CA.
- Substitution of H by a lipophilic chain seems to affect the complexation of the ligands to metal ions, whereby the ligand 43HP2CA forms stronger complexes than picolinic acid. However the reagent 63PP2CA forms weaker complexes probably due to the position of the hydrocarbon chain causing steric hindrance in the interaction between the metal ion and the N of the pyridine ring. On the other hand, the complexation of either ligands with the metal ions follows the Irving-Williams order.
- The value of pK_a of 43HP2CA increases with the increase of the dioxane concentration, and follows the same trend of the pK_w in the dioxane-water mixture.
- The values of formation constants of different complexes between 43HP2CA with Zn^{2+} and Cd^{2+} in water could be obtained by extrapolation of the experimental data of different dioxane/water mixtures systems. This allows us to estimate the formation constants at different temperatures from the established correlation of the potentiometric and solvent extraction data, obtaining in this way a thermodynamic set of data for the system studied.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank to Prof. C. Moberg (Royal Institute of Technology, Stockholm, Sweden) for helping us with the synthesis of the reagents. M. J. G. thanks the DAAD, Germany, for a grant to work in the Laboratory at the Department of Inorganic Chemistry of the Leipzig University.

REFERENCES

1. Irving, H.; Williams, R. J. P., *J. Chem. Soc.*, **1953**, 2910.
2. Suzuki, K.; Yasuda, M.; Yamasaki, K., *J. Phys. Chem.* **1957**, *61*, 229.
3. Högberg, A. G. S.; Madan, K.; Moberg, C.; Sjöberg, B.; Weber, M.; Muhammed, M., *Polyhedron*, **1985**, *4*, 971.
4. Elman, B.; Högberg, A. G. S.; Weber, M.; Muhammed, M., *Polyhedron* **1985**, *4*, 1197.
5. Elman, B.; Högberg, A. G. S.; Moberg, C.; Muhammed, M., *Polyhedron* **1986**, *5*, 1917.
6. Sarala, S. R.; CH, D.; G. S.; G, R. P. m, *Proc. Indian Acad. Sci.* **1992**, *104*, 15.
7. Irving, H.; Rossotti, H., *Acta Chem. Scand.* **1956**, *10*, 72.
8. Kole, N.; Chaudhury, K. J., *Inorg. Nucl. Chem.* **1981**, *43*, 2471.
9. Chaudhury, A. K.; Kole, N., *J. Indian. Chem. Soc.* **1981**, *58*, 368.
10. Steger, H. F.; Corsini, A., *J. Inorg. Nucl. Chem.* **1973**, *35*, 1637.
11. Rorabacher, D. B.; MacKellar, W. J.; Shu, F. R.; Bonavita, S. M., *Anal. Chem.* **1971**, *43*, 561.
12. González, M. J.; Muhammed, M., Manuscript under preparation.
13. Rossotti, H. One step protonation. In: The study of ionic equilibria; first ed. Longman: London **1978**, 17.
14. Uhlig, E.; Linke, D., *J. prakt. Chem.* **1972**, *314*, 572.
15. Brauner, P.; Sillen, L. G.; Whiteker, R., *Arkiv Kemi* **1969**, *31*, 365.
16. Ingrid, N.; Sillén, L. G., *Arkiv Kemi* **1964**, *23*, 97.
17. Irving, H.; Rossotti, H. S., *J. Chem. Soc.* **1954**, 3192.

18. Martell, A. E.; Smith, R. M., *Critical Stability Constants*, second ed.; Plenum press: New York, **1982**, 5, First supplement.
19. Martell, A. E.; Smith, R. M.; Motekaitis, R. J., *NIST Critically Selected Stability Constants of Metal Complexes; NIST Standard Reference Database 46, Version 4.0 ed.*, College Station, TX: Texas, **1997**.
20. Jahagirdar, D. V.; Lönnberg, H., *Acta Chem. Scand.* **1992**, 46, 399.
21. Clemett, C. J.; Forest, E. Smyth, C. P., *J. Chem. Phys.* **1964**, 40, 2123.
22. Moelwyn-Hughes, E. A., The ionic State. In: *Physical Chemistry*; Pergamon Press: London, **1957**, 813.
23. Bjerrum, N.; Larsson, E. Z., *Z. phys. Chem.* **1927**, 358.
24. Moelwyn-Hughes, E. A. The ionic State, In: *Physical Chemistry*; Pergamon Press: London, **1957**, 832.
25. Europe, S. C.; Shellsol A., Safety Data Sheet.

EVALUACIÓN DE LA PURIFICACIÓN DE BIODIÉSEL EN LA ETAPA FINAL DE PRODUCCIÓN

Mary Flor Césare C., Liliana Castillo¹, Víctor Beteta A.¹, José Luis Calle M.¹,
Juan José León C.²

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se ha evaluado la purificación del biodiésel en la etapa final de su producción. El biodiésel fue elaborado a partir de los aceites de soya (cruda y RBD) y de palma (cruda y RBD), cuyos índices de acidez se determinó antes del procesamiento. En la producción de biodiésel (trans-esterificación), además de los productos principales (los nuevos ésteres metílicos), también se obtienen algunos compuestos indeseables (jabones, glicerol, etc.) que deben ser eliminados por lavado, ya que su presencia es perjudicial para los motores y para el medio ambiente. El proceso tradicional de lavado y posterior secado se ha modificado variando la temperatura de lavado y, en vez de hacerlo con agua fría, se hizo con agua a 90° C. La calidad de los combustibles obtenidos (con las diferentes materias primas y tipos de lavado) fue evaluada a través del índice de acidez y los contenidos de: glicerol (libre y total), jabones (métodos AOCS). Se determinó que el lavado con agua caliente es más eficiente que el tradicional lavado con agua fría, por los bajos valores de: índice de acidez, contenido de jabones y de glicerol. Con el lavado con agua caliente, los biocombustibles obtenidos a partir del aceite de soya (cruda y RBD) cumplen con todas las exigencias de la Norma Técnica Peruana del Biodiésel B100 NTP 321.125.2007 y las normas internacionales como la ASTM y la norma Europea NE, pero los obtenidos a partir de aceite de palma (cruda y RBD) exceden ligeramente el porcentaje de glicerol total establecido en las normas técnicas indicadas.

Palabras clave: Energía, energías renovables, biocombustibles, biodiésel, medio ambiente.

BIODIESEL PURIFICATION ASSESSMENT AT ITS FINAL PRODUCTION STAGE

ABSTRACT

In this research, an alternate biodiesel purification method was assessed at its final production stage. Biodiesel was made from soybean and palm oils (crude oil and RBD), whose acidity indexes were measured after processing oils. In this purification process, (oil transesterification), main derivatives (methyl esters) and secondary derivatives (soaps, glycerol) were produced; the latter had to be eliminated by washing, because of their detrimental effects on combustion engines and the environment. The traditional wash and dry process was modified by increasing the washing temperature, using water at 90°C. The biodiesel derivatives quality was evaluated by measuring their acidity, glycerol (free and total) and soap content (AOCS methods). The hot water washing method produced better products, indicated by lower acidity indexes and lower contents of soaps and glycerol. Soybeans biofuels using

¹ Laboratorio de Energías Renovables (LER). Facultad de Ingeniería Agrícola de la UNALM.

² Departamento de Química. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Agraria La Molina. Av. La Molina s/n La Molina. Lima – Perú, <flormaryc@gmail.com>

hot water washing met all the requirements of the Peruvian Technical Standard NTP B100 Biodiesel 321.125.2007 and international standards such as ASTM's and EN's; however palm biofuels obtained using hot water washing exceeded slightly the total glycerol percentage established in the above mentioned standards.

Key words: Energy, renewable energies, biofuel, biodiesel, environment.

INTRODUCCIÓN

El proceso de producción de biodiésel es sencillo y conocido por lo que existen productores a pequeña escala que lo producen en condiciones rudimentarias y no realizan los procesos de purificación adecuados, lo que redundaría en su baja calidad como combustible.

Recordemos que el biodiésel se obtiene a partir de aceites vegetales o grasas animales por medio de una reacción de trans-esterificación, que consiste en que los componentes naturales de las grasas y aceites (triglicéridos) son transformados en otros ésteres más simples, al ser tratados con metanol u otro alcohol sencillo en condiciones adecuadas. Es decir, se transforman ésteres del glicerol en ésteres del metanol¹.

Una vez que la reacción se ha completado, existen dos productos principales, los ésteres metílicos y la glicerina, los que pueden ser separados por gravedad por ser inmiscibles y de diferente densidad. En los procesos discontinuos ("batch") se necesitan largos periodos de decantación (más de 12 horas) mientras que en los procesos continuos normalmente se hace por centrifugación. Si la decantación no se hizo el tiempo suficiente o la centrifugación no fue efectiva, la glicerina remanente puede separarse después de un tiempo, formando una fase marrón oscura en el fondo que arrastra las impurezas solubles en ella (especialmente los jabones formados en el proceso). Luego, se inicia la purificación del biodiésel mediante el lavado, el cual es de suma importancia debido a que en esta etapa se retira las impurezas como: trazas de glicerol, jabones, ácidos y humedad, que no se eliminaron en la etapa anterior. Se lava con un 20% de su peso de agua, se seca y se envía a almacenamiento. Este proceso da como resultado un éster de una pureza del 98% que puede utilizarse como combustible.

La etapa de lavado es fuertemente afectada por el nivel de ácidos grasos libres. A mayor cantidad de éstos, mayor formación de jabones y, por consiguiente, será necesaria mayor cantidad de agua de lavado para su eliminación. Pero, a mayor cantidad de agua, ésta puede reaccionar con el biodiésel mediante una reacción en cadena que origina la formación de más jabón, produciendo una disminución del rendimiento.

El lavado tradicional utiliza 3 a 4 lavados con agua fría, los que son insuficientes para retirar todas las impurezas. La mayor eficiencia del lavado con agua caliente se observa desde el primer lavado. Se realizan 2 a 3 de ellos, ya que al tercer lavado la concentración de impurezas se mantiene constante. A pesar de ser prácticamente insoluble en el biodiésel, siempre quedan restos de agua, lo que le da un aspecto opaco al producto. La cantidad de agua retenida aumenta considerablemente si hay presencia de jabones, ya que éstos provocan emulsiones de difícil separación, por lo que los restos de agua se eliminan por secado.

La presencia de estas impurezas en el producto final perjudica el combustible ya que causan dificultades en el funcionamiento de los motores. Por eso, las normas contemplan límites claros para las impurezas y siempre hay que tener en cuenta la procedencia y calidad del combustible que se utiliza. Ello es más importante aún si el biodiésel se va a utilizar en forma pura, aunque generalmente se lo utiliza mezclado con el diésel (gasoil) convencional en diferentes proporciones.

Se ha revisado la Norma Técnica Peruana del Biodiésel B100² (N.T.P.) y las normas internacionales: norma americana ASTM³ y la Norma Europea⁴. Todas coinciden al establecer

como contenido máximo del biodiésel: 0,23% de glicerol total, 0,02% de glicerol libre y que su índice de acidez no debe exceder de 0,8. Sin embargo, no contemplan límite para el contenido de jabones. Estos valores son los que tomaremos en cuenta para evaluar los combustibles obtenidos.

En nuestro país, la actual ley establece como meta para el año 2009 la inclusión de un 2% de biodiésel en todo el diesel-2 (gasoil) comercializado en el territorio y, para el 2011 este porcentaje aumenta a 5%. Si se respetan los parámetros técnicos, su uso tiene varias ventajas desde el punto de vista mecánico y medioambiental y no representa riesgo alguno para los equipos y motores.

PARTE EXPERIMENTAL

La investigación se realizó en los Laboratorio de Energías Renovables (LER) de la Facultad de Ingeniería Agrícola de la UNALM y en los laboratorios del Departamento de Química de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

Materias primas e insumos:

- Aceites de soya y de palma (crudo y refinado o RBD) de procedencia: Industrial Alpamayo.
- Metanol (grado industrial) al 95% v/v (CIATEX)
- Hidróxido de potasio (KOH) en escamas al 90% p/p (CIATEX).

Metodología

Antes del proceso de producción de biodiésel, se procedió a evaluar el estado inicial de todas las muestras de aceites vegetales (crudos y refinados), utilizándose el índice de acidez para poder calcular la cantidad de catalizador a utilizar. Tickell⁵ indica que el aceite se debe valorar para determinar los miligramos de hidróxido de potasio necesarios para neutralizar los ácidos grasos libres de un gramo de aceite usado.

Determinación de la cantidad de catalizador KOH

Usamos la ecuación de Tickell⁵:

$$Y = X + 9^{(6)}$$

Y: Cantidad (g) de KOH a utilizar como catalizador para 1 litro de aceite.

X: mL de solución de KOH 0,1% (p/v) consumidos por el aceite para neutralizar los ácidos grasos libres de 1 g de aceite.

⁽⁶⁾ Cantidad estándar de KOH recomendada para la transesterificación de un litro de aceite vegetal limpio.

Por ejemplo, si se han utilizado 2,22 mL de solución de KOH 0,1% (p/v) para la neutralización de los ácidos grasos libres de 1 g de aceite (X), aplicando la ecuación de Tickell, la cantidad de KOH que se debe utilizar como catalizador para 1 L de aceite será: 11,22 gramos (Y).

Producción del biodiésel

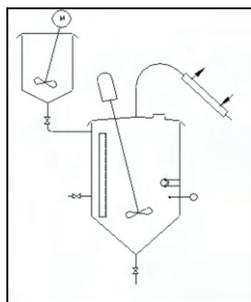
A nivel laboratorio se realizó la producción mediante el proceso alcalino, utilizando el reactor piloto ubicado en el Laboratorio de Energías Renovables LER (figura 1) y con los parámetros indicados en la tabla 1:

Tabla 1. Parámetros usados en la elaboración de biodiésel

Parámetro	Valor promedio
Cantidad de aceite	45 kg
Temperatura de reacción	60° C
Tiempo de reacción	02 h
Cantidad de metanol	17 – 18%
Cantidad de catalizador (KOH)	0,1 a 1,5%
Tiempo de decantación	24 h

El proceso productivo se realizó de la siguiente manera:

- El aceite se coloca en el reactor donde es pre calentado hasta 50° C.
- Paralelamente, en el tanque superior se mezcla el 18% v/v de metanol⁶ con el catalizador alcalino, (el que debe ser pesado rápidamente para protegerlo de la humedad y dióxido de carbono de la atmósfera) en las proporciones adecuadas, agitando vigorosamente. Una vez disuelto todo el catalizador, el KOH disuelto se ha convertido a metóxido de potasio.

**Figura 1.** Reactor usado en el procesamiento.

- Esta mezcla se adicionó al aceite y se empezó la reacción. La mezcla final se mantuvo a la temperatura de 60°C⁷ (el punto de ebullición del metanol es 64,7°C) y con agitación constante por un tiempo aproximado de 2 horas.
- Después del tiempo indicado se observó la separación de dos fases líquidas: una fase superior (biodiésel) y otra inferior de color oscuro y alta viscosidad (glicerina).
- Se dejó en reposo por 12 horas para una completa separación de las fases.
- Se midió la cantidad de biodiésel y de glicerina obtenidos para determinar el rendimiento y la eficiencia de la reacción⁷.
- Este elaborado, a partir de cada materia prima, fue rotulado y almacenado en baldes plásticos de 20 kg de capacidad para los análisis y pruebas correspondientes. Las muestras de biodiésel sin tratamiento se utilizarán como muestras control.

Lavados con agua fría

- Una vez separada la glicerina, agregar a la pera de separación con el biodiésel crudo, el 20% de su volumen de agua.
- Agitar constantemente unos 30 segundos y dejar decantar, hasta que se diferencien bien las dos fases. Se observa la formación de pequeñas trazas de jabón, debido a reacciones paralelas que ocurren durante el proceso de trans-esterificación por las pequeñas cantidades de agua en el sistema.
- Abrir la llave de la pera y retirar el líquido blanquecino.
- Se repite el proceso hasta que el agua salga lo más clara posible (tres lavados).

Lavados con agua caliente

- Agregar el biodiésel crudo a un vaso de precipitados.
- Calentar la muestra en baño María a unos 60° con constante agitación.
- Agregarle a la muestra el 20% de su volumen de agua caliente.
- Mantener por 15 minutos en el baño María (a 90° C) con constante agitación.
- Transferir todo a una pera de separación y agitar vigorosamente. Abrir la llave de la pera para expulsar los gases generados. Repetir este proceso unas 3 a 4 veces.
- Dejar decantar hasta observar que las dos fases estén bien definidas. Separar la capa acuosa (conteniendo los jabones) del biodiésel⁸.
- Se repite el proceso para que el agua salga más clara (dos lavados).

Secado del biodiésel

- Colocar el biodiésel lavado en un vaso de precipitados de un litro.
- Calentarlo en plancha eléctrica a 100° C, hasta que el biodiésel deje de crepitar y tome un color brillante y traslúcido⁸.

Métodos de control

Todas las muestras de biodiésel purificado fueron analizadas por triplicado mediante los siguientes métodos de control (Métodos de la AOAC y AOCS):

- Glicerol total y glicerol libre. Método yodométrico del ácido peryódico⁹.
- Determinación de jabones¹⁰.
- Índice de acidez¹¹.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de la materia prima y producción de biodiésel

En la tabla 2 se presentan los índices de acidez obtenidos con las distintas materias primas utilizadas, así como las cantidades utilizadas de materia prima, de catalizador y el rendimiento obtenido en cada una de ellas.

Como se puede observar, existe una diferencia significativa entre los índices de acidez de los aceites: los aceites crudos tienen índices de acidez mayores que los aceites refinados, lo que significa una mayor cantidad de ácidos libres. Estos valores se encuentran en el rango normal para cada tipo de aceite.

Tabla 2. Análisis de la materia prima y producción de biodiésel: índices de acidez, cantidades usadas y rendimiento de biodiésel

Características:	Aceite de soya		Aceite de palma	
	Crudo	RBD	Crudo	RBD
Índice de acidez	2,22	0,16	4,13	0,27
Cantidad de aceite (kg)	45,5	45	45,5	45
Cantidad de metanol (L)	9,0	9,0	9,0	9,0
Cantidad de catalizador (kg KOH)	0,50	0,408	0,693	0,413
Porcentaje de catalizador (% KOH)	1,10	0,91	1,52	0,91
Biodiésel crudo obtenido (kg)	40,0	44,18	38,9	43,6
Rendimiento de biodiésel crudo (%)	87,9	98,17	85,49	96,8
Peso de glicerina recuperada (kg)	10,59	7,19	11,58	7,59
Rendimiento de glicerina (%)	23,3	15,98	25,45	16,87

Como se observa en la tabla 2 los mayores rendimientos de biodiésel (96,6 – 98,17%) se logran cuando se utiliza como materia prima aceites refinados, mientras que con aceites crudos los rendimientos disminuyen a 85,49 – 87,9%. El menor rendimiento se obtuvo con el aceite crudo de palma (85,49), probablemente, debido a que este presentó el mayor índice de acidez.

Análisis del biodiésel obtenido a partir de aceites de soya

En la tabla 3 se presentan los resultados obtenidos al analizar las impurezas contenidas en el biodiésel de aceite de soya (cruda y RBD) sin purificar (control) y el purificado por lavado con agua fría (tercer lavado) y caliente (segundo lavado).

Tabla 3. Análisis de las impurezas del biodiésel (BD) de aceite de soya (crudo y RBD) antes (control) y después de los lavados con agua fría y caliente.

Parámetros de control	N.T.P. ² , ASTM ³ y Europea ⁴	BD de aceite de soya crudo			BD de aceite de soya RBD		
		Control	Lavado 1	Lavado 2	Control	Lavado 1	Lavado 2
% Glicerol total	0,23	0,698	0,268	0,16	0,407	0,393	0,161
% Glicerol libre	0,02	0,031	0,025	0,008	0,018	0,013	0,0092
Jabones (ppm)	No especifican	617,18	226,53	59,47	60,63	59,08	56,41
Índice de acidez	0,8	0,332	0,108	0,307	0,221	0,165	0,224

N.T.P.: Norma Técnica Peruana del Biodiésel B100²

Control: Muestra de biodiésel sin purificar

Lavado 1: Después de 3 lavados con agua fría (temperatura ambiente)

Lavado 2: Después de 2 lavados con agua caliente (a 90° C)

En la tabla 3 se aprecia que el biodiésel producido a partir de aceite de soya crudo que no ha sido sometido al proceso de lavado (control); no cumple las especificaciones técnicas porque su contenido de glicerol total (0,698 %) y libre (0,031 %), excede los límites establecidos en la Norma Técnica Peruana (NTP) e internacionales ASTM y europea que establecen para el

glicerol total: 0,23% y para el glicerol libre: 0,02%.

Después del tercer lavado con agua fría disminuyen los valores de glicerol total (a 0,268%) y libre (a 0,025%) pero estos valores todavía exceden lo establecido en las normas. Luego del segundo lavado con agua caliente los valores disminuyen a 0,16% y 0,008%, respectivamente, con lo que recién se cumplen las normas técnicas.

En lo que respecta al contenido de jabones, aunque las normas técnicas no establecen un valor límite, se observa una gran disminución por efecto del lavado, siendo mucho más eficiente el lavado con agua caliente (de 617,18 a 59,47 ppm) que el lavado con agua fría (a 226,53 ppm).

En el caso del índice de acidez, tanto el control (0,332) como los lavados con agua fría (0,108) y caliente (0,307) no exceden los límites establecidos en las normas (0,8). El lavado con agua caliente disminuye muy poco este índice y es menos eficiente que el lavado con agua fría. En el caso del biodiésel producido a partir de aceite de soya RBD, cuando aún no ha sido sometido al proceso de lavado (control), su contenido de glicerol total (0,407%) excede lo especificado en las normas técnicas (0,23%). Por efecto del lavado con agua fría, el glicerol total disminuye ligeramente (a 0,393%) aunque aún se mantiene por encima de lo normado. El efecto del lavado con agua caliente es mucho mayor, disminuyendo (a 0,161%), cumpliendo con lo establecido en las normas.

Similar comportamiento presenta el glicerol libre: el contenido que presenta el control (0,018%) está ligeramente por debajo de lo establecido en las normas (0,02%); disminuye por el lavado con agua fría (a 0,013%) y la disminución es mayor por el lavado con agua caliente (a 0,0092%).

El contenido de jabones presenta una pequeña disminución por el lavado con agua, no habiendo gran diferencia entre el uso de agua fría o caliente.

Comportamiento diferente presenta el índice de acidez: mientras el lavado con agua fría lo disminuyó visiblemente (de 0,221 a 0,165), el lavado con agua caliente lo incrementó ligeramente (a 0,224). Sin embargo, el índice de acidez de ninguna de las muestras (incluyendo el control) sobrepasa los límites establecidos en las normas (0,8).

Análisis del biodiésel obtenido a partir de aceites de palma

En la tabla 4, se presentan los resultados obtenidos al analizar las impurezas del biodiésel obtenido a partir de aceite de palma (crudo y RBD) antes del lavado (control) y después del tercer lavado con agua fría y del segundo lavado con agua caliente.

Tabla 4. Análisis de las impurezas del biodiésel (BD) de aceite de palma (crudo y RBD) antes (control) y después de los lavados con agua fría y caliente.

Parámetros de control	N.T.P. ² , ASTM ³ y Europea ⁴	BD de aceite de palma crudo			BD de aceite de palma RBD		
		Control	Lavado 1	Lavado 2	Control	Lavado 1	Lavado 2
% Glicerol total	0,23	0,56	0,464	0,313	0,395	0,317	0,247
% Glicerol libre	0,02	0,018	0,016	0,01	0,016	0,011	0,009
Jabones (ppm)	No especifican	973,75	332,95	59,88	595,91	129,32	57,94
Índice de acidez	0,8	0,223	0,109	0,392	0,055	0,103	0,222

N.T.P.: Norma Técnica Peruana del Biodiésel B100²

Control: Muestra de biodiésel sin purificar

Lavado 1: Después de 3 lavados con agua fría (temperatura ambiente)

Lavado 2: Después de 2 lavados con agua caliente (a 90°C)

Se observa que el biodiésel producido a partir de aceite de palma crudo cuando aún no ha sido sometido al proceso de lavado (control) tiene un contenido de glicerol total (0,56%), que excede largamente las especificaciones establecidas en las normas técnicas (0,23%). Por efecto del lavado con agua fría, el glicerol total disminuye a 0,464% y el lavado con agua caliente lo disminuye aún más (a 0,313%). Sin embargo, en todos los casos se excede el límite señalado por las normas.

En el caso del glicerol libre, aunque su contenido en el control (0,018%) está ligeramente por debajo de lo normado (0,02%) el lavado con agua fría lo disminuye a 0,016%, mientras que el lavado con agua caliente lo lleva a 0,01%. En ninguno de los casos (incluyendo el control) se excede el límite establecido en las normas.

El contenido de jabones disminuye drásticamente por el lavado con agua fría (de 973,75 a 332,95 ppm) y el lavado con agua caliente lo disminuye aún más (a 59,88 ppm). Aunque las normas técnicas no especifican un máximo, esta disminución es beneficiosa para su uso como combustible.

En lo referente al índice de acidez, todas las muestras (incluyendo el control: 0,223) lo tienen por debajo de lo normado (0,8), siendo menor luego del lavado con agua fría (0,109). Por el contrario, el lavado con agua caliente lo incrementa a 0,392.

En el caso del biodiésel producido a partir de aceite de palma RBD, se observa que el glicerol total disminuye ligeramente (de 0,395% a 0,317%) por el lavado con agua fría, y el lavado con agua caliente lo disminuye a 0,247%, pero en todos los casos se excede el límite establecido por las normas (0,23%).

En el caso del glicerol libre, el lavado con agua fría lo disminuye (de 0,016% a 0,011%) y el lavado con agua caliente lo disminuye a 0,009%. En ningún caso (incluyendo el control) se excede el límite establecido en las normas (0,02%).

El contenido de jabones sufre una fuerte disminución por efecto del lavado con agua fría (de 595,91 a 129,32 ppm), mientras que el agua caliente lo disminuye mucho más (a 57,94 ppm). En el caso del índice de acidez se observa un incremento tanto por efecto del lavado con agua fría (de 0,055 a 0,103), como por el lavado agua caliente (a 0,222). Sin embargo, en ningún caso se excede el límite establecido en las normas (0,8).

CONCLUSIONES

- Los mayores rendimientos de biodiésel (96,6 - 98,17%) se logran cuando se usa aceites refinados como materia prima. El uso de aceites crudos hace que los rendimientos disminuyan a 85,49 - 87,9%.
- El menor rendimiento de biodiésel se obtuvo con el aceite de palma crudo (85,49%), probablemente debido a que este presentó el mayor índice de acidez.
- En todos los casos, el proceso de dos lavados con agua caliente fue más eficiente en la remoción de impurezas del biodiésel (glicerol libre, glicerol total y jabones) que tres lavados con agua fría.
- En casi todos los casos, el proceso de dos lavados con agua caliente produjo un incremento en el índice de acidez del biodiésel, mientras que el lavado con agua fría produjo una disminución del mismo. Es probable que el calor incremente la hidrólisis de los ésteres, aumentando los ácidos libres. Sin embargo, en todos los casos el índice de acidez se mantuvo muy por debajo de lo establecido en las normas.
- La eficiencia de los lavados con agua para remover impurezas (glicerol libre, glicerol total y jabones) es mayor con el biodiésel obtenido a partir de aceites refinados (RBD) que con el obtenido a partir de aceites sin refinar (crudos).
- En ningún caso, el proceso de tres lavados con agua fría fue suficiente para que el porcentaje de glicerol total esté por debajo de lo establecido en las normas técnicas.

- El proceso de dos lavados con agua caliente fue adecuado para que el biodiésel obtenido a partir de soya (crudo y refinado) cumpla lo establecido en las normas internacionales, pero no fue suficiente para el obtenido a partir del aceite de palma (crudo y refinado) ya que los porcentajes de glicerol total fueron ligeramente superiores a lo establecido en las normas técnicas. Posiblemente, con un tercer lavado con agua caliente el porcentaje de glicerol total disminuya a niveles por debajo de lo establecido en las normas técnicas.

RECOMENDACIONES

- Es preferible el uso de aceites refinados como materia prima para la elaboración de biodiésel en vez de aceites crudos.
- El análisis de la materia prima es fundamental para la elaboración del biodiésel ya que su índice de acidez debe ser tomado en cuenta para calcular cantidad de catalizador a utilizar en la transesterificación.
- La reacción de transesterificación debe hacerse a una temperatura de 48-55°C, la que debe controlarse cuidadosamente. A temperaturas mayores el metanol se volatiliza.
- Una vez terminada la reacción de transesterificación es importante considerar el reposo por 24 horas, para que se decante totalmente la glicerina.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro agradecimiento, a la empresa Sud-Chemie por el financiamiento económico, en especial a los Químs. Rosalina Condemarín y Teresa Villacorta.

BIBLIOGRAFÍA

1. Mittelbach M. (1996). "Diesel fuel derived from vegetable oils, VI: Specifications and quality control of biodiesel". *Bioresource Technology*; 56: 7-11.
2. Indecopi (2007). Normas Técnicas de Biocombustibles: Norma Técnica Peruana del Biodiesel B100 NTP 321.125.2007
3. ASTM D - 6751, (2002). Standard specification for biodiesel fuel (B100) blend stock for distillate fuels. West Conshohocken, Penn.:ASTM International.
4. Norma Europea EN 14214, (2003). Requisitos mínimos y métodos de ensayo de los FAMES (Fatty Acid Methyl Esters) comercializados y suministrados para su empleo como combustible de automoción puro (100% biodiésel)
5. Tickell J. (2000) "From the fryer to the fuel tank: the complete guide to using vegetable oil as an alternative fuel". 3rd ed. Covington (U.S.A): Tickell Energy Consultants.
6. M.C. Forero, M.J. Gnecco, M.A. Torres (2003). "Producción de biodiésel de Moriche (*Mauritia flexuosa*) como alternativa energética para las regiones apartadas de La Orinoquia colombiana" Julio, año/vol. 7, número 1-2 Universidad de los Llanos Villavicencio, Colombia pp. 59-69 .
7. Freedman B., Pride E.H., Mounts T.L., (1984). "Variables affecting the yield on fatty esters from transesterified vegetable oils". *Journal of American Oil Chemical Society*, 61(10): 1638-43.
8. Van Gerpen J., (2005). "Biodiesel processing and production". *Fuel Processing Technology* 86: 1097–1107.
9. Firestone, d., Ed, (2005e) AOAC Official Method Ca 14-56. Total, Free and Combined Glycerol Iodometric-Periodic Acid Method.
10. AOCS Cc 17-79, (2003). Official Methods. American Oil Chemists' Society. 3rd. ed. Determinación de jabones.
11. AOCS Cd 3d-63, (2003). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemist's Society, 15th Ed., Índice de acidez.

ESTUDIO FARMACOGNÓSTICO, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y TOXICIDAD A DOSIS LÍMITE DE *Triplaris americana* L. (TANGARANA COLORADA)

Miguel Angel Inocente Camones ^{*a}, César Fuertes Ruiton ^b, Bertha Jurado Teixeira ^a, Iris Giovana Mondragón Tarrillo ^a, Evelyng Del Rosario Taype Espinoza ^a, Henry Ostos Flor ^c.

RESUMEN

En el análisis farmacognóstico del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Triplaris americana* L., se han evidenciado compuestos fenólicos: taninos y flavonoides. Se evaluó la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico, aplicando el método del DPPH, obteniendo como concentración inhibitoria IC₅₀ 9,5498 ug/mL, con resultado levemente superior comparado con el estándar trolox. Al evaluar la toxicidad a dosis límite del extracto hidroalcohólico (2000 mg/kg de masa corporal), no se produjo mortalidad ni se manifestaron síntomas indicativos de toxicidad en los animales de experimentación.

Palabras clave: *Triplaris americana* L., cuantificación, taninos, antioxidante, DPPH, toxicidad.

PHARMACOGNOSTIC STUDY, ANTIOXIDANT ACTIVITY AND TOXICITY TO DOSE LIMIT OF *Triplaris americana* L. (TANGARANA COLORADA)

ABSTRACT

In the pharmacognostic analysis of the hydroalcoholic extract of the bark of *Triplaris americana* L., has been evidenced phenolics compound: tannins and flavonoids. The antioxidant activity of the extract hydroalcoholic was evaluated, applying the method of the DPPH obtaining as inhibitory concentration IC₅₀ 9, 5498 ug/mL, with slightly superior result compared with the standard trolox. When evaluating the toxicity to unique dose of the hydroalcoholic extract (2000 mg/kg of corporal mass), mortality didn't take place neither they showed indicative symptoms of toxicity in the experimental animals.

Key words: *Triplaris americana* L., quantification, tannins, antioxidant, DPPH, toxicity.

INTRODUCCIÓN

Triplaris americana L. es conocida vulgarmente como tangarana colorada, santo palo, cumbi, palo de hormiga, árbol de hormiga, es un árbol mirmecófilo de casi 16 metros de altura. *Triplaris americana* L., es una especie endémica de América, crece a los 350 msnm, en los

^{*a} Laboratorio de Farmacognosia y Medicina Tradicional. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Jr. Puno 1002. Jardín Botánico. Lima. Perú. minocente@farmaceuticos.com ayrucosmetic@empresarios.com

^b Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara". Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Jr. Puno 1002. Jardín Botánico. Lima. Perú.

^c Laboratorio de Farmacología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Jr. Puno 1002. Jardín Botánico. Lima. Perú.

departamentos de San Martín, Amazonas, Lima, Pasco, Junín, Huánuco, Loreto y Madre de Dios, también crece en países como Panamá, Guyana, Guyana Francesa, Surinam, Venezuela, Brasil, Bolivia, Colombia y Ecuador¹.

En la medicina tradicional peruana se utiliza la decocción o infusión de su corteza por vía oral para curar infecciones intestinales, fiebre, diarrea, dolor de muelas². El PRODAPP (Programa de Desarrollo Alternativo en las Áreas de Pozuzo y Pacalzá) para la atención primaria de la salud (APS) recomienda el uso de esta planta para el tratamiento de la malaria, en la región Huanuco³.

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo determinar la presencia de metabolitos primarios y secundarios, la toxicidad aguda a dosis límite y la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de la corteza de tangarana colorada.

PARTE EXPERIMENTAL

Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de Farmacognosia y Medicina Tradicional, Bioquímica y el Bioterio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Materiales y reactivos

Muestra

El material objetivo de nuestro estudio estuvo constituido por la corteza de la especie *Triplaris americana* L. (Polygonaceae), planta femenina, recolectada en el pueblo de Chazuta, provincia de Tarapoto, departamento de San Martín; en época de verano, etapa de floración. La recolección se realizó con GPS de 900 a 1000 metros y coordenadas: 06°50'S 076° 60' W.

Reactivos

Molish, dragendorff, liebermann burchard, shinoda, borntranger, tricloruro de fierro 5%, acetato de etilo, DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), metanol qp. (Aldrich Chemical Co.), etanol absoluto (Merck), trolox (6-hidroxi-2, 5, 7, 8 tetrametilcromo-2 ácido carboxílico 97%) Aldrich (St. Louis, MO, USA). Agua desionizada pasteurizada, usados para todos los experimentos.

Equipos

Espectrofotómetro UV-visible (Spectroquant Pharo 300 Merck), balanza analítica de capacidad de 1 mg - 200 g (Ohaus Pioneer), lámpara UV 365 nm.

Material biológico

Se han utilizado 20 ratas albinas Sprague Dawley, con una masa corporal de 200 ± 20 g y edad de $7,5 \pm 0,5$ semanas. Los animales se mantuvieron en el Bioterio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, a una temperatura de $20 \pm 2^\circ$ C, con una humedad relativa entre 70 y 80% y ciclos luz/ oscuridad de 12/ 12 horas. Recibieron como alimento dieta balanceada, y agua apta para consumo humano. El acceso a los alimentos y al agua fue *ad libitum*. Los animales fueron sometidos a cuarentena e inspección clínica durante una semana antes del inicio del experimento, evitando el estrés.

Métodos de análisis

Elaboración del extracto

Mil cuatrocientos gramos (1400 g) de la corteza seca y molida de la planta fueron macerados en aproximadamente 5 L de alcohol etílico 70° durante 10 días, la solución resultante se filtró y se llevó a sequedad total; obteniéndose 400 gramos de extracto seco.

Estudio farmacognóstico

Ensayos preliminares

Con la finalidad de detectar los diferentes constituyentes químicos del extracto hidroalcohólico desecado, se emplearon los siguientes ensayos:^{4,5,6}

a) Ensayo organoléptico

Se realizó la caracterización organoléptica del extracto hidroalcohólico desecado, considerando aspecto, color, olor y sabor.

b) Ensayo biológico

Se determinó el índice hemolítico, para lo cual se utilizan placas petri con medio agar sangre, se colocaron discos estériles embebidos con el extracto hidroalcohólico desecado disuelto en agua desionizada, al 10%.

c) Ensayo físico

- Índice afrosimétrico (prueba de la espuma)

El extracto hidroalcohólico desecado disuelto en agua desionizada, al 10%, fue colocado en tubos de ensayos diferentes con un volumen doble de agua desionizada, se agitó y se dejó en reposo por media hora.

- Determinación del pH

Se midió el pH del extracto hidroalcohólico mediante potenciómetro electrónico, marca Shangai Precisión & Scientific.

- Marcha de solubilidades

En una batería de tubos de ensayo se colocó una pequeña porción del extracto hidroalcohólico desecado de la corteza y se le agregó a cada uno 2 mL del solvente, en el siguiente orden: éter etílico, n-hexano, tolueno, cloroformo, acetato de etilo, dietilamina, 1-butanol, 1-propanol, etanol, metanol, ácido acético y agua desionizada.

Screening farmacognóstico

Ensayos de coloración

Se han realizado pruebas de color, en tubos de ensayo para determinar la presencia o ausencia de metabolitos primarios y secundarios más importantes, mediante la marcha farmacognóstica preliminar, según Lock, O.^{6,7}

Análisis cromatográfico. Cromatografía en capa fina

Se han utilizado cromatofolios con silicagel GF₂₅₄, en el cual se aplica el extracto hidroalcohólico, utilizando capilares nuevos; posteriormente colocados en cámaras de desarrollo cromatográfico, previamente saturadas probando diversos sistemas de solventes.^{7,8}

Resultando como mejores sistemas de solventes:

- acetato de etilo/ metanol/ agua (100:13,5:10 v/v) y (77:15:8 v/v) para glicósidos, flavonoides.
- 1-butanol/ ácido acético/ agua (4:1:5 v/v) (fase superior) para flavonoides y taninos.

Los cromatogramas fueron revelados con: rvo. dragendorff (alcaloides), rvo. potasa alcohólica 5% (quinonas, flavonoides, cumarinas), rvo. tricloruro de hierro 1% (fenólicos), rvo. liebermann-burchard, rvo. vainillín sulfúrico (saponinas, lactonas sesquiterpénicas), rvo. tricloruro de aluminio (flavonoides), luz UV a 254 nm.

Determinación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de la corteza fue determinado usando el método 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).^{9,10} La concentración inicial del extracto hidroalcohólico desecado en agua desionizada pasteurizada (100 g/mL) permitió diluir a las concentraciones finales de 1, 5, 10, 15 y 20 g/mL, en agua desionizada pasteurizada. Luego, en

una batería de 5 tubos se colocaron 0,4 mL de cada solución preparada del extracto, y mezclado con 0,8 mL de la solución con el radical DPPH (2 mg%). La batería de tubos con la reacción fue colocada bajo oscuridad a temperatura ambiente por 30 minutos. Se midió la absorbancia de cada tubo, a 517 nm.

El porcentaje de inhibición o porcentaje de decoloración fue calculado como:

$$\% \text{ inhibición} = \frac{A-B}{A} \cdot 100$$

Donde: **A:** Lectura de absorbancia del DPPH

B: Lectura de absorbancia de la muestra

La concentración requerida para el 50% de inhibición del radical libre DPPH (IC_{50}) fue calculada mediante la ecuación de la gráfica de concentración del extracto y trolox vs % inhibición.

El blanco para calibrar el equipo fue metanol: agua (2:1). El blanco para DPPH es (DPPH: metanol 2:1). Como control positivo se preparó una curva patrón de trolox (6-hidroxi-2, 5, 7, 8 tetrametilcromo-2 ácido carboxílico 97%) a las mismas condiciones de análisis del extracto hidroalcohólico, para comparar las IC_{50} .

Evaluación de la toxicidad aguda a dosis límite

El procedimiento de dosis fijas fue adoptado en la guía N°. 420 de la OECD ¹¹ (OECD guideline for testing of chemicals, 2000)

Aleatoriamente se conformaron cuatro grupos experimentales, dos grupos tratados (01 grupo de machos y 01 grupo de hembras) y dos controles (01 grupo de machos y 01 grupo de hembras). La muestra fue administrada con un ayuno previo de 24 horas por vía oral mediante cánula intragástrica, a dosis única de 2000 mg/kg de masa corporal, teniendo en cuenta la ausencia de signos o síntomas de toxicidad por esta vía de administración. Se dosificaron de acuerdo al peso de cada rata, administrándoles un volumen de 2 mL del extracto hidroalcohólico desecado disuelto en agua desionizada pasteurizada; y 2 mL del solvente para los grupos control.

Los animales fueron observados individualmente durante los primeros 30 minutos, con especial atención durante las primeras 4 horas y diariamente hasta los 14 días del experimento, recogiendo signos de toxicidad.

Las observaciones estuvieron dirigidas a la determinación de: muerte y tiempo de ocurrencia de la misma, signos de toxicidad incluyendo su comienzo y duración, además de cambios en la piel, membranas de mucosas y ojos, en el sistema respiratorio, en el circulatorio, en el nervioso central y en el autónomo, en la actividad somatomotora y en la conducta. Se prestó especial atención a la potencial ocurrencia de temor, convulsiones, salivación, diarrea, letargo, somnolencia y coma.¹²

Se controló el peso vivo de los animales en los días 1, 7 y 14 del experimento como uno de los parámetros demostrativos de toxicidad.

Análisis estadístico

Los resultados fueron procesados usando los programas microsoft excel 2007 (windows office) y minitab statistical software english (versión 15.00 para windows XP). Todos los experimentos se realizaron por triplicado y los resultados expresados como valores promedios \pm desviación estándar.

En los ensayos de actividad antioxidante, se determinó el coeficiente de variación considerando como criterio c.v.f. 5%, y el coeficiente de correlación considerando como criterio R^2 0,990; de la relación % inhibición/ concentración de extracto.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Del análisis farmacognóstico

Del análisis preliminar

Del ensayo organoléptico

Como característica del control de calidad, se presentan las características del extracto hidroalcohólico desecado (tabla 1).

Tabla 1. Características organolépticas del extracto hidroalcohólico desecado.

Característica	Resultado
Aspecto	Cristales pulverizados
Color	Rojo brillante
Olor	Sui géneris
Sabor	Amargo, astringente

Del ensayo biológico

- Índice hemolítico: Después de 24 horas no se observa halos de hemólisis.

Del ensayo físico

- Índice afrosimétrico: No se observó espuma persistente por más de 30 minutos.
- Determinación de pH: pH 4.
- Marcha de solubilidades: De acuerdo a la tabla 2.

Tabla 2. Solubilidades del extracto hidroalcohólico desecado.

Solventes	Resultados	Solventes	Resultados
Éter etílico	-	Butanol	-
N-hexano	-	Propanol	++
Tolueno	-	Etanol	++
Cloroformo	+	Metanol	+++
Acetato de etilo	-	Ácido acético	-
Dietilamina	-	Agua desionizada	++

Legenda: (-) Insoluble (+) Poco soluble (++) Soluble (+++) Muy soluble

Del screening farmacognóstico

Se determinó la presencia de carbohidratos, flavonoides y taninos (tabla 3).

Tabla 3. Resultados del screening farmacognóstico del extracto hidroalcohólico.

Constituyentes químicos	Resultado	Constituyentes químicos	Resultado
Carbohidratos en general	+++	Flavonoides	++
Azúcares reductores	++	Esteroides y triterpenoides	-
Aminoácidos libres	-	Cardenólidos	-
Vitamina B1 (tiamina)	-	Cardiotónicos	-
Vitamina C	-	Alcaloides	-
Taninos	+++	Antraquinonas	-

Leyenda: +++ Abundante ++ Moderado + Leve (-) Ausencia

Del análisis cromatográfico

Con respecto al análisis cromatográfico efectuado al extracto hidroalcohólico desecado, es necesario señalar que la reacción resultó positiva frente al revelador potasa alcohólica 5%. El extracto mostró a simple vista siete manchas, en el cromatograma; y se hallaron los valores de Rf para las manchas del cromatograma, en la tabla 4.

Tabla 4. Resultado de Rf para cromatografía en capa fina del extracto.

	Rf 1	Rf 2	Rf 3	Rf 4	Rf 5	Rf 6	Rf 7
Extracto hidroalcohólico	0,23	0,30	0,36	0,45	0,55	0,60	0,72
Color de mancha	Anaranjado					Amarillo	Anaranjado

De la actividad antioxidante

En el análisis de la actividad antioxidante, para conseguir la lectura de absorbancia corregida se procedió a la resta de la lectura de absorbancia del DPPH con la absorbancia de las muestras, debido al color rojo del extracto hidroalcohólico. De los resultados para la actividad antioxidante mostrados en las tablas 5, 6 y 7, se puede indicar que el extracto hidroalcohólico desecado de la corteza al presentar valor IC_{50} levemente superior al trolox, posee una capacidad análoga de capturar al radical DPPH.

Tabla 5. Porcentaje de inhibición, de la reacción del trolox con el DPPH.

Promedio absorbancia	Conc. $\mu\text{g}/\text{mL}$	% Inhibición
0,318	1,0	5,4134
0,254	5,0	24,3506
0,173	10,0	48,5921
0,088	15,0	73,9242
0,006	20,0	98,2154

Tabla 6. Porcentaje de inhibición, de la reacción del extracto hidroalcohólico desecado, con el DPPH.

Promedio absorbancia	Conc. $\mu\text{g}/\text{mL}$	% Inhibición
0,317	1,0	5,6117
0,240	5,0	28,6139
0,153	10,0	54,4914
0,075	15,0	77,6919
0,002	20,0	99,4051

Tabla 7. Comparación del % de inhibición, ecuación de la recta, coeficiente de correlación, IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$), del extracto y el trolox.

Parámetro	<i>Triplaris americana</i> L.					Trolox				
	1	5	10	15	20	1	5	10	15	20
% inhibición	5,61	28,6	54,5	77,7	99,4	5,41	24,4	48,6	73,9	98,2
Ecuación	$y = 4,9210 x - 2,9684$					$y = 4,9012 x - 0,1067$				
Coeficiente de correlación	0,9985					0,9999				
IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	9,5498					10,0543				

De la toxicidad aguda a dosis límite

La administración de una dosis límite de 2000 mg/kg de masa corporal no provocó muerte de los animales o síntomas indicativos de toxicidad. La masa corporal como indicador de toxicidad, se comportó dentro de los parámetros establecidos para la curva de crecimiento de la especie y línea del modelo biológico utilizado (tablas 8 y 9).

Tabla 8. Evolución de la masa corporal de los animales, en función del tiempo.

Tratamiento	Grupo experimental	Masa corporal (g/ rata)			
		Día 1 X 1	Día 7 X 7	Día 14 X 14	Diferencia X 14 – X 1
Extracto hidroalcohólico	Ratas machos	194,6	216,4	235,4	40,8
	Ratas hembras	191,8	206,0	226,8	35,0
Control (agua)	Ratas machos	195,2	212,2	238,4	43,2
	Ratas hembras	189,8	209,0	230,4	40,6

Tabla 9. Rango de masa corporal con relación a la edad en semanas de la especie y línea del modelo biológico.

Edad (semanas)	Masa corporal (g/ rata)
7-8	180-200
8-9	200-220
9-10	220-240

CONCLUSIONES

- El estudio del extracto hidroalcohólico de la corteza *Triplaris americana* ha comprobado la presencia de carbohidratos, heterósidos, compuestos fenólicos: taninos y flavonoides.
- Igualmente, dicho extracto disuelto en agua desionizada pasteurizada a 80° C, posee actividad antioxidante con IC₅₀ de 9,5498 ug/mL.
- En las condiciones del ensayo no se produjo mortalidad ni se manifestaron signos indicativos de toxicidad en los animales. La toxicidad de los extractos de estudio se encuentra por encima de 2000 mg/kg de masa corporal, calificándose según el Sistema Global Armonizado, como “no clasificadas” (“no tóxicas”).

AGRADECIMIENTOS

Mi profundo agradecimiento a la Mg. Arilmí Gorriti, QF. Moisés García, QF. Gloria Gordillo y QF. Andrés Revilla, docentes de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM, por la asesoría y orientación brindada.

BIBLIOGRAFÍA

1. Mostacero, L.; Mejía, F.; Gamarra, O. Taxonomía de las Fanerógamas útiles del Perú. CONCYTEC. Volumen I. Editora Normas Legales S.A.C. Trujillo. 2002.
2. Desmarchelier, C.; Alonso, J. Plantas Medicinales para la atención primaria en la salud. Vademécum de Fitoterapia. PRODAPP. Lima. 2005.
3. Desmarchelier, C; Witting, F. Sixty Medicinal Plants from the Peruvian Amazon: Ecology, Ethnomedicine and Bioactivity. Primera edición. Ediciones PROTERRA. Lima. 2000.

4. Miranda, M. Métodos de análisis de drogas y extractos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana. Ciudad de la Habana. 2002.
5. Gibaja, S. Guía para el análisis de los compuestos del carbono. UNMSM. Dirección Universitaria de Biblioteca y Publicaciones. Editorial UNMSM. Lima. 1977.
6. Gorriti, A.; Jurado, B.; Quispe, F. Manual de Laboratorio I y II. UNMSM. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Cátedra de Farmacognosia y Medicina Tradicional. Lima. 2004.
7. Lock, O. Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de Productos Naturales. Primera edición. Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica. Lima. 1994.
8. Randerath, K. Cromatografía en Capa Fina. Enciclopedia de la Química Industrial. Tomo VIII. 2ª Edición. Editorial Urmo, S.A. Bilbao. España. 1970.
9. Chávez, J.; Chire, T.; Loayza, L. Capacidad antioxidante de compuestos bioactivos. Principios bioactivos de plantas andinas y amazónicas del Perú. Universidad Nacional Agraria La Molina. Facultad de Ciencias. Departamento de Química. 2007.
10. CIBN (Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición). Capacidad atrapadora de radicales libres. Primer Curso Nacional Teórico Práctico: Antioxidantes en Recursos Fitoterapéuticos. Facultad de Medicina Humana. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2006.
11. OECD. Guidelines for testing of chemicals. Acute oral toxicity. Acute Toxic Class Method. Organization for Economic Co-operation and Development. Guide No. 423, 2000 [Revised Draft Guideline October 2000]. URL disponible en: <http://www.oecd.org>
12. Carreño, M.; Rojas, L. Farmacología experimental pre-clínica. Un método de aprendizaje de la Farmacología para el estudiante. Primera parte. Cátedra de Farmacología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UNMSM. 2005.

CORRELACIÓN ENTRE LA ESTRUCTURA CRISTALINA Y LA T_c EN UN SUPERCONDUCTOR DE ÓXIDO DE COBRE: EL CASO $\text{CaLaBaCu}_3\text{O}_y$

J. Feijoo^a, A. Bustamante^a, L. De Los Santos^b, B.L. Williams^a, A. Osorio^c,
y J.C. González^{d*}

RESUMEN

Estudiamos el superconductor denominado $\text{CaLaBaCu}_3\text{O}_y$, preparado mediante las técnicas: reacción de estado sólido y precipitación; correlacionando sus estructuras cristalinas con la temperatura crítica superconductor a través de los resultados del refinamiento Rietveld de los difractogramas de rayos X en polvo, difracción de electrones, microscopía electrónica de barrido y susceptibilidad magnética.

Palabras clave: óxido de cobre superconductor, $\text{CaLaBaCu}_3\text{O}_y$

CORRELATION BETWEEN CRYSTALLINE STRUCTURE AND THE T_c IN A COPPER OXIDE SUPERCONDUCTOR: THE CALABACU₃O_y CASE

ABSTRACT

We studied the so-called $\text{CaLaBaCu}_3\text{O}_y$ superconductor, which was prepared by two techniques: solid state reaction and precipitation; correlating their crystalline structures and superconducting critical temperature by means of the results of the Rietveld refinement of powder X-ray diffraction patterns, electron diffraction, scanning electron microscopy and magnetic susceptibility.

Key words: copper oxide superconductor, $\text{CaLaBaCu}_3\text{O}_y$

INTRODUCCIÓN

La química sustitutiva en los materiales superconductores¹, mediante los reemplazos aliovalentes de cationes y/o aniones en la celda unitaria, produce una presión química interna² capaz de alterar la ocupancia y posición de los átomos en los bloques de reserva de carga o en los planos superconductores de CuO_2 ³. Esta presión química posee una directa influencia sobre la temperatura crítica superconductor (T_c), llevando al material de un estado superconductor a un estado semiconductor o quizás, de una mayor T_c . La transferencia interna de carga entre los planos superconductores de CuO_2 y los reservorios de carga, es un factor dominante que controla la T_c ; por ejemplo, una variación del contenido de oxígeno en el óxido cerámico superconductor $\text{YBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_7$ (Y123) a valores de oxígeno 6,4 conlleva a una transición no solamente de fase hacia el estado semiconductor sino también estructural⁴ (ortorrómbico a tetragonal).

^{a*} Laboratorio de Superconductividad, Facultad de Ciencias Físicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Ap. Postal 14-0149. Lima, Perú.

^b Cavendish Laboratory, Department of Physics, University of Cambridge, J.J Thomson Ave. Cambridge CB3 0HE. Reino Unido.

^c Grupo Sol-gel. Facultad de Química e Ing. Química. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Av. Venezuela S/N, Lima 1, Perú. aosorioa@unmsm.edu.pe

^d Instituto de Ciencia de Materiales de Sevilla – CSIC. Av. Américo Vespucio 49. Sevilla 41092. España. juanc.gonzalez@icmse.csic.es.

Los trabajos de Knizhnik⁵ y Fu⁶ reportan que durante la síntesis de la fase denominada “CaLaBaCu₃O_y” fue posible lograr reemplazos aliovalentes en los sitios de los átomos La³⁺ y Ba²⁺ por Ca²⁺ y La³⁺, respectivamente; dicho resultado fue confirmado mediante refinamientos de difracción de neutrones. Más aún, Fu manifiesta que el ion Ca²⁺ encaja mucho mejor en sitio de La³⁺ con coordinación 8 que en el sitio de Ba²⁺ con coordinación 10. Pero también en la literatura encontramos los trabajos de refinamiento de difracción de neutrones de Samal⁷ y Awana⁸ que muestran resultados sobre los reemplazos aliovalentes en la síntesis de dicho compuesto donde los átomos de Ca²⁺ y La³⁺ dopan el sitio de Ba²⁺ con unas fracciones de Ca²⁺ entre el 7 y 27%. Entonces, no resulta claro si el átomo de Ca²⁺ substituye o no el sitio de bario. Los reemplazos aliovalentes sobre el sitio de bario producen una aleatoriedad y vacancias en los sitios de oxígeno de las cadenas metálicas de Cu(1)-O en los bloques de reserva de carga; este hecho puede producir una disminución en la concentración de los huecos y por ende en la temperatura crítica superconductor.

Un hito interesante sobre el compuesto CaLaBaCu₃O_y es su cristalización en una estructura tetragonal a pesar de su contenido de oxígeno cercano a 7, pues en el óxido cerámico Y123 si la estructura es tetragonal (YBa₂Cu₃O₆)⁹ no presenta el fenómeno de la superconductividad. El CaLaBaCu₃O_y muestra una estructura laminar de cationes y aniones como se ilustra en la figura 1, donde se representa la sustitución parcial de los cationes de La³⁺ y Ba²⁺ por Ca²⁺ o La³⁺/Ca²⁺. Este compuesto tiene una celda unitaria semejante a la celda del Y123 pero con una T_c=80K¹⁰. Para la nomenclatura de los átomos hemos utilizado la misma notación de los átomos de Y123 los cuales se encuentran descritos en la tabla I de la referencia 11, con la única diferencia en los sitios de oxígeno O(2) y O(3) en la simetría ortorrómbica se transforma ahora en el sitio O(2) por la simetría tetragonal, y los sitios de oxígeno O(1), en el plano basal, presentan un valor de ocupancia promedio igual a 0,5, como se observa en los átomos de oxígenos con dos tonos en la figura 1.

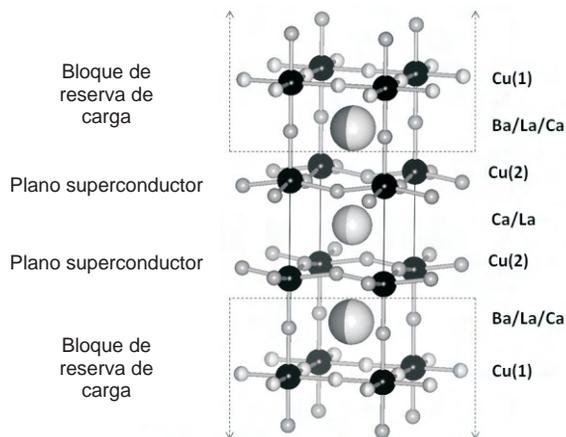


Figura 1. Estructura de la celda unitaria del CaLaBaCu₃O_y donde se muestran los planos superconductores de CuO₂ y los bloques de reserva de carga.

En este trabajo estudiamos el rol de las co-sustituciones aliovalentes en la estructura cristalina del CaLaBaCu₃O_y, debido a la controversia sobre el dopaje de Ca²⁺ en el sitio de Ba²⁺, y sus efectos sobre la superconductividad en muestras preparadas por dos métodos: el físico,

denominado reacción de estado sólido y el químico, llamado precipitación, correlacionando la estructura con la temperatura crítica superconductor.

PARTE EXPERIMENTAL

La preparación y síntesis del óxido cerámico superconductor denominado $\text{CaLaBaCu}_3\text{O}_y$ se encuentra claramente descrita en las referencias 10 y 12 para los métodos de reacción de estado sólido y precipitación, respectivamente. Brevemente, en el primer método se mezcló los óxidos precursores para luego someterlos a dos procesos de calcinado de 950 °C y seguidamente un proceso de sinterizado a 575 °C en atmosfera de oxígeno repitiendo estos pasos dos veces más, con sus etapas intermedias de molienda y empastillamiento. El segundo método consistió en la obtención de un precursor a base de oxalatos, a través de reacciones químicas con precipitación controlada cuyo tratamiento térmico contó con un solo proceso de calcinado y sinterizado a 950 °C en atmósfera oxidante.

Los difractogramas de rayos X en polvo fueron refinados mediante el método de Rietveld¹³ por medio del programa FullProf¹⁴ versión 2001. Los datos fueron colectados a temperatura ambiente en un rango de difracción $2\theta = 10^\circ - 80^\circ$, con un paso de $\Delta 2\theta = 0,02^\circ$ mediante el uso de un difractómetro *Rigaku* HGZ de configuración compacta en geometría *Bragg-Brentano*. Se utilizó las radiaciones $\text{Cu-K}\alpha 1$ y $\text{Cu-K}\alpha 2$ correspondiendo a longitudes de onda de 1,54050 Å y 1,54430 Å, respectivamente, con una relación de intensidades igual a 0,50. El fondo del espectro de rayos X en polvo fue refinado utilizando una ecuación polinómica de quinto grado. Para describir los perfiles de las reflexiones fue utilizada una función pseudo-Voigt¹⁵. No se aplicaron correcciones por absorción o microabsorción. Los valores R (R_p , R_{wp} y R_{exp}) así como el parámetro S (bondad del ajuste) fueron utilizados como criterios numéricos de convergencia para el refinamiento. La definición de los parámetros R's y S se encuentran descritos en la referencia 13. Para asegurar la convergencia de los parámetros estructurales, el refinamiento Rietveld fue realizado siguiendo el orden descrito en la referencia 16.

Las imágenes de microscopía electrónica fueron obtenidas mediante un microscopio electrónico de barrido con cañón de emisión de campo (SEM-XL30 FEG) con un detector EDX (*Energy Dispersive X-ray*) enfriado con LN_2 . La cerámica superconductor en polvo se dispersó sobre una rejilla de *holey carbon* de 200 Mesh; luego se la insertó en la columna de un microscopio de transmisión de la firma FEI Phillips Tecnai 20, con un voltaje de 200keV ($\sim 0,027\text{Å}$), con fuente de LaB_6 y cámara CCD. Para la indexación de los patrones de difracción de electrones se utilizó el programa Eje-Z de la Universidad de Cádiz¹⁷. Además se utilizó el programa VICS-II (*visualization of crystals structures - II*)¹⁸ para dibujar la estructura del compuesto. Finalmente, las medidas magnéticas fueron realizadas en un magnetómetro del tipo MPMS (*Magnetic Property Measurement System*) con dispositivo SQUID de la firma *Quantum Design* aplicando un campo de intensidad magnética externo de decenas de *Oersteds* en un rango de temperaturas de 5 a 100 K para un proceso de medida denominado enfriamiento en campo nulo (*Zero Field Cooling*)¹⁹.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La figura 2 muestra los difractogramas de rayos X en polvo para las muestras preparadas por el método de reacción de estado sólido (RES) y técnica de precipitación (SG), respectivamente. Puede observarse una buena cristalinidad de las muestras. El indexado de las reflexiones se realizó utilizando los valores del archivo PDF (*Powder Diffraction File*) # 46-0580 correspondiente al óxido cerámico denominado $\text{CaLaBaCu}_3\text{O}_y$; ninguna reflexión permanece

sin ser identificada. En la figura 2b se puede apreciar la presencia de fases espurias en el rango de $28^\circ < 2\theta < 40^\circ$. En la tabla 1 se presentan las posibles fases espurias en la síntesis del compuesto llamado "CaLaBaCu₃O_y" como manifiesta también en su trabajo De Leeuw¹⁰. En el proceso de refinamiento se incorporaron las fases espurias, observándose si éstas producían un cambio significativo en los valores de R y S. Por otro lado, la reflexión de máxima intensidad, (103), que corresponde a un valor de $2\theta = 32,658^\circ$, según el PDF # 46-0580 en la muestra preparada por la técnica de precipitación (figura 2d) presenta un error porcentual en la posición 2θ casi nulo ($< 0,01\%$), mientras que la muestra preparada por la técnica de reacción de estado sólido también presenta una mínima desviación de la reflexión (103) del orden de 0,3% (figura 2c).

Tabla 1. Fases espurias conocidas de la fase CaLaBaCu₃O_y

Fase	Simetría	Grupo espacial	Estructura	PDF
CaO	Fm-3m	225	Cúbica	01-1160
Ca ₂ CuO ₃	Immm	71	Ortorrónica	34-0282
CuO	C1/c	9	Monoclínica	05-0661
BaCuO ₂	I432	211	Cúbica	30-0123

La estequiometría del Ba²⁺ en la fórmula química del llamado CaLaBaCu₃O_y es de un valor igual a 1 que no corresponde a la estequiometría real, pues en la celda unitaria se encuentran 2 átomos de bario; esta primera estequiometría está relacionada con la tradición de citar a esta familia de superconductores¹⁰ y nosotros no iremos en contra de la tradición, pero escribiremos la composición correcta de cationes. Se inició los pasos preliminares al refinamiento Rietveld final sobre el espectro de rayos X de la muestra preparada mediante la técnica de precipitación; se realizó una cuidadosa exploración del contenido nominal de los cationes en la estructura (por medio de tres ciclos de refinamiento); se utilizó la estequiometría inicial de cationes Ca_{0,50}La_{0,50}Ba₂Cu₃, los parámetros de celda del PDF # 46-0580 y las posiciones atómicas de los cationes para el compuesto tetragonal YBa₂Cu₃O₆⁹; además, se consideró las ocupancias de los átomos de lantano y calcio se encontraban al 50% y del bario al 100%, mientras el resto de cationes (cobre) se consideró el 100% de ocupación. Por otro lado, la ocupancia de los aniones oxígenos O(2) y O(4) se consideró al 100%, pero el oxígeno O(1) al 50%, no se realizó ningún refinamiento de los valores de posición de los átomos en la estructura ni los parámetros de celda ni tampoco a los valores de U,V,W (U=0, V=0, W=0.007, constante). Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 2, donde el contenido nominal de cationes Ca_{0,80}La_{0,20}Ba_{1,60}Ca_{0,20}La_{0,20}Cu₃ se utilizó como punto de partida. Además, como se aprecia en la tabla 2, la introducción del átomo de calcio en el sitio de bario, cambia significativamente los valores R más que la propia introducción del átomo de lantano. La calidad de la correlación entre las reflexiones observada y calculada en el método de Rietveld está cuantificada por los factores R y S¹³. Solamente se ha realizado refinamiento Rietveld de las posiciones de los átomos de oxígeno pero no así de sus valores de ocupancia, pues los átomos de oxígeno poseen una menor sección eficaz de dispersión de rayos X que los cationes Ba²⁺, La³⁺, Ca²⁺, Cu²⁺ y Cu¹⁺.

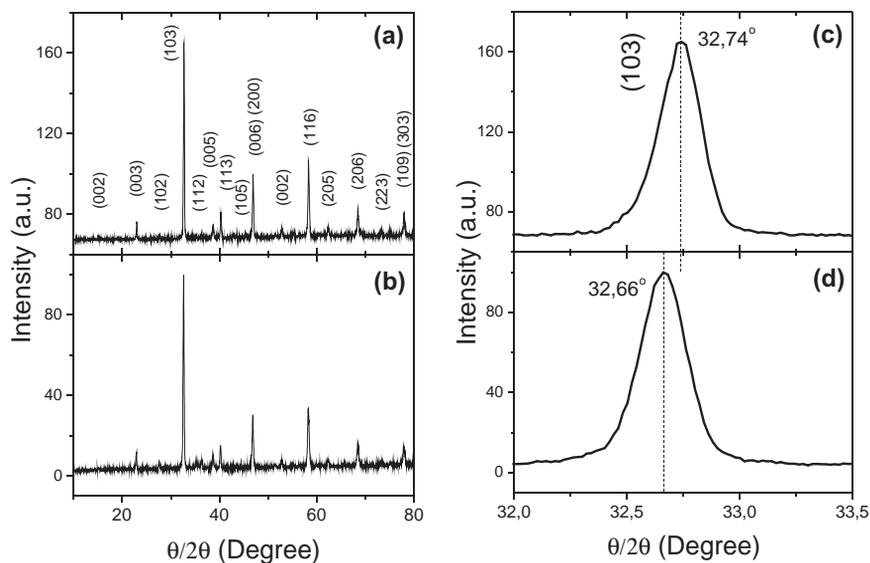


Figura 2. Difractogramas de rayos X en polvo de la muestra $\text{CaLaBaCu}_3\text{O}$, preparado por (a) reacción de estado sólido, y (b) técnica de precipitación. Reflexión (103) centrado en c) $2\theta^{\text{RES}}=32,74^\circ$ y (d) $2\theta^{\text{SG}}=32,66^\circ$.

Puede inferirse de la tabla 3, la presencia efectiva de átomos de calcio y lantano en la cosustitución del sitio de bario. El compuesto presenta unos valores de cosustitución similares, SG: Ca^{2+} (9,8%), La^{3+} (13,2%); y RES: Ca^{2+} (10,7%), La^{3+} (10,3%) derivándose una ocupancia de átomos de bario de 1,54 y 1,58, respectivamente. Estos valores se encuentran dentro del rango de sustitución aliovalente que menciona en su trabajo Narlikar¹, donde expone que una sustitución completa de un catión por un átomo dopante es posible solamente cuando el reemplazo es isovalente y para la misma coordinación su radio se ajusta dentro de aproximadamente el 15% en el sitio del catión. Haciendo hincapié que una sustitución aliovalente tiende a ser sólo parcial, como es nuestro caso. Con la ayuda de los valores de la tabla 4, la sustitución de Ca^{2+} en el sitio de La^{3+} tiene una diferencia de radio iónico del 5,1% mientras que la sustitución de Ca^{2+} en el sitio de Ba^{2+} conlleva a una diferencia del 15,8%.

A pesar del número de coordinación ideal para el Ca^{2+} sea 7,31²⁰, el átomo de calcio se acopla perfectamente en la posición *Wyckoff 1d* (0,5; 0,5; 0,5) rodeado de 8 átomos de oxígeno O(2) produciendo un cambio en la distancia entre los planos superconductores de CuO_2 debido a su menor radio iónico, pero además, la sustitución de Ca^{2+} por Ba^{2+} es un reemplazo isovalente en el sitio *Wyckoff 2h* (0,5; 0,5; 0,17132) el acople del calcio no es perfecto a causa de la diferencia de radio iónico, produciéndose una variación significativa de la ocupancia de los átomos de oxígeno en la posición *Wyckoff 2f* (0,0; 0,5; 0,0), pues la movilidad de los átomos de oxígeno O(1) es de varios órdenes de magnitud, mayor que la movilidad de los oxígenos en otros sitios²¹; es decir, produciríamos una modificación en los valores de la estequiometría del oxígeno que está directamente relacionada con la densidad de portadores de carga superconductor.

Tabla 2. Exploración del contenido nominal de cationes.

Contenido nominal	R _p	R _{wp}	R _{exp}	S
Ca _{0,50} La _{0,50} Ba ₂ Cu ₃	99	64,8	40,55	2,55
Ca _{0,80} La _{0,20} Ba ₂ Cu ₃	89,8	54,6	38,66	1,99
Ca _{0,80} La _{0,20} Ba _{1,80} La _{0,20} Cu ₃	89,9	54,6	38,66	1,99
Ca _{0,80} La _{0,20} Ba _{1,50} La _{0,50} Cu ₃	89,9	54,6	38,67	2,00
Ca _{0,80} La _{0,20} Ba _{1,0} La _{1,0} Cu ₃	89,9	54,7	38,69	2,00
Ca _{0,80} La _{0,20} Ba _{0,50} La _{1,50} Cu ₃	90	54,8	38,71	2,00
Ca _{0,80} La _{0,20} Ba _{1,60} Ca _{0,40} Cu ₃	83,2	51,4	37,38	1,89
Ca _{0,80} La _{0,20} Ba _{1,0} Ca _{1,0} Cu ₃	77,3	52,1	35,37	2,17
Ca _{0,80} La _{0,20} Ba _{1,20} Ca _{0,40} La _{0,40} Cu ₃	83,2	51,4	37,39	2,32
Ca _{0,80} La _{0,20} Ba _{1,60} Ca _{0,20} La _{0,20} Cu ₃	78,3	51,2	36,06	2,01

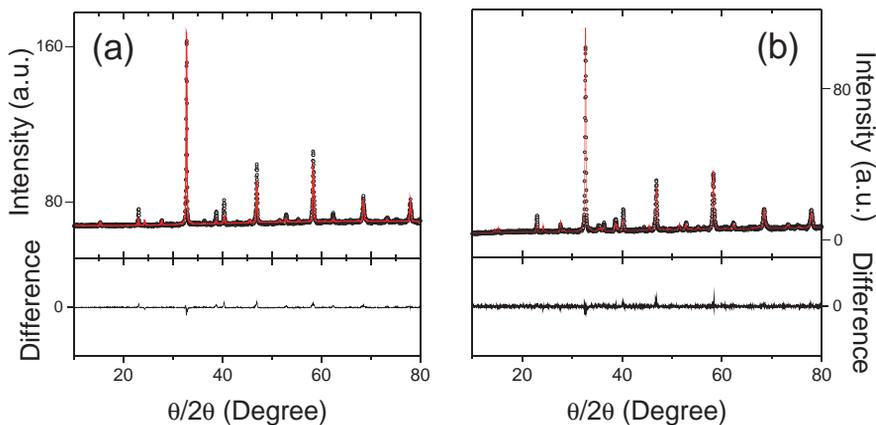
**Figura 3.** Refinamiento de los difractogramas de rayos X mediante el método de Rietveld para (a) reacción de estado sólido y (b) técnica de precipitación.

Tabla 3. Parámetros estructurales refinados del compuesto CaLaBaCu₃O_y

Parámetros de Celda		RES	SG
<i>a</i> (Å)		3,8761	3,8736
<i>c</i> (Å)		11,6457	11,6443
V (Å ³)		174,97	174,720
Átomos			
La	Ocupancia	0,20	0,20
Ca	Ocupancia	0,80	0,80
Ba	z	0,1713	0,1760
	Ocupancia	1,58	1,54
La	z	0,1713	0,1760
	Ocupancia	0,205	0,265
Ca	z	0,1713	0,1760
	Ocupancia	0,215	0,195
Cu(1)	Ocupancia	1,0	1,0
Cu(2)	z	0,3525	0,3680
	Ocupancia	2,0	2,0
O(1)	Ocupancia	0,5	0,5
O(2)	z	0,3685	0,3579
	Ocupancia	4,0	4,0
O(4)	z	0,1695	0,1698
	Ocupancia	2,0	2,0
	R _p	65	46,9
	R _w	24,5	35,1
	R _{exp}	20,10	34,8
	S	1,49	1,022

Por otro lado, el La³⁺ tiene un número de coordinación ideal igual a 8,5 que representa un diferencia del 16,9% con respecto al número de coordinación ideal del Ba²⁺; por tanto, la sustitución aliovalente de La³⁺ por Ba²⁺ ajusta su radio iónico dentro de un 15,8% en el lugar *Wyckoff 2h* en concordancia con lo expresado por Narlikar¹.

La figura 4 ilustra las imágenes por microscopía electrónica de barrido luego del proceso de síntesis. La figura 4a muestra la imagen característica de un óxido cerámico másico como resultado del proceso de cristalización mediante la reacción de estado sólido a diferencia de la

muestra obtenida por la segunda técnica (figura 4b) donde se puede apreciar la granulosidad inherente de la preparación por medio de una solución química.

Tabla 4. Número de coordinación y radio iónico.

Elemento	Valencia atómica	Número de coordinación ideal	Número de coordinación	Radio iónico (Å)
Ca	2+	7,31	8 10	1,12 1,28
La	3+	8,5	8 10	1,18 1,28
Ba	2+	10,24	8 10	1,42 1,52

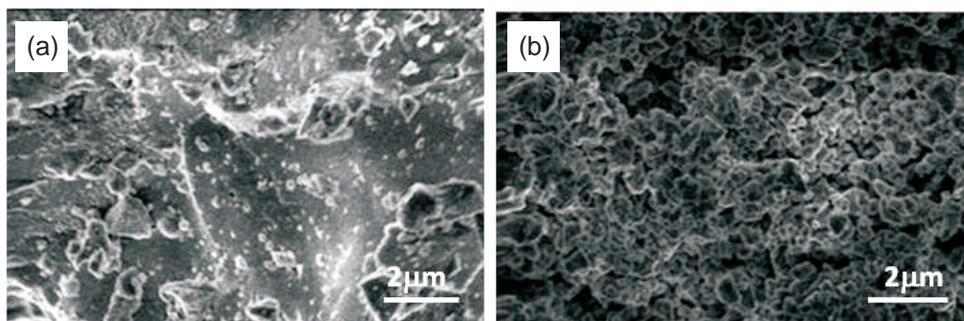


Figura 4. Imágenes de microscopía electrónica de barrido con una magnificación de 10000x para las muestras preparadas por: (a) reacción de estado sólido y (b) técnica de precipitación.

El patrón de difracción de electrones para la muestra SG se muestra en la figura 5. Los datos de los parámetros de red del $\text{CaLaBaCu}_3\text{O}_{7-x}$, se utilizaron como datos de entrada para el programa eje-Z¹⁷. Los planos (10 $\bar{3}$), (01 $\bar{3}$), (0 $\bar{1}$ 3) y (1 $\bar{1}$ 0) mostrados en la tabla 3 de la referencia 22 presentan un ángulo cercano a los 60 grados; como en el caso presentado aquí, dichos planos participan en la difracción de electrones. El eje de zona que es perpendicular a dichos planos corresponde a la orientación cristalina [331]. Corroborándose así la simetría tetragonal de la celda unitaria. El indexado posterior de los demás puntos del patrón fue iniciado a partir de los planos cristalinos (1 $\bar{1}$ 0) y (10 $\bar{3}$), por una simple adición vectorial de forma autoconsistente²², con la condición que los índices de los vectores de la red recíproca sean enteros y que éstos no se encuentren prohibidos por la red.

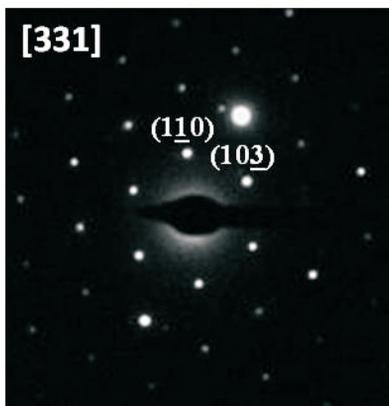


Figura 5. Patrón de difracción de electrones en una región monocristalina del óxido superconductor $\text{CaLaBaCu}_3\text{O}_3$, preparado por técnica de precipitación.

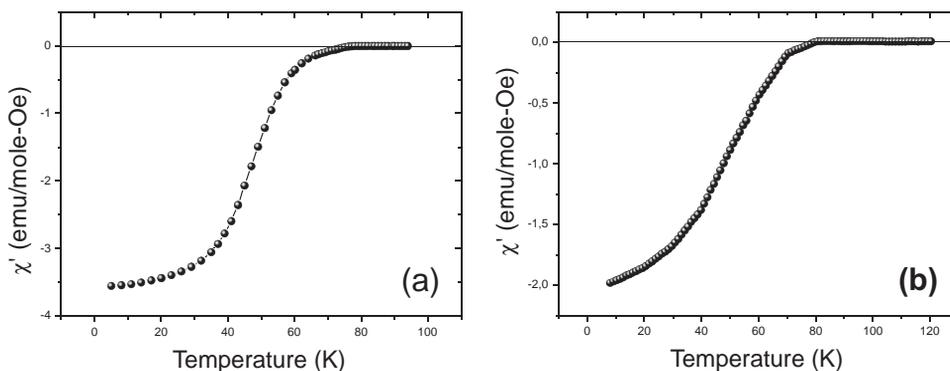


Figura 6. Medidas de susceptibilidad magnética en proceso de enfriamiento en campo nulo (ZFC): (a) reacción de estado sólido con una $T_c = 78\text{K}$, y (b) técnica de precipitación con una $T_c = 81\text{K}$.

La temperatura crítica superconductor se determinó a través del valor negativo de la curva de susceptibilidad magnética (señal diamagnética). Como se ilustra en la figura 6, observamos que la señal diamagnética sólo se satura a bajas temperaturas, indicando la naturaleza granular de la fase superconductor y una superconductividad característica de muestras másicas, por lo cual consideramos que las fronteras de grano superconductores forman uniones débiles del tipo Josephson¹⁹. La muestra preparada por la técnica de precipitación presenta la mayor T_c , igual a 81K y un ancho de transición igual a $\Delta T_c = 38,2\text{K}$, mientras que la muestra preparada por el método RES, $T_c = 78\text{K}$ y un ancho de transición igual a $\Delta T_c = 20,9\text{K}$. El criterio de la primera derivada se utilizó para calcular el ancho de la transición superconductor²³. Al cuantificar la fracción del blindaje diamagnético¹⁹ de las gráficas de susceptibilidad magnética medidas en un proceso de

enfriamiento en campo nulo, se obtuvo unos valores de 4,8% a 5K y 2,7% a 8K para la muestra preparada mediante reacción de estado sólido y técnica de precipitación, respectivamente.

La presencia de fases espurias en la muestra SG no altera el valor de la señal diamagnética pues el procedimiento de detección del momento magnético del compuesto está relacionado con un volumen superconductor existente, más que un camino superconductor, como es el caso en las medidas de transporte eléctrico, donde la presencia de una fase no superconductora puede alterar el registro de la señal.

Podemos estimar el contenido de oxígeno en nuestras muestras basados en la condición de neutralidad eléctrica del compuesto y los valores de ocupancia de los átomos en los compuestos mostrados en la tabla 3. Donde se ha considerado la valencia del cobre Cu(2) y Cu(1) igual a +2. Para la familia del CaLaBaCu₃O₇, el contenido teórico es de un valor cercano a 7; la muestra preparada por la técnica de precipitación es la más cercana a dicha magnitud, con un error porcentual igual a 10,7% (O_{6,25}), mientras que por el método RES posee un error porcentual igual al 11,4% (O_{6,20}). Esta diferencia está marcada por la mayor presencia de átomos de calcio en el sitio de Wyckoff 1d como se ilustra en los resultados de la tabla 2, que producen una reducción de átomos de oxígeno en el plano basal. El contenido de oxígeno utilizado para el método de Rietveld fue de 6,5. En nuestras muestras existe un compromiso entre los átomos de oxígeno O(1) reducidos por la presencia de Ca²⁺ en el sitio de La³⁺ y una acumulación de oxígenos O(1) alrededor del La³⁺ en el sitio de Ba²⁺ (que pueden ubicarse en el plano basal) como menciona en su trabajo Goldshmidt²⁴.

Por lo tanto, a la vista de los resultados obtenidos por ambas técnicas existe una correlación unívoca entre la estructura cristalina y la Tc según el método de preparación de las muestras, como se puede observar en los valores de la tabla 2 y tabla 5. Reemplazos aliovalentes de calcio sobre el sitio de bario conlleva a una directa variación en la estequiometría del oxígeno y por ende a una disminución de la temperatura crítica superconductora del compuesto. Aunque el método de reacción de estado sólido permite obtener materiales superconductores de alta Tc es necesaria una inversión de tiempo para la síntesis del compuesto por medio de tratamientos térmicos, la técnica de precipitación permite obtener compuestos con volúmenes superconductores de alta Tc con una menor inversión de tiempo en los tratamientos térmicos.

Tabla 5. Correlación de valores experimentales

	Tc (K)	ΔTc (K)	V (Å ³)	Ca ²⁺	La ³⁺	O _y
RES	78	20,9	174,97	0,215	0,205	6,20
SG	81	38,2	174,72	0,195	0,265	6,25

CONCLUSIONES

Hemos logrado sintetizar un óxido cerámico superconductor (Ca,La)[Ba,La,Ca]₂Cu₃O_y mediante el método de reacción de estado sólido y la técnica de precipitación. Nuestras muestras han cristalizado en una simetría tetragonal P4/mmm, obteniéndose una máxima Tc de 81K para la muestra preparada por el método químico. Los reemplazos aliovalentes en el sitio de La³⁺ y Ba²⁺ permitieron correlacionar la estructura cristalina del óxido de cobre: parámetros de red, ocupancia de cationes, contenido nominal de oxígeno con la temperatura crítica superconductora; las reducciones en el contenido de oxígeno conlleva a un disminución de los valores de Tc. La técnica de precipitación permite obtener compuestos superconductores de alta Tc granulares con una menor inversión de tiempo en los tratamientos térmicos con respecto al método de reacción de estado sólido.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo ha sido realizado mediante el apoyo del CSI-UNMSM por medio de los proyectos de investigación Nros. 070701041 y 081301021. L. De Los Santos agradece al programa ALBAN de la Unión Europea (beca No E06D101257PE) y al Cambridge Overseas Trust (COT bursary) por la financiación de sus estudios de doctorado. Finalmente, JC González agradece al Consejo Superior de Investigaciones Científicas (España) por su contrato JAE-Doc (2009-2012) en el ICMSe-CSIC.

BIBLIOGRAFÍA

1. Narlikar, A.V., Narasimha Rao, C.V., and Agarwal, S.K. Substitutional studies on high temperature superconductors. En: Anant Narlikar Editores. Studies of High Temperature Superconductores. Advances in research and applications Vol1. Nova Science Publishers. United States of America, 1989.
2. Karen, P., Fjellvag, H., Kjekshus, A., and Andresen, A.F. *J Solid State Chem.* 1991, 92: 57 – 67.
3. Cava, R.J. *J. Am. Ceram. Soc.* 2000, 83 (1): 5 – 28.
4. Whango, M.-H., and Torardi, C.C. *Science.* 1990, 249: 1143 – 1146.
5. Knizhnik, A.; Reisner, G.M.; Shter, G.E.; Grader, G. S. and Eckstein, Y. *Supercond. Sci. Technol.* 2004, 17: 1389 – 1394.
6. Fu, W.T., Zandbergen, H.W., Van Der Beek, C.J. and De Jongh, L. *J. Physica C.* 1988, 156: 133 – 136.
7. Samal, S L, Lofland, S E., Ramanujachary, K V., Sarkar, N., Ghosh, S. and Ganguli, A K. *Supercond. Sci. Technol.* 2008, 21: 085007 (7pp)
8. Awana, V.P.S. and Narlikar, A.V. *Modern Phys. Lett.* 2001, 15 (14): 415 – 456.
9. Wang, H., Li, D.X., Thomson, W.J. *J. Am. Ceram. Soc.* 1988, 71 (11) C463 – C465.
10. De Leeuw, D.M., Mutsaers C.A., Van Hal, H.A., Verweij, H., Carim, A.H., and Smoorenburg, H.C. *Physica C.* 1988, 156: 126 – 132.
11. González, J. C.; Osorio, Ana María. *Rev. Soc. Quím. Perú* 2008; 74 (4): 298 – 310.
12. Feijóo, Juan; Osorio, Ana María; Bustamante, Ángel ; De los Santos Valladares, Luis; Castro, Amado; Carhuacho, María H.; Aguirre, Rosa. *Rev. Soc. Quím. Perú* 2007; 73 (4): 208 – 214.
13. Young, R.A. Introduction to the Rietveld method. En: R.A. Young Editors. The Rietveld method. Oxford University Press. United Kingdom, 1993.
14. Free download at:
<ftp://charydbe.saclay cea.fr/pub/divers/fullprf.2k/windows/winf2k.zip>
15. Young, R.A. and Wiles, D.B. *J. Appl. Cryst.* 1982, 15: 430 – 438.
16. González, J.C., Osorio, A., Bustamante, A., Carhuacho, M.H., Castro, A., Marín, R. *Rev. Per. Quím Ing. Quím.* 2006, 9 (2): 11 – 17.
17. Grupo de Estructura y Química de Nanomateriales. Departamento de Ciencia de Materiales, Ing. Metalúrgica y Química Inorgánica. Facultad de Ciencias. Universidad de Cádiz. España. http://www2.uca.es/dept/cmat_qinor/catalisis/software.htm.
18. Software VICS-II. http://www.geocities.jp/kmo_mma/crystal/en/download-vics.html
19. González, J.C., Osorio, A., Bustamante, A. Aceptado para publicarse en: *Rev. Inv. Fis.* 2009, 12 (2).
20. Brown, I.D. The chemical bond in inorganic chemistry. Oxford University Press. United States of America. 2002.
21. Aswal, D.K., Gupta, S.K., Narang, S.N., Sabharwal, S.C., and Gupta, M.K. *Thin Solid Films* 1997, 292: 277 – 281.
22. González, J. C., De los Santos, L., Feijoo, J., Osorio, A., Bustamante, A. *Rev. Soc. Quím. Perú* 2009, 75 (4): 422 – 430.
23. Poole C. P. Jr., Farach, H. A., and Crewick, R. J. “Superconductivity”. Chapter 2, page 21. Ed. Academic Press. 1995.
24. Goldshmidt, D., Knizhnik, A., Direktovitch, Y., Reisner, G.M., Eckstein Y. *Phys. Rev. B* 1994, 49 (22) 15928 – 15935.

EFFECTS OF DEPOSITION PERIOD ON THE CHEMICAL BATH DEPOSITED Cu_4SnS_4 THIN FILMS

Anuar Kassim^a, Saravanan Nagalingam^b, Tan Wee Tee^a and Ho Soon Min^a

ABSTRACT

Cu_4SnS_4 thin films were prepared by simple chemical bath deposition technique. The influence of deposition period on the structural, morphological and optical properties of films was studied. The films were characterized using X-ray diffraction, atomic force microscopy and UV-Vis Spectrophotometer. X-ray diffraction patterns indicated that the films were polycrystalline with prominent peak attributed to (221) plane of orthorhombic crystal structure. The films prepared at 80 min showed significant increased in the intensity of all diffractions. According to AFM images, these films indicated that the surface of substrate was covered completely. The obtained films also produced higher absorption characteristics when compared to the films prepared at other deposition periods based on optical absorption studies. The band gap values of films deposited at different deposition periods were in the range of 1.6-2.1 eV. Deposition for 80 min was found to be the optimum condition to produce good quality thin films under the current conditions.

Key words: Thin film, chemical bath deposition, band gap energy.

INTRODUCTION

Interest on the preparation and study of physical properties of thin film semiconductors for their possible applications in optoelectronic devices, solar cells, infrared detectors and light emitting diodes has been increasing in the recent years. The properties of thin films prepared by different methods are critically dependent on the nature of preparation technique. In the past few decades, several techniques such as chemical bath deposition, vacuum evaporation, electrodeposition, molecular beam epitaxy, close spaced sublimation, thermal evaporation, spray pyrolysis, sputter deposition and plasma-enhanced chemical vapor deposition have been used in the deposition of thin films. Chemical bath deposition technique is relatively simple, cost effective and can be applied in large area deposition at low temperature. This method does not require vacuum and sophisticated instrumentation.

The vast preparation and studies of metal chalcogenides thin films using chemical bath deposition method can be classified into two categories. Examples of binary compounds are MnS^1 , SnS^2 , SnSe^3 , CdSe^4 , Sb_2S_3^5 , PbS^6 , CdS^7 and ZnSe^8 . Meanwhile, CuInSe_2^9 , $\text{Cd}_{0.5}\text{Zn}_{0.5}\text{Se}^{10}$ and CuBiS_2^{11} are examples of ternary metal chalcogenides. Here, we report the preparation and characterization of Cu_4SnS_4 thin films by chemical bath deposition method. Nair and co-workers¹² reported the formation of Cu_4SnS_4 thin films by heating sequentially deposited SnS and CuS films (both obtained by chemical bath deposition) at 400 °C in a nitrogen atmosphere. In this work, copper tin sulphide thin films have been deposited on indium tin oxide glass substrates from aqueous solutions containing CuSO_4 , SnCl_2 , $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$. The Na_2EDTA was used

^a Department of Chemistry, Faculty of Science, Universiti Putra Malaysia, 43400 Serdang, Selangor, Malaysia.

^b Department of Bioscience and Chemistry, Faculty of Engineering and Science, Universiti Tunku Abdul Rahman, 53300 Kuala Lumpur, Malaysia.

* Corresponding author, E-mail: anuar@science.upm.edu.my

as complexing agent during deposition. To date, there have been no reports in the literature on the investigation of deposition period (40-180 min) on the properties of Cu_4SnS_4 thin films. The structure of the film was studied by X-ray diffraction. The morphology and optical absorption properties were determined by using atomic force microscope and UV-Visible Spectrophotometer, respectively.

EXPERIMENTAL

All the chemicals used for the deposition were analytical grade. It includes copper sulfate (CuSO_4), tin chloride (SnCl_2), sodium thiosulfate ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), disodium ethylenediaminetetraacetic acid (Na_2EDTA) and hydrochloric acid (HCl). All the solutions were prepared in deionised water (Alpha-Q Millipore). The indium doped tin oxide (ITO) glass was used as the substrate. Before deposition, the glass slides were degreased with ethanol for 10 min. Then, ultrasonically cleaned with distilled water for another 10 min and dried in desiccators. Deposition of Cu_4SnS_4 thin films was carried out at 50 C at pH 1.5 by using following procedure: 10 ml of SnCl_2 (0.05M) and CuSO_4 (0.05M) were taken in a 100 ml beaker, respectively. Then, 10 ml of 0.1 M Na_2EDTA as complexing agent was added into both beakers with constant stirring. To it, 10 ml of $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (0.05M) was added slowly. The resultant solution was stirred for few minutes. The cleaned glass substrates were immersed vertically into beaker. In order to determine the optimum conditions for the deposition process, the films were deposited at different deposition periods (40-180 min). After completion of deposition, the deposited films were tested for adhesion by subjecting them to a steady stream of distilled water.

X-ray diffraction analysis was carried out, using a Philips PM 11730 diffractometer for the 2θ ranging from 20° to 60° with CuK_α ($\lambda=1.5418 \text{ \AA}$) radiation. Surface topography was measured by using an atomic force microscopy (Quesant Instrument Corporation, Q-Scope 250) operating in contact mode, with Si_3N_4 cantilever. Optical absorption study was carried out using the Perkin Elmer UV/Vis Lambda 20 Spectrophotometer. The film-coated indium doped tin oxide glass was placed across the sample radiation pathway while the uncoated ITO glass was put across the reference path. The absorption data were manipulated for the determination of the band gap energy (E_g).

RESULTS AND DISCUSSION

Figure 1 shows the X-ray diffraction (XRD) patterns of Cu_4SnS_4 thin films deposited at different deposition periods. The XRD patterns from all the samples have shown a major diffraction peak at $2\theta=30.2^\circ$ which is corresponding to (221) orientation of orthorhombic structure of Cu_4SnS_4 . In addition to the (221) plane, we also observed other diffraction peaks at $2\theta = 28.5^\circ, 35.2^\circ, 47.2^\circ$ and 50.6° which are attributed to (102), (420), (040) and (711) planes, respectively. In particular, the film deposited for 80 min showed higher intensity for all diffraction peaks indicating that this deposition period is favorable for the Cu_4SnS_4 films growth. The observed d -spacing values were compared with standard d -spacing values¹³ (Reference code: 01-071-0129) and are in good agreement with standard d -spacing values. On the other hand, the presence of the indium tin oxide peaks¹⁴ (Reference code: 01-089-4598) in the XRD patterns is due to the glass substrate used during deposition. There is only single peak occurred at $2\theta = 21.3^\circ$ corresponding to (211) plane was detected as shown in figure 1(a)-(d). According to XRD patterns, the higher intensity of Cu_4SnS_4 peaks could be observed as compared to the substrate peaks.

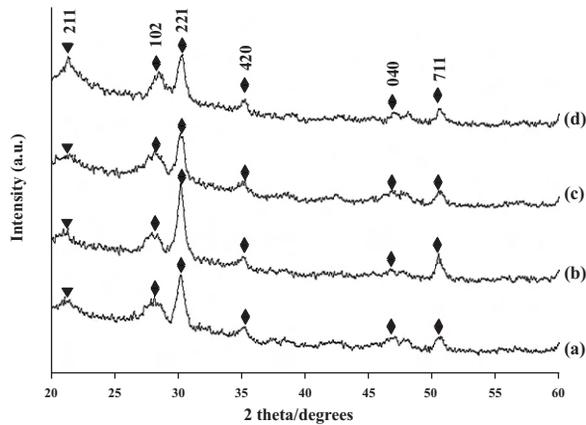


Figure 1. X-ray diffraction patterns of Cu_4SnS_4 thin films deposited at different deposition periods (a) 40 min (b) 80 min (c) 150 min (d) 180 min [Cu_4SnS_4 \blacklozenge , indium tin oxide]

Figure 2 shows three-dimensional AFM images (20 m X 20 m) for Cu_4SnS_4 thin films deposited onto ITO glass substrates at different deposition periods. The films deposited at 40 min showed incomplete coverage of material over the surface of substrates (figure 2a). It is also pointed out that the film formation was irregular and the film thickness was estimated to be 960 nm. As the deposition time was increased to 80 min, more surface coverage was noticed. There are more materials to be deposited onto substrate and thicker film (2422 nm) to be formed (figure 2b). However, thinner films could be observed when the deposition time was increased further to 150 min (664 nm) and 180 min (322 nm), respectively, as shown in figure 2(c) and 2(d).

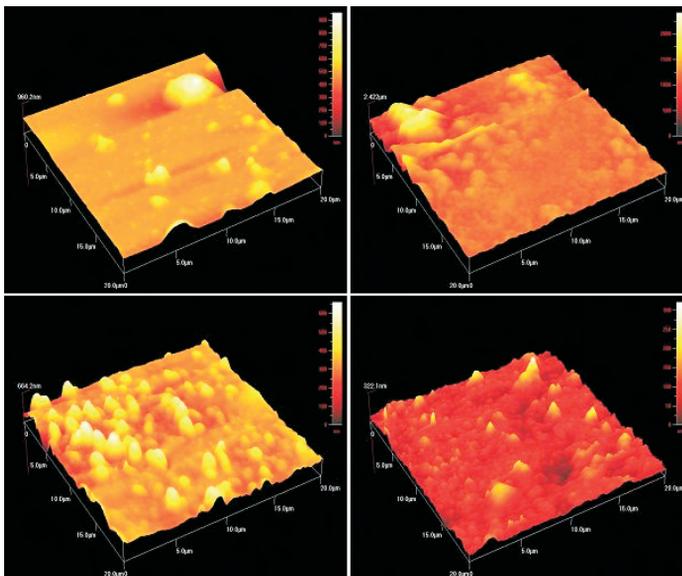


Figure 2: Atomic force microscopy images of Cu_4SnS_4 thin films deposited at different deposition periods (a) 40 min (b) 80 min (c) 150 min (d) 180 min

The optical properties of Cu_4SnS_4 thin films were measured in the range of 300–800 nm using UV-Vis Spectrophotometer. Figure 3 presents the absorbance spectra of Cu_4SnS_4 thin films deposited at different deposition periods. The results showed that the film deposited at 80 min produced higher absorption characteristics as compared with other deposition periods. This could be due to thicker films formed onto surface of the substrate.

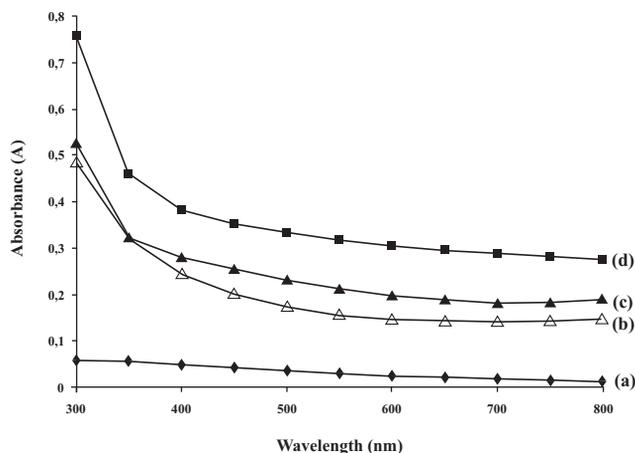


Figure 3: Optical absorbance versus wavelength of the Cu_4SnS_4 thin films deposited at different deposition periods (a) 80 min (b) 150 min (c) 180 min (d) 80 min

Band gap energy and transition type can be derived from mathematical treatment of data obtained from optical absorbance versus wavelength with Stern¹⁵ relationship of near-edge absorption:

$$A = \frac{[k(h\nu - E_g)^{n/2}]}{h\nu} \quad (1)$$

where ν is the frequency, h is the Planck's constant, k equals a constant while n carries the value of either 1 or 4. The value of n is 1 and 4 for the direct transition and indirect transition, respectively. Figure 4 shows the plots of $(Ah\nu)^2$ versus $h\nu$ for the Cu_4SnS_4 thin films deposited at various deposition periods. For all of the deposited thin films, $(Ah\nu)^2$ is a linear function of $h\nu$, as expected for a direct band gap semiconductor. The band gap values of the films can be obtained by linear extrapolation of the curves to zero absorption. It is found that the band gap energy decreases from 2.05 to 1.6 eV as the deposition time is increased from 40 to 80 min. However, the band gap energy increases (1.8 to 2.1 eV) when the deposition time is increased further from 150 to 180 min. The observed variation in the band gap values is an indication of the effects of deposition period on the properties of the semiconductor.

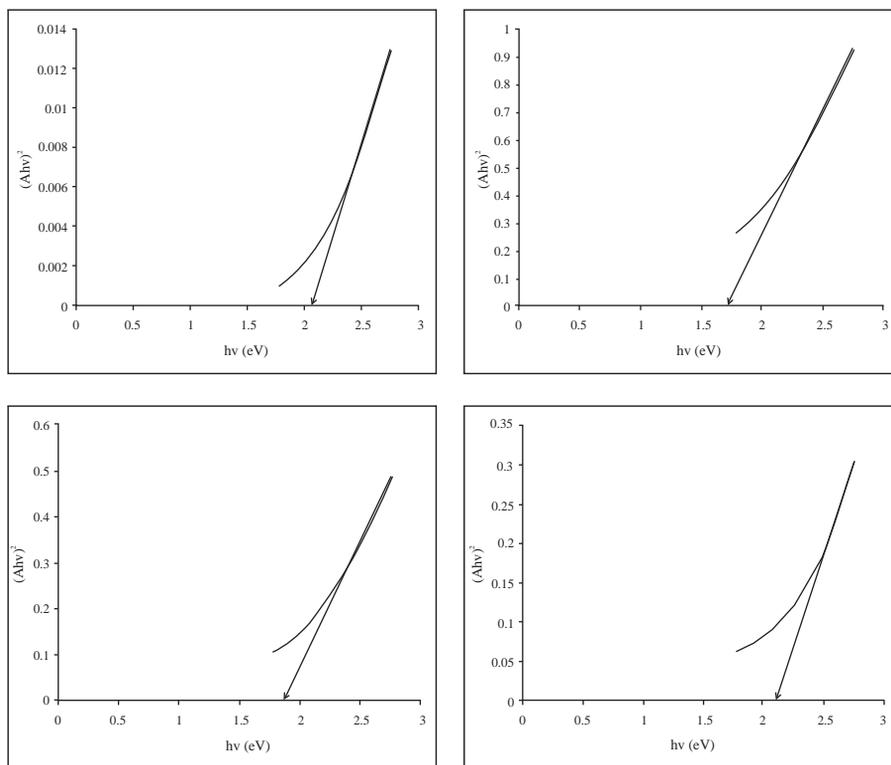


Figure 4: Plots of $(Ah\nu)^2$ versus $h\nu$ for Cu_4SnS_4 thin films deposited at different deposition periods (a) 40 min (b) 80 min (c) 150 min (d) 180 min

Figure 5 shows the difference between photocurrent (I_p) and darkcurrent (I_d) response for the Cu_4SnS_4 thin films deposited at various deposition periods in contact with $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ redox system solution. When the deposition time was increased from 40 to 80 min, the difference in the photoresponse increased. This is due to more Cu_4SnS_4 grains are exposed towards the redox system. The results are match with AFM analysis. The decrease in the difference between the photocurrent and darkcurrent could be observed as the deposition time was increased to 180 min. The current change with illumination exhibits semiconductor behaviour of the materials. Apparently, the photocurrent occurs on negative potential shows the films prepared are of *p*-type material.

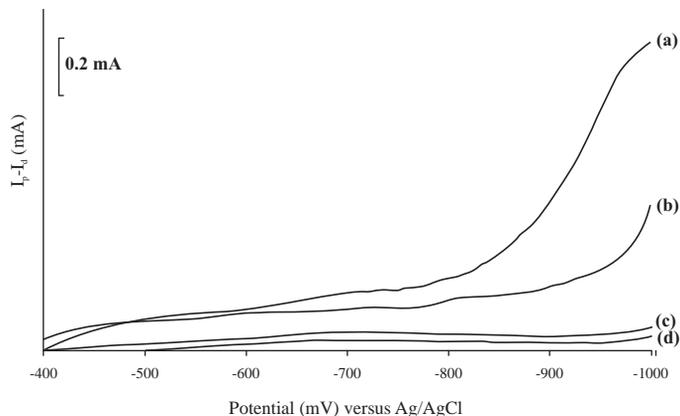


Figure 5: Difference between photocurrent and darkcurrent for the Cu_4SnS_4 thin film deposited at various deposition periods (a) 80 min (b) 150 min (c) 180 min (d) 40 min

CONCLUSIONS

Cu_4SnS_4 thin films were deposited by chemical bath deposition technique from aqueous solutions consisting of copper sulphate, tin chloride and sodium thiosulfate. X-ray diffraction patterns indicated that the films were polycrystalline with prominent peak attributed to (221) plane of orthorhombic crystal structure. The films prepared at 80 min showed significant increase in the intensity of all diffractions. According to AFM images, these films indicated that the surface of substrate was covered completely. The obtained films also produced higher absorption characteristics when compared to the films prepared at other deposition periods based on optical absorption studies. The band gap values of films deposited at different deposition periods were in the range of 1.6-2.1 eV. Deposition for 80 min was found to be the optimum condition to produce good quality thin films under the current conditions.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank the Department of Chemistry, Universiti Putra Malaysia for the provision of laboratory facilities and MOSTI for the National Science Fellowship.

REFERENCES

1. Gumus, C., Ulutas, C., Esen, R., Ozkendir, O.M., Ufuktepe, Y. *Thin Solid Film*, 2005; 492: 1-5.
2. David, A., Guadalupe, D., Nair, M.T.S., Nair, P.K. *Thin Solid Films*, 2007; 515: 5771-5776.
3. Zainal, Z., Saravanan, N., Anuar, K., Hussein, M.Z., Yunus, W.M.M. *Mater. Sci. Eng., B*, 2004; 107: 181-185.
4. Dhanam, M., Prabhu, R.R., Manoj, P.K. *Mater. Chem. Phys.*, 2008; 107: 289-296.
5. Sarah, M., Nair, M.T.S., Nair, P.K. *Thin Solid Films*, 2007; 515: 5777-5782.

6. Seghaier, S., Kamoun, N., Brini, R., Amara, A.B. *Mater. Chem. Phys.*, 2006; 97: 71-80.
7. Kostoglou, M., Andritsos, N., Karabelas, A.J. *Thin Solid Films*, 2001; 387: 115-117.
8. Hankare, P.P., Chate, P.A., Chavan, P.A., Sathe, D.J. *J. Alloys Compd.*, 2008; 461: 623-627.
9. Bindu, K., Kartha, C.S., Vijayakumar, K.P., Abe, T., Kashiwaba, Y. *Sol. Energy Mater. Sol. Cells*, 2003; 79: 67-79.
10. Kale, R.B., Lokhande, C.D., Mane, R.S., Han, S.H. *Appl. Surf. Sci.*, 2007; 253: 3109-3112.
11. Sonawane, P.S., Wani, P.A., Patil, L.A., Seth, T. *Mater. Chem. Phys.*, 2004; 84: 221-227.
12. Nair, M.T.S., Lopez-Mata, C., GomezDaza, O., Nair, P.K. *Semicond. Sci. Technol.*, 2003; 18: 755-759.
13. Jaulmes, S., Rivet, J., Laruelle, P. *Acta Crystallogr; Sec. B.*, 1977; 33: 540-542.
14. Nadaud, N., Lequeux, N., Nanot, M., Jove, J., Roisnel, T., *J. Solid State Chem.*, 1998; 135: 140-148.
15. Stern, F. *Solid State Phys.*, 1963; 15: 299-408.

ANTOCIANINAS, POLIFENOLES, ACTIVIDAD ANTI-OXIDANTE DE SACHAPAPA MORADA (*Dioscorea trifida* L.) Y EVALUACIÓN DE LIPOPEROXIDACIÓN EN SUERO HUMANO

Fernando Ramos-Escudero^{1*}, Ana María Muñoz¹, Carlos Alvarado-Ortiz Ureta¹,
Jaime A. Yáñez²

RESUMEN

El contenido total de antocianinas y polifenoles fue determinado por espectrofotometría. La actividad anti-oxidante de los pigmentos extraídos de *Dioscorea trifida* L, fue evaluada utilizando diferentes test de anti-oxidantes, incluyendo, secuestro de radical libre (DPPH[•], y ABTS^{•+}), así como secuestro del radical anión superóxido. La actividad anti-oxidante *in vitro* de los extractos de *Dioscorea trifida* L sobre la peroxidación lipídica en suero humano fue evaluada a diferentes concentraciones. El mayor porcentaje de inhibición (66,7%) de peroxidación de lípidos se obtuvo a la concentración de extracto de *Dioscorea trifida* L de 2,06 mg/mL. El coeficiente de inhibición al 50% fue de 1,824 mg/mL. Los pigmentos extraídos de la sachapapa morada son colorantes naturales que exhiben excelente actividad anti-oxidante y que ofrecen el potencial de ser beneficiosos para la salud y que pueden ser aplicados en las áreas alimenticias y de salud.

Palabras clave: *Dioscorea trifida* L, antocianinas, polifenoles, actividad anti-oxidante, malondialdehído, suero humano

ANTHOCYANINS, POLYPHENOLS, ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PURPLE SACHAPAPA (*Dioscorea trifida* L.) AND EVALUATION OF LIPID PEROXIDATION IN HUMAN SERUM

ABSTRACT

The total content of anthocyanins, total polyphenols were determined spectrometrically. The anti-oxidant activity of the *Dioscorea trifida* L extracted pigments was evaluated using different anti-oxidant assays including: free radical scavenging (DPPH[•], and ABTS^{•+}), as well as superoxide anion radical scavenging. The *in vitro* anti-oxidant activity of *Dioscorea trifida* L extracts against the lipidic peroxidation in human serum was evaluated at different concentrations.

The largest inhibition percentage (66,37%) was achieved at the extract concentration of *Dioscorea trifida* L of 2,06 mg/mL. The inhibition coefficient to 50% (IC₅₀) was 1,824 mg/mL. The pigments extracted from purple sachapapa are natural colorants that exhibit excellent anti-oxidant activity and offer the potential to be beneficial for health and that could be applied in the food and health science fields.

* Corresponding author

E-mail address: frescudero4711@yahoo.es (Ramos-Escudero F). Tel.: 0051-1-3652300

¹ Universidad de San Martín de Porres, Facultad de Medicina Humana, Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición. Av. Alameda del Corregidor 1531, La Molina (Lima, Perú).

² Department of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, Merck & Co., Inc. Merck Research Laboratories, Kenilworth, NJ 07033, USA

Key words: *Dioscorea trifida* L, anthocyanins, polyphenols, anti-oxidant activity, malondialdehyde, human serum.

INTRODUCCIÓN

La región amazónica posee una gran cantidad de recursos; dentro de éstos se encuentra la sachapapa morada (*Dioscorea trifida* L). Tradicionalmente es usada por los pobladores de la selva, pero también es utilizada para la alimentación de cerdos por su valor nutricional. *Dioscorea trifida* L, conocida como sachapapa morada en la zona del Alto Huallaga, es un tubérculo perteneciente a la familia de las *Dioscoreaceae*. Esta planta nativa de América tropical es muy apreciada por su sabor y fina textura. Los tubérculos son de mediano tamaño y según la variedad son blancos hasta morado intenso. La familia de las *Dioscoreaceae* agrupa seis géneros diferentes: *Stenomeris*, *Avetra*, *Trichopus*, *Rajania*, *Tamus* y *Dioscorea*. Desde el punto de vista de la alimentación humana el más importante es el género *Dioscorea*, el cual comprende más de 600 especies e incluye todas las económicamente importantes. Actualmente, la especie asiática *Dioscorea alata* ocupa la mayor superficie cultivada en los trópicos, y le siguen en importancia *Dioscorea cayenensis*, *Dioscorea bulbifera*, *Dioscorea trifida* y *Dioscorea esculenta*¹.

Las plantas sintetizan y acumulan una gran cantidad de metabolitos secundarios tales como los polifenoles en respuesta al estímulo y estrés fisiológico. Ellos son sintetizados a partir de fenilalanina por la vía del shikimato. Estos compuestos fenólicos juegan un rol vital en las plantas y regulan el metabolismo y síntesis de la lignina². Las antocianinas son sintetizadas por la vía de los fenilpropanoides. En la figura 1 se muestra la biosíntesis de las antocianinas a partir de 3-malonil-CoA y 4-coumaroil-CoA³.

Las antocianinas son pigmentos naturales los cuales son responsables del color azul, púrpura, violeta y rojo de las frutas, vegetales, cereales, tubérculos, granos y flores, los cuales son una de clases de flavonoides con mayor actividad anti-oxidante⁴. Además, en la naturaleza, hay más de 200 compuestos que pertenecen a este grupo, usualmente están unidos a residuos de sacáridos: glucosa, galactosa, ramnosa, arabinosa como 3-glicósidos o 3,5-diglicósidos, mientras que raras veces se encuentran como agluconas.

La peroxidación de lípidos expuestos al oxígeno es responsable del daño a los tejidos *in vivo*; los cuales pueden producir cáncer, enfermedades inflamatorias, aterosclerosis y envejecimiento. Los efectos deletéreos se consideran atribuidos a los radicales libres (ROO[•], RO[•], OH[•]), producidos durante la formación de peróxidos a partir de ácidos grasos con enlaces dobles interrumpidos por metileno; es decir, los enlaces presentes en los ácidos grasos poli-insaturados naturales⁵. Como consecuencia del metabolismo celular normal, se producen radicales libres que generalmente son eliminados por los receptores endógenos pero que también pueden interactuar con lípidos séricos y tisulares provocando su peroxidación. Dada la naturaleza inestable de los productos de la peroxidación lipídica resulta difícil determinar la magnitud de dicha peroxidación. La peroxidación lipídica juega un papel importante en la patogénesis y gravedad de diversas enfermedades⁶. El malondialdehído (MDA) es el aldehído más significativo obtenido en dicha degradación y también el más estudiado⁶. Malondialdehído (MDA) es un subproducto natural de la peroxidación de lípidos y síntesis de prostaglandinas, y es muy activo al inducir daño al ADN ya que forma aductos de 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OH-dG) y 8-Oxo-2'-desoxiadenosina (8-oxodAd) al reaccionar con el ADN⁷. La peroxidación lipídica consiste en una reacción en cadena la cual proporciona un suministro continuo de radicales libres.

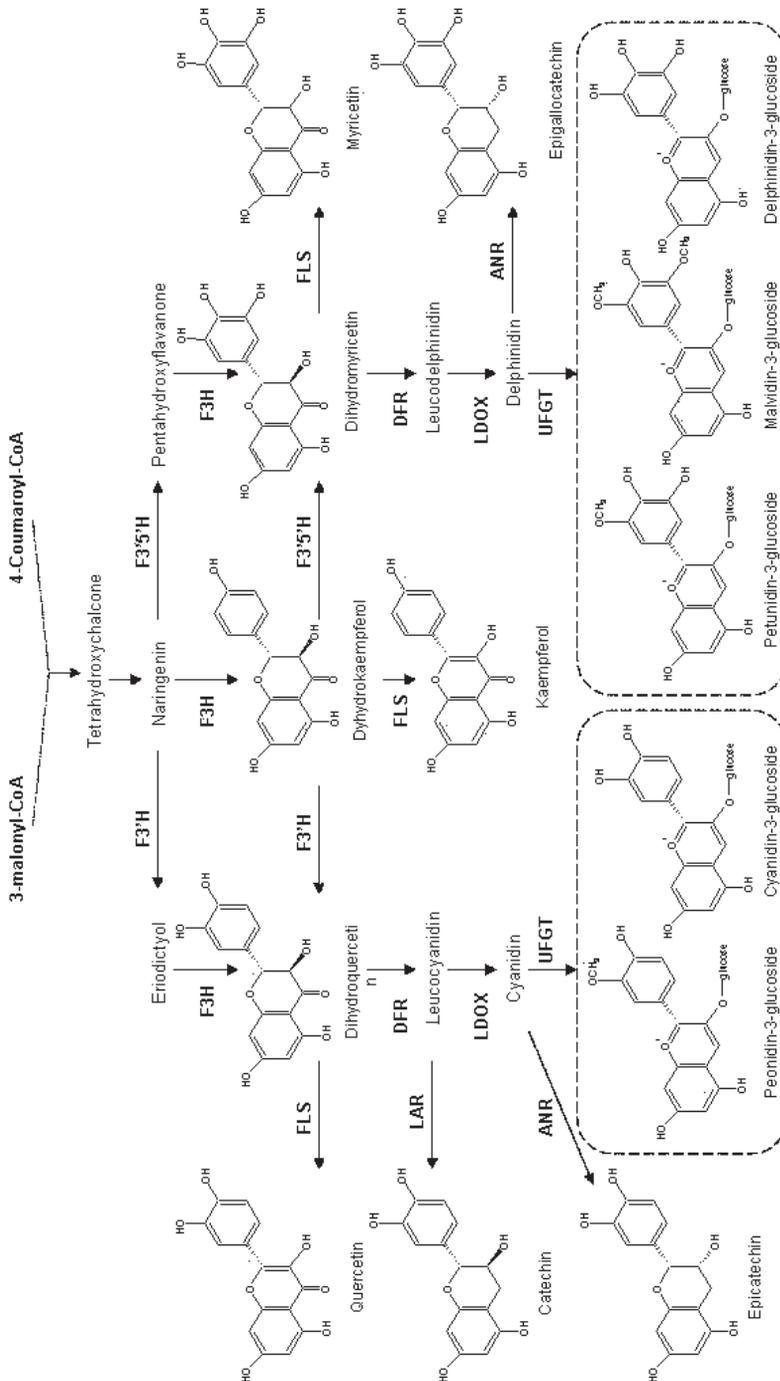


Figura 1. Ruta de la biosíntesis de flavonoides y antocianinas. El nombre de las enzimas está abreviado como sigue: ANR, antocianidina reductasa; CHI, chalcona isomerasa; CHS, chalcona sintasa; DFR, dihidroxiflavonol 4-reductasa; F3H, flavanon 3-hidroxilasa; FLS, flavonol sintasa; LAR, leucoantocianidina reductasa; LDOX, leucoantocianina dioxygenasa; UFGT, UDP-glucosa: flavonoide 3-O-glucosiltransferasa.

PARTE EXPERIMENTAL

Muestra

Los tubérculos de sachapapa morada (*Dioscorea trifida* L) fueron obtenidos del valle del Alto Huallaga, Distrito de Rupa-Rupa (Tingo María), Perú, ubicado al margen derecho del río Huallaga sobre los 660 msnm a 9° 09' Latitud Sur y a 75° 53' Longitud Oeste.

Químicos

Ácido gálico, Folin-Ciocalteu's, catequina, quercetina, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azo-bis (2-methylpropionamidine) dihydrochloride (ABAP), 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), molibdato de amonio, pirogalol, fueron obtenidos de Sigma–Aldrich (St. Louis, MO). Ácido clorhídrico, metanol grado HPLC, ácido sulfúrico, ácido acético, ácido tricloroacético obtenidos de Merck KGaA, Alemania).

Tratamiento de la muestra

La deshidratación de la sachapapa morada (*Dioscorea trifida* L) se realizó según el método descrito por Rincón *et al.*⁸, los tubérculos fueron pelados para eliminar gran parte del mucílago. Posteriormente se cortaron en rodajas finas y se deshidrató en una estufa a 50°C por 24 horas. Las rodajas del tubérculo deshidratados fueron sometidas a una molienda y luego se hizo pasar por un tamiz para homogenizar las partículas con un tamaño máximo de 600 µm.

Polifenoles totales

El contenido de polifenoles totales se realizó acondicionando el método propuesto por Gülçin *et al.*⁹. Se utilizó ácido gálico como estándar de referencia. El extracto (50 mg/mL) se hizo reaccionar con 1,0 mL de Folin – Ciocalteu y luego se mezcló vigorosamente. Tres minutos más tarde se añadió 3 mL de Na₂CO₃ al 2%. Luego se llevó a baño María a 50°C por 1 min. Las absorbancias fueron registradas a 760 nm.

Antocianinas

El contenido total de antocianinas en la sachapapa se determinó usando el método de pH-diferencial descrito por Kirca y Cemeroglu¹⁰. Los espectros del extracto (100 mg/mL) fueron registrados entre 510 y 550 nm, en buffers a pH=1 y pH=4,5. Los cálculos fueron en base a cianidina-3-glucósido con un peso molecular de 445,2; la absorbancia molar fue 29600 mol⁻¹ L cm⁻¹. Se tomaron las máximas absorbancias a 520 nm.

Flavonoides totales

El ensayo se realizó acondicionando el método propuesto por Viswanathan *et al.*¹¹, que consistió en preparar una solución de molibdato de amonio al 0,02 % en metanol al 50% conteniendo 0,1 N de ácido sulfúrico. Se usó quercetina como estándar de referencia. El extracto a una concentración de 1 mg/mL se hizo reaccionar con la solución de molibdato de amonio. La reacción fue 1:1, para llegar a un volumen final de 3 mL. Las absorbancias se registraron a 430 nm.

Taninos

La medición de taninos se realizó por el método propuesto por Price y Butler¹², que consistió en preparar una concentración de 200 mg/mL de sachapapa pulverizada al que se le añadió 3,0 mL de 0,1 M FeCl₃ en 0,1 N HCl. Inmediatamente después se añadió 3,0 mL de 0,008 M K₃Fe(CN)₆. Luego de 10 minutos de reacción se tomó la lectura a 720 nm, teniendo como estándar de referencia ácido gálico.

Actividad anti-oxidante

Ensayo de DPPH

La actividad de secuestro del radical DPPH[•] (1,1-dyphenyl-2-picrylhydrazyl), fue determinado espectrofotométricamente; el cambio de color de púrpura a amarillo fue monitoreado a 515 nm. El orden de la reacción fue (extracto – DPPH[•]) y se realizó con el extracto a las siguientes concentraciones: 1, 3, 5, 7, 10 mg/mL. Se utilizó el método propuesto por Brand-Williams *et*

*al.*¹³ y Yokozawa *et al.*¹⁴ que consistió en hacer reaccionar 50 μ L del extracto con 950 μ L de DPPH^{*} a 100 μ M.

Ensayo de ABTS/ABAP

Las mediciones del potencial anti-oxidante por radical-trapping (TRAP) fue desarrollado por el ensayo ABAP/ABTS, usando el método descrito por Overveld *et al.*¹⁵. Los radicales ABTS^{**} fueron generados por descomposición termal del compuesto soluble en agua, 2,2'-azobis(2-amidopropano) hidrocloreto (ABAP), generando un compuesto de color verde debido a la formación estable del radical catiónico 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolino-6-ácido sulfónico) ABTS^{**}. La prueba se realizó con el extracto a las siguientes concentraciones: 0,05; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 mg/mL. El producto de oxidación es medido a 414 nm.

Ensayo de anión superóxido

La capacidad del extracto de sachapapa para secuestrar el anión superóxido se evaluó a través del método de inhibición de la auto-oxidación del pirogalol. Se acondicionó los métodos descritos por Bermúdez-Camps *et al.*¹⁶ y Jiao *et al.*¹⁷. El medio de reacción contenía un volumen final de 3 mL de las siguientes concentraciones finales: 1000 μ L Tris-HCl de 50 mM a pH=8,2; 1000 μ L EDTA a 1 mM, 500 μ L de muestra y 500 μ L de pirogalol a 1 mM. La prueba se realizó con el extracto a las siguientes concentraciones: 1, 2, 4, 6, 8, 10, 25, 50 mg/mL. Los valores de absorbancia se registraron a 420 nm a intervalos de 60 segundos durante 30 minutos.

Acción de los antocianos sobre la peroxidación de lípidos

La peroxidación de lípidos es la oxidación directa en una reacción entre radicales oxigenados y lípidos para formar radicales lipídicos intermediarios. El ensayo de TBARS fue acondicionado basado en los métodos descritos por Sandoval *et al.*¹⁸ y Estepa *et al.*⁶. Las muestras de sangre se extrajeron de voluntarios con buen estado de salud, en general, con edad entre 20 a 40 años (hombres, con una edad promedio de 27 años y una desviación típica de 3,36) y con un rango de peso entre 70 y 86 kg (peso promedio de 80 kg y una desviación típica de 4,49). La sangre de cada voluntario fue extraída en ayunas, se les indicó a los voluntarios que la última comida que realizaran fuera entre la 6 y 9 de la noche del día anterior, y las muestras se tomaron entre las 9 y 10 de la mañana del día siguiente. Paralelamente se distribuyeron alícuotas de sangre en tubos sin anticoagulante. Se trabajó con el suero, induciendo la oxidación y se observó el efecto inhibidor de las diferentes concentraciones de sachapapa. Se centrifugaron a 3000 rpm por 5 minutos, a temperatura ambiente y en el suero resultante se realizó el método TBARS. El método consistió en añadir en tubos de borosilicato (resistente al calor) los siguientes volúmenes para llegar a concentraciones finales y volumen final de 3,4 mL en el siguiente orden: suero humano 600 μ L, 700 μ L de 20 mM KH_2PO_4 , 700 μ L FeCl_3 100 μ M, 700 μ L ácido ascórbico 100 μ M y 700 μ L de extracto de sachapapa. Agregar a cada tubo de reacción un volumen de muestra de una concentración 4,85X (concentración final). Para el control usar ddH_2O . Para el blanco agregar 700 μ L de suero humano y 1300 μ L de ddH_2O . Las muestras fueron incubadas a 37C en baño María por 20 minutos. Posteriormente al tiempo de incubación, la reacción de peroxidación fue neutralizada por la adición de 1000 μ L de 5,5% de ácido tricloroacético (TCA), a 4C y 1000 μ L de 2% de ácido tiobarbitúrico (TBA). Las soluciones fueron luego calentadas a 100C por 20 min. Luego las muestras fueron enfriadas durante 10 minutos en agua fría y centrifugada a 2000 rpm durante 10 min para remover proteínas precipitadas. La prueba se realizó con el extracto a las siguientes concentraciones: 0,2; 0,8; 1,5; 2,0 mg/mL. El color generado por la reacción del aducto MDA - TBA fue monitoreado a un ancho de banda de 540 nm.

Análisis estadístico

Los resultados se analizaron mediante un análisis de la varianza (ANOVA), seguido de prueba de Tukey HSD con $\alpha = 0,01$. Este tratamiento se llevó a cabo utilizando el software SAS (Statistical Analysis System).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido de antocianinas, polifenoles y flavonoides totales

Las estimaciones fueron basadas sobre reacciones con sustratos específicos o ensayos dedicados para mediciones de actividad anti-oxidante de un tipo particular de componentes. Estos resultados incluyen polifenoles totales, antocianinas, flavonoides, y taninos, como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Polifenoles totales, flavonoides, taninos y antocianinas en sachapapa morada.

Características	Estándar	% CV	Contenido (mg equivalente/100g dw) ^a
Polifenoles totales ⁽¹⁾	Ácido gálico	1,59	166,10 ± 1,52
Flavonoides ⁽²⁾	Quercetina	16,88	27,63 ± 2,69
Taninos ⁽³⁾	Ácido gálico	1,52	9,62 ± 0,084
Antocianinas	Cianidina 3-glucósido	11,77	21,59 ± 1,47

^a Datos expresados en media ± SEM de n = 3, CV = coeficiente de variabilidad entre repeticiones.

⁽¹⁾ $Y = 0,007X + 0,0263$, $R^2 = 0,9995$; ⁽²⁾ $Y = 0,0151X$, $R^2 = 0,9974$; ⁽³⁾ $Y = 0,0753X - 0,0117$, $R^2 = 0,9992$.

De acuerdo a los resultados mostrados en la tabla 1, se observa que el contenido de polifenoles totales (analizado por el método de Folin-Ciocalteu) en el extracto metanólico al 50% de sachapapa morada, fue de 166,10±1,52 mg equivalentes de ácido gálico (GAE)/100 g de muestra seca, con un %CV de 1,59; lo que indica que no existe mucha variabilidad entre repeticiones. El contenido de polifenoles en otros alimentos, como cebolla roja, es de 300 mg/100g, zanahoria 60 mg/ 100g, avena 30 mg/ 100g, centeno 130 mg/ 100g, cebada 40 mg/ 100g, tomate 200 mg/ 100g¹⁹.

El contenido de flavonoides fue de 27,63 ± 2,69 mg equivalentes de quercetina (QE)/ 100 g de muestra seca. Cabe indicar que los flavonoides reaccionan con metales para formar complejos con molibdeno, antimonio y bismuto; esto permite la substitución del grupo hidroxilo del C-3 en el anillo C del flavonoide (componentes que presentan 15 – carbonos en su estructura con grupos hidroxilo en diferentes posiciones de los 3 anillos), el complejo flavonoide – metal muestra la especificidad que presentan estas moléculas para realizar saltos bacteriocrómicos¹¹.

Los taninos están comúnmente divididos en taninos condensados y principalmente son oligómeros (e.g., monómeros, dímeros y trímeros) y polímeros de flavan-3-ols (derivados de catequinas), también conocidos como proantocianidinas, y los taninos hidrolizables son galotaninos y elagitaninos que poseen un núcleo central de alcohol polihídrico, tal como la glucosa y los grupos hidroxilo, los cuales están esterificados cualquiera de los dos particularmente²⁰. El contenido de taninos encontrados en la sachapapa morada fue de 9,62 ± 0,084 mg GAE/100 g.

Por otro lado, el contenido de antocianinas en la sachapapa morada está en el orden de 21,59 ± 1,47 mg de cianidina 3-glucósido /100 g de muestra seca. Cabe indicar que las antocianinas, químicamente son glucósidos de núcleo flavilium polihidroxilados y/o metoxilados. El

núcleo flavilium comprende un anillo A que es derivado del floroglucinol encadenado a un anillo pirilo, el cual está unido a un anillo fenólico B²¹. Otras fuentes de antocianinas, como el arándano azul (*Vaccinium corymbosum*) presenta alrededor de 720 mg/100 g⁴, la zarzamora (*Rubus fruticosus*) 4974 mg/100 g¹⁷, la frambuesa negra (*Rubus occidentalis* L) 952,4 mg/100 g, frambuesa roja (*Rubus idaeus* L) 391,8 mg/100 g y fresa (*Fragaria ananassa* D) 315,2 mg/100 g²².

Actividad anti-oxidante

La evaluación de la actividad anti-oxidante se realizó de acuerdo a los siguientes ensayos: Ensayo de secuestro del radical DPPH[•], ensayo de secuestro del radical ABTS^{•+} y ensayo de secuestro del radical superóxido.

Ensayo DPPH

En la figura 2, se muestra los resultados de la capacidad de secuestro de las diferentes concentraciones de sachapapa morada sobre el radical DPPH, durante 30 minutos de reacción, monitoreado a 515 nm de longitud de onda. Se monitorearon cinco concentraciones (1, 3, 5, 7, 10 mg/mL); estadísticamente los valores de DPPH[•] remanente son diferentes a un nivel de significancia de $p < 0,01$ mediante la prueba de Tukey.

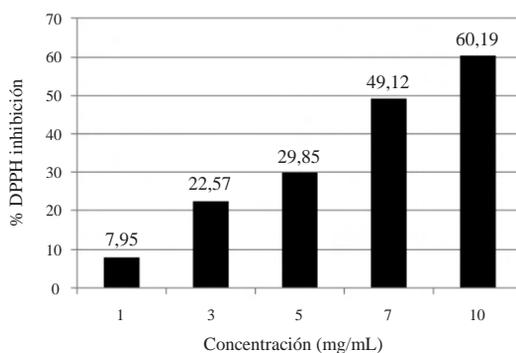


Figura 2. Actividad de secuestro de radical DPPH, por diferentes concentraciones del extracto de sachapapa morada.

En la tabla 2 observamos el coeficiente de inhibición IC_{50} en función al radical DPPH. Otra especie como *Decalepis hamiltonii* Wight y Arn, que es una raíz, presenta un IC_{50} de 0,29 en extracto acuoso y 0,36 en extracto metanólico. Sin embargo, la velocidad de secuestro del extracto de sachapapa morada es 0,029; otros recursos como la vitamina E (á-tocoferol) presenta 1,87, *Aronia melanocarpa* Elliot 0,70, BHA 0,42, *Prunus spinosa* L 0,20, BTH 0,05, *Fragaria X ananassa* Duch 0,03 y *Sambucus nigra* L 0,008 mg/mL⁻¹s⁻¹, respectivamente²³.

Ensayo ABTS

Las mediciones de la actividad de secuestro del catión ABTS^{•+} por las diferentes concentraciones del extracto de sachapapa morada se observan en la figura 3, y en la tabla 3, observamos que la sachapapa presenta buena habilidad para atrapar a este radical (potencial anti-oxidante radical-trapping - TRAP), y que es mucho mayor que el ácido úrico, hipotaurina y á-tocoferol, pero mucho menos que el ácido ascórbico y la tirosina¹⁵. En la tabla 3 se muestra el valor de TEAC determinado mediante el ensayo ABTS^{•+}. El coeficiente de inhibición IC_{50} para este radical se muestra en la tabla 2.

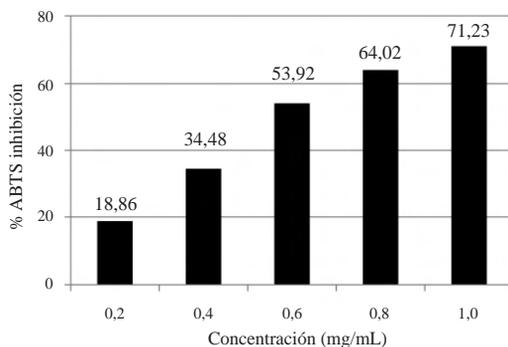


Figura 3. Actividad de secuestro de radical ABTS, por diferentes concentraciones del extracto de sachapapa morada

Tabla 2. Valores de IC₅₀, medidos por diferentes métodos

Método/radical	Parámetros cinéticos	
	IC50 (mg/mL)	Modelo matemático
DPPH	7,44	Y = 102,12e-0,0988X
ABTS	0,54	Y = 83,87X+0,9625
Anión superóxido	13,67	Y = 99,319e-0,0502X
TBARS	1,82	Y=27,0037+exp(-1,0703+2,3050 X)

Tabla 3. Valores de TEAC determinados mediante ABAP/ABTS

Recurso/componentes	Concentración (mg/mL)	TEAC (300 s)
Tirosina **	0,02	1,48
Ácido ascórbico **	0,02	1,34
Extracto de sachapapa *	1,00	1,23
Ácido úrico **	0,02	0,89
á-tocoferol **	0,04	0,80
Hipotaurina **	0,01	0,56

* Dato experimental obtenido de interpolar a la curva ABTS⁺ vs Trolox (Y = 49,766X - 1,5722), R² = 0,9979.

** Datos obtenidos de Overveld *et al.* (2000).

Ensayo anión superóxido

El anión superóxido es un radical libre inicial que juega un rol importante en la formación de otras especies reactivas del oxígeno (EROS) como peróxido de hidrógeno, radical hidroxilo u oxígeno singlete en un sistema vivo. Éstos, a su vez, pueden reaccionar con óxido nítrico y formar peroxinitrito, el cual puede generar componentes tóxicos, tales como el radical hidroxilo y el dióxido nítrico¹⁷. En la figura 4, se muestra la capacidad de secuestro por las diferentes concentraciones del extracto de sachapapa morada sobre el radical anión superóxido usando un sistema de autoxidación de pirogalol, respectivamente. El coeficiente de inhibición IC₅₀, se muestra en la tabla 2.

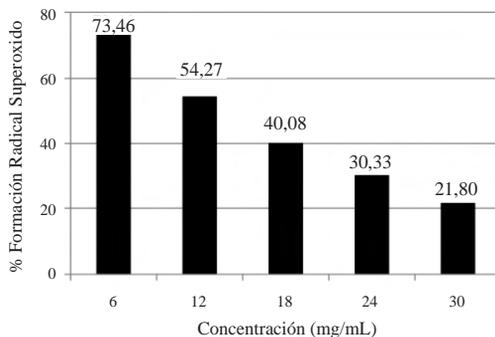


Figura 4. Formación de radical superóxido O_2^- , por diferentes concentraciones del extracto de sachapapa morada

Las concentraciones presentaron diferencia estadística a $p < 0,01$, según la prueba de Tukey. Jiao *et al.*¹⁷ reporta una capacidad de secuestro de 90,78% para una concentración de 1,25 mg/mL para zarzamora. Sin embargo, la tendencia de la capacidad de secuestro entre los pigmentos de la sachapapa morada y zarzamora son similares, pero los % de secuestro son mayores para este último que para la sachapapa morada; esta variación puede deberse a que el contenido de antocianos es mucho mayor.

Acción de los antocianos sobre la peroxidación de lípidos

En la figura 5, se muestra capacidad de inhibición de las diferentes concentraciones de antocianinas de la sachapapa morada.

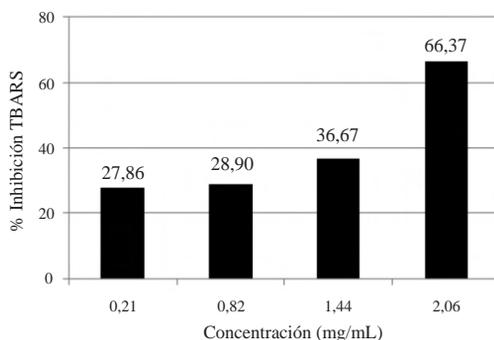


Figura 5. Capacidad de inhibición TBARS de las diferentes concentraciones de antocianinas de sachapapa morada en suero humano.

De los resultados mostrados en la figura 5, observamos que las antocianinas presentan la capacidad de inhibir la formación de lipoperóxidos. La peroxidación del suero humano fue acelerada notablemente cuando no presentó ningún anti-oxidante en la reacción (Datos no mostrados). Sin embargo, la peroxidación fue inhibida después de la adición de diferentes concentraciones de antocianinas. El rango de inhibición para el extracto fue entre 0,2 y 2 mg/mL. La actividad anti-oxidante de los extractos se incrementó, teniendo un máximo de inhibición sobre el suero humano de 66,37%. En la tabla 2 se muestra el coeficiente de inhibición al 50%, que indica la capacidad de secuestro para los radicales peroxilos. Otras fuentes de antocianinas como *Cornus alternifolia* y *Cornus controversa* inhibieron la

peroxidación de lípidos en un 56% y 53%, respectivamente, en una concentración de 250 $\mu\text{g/mL}$, la inhibición de peroxidación de lípidos por antocianinas aisladas como delfinidina-3-*O*-glucósido y delfinidina-3-*O*-rutinosido, fue de 71% y 68%, respectivamente, para una concentración máxima de 50 $\mu\text{g/mL}$ ²⁴. García-Alonso *et al.*²⁵, reporta que la actividad anti-oxidante de algunos frutos que presentan un alto efecto anti-oxidante medido por IC_{50} provienen de fresa 50 $\mu\text{g/mL}$, frambuesa roja 55 $\mu\text{g/mL}$, cereza 74 $\mu\text{g/mL}$, zarzamora 76 $\mu\text{g/mL}$, uva blanca 78 $\mu\text{g/mL}$, banana 1281 $\mu\text{g/mL}$, kiwi 4487 $\mu\text{g/mL}$ y palta > 5000 $\mu\text{g/mL}$; lo importante de esto es que los frutos que presentan una mayor actividad anti-oxidante medido por TBARS son ricos en antocianinas, por lo que pueden contribuir a esta capacidad. La sachapapa morada no es ajeno a esta capacidad ya que presenta un IC_{50} de 1824 $\mu\text{g/mL}$; esto permite remarcar que los procesos de peroxidación de lípidos juegan un rol importante en la progresión de muchos desórdenes²⁶, lo que nos permite demostrar que las antocianinas procedentes de la sachapapa morada pueden inhibir *in vitro* el daño producido por radicales libres; estos radicales pueden activar los procesos de peroxidación de lípidos y la cascada del ácido araquidónico, con la producción de eicosanoides y estimulando la proliferación celular⁷. Está demostrado que en animales de experimentación las antocianinas inducidas demostraron una disminución en el contenido de sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico (TBARS); por el contrario, hubo un incremento de los niveles anti-oxidantes y un incremento en la actividad de la glutatión peroxidasa (GPx); las propiedades anti-oxidantes de las antocianinas son usadas en las terapias de enfermedades cardiovasculares, entre otros; las antocianinas disminuyen la cantidad de oxidación de LDL, inhiben la formación de radicales libres en el proceso de repercusión; también protegen los cardiomiocitos después de un proceso isquémico; las antocianinas son capaces de disminuir la actividad del óxido nítrico sintasa y los niveles de óxido nítrico²⁷.

CONCLUSIONES

El contenido de polifenoles totales, flavonoides, taninos y antocianinas están alrededor de 166,10; 27,63; 9,62 y 21,59 mg/100g de materia seca, respectivamente. La capacidad de secuestro del radical DPPH, ABTS y anión superóxido, presentan un coeficiente de inhibición IC_{50} de 7,44; 0,537 y 13, 67 mg/mL respectivamente. La peroxidación de lípidos en suero humano fue de 1,824 mg/mL, lo que indica que los pigmentos extraídos de sachapapa morada presentan un buen efecto protector *in vitro*.

AGRADECIMIENTO

Publicación financiada con la ayuda de la beca del Programa de Financiamiento para la Innovación, la Ciencia y la Tecnología (FINCyT).

BIBLIOGRAFÍA

1. Silva J, Espinoza A, Acosta L, Gonzáles O, Licea R, Meneses S. Resultados y perspectivas de la conservación *in vitro* de recursos fitogenéticos en la región oriental de Cuba. *Cuadernos de Biodiversidad* 2001; 7: 4–6.
2. Dixon RA, Paiva NL. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell* 1995; 7: 1085–1097.
3. Jeong ST, Goto-Yamamoto N, Hashizume K, Esaka M. Expression of the flavonoid 3',5'-hydroxylase genes and flavonoid composition in grape (*Vitis vinifera*). *Plant Sci* 2006; 170: 61–69.

4. Lohachompol V, Szrednicki G, Craske J. The change of total anthocyanins in blueberries and their antioxidant effect after drying and freezing. *J Biomed Biotechnol* 2004; 2004(5): 248–252.
5. Murray RK, Granner DK, Mayes MA, Rodwell VW. Harper: Bioquímica ilustrada. 16ª edición. Editorial Manual Moderno. México (México) 2004, 751 p.
6. Estepas V, Ródenas S, Martín MC. Optimización de un método para la determinación de peroxidación lipídica en suero humano. *An. R. Acad. Nac. Farm* 2001; 67(3): 1–17.
7. Hussain SP, Hofseth LJ, Harris CC. Radical causes of cancer. *Nat. Rev. Cancer* 2003; 3(4): 276–285.
8. Rincón AM, Padilla FC, Tillett S. *Myrosima cannifolia*, chemical composition and physicochemical properties of the extracted starch. *J Sci Food Agric* 1999; 79: 532–536.
9. Gülçin Ý Oktay M, Kireççi E, Küfreviođlu ÖÝ Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L) seed extracts. *Food Chem* 2003; 83: 371–382.
10. Kirca A, Cemeroglu B. Degradation kinetics of anthocyanins in blood orange juice and concentrate. *Food Chem* 2003; 81(4): 583–587.
11. Viswanathan P, Sriram V, Yogeewaran G. Sensitive spectrophotometric assay for 3-hydroxy-substituted flavonoids, based on their binding with molybdenum, antimony or bismuth. *J. Agric. Food Chem* 2000; 48(7): 2802–2806.
12. Price ML, Butler LG. Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain. *J. Agric. Food Chem* 1977; 25(6): 1268–1273.
13. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci. Technol* 1995; 28: 25–30.
14. Yokozawa T, Dong E, Nakagawa T, Kashiwagi H, Nakagawa H, Takeuchi S, Chung HY. In vitro and in vivo studies on the radical-scavenging activity of tea. *J. Agric. Food Chem* 1998; 46: 2143–2150.
15. Overveld FWPC, Haenen GRMM, Rhemrev J, Vermeiden JPW, Bast A. Tyrosine as important contributor to the antioxidant capacity of seminal plasma. *Chem.-Biol. Interact* 2000; 127(2): 151–161.
16. Bermúdez-Camps I, Reyes-Hernández I, León-Fernández OS. Evaluación de la actividad antioxidante del propóleos de la región de Manzanillo. Provincia Granma. Cuba. *IMBIOMED: Bioquímica* 2000; 25(3): 69–74.
17. Jiao Z, Liu J, Wang S. Antioxidant activities of total pigment extract from blackberry. *Food Technol. Biotechnol* 2004; 43(1): 97–102.
18. Sandoval M, Okuhama NN, Angeles FM. Técnicas de investigación para determinar la actividad antioxidativa y antiinflamatoria de plantas medicinales de la amazonía. 1st International Workshop. Iquitos (Perú) 2001, 27 p.
19. Kähkönen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha JP, Pihlaja K, Kujala TS, Heinonen M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem* 1999; 47(10): 3954–3962.
20. Cai YZ, Sun M, Xing J, Luo Q, Corke H. Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sci* 2006; 78(25): 2872–2888.
21. Vila H. Efecto del tiempo de maceración sobre el color, la composición tánica y la astringencia de vinos Cabernet-Sauvignon y Malbec. [Tesis Maestría]. Mendoza (Argentina): Universidad Nacional de Cuyo. 2002; pp 6–7.

22. Wang SY, Lin HS. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *J. Agric. Food Chem* 2000; 48: 140–146.
23. Espín JC, Soler-Rivas C, Wichers HJ, Gracia-Viguera C. Anthocyanin-based natural colorants: A new source of antiradical activity for foodstuff. *J. Agric. Food Chem* 2000; 48: 1588–1592.
24. Vareed SK, Reddy MK, Schutzki RE, Nair MG. Anthocyanins in *Cornus alternifolia*, *Cornus controversa*, *Cornus kousa* and *Cornus florida* fruits with health benefits. *Life Sci* 2006; 78: 777–784.
25. García-Alonso M, Pascual-Teresa S, Santos-Buelga C, Rivas-Gonzalo JC. Evaluation of the antioxidant properties of fruits. *Food Chem* 2004; 84 (1): 13–18.
26. Panasenko OM, Osipova N, Chekanov AV, Arnhold J, Sergienko VI. Peroxyl radical is produced upon the interaction of hypochlorite with tert-butyl hydroperoxide. *Biochemistry* 2002; 67(8): 880–888.
27. Kowalczyk E, Krzesiński P, Kura M, Szmigiel B, B³aszczyk J. Anthocyanins in medicine. *Pol. J. Pharmacol* 2003; 55(5): 699–702.

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE CUATRO PLANTAS MEDICINALES Y ESTIMULACIÓN DE LA PROLIFERACIÓN DE FIBROBLASTOS

Javier Enciso Gutiérrez^{1*}; José Amiel Pérez¹; Emilio Guija Poma¹; Alejandro Fukusaki Yoshizawa¹; Oscar Reátegui Arévalo¹; David Amiel Peña¹; Nathaly Enciso Benavides²; Elfer Valdivia³; Rafael Rodríguez Bayona⁴; Katia Neyra Landa⁴.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de los extractos hidroalcohólicos de las plantas: *Bixa orellana* (achiote), *Eupatorium triplenerve* (asmachilca), *Physalis peruviana* (aguaymanto) y *Equisetum arvense* (cola de caballo) sobre la proliferación de cultivos primarios de fibroblastos. Asimismo, se evaluó la capacidad antioxidante y los contenidos de polifenoles y flavonoides. La *Bixa orellana* y la *Physalis peruviana* mostraron la mayor capacidad antioxidante, correspondiéndole a la *Bixa orellana* las mayores concentraciones de polifenoles y flavonoides. Todas las plantas estimularon diferencialmente la proliferación de fibroblastos, habiendo mostrado el *Equisetum arvense* la mayor estimulación, pero baja capacidad antioxidante y bajos contenidos de polifenoles y flavonoides; mientras que la *Bixa orellana* y la *Physalis peruviana* estimularon moderadamente, correspondiendo la más baja estimulación de la proliferación de fibroblastos al *Eupatorium triplenerve*.

Palabras clave: fibroblastos, proliferación, antioxidantes, plantas medicinales.

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF HYDROALCOHOLIC EXTRACT OF MEDICINAL PLANTS AND STIMULATION OF FIBROBLAST PROLIFERATION

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effect of hydro alcoholic plant extracts: *Bixa orellana* (achiote), *Eupatorium triplenerve* (asmachilca), *Physalis peruviana* (aguaymanto) and *Equisetum arvense* (cola de caballo) on the proliferation of primary cultures of fibroblasts. We also evaluated the antioxidant capacity, polyphenol and flavonoid contents of the plant extracts. Our results showed that *Bixa orellana* and *Physalis peruviana* had the highest antioxidant capacity, *Bixa orellana* had the highest concentrations of polyphenols and flavonoids. All the plant extracts stimulated differentially the proliferation of fibroblasts, however, *Equisetum arvense* had the highest stimulation but the lowest antioxidant activity, polyphenol and flavonoid contents. On the other hand, *Bixa orellana* and *Physalis peruviana* had moderately effect on the proliferation of fibroblasts, and *Eupatorium triplenerve* had the lowest effect.

Key words: fibroblasts, proliferation, antioxidants, medicinal plants.

^{1*} Universidad Científica del Sur. Laboratorio de Investigación en Biología Celular.
jenciso333@yahoo.com.mx

² Universidad Científica del Sur. Estudiante de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

³ Universidad Científica del Sur. Laboratorio de Biología (Microbiología)

⁴ FFAA y PNP. Instituto de Transplantes de Órganos y Tejidos

INTRODUCCIÓN

El fibroblasto es una célula indiferenciada del tejido conectivo, que da lugar a diversas células precursoras que forman los tejidos fibrosos, de soporte y de unión del cuerpo. Se encarga de la síntesis de la matriz extracelular y produce proteoglicanos, glicosaminoglicanos, fibras de adhesión y fibras de soporte, principalmente colágeno fibrilar¹.

Existe una población diversa de fibroblastos, con diferencias fenotípicas que se manifiestan en una variedad de actividades sobre el estroma y sobre el sistema inmune en la producción de citoquinas de la respuesta inflamatoria; además, actúan como células alternativas presentadoras de antígenos y tienen efectos antiproliferativos indirectos sobre los linfocitos². A su vez, son estimuladas por varias citoquinas, destacando el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) y el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF). El TGF- β estimula la producción de colágeno y fibronectina, principalmente en procesos de cicatrización, en tanto que el FGF estimula la proliferación de fibroblastos y la síntesis de la matriz extracelular, además de diferenciación, migración y angiogénesis³.

Por otro lado, los antioxidantes naturales que se encuentran en las plantas, tienen la propiedad de participar en el control del estrés oxidativo causado por la radiación solar y el oxígeno, por lo que pueden servir de fuente para la obtención de nuevos compuestos antioxidantes que tengan efectos antiinflamatorios y antitumorales, actuando sobre alguno de los blancos moleculares de la carcinogénesis⁴. La determinación de la capacidad antioxidante en extractos de plantas, entonces, es importante para establecer potencialidades antiinflamatorias en ellas.

Para evidenciar actividades estimulantes o inhibitorias de la proliferación celular que tengan relación con la inflamación aguda y crónica se puede utilizar fibroblastos normales mediante diferentes técnicas; una de ellas, es la que se basa en la capacidad que tienen las células metabólicamente activas para reducir las sales de tetrazolium a compuestos de Formazán mediante la acción de las deshidrogenasas mitocondriales que se producen de forma natural cuando las células son viables⁵.

El objetivo del presente trabajo es determinar el efecto estimulante de la proliferación de cultivos primarios de fibroblastos de cuatro extractos hidroalcohólicos de plantas y establecer la probable relación con la actividad antioxidante y contenido de polifenoles y flavonoides.

PARTE EXPERIMENTAL

Plantas y pruebas bioquímicas

Las plantas consideradas para el presente estudio fueron colectadas en Lima-Perú, y correspondieron a: *Bixa orellana* (achiote), *Eupatorium triplenerve* (asmachilca), *Physalis peruviana* (aguaymanto) y *Equisetum arvense* (cola de caballo).

Obtención de extractos

El procedimiento para la obtención del extracto hidroalcohólico se realizó conforme se ha descrito anteriormente⁶.

Preparación de muestras para pruebas bioquímicas

Con este propósito, se pesó 20 mg del extracto hidroalcohólico seco el cual se diluyó en 10 mL de una solución hidroalcohólica (80:20% v/v). En algunos casos fue necesario realizar diluciones adicionales para que las lecturas en el espectrofotómetro estuviesen comprendidas dentro de la curva patrón. Las determinaciones analíticas se realizaron utilizando las técnicas que a continuación se describen:

- Determinación de la capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante se determinó utilizando la técnica descrita por Szollosi y Varga⁷. La densidad óptica se leyó a 593 nm en un espectrofotómetro Spectronic modelo Genesis 6.

Todas las determinaciones se realizaron por triplicado; se elaboró una curva patrón que se utilizó para realizar los cálculos.

- Determinación de polifenoles totales

La determinación de polifenoles totales se realizó utilizando la técnica descrita por Spanos y Wrolstad (1990)⁸, las densidades ópticas se leyeron en el espectrofotómetro a 765 nm. Para realizar los cálculos se preparó una curva patrón utilizando diferentes concentraciones de ácido gálico.

- Determinación de flavonoides

Con esta finalidad se utilizó la técnica propuesta por Jia et al. (1999)⁹. La densidad óptica se leyó a 510 nm. Para realizar los cálculos se utilizó una curva patrón preparada con concentraciones variables de catequina.

Efecto sobre la proliferación celular

Células. Embriones de nueve días de ratón Balb/c procedentes del Bioterio de la UCSUR, fueron sometidos a procesamiento para la obtención de células de cultivo primario según protocolo convencional descrito previamente por nuestro grupo⁶, empleando medio de cultivo RPMI-1640 con 10% de suero fetal bovino (SFB) y mantenido en incubador con 5% de CO₂ a 37°C.

Obtenido el cultivo celular primario, se realizaron cuatro pasajes con las mismas condiciones del medio de cultivo, suero fetal bovino (SFB), CO₂ y temperatura; posteriormente, a partir de frascos con cultivo confluyente de células del último pasaje se realizó la siembra de las microplacas de 96 pocitos para el experimento de proliferación celular, usando tripsina al 0,5% como agente disociador de células.

Protocolo de medición de proliferación celular

Tratamiento con extractos. Las pozas de las placas de cultivo celular fueron sembradas con 5,000 células cada una y cultivadas por 24 horas a 37° C, 5% de CO₂ en medio de cultivo RPMI-1640 con 10% de suero fetal bovino. Transcurrido este tiempo, se añadió 50 µL de la solución de reacción a cada pocito y se incubó por 2 horas agitando uniformemente para luego medir la absorbancia en un lector de ELISA con una longitud de onda de 450-655 nm.

Cada extracto de planta fue evaluado utilizando tres diferentes concentraciones: 154, 254 y 769 µg/mL de medio de cultivo, efecto que se realizó por triplicado para cada una de las concentraciones utilizadas. Paralelamente se prepararon los controles correspondientes.

Técnica de medición de la proliferación

La proliferación celular se midió mediante un ensayo colorimétrico, no radiactivo, de cuantificación espectrofotométrica que se basa en la degradación de las sales de tetrazolium a sales de formazán, mediante la acción de deshidrogenasas mitocondriales que se producen de forma natural cuando las células son viables, denominada prueba XTT¹⁰, se expresa como Tasa de Estimulación Celular (TEC).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Extracto hidroalcohólico y compuestos antioxidantes

Las plantas que produjeron mayor cantidad de extracto hidroalcohólico fueron las hojas de asmachilca (*Eupatorium triplenerve*) cuyo valor fue de 6,378 g, mientras que de las hojas y tallo de cola de caballo (*Equisetum arvense*) se obtuvieron 1,626 g, conforme se observa en la tabla 1. Las hojas de achiote (*Bixa Orellana*) mostraron el mayor contenido de polifenoles, así como, el más elevado valor de flavonoides, resultado que mantiene correlación con la elevada capacidad antioxidante evaluada utilizando la técnica FRAP (Ferric reducing ability power). Asimismo, puede observarse en la tabla 2 que las hojas y tallo de cola de caballo (*Equisetum*

arvense) mostró la más baja capacidad antioxidante, así como, los menores valores de los contenidos de flavonoides y polifenoles; resultados que mantienen estrecha relación con los valores de la capacidad antioxidante que, comparado con las otras plantas medicinales, fue el menor observado.

Tabla 1. Extracto hidroalcohólico expresado en gramos y porcentaje de determinadas partes de plantas medicinales.

Plantas	Parte de la planta	Extracto hidroalcohólico	
		Gramos	%
<i>Bixa orellana</i> (Achiote)	Hoja	3,7997	17,22
<i>Eupatorium triplenerve</i> (Asmachilca)	Hoja	6,378	25,32
<i>Physalis peruviana</i> (Aguaymanto)	Hoja y tallo	2,216	8,86
<i>Equisetum arvense</i> (Cola de caballo)	Hoja y tallo	1,6256	6,5

Tabla 2. Capacidad antioxidante, contenido de polifenoles y flavonoides del extracto hidroalcohólico de plantas medicinales.

Planta	Polifenoles (g ácido gálico/100 g peso seco)	FRAP (mM/100g peso seco)	Flavonoides (mg catequina /100 g peso seco)
<i>Bixa orellana</i> (Achiote)	3,9	1,38	77,06
<i>Eupatorium triplenerve</i> (Asmachilca)	2,3	0,2	57,45
<i>Physalis peruviana</i> (Aguaymanto)	0,69	0,795	10,84
<i>Equisetum arvense</i> (Cola de caballo)	0,64	0,102	11,1

En la tabla 2 también puede observarse que la asmachilca (*Eupatorium triplenerve*) y el aguaymanto (*Physalis peruviana*) mostraron contenidos de flavonoides y polifenoles totales cuyos valores se encuentran entre los de achiote y cola de caballo, con excepción del valor de la capacidad antioxidante del aguaymanto que fue 7,8 veces mayor que el de cola de caballo. La capacidad antioxidante del achiote fue algo menor al valor que se ha descrito para el culantro (*Coriandrum sativum*) 3,3 mmol/100 g, asimismo, se ha mostrado en otros trabajos que el extracto etanólico de *Physalis peruviana* exhibe una mayor actividad antioxidante que el extracto acuoso, efecto que ha sido evaluado determinando la formación de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico, utilizando el sistema de homogenizado de hígado, mientras que su potente capacidad para captar anión superóxido se realizó utilizando el sistema xantina/xantina oxidasa¹¹.

Proliferación de fibroblastos

La tasa de estimulación de la proliferación de fibroblastos (TEC) se realizó utilizando concentraciones de 154, 254 y 769 $\mu\text{g/mL}$ de cada una de las plantas motivo del presente estudio, determinada por la técnica de XTT utilizando lector de ELISA a una longitud de onda de 455-650 nm. El tratamiento antes descrito permitió observar que las hojas y tallo de cola de caballo ejercieron un inusitado efecto estimulante de la proliferación del crecimiento de fibroblastos a las 24 horas de incubación (277,3%), efecto que prácticamente no se modificó a las 48 horas, conforme se muestra en la figura 1, así mismo, puede observarse que el mencionado efecto fue dependiente de la concentración del extracto hidroalcohólico de la planta antes mencionada, este efecto no mantiene relación alguna con su capacidad antioxidante, ya que mostró el valor más bajo.

Valores ligeramente menores de la tasa de activación del crecimiento celular se observó con el aguaymanto y el achiote, el primero de los nombrados ejerció un máximo efecto estimulante a las 24 horas (164,3%), valor que no se modificó a las 48 horas de incubación (168,0 %), en cambio, el achiote a las 24 horas de incubación mostró un efecto estimulatorio de la proliferación celular de 155,2%, que se incrementó ligeramente a las 48 horas (204,2%); en ambas plantas los efectos antes indicados fueron también dependientes de la concentración de los extractos hidroalcohólicos, sin embargo, en otros estudios no se evidencian efectos protectores de la carcinogénesis medidos por el foco glutatión-S-transferasa y biomarcadores del daño al ADN¹².

Wu *et al*¹³ han observado que el extracto etanólico de *Physalis peruviana* inhibe el crecimiento e induce la apoptosis de cultivo de células humanas Hep G2, efecto que probablemente ocurrió como consecuencia de la liberación de citocromo c, Smac/DIABLO y Omi/HtrA2 de la mitocondria al citosol, lo que produjo la activación de la caspasa-3; en cambio, no afecta la proliferación de células hepáticas normales de ratones BALB/C; asimismo, se observó en dicho trabajo que a las 48 horas de incubación la apoptosis de las células Hep G2 estuvo asociada a una elevada expresión de las proteínas p53, CD95 y CD95L.

El extracto hidroalcohólico de asmachilca tuvo un efecto estimulante de la proliferación del crecimiento de fibroblastos marcadamente menor que el achiote, habiéndose observado un incremento de 75,2% a las 24 horas de incubación que prácticamente no se incrementó a las 48 horas (75,9 %); ambos valores fueron independientes de la concentración de la planta utilizada y del tiempo de incubación, tal como se aprecia en la figura 1.

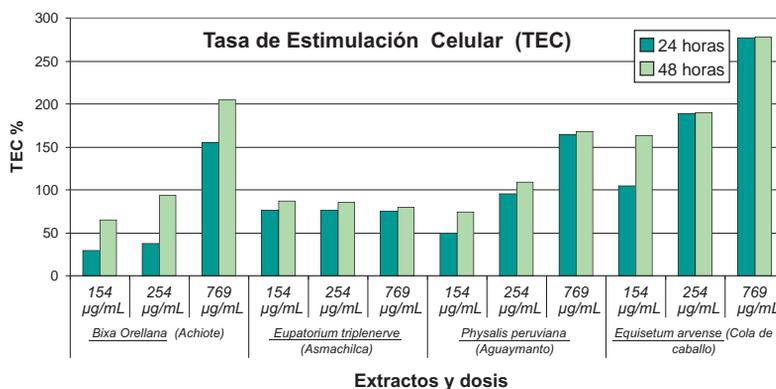


Figura 1. Tasa de estimulación de la proliferación de fibroblastos determinada por la técnica XTT, utilizando lector de ELISA a 455 - 650 nm de longitud de onda.

La evaluación citotóxica del extracto acuoso del *Clinopodium vulgare* utilizando las líneas celulares HEP2 (carcinoma epidermoide humano), A2058 (melanoma metastásico humano) y L5178Y (linfoma de ratón)¹⁴, permitió observar que el tratamiento con una concentración de 80 g/mL del extracto, produjo una considerable citotoxicidad sobre los cultivos celulares antes mencionados, ocasionando un efecto inhibitorio notablemente elevado (93%) sobre el melanoma metastásico humano, en comparación con los otros dos cultivos celulares, así mismo, produjeron efectos citotóxicos sobre los cultivos celulares que se utilizaron como controles, los que correspondieron a la célula amniótica humana cuyo crecimiento fue inhibido 16% y los cultivos de fibroblastos embrionarios de ratón que fue inhibido 11%, resultados que difieren considerablemente de los obtenidos en el presente trabajo, en que los cuatro extractos hidroalcohólicos de las plantas estudiadas mostraron un efecto estimulante de la proliferación celular; asimismo, las propiedades antioxidantes descritas para la cola de caballo (*E. arvense*) en ratas¹⁵, tiene relación con los resultados mostrados en el presente trabajo, por cuyo motivo, es necesario identificar los componentes activos para estudiar sus efectos en diferentes células normales y tumorales en modelos *in vivo* e *in vitro*.

CONCLUSIONES

- Los extractos hidroalcohólicos de *Equisetum arvense*, *Physalis peruviana*, *Bixa orellana* y *Eupatorium triplenerve*, mostraron efectos estimulantes de la proliferación de cultivos primarios de fibroblastos de ratón en grado diverso.
- No existe correlación entre la capacidad antioxidante de las plantas motivo del presente estudio y el efecto estimulante de la tasa de proliferación de fibroblastos.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Hospital Militar Central del Perú por las facilidades que nos brindaron para la realización del presente trabajo.

Nuestro agradecimiento a CONCYTEC por haber financiado la ejecución de la presente investigación mediante Contrato de Subvención: 016-2007-CONCYTEC-OAJ.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alberts B., Bray D, Lewis L, Raff M, Roberts K, Watson JD. Molecular Biology of the Cell, **2002**. 4th Edition. Garland Publishing Inc., Londres.
2. Kundig, T. M., M. F. Bachmann, C. DiPaolo, J. J. Simard, M. Battegay, H. Lother, A. Gessner, K. Kuhlcke, P. S. Ohashi, H. Hengartner, *et al.*, Fibroblasts as efficient antigen-presenting cells in lymphoid organs. *Science*, **1995**; 268: 1343–1347.
3. Giménez G. Los factores de crecimiento para fibroblastos: relaciones estructura-función en una familia peculiar de proteínas con pluriempleo. *Nefrología*, **2002**. Vol. XXII. Suplemento 5.
4. Kumar RA, Sridevi K, Kumar NV, Nanduri S, Rajagopal S. Anticancer and immunostimulatory compounds from *Andrographis paniculata*. *J. Ethnopharmacol*, **2004**; 92(2-3):291-5. 0
5. Lam HW, Lin H CH, Lao S CH, Gao JL, Hong SJ, Leong CH W, t Yue PYK, Kwan YW, Leung AYH, Wang YT, Lee SM. The angiogenic effects of *Angelica sinensis* extract on HUVEC *in vitro* and zebrafish *in vivo*. *J. Cell. Biochem*, **2008**; 103: 195-211.
6. Enciso J; Amiel J; Guija E; Fukusaki A; Reátegui, O; Amiel D; Enciso N.; Valdivia E; Rodríguez R; Neyra K. Efectos sobre la proliferación de fibroblastos y actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de plantas medicinales peruanas. *Revista Científica*, **2008**. Vol. 5 (3/4): 164-176.

7. Szollosi R, Varga I. Total antioxidant power in some species of Labiatae (Adaptation of FRAP method) *Acta Biol. Szeg.* **2002**; 46(3-4):125-127.
8. Spanos GA, Wrolstad RE. Influence of processing and storage on the phenolic composition of Thompson seedless grape juice. *J Agrip Food Chem*, **1990**; 38:1565-1571.
9. Jia Z, Tang M, Wu J. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem*, **1999**; 64: 555-599.
10. Biological Industries. Cell proliferation assay with XTT reagent cell proliferation kit. Procedure. **2008**.
11. Wu SJ, Ng LT, Huang YM, Lin DL, Wang SS, Huang SN, Lin CC. Antioxidant activities of *Physalis peruviana*. *Bio Pharm Bull*, **2005**; 28(6):963-966.
12. Agner AR, Barbisan LF, Scolastici C, Salvadori DM. Absence of carcinogenic and anticarcinogenic effects of annatto in the rat liver médium-term assay. *Food Chem Toxicol*, **2004**; 42(10): 1687-93.
13. Wu SJ, Ng LT, Huang SN, Wang SS, Lin CC. *Physalis peruviana* extract induces apoptosis in human Hep G2 cells through CD95/CD95L system and the mitochondrial signaling transduction pathway. *Cancer Lett*, **2004**; 215(2):199-208.
14. Dzhambazov B, Daskalova S, Monteva A, Popov N. *In vitro* screening for antitumor activity of *Clinopodium vulgare* (Lamiaceae) extracts. *Biol Pharm Bull*, **2002**; 25(4):499-504.
15. Dos Santos G J Jr, Martins do Monte F H, Blanco M, Bispo Lanziotti V, Maia F D, de Almeida Leal L K. Cognitive enhancement in aged rat after chronic administration of *Equisetum arvense* L. with demonstrated antioxidant properties in vitro. *Pharmacol Biochem behav*, **2005**; 81(3):593-600.

EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE RENDIMIENTO DEL MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO PARA LA DETERMINACIÓN DE NO₂ EN EL MEDIO AMBIENTE

Heloína Berroa Atencio^a, Yolanda Condori de Zegarra^a, Juana Ticona Quea^a,
Kattia Martínez Rivera^a

RESUMEN

Se realizaron 15 monitoreos de óxido de nitrógeno a flujo continuo por 30 días cada uno. En estas 15 etapas se evaluó el límite de detección, límite de cuantificación y aseguramiento de la calidad de los resultados, para determinar la eficacia del método en la determinación de los óxidos de nitrógeno por el método de Saltzmann.

La calibración se realizó con estándares externos de concentraciones de 0,4 a 3,2 ug de NO₂. Para la determinación del límite de detección y cuantificación se utilizó las lecturas de blanco de laboratorio de las 15 etapas. Para la verificación del rango lineal se trabajó con concentraciones de 0,4 a 14,4 ug de NO₂. En el aseguramiento de localización de los resultados se utilizó patrones de 2,6 a 5,0 ug de NO₂.

Según los diagramas de control de pendientes de las curvas de calibración para una probabilidad de 95% se obtuvo un LCS de 0,2283 y un LCI de 0,2011 con un intervalo de 0,0272. El límite de detección obtenido es de 0,026 ug de NO₂, el cual se encuentra por debajo del contenido de NO₂ en la ciudad de Arequipa. El método de Saltzmann para la determinación de NO₂ en el ambiente para concentraciones entre 0,4 y 14,4 ug presenta un rango lineal. En el aseguramiento de la calidad de los resultados de los porcentajes de error obtenidos de 4,58 y 6,13 indican que se encuentran por debajo del error del método espectrofotométrico para la determinación de NO₂ mediante tubos pasivos.

Palabras clave: óxidos de nitrógeno, colorimétrico, control, aseguramiento calidad.

PERFORMANCE PARAMETERS EVALUATION OF THE SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR THE NO₂ DETERMINATION IN THE ENVIRONMENT

ABSTRACT

It conducted 15 monitoring nitrogen oxide continuous flow for 30 days each. In these 15 phases were executed in which was evaluated the detection limit, quantification limit and assurance of the quality of the results, to determine the efficiency of the method in determining the nitrogen oxides by the Saltzmann method.

The calibration took place with external standards of the concentrations of 0,4 to 3,2 ug de NO₂. To determine and measure the detection limit were used readings of the laboratory blank in all fifteen phases. Concentrations of 0,4 to 14,4 ug of NO₂ were used to verify the lineal rank. In the assurance of the location of the results were used patterns from 2,6 to 5,0 ug of NO₂.

^a Departamento de Química, Facultad de Ciencias Naturales y Formales.
Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. Calle Santa Catalina 117, Arequipa - Perú.
heloinaberroa@yahoo.com

According to the control diagrams the calibration curves inclination for a probability of 95% was obtained a SCL of 0,2283 and a ICL of 0,2011 with an interval of 0,0272. The detection limit obtained is of 0,026 µg of NO₂ which is beneath the content of NO₂ in the city of Arequipa. Saltzmann method for the determination of NO₂ in the environment for concentration between 9,4 and 14,4 µg presents a lineal rank. In the assurance of the quality of the results of the obtained error percentages of 4,58 and 6,13 mean that they are under the spectrophotometric methods error for the determination of NO₂ by passive tubes.

Key words: nitrogen oxides, colorimetric, control, securing quality.

INTRODUCCIÓN

Los laboratorios que realizan mediciones analíticas deben tener procedimientos bien definidos de control de calidad y aseguramiento de la calidad, lo que implica una evaluación de los parámetros de rendimiento del método. Es así que un método debe validarse cuando sea necesario verificar que sus parámetros de rendimiento son adecuados para usarlos en un problema analítico específico^{1,2,3,4,5,6}.

Las características de rendimiento de un método dependen de los requerimientos analíticos como tipo de respuesta que se requiere, (cualitativa o cuantitativa) analito de interés y sus probables niveles de presencia. Para ello debe demostrarse formalmente que poseen características analíticas definidas en términos de confirmación de identidad, límite de detección, límite de cuantificación, rango de trabajo, rango lineal, sensibilidad^{2,4,5,6,7,8,9}.

Dentro de las acciones para la gestión de la calidad del aire está desarrollar estrategias de implementación y operación de sistemas de medición. El programa de monitoreo en la ciudad de Arequipa a través de DIGESA-PRAL UNSA incluye al contaminante criterio dióxido de nitrógeno¹⁰.

Este monitoreo se viene realizando a partir de mayo del 2005 en 15 zonas ubicadas en los distritos de Cerro Colorado, Cayma, Miraflores, Paucarpata, Characato, Tiabaya, Hunter y J.L.B y Rivero de Arequipa

El monitoreo se lleva a cabo mediante la metodología de saturación con tubos pasivos. El muestreador o tubo pasivo para medir el NO₂, es de propileno transparente^{11,12}.

El NO₂ se recolecta por difusión molecular, a través de un tubo inerte usando trietanolamina como adsorbente. El NO₂ colectado se determina espectrofotométricamente por el método de Saltzmann que se funda en la reacción de diazotación del NO₂ desorbido con sulfanilamida dando diazosulfanilamina que al reaccionar con el diclorohidrato de N-1-naftiletildiamina da un colorante azoico rojo cuya intensidad es proporcional a la concentración del nitrito, y se mide en un espectrofotómetro a 540 nm^{10,11,12}.

En este trabajo se evalúa el método espectrofotométrico para la determinación de los óxidos de nitrógeno en muestras de aire, la sensibilidad de calibrado y analítica del método, límite de detección, límite de cuantificación, rango lineal y rango de trabajo, así como la precisión de repetibilidad y la eficacia del método⁶.

PARTE EXPERIMENTAL

El presente trabajo se realizó en los Laboratorios de química analítica y de investigación del Departamento Académico de Química y en el Laboratorio SERVILAB de la unidad de producción de bienes y prestación de servicios de la Facultad de Ciencias Naturales y Formales.

Reactivo color• **Solución A**

Se pesó 1 g de sulfanilamida, se disolvió en 2,5 mL de ácido ortofosfórico al 85%, se diluyó hasta 50 mL con agua bidestilada en una fiola.

• **Solución B**

Se disolvió 0,07 g de N-1-naftiletilendiamina en agua destilada y se aforó a 50 mL. Se mezcló las soluciones A y B (1:1) y conservó en refrigeración.

Curva de calibración

• **Solución patrón:** Se pesó 0,035 g de nitrito de sodio y se aforó a 25 mL.

• Solución stock: 40 ng NO₂ / uL, a partir de la solución patrón.

• **Soluciones estándar:**

Stock (µL)	10	20	40	60	80
NO ₂ (µg)	0,4	0,8	1,6	2,4	3,2

A cada solución estándar se añadió 4 mL del reactivo color, se agitó y reposó por 15 minutos para que desarrolle el color, luego se hizo las lecturas de absorbancia a una λ de 540 nm en el espectrofotómetro UV-Visible Lambda EZ.

Recta de regresión lineal

Se trabajó en 15 etapas, una cada mes y se obtuvo 15 rectas de regresión lineal.

Se determinó una recta de regresión lineal promedio para la determinación de la sensibilidad de calibrado y sensibilidad analítica.

Límite de detección y límite de cuantificación

Para el límite de detección y de cuantificación se preparó 15 blancos, uno en cada etapa.

Rango lineal

Para el rango lineal se trabajó en cuatro etapas, a tiempos diferentes; para ello se tomó volúmenes de 10 a 360 uL de la solución stock que contienen de 0,4 a 14,4 µg de NO₂, según la siguiente tabla

Tabla 1. Solución stock para el rango lineal

Stock (uL)	NO ₂ (µg)
10	0,4
20	0,8
40	1,6
60	2,4
80	3,2
100	4,0
120	4,8
140	5,6
160	6,4
180	7,2
200	8,0

sigue...

... viene

220	8,8
240	9,6
260	10,4
280	11,2
300	12,0
320	12,8
340	13,6
360	14,4

Fuente: Elaboración propia

Aseguramiento de la calidad

Se utilizó materiales de referencia de concentraciones conocidas.

RESULTADOS

Curva de calibración promedio

Los resultados de las lecturas de absorbancia de las 15 etapas para 0,4; 0,8; 1,6 ; 2,4 y 3,2 ì g de NO₂ se detallan en la tabla 2. La curva de calibración promedio y la recta de regresión lineal promedio se presenta en la figura 1.

Tabla 2. Lecturas de absorbancia

Etapa	0,4 ug Absorbancia	0,8 ug Absorbancia	1,6 ug Absorbancia	2,4 ug Absorbancia	3,2 ug Absorbancia	Ecuación de Regresión lineal
1	0,086	0,176	0,335	0,515	0,659	$y = 0,2059x + 0,0082$
2	0,092	0,174	0,337	0,516	0,642	$y = 0,2000x + 0,0162$
3	0,123	0,237	0,442	0,637	0,861	$y = 0,2603x + 0,0227$
4	0,082	0,163	0,338	0,499	0,687	$y = 0,2150x - 0,0073$
5	0,086	0,166	0,326	0,489	0,674	$y = 0,2085x - 0,0021$
6	0,088	0,161	0,331	0,486	0,637	$y = 0,1977x + 0,0085$
7	0,093	0,168	0,341	0,494	0,688	$y = 0,2110x + 0,0023$
8	0,091	0,166	0,333	0,508	0,646	$y = 0,2017x + 0,0100$
9	0,080	0,163	0,352	0,515	0,674	$y = 0,2137x - 0,0021$
10	0,087	0,170	0,387	0,511	0,677	$y = 0,2106x + 0,0127$
11	0,089	0,167	0,329	0,492	0,654	$y = 0,2022x + 0,0065$
12	0,098	0,206	0,405	0,598	0,801	$y = 0,2494x + 0,0026$
13	0,091	0,168	0,344	0,499	0,674	$y = 0,2081x + 0,0057$
14	0,089	0,175	0,351	0,510	0,698	$y = 0,2157x + 0,0022$
15	0,089	0,167	0,358	0,522	0,707	$y = 0,2212x - 0,0030$
Promedio	0,0909	0,1751	0,3539	0,5194	0,6919	$y = 0,2147x + 0,0055$
Desviación estándar	0,009	0,0202	0,0328	0,0419	0,061	

$\mu\text{g NO}_2$	Absorbancia Promedio
0,4	0,0909
0,8	0,1751
1,6	0,3539
2,4	0,5194
3,2	0,6919

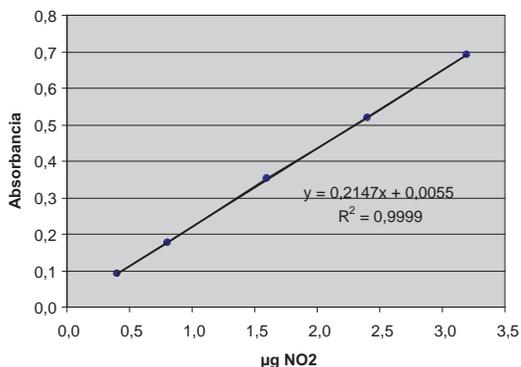


Figura 1. Curva de calibración promedio

Pendientes e interceptos de las quince etapas

Las pendientes obtenidas de las 15 curvas de calibración, la pendiente promedio, desviación estándar y la gráfica de control se presentan a continuación.

Etapa	Pendientes
1	0,2059
2	0,2000
3	0,2603
4	0,2150
5	0,2085
6	0,1977
7	0,2110
8	0,2017
9	0,2137
10	0,2106
11	0,2022
12	0,2494
13	0,2081
14	0,2157
15	0,2212
Promedio	0,2147
Desviación estándar	0,0176
Varianza	0,0003

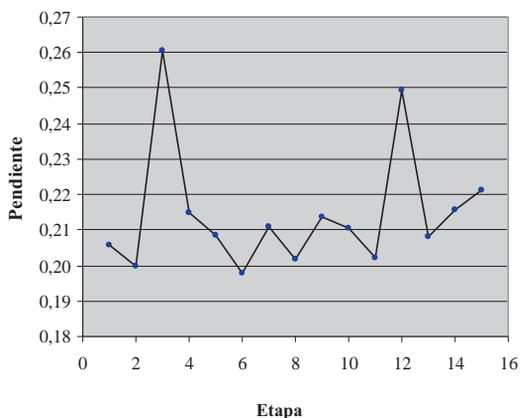


Figura 2. Pendiente de las quince etapas. Gráfica de control

Para determinar el LCS y LCI se ha considerado una probabilidad de un 95% en la que se determina con la $x \pm 3 \hat{\sigma} / \sqrt{n}$.

Calculando se tiene $0,2147 \pm 3(0,0176) / \sqrt{15}$.

$0,2147 \pm 0,0136$ obteniéndose un LCS de 0,2283 y un LCI de 0,2011.

Los interceptos obtenidos de las 15 curvas de calibración, el intercepto promedio la desviación estándar y la gráfica de variación se presenta a continuación (figura 3):

Etapa	Interceptos
1	0,0082
2	0,0162
3	0,0227
4	-0,0073
5	-0,0021
6	0,0085
7	0,0023
8	0,0100
9	-0,0021
10	0,0127
11	0,0065
12	0,0026
13	0,0057
14	0,0022
15	-0,0030
Promedio	0,0055
Desviación estándar	0,0079
Varianza	0,0001

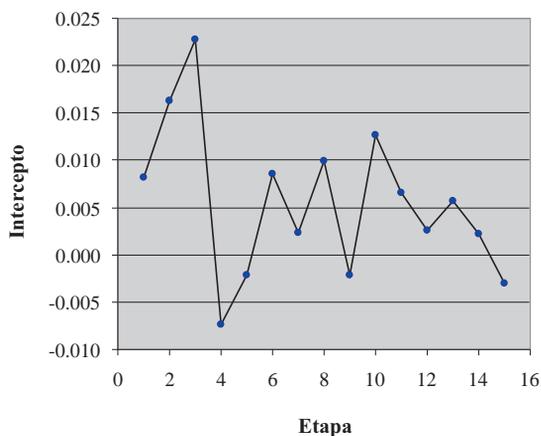


Figura 3. Interceptos de las 15 etapas y gráfica de variación

Para determinar el límite de control superior LCS y límite de control inferior LCI se consideró una probabilidad del 95%, resultando $0,0055 \pm 0,0061$ con lo que el límite de control superior es 0,0116 y el LCI es -0,0006.

Sensibilidad de calibrado

La sensibilidad de calibrado es igual a la pendiente de la ecuación de regresión lineal:

$$y = 0,2147 x + 0,0055$$

siendo la sensibilidad de calibrado 0,2147

Sensibilidad analítica

Se obtiene de la relación entre la pendiente y la desviación estándar de las mediciones de absorbancia de cada concentración que se indican en la tabla 3.

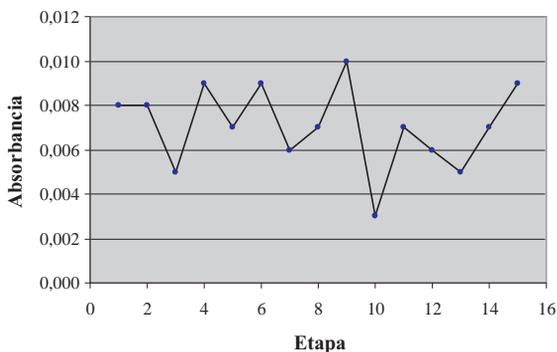
Tabla 3. Sensibilidades analíticas

$\mu\text{g NO}_2$	Sensibilidad analítica
0,4	$\gamma = \frac{0,2147}{0,0099} = 21,728$
0,8	$\gamma = \frac{0,2147}{0,0202} = 10,6369$
1,6	$\gamma = \frac{0,2147}{0,0328} = 6,5555$
2,4	$\gamma = \frac{0,2147}{0,0419} = 5,1196$
3,2	$\gamma = \frac{0,2147}{0,0610} = 3,5190$

Blancos de laboratorio

Las lecturas de absorbancia de los 15 blancos en tiempos diferentes, se presentan en la figura 4.

Etapa	Absorbancia blanco
1	0,0080
2	0,0080
3	0,0050
4	0,0090
5	0,0070
6	0,0090
7	0,0060
8	0,0070
9	0,0100
10	0,0030
11	0,0070
12	0,0060
13	0,0050
14	0,0070
15	0,0090
Promedio	0,0071
Desviación estándar	0,0019

**Figura 4.** Blancos de laboratorio y gráfica de variación.

Los LCS y LCI se calcularon con una probabilidad del 95%, teniendo $0,0071 \pm 3(0,019)/15$ resultando $0,0071 \pm 0,0015$, donde el LCS es 0,0086 y el LCI 0,0056.

Límite de detección. Se considera tres veces la desviación estándar de la lectura de absorbancia de los blancos entre la pendiente de la ecuación de regresión lineal.

$$LD_1 = 3 \times 0,0019 / 0,2147 = 0,026$$

Límite de cuantificación: Se considera 10 veces la desviación estándar.

$$LC = 10 \times 0,0019 / 0,2147 = 0,088$$

Rango lineal: Los resultados de los 4 bloques son los siguientes (figura 5).

En el primer bloque se considera concentraciones entre 0,4 y 6,4 μg de NO_2 . Se obtuvo la siguiente curva de calibración.

$\mu\text{g NO}_2$	Absorbancia
0,4	0,083
0,8	0,171
1,6	0,342
2,4	0,500
3,2	0,671
4,0	0,824
4,8	0,998
5,6	1,155
6,4	1,350

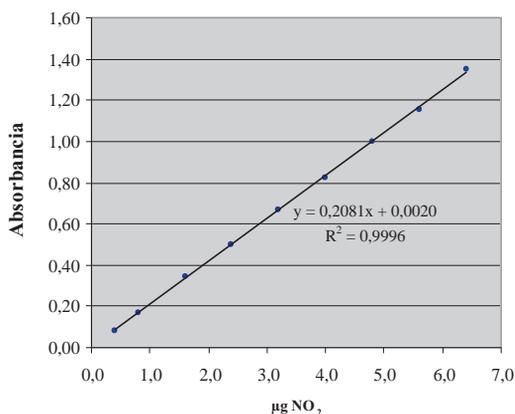


Figura 5. Rango lineal

En el segundo bloque con concentraciones entre 0,8 y 12,0 μg de NO_2 , se obtuvo la siguiente curva de calibración (figura 6).

$\mu\text{g NO}_2$	Absorbancia
0,8	0,191
2,4	0,598
4,0	0,969
4,8	1,144
5,6	1,438
6,4	1,524
7,2	1,929
8,0	1,892
8,8	1,980
9,6	2,183
10,4	2,555
11,2	2,846
12,0	2,828

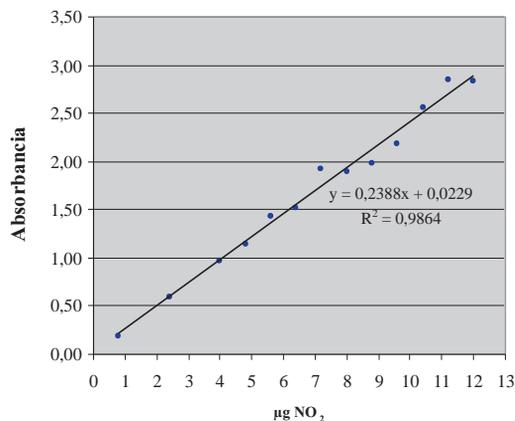


Figura 6. Rango lineal

En el tercer bloque se consideró concentraciones de entre 0,8 y 13,6 μg de NO_2 , se obtuvo la siguiente curva de calibración:

$\mu\text{g NO}_2$	Absorbancia
0,8	0,181
2,4	0,539
4,0	0,887
5,6	1,224
6,4	1,387
7,2	1,533
8,0	1,676
8,8	1,901
9,6	1,968
10,4	2,215
11,2	2,320
12,0	2,482
12,8	2,638
13,6	2,866

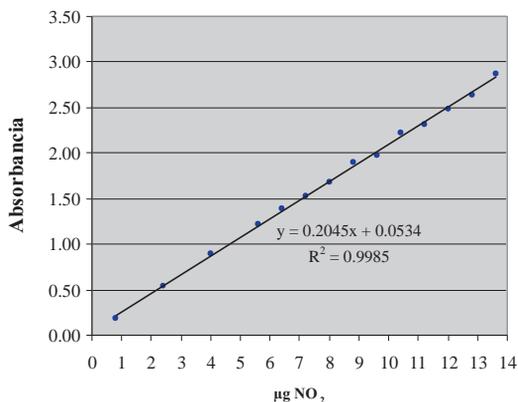


Figura 7. Rango lineal

En el cuarto bloque se consideró concentraciones entre 0,4 y 14,4 μg de NO_2 , la curva de calibración y la ecuación de regresión lineal se detallan a continuación (figura 8).

$\mu\text{g NO}_2$	Absorbancia
0,4	0,091
0,8	0,167
1,6	0,345
2,4	0,519
3,2	0,684
4,0	0,858
4,8	1,000
6,4	1,318
8,0	1,646
9,6	1,985
12,0	2,428
13,6	2,708
14,4	2,898

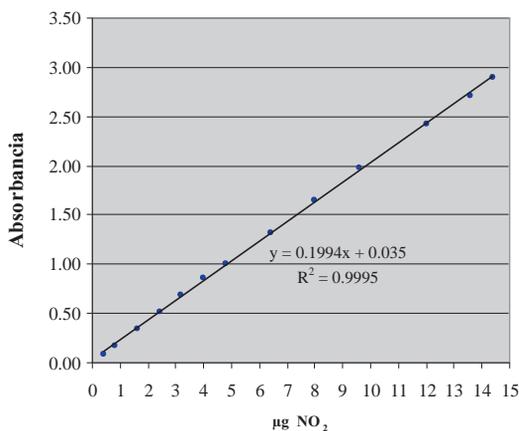


Figura 8. Rango lineal

Control y aseguramiento de la calidad

Se utilizó soluciones de concentraciones conocidas de 2,600 3,520 y 5,000 µg de NO₂ con tres réplicas en la lectura de absorbancia. Los resultados obtenidos se detallan a continuación.

Ecuación de regresión lineal $y = 0,2105x + 0,006$

Tabla 4. Aseguramiento de la exactitud

µg NO ₂	Absorbancia 1 ^a	Absorbancia 2 ^a	Absorbancia 3 ^a	µg NO ₂ experimental	Desviación estándar	L.C. 95%	% Error
2,600	0,601	0,579	0,586	2,770	0,060	0,14	6,130
3,520	0,852	0,860	0,874	4,070	0,040	0,11	15,620
5,000	1,117	1,107	1,104	5,240	0,030	0,08	4,580

DISCUSIÓN

Si un laboratorio ofrece resultados analíticos de calidad aceptables, y funciona bien en las pruebas de suficiencia o en los ensayos de colaboración, resulta obvio que los resultados obtenidos deberían mostrar una consistencia elevada. La comprobación de dicha consistencia es complicada por la existencia de errores aleatorios, de modo que es necesario utilizar las técnicas estadísticas para demostrar si existen o no tendencias dependientes del tiempo en los resultados, asociadas a inevitables errores aleatorios. Es decir, se trata de usar métodos de calidad^{3,8}.

Para asegurar la buena calidad de los resultados obtenidos en el presente trabajo se tiene los siguientes controles⁴:

- En el control de las pendientes de la curva de calibración, según la figura 2, se tiene un límite de control superior (LCS) de 0,2283 y un límite de control inferior (LCI) de 0,2011, de las pendientes obtenidas en las 15 etapas. Se puede observar que las pendientes 0,2603 ; 0,1977 y 0,2494 que corresponden a las etapas 3 , 6 y 12 salen de los límites, en cuyos casos se evidencia la presencia de errores, por lo que se deben preparar nuevas soluciones y determinar la curva de calibración y su respectiva ecuación de regresión lineal^{2,5,6}.

- En el caso del control de los interceptos de la curva de calibración, casi todos se encuentran arriba de cero, según la figura 3; los LCS y LCI son 0,0116 y -0,0006. Se considera que los interceptos deben estar cerca de cero y evitar valores negativos. Se observa que siete valores salen de los límites de control, que puede ser debido a la solución stock o al reactivo color^{5,6}.

La sensibilidad de un instrumento o de un método es una medida de su capacidad de diferenciar pequeñas variaciones en la concentración del analito. En este caso se tiene dos factores que limitan la sensibilidad: uno es la pendiente y otro la reproducibilidad de un sistema de medición para una determinada concentración⁵. Es así que en el presente trabajo, al evaluar la pendiente de la curva de calibrado y la reproducibilidad o precisión del sistema de medición se determinó la sensibilidad de calibrado y sensibilidad analítica. Según la recta de regresión lineal (tabla 2, figura 1), se tiene una sensibilidad de calibrado de 0,2147, y según la gráfica de control de la pendiente se observa que se encuentra dentro de los LCS y LCI. Como se observa, la sensibilidad de calibrado no indica qué diferencias de concentración se puede detectar. En el caso de la sensibilidad analítica, depende en gran medida de la concentración, según la tabla 3. Para 0,4 ì g de NO₂ se tiene una sensibilidad analítica de 21,73 y para una concentración de 3,2 ì g de NO₂ una sensibilidad analítica de 3,52; como se observa, la sensibilidad analítica es menor a mayor concentración.

En el caso de los blancos de laboratorio, se observa que oscilan entre 0,003 y 0,01 y según la figura 4, los LCS y LCI son 0,0086 y 0,0056, respectivamente; los valores de 0,009 y 0,01 están por arriba del LCS. Para el caso de los blancos que se encuentran por debajo del LCS que corresponden valores ligeramente superiores a cero se considera que las lecturas de dicho blanco de laboratorio se deben restar de las lecturas de absorbancia en la determinación de NO_2 , porque corresponden a señales originadas por el reactivo color.

El límite de detección (LD) nos indica la mínima concentración del analito que se puede detectar. Según el resultado se tiene un límite de detección de 0,026 μg de NO_2 ; indica que la cantidad de NO_2 del medio ambiente por este método puede ser detectada debido a que el LD está por debajo de lo que se encuentra en el medio ambiente. Se debe determinar el límite de detección cada vez que se determine el NO_2 en el medio ambiente para controlar si las cantidades mínimas encontradas están por encima del límite.

Según las curvas de calibración para la verificación del rango lineal, para concentraciones de 0,4 a 14,4 μg de NO_2 se obtiene gráficas lineales, rangos en los que se encuentra el contenido de NO_2 en el medio ambiente. El método para las concentraciones del NO_2 en el medio ambiente resulta lineal.

En la comprobación de la exactitud del método se ha trabajado con muestras conocidas de concentraciones 2,6 - 5,0 μg de NO_2 (tabla 4). Las determinaciones se llevaron a cabo por triplicado obteniéndose porcentajes de error de 4,58 ; 6,13 y 15,62%. Teniendo en cuenta que los métodos pueden tener un error hasta 10%, en el presente caso el porcentaje de error de una de las muestras sobrepasa este límite. Se considera que puede haber existido error de tiempo en la lectura, por lo que se descarta el resultado.

CONCLUSIONES

- El control de las pendientes de la curva de calibración tiene un límite de control superior de 0,2283 y un límite de control inferior de 0,2011 por lo que las pendientes 0,2603; 0,1977 y 0,2494 que corresponden a las etapas 3, 6 y 12 salen de los límites por lo que se deben preparar nuevas soluciones y determinar la curva de calibración así como la respectiva ecuación de regresión lineal.
- Las lecturas de absorbancia de los blancos que corresponden al reactivo color no deben pasar de 0,009, en caso que sobrepasen puede ser que haya contaminación o descomposición del reactivo color, en cuyo caso se debe preparar un nuevo reactivo y guardar en condiciones especiales. Para valores menores de 0,009 se debe restar la lectura del blanco a los valores de absorbancia de las muestras.
- El límite de detección de 0,026 μg de NO_2 , indica que este método es adecuado para determinar el NO_2 del medio ambiente en la provincia de Arequipa debido a que la concentración del NO_2 es mayor al límite de detección calculado.
- Los interceptos de la curva de calibración deben ser valores positivos cercanos a cero.
- El método de Saltzman para la determinación de NO_2 en el medio ambiente está en un rango lineal.
- Según los porcentajes de error obtenidos de 4,58 y 6,13%, indica que se encuentra por debajo del porcentaje de error aceptado (10%) de método espectrofotométrico para la determinación del NO_2 mediante tubos pasivos.
- Una buena sensibilidad de calibrado y analítica depende de la pendiente de la curva de calibración, por lo que se debe tener cuidado en la preparación de la solución patrón y de estándares de calibración, y de esta manera realizar un buen control en las pendientes e interceptos de la recta de regresión lineal.

BIBLIOGRAFÍA

1. Eurachem. La idoneidad de los métodos analíticos. Traducido al castellano por el Centro panamericano de ingeniería sanitaria y ciencias del ambiente 2002, p. 10-39
2. Ramis, R., García Celia A. Quimiometría. Ed. Síntesis S.A. Madrid, 2001, p. 56-131
3. Valcárcel, M; Ríos, A. La calidad en los laboratorios analíticos. Editorial Reverté S.A. Barcelona.1992, p.223-244.
4. Harvey David, Química Analítica Moderna, M.C. Graw Hill, España 2002, p.27-93.
5. Ríos Castro, Ángel, Trazabilidad, incertidumbre y validación. Su aplicación a laboratorios de ensayos químicos. Seminario sobre trazabilidad, incertidumbre y validación, Lima - Perú 2001, (2) 2-27, (7) 1-24.
6. Skoog Douglas A., Holler F. James, Nieman Timothy A. Principios de análisis instrumental. M.C. Graw Hill Quinta edición. Madrid, 2001, p. 11-20, 366-371.
7. Miller S., Miller J. Estadística y Quimiometría para química analítica. Ed. Prentice Hall, cuarta edición, Madrid, 2002, p.43_151.
8. Castillo Aguilar, Beatriz, Gonzales Hernández, Rolando. Protocolo de validación de métodos analíticos para cuantificación de fármacos, Centro de química farmacéutico, Cuba 1997, p. 1-8.
9. Skoog West Holler. Crouch. Fundamentos de Química analítica Ed. Thomson, octava edición. México, 2005, p.91-223
10. PRAL, DIGESA. Curso taller Muestreo, análisis en laboratorio y reporte de resultados para PM10 y NO₂. Ejecutado por Swisscontact, Conam, Calandria Cusco, 2005.
11. COSUDE (Cooperación Suiza de Desarrollo) y SWISSCONTACT (Fundación Suiza de Cooperación para el Desarrollo Técnico). Manual de laboratorio. Proyecto de Monitoreo de Aire. Programa Aire Puro para Centroamérica 2001. www.cepis.ops-oms.org/bvsci/fullest/manualab. Revisado mayo 2006.
12. RED MONICA (Red de Monitoreo de la Calidad del Aire en Cochabamba) Informe de enero a mayo del 2002. Swisscontact, Cochabamba, Bolivia.

ESTUDIO TEÓRICO DE LAS PROPIEDADES ESTRUCTURALES Y REACTIVIDAD PARA LOS SISTEMAS CIS Y TRANS-2R-BUTADIENO (R=H, OH, NH₂ Y CN)

R. Pumachagua^{*1}, R. H. Pecho², R. H. Pino², E. O. Nagles³, J. J. Hurtado³

RESUMEN

En este trabajo se estudian los detalles estructurales como: ángulos y distancia de enlace, propiedades globales como: energía, potencial químico (μ), dureza molecular (ζ), índice de electrofilia (\bar{u}) y momento dipolar, además de propiedades locales como las funciones de Fukui ($f^+(r)$, $f^-(r)$) para determinar los sitios activos del cis- y trans-2R-butadieno (R=H, OH, NH₂ y CN). Se optimizaron las moléculas a niveles de *Hartree Fock* y la Teoría de los Funcionales de la densidad; también se efectuó el estudio vibracional de dichos sistemas. Se encontró que las moléculas cis-butadieno y trans-butadieno son las más reactivas mostrando la reactividad local máxima sobre los carbonos 1 y 4.

Palabras clave: vibración molecular, teoría de los funcionales de la densidad, función de Fukui, cis- y trans-butadieno.

THEORETICAL STUDY OF STRUCTURAL PROPERTIES AND REACTIVITY FOR SYSTEMS CIS AND TRANS-2R-BUTADIENE (R = H, OH, NH₂ AND CN)

ABSTRACT

In this paper we study the structural details, such as angles and bond distance, the global properties such as energy, chemical potential (μ), molecular hardness (ζ), electrophili index (\bar{u}) and dipole moment, in addition to local properties as the Fukui functions ($f^+(r)$, $f^-(r)$) to determine the active sites of cis-and trans-2R-butadiene (R = H, OH, NH₂ and CN). Molecules were optimized to levels of *Hartree Fock* and the Density Functional Theory was also carried out the vibrational study of the systems. It was found that the molecules cis-butadiene and trans-butadiene are the most reactive, and present the maximum local reactivity on carbons 1 and 4.

Key words: molecular vibration, theory of the functional ones of the density, function of Fukui, cis- and trans-butadiene.

INTRODUCCIÓN

Hoy en día, el diferenciar un isómero de otro es posible gracias a los datos espectroscópicos que ellos presentan¹; por ejemplo, es posible diferenciarlos por el desplazamiento químico en un ¹H-NMR². Sin embargo, su producción y separación desde una mezcla es difícil, y en

^{*1} Universidad Nacional Federico Villarreal, Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas, Jr. Chepén s/n (El Agustino) Perú. rpumachagua@yahoo.es

² Alumnos de la Universidad Nacional Federico Villarreal, Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas, Jr. Chepén s/n (El Agustino) Perú.

³ Alumnos de la Universidad Santiago de Cali. Calle 5 No 69-00, Pampalinda. Cali (Valle del Cauca) Colombia

algunos casos, como en la industria farmacéutica, el no contar con un isómero puro puede ser fatal. Por lo tanto, se hace indispensable comprender la reactividad que los isómeros presentan; ésta puede llevarse a cabo computacionalmente, al estudiar los diferentes cambios en la geometría de un isómero a otro, que resultan en una diferente distribución electrónica^{3,4,5}. La reactividad será diferente de un isómero a otro, por tanto, entender cuáles son los cambios de distancias, ángulos y cargas, sitios nucleofílicos o electrofílicos podrían ayudarnos a desarrollar o mejorar un sistema de separación como el de columna de intercambio iónico.

En este trabajo se estudia teóricamente las moléculas *cis*- y *trans*-butadieno mediante la Teoría de los Funcionales de la Densidad (DFT), usando las funciones B3LYP/6-31+G(d,p), observando cómo varían sus propiedades al reemplazar el hidrógeno de la posición 2, por tres diferentes grupos funcionales: -OH, -NH₂ y -CN. Se tratará principalmente de discutir los cambios en la densidad electrónica por cálculos de la función de *Fukui* a través de las cargas de población de *Mulliken*.

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

El teorema de *Hohenberg-Kohn*⁶ nos indica que la densidad electrónica $\tilde{n}(r)$ determina el potencial externo $\mu(r)$. La densidad electrónica determina el número total de electrones ya que $\tilde{n}(r)$ integra a N, resultando:

$$\int \rho(r) dr = N \quad (\text{i})$$

$$E = E_v[\rho] \quad (\text{ii})$$

$$E = E[N, v(r)] \quad (\text{iii})$$

A partir de esto, se genera un conjunto de propiedades globales que dan cuenta de la reactividad del sistema por las variaciones de la energía con respecto a N.

Entre las propiedades globales se encuentra el potencial químico que mide la tendencia de los electrones a moverse del sistema en equilibrio, de manera que los electrones fluyen desde regiones de alto potencial químico hacia regiones donde el potencial químico es bajo. Este flujo ocurrirá hasta que el potencial químico sea constante a través de todo el sistema.

De esta forma, el potencial químico se define:

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

Luego, la resistencia impuesta por el sistema al cambio en su distribución electrónica se define como la Dureza Molecular, que es considerado otro descriptor de reactividad. Se expresa como:

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

La medida de la estabilización energética del sistema, cuando se satura de electrones que provienen del medio externo, es el índice global de electrofilia, que se define como:

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta} \quad (\text{vi})$$

Luego, para conocer el lugar donde la reacción es favorable, se utilizan los descriptores de Fukui⁷, que nos dicen que el lugar donde ocurre una reacción es donde el reactante produce un cambio en el potencial químico del sistema electrónico; en otras palabras, en el lugar donde la función de Fukui es grande. Se define como:

$$f(\vec{r}) = \left(\frac{\partial \rho(\vec{r})}{\partial N} \right)_v = \left(\frac{\partial^2 E}{\partial N \partial v(\vec{r})} \right) = \left(\frac{\delta \mu}{\delta v(\vec{r})} \right)_N \quad (\text{vii})$$

Donde \bar{n} es la densidad electrónica, N es el número de electrones, μ es el potencial químico y \bar{v} es el potencial externo producido por los núcleos. Mirando el operador momento dipolar eléctrico para una molécula, se obtienen tres índices de reacción, debido a que, como es una función de N , como $E(N)$, la curva tiene discontinuidades. De esta manera tenemos:

$$f(\vec{r})^- = \left(\frac{\partial \rho(\vec{r})}{\partial N} \right)_v^- \quad (\text{viii})$$

para un ataque electrofílico

$$f(\vec{r})^+ = \left(\frac{\partial \rho(\vec{r})}{\partial N} \right)_v^+ \quad (\text{ix})$$

para un ataque nucleofílico

$$f(\vec{r})^0 = \left(\frac{\partial \rho(\vec{r})}{\partial N} \right)_v^0 \quad (\text{x})$$

para un ataque radicalario.

Estas son las reglas de la teoría clásica orbital frontera en reacciones químicas. Este método predice la posición de las reacciones electrofílicas como el lugar en la molécula donde la densidad del HOMO es grande y la de las reacciones nucleofílicas donde la densidad del LUMO es mayor. Por otro lado, la densidad electrónica del estado basal $\bar{n}(r)$ en la teoría *Kohn-Sham* es un funcional del orbital más alto ocupado, \bar{O}_{\max} .

Haciendo la aproximación del operador momento dipolar eléctrico de diferencias finitas se derivan las siguientes expresiones:

$$f(\vec{r})^+ = \rho N + 1(\vec{r}) - \rho N(\vec{r}), \quad (\text{xi})$$

$$f(\vec{r})^- = \rho N(\vec{r}) - \rho N - 1(\vec{r}), \quad (\text{xii})$$

$$f(\vec{r})^0 = \frac{\rho N + 1(\vec{r}) + \rho N - 1(\vec{r})}{2}, \quad (\text{xii})$$

En donde se tienen las densidades electrónicas de las moléculas (ion) negativas (N+1), neutras (N) y positivas (N-1); todas teniendo la misma estructura geométrica. Las funciones de *Fukui* condensadas se obtienen tomando en cuenta la aproximación de las diferencias finitas para el análisis de la población de *Mulliken*.

Detalles computacionales

Todos los cálculos han sido realizados utilizando Gaussian 03⁵. Para un estudio preliminar de la variación de energía total de sistema, se utilizó *Hartree-Fock* (HF) y la Teoría de los Funcionales de la Densidad (DFT), utilizando el funcional híbrido B3LYP que incluye los funcionales de *Becke* para el intercambio electrónico, *Lee-Yang-Parr* para la correlación electrónica y 20% de intercambio HF no local.

Los conjuntos de set de bases utilizadas para modelar los orbitales atómicos son de tipo Gaussiano, y se utilizaron los siguientes conjuntos de bases: 3-21G, 6-31G, 6-31G(d), 6-31G(d,p), 6-31+G(d,p) y 6-31++G(d,p). Para estudiar las propiedades de densidades electrónicas de cada átomo, se utilizó B3LYP/6-31+G(d,p).

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

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

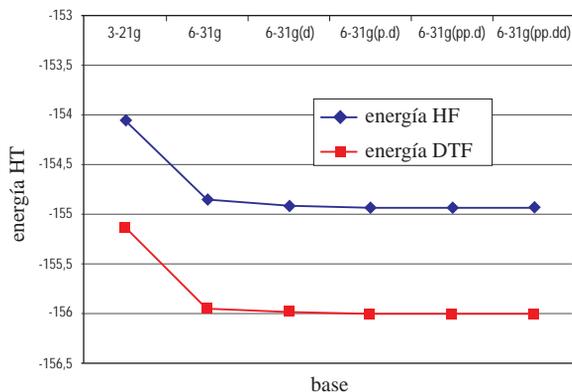


Figura 1: Efecto de la base sobre la energía para *cis*-butadieno

En primer lugar se optimizaron las moléculas de cis- y trans-butadieno, utilizando *Hartree Fock* (HF) y DFT (B3LYP), con el fin de escoger una base que entregara una menor energía y cuyo tiempo de cálculo no fuera excesivamente alto.

En la figura 1 se observa la variación de energía del cis-butadieno a medida que la base se hace más grande; al añadir más funciones de base, funciones polarizadas y difusas, la energía total del sistema disminuye hasta un plató. Por ejemplo, cuando se optimiza con diferente base, en todos los sistemas se encontró que la mejor es la 6-31++G(d,p), que es la que entrega menor energía.

A partir de este resultado, se ha decidido trabajar con la base 6-31++G(d,p), que entrega óptima energía en relación a los otros conjuntos de bases estudiados, y el tiempo computacional no es muy elevado en comparación a bases más grandes que entregan resultados similares.

Efecto de la funcionalización de butadieno

Se observa de la tabla 1 que cuando se reemplaza el hidrógeno en posición 2 por alguno de los grupos funcionales, hay diversas variaciones en la estructura electrónica de cada compuesto. Se observa también que la molécula con menor energía, es decir la más estable, es el trans-nitrilo-butadieno. Además, entre los isómeros cis- y trans- de cada molécula hay poca diferencia en su energía de optimización, y se observa claramente que el cis- y trans-butadieno son las moléculas que tienen mayor energía, lo que indica que son menos estables que las moléculas funcionalizadas.

Con respecto al potencial químico podemos decir que si éste aumenta, un sistema será más reactivo, tal cual esperaríamos para el cis- y trans-butadieno, que son las moléculas que tienen mayor energía (tabla 1).

Asimismo, la dureza está relacionada con la reactividad, y mientras más duro sea un sistema, menor reactividad debería presentar. De la tabla 1, se observa que las moléculas con mayor dureza son: el trans-butadienol, y el cis-nitrilo-butadieno, lo que se ajusta con el gap HOMO-LUMO y su energía total.

La electrofilidad es una medida de la avidez que tiene un sistema por captar densidad electrónica, y según los datos de la tabla 1, los sistemas que presentan mayor avidez por densidad electrónica son los dos isómeros del nitrilo butadieno, a pesar que su gap HOMO-LUMO es bastante elevado.

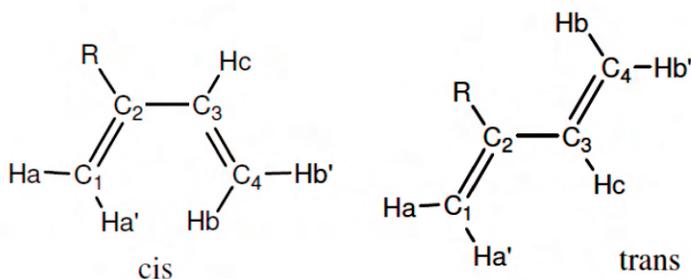


Figura 2. Etiquetado de los átomos

Tabla 1: Propiedades estructurales y electrónicas. Los valores están dados en electrón Volt (eV)

	Butadieno R=H		Aminobutadieno R=NH ₂		Butadienol R=OH		Nitrilobutadieno R=CN	
	Cis	Trans	Cis	Trans	Cis	Trans	Cis	Trans
Energía Total	-4245,10	-4245,28	-5749,99	-5749,78	-6290,14	-6290,12	-6727,83	-6753,22
gap HOMO-LUMO	7,90	7,67	11,74	12,25	12,22	12,34	12,34	11,97
Pot. Químico (μ)	-2,55	-2,71	-2,00	-2,13	-2,64	-2,72	-3,68	-3,56
Dureza (ζ)	3,95	3,84	5,87	6,12	6,11	6,17	6,17	5,98
Electrofilidad (û)	3,28	3,82	1,37	1,48	2,28	2,39	4,38	4,25

Tabla 2: Funciones de Fukui para los sistemas estudiados, se utiliza la numeración provista en la figura 2.

	$f^+_{(r)}$	$f^-_{(r)}$	$f^+_{(r)}$	$f^-_{(r)}$
cis-butadieno			trans-butadieno	
C ₁	-0,384	-0,178	C ₁	-0,440
C ₂	0,056	-0,049	C ₂	0,119
C ₃	0,055	-0,049	C ₃	0,119
C ₄	-0,384	-0,178	C ₄	-0,441
H _c	-0,071	-0,098	H _c	-0,066
cis-nitrilo butadieno			trans-nitrilo butadieno	
C ₁	-0,084	-0,404	C ₁	-0,267
C ₂	-0,377	-0,189	C ₂	0,073
C ₃	-0,352	-0,281	C ₃	0,111
C ₄	0,408	0,28	C ₄	-0,521
H _c	0,013	0,081	H _c	0,074
C _(R)	-0,914	-0,242	C _(R)	-0,189
N _(R)	0,026	-0,017	N _(R)	-0,054
cis-amino butadieno			trans-amino butadieno	
C ₁	-0,156	-0,232	C ₁	-0,642
C ₂	-0,417	0,055	C ₂	0,229
C ₃	0,096	-0,035	C ₃	0,193
C ₄	-0,875	-0,105	C ₄	-0,452
H _c	-0,013	-0,066	H _c	-0,063
N _(R)	-0,571	-0,190	N _(R)	-0,084
H _(R)	-0,052 ; -0,025	-0,061 ; -0,073	H _(R)	-0,012 ; -0,034
cis-butadienol			trans-butadienol	
C ₁	-0,015	-0,042	C ₁	-0,029
C ₂	0,018	0,002	C ₂	-0,014
C ₃	0,069	-0,043	C ₃	-0,061
C ₄	-0,427	-0,119	C ₄	-0,174
H _c	-0,073	-0,075	H _c	-0,075
O _(R)	-0,046	-0,150	O _(R)	-0,125
H _(R)	-0,036	-0,049	H _(R)	-0,054

Estudio de la reactividad a través de los índices de Fukui

Para determinar las zonas de las moléculas donde es más probable que se presentará un ataque nucleofílico o electrofílico, se utilizó la aproximación de diferencias finitas empleando las cargas de *Mulliken*, utilizando la densidad electrónica para determinar las superficies de ataque.

Para el cis-butadieno, tal como se observa de la tabla 2, las zonas de ataque nucleofílico en la que $f_{(r)}^+$ es grande son los carbonos 1 y 4, tal como se puede apreciar en la figura 3. En el caso del ataque electrofílico $f_{(r)}^-$ las zonas de ataque son también los carbonos 1 y 4.

En el caso de trans-butadieno, las zonas de ataque nucleofílico y electrofílico están ubicadas sobre los carbonos 1 y 4 (figura 5 y 6); esto es debido a la conjugación existente en el esqueleto carbonado, que permite una deslocalización de carga para un ataque nucleofílico, y que es una zona rica en electrones debido a la nube δ del doble enlace.

Para el cis-nitrilo-butadieno se observa que el ataque nucleofílico sucede sobre el nitrógeno del grupo nitrilo y el carbono 4 del esqueleto de butadieno; en cambio para el ataque electrofílico las zonas susceptibles a ataque son los carbonos 1 y 4, al igual que en su análogo no funcionalizado.

En el caso de trans-nitrilo-butadieno, las zonas susceptibles de ataque nucleofílico está sobre los carbonos 1 y 4. Para el ataque electrofílico, las zonas susceptibles de ataque son los carbonos 1, 4 y el nitrógeno del grupo nitrilo.

Para el cis-amino butadieno, el ataque nucleofílico ocurre sobre el carbono 4 y el nitrógeno del grupo amino. Se puede observar de la tabla 1 que las zonas susceptibles de ataque electrofílico son carbonos 1 y 4, además del nitrógeno del amino; sin embargo, su diferencia no es muy grande, por lo tanto un ataque electrofílico sobre este sistema no sería muy específico.

En el caso de trans-amino butadieno, el ataque nucleofílico sucede principalmente en el carbono 1 y 4; y en el caso del ataque electrofílico, es en el carbono 4 y el nitrógeno del amino.

Para el cis butadienol, el ataque nucleofílico ocurre en los carbonos 1 y 4. Para el ataque electrofílico, el ataque es sobre el oxígeno y el carbonos 1 debido a la alta densidad electrónica que se presenta en estos átomos.

Para el trans-butadienol, podríamos decir que el ataque nucleofílico es poco probable, debido principalmente a la naturaleza donadora del átomo de oxígeno, y la alta conjugación que dejan al sistema muy rico en densidad electrónica; por lo que no hay zonas en las cuales se presente un ataque nucleofílico. Sin embargo, según la tabla 1, podría suceder en el carbono 4 y el oxígeno del grupo hidroxilo. En el caso del ataque electrofílico, éste sucederá en el carbono 1.

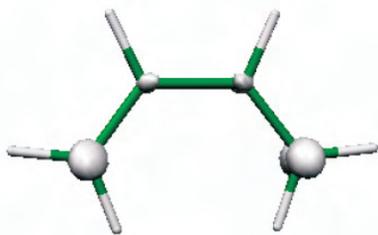


Figura 3: $f_{(r)}^+$ para cis-butadieno

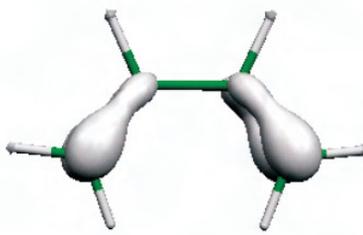


Figura 4: $f_{(r)}^-$ para cis-butadieno

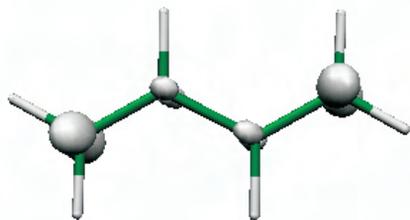


Figura 5: $f^+_{(g)}$ para trans-butadieno

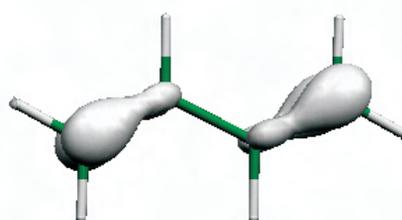


Figura 6: $f^-_{(g)}$ para trans-butadieno

Estudio vibracional

Para comenzar, se estudiaron las vibraciones más representativas de las moléculas y que son activas en el IR; luego se continuó con las vibraciones de los grupos funcionales alcohol, amino y nitrilo

También se tomaron en cuenta las vibraciones de stretching de los hidrógenos terminales simétrica y asimétrica. De todos los sistemas, tal como se presenta en la tabla 3, el valor experimental de la vibración es $\nu(=CH_2)$ 3080 cm^{-1} , y la simétrica es $\nu(=CH_2)$ 2997 cm^{-1} , podemos ver que cuantitativamente no dicen mucho comparándola con los datos teóricos; sin embargo cualitativamente, que es el nivel de cálculo que estamos utilizando, éstas presentan una relación muy estrecha. Para la vibración $\nu(C=C)$ 1670 cm^{-1} , podemos ver que este valor presenta relación con lo obtenido para el cis- y trans- butadieno obtenido teóricamente.

Las vibraciones de bending, fuera del plano de menor energía, son $\nu(=CH_2)$ 909 cm^{-1} y $\nu(=CH_2)$ 939 cm^{-1} , que también presentan relación con lo obtenido teóricamente. Al comparar estos valores con los obtenidos en la optimización, con frecuencia se nota claramente una desviación de los valores experimentales. Pero, recordemos que el medio en que se toman los espectros experimentales es muy diferente al del cálculo computacional.

Los grupos funcionales OH, NH_2 y CN, presentan vibraciones características. De las cuales estudiamos las más importantes y activas al IR.

Se observa claramente de la tabla 3 que las vibraciones de los grupos funcionales no se presentan para todas las moléculas.

Tabla 3: Modos vibracionales de los sistemas estudiados, los valores están dados en número de onda (cm^{-1}).

	Butadieno R=H		Aminobutadieno R= NH_2		Butanediol R=OH		Nitrilobutadieno R=CN	
	Cis	Trans	Cis	Trans	Cis	Trans	Cis	Trans
$\hat{I}_{as}(=CH_2)$	3244	3245	3423	3430	3251	3424	3414	3423
$\hat{I}_s(=CH_2)$	3146	3153	3344	3329	3163	3337	3318	3336
$\hat{I}(C=C)$	1672	1673	1863	1793	1733	1823	1824	1792
$\hat{a}_{as}(=CH_2)$	939	933	1092	1091	953	1080	930	1088
$\hat{a}_s(=CH_2)$	1029	1063	1127	1130	1026	1159	1152	1173
$\hat{I}(-NH_2)$	---	---	3784	3798	---	---	---	---
$\hat{I}(-OH)$	---	---	---	---	3823	4024	---	---
$\hat{I}(-CN)$	---	---	---	---	---	---	2571	2603

Los valores experimentales de estas vibraciones son para el grupo amino $\nu(-\text{NH}_2)$ 3500 cm^{-1} ; para el grupo hidroxilo $\nu(-\text{OH})$ 3640 cm^{-1} ; y para el grupo nitrilo $\nu(-\text{CN})$ 2260 cm^{-1} . Se observa que al igual que el estudio de vibraciones anteriores, éstas tienen una desviación de valor experimental, debido a los parámetros diferenciales de cada técnica en común.

CONCLUSIONES

- El sistema más estable fue el que contenía el grupo funcional -CN, mientras que el menos estable, es decir, el más reactivo, es el butadieno sin grupos funcionales.
- A partir de las funciones de *Fukui* se halló exactamente las zonas susceptibles de ataque nucleofílico o electrofílico; dentro de este contexto podemos decir que las zonas más reactivas son los carbonos 1 y 4.
- Se logró caracterizar los modos vibracionales de las moléculas estudiadas, principalmente las bandas de absorbancia en el IR de los grupos funcionales: -OH, -NH₂ y -CN, las cuales fueron comparadas con los valores experimentales, encontrando concordancia cualitativa entre lo teórico y lo experimental.

AGRADECIMIENTO

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

BIBLIOGRAFÍA

1. Cuevas G. Cortés F. Introducción a la Química Computacional. Fondo de cultura económica. Primera edición en español, 2003.
2. M. Virginia Popa, *Revista Mexicana de Física*. 53(4)241-253.
3. K. Fukui, *Theory of Orientation and Stereoselection* (Springer-verlag, Berlin, 1973) p. 134; *Science* (Washington, D.C. 1982) p. 99.
4. G. Klopman, *J. Am. Chem. Soc.* 90(1968)223.
5. M. Vincent, I. Hillier, N. Burton, *Chem. Phys. Letters* 233(1995) 111-114.
6. R. Parr & W. Yang, *Density-Functional Theory of Atoms and Molecules*, Oxford University Press. 1989.
7. R. Contreras, P. Fuentealba, M. Galván, P. Pérez, *Chem. Phys. Letters* 304(1999) 405-413.

DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES, FRUCTANOS Y PUNGENCIA EN SEIS CULTIVARES DE AJOS (*Allium sativum* L.) EN EL PERÚ

Fernando Wilson Espinoza Cáceres^{1*}, Elva María Ríos Ríos²,
Carlos César Augusto Elías Peñafiel³

RESUMEN

La cuantificación de los compuestos químicos en las diferentes variedades de ajos son un factor importante para poder seleccionar los cultivares con mejores características químicas para la prevención de enfermedades. Nuestro trabajo de investigación cuantificó los niveles de fenoles totales, fructanos, ácido pirúvico (pungencia) y pH. Los cultivares Cincomesino E1C2, Barranquino precoz E1C5, Mapuri E1C6, Alfa suquia E1C4, Pata de perro E1C7, Barranquino tardío E1C3, fueron evaluados después de 40 días de secado, la unidad analítica consistió de 10 dientes por muestra. Los niveles de fenoles totales, fructanos, ácido pirúvico (pungencia) y pH varían en un rango de 0,307-0,626 mg GAE/g de muestra fresca, 16,13-22,50 g de fructanos/100 g de muestra fresca, 55,13-86,21 μ mol de ácido pirúvico/g de muestra fresca, 6,01-6,10. El cultivar Barranquino tardío E1C3 exhibe la mayor concentración de fenoles totales (0,626 GAE/g de muestra fresca); el cultivar Mapuri E1C6 presenta la mayor concentración de fructanos (22,50 g de fructanos/100 g de muestra fresca); el cultivar Pata de Perro E1C7 presenta la mayor concentración de ácido pirúvico (86,21 μ mol de ácido pirúvico/g de muestra fresca).

Palabras clave: *Allium sativum* L., fenoles totales, fructanos y ácido pirúvico, pungencia, ácido gálico equivalente GAE.

DETERMINATION OF TOTAL PHENOLS, FRUCTANS, PUNGENCY IN SIX CULTIVARS OF GARLIC (*Allium sativum* L.) FROM PERU

ABSTRACT

The quantification of chemistry components in different varieties of garlcs, are an important factor to differentiate and to select the cultivars with the best chemistry characteristics in prevention of specific diseases. Our work of investigation quantified the levels of total phenols, fructans, pyruvic acid (pungency) and pH. The cultivars Cincomesino E1C2, Barranquino early E1C5, Mapuri E1C6, Alfa Suquia E1C4, Pata de Perro E1C7, Barranquino Late E1C3, were evaluated after of 40 day dried them, the analytic unit was of ten cloves for sample.

The levels of total phenols, pyruvic acid (pungency), fructans and pH rank variation 0,307-0,626 mg GAE/g fresh sample, 16,13-22,50 g of fructans/100 g fresh sample, 55,13-

¹ Facultad de Ciencias, Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica.
Prolongación Ayabaca C-9. Urb. San José.

* fernnadowilson@yahoo.com

² Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Agraria La Molina. Av. La Molina s/n, Lima 12, Perú

³ Facultad de Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Agraria La Molina.
Av. La Molina s/n, Lima 12, Perú.

86,21 μmol of Pyruvic acid/g fresh sample, 6,01-6,10. The cultivars E1C3 show more concentration of total phenols (0,626 GAE/g fresh sample), the cultivars Mapuri E1C6 show more concentration of fructans (22,50 g of fructans/100 g fresh sample), and the cultivars Pata de Perro E1C7 show more concentration pyruvic acid (86,21 μmol de pyruvic acid/g fresh sample).

Key words: *Allium sativum* L., total phenols, fructans and pyruvic acid, pungency, gallic acid equivalent GAE.

INTRODUCCIÓN

El ajo es una de las principales hortalizas cultivadas en el mundo, debido a las propiedades culinarias, medicinales e insecticidas que posee. Estos beneficios atribuidos al ajo y sus preparaciones, están estrechamente ligados a los compuestos químicos que presenta, tales como proteínas, grasas, carbohidratos, fibra, ceniza, dimetilsulfito, aceites esenciales, minerales como K, P, Mg, Na, Ca, Fe, Se, etc¹.

El compuesto precursor del olor y sabor que se encuentra en mayor concentración en el ajo es el (+)-S-alilcisteína-sulfóxido (aliina); cuando el bulbo es dañado la acción enzimática de la aliinasa produce la conversión de la aliina en alicina, ácido pirúvico y amoniaco². Las cantidades de ácido pirúvico y amoniaco producidos son equivalentes a las cantidades de sustrato consumidos (aliina), por lo que en la actualidad se utiliza la cuantificación de ácido pirúvico para medir la pungencia e indirectamente y cualitativamente la concentración del sustrato precursor³.

En el grupo de carbohidratos presentes en el ajo, se encuentran los fructanos en un rango de 58-68 % de materia seca⁴. Estas moléculas son importantes porque escapan al proceso digestivo en el intestino delgado, siendo fermentados selectivamente por bifidobacterias y lactobacillus en el intestino grueso, lo que le confiere propiedades prebióticas^{5,6}.

Los compuestos fenólicos y azufrados del ajo actúan sinérgicamente bloqueando la actividad del oxígeno reactivo sobre las proteínas, lípidos y ADN, brindándole al ajo propiedades antioxidantes. Individualmente los compuestos azufrados participan en actividades hipolipémicas, antimicrobianas, antiparasitarias, antifúngicas, antibacteriales, anticancerígenas, hepatoprotectivas, antitrombóticas, protectores cardiovasculares, inmunogénicas, glicémicas, inmunomoduladoras^{7,8}.

En el Perú el cultivo de ajos se distribuye desde el nivel del mar hasta los 3 700 m.s.n.m. lo que demuestra su amplia capacidad de adaptación⁹. Pero las variedades y cultivares presentes no han sido caracterizadas químicamente para poder ser dirigidas al uso específico en prevención de enfermedades, motivo por el cual este trabajo de investigación evalúa y determina el cultivar con mayor concentración de fructanos, fenoles totales y ácido pirúvico.

PARTE EXPERIMENTAL

Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de análisis químico y productos naturales, micología y biotecnología de la Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Agraria La Molina.

Materiales y reactivos

Muestras: Los cultivares de ajos Cincomesino E1C2, Barranquino precoz E1C5, Mapuri E1C6, Alfa suquia E1C4, Pata de perro E1C7, Barranquino tardío E1C3 procedieron de la estación experimental agraria Donoso (Huaral).

Reactivos: Sacarasa (100 U) plus α -amilasa (*B. cereus*, 500 U), pululanasa (*K. pneumoniae*, 100 U) y maltasa (levadura, 1000 U) liofilizadas, fructanasa, *exo*-inulinasa (10,000 U) y *endo*inulinanasa (100 U), control de fructano, control de celulosa, control de sacarosa, solución estándar de fructosa (1,5 mg/mL) Megazyme International, ácido maleico Sigma 95%, hidróxido de sodio 99,5%, ácido acético glacial Merck, 4-hydroxibenzilhidrasida Sigma, borohidrido de sodio 98,5% Sigma, Folin Ciocalteu Merck y ácido gálico Sigma, metanol Fermont, carbonato de sodio Merck, cloruro de calcio dihidratado 99%+ Sigma, ácido tricloroacético 99,4% Fisher, 2,4-dinitrofenoldidrazina Harleco, piruvato de sodio al 99% Sigma.

Métodos de análisis

- Compuestos fenólicos totales¹⁰.
- Fructanos¹¹.
- Ácido pirúvico enzimático¹².
- pH¹³.

Metodología experimental

Preparación de muestras: La plantación de los cultivares se realizó el 30 de abril; para esto se utilizó el sistema de surcos a doble hilera con una separación de 0,6 m entre hileras, y 10 cm de distancia entre planta. La fertilización se realizó con 330, 150, 100 kg/ha (urea, súper triple y sulfato de potasio). La cosecha fue manual y al azar.

La cosecha de los cultivares precoces se realizó entre los meses de octubre y noviembre, Cincomesino E1C2, Barranquino precoz E1C5 el 7 de octubre; Mapuri E1C6, Alfa suquia E1C4 el 27 de noviembre, y para los cultivares tardíos Pata de perro E1C7, Barranquino tardío E1C3 se realizó el 8 de diciembre. Los bulbos cosechados fueron agrupados en atados de 10, y el secado se llevó a cabo en secaderos verticales con protección directa del sol y con ventilación natural. Los bulbos fueron colgados aproximadamente a 70 cm del suelo y mantenidos por 40 días.

Los bulbos recolectados fueron desramados y agrupados en un número de 10, los cuales fueron mantenidos en congelación para su posterior análisis.

Preparación de extractos

Fenoles totales: 5 g de muestra homogenizada fue extraída tres veces con 10 ml de alcohol metílico al 80%; posteriormente los extractos fueron filtrados en papel filtro cualitativo¹⁰.

Fructanos: 100 mg de muestra homogenizada fue extraída con 40 ml de agua destilada a 80°C por 15 minutos. Los extractos obtenidos fueron enrasados a 50 ml y posteriormente filtrados en papel Wathman N° 1¹¹.

Ácido pirúvico: 10 g de muestra fue mezclada y homogenizada con 100 ml de agua desionizada por un tiempo de 2 minutos. Las muestras homogenizadas fueron filtradas en papel filtro cualitativo¹².

Análisis de los extractos obtenidos

Determinación de fenoles totales: Los extractos fenólicos fueron cuantificados coloriméricamente usando reactivo Folin Ciocalteu y ácido gálico como curva estándar.

200 μ l de extracto fueron combinados con 800 μ l de Folin Ciocalteu diluido 30 veces, después de 3 minutos de incubación se añadió 1000 μ l de carbonato de sodio al 7,5%. Después de 30 minutos de incubación a 25°C, se procedió a leer la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro (Génesis 6.0). Los resultados fueron expresados en ácido gálico equivalente/g de muestra¹⁰.

Determinación de fructanos: 200 ì l de extracto fueron mezclados con 200 ì l de la solución sacarasa/amilasa, incubándose a 40 °C por 30 minutos, posteriormente se agregó 200 ì l de una solución de borohidrido al 1%; después de 30 minutos de incubación a 40°C se agregó 0,5 ml de una solución de ácido acético (200 mM) solución A.

200 ì l de la solución A (duplicado), fueron mezclados con 100 ì l de la enzima fructanasa, después de 30 minutos de incubación a 40°C se agregó 5 ml del reactivo PAHBAH; seguidamente fueron llevados a incubación en agua hirviendo por un tiempo de 6 min. Los tubos retirados fueron inmediatamente puestos en agua fría. La lectura se realizó a 410 nm en un espectrofotómetro (Génesis 6.0)¹¹.

Determinación de ácido pirúvico: 3 ml de muestras homogenizada fueron mezclados con 3 ml de ácido tricloroacético (5%); después de 1 hora de reposo, el sobrenadante obtenido se centrifugó durante 10 minutos a 10000 rpm. Posteriormente, 200 ì l del sobrenadante fueron mezclados con 1 ml de dinitrofenolhidrazina y 1 ml de agua desionizada; la mezcla fue incubada a 37 °C por 30 minutos.

La lectura se realizó a 420 nm usando piruvato de sodio como patrón para obtener la curva estándar¹⁴.

Análisis estadístico

Los resultados fueron procesados por un análisis de varianza (ANOVA) y la significancia estadística por la prueba de Tukey. Las diferencias en $p < 0,05$ fueron consideradas significativas. El programa empleado fue el Statgraphics Plus Versión 5,1

RESULTADO Y DISCUSIÓN

Análisis químico

La concentración promedio de fenoles totales, fructanos, ácido pirúvico (pungencia) y pH de los seis cultivares de ajos son mostrados en la tabla 1.

Tabla 1. Niveles promedios de concentración de pH, fenoles totales, fructanos, ácido pirúvico de los seis cultivares ajos (*Allium sativum* L.).

Cultivares	pH	Fenoles totales (mg GAE/g)	Fructano (g/100g)	Ácido pirúvico (µmol/g)
E1C3 ^c	6,07 ± 0,02	0,626 ± 0,01	16,99 ± 0,72	78,60 ± 4,29
E1C7 ^c	5,99 ± 0,01	0,491 ± 0,02	16,13 ± 0,73	86,21 ± 1,24
E1C6 ^b	6,07 ± 0,02	0,409 ± 0,01	22,50 ± 0,81	61,98 ± 0,89
E1C4 ^b	6,07 ± 0,02	0,339 ± 0,01	21,49 ± 0,72	65,31 ± 1,65
E1C2 ^a	6,25 ± 0,08	0,330 ± 0,02	17,74 ± 0,46	60,39 ± 3,54
E1C5 ^a	5,99 ± 0,02	0,307 ± 0,01	19,40 ± 0,51	55,13 ± 1,49

Los diferentes datos indican deferencia significativas entre los cultivares (Tukey 5%);

^a cultivar precoz; ^b cultivar intermedio; ^c cultivar tardío

Determinación de fenoles totales

Las concentraciones de fenoles totales de los seis cultivares de ajos son mostrados en la figura 1. Entre los cultivares de ajos analizados, el cultivar Barranquino tardío E1C3 exhibe una mayor concentración de fenoles totales (0,626 mg GAE/g de muestra fresca), seguido del cultivar Pata de perro E1C7 (0,491 mg GAE/g de muestra fresca), Mapuri E1C6 (0,409 mg GAE/g de muestra fresca), Alfa suquia E1C4 (0,339 mg GAE/g de muestra fresca), Cincomesino E1C2 (0,330 mg GAE/g de muestra fresca), Barranquino precoz E1C5 (0,307 mg GAE/g de muestra fresca).

El contenido de fenoles totales varía en un rango de (0,307-0,626 mg GAE/g de muestra fresca). Estos datos se encuentran dentro de los valores previamente citados en bulbo de ajos provenientes de Italia *Allium sativum* L. Blanco $0,32 \pm 0,032$ mg GAE/g de muestra fresca, Brasil *Allium sativum* L. var. Cristo 49 mg/100 g de muestra fresca, Tailandia *Allium sativum* L. $63,51 \pm 3,67$ ^{10,15,16}.

Con referencia a la concentración de fenoles totales (figura 1), se observa que la concentración de estos compuestos aumenta conforme la época de cosecha de los cultivares se retrasa, notándose una diferencia entre los cultivares de cosecha precoces, intermedia y tardía. Esto puede explicarse debido a que los bulbos de los cultivares tardíos están expuestos mayor tiempo a temperaturas elevadas en el periodo de cultivo, lo cual indica una influencia directa de la temperatura sobre estos compuestos, tal como lo indica Rivero¹⁷

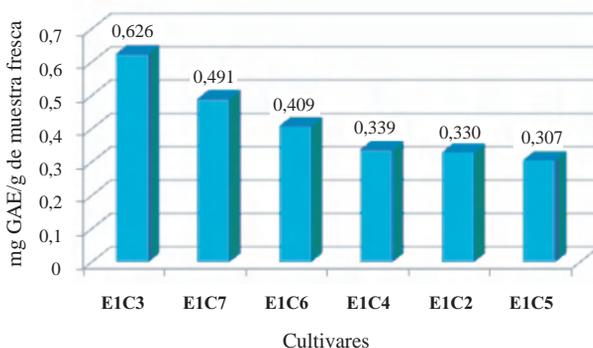


Figura 1. Concentración de fenoles totales en mg GAE/g de muestra fresca, de los seis cultivares de ajos.

Determinación de fructanos

La concentración de fructanos son mostrados en la figura 2. Entre los cultivares de ajos analizados, el cultivar Mapuri E1C6 presenta la mayor concentración de fructanos (22,50 g de fructanos/100 g de muestra fresca), seguido del cultivar Alfa suquia E1C4 (21,49 g de fructanos/100 g de muestra fresca), Barranquino precoz E1C5 (19,40 g de fructanos/100 g de muestra fresca), Cincomesino E1C2 (17,74 g de fructanos/100 g de muestra fresca), Barranquino tardío E1C3 (16,99 g/100 g de fructanos/g de muestra fresca), Pata de perro E1C7 (16,13 g de fructanos/100 g de muestra fresca)¹⁷.

La concentración de fructanos varió en un rango de 16,13-22,50 g de fructanos/100 g de muestra fresca. Estos datos se encuentran dentro del rango previamente citado en ajos provenientes de California 12,5-21,6 g de fructanos/100 g de muestra fresca, ajos

provenientes de China 18,0-23,5 g de fructanos/g de muestra fresca¹⁸.

Con referencia a la concentración de fructanos se aprecia que los cultivares que tienen una época de cosecha intermedia son los que presentan una alta concentración de fructanos, diferenciándose de los cultivares de cosecha precoz y tardía.

La menor concentración de fructanos en los cultivares de cosecha precoz podría explicarse debido a que la concentración de la enzima sacarosa: sacarosa 1-fructosiltransferasa (1SST) se mantiene constante durante todo el periodo de cultivo formando neokestosas; y dos meses antes de la cosecha la actividad de las enzimas fructano: fructano 6 glucosa-fructosiltransferasa (6G-FFT) y fructano: fructano 1-fructosiltransferasa (1-FFT) aumenta, produciendo que las cadenas de neokestosas aumenten su longitud. Por este motivo los cultivares de menor periodo de cultivo contienen menos neokestosas que elongar y por ende menor concentración de fructanos en su estructura¹⁹.

La menor concentración de fructanos en cultivares de cosecha tardía Pata de perro E1C7 y Barranquino tardío E1C3 está influenciada por la temperatura, debido a que estos cultivares están expuestos más tiempo a altas temperaturas se produce la hidrólisis de los fructanos de bajo grado de polimerización dando como resultado una menor concentración de fructanos^{20,21}.

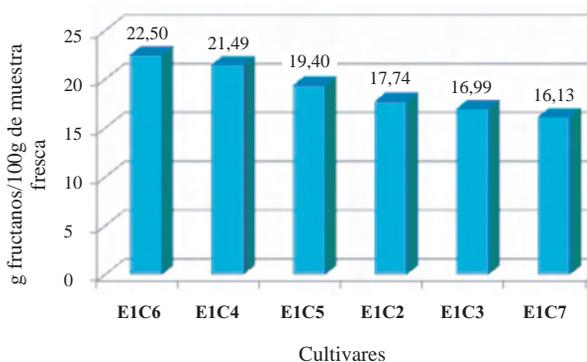


Figura 2. Concentración de fructanos en 100g de muestra fresca, de los seis cultivares de ajos.

Determinación de ácido pirúvico (pungencia)

La concentración de ácido pirúvico (pungencia) son mostrados en la figura 3. Los cultivares Pata de perro E1C7 y Barranquino tardío E1C3 son los cultivares de mayor concentración de ácido pirúvico (86,21 μ mol de ácido pirúvico/g de muestra fresca), (78,60 μ mol ácido pirúvico/g de muestra fresca), seguido de los cultivares Alfa suquia E1C4 (65,31 μ mol ácido pirúvico/g de muestra fresca), Mapuri E1C6 (61,98 μ mol ácido pirúvico/g de muestra fresca), Cincomesino E1C2 (60,39 μ mol ácido pirúvico/g de muestra fresca), Barranquino precoz E1C5 (55,13 μ mol ácido pirúvico/g de muestra fresca).

Los niveles de ácido pirúvico varían en rango de 55,13-86,21 μ mol ácido pirúvico/g de muestra fresca). Estos datos se encuentran entre los valores previamente citados, En ajos provenientes de Argentina 64-97 μ mol ácido pirúvico/g muestra fresca, ajos provenientes de Estados Unidos 47-63 μ mol ácido pirúvico/g de muestra fresca, ajos provenientes de México

23,1-40,9 μmol ácido pirúvico/g de muestra fresca^{12,14,22,23}.

Con referencia a la concentración de pungencia, se observa que la concentración de estos compuestos aumenta conforme la época de cosecha de los cultivares se retrasa, notándose una diferencia entre los cultivares de cosecha precoces, intermedia y tardía. Esto puede explicarse debido a que los bulbos de los cultivares tardíos están expuestos mayor tiempo a temperaturas elevadas en el periodo de cultivo, lo cual indica una influencia directa de la temperatura sobre estos compuestos, tal como lo indica Randle²⁴.

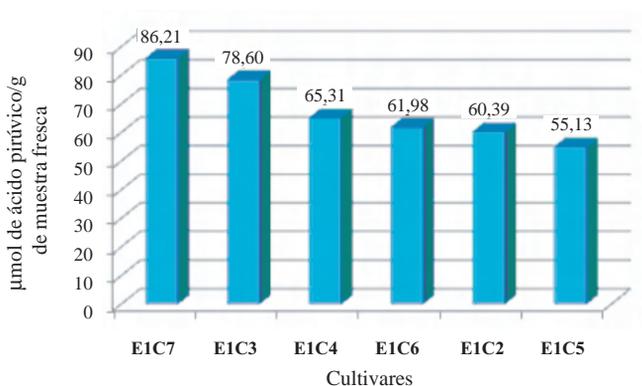


Figura 3. Concentración de ácido pirúvico (pungencia) en μmol de ácido pirúvico/g de muestra fresca, de los seis cultivares de ajos.

Los rangos promedio de variación de fenoles totales, fructanos, ácido pirúvico (pungencia) y pH son mostrados en la tabla 2.

Tabla 2. Rangos promedio de variación de fenoles totales, fructanos, ácido pirúvico (pungencia) y pH, de los seis cultivares ajos (*Allium sativum* L.) en conjunto.

Compuesto	Rangos promedios de variación
pH	5,99 - 6,25
Fenoles	0,307,-,0,626 ^a
Fructanos	16,13 - 22,50 ^b
Ácido pirúvico	55,13 - 86,21 ^c

^a(mg GAE/g); ^b(g/100g); ^c(μmol/g).

El rango promedio de valores de pH varía en 5,99-6,25, estos valores varían ligeramente de los datos reportados en ajos españoles 6,12-6,47. Esto puede explicarse debido a la diferencia del cultivar analizado, así como la procedencia del ajo, tipo de suelo donde se realizó la siembra, tratamiento del cultivo y factores ambientales²⁵.

CONCLUSIONES

- Los datos obtenidos de fenoles totales, fructanos, ácido pirúvico (pungencia) y pH de los seis cultivares de ajos se encuentran dentro de los rangos previamente citados por otros autores.
- El cultivar Barranquino tardío E1C3 exhibe la mayor concentración de fenoles totales (0,626 mg GAE/g de muestra fresca).
- El cultivar Mapuri E1C6 presenta la mayor concentración de fructanos (22,50 g de fructanos/100 g de muestra fresca).
- El cultivar Pata de perro E1C7 presenta la mayor concentración de ácido pirúvico (pungencia), (86,21 μ mol de ácido pirúvico/g de muestra fresca).
- El cultivar Mapuri E1C6 es el que presenta las mejores características para el aprovechamiento industrial de fructanos.
- Los cultivares Pata de perro E1C7 y Barranquino tardío E1C3 presentan la mejor característica para la utilización como antioxidante debido a las altas concentraciones de ácido pirúvico y fenoles totales.

AGRADECIMIENTO

A Magazine International Orleans Ltd. (Dr. McCleary), Estación Experimental Agraria Donoso Huaral INIA (Ings. Nicho y Cóndor) por la asistencia financiera. Al laboratorio de Micología y Biotecnología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Agraria La Molina (Drs. Gutiérrez-Correa y Gretty), por el apoyo en el uso de equipo de laboratorio y al personal técnico de la Facultad de Ciencias e Industrias Alimentarias (Tecs. Capa, Daga, Maihuire y Zúñiga) por el apoyo técnico en el desarrollo de este trabajo de investigación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Haydar, H.; Özcan, M.; Demir, F. and Calisir, S. Some nutritional and technological properties of garlic (*Allium sativum* L.). *Journal of Food Engineering*. 2005; **68**. 463-469.
2. Stoll, A. and Seebeck, E. Chemical investigations of alliin, and the specific principle of garlic, *Adv. Enzymol.* 1951; **11**. 377-400.
3. Schwimmer, S.; Carson, F.; Makower, U.; Mazelis, M. and Wong, F. *Experiential*. 1960; **16**. 449.
4. Praznik, W.; Huber, A.; Cieslik, E. Fructans: Occurrence and application in food In: Tomasik, P. Chemical and Functional Properties of Food Saccharides. CRC Press, Boca Raton. 2003; Pag. 197-217.
5. Coudray, C.; Tressol, J, C.; Gueux, E. and Rayssiguier, Y. Effects of inulin-type fructans of different chain length and type of branching on intestinal absorption of calcium and magnesium in rats. *Europe Journal of Nutrition*. 2003; **42**. 91-98.
6. Gibson, GR.; Beatty, ER.; Wang, X. and Cummings, JH. Selective stimulation of Bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology*. 1995; **108**. 975-982.
7. Amagase, H.; Petesch, B.; Matsuura, H.; Kasuga, S. and Itakura, Y. Intake of garlic and its bioactive components. *Journal of Nutrition*. 2001; **131**. 955S-962S.
8. Corzo-Martines, M.; Corzo, N. and Villamiel, M. Review biological properties of onion and garlic. *Trends in Food Science & Technology*. 2007; **18**. 609-625.
9. Nicho, P.; Loayza, J.; Cahuas, J. y Cosme, R. Descripción agronómica de cultivares de ajo (*Allium sativum* L. ssp. Vulgare) bajo condiciones del valle de Huaral. *Boletín Técnico*. 2005; 1-5.

10. Nencini, C.; Cavallo, F.; Capasso, A.; Franchi, G.; Giorgio, G. and Micheli, L. Evaluation of antioxidative properties of *Allium* species growing wild in Italy. *Journal Phytotherapy Research*. 2007; **21**. 874-878.
11. McCleary, B.; Murphy, A. and Mugford, D. Measurement of total fructan in foods by enzymatic/spectrophotometric method: Collaborative study. *Journal of AOAC International*. 2000; **83**. 356-364.
12. Natale, P.J.; Camargo, A. and Galmarini, CR. Characteristic of Argentin garlic cultivars by their pungency. *Acta Horticulturae*. 2005; **688**. 313-316.
13. A. O. A. C. Official methods of analysis, 15 TH EDN. Association of official analytical Chemists. Washington DC. 1995.
14. Schiwmmmer, S. and Weston, W. Enzymatic development of pyruvic acid in onion measure of pungency. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 1961; **9**. 301-304.
15. Benkeblia, N. Free radical scavenging capacity and antioxidant properties of some selected onions (*Allium cepa* L.) Extracts. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 2005; **48**. 753-759.
16. Tangkanakul, P.; Auttaviboonkul, P.; Niyomwit, B.; Lowvittoon, N.; Charoenthamawat, P. and Trakoontivakorn, G. Antioxidant capacity, total phenolic content and nutritional composition of asian foods after thermal processing. *Journal International Food Research*. 2009; **16**. 571-580.
17. Rivero, R.; Ruiz, J. and Romero, L. Can grafting in tomato plants strengthen resistance to thermal stress?. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2003; **83**. 1315-1319.
18. Losso, N and Nakai, S. Molecular size of garlic fructooligosaccharide and fructopolysaccharide by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionizolin Mass Spectrometry. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 1997; **45**. 44342-4346.
19. Shiomi, N.; Onodera, S. and Sakai, H. Fructo-oligosaccharide content and fructosyltransferase activity during growth of onion bulbs. *Journal New phytology*. 1997; **136**. 105-113.
20. Graefe, S.; Hermann, M.; Manrique, I.; Golombek, S. and Buerkert, A. Effects of post-harvest treatments on the carbohydrate composition of yacon roots in the Peruvian Andes. *Field crops research*. 2004; **86**. 157-165.
21. Saengthongpinit, W. and Sajja-Anantakul. Influence of harvest time and storage temperatura on characteristics of inulin from Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers. *Postharvest Biology and Technology*. 2005; **37**. 93-100.
22. Yoo, kS. and Pike, L. Determination of back ground piruvic acid concentration in onion, *Allium* species on other vegetables. *Scientia Horticulturae*. 2001; **889**. 249-259.
23. Dickerson, G. and Wall, M. Varietal evaluation of garlic in New México. Agricultural Experimental Station–Research Report. 1997; 717.
24. Randle, MW. Genetic and environmental effects influencing flavor in onion. *Acta Horticulturae*. 1997; **433**. 299-312.
25. Pardo, J.; Escribano, J.; Gomes, R. and Alvarruiz, A. Physical-Chemical and sensory quality evaluation of garlic cultivars. *Journal of Food Quality*. 2007; **30**. 609-622.

Pedido de Corrección

El Dr. Pedro Rodríguez, autor corresponsal del trabajo “Síntesis y caracterización de catalizadores mesoporosos del tipo MCM-41 y SBA-15 modificados con ácido tungstofosfórico”, aparecido en el N° 04 Vol. 75 - pág. 464 del 2009 nos pide actualizar la razón laboral del coautor Dr. Ernesto Bastardo, que es como sigue:

Grupo Química de Superficies. Dpto. de Química, Universidad de Oriente, Cumaná, Estado Sucre, Venezuela.

Lo que cumplimos

Los editores

Historia de la Química

Centenario del nacimiento del Maestro Juan de Dios Guevara

(Por el Dr. Fernando Quevedo Ganoza)

Antes que nada, debo agradecer al Consejo Directivo de la Sociedad Química del Perú, por concederme un gran honor, que siempre apreciaré, al invitarme a presentar las palabras en homenaje del Centenario del nacimiento de nuestro Maestro Juan de Dios Guevara.

Hoy, como en anteriores ocasiones, en este mismo lugar estamos reunidos los que amamos al Maestro y que lo seguimos venerando. No hemos venido esta vez a lamentar su partida, estamos reunidos para celebrar la vida de este Maestro ejemplar.

Hace un siglo, un día como hoy, vio la luz en Pisco, quien con el tiempo demostraría ser un maravilloso ser humano. Cien años han pasado “y los discípulos que de los discípulos del Maestro vengan” seguirán admirando la obra y la vida de Juan de Dios Guevara. Su trayectoria estudiantil, en sus inicios es similar a la de Jorge Basadre, inició en Lima sus estudios en la prestigiosa “Deutsche Schule”, Colegio Alemán que comenzó a formar su carácter y su disciplinada personalidad, para terminar su educación secundaria en el Primer Plantel de la República, el Colegio de Nuestra Señora de Guadalupe, al cual recordaba con gran afecto, perteneciendo a una Promoción Guadalupana famosa por haber estado integrado, entre otros brillantes egresados, por el Gran Maestro de la Educación en el Perú, Carlos Lanfranco y por algunos jefes de Gobierno peruano. Para sus estudios superiores, Juan de Dios ingresó a San Marcos, pero debió pasar algún tiempo como estudiante de una universidad chilena, por el cierre de la Universidad peruana. Regresó al Perú y obtuvo el título profesional de Químico Farmacéutico, del cual siempre se sintió orgulloso, para doctorarse, tiempo después, en Farmacia y Bioquímica. Todos sabemos que el maestro Guevara hizo de su desempeño profesional un verdadero sacerdocio.

Lo que no todos saben y algunos, talvez, no recuerdan es que, durante la II Guerra Mundial, el Perú dejó de recibir medicamentos de Europa o de los EEUU de América. Los agentes terapéuticos y sus ingredientes no tenían otro destino que los países que participaban en la gran conflagración mundial. La salud y la vida de los peruanos peligraban. Fue entonces que Juan de Dios, aplicó sus profundos conocimientos en Química Orgánica, en Tecnología Farmacéutica y en Farmacología, para diseñar, sintetizar ingredientes y fabricar los medicamentos que los habitantes del Perú requerían. De los laboratorios farmacéuticos de ese otro Maestro Ángel Maldonado, surgieron las medicinas que salvaron del dolor, del sufrimiento y de la muerte a miles de compatriotas. Nunca recibió, por esos logros, un reconocimiento oficial del Gobierno, pero estamos seguros que la historia del Perú lo reconocerá algún día.

Por supuesto que sus discípulos, sus alumnos u otros estudiantes que lo admiraban sí lo han reconocido. Es así que Juan de Dios posee un verdadero record en ser Epónimo de promociones universitarias y no sólo, de Farmacia y Bioquímica. Por eso mismo, y por sus grandes méritos académicos, científicos y humanos, fue propuesto y elegido como “El Químico Farmacéutico del Milenio”.

La filosofía oriental, tan profunda y ejemplar, reconoció que el Dr. Guevara era un gran símbolo universal y lo comparó con un árbol frondoso, que brinda frutos y sombra paternal a los que lo requieren. Por eso en el Japón, muchos años ha, las autoridades universitarias sembraron un árbol que lleva el nombre de nuestro Maestro, el cual sigue siendo cuidado con devoción y visitado, cada año, por miles de personas que admiran ese árbol, ahora muy desarrollado, que tan bien representa a nuestro Juan de Dios.

De la vida personal del Maestro podemos recordar que tuvo varios idilios, varios romances, el primero de los cuales fue con la esposa y compañera de toda su vida, la Sra. Anita y sus hijos. Los otros idilios fueron con la Sociedad Química del Perú, con la Facultad de Farmacia y Bioquímica sanmarquina, con la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y con la Academia Peruana de Farmacia. La SQP ha reconocida su permanente y prolongado liderazgo, su óleo preside todas las actividades científicas y sociales, la Revista de la Sociedad, que él cultivó y editó durante muchos años, le dedica frecuentemente artículos en su honor.

Fue Decano por dos periodos de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, el Auditorio principal de ella lleva, desde 1999, el nombre de “Maestro Juan de Dios Guevara” y es presidido por una gigantografía muy bien lograda. El principal Instituto de Investigación de la Facultad lleva su nombre. El amor por su Facultad, lo conservó aun después de muchos años de retirarse de la Universidad. Cuando la Comisión Reorganizadora de San Marcos, estaba “ad portas” de hacer desaparecer la Facultad, para reducirla a una simple Escuela de la Facultad de Medicina, Juan de Dios me llamó y perdonenme por mencionar algo tan personal, y me ordenó cariñosamente con un “no todo es dinero en la vida, Profesor” que dejara un cargo internacional para el que me acababan de proponer, y que regresara al Perú para evitar lo que hubiera sido una catastrófica degradación de su estatus como Facultad.

Es importante recordar que el Maestro fue el Rector de San Marcos que más tiempo ocupó el cargo, en las recientes épocas. Hace muy poco, al celebrarse el 40 Aniversario del Museo de Arte de San Marcos, que el creó, se publicó un hermoso libro de los retratos de personajes distinguidos, el cual tiene palabras especiales al comentar el óleo, que figura en la galería de Rectores, y que fuera elaborado por el gran artista guadalupano Milner Cajahuaringa. El comentario del libro, al referirse al óleo de Juan de Dios, textualmente dice: “Milner Cajahuaringa nos ha dejado el retrato que hiciera a Juan de Dios Guevara en 1978, químico que llegó a ser Rector de San Marcos y bajo cuya regencia se fundó este Museo. En él el pintor igualmente deja de lado su abstracción geométrica característica, para procurar una figuración veraz, en el marco de un fondo donde juega con el color luminoso característico de su paleta y se recrea en un atributo relacionado a la profesión del Rector”.

Puede parecer anecdótico, pero a diferencia de lo que ocurre en algunas universidades, en las que no hay una firme unión y trabajo armónico entre Rectores y Vicerrectores, viene a nuestra memoria, que el Vicerrector del Rector Guevara, tenía, y demostraba, una gran admiración y cariño por Juan de Dios: el Vicerrector Alberto Escobar, gran escritor y literato, me afirmó en cierta ocasión, que, además de los muchos méritos académicos y humanos, el Dr. Guevara “tenía un estilo literario propio y muy valioso. Se ha recordado, en estos últimos meses, que fue Juan de Dios quien decidió hacer construir un cerco perimetral alrededor de la Ciudad Universitaria de San Marcos, los estudiantes se oponían, pero la firmeza del carácter del

Rector se impuso y el cerco se logró. Hoy, son los estudiantes, y también los docentes, que se oponen a que ese cerco desaparezca como se quiere hacer para favorecer el desarrollo de una vía.

Al celebrar el Centenario del Nacimiento de Juan de Dios Guevara, es pertinente recordar algunos hechos de su vida que lo retratan de cuerpo entero, en todo su valer, episodios que no se han dado a conocer, por diversas razones. Uno de ellos, del cual por casualidad, fui testigo de excepción, en la ocasión que en dos laboratorios de la Facultad requerían, con gran urgencia una refrigeradora: El presupuesto, siempre tan exiguo, sólo alcanzaba para comprar una de ellas. Juan de Dios decidió donar a la Facultad la refrigeradora de su hogar. Recuerdo a una Anita, desesperada sin “su” refrigeradora y los alimentos y bebidas colocados encima de unas mesas, mientras buscaba afanosamente dónde podía comprar, a plazo por supuesto, ese equipo indispensable en la cocina. Finalmente, la paz y la armonía se habían recuperado en la Facultad. Y, gracias a la comprensión y amor de Anita por su Juanito, no se alteró la paz ni el amor conyugal y, tiempo después, una nueva refrigeradora, no recuerdo si igual o mejor, ingresó al hogar Guevara-Campoy.

Los hombres extraordinarios conservan su grandeza hasta los instantes finales de su existencia. Vuelvo a pedir disculpas por relatar dos episodios que me conmovieron y que me sigue emocionando. El primero, un sábado por la tarde me encontraba dirigiendo una asamblea en la Asociación Guadalupana. Recibí una llamada de una de nuestras dos Anitas. Sabían que yo estaba cerca del Hospital Rebagliati. Acababan de recibir el encargo de una de las médicas tratantes de don Juan de Dios pidiéndoles llevar la Libreta Electoral del Maestro, para los trámites administrativos finales. El pedido significaba fallecimiento; me pidieron que fuera al hospital inmediatamente, pues ellas estaban más lejos. Llegué al nosocomio para comprobar que el Maestro aún seguía con un hilo de vida, pero sus signos vitales demostraban que el desenlace estaba muy cercano. Al poco rato, llegaron la esposa y la hija y supieron lo que estaba ocurriendo. Nos acercamos al lecho de dolor, para despedirnos de ese ser amado. De pronto, Juan de Dios abrió los ojos, volvía a la vida y su primera reacción fue pedir a Anita hija, sus lentes, su lapicero y su cuaderno pues no había terminado el artículo que le habíamos pedido para la Revista “Ciencia e Investigación” de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, que él había bautizado y dirigido, por algunos años. El Maestro terminó el artículo que se publicó poco después en la Revista. Una semana más tarde, aproximadamente, fue evidente que el final, esta vez sí, estaba muy cerca. El Maestro hizo tres pedidos, uno era “salvar a la SQP”, pues la carencia de inscripción en los Registros Públicos y otros aspectos amenazaban su existencia; hoy vemos que nuestra Sociedad tiene un Consejo Directivo de lujo, que sigue realizando Congresos internacionales y locales y que su Boletín, ahora felizmente Revista, sigue siendo la publicación científica peruana más antigua; este 2010 está cumpliendo 76 años de aparición ininterrumpida. El otro pedido, fue no dejar que el Instituto de Investigaciones Farmacéuticas y de Productos Naturales de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, siguiera sin una buena infraestructura de laboratorio. Cumpliendo con ese pedido, tiempo después se inauguraba un edificio inteligente, con aire acondicionado y muy bien equipado, que fuera bautizado como “Pabellón Juan de Dios Guevara” e inaugurado con dos padrinos excepcionales: Leonidas Unzueta, ex Presidente de la SQP, y Anita de Guevara. El tercer pedido, fue que se publicaran algunos de sus escritos que ya había concluido y que estaban en la oficina de su casa. Las “Anitas” consiguieron la financiación, por Soka Gakkai, Asociación Budista en el Perú, y con la colaboración de la SQP el libro, sobre “Figuras Cumbres de la Física y la Química”, fue finamente editado y tuvo una, hasta hoy recordada presentación en el

Auditorio de la Asamblea Nacional de Rectores. Personalmente he comprobado que el libro se usa para la docencia en universidades peruanas, en algunas españolas y, por lo menos, en una argentina.

Parafraseando algo que todos hemos estudiado en la escuela, podemos afirmar “que la Gloria y el prestigio académico y científico de Juan de Dios Guevara, crecerá con el tiempo como crece la sombra cuando el sol declina”.

Muchas gracias, Querido Maestro, por haber vivido tan ejemplarmente. A nosotros corresponde seguir tomando tu modelo como paradigma y camino de vida a seguir. La Sociedad Química del Perú, las otras instituciones académicas mencionadas y las varias Promociones que se honran al llevar tu nombre, a las que dedicaste tantos amorosos esfuerzos, se inclinan reverentes ante tu memoria y te renuevan su sempiterna gratitud.

Lima, 1° de marzo del 2010

Discurso pronunciado por el Dr. Quevedo ante la tumba del Maestro Guevara



Familiares y amigos en romería al Dr. Guevara, con motivo del centenario de su nacimiento (01-03-2010).

INFORMACIONES

A) De la Sociedad Química del Perú

-Cien años del nacimiento del Dr. Juan de Dios Guevara Romero (01 de marzo de 1910)

Hace 100 años este ilustre peruano vio la luz del día, por primera vez, en la ciudad de Pisco. Con tal motivo, la Sociedad Química y la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM se unieron a su viuda Ana María y familia en la visita a la tumba de Juan de Dios (fallecido el 06 de mayo del 2000). Fue una reunión, un encuentro con el amigo y maestro que tan gratos recuerdos ha dejado en todos nosotros. El Dr. Fernando Quevedo, discípulo del Dr. Guevara y amigo de la familia, pronunció un sentido discurso (ver pág. 111).

XXV Congreso Peruano de Química “Ing. Quím. M.Sc. Dionisio Ugaz Mont”

Continuando con su importante y vital misión institucional la Sociedad Química del Perú organiza el **XXV Congreso Peruano de Química** del 14 al 16 de octubre, en la ciudad de Lima.

Este evento se realizará a través de:

Conferencias magistrales, que estarán a cargo de especialistas peruanos y extranjeros del más alto nivel y versarán sobre temas de gran importancia nacional e internacional.

Mesas redondas, donde se discutirán temas de gran interés, como son: la acreditación de las carreras universitarias y la certificación profesional, el cambio climático, la biodiversidad, la importancia de los CITES, seguridad alimentaria, entre otros temas.

Trabajos de investigación, que se presentarán en forma de póster donde los especialistas tendrán un medio para exponer sus investigaciones, recibir sugerencias y realizar contactos académicos.

Cursos, realizados por especialistas con el fin de actualizar los conocimientos de los profesionales e investigadores peruanos.

La Sociedad Química del Perú, como siempre, posibilita, mediante este XXV Congreso, un punto de encuentro donde científicos y profesionales peruanos den a conocer las recientes investigaciones en el área de la química a sus pares académicos, profesionales y estudiantes peruanos.

Dirigido a: Profesionales y alumnos universitarios químicos, ingenieros químicos, farmacéuticos, bioquímicos, biólogos, físicos, ingenieros industriales, ingenieros en industrias alimentarias, ingenieros en ciencias de los nuevos materiales y nanotecnología, metalurgistas y ramas afines a la ciencia química.

Secciones del Congreso

Agroquímica y química de los alimentos Educación Química. Físicoquímica y Química Computacional . Química Inorgánica . Tecnologías limpias . Ingeniería Química y Química Industrial . Química Analítica . Química Orgánica y Productos Naturales . Ciencia de los Materiales y Nanotecnología . Química Biológica y Biotecnología.

Instrucciones para el envío de resúmenes

Los resúmenes de los trabajos de investigación que se presenten al XXV Congreso Peruano de Química, deberán ser originales y versar sobre temas relacionados a las diferentes secciones del Congreso. El formato debe ser solicitado y enviado al correo electrónico scqcongreso@yahoo.es

Dimensiones del panel: alto 120 cm ancho 100 cm

Fechas importantes

6 de agosto: límite para la recepción de Resúmenes de investigación.

9 - 20 de agosto: comunicación a los autores de la aceptación del Resumen.

30 de agosto: límite para la inscripción de autores de trabajos de investigación aceptados al Congreso, con tarifa especial.

30 de setiembre: límite de recepción del trabajo de investigación in *extenso*.

Inversión (en nuevos soles)

	Tarifa especial hasta el 30 de julio		Tarifa después del 30 de Julio	
	Socios	No socios	Socios	No socios
Profesionales	240.00	300.00	320.00	380.00
Docentes y estudiantes de postgrado	160.00	200.00	240.00	280.00
Estudiantes de pregrado	100.00	120.00	160.00	180.00

* Deberá acreditar su condición

Informes e inscripción

Solicite su ficha de inscripción al e-mail: sqperu@gmail.com

Sociedad Química del Perú

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

www.sqperu.org.pe

Conferencias de los “Jueves Científicos” en la SQP.

- “Sistemas integrados de gestión”, dictada por el Ing. Químico Antonio Carpio Salinas, del Quality Assurance Services S.A.-Q.A.S., el día 03 de diciembre del 2009.
- “¿Qué rol cumple la Química Cuántica en el desarrollo de la Química?”, dictada por el Dr. Willian Tiznado Vásquez, de la Universidad Nacional Federico Villarreal, el día 09 de diciembre del 2009.
- “Alternativas de síntesis de nanoparticulas”, dictada por la Ing. Química Ana María Osorio Anaya, de la Facultad de Química e Ingeniería Química de la UNMSN, el día 17 de diciembre del 2009.
- “Tamices moleculares: su síntesis, características y aplicaciones”, dictada por la Dra. María del Rosario Sun Kou, de la Universidad Católica del Perú, el día 21 de enero del 2010.
- “Quimiometría: Teoría y aplicaciones en la Química moderna”, dictada por la Dra. Rosario del Pilar Castillo Felices, de la Universidad de Concepción, Chile, el día 18 de febrero del 2010.
- “Perspectivas, desde la Química, para la mitigación del cambio climático”, dictada por el Dr. Eduardo Calvo Buendía de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el día 25 de febrero del 2010.

Curso taller: “Actualización en tópicos selectos de Química” dictado por un grupo de catedráticos de la Facultad de Química e Ing. Química de la UNMSM, entre los días 1° al 12 de febrero del 2010.

Reconocimiento a la investigación

El Vicerrectorado de investigación de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, reconoció el pasado 20 de noviembre, a los docentes que han destacado por sus actividades de investigación en esa casa de estudios; entre los mismos están algunos de nuestros socios: Blga. Fanny Elizabeth Lazo Manrique; Blgo. Mauro Gilber Mariano Astocóndor; Blga. Egma Marcelina Mayta Huánuco; Blga. Edith Fanincia Rodríguez Quispe; Q. F. María Rosario Carreño Quispe; Q.F. César Máximo Fuertes Ruiton; Q.F. María Elizabeth Gonzales Loayza; Q.F. Luz Floresmila Oyola Hemozo de Bardales; Dra. Acela Inés Arnao Salas; Dra. Luzmila Victoria Troncoso Corzo; Químico Neptalí Ale Borja; Ing. Quím. Fernando Anaya Meléndez; Dra. Dora Bazán Gutiérrez de Markovic; Quím. Elvira Ydelia Becerra Vásquez; Ing. Quím. Cesario Condorhuamán Ccorimanya; Ing. Quím. Benigno Heraclides Hilario Romero; Ing. Quím. Ana María Osorio Anaya; Ing. Quím. José Ángel Porlles Loarte; Dr. Julio César Santiago Contreras; Blgo. Juan Carlos Woolcott Hurtado.

A todos, nuestras felicitaciones por tan merecido reconocimiento.

B) Otras informaciones

“Premio medalla de oro Hipólito Unanue 2009”, para profesionales de las Ciencias de la Salud. Esta distinción tiene el propósito de reconocer y enaltecer los méritos intelectuales, éticos, culturales, científicos y humanísticos de quienes, a través de su actividad, han destacado por su meritoria labor a favor de la profesión que ejercen, así como en su proyección social en bien de la comunidad y del país. En el campo de Farmacia y Bioquímica se ha reconocido a la **Dra. Nancy Lozano Reyes**, Química Farmacéutica de profesión con el grado académico de Doctor en Farmacia y Bioquímica (UNMSM). La Dra. Lozano es Socia Vitalicia de nuestra institución, por lo que deseamos expresarle nuestras más sinceras felicitaciones por este reconocimiento a su fructífera trayectoria profesional.

Día de la Ingeniería Química. El Ing. Víctor Manuel Fernández Guzmán, presidente del Capítulo de Ingeniería Química del Consejo Departamental de Lima, Colegio de Ingenieros del Perú, invitó a nuestra Institución a los actos conmemorativos por el aniversario de la Ingeniería Química, realizado los días 20, 21 y 22 de enero del 2010. A estos actos asistió la presidenta de la SQP Ing. Quim. Flor de María Sosa Masgo.

“Reconocimiento a la formación de grupos estudiantiles dedicados a la investigación, transferencia e innovación”. El Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, premió por su actividad en el campo de la investigación al Grupo de Estudio Sol – Gel, que asesora la Ing. Ana María Osorio, el pasado 2 de diciembre, a quien le ofrecemos nuestras sinceras felicitaciones.

Comité de innovación tecnológica industrial (CINTECIN)

La Sociedad Química del Perú viene participando desde el año pasado de las reuniones mensuales que realiza el Comité de Innovación Tecnológica Industrial – CINTECIN de la Oficina Técnica de Centros de Innovación Tecnológica, Despacho Viceministerio de MyPE e Industria, Ministerio de la Producción, presidido por el Ing. José Valdez Calle. El CINTECIN es un espacio de diálogo para compartir experiencias, apoyar iniciativas y generar propuestas que promuevan las actividades orientadas a la innovación tecnológica, fundamentalmente en el sector industrial. En este Comité participan representantes del sector empresarial, de la academia y del sector público.

XXIX Congreso Latinoamericano de Química (CLAQ-2010)

La Federación Latinoamericana de Asociaciones Químicas (FLAQ) celebra el XXIX Congreso de Química entre el 27 de setiembre y el 1º de octubre del 2010, en la ciudad de Cartagena de Indias, Colombia. La organización del Congreso está a cargo de la Sociedad Colombiana de Ciencias Químicas.

Inscripción:

CALIDAD DEL PARTICIPANTE	Hasta el 31 de enero de 2010	Hasta el 31 de mayo de 2010	Después del 01 de junio de 2010
Profesionales	550.000	650.000	800.000
Estranjeros	\$ 350 USD	400 USD	450 USD
Estudiantes postgrado	\$ 380.000	450.000	550.000
Estudiantes pregrado	\$ 290.000	330.000	400.000
Acompañantes	\$ 250.000	250.000	250.000

Para mayor información dirigirse a:
www.claq2010.com
info@socolquim.com
 José Fernando Botero González
 Director Ejecutivo

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

SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ

SOCIOS HONORARIOS

Ing. Quím. Carlos Chirinos Villanueva (Perú)
Dr. Mario J. Molina (México)
Dra. Olga Lock Sing (Perú)
Dr. Antonio Monge Vega (España)
Dr. Lothar Beyer (Alemania)

SOCIOS CORRESPONDIENTES

Dr. Aiache, Jean-Marc (Francia)
Dr. Cea Olivares, Raymundo (México)
Dr. Chifa, Carlos (Argentina)
Dra. Cascales Angosto, María (España)
Dr. Del Castillo García, Benito (España)
Dr. De Simone, Francesco (Italia)
Dr. Garbarino, Juan A. (Chile)
Dr. García-Herbosa, Gabriel (España)
Dr. Infante, Gabriel A. (Puerto Rico)
Dr. Joseph-Nathan, Pedro (México)
Dr. Mors, Walter B. (Brasil)
Dr. San Feliciano, Arturo (España)
Dr. Suwalski, Mario (Chile)
Dr. Vicente Pérez, Santiago (España)

XXV

**Congreso Peruano
de Química**

"Ing. Quím. M.Sc. Dionisio Ugaz Mont"

Organizado por la SQP

Tendrá lugar en la
ciudad de Lima

Octubre 14, 15 y 16
2010