

ISSN 1810-634X

REVISTA de la SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ

REVISTA TRIMESTRAL

VOLUMEN 76 N° 4
OCTUBRE - DICIEMBRE 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

Comisión Revisora (árbitros)

Beyer, Lothar

Universidad de Leipzig - Alemania

Calvo Buendía, Eduardo

Univ. Nac. Mayor de San Marcos - Perú

Chávez Orellana, Haydee

Univ. Nac. San Luis Gonzaga - Perú

García Herbosa, Gabriel

Universidad Burgos - España

Gamboa Fuentes, Nadia

Pontificia Universidad Católica del Perú

Guija Poma, Emilio

Universidad Científica del Sur - Perú

Muñoz Jáuregui, Ana María

Universidad San Martín de Porres

Lock Sing, Olga

Pontificia Universidad Católica del Perú

Angulo Cornejo, Jorge

Univ. Nac. Mayor de San Marcos - Perú

Korswagen Ederi, Richard

Pontificia Universidad Católica del Perú

Picasso, Gino

Universidad Nacional de Ingeniería - Perú

Rueda Sánchez, Juan Carlos

Pontificia Universidad Católica del Perú

Rabinovich Jaitin, Daniel

University of N. Carolina, USA

Gorriti, Carlos

Universidad Privada Antenor Orrego - Perú

Troncoso Corzo, Luzmila

Facultad de Medicina UNMSM - Perú

Gutiérrez Correa, Marcel

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: revsqp@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

OCTUBRE - DICIEMBRE, 2010

N°4

En el Perú: N° suelto S/.15

Suscripción anual: S/. 60.00

En el extranjero: Suscripción anual: \$50.00

CONTENIDO

(Vol 76 N° 4 - 2010)

- Editorial	311
-------------------	-----

Trabajos originales

- Síntesis y caracterización de quitosano cuaternario nativo y reticulado en polvo, para su aplicación en la adsorción de aniones metálicos, por Abel E. Navarro, Ángela Manrique, Ernesto Iparraguirre, Carlos Díaz, Christian Jacinto, Norma Cuizano, Bertha P. Llanos. ...	313
- Contribución al estudio fitoquímico del líquen <i>Thamnolia vermicularis</i> subsp. <i>Vermicularis</i> S. STR., por Olivio Nino Castro Mandujano.	322
- Use of basic Methylene Blue Dye for specific face area measurement of metal hexacyanoferrate (II) complexes, by Brij Bhushan Tewari and Clint Oswald Thornton.	330
- Preparación de partículas de quitosano reticuladas con tripolifosfato y modificadas con polietilenglicol, por Nadia Rodríguez Huamamura, Ana Valderrama Negrón, Hugo Alarcón Cavero y Alcides López Milla.	336
- Estudio de la biosorción de ion oro (III) mediante quitosano cuaternario y quitosano cuaternario entrecruzado, por Ernesto Iparraguirre, Ángela Manrique, Abel E. Navarro, Norma A. Cuizano, Rosa Medina y Bertha P. Llanos.	355
- Estudio químico del aceite esencial del fruto de <i>Morinda citrifolia</i> Lineo (noni), por Zoila Garay Cauti, Otilia, Acha de la Cruz, Amada de Souza e Ingrid E. Collantes Díaz.	366
- Sustitución parcial de harina de trigo (<i>Triticum aestivum</i> L.) por harina de kiwicha (<i>Amaranthus caudatus</i> L.) usando el método directo y esponja y masa, en la elaboración de pan, por Pascual Chagman, Gloria y Zapata Huamán, Joaquín.	377
- Aislamiento del ácido úsnico de <i>Flavoparmelia caperata</i> y su determinación cuantitativa por espectroscopía UV, en diez líquenes, por Olivio Nino Castro Mandujano.	389
- Síntesis y caracterización de nanopartículas de ferrita de cobalto obtenidas por el proceso sol-gel, por Juan Montes de Oca, Llojan Chiquisengo y Hugo Alarcón.	400
- Extracción y caracterización del aceite de las larvas del <i>Tenebrio molitor</i> , por César Valdez Pantoja y Graciela Untiveros Bermúdez.	407

INFORMACIONES

A.- De la Sociedad Química del Perú	415
B.- Otras informaciones	419
Índice de materias	420
Índice de autores	422

Revista Arbitrada

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

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

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

La Revista de la Sociedad Química del Perú publica trabajos originales e inéditos de carácter científico, tecnológico y técnico en el campo de las ciencias químicas. La Revista acepta preferentemente los trabajos que expresen resultados valiosos, producto de las investigaciones científicas básicas o aplicadas, así como, los de divulgación que, por su importancia y la claridad de su exposición, constituyan un material valioso para la comunidad científica y tecnológica.

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

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

Los artículos de investigación son el resultado de un trabajo experimental o teórico, producto de una investigación científica o tecnológica, que aporta un nuevo conocimiento. Se recomienda una extensión entre 10 a 15 páginas a espacio y medio.

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

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

Los trabajos de revisión se basan en recopilaciones bibliográficas de temas en los que el autor tiene amplia experiencia. La Comisión de Publicaciones encomendará estos trabajos a especialistas en la materia.

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

Las notas informativas corresponden a temas que no están relacionados a una investigación, pero son artículos que merecen ser divulgados, por ser de gran interés para la comunidad química.

Los autores de los trabajos publicados son los únicos responsables de la autenticidad y opiniones expresadas en los mismos. Todos los autores de un artículo deberán firmar una carta de presentación del trabajo como garantía de haber participado activamente en la investigación y redacción del artículo. Todas las comunicaciones entre la Comisión de Publicaciones y el autor corresponsal se realizarán vía correo electrónico. El autor corresponsal deberá responder los correos electrónicos en el plazo que se señale.

Los autores enviarán sus artículos impresos y en formato electrónico (disco compacto o al correo electrónico sqperu@gmail.com) 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 de las siguientes sumas:

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

Si los autores residen en el extranjero US \$ 100.

Cuando el número de autores es superior a 3 se añadirá, además, US\$ 10 por cada autor en exceso.

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

When all the authors are partners of the Peruvian Chemical Society: S/. 90.00

When all the authors are not partners: S/. 180.00

If among the authors there are partners and non partners: S/. 135.00

If the authors reside abroad US \$ 100.

When the number of authors is superior to 3 it will be paid, also, US \$ 10 for each author in excess.

Formato para los artículos

Baje la plantilla de artículo. Los autores pueden solicitar la plantilla de artículo al correo electrónico sqperu@gmail.com

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”). Los decimales deben llevar coma.
2. Los idiomas de publicación son español e inglés.
3. El título del trabajo, que debe ser **breve y claro**, en español y en inglés (éste último antes del abstract) se escribe con tamaño de fuente 16, centrado y en negritas. Los nombres completos de los autores aparecerán a continuación con tamaño de fuente 12, el autor correspondiente se identificará con un asterisco. Las instituciones de la cual proceden los autores se escriben con tamaño de fuente 10 e irán a pie de página, donde también sólo el autor correspondiente colocará su correo electrónico después de la dirección postal completa de su institución.
4. Se presentarán dos resúmenes, uno en español y otro en inglés (Abstract), con una extensión aproximada entre 50 y 200 palabras. Las palabras Resumen y Abstract se escriben con tamaño de fuente 14, centrado y en negrita. Además, después del Resumen se deberá incluir entre 3 y 6 palabras clave, en español. Tanto Palabras clave como Key words se escriben a la izquierda del texto, con tamaño de fuente 12 y en negrita.).
5. Deberá respetarse las normas internacionales referentes a la nomenclatura, símbolos y sistemas de medida. Los nombres científicos de género y especie van en cursiva (itálica).
6. El caso de artículos originales y comunicaciones cortas, el texto debe contener las siguientes secciones: Introducción, Parte Experimental, Resultados y Discusión, Conclusiones, Agradecimientos, Referencias. Éstas se escriben con tamaño de fuente 14, en negritas y centradas. Las cartas al editor, artículos de revisión, enseñanza de la química y notas informativas, tendrán las secciones que el autor crea más conveniente.
7. Las tablas, figuras y esquemas, que no deben ser mayores que una página A4, tienen numeración arábiga seguido de punto. A continuación se coloca la leyenda que explique su significado. La numeración y leyenda en una tabla, cuyo formato debe ser básico 1, se colocan en la parte superior a diferencia de las figuras y los esquemas que se ubican en la parte inferior.
8. Las tablas, fotos, figuras y esquemas deben estar incluidos en el documento de Microsoft Word.
9. Las referencias, se citan en el texto correlativamente como superíndice. El número de estas referencias no debe ser excesivo. Deberán fluctuar entre 7 y 15. La sección Referencias se escribe con tamaño de fuente 14, centrado y **en negrita**. Las abreviaturas de la revistas se escribirán según el Chemical Abstracts Service Source Index (<http://www.cas.org/sent.html>) y [List of Journals Indexed in Index Medicus.](http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lisou.html) (<http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lisou.html>) Las referencias citadas se escribirán con el tamaño de fuente 10 y se seguirá el estilo de Vancouver.

Editorial

La Química, un hito de la ciencia

A lo largo de la historia de la humanidad se han producido hechos de tal trascendencia para su desarrollo que, constituyen verdaderos hitos. Tal es el papel que viene desempeñando la química desde hace unas centurias.

Es por ello que la Asamblea General de las Naciones Unidas proclamó el año 2011 como el “Año Internacional de la Química”. Se propuso dicho año porque en él se cumplen cien años de dos hechos importantes en el campo de esta ciencia:

- El otorgamiento del premio Nobel de Química a María Sklodowska Curie, en reconocimiento a sus grandes descubrimientos en química, en especial, en la radiactividad.
- La fundación de la Asociación Internacional de las Sociedades de Química, predecesora de la actual IUPAC (Internacional Union of Pure and Applied Chemistry).

Con el lema “La Química - nuestra vida, nuestro futuro los promotores de esta iniciativa ante las NN.UU., que fueron la UNESCO, y la IUPAC, buscan aumentar el aprecio entre el público de todas la edades, especialmente entre la juventud, generando entusiasmo por un futuro creativo de la química”

Y es que la química, contribuye, como pocas, a suplir nuestras necesidades básicas y de confort: la alimentación, la salud, el vestido, nuevas fuentes de energía renovables, lucha contra la contaminación del ambiente.

Es de esperar que las autoridades nacionales, en especial de los Ministerios de Educación y Producción, promuevan acciones destinadas a despertar conciencias, y conseguir las metas propuestas para el año 2011.

Una acción urgente que el ministerio de Educación debiera implementar ya, es que al inicio del próximo año académico, nuestros colegios puedan contar con una reestructuración del contenido del curso(s) de química, y con profesionales de la especialidad como profesores. Dicha reestructuración debiera incluir elevar a dos cursos esta materia (4º y 5º de secundaria) con horas suficientes – entre 4 y 5 semanales, incluidas las horas de la parte experimental.

Así se conseguirá que los jóvenes estudiantes se entusiasmen con el curso, usando el lenguaje propio de la química (la nomenclatura) y llevando acabado experimentos semanales; porque así debe enseñarse esta ciencia.

Con una juventud así formada en los colegios, el número de postulantes a las universidades, en las diferentes especialidades de la química, aumentará en forma notoria.

Para ayudar a conseguir estos objetivos, las autoridades de educación pueden contar con la colaboración de la Sociedad Química del Perú. Esta Sociedad tiene una larga experiencia en este campo, adquirida a través de múltiples eventos organizados durante los 77 años de existencia. Entre los más importantes se destacan los Congresos de Química:

- 25 Congresos Peruanos de Química
- 7 Congresos de Química Internacionales - latinos o iberoamericanos

En todos estos congresos se cuenta siempre con la sección. “Enseñanza de la Química”

- Además, 12 simposios nacionales sobre “Enseñanza de la Química”
- Frecuentes Cursos de Química, dirigidos en su mayoría, a profesores de la Secundaria.

La Sociedad Química es una asociación científica, sin fines de lucro, que reúne a profesionales de todas las especialidades de la química.

Es hora de hacer algo para que la química deje de ser la cenicienta entre todos los cursos de la Secundaria.

¡El año próximo nos brinda la oportunidad para ello!

Luis Valles. F.
Editor

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE QUITOSANO CUATERNARIO NATIVO Y RETICULADO EN POLVO PARA SU APLICACIÓN EN LA ADSORCIÓN DE ANIONES METÁLICOS

Abel E. Navarro^{1*}, Ángela Manrique², Ernesto Iparraguirre², Carlos Díaz³,
Christian Jacinto³, Norma Cuizano², Bertha P. Llanos²

RESUMEN

La adsorción de aniones metálicos siempre ha constituido un problema en biosorción, debido a la escasez de adsorbentes cargados positivamente que permitan una adecuada interacción. La presente investigación tiene como objetivo presentar una nueva versión de adsorbentes mediante la modificación química de quitosano. Se han combinado dos reacciones para este fin: la cuaternarización mediante reacción con glicidiltrimetilamonio (QC1) y la cuaternarización acoplada a la reticulación con glutaraldehído (QC2). Se caracterizaron ambos adsorbentes mediante técnicas espectroscópicas, análisis termogravimétrico, superficie específica, microscopía de barrido electrónico y conductometría. La presente investigación fue completada con la evaluación de estos adsorbentes para la adsorción de iones oro y cromo. Los resultados son muy prometedores, sobre todo con oro, alcanzando una capacidad de adsorción de 45 mg de Au/g de adsorbente. El uso de estos adsorbentes constituyen una promesa en el área de la biosorción para la remoción de aniones de interés industrial y ambiental.

Palabras clave: quitosano cuaternario, glicidiltrimetilamonio, biosorción, reticulación, pH

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF POWDERED NATIVE AND CROSS-LINKED CUATERNARY CHITOSAN FOR THEIR APPLICATION ON ADSORPTION OF ANIONIC METALS

ABSTRACT

The adsorption of anionic metals has always been a problem in biosorption, due to the lack of positively charged adsorbents that allow an efficient interaction. This research proposes a new batch of adsorbents by chemical modification of chitosan. Two reactions were combined to achieve this goal: quaternarization by the reaction with glycidyltrimethylammonium (QC1) and the quaternarization coupled with the cross-linkage with glutaraldehyde (QC2). Both adsorbents were characterized by spectroscopic techniques, thermogravimetric analysis, specific surface determination, scanning electron microscopy and conductometry. This investigation was completed with the evaluation of these adsorbents for the adsorption of gold

¹ Graduate School of Arts and Science, Department of Chemistry, New York, University, New York, 10003, NY, US

² Departamento de Química, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, L31, Perú.

³ Laboratorio de Química Analítica e Instrumental, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Ingeniería, Lima, L31, Perú.

* aen234@nyu.edu

and chromium ions. The results are very promising, more with gold, achieving an adsorption capacity of 45mg Au/g of adsorbent. The use of these adsorbents constitutes a promise in the biosorption area for the removal of anions of industrial and environmental interest.

Key words: quaternary chitosan, glycidyltrimethylammonium, biosorption, cross-linkage, pH.

INTRODUCCIÓN

Quitosano es, después de la celulosa, el más abundante de los biopolímeros en la naturaleza. Además, es considerado uno de los más versátiles y ampliamente usado polisacáridos en la industria de cosméticos, farmacéutica, química de polímeros, vinícola, cervecera y medicina. Su versatilidad ha trascendido estas áreas y ha incursionado en la biotecnología de remediación de metales pesados y otros contaminantes mediante la adsorción. La afinidad de quitosano hacia metales pesados, es una de las estables y ventajosas en el área de biosorción, siendo igualada sólo por los alginatos presentes en las algas pardas¹. Por definición, el quitosano es un polímero de cadena lineal formado por monómeros de D-glucosamina, enlazado mediante enlaces glicosídicos de tipo β (1 $\rightarrow$ 4). El quitosano es un compuesto insoluble en agua, pero soluble en medio ácido. Se obtiene del biopolímero quitina, mediante procesos secuenciales de desmineralización, desproteinización y desacetilación. La quitina nativa es obtenida, principalmente, por separación directa del caparazón de crustáceos marinos. Quitosano es caracterizado por su alto contenido de nitrógeno, presente en la forma de grupos amino que son responsables de la interacción con iones metálicos mediante mecanismos de quelación^{2,3}. Sin embargo, debido a su constante de acidez, que oscila entre 6,2 y 7,0 (dependiendo en el grado de desacetilación), está protonado en soluciones ácidas. Esto lo convierte en un poderoso adsorbente de iones negativamente cargados en solución a valores de pH menor que 6, mediante mecanismo de intercambio aniónico. Por otro lado, glutaraldehído es frecuentemente usado para entrelazar cadenas de quitosano y estabilizarlo en soluciones ácidas. Esta reacción ocurre por medio de una reacción de base de Schiff entre los grupos aldehído del entrecruzante (glutaraldehído) y algunos grupos amino del quitosano. La modificación química puede ser usada para incrementar la eficiencia de adsorción y también para mejorar la selectividad de adsorción⁴.

Desafortunadamente, el uso de quitosano en la adsorción de metales pesados tiene dos desventajas que han sido ampliamente discutidas. Primero es su inestabilidad en medios ácidos; dado que la mayoría de relaves mineros y aguas residuales también presentan una alta acidez, el uso de quitosano se vería disminuido. La acidez disuelve el polímero y hace imposible su separación de la solución. Segundo, el grupo amino del quitosano tiene una constante de acidez muy cercana a 7 (neutra), esto conlleva a que ligeros cambios en pH en aguas residuales tratadas o superficiales, produzca ionización en el quitosano. Por ejemplo, a pH menores que 6, la adsorción de cationes es grandemente disminuida, mientras que a valores de pH mayores que 7, la adsorción de aniones es casi nula. En otras palabras, la selectividad del quitosano varía con el pH de la solución^{2,5}.

El desarrollo y diseño de nuevos adsorbentes es una constante preocupación de la biosorción, la cual, como área de la biotecnología ambiental, tiene como objetivo la eliminación de contaminantes orgánicos e inorgánicos. Los avances de la biosorción incluyen la eliminación de plomo, cadmio, y demás metales pesados así como de derivados fenólicos y colorantes artificiales mediante adsorbentes provenientes de materia biológica, como hongos, algas, quitosano, cáscaras de huevo, entre otras. La ventaja de estos adsorbentes biológicos reside en su bajo costo y fácil manejo, por considerarse materia de desecho, en comparación de las técnicas convencionales de carbón activado y resinas de intercambio iónico. Existen otras

técnicas de separación de contaminantes, como la filtración, floculación, electrodeposición y precipitación; sin embargo, estas metodologías generan lodos residuales y tortas de filtración, cuyo tratamiento y disposición constituyen un gasto extra en el proceso de purificación^{5,6}.

En el presente trabajo, mediante una reacción S_N2 entre el grupo amino y cloruro de glicidiltrimetilamonio, se consigue cuaternarizar el grupo amino del quitosano y evitar el problema de la ionización del grupo amino con el pH^{7,8}. Las propiedades mecánicas del quitosano cuaternario también son reforzadas mediante reticulación con glutaraldehído para comprobar la afinidad de ambas modificaciones químicas, así como encontrar la proporción adecuada de cuaternizante y reticulante que brinde la permanente carga negativa en el grupo amonio (NR_4^+) y estabilidad mecánica y térmica, respectivamente. Se caracterizó los adsorbentes obtenidos mediante técnicas espectroscópicas, térmicas y conductométricas. Finalmente, se evaluó la eficiencia de los adsorbentes producidos frente a los iones oro (III) y cromo (VI) como aniones metálicos (precioso y tóxico, respectivamente) de importancia en la industria y la salud.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales y reactivos

Los reactivos usados en la investigación fueron adquiridos en grado reactivo o analítico, dependiendo de su aplicación. Quitosano (grado de desacetilación 90%) fue adquirido de Spectrum Chemicals. Cloruro de glicidiltrimetilamonio al 90% fue proveído por Fluka Analytical. Las soluciones estándar de oro y cromo fueron adquiridas de Aldrich Chemistry. Los demás reactivos y solventes provinieron de Merck. Las soluciones acuosas de los metales pesados fueron preparadas por dilución a partir de una solución stock de 1000 ppm de oro y cadmio. Las soluciones stock fueron preparadas con agua desionizada, purificada por ósmosis reversa mediante un purificador Barnstead/Thermolyne (Dubuque IA) D2714, el cual provee agua con una máxima conductividad de 18 mΩ.

Preparación de los adsorbentes

Se sintetizó quitosano cuaternario mediante una reacción de sustitución nucleofílica bimolecular (S_N2) entre el grupo amino del quitosano ($-NH_2$) y el epóxido del cloruro de glicidiltrimetilamonio (figura 1).

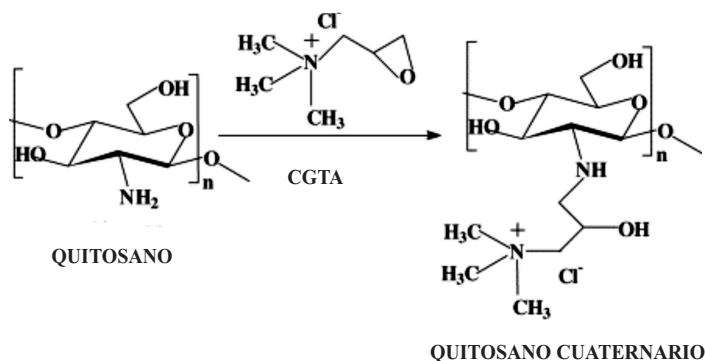


Figura 1: Esquema de la reacción para la formación de quitosano cuaternario (QC)

Quitosano cuaternario en polvo (QC1) fue preparado de la forma siguiente. Se pesó una cantidad de quitosano y se dispersó en un volumen de agua bajo agitación magnética. Luego, se agregó una cantidad estequiométrica en exceso de cloruro de glicidiltrimetilamonio (CGTA) y se dejó reaccionar durante 24 horas a 50°C bajo agitación. Al término de la reacción se precipitó el producto con acetona; luego se filtró, enjuagó con acetona y se secó en la estufa a no más de 60°C para evitar descomposición orgánica^{5,10}.

Luego se procedió a reducir el tamaño de partícula mediante un molino y separar las partículas por tamaño mediante tamices. Este procedimiento fue repetido con diferentes cantidades estequiométricas de CGTA, hasta obtener el quitosano cuaternario óptimo con la máxima cuaternarización y que a la vez permitiera una reticulación eficiente para la síntesis del próximo adsorbente.

El quitosano cuaternario entrecruzado (QC2) fue preparado con el siguiente método. Se pesó 10g de QC1 y se suspendió en 200mL de etanol. Luego se añadió 10mL de una solución al 25% w/v de glutaraldehído. La mezcla resultante se agitó durante 24 horas a temperatura ambiente. Al finalizar la reacción, se filtró, se enjuagó con etanol y se secó a 50°C. Finalmente, se molió y se separó las partículas por tamizado, del mismo modo que con QC1.

Ambos adsorbentes fueron colocados en viales de vidrio y almacenados hasta su uso en los estudios de caracterización y adsorción.

Caracterización de los adsorbentes

La cantidad de grupos amonio fue determinada por conductometría. Se suspendió 0,1g del adsorbente modificado en 200mL de agua desionizada y se tituló con una solución estandarizada de 0,01N de AgNO₃. Dado que cada grupo amonio está unido a un ion cloruro, la cantidad de grupos -NR₄⁺ fue determinada indirectamente mediante precipitación de los iones cloruro con iones plata. La modificación química del quitosano fue también monitoreada mediante espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR). Los análisis fueron realizados en un espectrofotómetro Nicolet, modelo IMPACT 410 para los adsorbentes Q, QC1 y QC2.

La estabilidad física y mecánica, así como la presencia de impurezas volátiles en los adsorbentes, fueron estudiadas mediante análisis termogravimétrico. El método consiste en el registro de pérdida de peso de la muestra. Se utilizó un equipo Linseis STA 1600 con un incremento paulatino de temperatura a razón de 5°C/min alcanzando un máximo de 550°C.

Un microscopio de barrido electrónico PHILIPS ESEM, XL-30 TMP fue utilizado para elucidar la textura superficial y la morfología de los adsorbentes obtenidos. Asimismo, la superficie específica de los adsorbentes fue determinada mediante el método del azul de metileno.

Experimentos de adsorción de cromo y oro

Se llevó a cabo experimentos de adsorción discontinuos a temperatura ambiente y a diferentes valores de pH iniciales de las soluciones. Se mezcló 50mL de soluciones de oro (10ppm) y cromo (50ppm) con 50 mg de cada adsorbente bajo agitación orbital durante 18h. El tiempo de equilibrio para la adsorción fue determinado mediante pruebas preliminares. Al término de ese periodo, las muestras fueron filtradas y la solución sobrenadante fue analizada mediante absorción atómica a la llama (Perkin Elmer 100) para determinar la concentración de metal remanente en la solución al equilibrio. Los resultados fueron expresados en función de la capacidad de adsorción (q) en miligramos del metal por gramo de adsorbente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Preparación de los adsorbentes

La reacción de síntesis fue directa y con muy pocas reacciones secundarias. Dado que estudios futuros incluyen la generación de perlas de quitosano cuaternario, se evaluó la relación

estequiométrica de CGTA y quitosano que permita la solubilización del QC en ácido acético. Como es de esperarse, la reducción de grupos amino libres reduce la solubilidad del quitosano en soluciones ácidas e imposibilita la formación de perlas de gel. Por lo tanto, nuestra metodología permitió determinar la máxima cantidad de grupos amino cuaternarios que se pueden insertar, sin reducir sustancialmente la solubilidad a bajos valores de pH para la formación de perlas porosas que maximicen la difusión intraparticular y el acceso a centros de adsorción en el interior del adsorbente.

Caracterización de los adsorbentes

El grado de cuaternarización fue medido por titulación conductométrica con una solución 0,01N de AgNO_3 con el adsorbente obtenido con la óptima relación estequiométrica de CGTA: quitosano, como se explicó en la sección anterior. La figura 2 muestra la titulación conductométrica del adsorbente optimizado con AgNO_3 . De los resultados se concluye que el adsorbente posee una concentración de 2,6 mmol de grupos amonio por gramo de adsorbente. Estos resultados están en completo acuerdo con Spinelli *et al.*¹⁰, que obtuvieron un grado de cuaternarización de 2,9 mmol/g. La diferencia es atribuida al hecho que nuestro adsorbente ha sido diseñado con miras a la producción de perlas de gel. Esto obliga a una menor cuaternarización para hacer efectiva la disolución del adsorbente para la formación de perlas. Debido a que el adsorbente QC2 fue obtenido por entrecruzamiento de QC1 con glutaraldehído, se asumió que la concentración de grupos NR_4^+ no fue afectado, dado a que no participa en dicha reacción.

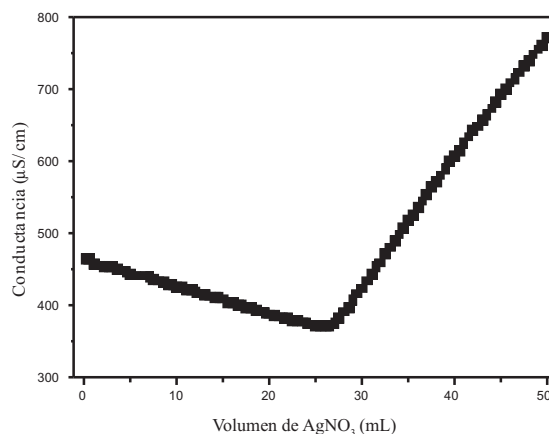


Figura 2: Titulación conductométrica del quitosano cuaternario optimizado (QC1) con AgNO_3

Ambos adsorbentes también fueron analizados mediante espectroscopía FTIR. La tabla 1 resume los grupos funcionales observados tanto en el quitosano nativo como en los adsorbentes preparados. Los picos característicos de quitosano fueron identificados^{7,8} en todas las muestras a 3455, 1093, y 661 cm^{-1} . Desafortunadamente, FTIR no confirma la presencia de grupos amino cuaternarios, debido a que sus enlaces tipo C-N no son visibles mediante FTIR. Sin embargo, se puede apreciar otros cambios en las muestras. Por ejemplo, picos característicos de alcanos (2937 y 1460 cm^{-1}), se hicieron más claros e intensos, debido a la existencia de grupos metilos de la amina cuaternaria. Además, en comparación con Q, QC1 y

QC2 mostraron una reducción en la banda a 1599cm^{-1} , que se ha atribuido como pico característico de aminas primarias debido a la vibración de deformación de enlaces N-H¹¹. Por otro lado, para QC2 se muestran los mismos cambios en la concentración de metilos y metilenos, pero también se percibe la presencia de un nuevo grupo a 1650cm^{-1} , atribuido a grupos imino (base de Schiff), los cuales son producto de la reacción de grupos amino libres con glutaraldehído. Finalmente, ninguno de los tres quitosanos mostraron cambios en el pico correspondiente al grupo O-H (1152 y 1030 cm^{-1}), demostrando que la reacción química no alteró los hidroxilos, sino únicamente a los grupos amino.

Tabla 1: Bandas características e intensidades relativas observadas mediante FT-IR para los tres adsorbentes.

Adsorbente	Grupo O-H (1152 y 1030 cm^{-1})	Grupo $-\text{CH}_2-$ y $-\text{CH}_3$ (2937 y 1460 cm^{-1})	Grupo $-\text{NH}-\text{H}$ (1599 cm^{-1})	Grupo C=N (1650 cm^{-1})
Q	Presente	Débil	Presente	Ausente
QC1	Presente	Intenso	Débil	Ausente
QC2	Presente	Intenso	Débil	Presente

Las propiedades de superficie de los adsorbentes producidos fueron evaluadas mediante microscopía de barrido electrónico (SEM), mientras que la superficie específica fue determinada mediante la técnica de azul de metileno (MB). La superficie de QC1 fue de $694,4\text{m}^2/\text{kg}$, mientras que la de QC2, fue de $1036\text{ m}^2/\text{kg}$. De acuerdo a estos resultados, se espera una mayor adsorción de QC2 frente a QC1. Una explicación a esta diferencia en superficies específicas, podría deberse a que el entrecruzamiento de cadenas mediante glutaraldehído, organiza las cadenas de quitosano, de tal manera que se forma una red tridimensional organizada y eficiente. Por otro lado, en el quitosano cuaternario sin modificar, las cadenas de quitosano se asocian al azar, ocultando centros de adsorción, y por ende reduciendo su superficie específica.

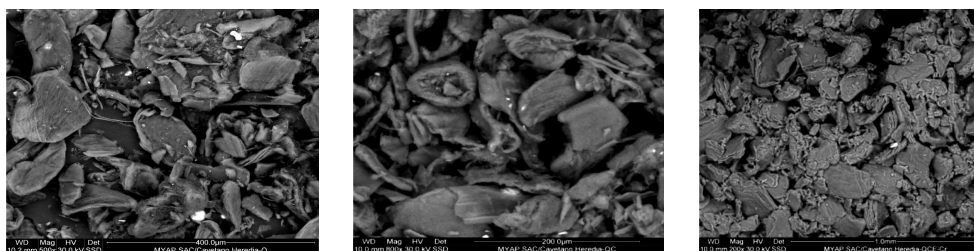


Figura 3: Microscopía de barrido electrónico de los adsorbentes Q (izquierda), QC1, (centro) y QC2 (derecha).

La figura 3 muestra las microscopías de los 3 adsorbentes. Las imágenes muestran una distribución de partículas poco homogéneas para el quitosano y el quitosano cuaternario QC1; esto se debe a las diversas ramificaciones propias de un polisacárido como el quitosano. Por

otro lado, el quitosano cuaternario reticulado muestra una imagen muy diferente a las predecesoras; QC2 muestra una superficie más homogénea; las partículas están asociadas de manera más organizada en tamaño y en distribución. Esto se debe a que las cadenas de quitosano han formado una red polimérica donde el glutaraldehído actúa como espaciador entre las cadenas, permitiendo una eficiente organización de las cadenas de N-glucosamina cuaternaria. Finalmente, los adsorbentes Q, QC1 y QC2, también fueron caracterizados mediante análisis termogravimétrico para determinar su estabilidad térmica, en relación al quitosano nativo¹²⁻¹⁴.

Como se muestra en la figura 4, el quitosano nativo, Q, resultó ser el adsorbente más estable, térmicamente hablando, con un T_m de alrededor de 300°C, seguido por QC2, con un T_m aproximadamente de 295°C y finalmente, seguidos por QC1 con un T_m de 250°C. Los resultados concuerdan con las predicciones de estabilidad de acuerdo a la estructura. Se predijo que quitosano presente el mayor T_m debido a la presencia de grupos aminos libres que forman puentes de hidrógeno entre las cadenas de quitosano; esto le da una mayor rigidez a los polímeros, mediante un entrecruzamiento natural de las cadenas. En el caso de QC1, el T_m disminuye, porque los grupos amino han sido convertidos en grupos amino cuaternario, y si bien poseen una carga electrostática positiva permanente; esa carga no es utilizada en la formación de interacciones con las otras cadenas; por el contrario, el quitosano pierde la habilidad de formar puentes de hidrógeno y su T_m se ve afectado hasta en 50°C, comparado con el quitosano nativo. Por el contrario, QC2, muestra una estabilidad térmica comparable al quitosano nativo; esto se debe al entrecruzamiento de las cadenas de quitosano mediante glutaraldehído^{12,13}. Si bien, muchos grupos amino se han sacrificado para la formación de amina cuaternaria, los pocos grupos amino restantes que establecen el entrecruzamiento de cadenas, mediante bases de Schiff, elevan el T_m .

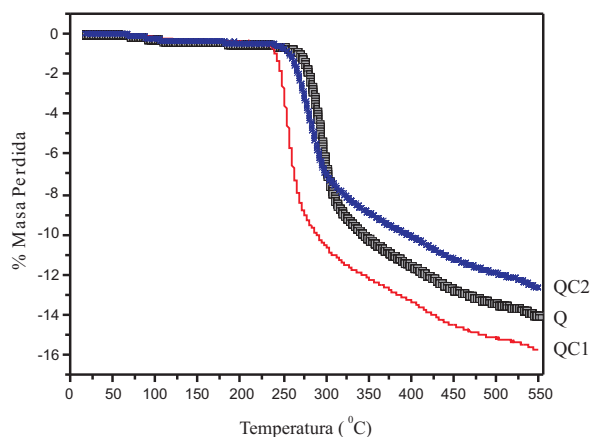


Figura 4: Análisis termogravimétrico de los adsorbentes Q, QC1 y QC2

Experimentos de adsorción con aniones metálicos

Se procedió a hacer pruebas preliminares de adsorción con los adsorbentes producidos, para evaluar la afinidad frente a aniones metálicos. Se escogieron oro y cromo, como modelos de metales preciosos y tóxicos, respectivamente. Los resultados se muestran en la figura 5 donde se evalúa pH vs capacidad de adsorción (q).

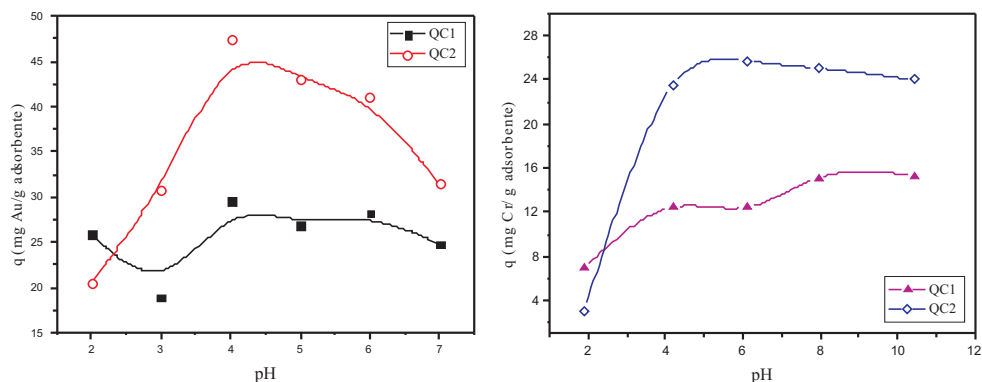


Figura 5: Efecto del pH en la adsorción de iones AuCl_4^{-1} (izquierda) y iones $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$ (derecha) mediante QC1 y Qc2.

Los resultados muestran claramente que el adsorbente QC2 es el más efectivo en la eliminación de ambos metales en casi la totalidad del rango de pH estudiado. Esto concuerda perfectamente con los resultados de determinación de superficie específica con el método de MB, donde QC2 tuvo una mayor superficie expuesta al solvente que QC1. La organización adecuada de las cadenas de quitosano cuaternario permite la maximización del uso de la superficie del adsorbente. Esto se corroboró con las microscopías donde se indicó una perfecta red polimérica. De los resultados también se observa que a pH mayores de 4, el efecto del pH es casi nulo, esto se debe a la carga permanente de la amina cuaternaria. Por otro lado, sorprende la diferencia en capacidades de adsorción entre Cr y Au. Se esperaba una mayor adsorción de Cr, debido a su carga $[-2]$. Una posible explicación de este fenómeno podría deberse al poder oxidante del ion dicromato que puede dañar la estructura del adsorbente mediante ruptura del entrecruzamiento u oxidación de las unidades de glucosamina^{9,10}. Además, cabe resaltar la baja capacidad de adsorción de ambos adsorbentes con ambos metales a bajos valores de pH; esto podría deberse a la protonación de los iones oro y cromo, que disminuyen la interacción electrostática^{15,16}.

CONCLUSIONES

El desarrollo de nuevos adsorbentes para la eliminación de metales preciosos y tóxicos es abordado mediante la modificación química de uno de biosorbentes más populares, como es quitosano. La introducción de grupos amino cuaternario, previenen al adsorbente de experimentar cambios en su química acuosa, a causa del pH. Por otro lado, la reticulación con glutaraldehído brinda estabilidad térmica y mecánica al quitosano. Ambas modificaciones fueron puestas en práctica para producir los adsorbentes QC1 y QC2. La síntesis y purificación fue exitosa como se demuestra con la caracterización de ambos adsorbentes. Se cuantificó el número de moles de amina cuaternaria incorporada por gramo de adsorbente; alcanzó un valor de 2,6. Asimismo, se verificó la eficiencia de la reacción de cuaternarización mediante FTIR, mostrando cambios en las bandas de absorción típicas de la reacción. La superficie de los adsorbentes también fue evaluada y se determinó la superficie específica de $694,4\text{m}^2/\text{kg}$ para QC1; mientras que la de QC2, fue de $1036\text{m}^2/\text{kg}$. Este estudio fue completado con microscopías electrónicas que confirmaron la formación de cadenas

entrecruzadas en QC2. Finalmente, la estabilidad térmica de QC2 fue casi equivalente a la del quitosano nativo. La pérdida de grupos amino libres, reduce la estabilidad térmica de QC1. Los experimentos de adsorción discontinuos completaron el estudio elucidando la factibilidad de ambos adsorbentes en la eliminación de iones oro y cromo. Cabe resaltar la superioridad de adsorción de oro sobre cromo, debido quizá, a la reactividad y propiedades oxidantes del mismo metal. Por lo expuesto, el desarrollo de estos adsorbente abre nuevos horizontes en la biosorción de aniones, la cual ha sido dejada de lado por la baja afinidad de los adsorbentes comunes; se espera completar este estudio con una evaluación completa del equilibrio y cinética de adsorción de ambos metales, para poder aplicarlos en la remoción de otros aniones de interés industrial y ambiental.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por PROCYT-CONCYTEC. Los autores también deseamos extender nuestro agradecimiento a Rosa Medina, por facilitar e interpretar las espectroscopías de barrido electrónico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Guibal E., Milot C., Tobin J. *Ind. Eng. Chem. Res.* 1998, 37, 1454-1463.
2. Kawamura Y., Mitsuhashi M., Tanibe H. *Ind. Eng. Chem. Res.* 1993, 32, 386-391.
3. Guibal E., Milot C., Eterradosi O., Gauffier C., Domard A. *Int. J. Biol. Macromol.* 1999, 24, 49-59.
4. Ly M., Maldonado G., Horna O., Guibal E. *Hydrometallurgy*. 2003, 71, 191-200.
5. Chojnacka K. *Biosorption and Bioaccumulation in Practice*. 2009. Nova Science Publishers, Inc. New York, US.
6. Wang J., Chen C. *Biotechnol. Adv.* 2009, 27, 195-226.
7. Xu W., Wu J., Fu C. *Chinese Chem. Lett.* 2001, 12, 1081-1084.
8. Kim C., Choi J., Chun H., Choi K. *Polym. Bullet.* 1997, 38, 387-393.
9. Rosa S., Laranjeira M., Riela H., Favere V. *J. Hazar. Mater.* 2008, 155, 253-260.
10. Spinelli V., Laranjeira M., Favere V. *Reactive & Func Polym.* 2004, 61, 347-352.
11. Li H., Du Y., Wu X., Zhan H. *Colloids and Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects*. 2004, 242, 1-8.
12. Navarro A., Cuizano N., Portales R., Llanos B. *Sep. Sci. Technol.* 2008, 43, 3183-3199.
13. Navarro A., Cuizano N., Lazo J., Sun-Kou R., Llanos B. *J. Hazar. Mater.* 2009, 164, 1439-1446.
14. Cuizano N., Llanos B., Navarro A. *Rev. Soc. Quím. Perú*, 2009, 75, 33-43.
15. Volesky B. *Sorption and Biosorption*. 2003. BV Sorbex, Inc. Quebec, Canada.
16. Liu Y., Wang J. *Fundamentals and Applications of Biosorption Isotherms, Kinetics and Thermodynamics*. 2009. Nova Science Publishers, Inc. New York, US.

CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO FITOQUÍMICO DEL LIQUEN *Thamnolia vermicularis* SUBSP. VERMICULARIS S. STR.

Olivio Nino Castro Mandujano

RESUMEN

En el presente trabajo se investigó al *Thamnolia vermicularis* (Sw.) Ach. Ex. Schaer. Subsp. Vermicularis. Se hicieron dos extracciones sucesivas por maceración con acetona; se procedió a separar diversos componentes del extracto; para ello se usaron solventes y mezclas de solventes de polaridad variable. Se aislaron y purificaron mediante técnicas cromatográficas y recristalizaciones. Finalmente, se elucidaron y se determinaron las estructuras de los sólidos obtenidos, analizando sus espectros de IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR y EM; estos son: compuesto H (ácido descarboxithamnólico), y el compuesto D (ácido thamnólico).

Palabras clave: Liquen, *Thamnolia vermicularis*, ácido thamnólico, ácido descarboxithamnólico.

CONTRIBUTION TO THE PHYTOCHEMISTRY STUDY OF THE LICHEN *Thamnolia vermicularis* SUBSP. VERMICULARIS S. STR.

ABSTRACT

In the present work there was investigated the *Thamnolia vermicularis* (Sw.) Ach. Ex. Schaer. Subsp. Vermicularis. Two successive extractions were done by maceration in acetone; one proceeded to separate diverse components of the extract, for it there were used solvents and mixtures of solvents of increasing polarity; then isolated and purified by means of chromatographic techniques and recrystallizations. Finally, they were elucidated and there decided the structures of the obtained solids; analyzing his spectra of IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR and SM; these are: compound H (decarboxithamnolic acid), and the compound D (thamnolic acid).

Key words: Liichen, *Thamnolia vermicularis*, thamnolic acid, decarboxithamnolic acid

INTRODUCCIÓN

El liquen es un organismo simbiótico conformado por un hongo (micobionte) y un alga (ficobionte). Crecen sobre rocas, corteza, hojas de árboles, suelos, etc. Aquellos compuestos que son sintetizados sólo por los líquenes se les llama compuestos liquénicos; generalmente se agrupan de acuerdo al tipo de estructura: Dépsidos, depsidonas, depsona, ácidos úsnicos y dibenzofuranos. Los líquenes son usados en base a sus propiedades farmacológicas, capacidad quelante, por tener acción sobre reacciones fotoquímicas con cationes y también son usados como pigmentos.¹⁻³

Este género thamnolia, tiene un amplio rango de distribución: se encuentra principalmente en el ártico y montañas en el hemisferio norte, como en las montañas alpinas y en regiones de fría temperatura en el hemisferio sur; se caracteriza por tener un talo hueco, de reproducción

Pontificia Universidad Católica del Perú, Departamento de Ciencias – Sección Química;
Av. Universitaria 1801, San Miguel, Lima 32, Perú, ocastro@pucep.pe

asexual, químicamente variable, de color blanco.⁴ Entre las especies del género *thamnolia* tenemos a la *Thamnolia vermicularis* subsp. *vermicularis* y a la *Thamnolia vermicularis* subsp. *solida* (figura 1).

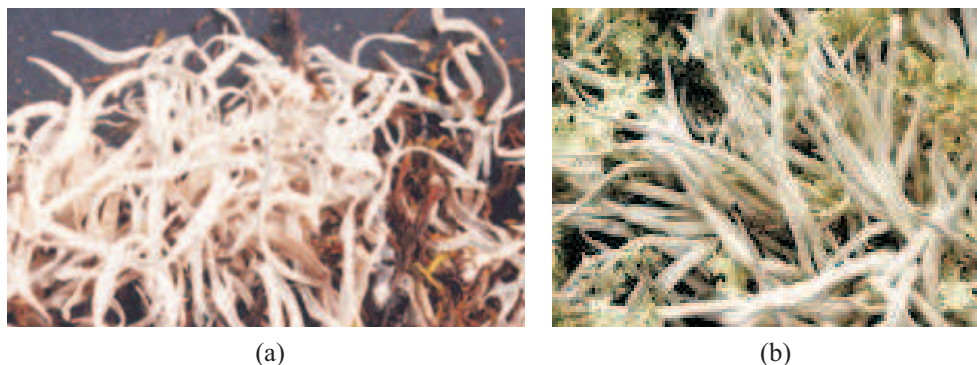


Figura 1: (a) *Thamnolia vermicularis* subsp. *solida*, (b) *Thamnolia vermicularis* subsp. *vermicularis*.

PARTE EXPERIMENTAL

La muestra constituye el líquen completo, el cual ha sido recolectado por Nino Castro, en el departamento de Junín, provincia de Huancayo, a orillas del lago Huaytapallana que está a una altitud de 4200 msnm., en mayo de 2000; su nombre científico es: *Thamnolia vermicularis* subsp. *vermicularis* s. str., el cual ha sido identificado por la Dr. Teuvo Ahti (University of Helsinki - Finlandia), y el PD Dr. H. Thorsten Lumbsch (Universität GH Essen - Germany). Para reconocer los ácidos fenólicos se emplea el cloruro férrico en disolución acuosa al 1%, o en disolución etanólica. Las sustancias líquénicas que posean en uno de sus anillos dos grupos hidroxilos en posición meta (2-4 ó 4-6), se pueden reconocer empleando una disolución acuosa saturada de hipoclorito de calcio.^{2,3}

La presencia de depsidonas es detectable empleando una disolución acuosa de KOH al 5%. Su acción se basa en la ruptura del éster mediante hidrólisis alcalina, conduciendo a la formación de un compuesto difenólico con un enlace éster, observándose color rojo con depsidonas.²

Se extrae 210 gramos de líquen con acetona por maceración por 7 días a temperatura ambiente, se filtra; se repite la extracción por otros 7 días; finalmente se tiene un extracto total de 1,5 L de acetona, el cual se concentra al vacío con el rotavapor, hasta 100 mL. Este extracto concentrado se guarda en reposo a 0°C, durante un día; se observa que precipita, el que se filtra y se lava con cloroformo frío, obteniéndose un sólido I. El líquido filtrado se concentra hasta 25 mL, luego se realiza con él una cromatografía en columna (CC), con el sistema CHCl₃ – MeOH, aumentando la cantidad de metanol; se colectaron en total 60 fracciones de 5 mL cada una. Se agrupan las fracciones según su análisis de cromatografía de capa delgada, y se obtienen 6 fracciones.

La fracción II, se disuelve en el sistema CHCl₃ – MeOH (1:1), se deja en reposo a 0°C, luego se filtra, se seca y se obtiene un sólido H (80 mg, color blanco). La fracción III se purifica disolviéndola con CHCl₃ – MeOH (1:1), se guarda a 0°C por dos horas y luego se filtra; así se obtiene un sólido C (120 mg, color crema); este sólido C se disuelve en acetona calentando,

luego se deja en reposo a 0° C por todo un día, se filtra y se lava con acetona helada; finalmente se obtiene unos cristales en forma de agujas ligeramente amarillas (compuesto D); se verifica su pureza realizando una CCD sobre cromatofolios de sílica gel bajo el sistema tolueno – AcOEt – ácido acético glacial (6:4:1), revelando con una solución de H₂SO₄ (10%) en MeOH, el resultado confirma que H y D tienen una mancha.

Los sólidos del extracto acetónico (H, C y D), se envían al extranjero (Universidad Nacional de Australia), para su análisis por HPLC. La muestra se trata de la siguiente manera: 20 mg de muestra sólida se extraen con acetona fría, por 5 minutos en un Ultrasonic, se decanta y se toma una alícuota para inyectar al cromatógrafo.⁵ Se compararon los tiempos de retención obtenidos de la muestra con la base de datos que tiene el laboratorio a partir de muestras puras extraídas de otras plantas, bajo la mismas condiciones.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Elucidación estructural del sólido H.- La reacción de coloración con KOH nos dio amarillo; H tiene punto de fusión 215°C con descomposición; el espectro UV-vis tiene longitud de onda máxima en 267, 313 y 365 nm; todo esto indica la presencia de un grupo cromóforo fuertemente conjugado.

Del espectro IR, se determina la presencia del grupo OH fenólico a 3411,6 cm⁻¹, C=O cetónico a 1745, C=O ácido a 1651 cm⁻¹, C=C a 1526,6 cm⁻¹; los otros valores son: 3599,9; 3181,1; 1430,1; 1293,4; 1277,9; 1238,0; 1200,4; 1187,5; 1113; 1099,1; 833,1; 812,1; 775,2; 724,1; 656; 643,6; 589; 516,4; 460,7; 415,3; 404,1 cm⁻¹.

Analizando el espectro H¹ - NMR, en acetona – d₆ se observan los desplazamientos δ , del solvente es a 2,86 y 206 ppm (figura 2) y se identifican los desplazamientos de cada protón: Los metilos, por lo general, aparecen alrededor de 1,0 ppm, pero cuando están acoplados a grupos como a anillos aromáticos o grupos OH, son desplazados sus señales a campos bajos 2,28 y 2,55 ppm. Además, en el espectro se observa también señales de 2 protones aromáticos a 6,41 y 6,79 ppm, los cuales estarán en dos anillos diferentes y éstos a su vez estarán bien sustituidos ya que las señales son singuletes y de diferentes alturas de los picos. Por otro lado, se observa que a 10,3 ppm hay una señal lo que indica presencia de un aldehído aromático; finalmente, del pico de 11,2 ppm se puede afirmar que se trataría un grupo COOH, ya que estos grupos frecuentemente presentan señales entre 11–12 ppm; la información espectroscópica se muestra en la tabla 1.

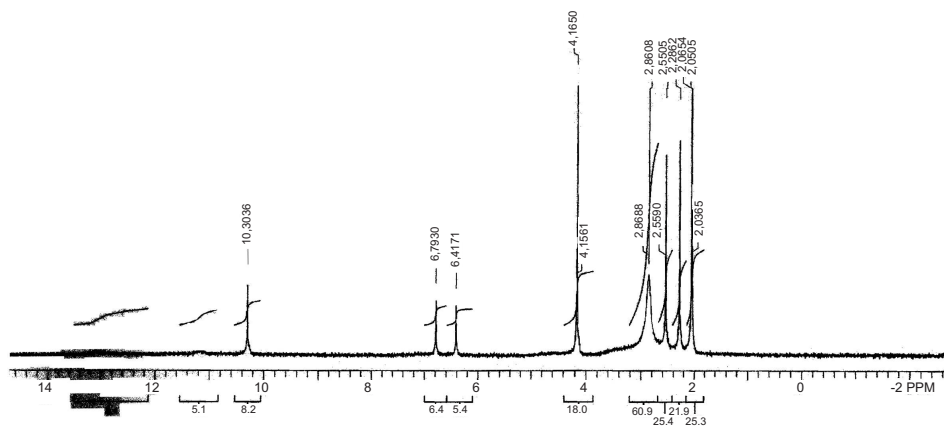


Figura 2: Espectro RMN-H¹ del compuesto H

Tabla 1: Datos del espectro de RMN- H^1 del sólido H

Desplazamiento (ppm)	Integración	Asignación
2,28	3H, s	-CH ₃
2,55	3H, s	-CH ₃
4,16	3H, s	Metoxi
6,41	1H, s	protón aromático
6,79	1H, s	protón aromático
10,30	1H, s	-CHO
11,2	1H, s	-COOH

Reuniendo los datos de UV-Vis, IR, H^1 -NMR y según el cromatograma de HPLC, nos indica que el compuesto H se trataría del compuesto ácido decarboxithamnólico; entonces se analiza el espectro de C^{13} -NMR del compuesto H, para sustentar esta hipótesis. Los desplazamientos de cada carbono del compuesto se resumen en la tabla 2.

Los datos del espectro de masa (figura 3), nos indica que su fórmula global es: $C_{18}H_{16}O_9$, su peso molecular es de 376,0; con fragmentos a 332 (al perder un CO₂ de 376), 265, 226 (cuando pierde un grupo CHO del fragmento 265), 191 (pico padre); otros fragmentos son 165, 150, 121, 105, 93 y 65⁶⁻⁹. En la figura 4, se propone la fragmentación del compuesto H.

Tabla 2: Datos espectro RMN- C^{13} del compuesto H

No. C	? en ppm	No. C	? en ppm
C-1	99,2358	C-1'	108,348
C-2	165,934	C-2'	156,5
C-3	105,610	C-3'	143,893
C-4	161,332	C-4'	137
C-5	105,610	C-5'	109,893
C-6	147,072	C-6'	159,846
C-7	164	C-7'	194,550 (CHO)
C-8	171,5 (COMe)	C-8'	17,5091(CH ₃)
C-9	21,0333 (CH ₃)	C-4-Ome	57,7334

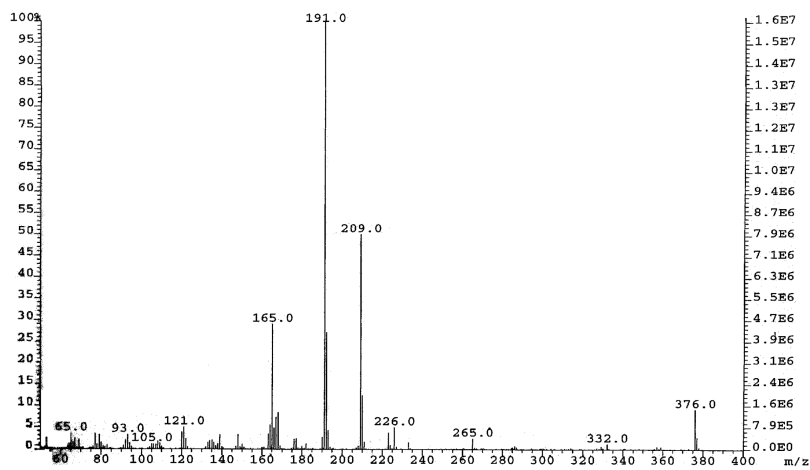


Figura 3: Espectro de masa del compuesto H

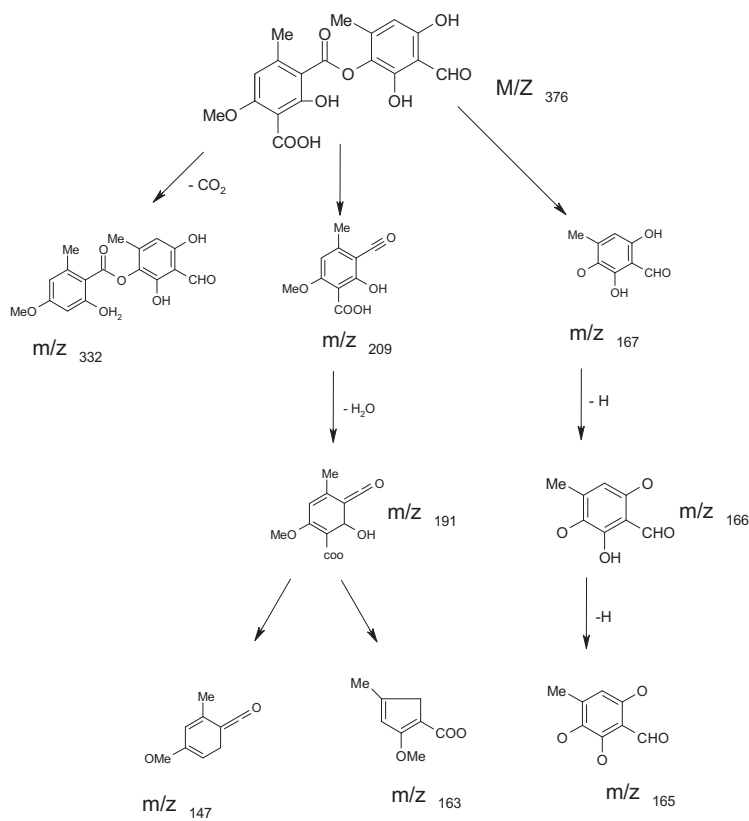
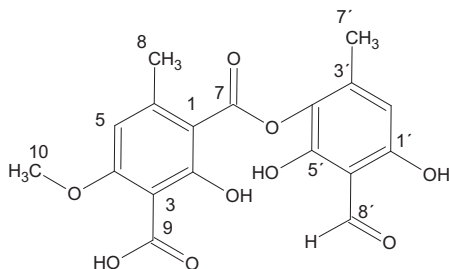


Figura 4: Fragmentación del compuesto H

Entonces, el compuesto H aislado, se propone que se trataría del ácido decarboxi-thamnólico:



Elucidación estructural del compuesto D.- El compuesto D son cristales en forma de agujas ligeramente amarillo, su punto de fusión es 222-224°C; reacciona con KOH resultando amarillo. Analizando el cromatograma HPLC del compuesto D, nos indica que se trataría del ácido thamnólico cuyo tiempo de retención es 22,565 min.

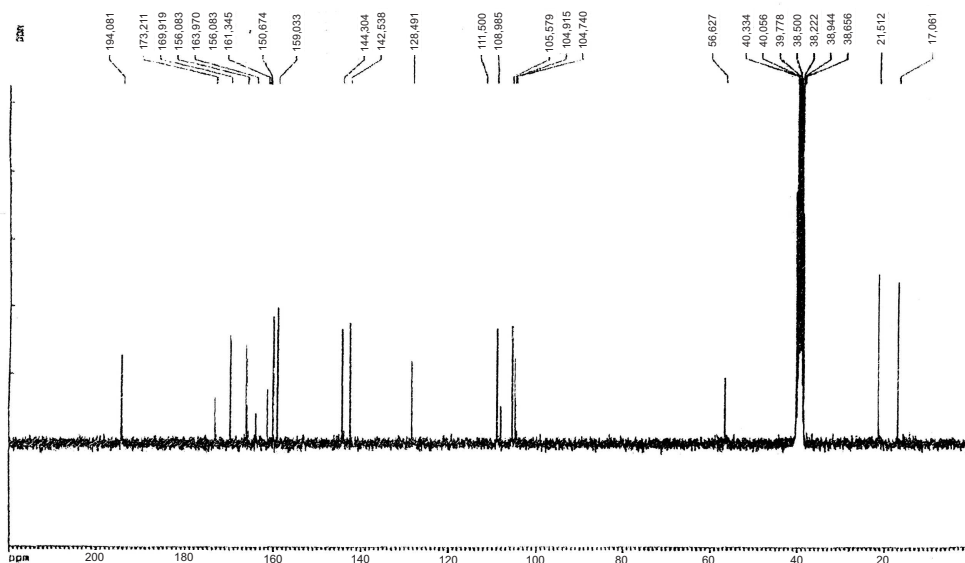


Figura 5: Espectro de RMN- C^{13} del compuesto D

Analizando y comparando los datos espectroscópicos de RMN- C^{13} del compuesto D (figura 5) con el espectro del ácido thamnólico, se observa que hay bastante similitud entre estos dos compuestos;⁶⁻⁹ el resumen de esta observación está en la tabla 3.

Finalmente, se propone que el compuesto D es el ácido thamnólico, según los datos de cromatograma de HPLC y el espectro de RMN- C^{13} ; la estructura química propuesta sería:

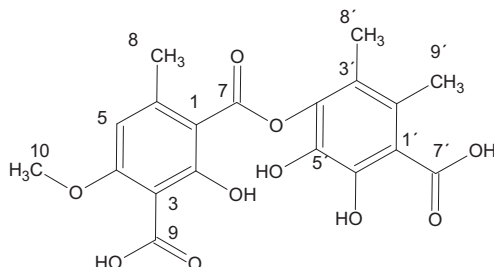


Tabla 3: Comparación de los desplazamientos del espectro RMN- C^{13} del compuesto D con el ácido thamnólico

No. Carbono	Desplazamiento en ppm (?)	
	Referencia 7	Compuesto D
C-1	104,1	104,740
C-2	165,9	166,083
C-3	105,6	105,579
C-4	161,0	161,345
C-5	105,6	104,916
C-6	144,8	144,304
C-7	164,1	163,970
C-8	170,5	169,819
C-9	21,5	21,512
C-4-Ome	56,4	56,627

No. Carbono	Desplazamiento en ppm (?)	
	Referencia 7	Compuesto D
C-1'	111,8	111,500
C-2'	160,6	160,674
C-3'	108,5	108,965
C-4'	157,1	159,033
C-5'	129,4	128,491
C-6'	143,6	142,538
C-7'	172,5	173,211
C-8'	194,0	194,081
C-9'	15,9	17,061

CONCLUSIÓN

Se aisló y se determinó la estructura de 2 compuestos líquénicos; estos son: Compuesto H (ácido descarboxithamnólico) y compuesto D (ácido thamnólico).

El tiempo de retención, en el análisis cualitativo por HPLC de los compuestos aislados son: 20,092 min y 22,565 min para el ácido descarboxithamnólico y el ácido thamnólico, respectivamente.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue realizada gracias a la colaboración de la Dra. Magdalena Pavlich de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Agradezco, igualmente, a las siguientes personas: al Dr. H. Thorsten Lumbsch de la Universität GH Essen - Germany, por la identificación botánica del líquen estudiado; al Dr Arturo San Feliciano (Universidad de Salamanca -

España) por la realización del análisis de RMN- H^1 , RMN- C^{13} y EM; al Dr. John Elix de la Universidad Nacional de Australia por los análisis de HPLC, y a la Dra. Neli Kika Honda de la Universidad Matto Grosso Do Sul - Brasil por el espectro de RMN- C^{13} .

BIBLIOGRAFÍA

1. Kika Honda, N, Vilegas, W., A química dos líquenes, *Química Nova* – Brasil, 21, 110 – 124 (1998).
2. Reinhold L. D., Progress in *Phytochemistry*, 1968, pag 225.
3. Robles C., Pastor, A., Morales P., Líquenes, *Revista química – PUCP*, (1992). 6, 65-76
4. Karnefelt, E.I., Thell, A., *Lichenol.*, (1995), 58, 213-234.
5. Feige, G. B., et al., *J. Chromatography*, (1993), 646, 417-427.
6. Robles, C., Pastor, A., Morales P., Líquenes–Segunda parte, *Revista Química – PUCP*, (1992), 6, 192-200.
7. Huneck, S., And Yoshimura, I., Identification of the lichen substances, ed. Springer, Berlin, 1996.
8. Silverstein, R.M., Spectrometric identification of organic compounds, 5TH. Edition, Ed. John Wiley, 1998.
9. Pretsch, C., Tablas para la elucidación estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos, Ed. Springer–Verlag Ibérica, Barcelona, 1998.

USE OF BASIC METHYLENE BLUE DYE FOR SPECIFIC SURFACE AREA MEASUREMENT OF METAL HEXACYANOFERRATE(II) COMPLEXES

Brij Bhushan Tewari^{1*} and Clint Ostwald Thornton¹

ABSTRACT

A method of measuring the external specific surface area of bismuth, lead and manganese ferrocyanides is described. Basic methylene blue dye in a range of concentration in dilute aqueous solution is applied at room temperature and adsorption isotherms are determined by spectrophotometric analysis of solutions. The percentage uptake of dye was found to be maximum and minimum for manganese and lead ferrocyanides, respectively. The mode of adsorption is indicated by the type of isotherms. Methylene blue dye adsorption on these metal ferrocyanides follows Langmuir adsorption isotherm. Methylene blue appears to be adsorbed flatwise from water with an effective surface area of $130\text{\AA}^2$. The specific surface area (SSA) has been calculated. The SSA was found to be 86.67, 115.69 and $144.45\text{ m}^2\text{g}^{-1}$ for bismuth, lead and manganese ferrocyanides, respectively.

Key words: methylene blue dye; adsorption; metal ferrocyanides; Langmuir constants; specific surface area.

INTRODUCTION

The measurement of SSA of finally divided solids is becoming of increasing importance in many branches of technology and in the laboratory. Solute adsorption however offers several advantages over vapour phase adsorption for the determination of specific surface area of solids. Insoluble double metal ferrocyanides of general formula $M_2[Fe(CN)_6] \cdot xH_2O$ where M could be Zn^{2+} , Cu^{2+} , Bi^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} etc. are very important class of inorganic compounds. These metal ferrocyanides have long been known to act as adsorbents¹⁻³ and ion-exchangers⁴⁻⁶. Due to their various applications, it become vital importance to have an determination of specific surface area of such compounds. Dye adsorption, has been used as substitute for BET measurement for determining the total surface of such compounds^{7,8}.

A search of literature indicated that some reports are available on determination of specific surface area of various solids by dyes⁹⁻¹² and substituted phenols^{13,14} adsorption, but no report available on determination of SSA of bismuth, lead and manganese ferrocyanides by methylene blue dye adsorption. In view of this attempt has been made to determine the specific surface area of these metal ferrocyanides. In addition, present paper describes an basic methylene blue dye adsorption method for the determination of specific surface area of bismuth, lead and manganese ferrocyanides.

EXPERIMENTAL SECTION

Chemicals

All chemicals used were of analytical-reagent grade. Potassium ferrocyanides $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$, bismuth(III) nitrate $Bi(NO_3)_3 \cdot 5H_2O$, lead(II) nitrate $Pb(NO_3)_2$,

¹ Department of Chemistry, Faculty of Natural Sciences, University of Guyana, P.O. Box 101110, Georgetown, Guyana, S. America

* Corresponding author:

Tel: 592-222-6004; Fax: 592-222-3596; E-mail: brijtew@yahoo.com

manganese(II) chloride $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ were obtained from BDH, Poole, UK. Methylene blue dye was obtained from E. Merck, Darmstadt, Germany. All chemicals used without further purification. Solutions were prepared in doubly distilled water.

Synthesis and characterization of metal ferrocyanides

Synthesis of metal ferrocyanides were carried out similar to the methods reported in chemical literature^{15,16}. Bismuth, lead and manganese ferrocyanides were prepared by adding potassium ferrocyanide (167 ml; 0.1 M) solution slowly to each bismuth(III) nitrate, lead(II) nitrate and manganese(II) chloride (500 ml; 0.1 M) solutions with constant stirring. Reaction mixture was heated on water bath for 2-3 hours and then cured for 24 hours. The precipitates were filtered washed with distilled water and dried in an air oven at 60 °C. The dried product was ground and sieved to 125 μm mesh size.

Bismuth, lead and manganese ferrocyanides were characterized on the basis of elemental analysis and spectral studies. Bismuth, lead, manganese and iron were estimated by atomic absorption spectrophotometry on IL-751 spectrophotometer. Carbon, hydrogen and nitrogen analysis was performed on CEST – 118, CHN analyzer. The analytical data for all three compounds are as follows: bismuth compound [Found (%): C – 10.80, H – 0.90, N – 12.75, Bi – 60.61, Fe – 8.50. $\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_6\text{O}_3\text{Bi}_2\text{Fe}_1$. Calculated (%): C – 10.87, H – 0.83, N – 12.97, Bi – 59.79, Fe 9.10. Yield – 100.00 %], lead compound [Found (%): C – 9.80, H – 1.27, N – 12.32, Pb – 58.02, Fe – 7.80. $\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_6\text{O}_3\text{Pb}_2\text{Fe}_1$. Calculated (%): C – 9.15, H – 1.30, N – 12.60, Pb – 60.18, Fe – 7.48. Yield – 98.50 %], manganese compound [Found (%): C – 16.30, H – 2.80, N – 18.60, Mn – 26.90, Fe 13.12. $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_6\text{O}_6\text{Mn}_2\text{Fe}_1$. Calculated (%): C – 15.90, H – 2.88, N – 19.29, Mn – 28.70, Fe – 14.25. Yield – 96.70 %].

Infrared spectra of compounds, $\text{M}_2[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot x\text{H}_2\text{O}$ [where M = Bi, x = 6; M = Pb, x = 5; M = Mn, x = 3] were recorded in KBr disc on Beckmann IR-20 spectrophotometer. A broad band at around 3700 cm^{-1} in all three metal ferrocyanides is due to interstitial water molecules and OH groups, while the characteristic HOH bending appears at around 1600 cm^{-1} in all complexes. Two sharp bands at around 2080 cm^{-1} and 580 cm^{-1} are characteristics of cyanide and Fe-C stretching respectively. Another sharp band at around 490 cm^{-1} in all three metal ferrocyanides probable shows the presence of metal-nitrogen band due to polymerization.

Bismuth, lead and manganese ferrocyanides are found to have light blue, light green and gray colours, respectively. These complexes are amorphous solid and shows no X-ray pattern. Bismuth ferrocyanide is found to be more stable in acids (HCl , HNO_3 , CH_3COOH , H_2SO_4) at concentration 0.1 – 2.0 M in comparison to lead and manganese ferrocyanides. All three metal ferrocyanides are slightly unstable in base (NaOH , KOH and NH_4OH) solutions in the concentration range 0.1 – 2.0 M. Bismuth, lead and manganese ferrocyanides were also found to be stable in salt (NaCl , LiCl , KCl , NH_4Cl , RbCl , CsCl , BaCl_2 , CaCl_2 and MgCl_2) solutions in the concentration 1.0 – 2.0 M.

Adsorption studies

The adsorption of methylene blue on metal ferrocyanides as a function pH (2.0 – 10.0) and concentration (10^{-5} – 10^{-6} M) of adsorbates, was observed by adding 10 ml of methylene blue solution to 25 mg of metal ferrocyanide each time at room temperature 31 °C. The suspension were centrifused after 6 h. The methylene blue concentration was determined spectrophotometrically at λ_{max} , 665 nm. The amount of methylene blue adsorbed was calculated by difference in methylene blue concentration before and after adsorption.

RESULTS

A wide range of pH (2.0 – 10.0) were selected for adsorption studies of methylene blue dye on bismuth, lead and manganese hexacyanoferrate(II) complexes (figure 1). Lead and manganese ferrocyanides revealed maximum adsorption at pH 2.0 while bismuth ferrocyanide at pH 4.0. A neutral pH (7.0 ± 0.01) was chosen to run the sorption isotherms of the dye in a wide concentration range. The neutral pH is physiologically significant as most of the reactions in living systems takes place in neutral medium.

Adsorption isotherms for adsorption of methylene blue dye on bismuth, lead and manganese ferrocyanides are shown in figure 2. The isotherms are positive and concave to the concentration axis. For each adsorption process duplicate experiments were carried out. In duplicate adsorptions the difference in the concentration of methylene blue after adsorption was observed to be in the range of $\pm 1\%$. The following order of uptake of methylene blue on metal ferrocyanides was observed

manganese ferrocyanide > lead ferrocyanide > bismuth ferrocyanide

The data of adsorption isotherms for methylene blue have been analyzed in terms of Langmuir adsorption equation¹⁷.

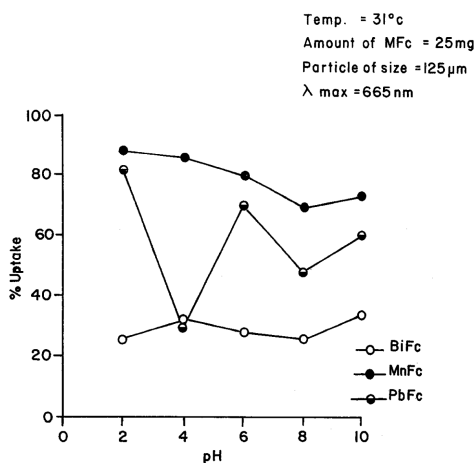


Figure 1: Effect of pH on adsorption of methylene blue dye on metal ferrocyanides

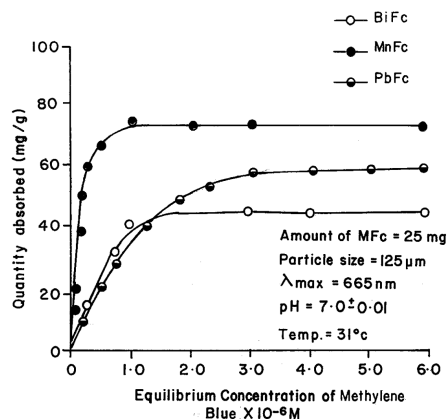


Figure 2: Adsorption isotherms of methylene blue dye on metal ferrocyanides

$$1/q_{eq} = 1/Q^0 + 1/C_{eq} \cdot 1/bQ^0 \quad (1)$$

where C_{eq} is equilibrium concentration of methylene blue, b is the constant related to the equilibrium constant or bonding energy ($b \propto e^{\Delta H/RT}$), the parameter b reflects the steepness of the approach to saturation, more precisely, the b value is the reciprocal of concentration at which half saturation of adsorbent is attained), q_{eq} is the amount (mg) of adsorbate adsorbed per gram of adsorbent and Q^0 is the adsorption maxima, i.e. mg of methylene blue required per gram of metal ferrocyanides for forming a complete monolayer on the surface.

Plot of $(1/q_{eq})$ versus $(1/C_{eq})$ in the concentration range $(10^{-5} - 10^{-6} \text{ M})$ of methylene blue are shown in figure 3. The straight lines shows the Langmuir type of adsorption in general. The linear nature of Langmuir plots confirm the formation of a monolayer of methylene blue molecules on the metal ferrocyanides. The values of Langmuir constants b and Q^0 were obtained from the slope and the intercept of the plot. The value of the Q^0 interpreted as a measure of the accessibility of the adsorption sites and b may be regarded as measure of the affinity of the metal ferrocyanides for the adsorbed methylene blue. The calculated values of the Langmuir constants are given in table 1.

The specific surface area of bismuth, lead and manganese ferrocyanides have been calculated with the help of following equation¹⁸

$$\text{Specific surface area (SSA)} = X_m \cdot N \cdot A \quad (2)$$

Where X_m is the monolayers capacity in moles per gram; N is Avagadro number (6.019×10^{23}) and A is area per molecule on the surface. Under the condition of optimum flocculation, the area adsorbed by per molecule of methylene blue is taken as $130 \text{ \AA}^2$, which corresponds to the molecule lying flat on the adsorbent surface. The value of X_m was obtained from the adsorption isotherm corresponding to the point of inflexion. The values of SSA of bismuth, lead and manganese ferrocyanides are given in table 1.

DISCUSSION

It is observed from adsorption isotherms (figure 1) that adsorption is fast at lower concentration but at higher adsorbate concentration it becomes slow which indicates saturation and maximum possible uptake of dye. At higher adsorbate concentration (greater than 10^{-3} M) Langmuir plots (figure 3) deviate from their linear behaviour, this may be possible due to formation of multilayers¹⁹.

It is clear from the table 1 that manganese and bismuth ferrocyanides have greater and lesser specific surface area, respectively, therefore manganese ferrocyanide is considered to be the most porous in comparison to other two metal ferrocyanides studied. Present order of specific surface area values are justified by order of maximum uptake of methylene blue on metal ferrocyanides.

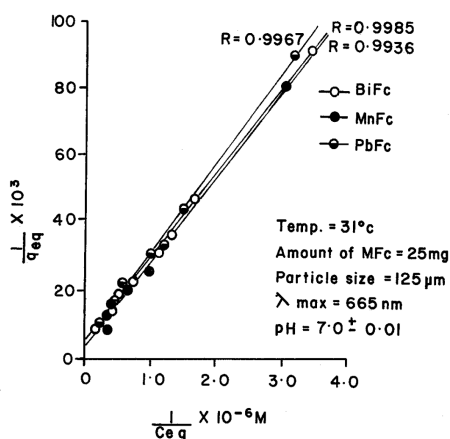


Figure 3. Langmuir plots of methylene blue dye on metal ferrocyanides.

Table 1. Langmuir constants for adsorption of methylene blue dye on bismuth, lead and manganese ferrocyanides
(Temp.: 31°C; pH: 7.0 $\pm$ 0.01 ; methylene blue dye λ_{max} = 665 nm)

Metal ferrocyanides ^a	Particle size (μm)	Specific surface area (m^2g^{-1})	Langmuir constants	
			b(liter mol ⁻¹)	Q ⁰ (mg g ⁻¹)
BiFc	125	86.67	2.30 x 10 ⁵	173.91
PbFc	125	115.69	1.94 x 10 ⁵	190.48
MnFc	125	144.45	1.47 x 10 ⁵	266.67

^a BiFc = bismuth ferrocyanide; PbFc = lead ferrocyanide;
MnFc = manganese ferrocyanide.

The average standard deviation for the determination of specific surface area of bismuth, lead and manganese ferrocyanides is found to be 0.0275. The correlation coefficient (R) calculated by regression analysis are given in figure 3. The overall statistics are excellent, with an average correlation coefficient of 0.9963. The high correlation coefficient indicates high affinity between the metal ferrocyanides surfaces and methylene blue dye.

Methylene blue dye has often been used for surface area measurements²⁰ and has the advantages of very rapid adsorption on most solids. Determination of SSA of solids by methylene blue dye adsorption is simple and has been shown to give reliable results with a wide variety of solids, therefore present method has significant advantages over other methods reported in chemical literature for the determination of specific surface area of solids.

REFERENCES

1. B. B. Tewari, D. Mohan and Kamaluddin, *Colloids Surf. A: Physiochem. Eng. Aspects* **131**, 89 (1998).
2. B. B. Tewari *Rev. Anal. Chem.* **19**, 491 (2000).
3. Kamaluddin, M. Nath, S. W. Deopujari and A. Sharma, *Origins Life Evol. Biosphere* **20**, 259(1990).
4. M. Qureshi, R. Kumar and H.S. Rathor, *Talanta* **19**, 1377(1972).
5. J. F. Walton, *Anal. Chem.* **52**, 15(1980).
6. I. P. Saraswat, S. K. Srivastava, S. K. Verma and A. K. Sharma, *Can. J. Chem.* **58**, 2250 (1980).
7. R. Brina and A. D. Battisti, *J. Chem. Edu.* **64**, 175(1987).
8. J. H. Potgieter, *J. Chem. Edu.* **68**, 349 (1991).
9. V. P. Vinod and T. S. Anirudhan, *Water, Air, Solid Pollut.* **150**, 153 (2003).
10. E. S. Ribeiro, S. S. Rossato, Y. Gushikem and L. T. Kubota, *J. Solid State Electrochem* **7**, 665 (2003).
11. D. Palit and S. P. Moulik, *Colloid J.* **65**, 350 (2003).
12. M. S. Kim, S. I. Seok, B. Y. Ahan, S. M. Koo and S. U. Paik, *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **27**, 355 (2003).
13. A. Garcia-Mendieta, M. Solache-Rios and M. T. Olguin, *Sep. Sci. Technol.* **38**, 2549 (2003).
14. R. -S. Juang, R.-L. Tseng and F. C. Wu, *Adsorption* **7**, 65 (2004).
15. B. B. Tewari, D. Mohan Kamaluddin and S. K. Srivastava, *Ind. J. Chem. Technol.* **2**, 113 (1995).
16. V. Kourim, J. Rais and B. Million, *J. Inorg. Nucl. Chem.* **26**, 1111(1964).
17. I. Langmuir, *J. Am. Chem. Soc.* **40**, 1361 (1918).
18. C. H. Gill and S. N. Nakhawa, *J. Appl. Chem.* **12**, 266 (1962).
19. M. A. Rahaman and A. K. Ghosh, *J. Colloid Interface Sci.* **177**, 50 (1980).
20. J. J. Kipling and R. N. Wilson, *J. Appl. Chem.* **10**, 109 (1960).

PREPARACIÓN DE PARTÍCULAS DE QUITOSANO RETICULADAS CON TRIPOLIFOSFATO Y MODIFICADAS CON POLIETILENGLICOL

Nadia Rodríguez Hamamura^{*}, Ana Valderrama Negrón^a, Hugo Alarcón Cavero^b, Alcides López Milla^c

RESUMEN

Se han preparado partículas de quitosano (CS) a escala nanométrica para posteriormente realizar estudios de cargado y liberación de fármacos. El quitosano fue caracterizado por FTIR y valoración conductimétrica para determinar su porcentaje de desacetilación y mediante viscosimetría para obtener su masa molar. Se aplicó el método de gelación iónica para la preparación de las partículas de CS entrecruzadas con aniones tripolifosfato (TPP) y modificadas con polietilenglicol (PEG), obteniéndose tamaños de partícula en un rango de 100 a 400nm. La caracterización de las partículas de CS-TPP modificadas con PEG se realizó usando las técnicas de DLS, TEM y FTIR. Además, se estudiaron los factores que influyen en la estabilidad de las partículas de CS, como el efecto del tiempo, fuerza iónica y pH.

Palabras clave: Quitosano, gelación iónica, nanopartículas.

PREPARATION OF CHITOSAN PARTICLES CROSS-LINKED WITH TRIPOLYPHOSPHATE AND MODIFIED WITH POLYETHYLENE GLYCOL

ABSTRACT

Chitosan(CS) particles were prepared to nanoscale for further studies of loaded and released drugs. The chitosan was characterized by viscosimetry to obtain the molar mass. Titration conductivity and FTIR were performed in able to determine the percentage of deacetylation. Ionic gelation was the method used for the preparation of CS particles cross-linked with tripolyphosphate (TPP) anions and modified with polyethylene glycol (PEG) to obtain size in a range of 100 to 400nm. Characterization of CS-TPP particles modified with PEG was performed using DLS, TEM and FTIR techniques. The factors that influence the stability of the CS particles, as the effect of time, ionic strength and pH were also studied.

Key words: Chitosan, ionic gelation, nanoparticles.

INTRODUCCIÓN

El quitosano (CS), poliβ-(1-4)-2-amino-2-desoxi-D-glucosa obtenido a partir de la quitina, es el segundo polisacárido más abundante y un polielectrolito catiónico presente en la naturaleza. El CS ha demostrado tener características de biocompatibilidad favorable y para ser degradado por la lisozima en el suero. Desde un punto de vista biofarmacéutico, el CS tiene un gran potencial de servir como potenciador de la absorción a través del epitelio intestinal para mejorar sus propiedades mucoadhesivas y de permeabilidad.

^{*} Laboratorio de Metalofármacos y Biopolímeros, Universidad Nacional de Ingeniería. Av. Túpac Amaru 210. Lima 25. Perú. nadiarh@gmail.com.

^b Laboratorio de Películas Delgadas, Universidad Nacional de Ingeniería

^c Laboratorio de Microscopía Electrónica. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Ingeniería.

Recientemente, las partículas poliméricas menores de 1000nm están siendo investigadas como portadoras de fármacos por vía oral, con el objetivo de mejorar la asimilación de los fármacos con bajas características de absorción. Algunos investigadores también han observado que el número de partículas de escala nanométrica que atraviesan el epitelio intestinal es mayor que el de las microesferas ($>1\mu\text{m}$), haciendo que su preparación y estudio sea de gran interés. Las partículas poliméricas de tamaño menor de $1\mu\text{m}$ a partir de polímeros biodegradables y biocompatibles son buenos candidatos como portadores y administradores de fármacos, ya que se espera que sean absorbidos en forma intacta en el tracto gastrointestinal tras su administración oral¹.

Las partículas de quitosano fueron preparadas por gelación iónica del quitosano con aniones de tripolifosfato (TPP) y fueron modificadas con el polímero polietilenglicol (PEG). Al no formar redes permanentes porque no se da la unión química irreversible, no tienen problemas de toxicidad en humanos, ya que se biodegradan y *reabsorben «in vivo»*. Las partículas recubiertas de PEG se han descubierto como grandes potenciales en la aplicación terapéutica para la liberación controlada de fármacos y el suministro de medicamentos a sitios específicos. Pocos estudios han tratado de investigar las partículas de quitosano recubiertas con PEG. Las partículas recubiertas con PEG fueron concebidas con la intención de hacer estas partículas más estables en los fluidos fisiológicos, de ahí nuestro interés en su preparación.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales

Quitosano en polvo, adquirido de Sigma- Aldrich Chemistry, Inc, USA; como Chitosan from crab shells $> 75\%$ deacetylated. Polietilenglicol 20000Da, adquirido de Merck-Schuchardt. Tripolifosfato de sodio, adquirido de Sigma- Aldrich Chemistry. Todos los demás reactivos químicos fueron de grado analítico para análisis.

Caracterización fisicoquímica del quitosano

Porcentaje de humedad

Se pesaron muestras de quitosano y se llevaron a peso constante calentándolos en un horno a 105°C . Finalmente, se pesaron las muestras secas.

Contenido de cenizas

Se pesó una muestra de quitosano y se colocó en una mufla a 800°C durante 6h. Finalmente, se pesó el residuo obtenido tras la calcinación.

Contenido de material insoluble

Se filtró al vacío la solución de quitosano al 2% en ácido acético. El papel de filtro rápido con material insoluble se secó en el horno hasta la determinación del peso constante.

Porcentaje de desacetilación

Espectroscopía Infrarroja. Para obtener el espectro IR de las películas de CS se utilizó el espectrómetro infrarrojo con transformada de Fourier FTIR Shimatzu 8300 con frecuencia de $4000\text{--}400\text{cm}^{-1}$. Se prepararon las películas de quitosano tomando como base el procedimiento de Baxter². La solución se vertió en una superficie de plástico, buscando una dispersión homogénea del contenido manteniendo la muestra a 60°C por 24 horas. La película se lava con una solución al 8% de amoníaco en metanol y finalmente con metanol. Nuevamente, se mantiene la muestra a 60°C por 20 min y luego en un desecador hasta el momento de la medida por FTIR.

Valoración conductimétrica. Para obtener la curva de valoración conductimétrica se utilizó el conductímetro, Orión 142. Para esto se pesaron 200mg de quitosano y se disolvieron en

5mL de HCl 1,0 M. Luego, se agregaron 450mL de NaCl 0,001 M, y se llevó a agitación para lograr una solución uniforme.

Esta solución se tituló conductimétricamente con 60mL de NaOH 0,1M estandarizado. La titulación se realizó descargando 0,5mL de NaOH 0,1M por cada medida.

Masa molecular

Las medidas de viscosidad y densidad de las soluciones de quitosano se realizaron con un picnómetro con termómetro y capilar lateral con caperuza y un viscosímetro Ostwald Cannon –Fenske rutina Serie 9721-A50 tamaño 400, de 20,3cm de longitud y 5mm de diámetro.

Se preparó una solución 0,1M de CH_3COONa en 0,2M de CH_3COOH que se utilizó como disolvente (buffer), para preparar las diferentes concentraciones de quitosano: 0,5%, 0,25%, 0,125% y 0,0625%(w/v). Se midieron la densidad y viscosidad de las disoluciones de quitosano. Estas mediciones se realizaron en un baño de temperatura constante de 30 °C, por triplicado. Las medidas de viscosidad y densidad también se realizaron para el buffer y el agua destilada.

Preparación de las partículas de quitosano

Las partículas de CS se prepararon tomando como base el procedimiento de Calvo et al.³. Se realizaron diversas pruebas con el fin de obtener el tamaño de partículas en suspensión deseado, variando la concentración de CS y de TPP.

Se prepararon soluciones de ácido acético de las siguientes concentraciones 0,9; 1,5; 3; 4,5; 6 y 7,5mg/mL, en la que se disolvió el quitosano a 0,6; 1; 2; 3; 4 y 5mg/mL respectivamente. Se dejó reposando la solución de quitosano por 24horas. Las partículas de quitosano no disueltas se filtraron. Se llevó la solución a pH 4,6 con hidróxido de sodio, 1N. Se agregó polietilenglicol a la solución de quitosano, bajo agitación magnética y a temperatura ambiente, obteniéndose soluciones de PEG-quitosano con diferentes concentraciones de PEG (0, 10, 30, 50 mg/mL). Luego, bajo agitación magnética y a temperatura ambiente, se agregó gota a gota con ayuda de una jeringa insulínica, 4 mL de solución acuosa de tripolifosfato de sodio (TPP) de concentración 0,6 ó 1mg/mL a 10 mL de la solución PEG-quitosano, respectivamente. Finalmente, se ultracentrifugaron las soluciones obtenidas a 10000rpm, 18 °C durante 15 minutos para separar cualquier partícula de mayor tamaño que se haya podido formar y quede lista la muestra para su caracterización.

Caracterización fisicoquímica de las partículas de quitosano

Microscopía de transmisión electrónica (TEM)

La morfología y tamaño de las partículas de quitosano fueron examinadas usando el microscopio electrónico de transmisión, PHILIPS M300 80keV.

Dispersión de luz dinámica (DLS)

Se usó el equipo de dispersión de luz dinámica (DLS), Brookhaven 90 Plus para hallar el diámetro hidrodinámico y la distribución del tamaño de las partículas obtenidas.

Espectroscopía IR de reflectancia

Para obtener el espectro IR de las partículas de quitosano se utilizó el espectrómetro infrarrojo con transformada de Fourier FTIR Shimadzu 8300 con frecuencia de 4000 a 400 cm^{-1} , usando de blanco bromuro de potasio seco. Las partículas de quitosano de las siguientes concentraciones de CS, PEG y TPP en mg/mL (1, 0 y 1), (1, 10 y 1) y (5, 50 y 1), respectivamente; fueron separadas de la suspensión y secadas mediante un liofilizador *ABCONCO, LYPH LOCK 12*, obteniendo en todos los casos un sólido blanco.

Estudio de los factores que influyen la estabilidad de las partículas de quitosano

Estudio de la variación del tamaño de las partículas de quitosano en el tiempo

Las partículas de CS que cumplían con los requisitos de tamaño y además presentaban una

opalescencia que se mantenía estable y en suspensión fueron las de concentración de CS 1mg/mL, TPP 1mg/mL y PEG (10, 30 y 50 mg/mL). Éstas fueron las utilizadas para el análisis. Se realizaron las medidas de tamaño de las partículas a cada una de las suspensiones utilizando el DLS. Las medidas se realizaron a los 3, 9 y 17 días.

Efecto salino sobre la variación del tamaño de las partículas de quitosano

Se preparó una solución de cloruro de sodio 0,30 mol/L. Se tomó 10mL de la suspensión de partículas de quitosano (de concentraciones CS 1mg/mL y TPP 1mg/mL) y se mezcló con 10mL de la solución salina anteriormente preparada, obteniéndose una suspensión de partículas de quitosano en un medio de concentración salina fisiológica 0,15mol/L que se mantuvo en agitación constante. El tamaño de las partículas de quitosano se midió, usando el DLS y luego a los 17, 34 y 51 minutos de la mezcla.

Efecto salino sobre la variación del tamaño de las partículas de quitosano a diferentes concentraciones de cloruro de sodio

Se prepararon soluciones de cloruro de sodio a 0,10 y 0,30 mol/L. Se tomaron 10mL de la suspensión de partículas de CS (de concentraciones CS 1mg/mL y TPP 1mg/mL) y se mezcló con 10mL de la solución salina 0,10 mol/L anteriormente preparada, obteniéndose una suspensión de partículas de CS en un medio de concentración salina de 0,05mol/L que se mantuvo en agitación constante. Se realizó lo mismo con la solución salina de 0,30 mol/L, obteniéndose una concentración salina de 0,15mol/L. El tamaño de las partículas de CS se midió, usando el DLS, a los 50 minutos después de la mezcla.

Estudio de estabilidad de las partículas de quitosano a diferentes pH

Para las medidas de estabilidad de CS a pH: 1,2 y 7,4; se prepararon soluciones buffer en las que se agregaron la suspensión de partículas de CS (de concentraciones CS 1mg/mL y TPP 1mg/mL), se mantuvieron en agitación constante y a una temperatura promedio de 37°C, utilizando un sistema compuesto de una chaqueta de calefacción, un termostato y una bomba peristáltica. La solución buffer a pH 1,2 se preparó con 50mL de solución de cloruro de potasio, KCl 0,2M y 85mL de solución de ácido clorhídrico, HCl 0,2 M; este buffer actúa como fluido gástrico simulado. La solución buffer a pH 7,4 se preparó con 100mL de la solución de dihidrógeno fosfato de potasio, KH_2PO_4 0,1M y 78,2mL de la solución de hidróxido de sodio, NaOH 0,1 M, este buffer actúa como fluido intestinal simulado. Luego, se hizo un barrido de la solución de 200 a 400 nm, utilizando un espectrofotómetro UV LaboMed Inc. Se continuó realizando las mismas medidas después de 1 y 24 horas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización fisicoquímica del quitosano

Porcentaje de humedad

Todas las muestras de quitosano poseen diferentes contenidos de agua, por este motivo el porcentaje de humedad es un parámetro importante que debe considerarse al momento de trabajar con dichas muestras.

$$\text{Humedad(\%)} = \frac{(\text{peso húmedo} - \text{peso seco})}{\text{peso húmedo}} \cdot 100 \quad (1)$$

Se obtuvo 7,84% de humedad total, un porcentaje alto y que debe considerarse al momento del pesado para no variar los resultados esperados.

Contenido de cenizas

El contenido de cenizas es indicativo del contenido de materiales inorgánicos presentes en la muestra; se determina de acuerdo a:

$$\text{Contenido de cenizas(\%)} = \frac{\text{peso cenizas}}{\text{peso total}} 100 \quad (2)$$

El contenido de cenizas totales es de 0,2273%; un resultado bajo, lo que es muy importante ya que se quiere orientar el trabajo hacia aplicaciones biomédicas.

Contenido de material insoluble

El contenido de material insoluble puede venir dado por la presencia de sales insolubles, quitosano poco destilado y otros contaminantes. Se determina de acuerdo a:

$$\text{Material insoluble(\%)} = \frac{\text{peso filtrado}}{\text{peso total}} 100 \quad (3)$$

El contenido de material insoluble es 2,87%, información que se debe considerar al preparar las soluciones de quitosano a la concentración deseada.

Porcentaje de desacetilación

Espectroscopía infrarroja. El espectro FTIR de las películas de quitosano se muestra en la figura 1. Brugnerotto y col.⁴ realizaron una extensiva investigación en la que analizaron 25 muestras de quitina y quitosano de diferentes fuentes y con grados de acetilación, determinados por espectroscopía RMN, que iban desde 0,5% hasta 97,9%. A partir de los espectros FTIR se toma como banda característica a la localizada a $1\,320\text{ cm}^{-1}$, y como referencia la banda a $1\,420\text{ cm}^{-1}$, obteniendo una correlación lineal que viene expresada por la siguiente relación:

$$\text{DA(\%)} = 31,92 (A_{1320}/A_{1420}) - 12,20 \quad (4)$$

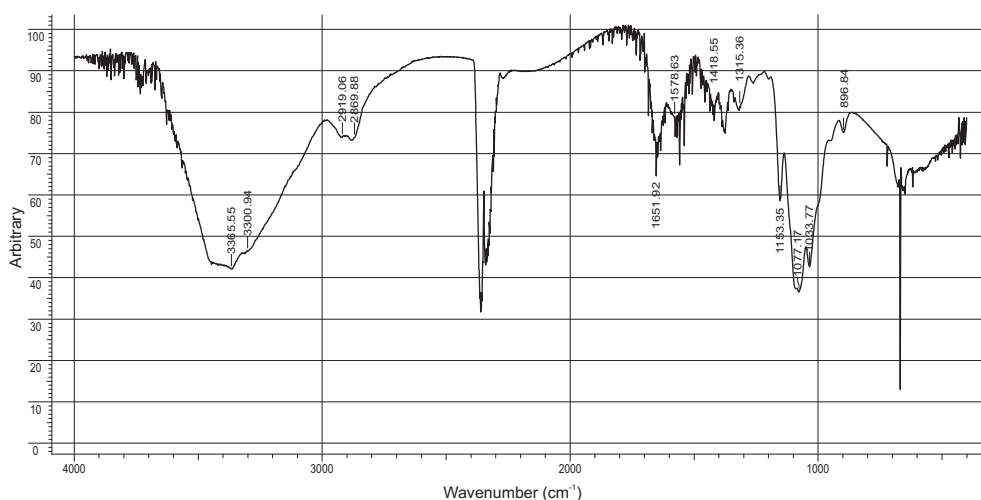


Figura 1. Espectro FTIR de quitosano.

Tabla 1. Datos de absorbancia

Longitud de onda(cm^{-1})	%Transmitancia	Absorbancia del pico(u.a.)
1320	80,661577	0,093333
1420	81,162679	0,090644

Tabla 2. Grupos funcionales característicos

Grupo funcional	$V_{\text{referencia}}^5$ (cm^{-1})	V_{Exp} (cm^{-1})	Intens. del pico
Grupo -OH	3450	3365	m
Grupo N-H	3292	3300	m
Grupo C-H	2919 y 2862	2919 y 2869	s
Amida I	1655	1652	m
Doblaje del grupo -NH ₂	1580	1579	s
Amida III	1313	1315	s
Tensión asimétrica del C-O-C	1154	1153	m
Vibraciones de su estructura piranósica	1082 y 1032	1077 y 1033	w y m
Tensión C-H de grupos anoméricos	896	896	s

Aplicando la ecuación (4) el grado de acetilación del quitosano es: $DA(\%) = 19,95$

Por lo tanto, el grado de desacetilación es:

$$DD(\%) = 100 - DA \quad (5)$$

$$DD(\%) = 80,05$$

En el espectro IR (figura 1), se pueden apreciar las siguientes bandas características que se muestran en la tabla 2, lo que es consistente con su estructura (figura 2).

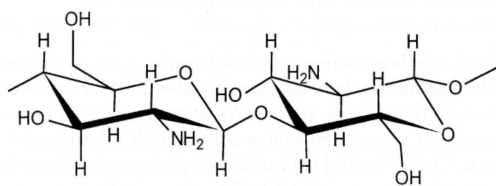
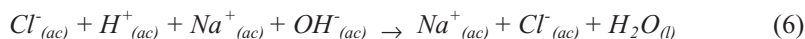


Figura 2. Estructura del quitosano.

Valoración conductimétrica

La titulación de HCl con NaOH es una titulación ácido fuerte con base fuerte; la reacción que tiene lugar es:



Inicialmente la conductividad de la disolución ácida es grande porque los iones H^{+} tienen una movilidad muy alta. Conforme se va produciendo la neutralización, los iones H^{+} libres reaccionan con cada OH^{-} añadido, y van formándose iones Na^{+} libres que tienen una movilidad menor, esto hace que la conductividad disminuya rápidamente, lo que se manifiesta en la curva (figura 3) como una disminución casi lineal de la conductividad de la solución. Hasta que se alcanza el punto mínimo de la curva donde el HCl se ha consumido y empieza la titulación de los grupos amino protonados:

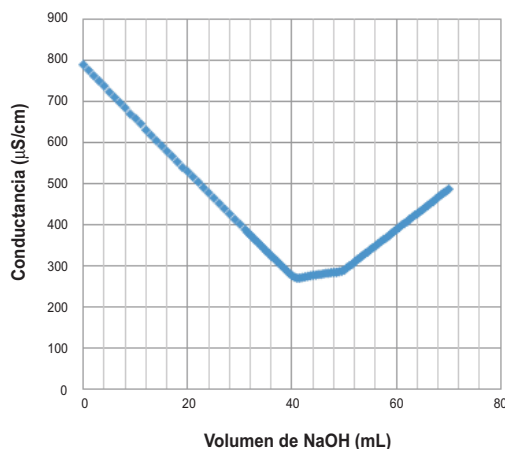


Figura 3. Conductancia específica vs volumen del titulante NaOH

A continuación se produce un incremento de la conductividad debido a la neutralización de los grupos amino protonados del quitosano. Esta curva presenta cierta curvatura debido a la precipitación del quitosano, precipitación que comienza a $pH = 6,5$.

Cuando la neutralización se completa, la curva ascendente adquiere una mayor pendiente debido a la incorporación de los iones OH^{-} libres. Los cambios de pendiente que se observan en los dos puntos mencionados presentan cierta curvatura. Este hecho se debe, en el primer caso, a la disociación inicial de los grupos amino protonados del quitosano y, en el segundo caso, a la precipitación del quitosano antes mencionado. De esta forma, la equivalencia se calcula determinando las posiciones de las intersecciones de las ramas correspondientes de la curva. La diferencia entre los dos puntos de intersección corresponde al volumen de NaOH requerido para neutralizar los grupos amino libres del quitosano, lo que permite determinar el grado de N-acetilación de la muestra.

En el punto de equivalencia:

$$\begin{aligned} \#Eq - g_{(ÁCIDO)} &= \#Eq - g_{(BASE)} \\ \#Eq - g_{(R-NH_3^+)} &= \#Eq - g_{(NaOH)} \\ \frac{w_{(R-NH_3^+)} \cdot x\theta}{M} &= N_{NaOH} \cdot V_{NaOH} \end{aligned}$$

Donde:

- Normalidad del NaOH: $N_{NaOH} = 0,0954N$
- Volumen de NaOH utilizado para neutralizar grupos NH_3^+ : $V_{NaOH} = 10,1mL$
- Masa de quitosano: $w_{R-NH_3(Húmedo)} = 0,2006g$ $w_{R-NH_3(seco)} = 0,1849g$
- $q=1$ (número de H^+ neutralizados de cada NH_2).

Reemplazando los datos:

$$\frac{mmol_{(NH_2)}}{g(CS)} = \frac{(0,0954N)(10,1mL)}{(0,1849g)} = 5,21 \quad (7)$$

Entonces la cantidad de grupos aminos por gramo de quitosano es:

$$5,21 \frac{mmol_{(NH_2)}}{g(CS)}$$

Así, obtenemos el grado de desacetilación, utilizando la siguiente ecuación:

$$NH_2 \% = \frac{C_{NaOH} \cdot V_{NaOH}}{W_{CS}} \cdot 16,1 \quad (8)$$

Donde 16,1 es una constante que relaciona el peso equivalente del quitosano. Por lo tanto el grado de desacetilación del quitosano es:

DD(%NH₂) = 83,95

De ambos resultados se obtuvo el DD(%) promedio, siendo del **82%**, valor alto. A mayor DD(%) del CS, se presentarán mayor cantidad de grupos amino para protonarse y así habrá mayor solubilidad en medio ácido.

Masa molecular

La viscosimetría es el método más utilizado para obtener la masa molecular del quitosano. Se basa en la obtención de la viscosidad intrínseca $[\eta]$, que está relacionada con la masa molecular en la ecuación de Mark-Houwink-Sakurada⁵:

$$[\eta] = KM_v^\alpha \quad (9)$$

Donde, M_v es la masa molar promedio viscosimétrica y K y α son dos constantes que dependen del polímero, del sistema disolvente utilizado y de la temperatura. Al obtener las medidas de densidad y viscosidad de las soluciones de quitosano (tabla 3), se procedió a determinar los valores de los parámetros de la tabla 4.

Tabla 3: Densidades y viscosidades de las soluciones de quitosano a 30 °C

Muestra	[CS] (g/100mL)	Densidad (g/mL)	Viscosidad (Pa.s)
Agua	0	0,99223	0,000797
Buffer	0	1,00137	0,000837
1	0,5000	1,00237	0,016546
2	0,2500	1,00211	0,004239
3	0,1250	1,00198	0,001820
4	0,0625	1,00143	0,001169

Tabla 4: Cálculo de las viscosidades relativa, específica e inherente

Muestra	1	2	3	4
Concentración (C) (g/100mL)	0,5	0,25	0,125	0,0625
Viscosidad (η) 30°C (Pa.s)	0,0165	0,0042	0,0018	0,0012
Viscosidad relativa (η_{rel})	19,7683	5,0648	2,1818	1,3968
Viscosidad específica (η_{esp})	18,7683	4,0648	1,1818	0,3968
Viscosidad inherente $Ln(\eta_{rel})/C$	5,9681	6,4892	6,2412	5,3475
Viscosidad reducida (η_{esp}/C)	37,5366	16,2593	9,4544	6,3496

La viscosidad intrínseca es el límite de la viscosidad inherente y reducida cuando la concentración se aproxima a cero ($C \rightarrow 0$). Esta se obtiene graficando $\ln(\eta_{rel})/C$ y η_{sp}/C en función de la concentración y obteniendo su intercepto con la ordenada como se observa en la figura 4.

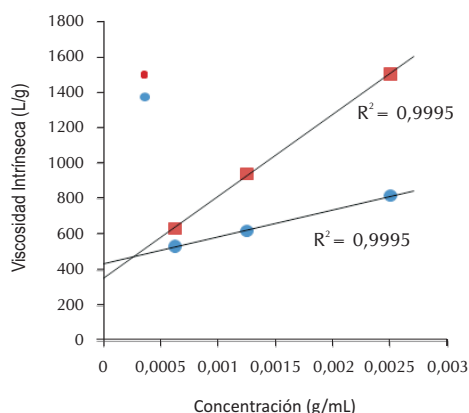


Figura 4. Viscosidad intrínseca vs concentración

Siendo, $[\eta] = 400 \text{ L/g}$. Wei Wang ⁶ reportó una serie de ecuaciones, en las que se relaciona la masa molecular de una muestra con respecto a la viscosidad intrínseca $[\eta]$. El grado de desacetilación del quitosano es de 82%, con esto obtenemos los valores de k y α :

$$82\% \rightarrow [\eta] = 0,6432 \times 10^{-3} M_v^{0,98} \text{ (mL/g)} \quad (10)$$

Luego, la masa molecular viscosimétrica del quitosano, es:

$$M_v = 8,16 \times 10^5 \text{ Da}$$

Como vemos, la masa molecular del quitosano usado es alta. La masa molecular da una idea de la distribución del tamaño de las cadenas del polímero cuando se encuentran en solución. Además, una masa molecular alta nos indica la presencia de cadenas de polímero relativamente largas, generando posible entrecruzamiento entre las cadenas que producen un decrecimiento en la solubilidad.

Preparación de las partículas de quitosano

Las partículas preparadas son hidrogeles físicos, ya que presentan una red tridimensional formada por uniones que no son completamente estables y son más débiles que las uniones covalentes (hidrogeles químicos). El CS es un polication y se aprovecha esta propiedad para que interactúe mediante fuerzas electrostáticas con aniones o moléculas aniónicas; en nuestro caso con el tripolifosfato (TPP), que es un ion polivalente de pequeño tamaño. Así, este hidrogel físico está formado por el CS entrecruzado iónicamente por el TPP.

El proceso de preparación es relativamente simple y a condiciones suaves, el método usado fue el de gelación iónica, donde el quitosano se disuelve en una solución acuosa de ácido acético para obtener el catión de quitosano.



Luego, se agrega el PEG hasta disolverse en la solución de quitosano. A esta solución se le añade gota a gota con agitación constante la solución de TPP polianiónica. Debido a la formación de complejos entre las especies con carga opuesta, el quitosano sufre gelación iónica para formar partículas coloidales (figura5).

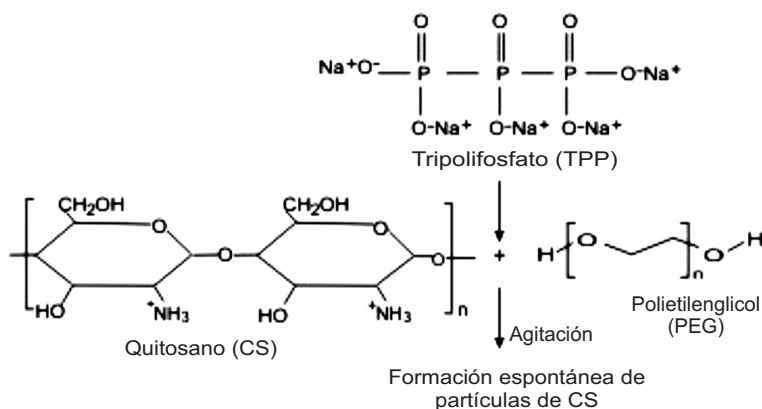


Figura 5. Esquema de la preparación de las partículas coloidales de quitosano

La eficiencia del método de gelación iónica es dependiente de la masa molecular y grado de desacetilación del quitosano. Cuanto mayor es el peso molecular del quitosano, existe mayor número de grupos amino protonados en una solución ácida de quitosano. De este modo, hay un mayor número de cargas positivas que pueden interaccionar con las cargas negativas del TPP, lo que se traduce en un mayor grado de entrecruzamiento. Además, cuanto mayor es el grado de desacetilación del quitosano, se presentarán mayor cantidad de grupos amino para protonarse, así mayor interacción iónica con el TPP, obteniendo una mayor eficiencia de gelificación y mayor grado de entrecruzamiento. Al caracterizar al quitosano se obtuvo una masa molar alta de $8,16 \times 10^5$ Da y un grado de desacetilación de 82%; por lo tanto con el quitosano utilizado se debería obtener una alta eficiencia de gelación.

Se realizaron varias pruebas experimentales en la preparación de las partículas de quitosano. Con la concentración de CS de 1mg/mL y de TPP de 1mg/mL se obtuvo satisfactoriamente las partículas coloidales con las características deseadas: suspensión opalescente, que se mantuvo estable por semanas, sin sedimentarse y con el tamaño de partícula de 100 a 400nm. Las medidas de tamaño realizadas con el DLS se encuentran en la tabla 5, donde los resultados mostraron un grado de polidispersidad aceptable, y la mayor distribución según el tamaño de las partículas se encuentre a escala nanométrica.

Tabla 5: Partículas de CS (1mg/mL) entrecruzadas con TPP (1mg/mL)

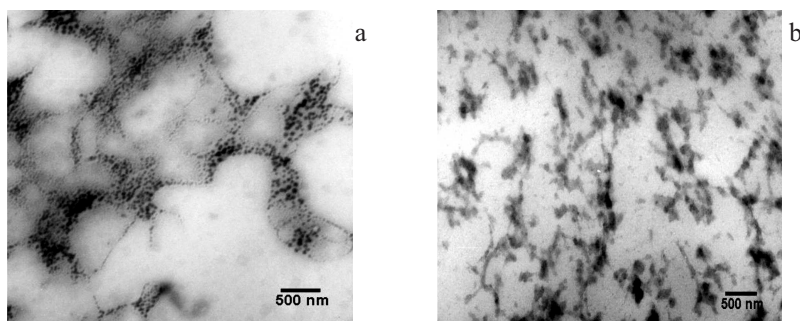
[PEG] (mg/mL)	Tamaño (nm)	Polidispersidad
0	129,3	0,199
10	167,8	0,238
30	231,1	0,253
50	311,3	0,264

La microscopía de transmisión electrónica nos mostró un tamaño de partícula entre 20-120nm para el CS sin PEG (figura 6a) y de 100 a 400nm para las partículas de CS con PEG (50mg/mL) (figura 6b). Podemos observar que las partículas sin PEG tienen una morfología esférica más definida que las modificadas con PEG, que tienen una forma irregular.

Se realizaron las espectroscopías FTIR de las partículas liofilizadas de CS-TPP y CS-TPP modificadas con PEG. En el espectro FTIR del quitosano (figura1) se observan tres picos característicos, uno en 3365 cm^{-1} correspondiente a la $\nu(\text{OH})$, 1153 cm^{-1} para la $\nu(\text{COC})$ y 1579 cm^{-1} para la $\nu(\text{NH}_2)$.

El espectro de las partículas coloidales CS-TPP (figura7) se muestra diferente a la de quitosano matriz. En el caso de las partículas de CS-TPP el ensanchamiento de la banda correspondiente a la $\nu(\text{OH})$ indica probabilidad de formación de enlace hidrógeno entre los oxígenos del tripolifosfato y los hidrógenos de los grupos amino del quitosano. La vibración correspondiente a la flexión NH_2 a los 1579 cm^{-1} desaparece; en cambio, aparecen dos nuevos picos 1638 cm^{-1} y 1700 cm^{-1} ; esto, probablemente, debido a la protonación de los grupos NH_2 que ahora son iones NH_3^+ y a la formación del enlace hidrógeno entre los O-TPP y los H de los grupos amino libres.

Para las partículas de CS-TPP modificadas con PEG, los cambios en el perfil del espectro FTIR son similares a los explicados para los de CS-TPP; además, de que en el espectro con PEG la banda de $\nu(\text{O-H})$ se hace más pronunciada por la posible formación del enlace hidrógeno entre el O del PEG con los H-CS. En el espectro también se observan bandas características del PEG en 1104 cm^{-1} correspondiente a la $\nu(\text{C-O})$ y 1340 cm^{-1} correspondiente a la $\nu(\text{CH}_2)$. Además de observarse una banda en 2880 cm^{-1} que le correspondería a la $\nu(\text{C-H})$.

**Figura 6.** Micrografía de partículas de CS entrecruzadas con TPP(a), y modificadas con PEG(b).

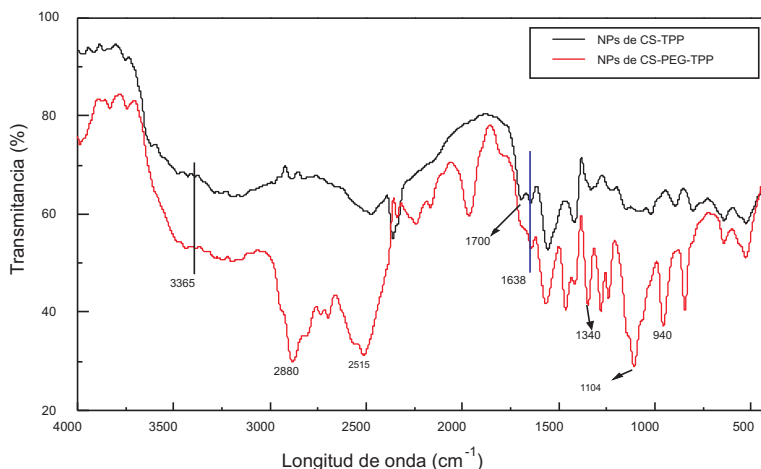


Figura 7. Espectro FTIR de las partículas de quitosano

Efecto de la modificación del PEG

Como ya vimos con los resultados del TEM (figura 6b), las partículas de CS-TPP modificadas con PEG tienen una forma irregular. La tabla 6 muestra los valores de tamaño de las partículas modificadas con PEG. El aumento de tamaño a medida que se aumenta la concentración del PEG, es un buen indicador de la incorporación del PEG en la estructura de la partícula coloidal.

Tabla 6: Partículas de CS (1mg/mL) entrecruzadas con TPP (1mg/mL)

[PEG] (mg/mL)	Tamaño (nm)	Polidispersidad
0	129,3	0,199
10	167,8	0,238
30	231,1	0,253
50	311,3	0,264

Se ha mencionado anteriormente, gracias a los espectros IR, que la incorporación de PEG en el sistema de gel es a través de enlaces de hidrógeno intermoleculares entre los átomos electropositivos del hidrógeno amino del quitosano y los átomos electronegativos de oxígeno de PEG, formando así una red semi-interpenetrada de CS / PEG. El PEG ha sido añadido a la solución de quitosano antes de la gelificación. Sin la incorporación del TPP, el PEG no tiene una interacción lo suficientemente fuerte para gelificarse con el quitosano, pero los grupos amino del quitosano pueden presentar interacción con el átomo de oxígeno de PEG. Así, el PEG puede competir con los iones TPP en su interacción con los grupos amino del quitosano. Esto podría crear un menor grado de entrecruzamiento iónico y obtener un hidrogel de menor estabilidad mecánica. Por lo tanto, se debe buscar un equilibrio adecuado de PEG y TPP. Con toda la información analizada, podríamos suponer que el PEG se encuentra recubriendo a la

partícula aumentando su tamaño y neutralizando un poco la carga superficial positiva del CS. Así:

- Las partículas tendrán menor tendencia a juntarse y aglomerarse (figura 8). Comportándose como un agente antiagregante.
- Da una protección frente a la hidrólisis del CS por parte de las hidrolasas del organismo, obteniendo partículas más estables en los fluidos fisiológicos.
- Podría disminuir la velocidad de liberación del fármaco.

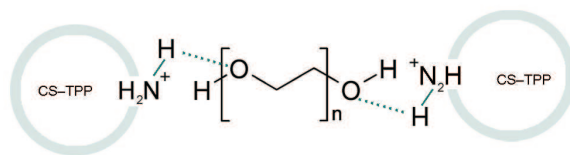


Figura 8. Interacción entre el CS y PEG.

Estudio de la variación del tamaño de las partículas de quitosano en el tiempo

En general, se observa (figura 9), para todas las partículas preparadas de CS-TPP a diferentes concentraciones de PEG, un aumento de tamaño que no es muy representativo en más de dos semanas.

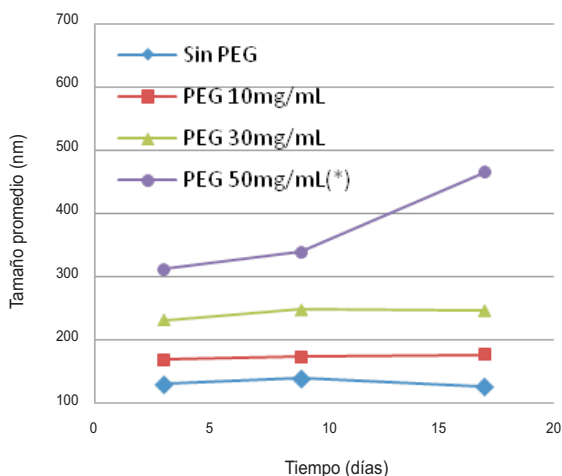


Figura 9. Estudio de la variación del tamaño en el tiempo de las partículas de CS (1mg/mL) entrecruzadas con TPP (1mg/mL).

Además, es necesario mencionar que las partículas se encontraban todavía en suspensión y con la turbidez característica. Podríamos decir entonces que las partículas obtenidas son estables en el tiempo sin variación de su medio.

*En la figura 9 se observa un aumento drástico de tamaño (en comparación a los demás) para el PEG de 50mg/mL; presumimos que se pueda deber a la aglomeración del PEG alrededor de las partículas, debido a que se encuentra en grandes concentraciones.

Efecto iónico sobre la variación del tamaño de las partículas de quitosano

Se realizaron las medidas a la concentración de 0,15M ya que es la concentración salina del fluido fisiológico. La fuerza iónica, I , es una función de la concentración de todos los iones presentes, definida como:

$$I_c = \frac{1}{2} \sum_{B=1}^n c_B z_B^2 \quad (12)$$

Donde: C_B es la concentración molar de iones B, Z_B es la carga de cada ion, y el sumatorio se refiere a cada una de las especies iónicas presentes en el medio. Así, para la disolución formada por cloruro de sodio, NaCl, la fuerza iónica es igual a la concentración, dado que en el medio hay iones Na^+ y Cl^- , ambos de igual carga (1) pero signo contrario. Por lo tanto, la fuerza iónica del medio es 0,15M.

La fuerza iónica del medio puede influir sobre el hinchamiento de las partículas, ya que la presencia de Na^+ en el medio interactúa iónicamente con los O⁻ del TPP, de igual forma el Cl^- va a interactuar con la amina protonada del CS.

Por lo tanto, estos iones competirían por el TPP y CS, debilitando las interacciones entre CS-TPP, lo que se traduce en una disminución del entrecruzamiento y por lo tanto la aparición del hinchamiento, debido a que se produciría un aumento en la separación de las cadenas del quitosano.

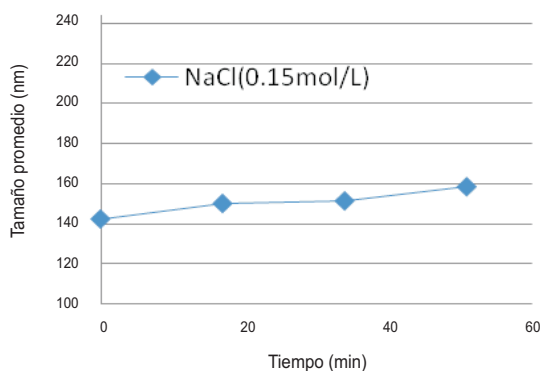


Figura 10. Efecto de la solución salina fisiológica en la variación del tamaño de las partículas de CS

En general, se observa un aumento de tamaño que no es muy representativo (figura 10). Podríamos decir nuevamente que las partículas obtenidas son relativamente estables en una solución salina fisiológica.

Efecto iónico sobre la variación del tamaño de las partículas de quitosano a diferentes concentraciones de cloruro de sodio

Si se aumenta la fuerza iónica del medio de 0M a 0,05M y a 0,15M, se va a esperar un aumento progresivo del tamaño de las partículas, debido a que cada vez más iones compiten por la interacción con el TPP y CS, debilitando su interacción iónica, disminuyendo su entrecruzamiento y aumentando el hinchamiento, como analizamos anteriormente. Comportamiento que se observa en la figura 11.

Podemos concluir que a pesar de ser un hidrogel físico, con entrecruzamiento iónico, características que no dan una buena estabilidad mecánica, el efecto de hinchamiento con el tiempo y debido al efecto iónico no influyen de manera representativa sobre las partículas de CS obtenidas, podríamos decir que permanecen relativamente estables, esto es consecuente con los resultados obtenidos experimentalmente de alta masa molecular y porcentaje de desacetilación del quitosano, que ofrecen a las partículas un mejor entrecruzamiento y así resistencia al hinchamiento.

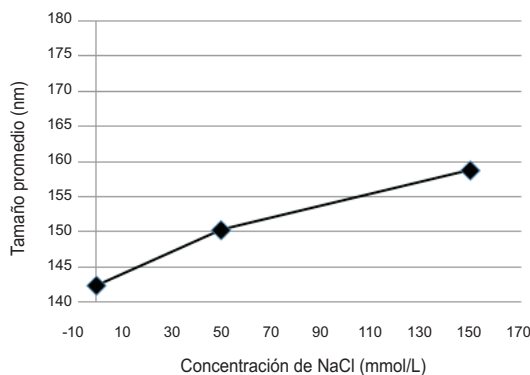


Figura 11. Efecto salino en la variación del tamaño de las partículas de CS a diferentes concentraciones de cloruro de sodio.

Estudio de estabilidad de las partículas de quitosano a diferentes pH

El hinchamiento es influenciado principalmente por las interacciones iónicas entre las cadenas de quitosano, que dependen de la densidad de entrecruzamiento establecidos durante la formación de la red. Un aumento de la densidad de entrecruzamiento induce una disminución del hinchamiento y sensibilidad del pH, mejorando la estabilidad de la red.

Sin embargo, en un hidrogel físico, entrecruzado iónicamente la densidad de entrecruzamiento se modifica por las condiciones externas después de la administración, principalmente por el pH del medio. Influye la densidad de carga global del quitosano y del entrecruzante TPP, los que directamente determinan la densidad de entrecruzamiento, la interacción y el hinchamiento. En cambio, en los hidrogeles químicos, entrecruzados covalentemente, la densidad de entrecruzamiento no se modifica después de la administración ya que estos hidrogeles están vinculados por lazos irreversibles. En consecuencia, los hidrogeles entrecruzados iónicamente no sólo se pueden hinchar en ácido, sino también en las condiciones básicas (figura 12)⁷.

Se analizó la estabilidad de las partículas de CS(1mg/mL) entrecruzadas con TPP (1mg/mL) a pH 1,2 y 7,4 a 37°C, simulando el fluido gástrico e intestinal, respectivamente. Si el pH disminuye, habrá mayor concentración de H^+ que neutralizarán algunos iones TPP; entonces la densidad de carga del entrecruzante TPP y por lo tanto la densidad de entrecruzamiento disminuirá, lo que conduce al hinchamiento. Por otra parte, el hinchamiento es favorecido por la repulsión de los grupos amino libres protonados del quitosano. Si la disminución del pH es demasiado grande, la disociación de los enlaces iónicos y la disolución de la red del hidrogel se puede producir, lo que parece que ocurrió al exponer las partículas de CS al pH 1,2, la suspensión de partículas de CS-TPP pasaron de ser una suspensión opalescente a ser translúcida.

Como se muestra en la figura 13a, se trabajó en el rango UV de 200 a 400nm, ya que la muestra es incolora, a la izquierda del gráfico vemos unas curvas que son errores del equipo por encontrarse cerca de los 200nm. Observamos que se da una transmisión del 100%, desde el inicio hasta las 24hrs de medición, lo que nos dice que probablemente las partículas de quitosano se disolvieron completamente, transmitiendo al 100% la radiación.

Si el pH aumenta, disminuye la protonación del quitosano e induce una disminución de la densidad de entrecruzamiento, lo que permite el hinchamiento debido a que se produciría un aumento entre la separación de las cadenas del quitosano. A medida que se aumenta el pH del medio esta separación aumentará; así, las cadenas de quitosano irán quedando libres y empezarían a precipitar ya que el quitosano es menos soluble en medio básico. Ambos efectos se unen para aumentar el tamaño de las partículas, lo que concuerda con el aumento de la turbidez de la suspensión inicial de partículas de CS-TPP.

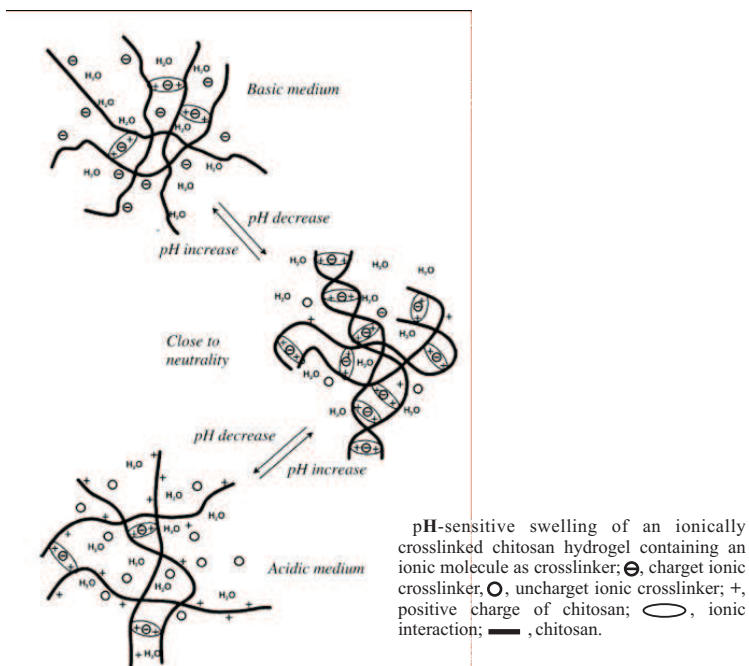


Figura 12. Hinchamiento dependiendo del pH de un hidrogel de quitosano de entrecruzamiento iónico⁷.

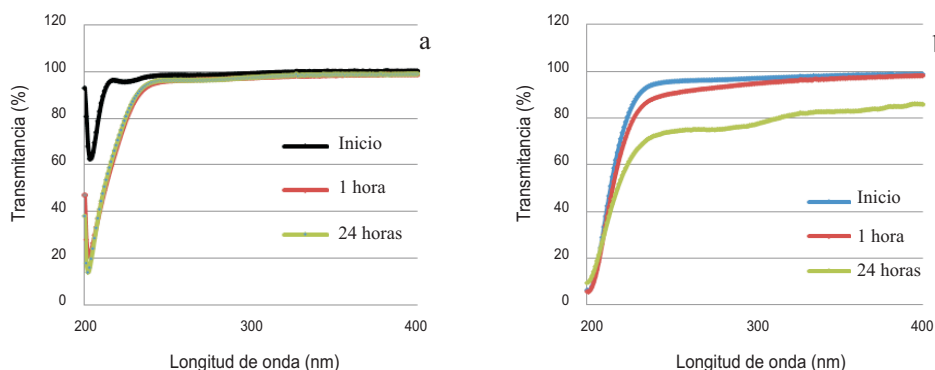


Figura 13. Estudio de estabilidad de las partículas de quitosano a pH 1,2 (a) y 7,4 (b).

Observamos en la figura 13b, que al inicio se transmite casi el 100% de la radiación, y conforme transcurre el tiempo disminuye la transmitancia, lo que nos puede indicar un aumento de tamaño de las partículas debido al hinchamiento explicado anteriormente, ya que una suspensión de partículas con mayor tamaño transmiten menor cantidad de radiación.

Si el pH es demasiado alto los grupos amino del quitosano se neutralizan con los OH^- del medio y el entrecruzamiento iónico se inhibe. Si la densidad de entrecruzamiento se vuelve demasiado pequeña, las interacciones iónicas ya no serán lo suficientemente fuertes para evitar la disolución y el entrecruzante iónico TPP se libera.

CONCLUSIONES

Se obtuvo el grado de desacetilación y masa molar del quitosano siendo 82% y $8,16 \times 10^5$ Da, respectivamente; ambos valores altos con los que se podría obtener un buen grado de entrecruzamiento. Las partículas coloidales de quitosano se reconocieron como una suspensión opalescente, cuyo rango de tamaño fue de 100 a 400nm. Las partículas de quitosano sin PEG mostraron una forma esférica, mientras que las modificadas con PEG mostraron una forma irregular. Al añadir PEG el tamaño de las partículas de quitosano aumenta.

Se estudiaron algunos factores que influyen la estabilidad de las partículas de quitosano, donde se vio que el efecto del tiempo y fuerza iónica producían un hinchamiento poco representativo de las partículas, pero el efecto del pH si fue marcado. Las partículas de CS-TPP probablemente sufren disolución a pH 1,2 mientras que a pH 7,4 muestra hinchamiento.

AGRADECIMIENTOS

A los laboratorios de Microscopía electrónica y Películas delgadas de la facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería. Al Mg. Christian Jacinto por su valioso apoyo en la realización de la investigación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Yan Wu, Wuli Yang, Chitosan nanoparticles as a novel delivery system for ammonium glycyrrhizinate. *International Journal of Pharmaceutics* 295 (2005) 235–245.
2. Baxter, A., Dillon M., Taylor K.D.A. and Roberts G.A.F., Improved method for IR determination of degree of N-acetylation of chitosan. *J. Biol. Macromol.* 14 (1992) 166-169.
3. Calvo, P., Remuñan –López, C., Vila-Jato, J.L., Alonso, M.J., Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers. *J. Appl. Polym. Sci* 63(1997b) 125-132.
4. J. Brugnerotto, An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. *Polymer* 42 (2001) 3569-3580.
5. Agulló E. et al., Quitina y Quitosano: obtención, caracterización y aplicaciones. Fondo editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú (2004). 157-169.
6. Wei Wang, Shuquin Bo, Determination of the Mark-Houwink Equation for chitosans with different degrees of deacetylation, *Int. J. Biol. Macromol* 13 (1991) 281-285.
7. J. Berger, M. Reist, J.M. Mayer, O. Felt, N.A. Peppas, R. Gurny. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 57 (2004) 19–34.

ESTUDIO DE LA BIOSORCIÓN DE ION ORO (III) MEDIANTE QUITOSANO CUATERNARIO Y QUITOSANO CUATERNARIO ENTRECruzADO

Ernesto Ipparraguirre^a, Ángela Manrique^a, Abel E. Navarro^b, Norma A. Cuizano^a,
Rosa Medina^c, Bertha P. Llanos^{a*}

RESUMEN

Se investigó la adsorción de iones oro (III) mediante quitosano cuaternario en diferentes formas: en función del pH inicial, masa de adsorbente, fuerza iónica, concentración inicial del metal, y cinética de adsorción, mediante experimentos discontinuos a temperatura ambiente. Se produjeron 4 tipos de adsorbentes: quitosano cuaternario en polvo (QC1), quitosano cuaternario en polvo y reticulado (QC2), perlas de quitosano cuaternario (QC3) y perlas de quitosano cuaternario reticulado (QC4). La máxima capacidad de adsorción siguió el orden: QC2>QC1>QC4>QC3 con valores de 500, 333, 111 y 13 mgAu/g de adsorbente, respectivamente, según las isothermas de adsorción de Langmuir, Dubinin-Raduskevich, y Freundlich. Los parámetros optimizados de pH fueron de 4 para QC1 y QC2 y un pH de 3 para QC3 y QC4. La masa de adsorbente y la fuerza iónica, tuvieron resultados negativos en la adsorción, La cinética de adsorción se ajustó al modelo de pseudo segundo orden y alcanzó el equilibrio a las 3 horas para QC1 y QC2, mientras que las perlas de gel QC3 y QC4, tomaron 8 horas, debido a la difusión intraparticular del metal. Los resultados indican que estos adsorbentes son candidatos efectivos para la eliminación de iones oro (III) de soluciones acuosas.

Palabras clave: Quitosano cuaternario, quitosano cuaternario entrecruzado, ion oro (III), adsorción, isoterma de adsorción, pH

BIOSORPTION OF GOLD (III) BY MEANS QUATERNARY CHITOSAN AND CROSS-LINKAGE QUATERNARY CHITOSAN

ABSTRACT

The adsorption of gold (III) by means of quaternary chitosan with different treatments was investigated as: a function of initial pH, adsorbent mass, ionic strength, initial metal concentration, and adsorption kinetics. Batch equilibrium and kinetics experiments were performed at room temperature. Four types of adsorbents were produced: powder quaternary chitosan (QC1), powder cross-linked quaternary chitosan (QC2), gel beads of quaternary chitosan (QC3) and gel beads of cross-linked quaternary chitosan (QC4). The maximum adsorption capacity followed the trend: QC2>QC1>QC4>QC3 with values of 500, 333, 111, and 13 mgAu/g of adsorbent, respectively; according the adsorption isotherms of Langmuir,

^a Departamento de Química, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Av. Honorio Delgado 430, Lima 31, Perú. *bertha.llanos@upch.pe

^b Department of Chemistry, Graduate School of Arts and Science, New York University, 100 Washington Square East, New York, NY, 10003, US.

^c Facultad de Ingeniería Geológica, Minas, Metalurgia y Geográfica/Escuela Académico Profesional De Ingeniería Geológica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Av. Carlos Amézaga s/n Campus Universitario, Lima - Cercado.

Dubinin-Radushkevich, and Freundlich. The optimized pH parameters were of 4 for QC1 and QC2, whereas a pH value of 3 was observed for QC3 and QC4. The adsorbent dose and ionic strength had a negative effect on the adsorption. The adsorption kinetics was fitted to the pseudo-second order model and achieved the equilibrium within 3h for QC1 and QC2 whereas it took 8h for QC3 and QC4, due to intraparticle diffusion. The results indicate that these adsorbents are effective candidates for the removal of gold (III) ions from aqueous solutions.

Key words: Quaternary chitosan, cross-linkage quaternary chitosan, gold (III) ion, adsorption, adsorption isotherm, pH

INTRODUCCIÓN

Los metales pesados y preciosos están involucrados directa o indirectamente en gran parte de las actividades humanas, especialmente en los sectores industriales, agrícolas, minero y urbano. Actualmente, dichas actividades se están acrecentando aceleradamente, aumentando al mismo tiempo sus residuos líquidos y sólidos, multiplicando la concentración de iones metálicos en los sistemas bióticos terrestres, acuáticos y aéreos, siendo esto uno de los principales problemas ambientales a nivel nacional y mundial, debido a que su acumulación y bio-magnificación a través del tiempo afecta toda la cadena trófica en un ecosistema superando ampliamente las concentraciones permitidas (Cd^{+2} : 0,001 mg/L y Cr^{+6} : 0,05)¹.

Por otra parte, la creciente demanda de oro a nivel mundial ha acentuado su extracción y purificación por diversos métodos, alguno de ellos muy contaminantes. En Perú según las estadísticas de agosto del 2010, la producción de oro nacional es de 12 millones 428,800 gramos finos ton/año, ocupando el quinto lugar de la producción mundial². Hoy en día, el proceso más utilizado para la disolución de oro es la lixiviación con cianuro; esto se debe a su alta eficiencia de extracción a partir de una gran variedad de menas y concentrados, bajo costo, química de reacción simple y estabilidad. Sin embargo, presenta algunas desventajas, como ser altamente tóxico, lo que le hace incompatible con las normas ambientales que regulan los vertidos de las plantas mineras en todo el mundo; además, presenta bajas velocidades de disolución con respecto a otros agentes lixiviantes; no es selectivo y forma complejos con una gran variedad de iones metálicos, aumentando su consumo³. Debido al alto costo de producción de oro y oro coloidal, existe la necesidad inminente de desarrollar técnicas aplicables que permitan la recuperación de oro a partir de soluciones diluidas.

El oro así como otros metales no pueden degradarse, solo transformarse y/o retirarse del medio. Por esto, las metodologías actuales de remediación de estos iones metálicos requieren de altos costos y un gran avance tecnológico. Estas metodologías incluyen: precipitación, oxidación, reducción, intercambio iónico, filtración, tratamiento electroquímico, tecnologías de membrana y recuperación por evaporación^{1,4}.

Actualmente, los procesos biotecnológicos han llamado la atención de la comunidad científica por la variedad de métodos destoxificantes empleados para la descontaminación del ambiente⁵. Dentro de este contexto, estos procesos se han separado en dos grandes rubros dentro del mismo objetivo: bioacumulación y biosorción. Entendida la primera como un proceso activo de eliminación de contaminantes mediante mecanismos metabólicos involucrando biomasa viviente, y biosorción como un proceso pasivo con un mecanismo netamente fisicoquímico, por medio de biomasa no viviente^{6,7}, que es menos costosa, más manipulable y presenta menos riesgos de obtener productos no deseados que la bioacumulación. Por ende, la biosorción es un área de investigación con muchos aportes a la comunidad industrial por brindar una alternativa técnica y económicamente viable y por ser

considerada una tecnología “limpia” en la eliminación de contaminantes provenientes de aguas residuales o de desecho de actividades productivas⁵. La biosorción ya ha abordado el problema de la eliminación de oro y cromo de fuentes acuíferas, usando una variedad de biomásas, entre ellas: algas, levadura, hongos, bacterias, quitosano, etc.⁸⁻¹²; pero muy pocos han sido los estudios que han desarrollado en detalle todos los parámetros fisicoquímicos de este proceso ni han podido establecer un mecanismo coherente a los resultados. Lamentablemente, los resultados obtenidos no han sido tan exitosos como los hallados con plomo, cadmio y otros metales pesados que existen en forma catiónica en solución acuosa^{5,13-15}. Oro y cromo son dos de los pocos metales que existen en forma aniónica en solución acuosa formando iones complejos, y dado que la mayoría de biosorbentes presenta bases de Lewis como centros activos, la adsorción de aniones es reducida.

Se ha desarrollado adsorbente tipo catiónico de quitosano cuaternario (QC), el cual ha sido exitosamente usado como adsorbente para humedad, compuestos orgánicos e inorgánicos^{16,17}. Los resultados demuestran que el intercambio iónico es importante en el mecanismo de adsorción. En dichos estudios la permanente carga positiva del grupo amino cuaternario del quitosano modificado es el centro activo principal responsable de la adsorción observada y le brinda resistencia mecánica y química. Esta permanente carga positiva independiente del pH, y el mejoramiento de sus propiedades mecánicas, por entrecruzamiento con glutaraldehído, las convierten en potenciales adsorbentes para contaminantes y metales preciosos que se encuentran en forma aniónica, los mismos que han sido investigados y desarrollado por nuestro grupo de trabajo.

PARTE EXPERIMENTAL

Preparación de los adsorbentes

Con el quitosano (*Spectrum Chemical*) con grado de desacetilación ($\approx 90\%$), se prepararon los distintos tipos de quitosano cuaternizados: QC1-quitosano cuaternario en polvo, QC2 - quitosano cuaternario en polvo entrecruzado, QC3 - perlas de gel de quitosano cuaternario y QC4 - perlas de gel de quitosano cuaternario entrecruzado.

Para preparar quitosano cuaternario en polvo, QC1, se pesó una cantidad de quitosano, se dispersó en un volumen de agua y luego se agregó un volumen determinado de cloruro de glicidiltrimetilamonio (*Fluka*) y se dejó en agitación por 24 horas a 50°C . El producto de la reacción se colocó sobre un determinado volumen de acetona grado analítico (*Merck*) hasta precipitación completa; después se filtró, se lavó con acetona y se dejó secar a 60°C en una estufa (Mettler). Luego se procedió a reducir el tamaño de las partículas mediante un molino (analytical mill Cole Parmer) y separar las partículas por tamaño mediante tamices de la serie Tyler, superior a malla 70 ($212\ \mu\text{m}$), entre malla 70 y 100 ($212 - 150\ \mu\text{m}$), entre malla 100 y 140 ($150 - 106\ \mu\text{m}$), entre malla 140 y 200 ($106 - 75\ \mu\text{m}$) e inferiores a malla 200 ($75\ \mu\text{m}$). Este procedimiento se repitió varias veces, modificando las cantidades de los reactivos, hasta obtener quitosano cuaternario óptimo para su posterior aplicación.

Para preparar quitosano cuaternario en polvo entrecruzado, QC2, se pesó 10 g de QC1 se suspendió en 200 mL de etanol y luego se añadió 10 mL ($25\ \%\ \text{w/v}$) de glutaraldehído; el sistema se agitó durante 24 horas a temperatura ambiente; se filtró y se secó a 50°C . Finalmente se molió y se separó las partículas siguiendo el mismo procedimiento para QC1. Para preparar perlas de gel de quitosano cuaternario, QC3, se pesó una cierta cantidad de QC1, de un determinado tamaño de partículas ($212 - 150\ \mu\text{m}$) y se mezcló, mediante agitación, en una cantidad de ácido acético al $4\ \%\ (\text{w/w})$ hasta obtener una suspensión espesa; se dejó en reposo por 3 días (la viscosidad de la solución debe disminuir); luego la solución se bombeó gota a gota haciendo uso de una jeringa hipodérmica (con una aguja adecuada para

obtener perlas de 2 a 3 mm de diámetro), sobre una solución 2,5 M de hidróxido de sodio en agitación constante. Las perlas de gel se dejaron en reposo por 16 horas en la solución; luego se lavó varias veces con agua desionizada hasta pH constante y se dejó suspendidas en suficiente agua desionizada.

Para preparar perlas de gel de quitosano cuaternario entrecruzado, QC4, se pesó una cantidad de perlas de quitosano cuaternario, QC3, equivalentes a 10 g de quitosano cuaternario en polvo; se suspendieron en 200 mL de etanol y luego se añadió 10 mL (25 % w/V) de glutaraldehído, el sistema se agitó durante 24 horas a temperatura ambiente; se filtró y lavó con abundante agua desionizada y se dejaron suspendidas en agua desionizada.

Preparación y análisis de las soluciones de oro (III)

Se preparó solución stock de 1000 mg L^{-1} de oro, a partir de las sales de cloruro de oro III, (Aldrich 99%) con agua desionizada y a partir de ella las soluciones diluidas necesarias de diferentes concentraciones para todas las corridas. La cuantificación de oro (III) en las soluciones acuosas antes y después de la adsorción, se realizó mediante espectrofotometría de adsorción atómica (Perkin Elmer AAnalyst 100).

Pruebas de equilibrio

Para determinar el efecto del pH en la capacidad de adsorción de los adsorbentes (QC1, QC2, QC3, QC4), se pesó 10 mg de adsorbente luego se añadió 50 mL de solución de oro (III) de 10 mg L^{-1} previamente ajustado a un pH=2, lo mismo se repitió con soluciones de varios pH; para ajustar el pH se usó soluciones diluidas de ácido clorhídrico e hidróxido de sodio, el tiempo de contacto entre adsorbente y solución fue de 18 horas mediante agitación a 200 rpm con un agitador orbital INNOVA, modelo 2100. Luego se separó el adsorbente de la solución mediante filtración y se analizó la concentración oro (III) remanente en la solución. Todos los ensayos se llevaron a cabo a temperatura ambiente.

Para determinar los efectos de masa y concentración en la capacidad de adsorción de los adsorbentes se pesaron varias masas de un tipo de adsorbente (10, 20, 30, 40, 50 mg) y a cada uno ellos se le adicionó 50 mL de solución de oro (III) de 10 mg L^{-1} , ajustada al pH óptimo; se mantuvo en agitación en las mismas condiciones que para el efecto de pH

Para obtener las isotermas de adsorción se usó 50 mL de soluciones de oro (III) de distintas concentraciones, de menos a más concentradas y una masa constante de adsorbente; por ejemplo 10 mg en el caso de oro (III), luego se dejó en contacto de la misma manera que para el efecto de pH. Se repite el procedimiento para varias masas de cada adsorbente.

Para determinar la velocidad de adsorción se pesó una cantidad de adsorbente suficiente para poder hacer mediciones; previamente en un recipiente grande se colocó un volumen determinado de solución de oro (III), ajustada al pH óptimo y se dejó en agitación constante sin turbulencia; luego sobre él se agregó rápidamente el adsorbente e inmediatamente se acciona el cronómetro para medir el tiempo hasta 24 horas. Cada cierto tiempo se extrajo fracciones de la solución; se filtró y midió el contenido de oro (III). Las alícuotas extraídas deben ser suficientes para obtener buenos resultados. Se repitió el mismo procedimiento con cada tipo de adsorbente.

Para determinar el efecto de iones presentes, se realizó corridas de adsorción semejantes a las realizadas para determinar las isotermas con una masa de 10 mg de adsorbente y 80 mg L^{-1} de oro (III); en cada ensayo se utilizó soluciones de nitrato de sodio de diferentes concentraciones, tales como: 1, 0,5, 0,1, 0,05 y 0,01 molar.

Evaluación de los datos

La cantidad de metal adsorbido fue calculado mediante:

$$q = [V(C_i - C_r)] / m$$

donde q es la capacidad de adsorción (mg de ion metal / g de adsorbente), V es el volumen de la muestra (mL), C_i es la concentración inicial de metal en solución (mg.L^{-1}), C_f es la concentración de en el equilibrio de la solución (mg.L^{-1}), y m es la cantidad de adsorbente seco.

Se eligieron los modelos de adsorción por comparación a los datos experimentales:

a) *Modelo de Langmuir*, $q = [q_{\max} b C_f] / (1 + b C_f)$

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

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

donde k y n son las constantes de Freundlich.

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

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

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto del pH

La adsorción de los iones metálicos depende del pH de la solución, ya que éste no sólo afecta los centros activos del adsorbente sino también la disponibilidad de los iones metálicos en la solución. La figura 1, muestra el perfil de la capacidad de adsorción (q) en función de pH, de la cual se deduce que el pH óptimo para los adsorbentes en polvo QC1, QC2 es 4; en cambio para los adsorbentes QC3 y QC4 que están bajo la forma de perlas de gel el pH óptimo es 3. Los valores obtenidos son los mejores comparados con los demás pH, debido que a esos valores de pH se asegura la presencia de oro (III), en la forma de AuCl_4^- , mientras que a los pH más altos se puede tener la presencia de hidróxido $\text{Au}(\text{OH})_3$ y óxidos (AuO_2), si los potenciales de reducción son más alto. La presencia de AuCl_4^- , asegura la interacción de los adsorbentes, QC, que se encuentran en la forma catiónica.

Hasta ahora no se ha realizado la adsorción de oro (III) con este tipo de adsorbentes; pero si se compara con el reportado por Peirano⁵, quien usó quitosano para adsorber oro (III), (pH=4), es igual a los QC, tipo perlas.

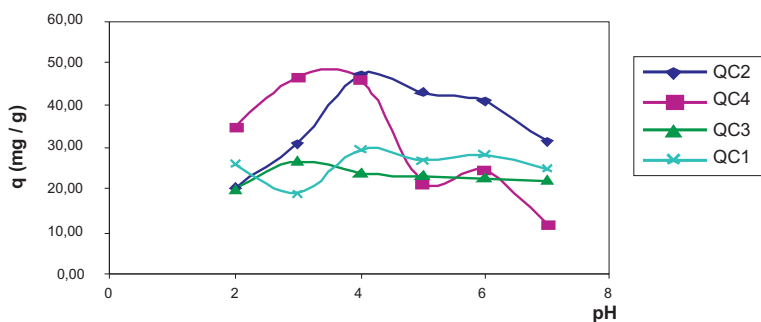


Figura 1. Efecto del pH en la capacidad de adsorción de Au (III).

Efecto de la masa de adsorbente

El efecto de la masa de adsorbente en la capacidad de adsorción se muestra en la figura 2; los resultados indican que bajo las mismas condiciones, un aumento en la masa de adsorbente disminuye la capacidad de adsorción, para todos los tipos de adsorbentes usados. Por encima de 80 mg, hay una ligera variación de la capacidad de adsorción; estos resultados nos demuestran que el aumento de los centros activos de los adsorbentes no afecta el equilibrio, ni mejora la adsorción, esto puede deberse a la formación de aglomeración disminuyendo los centros activos de los adsorbentes, siendo la masa óptima de 10 mg para todos los QC.

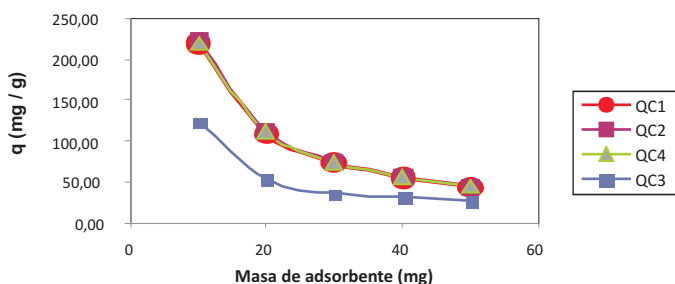


Figura 2. Efecto de la concentración del adsorbente en la capacidad de adsorción de Au (III).

Efecto de la fuerza iónica

La capacidad de adsorción está relacionada a diversos tipos de interacciones entre el adsorbente y adsorbato; estas interacciones dependen mucho del ambiente electrostático, el cual puede definir la interacción; la presencia de iones en solución compiten con el ion metálico por los sitios activos; por eso es muy importante el estudio de los mismos¹⁸. En la figura 3 se muestra el efecto de los iones interferentes, Na^+ y NO_3^- , de lo cual se concluye que la interacción del oro (III), bajo la forma de AuCl_4^- y los adsorbentes es más afectada con los adsorbentes QC3 y QC4, disminuyendo la capacidad casi en un 50 %, mientras que en los adsorbentes QC1 y QC2 no se observa un efecto significativo; casi se puede afirmar que la capacidad no es afectada por la presencia de iones interferentes (que en este caso son sodio y nitrato); es decir, no compiten por los sitios activos del adsorbente con los iones oro (III). Por lo tanto, la forma de los adsorbentes influye, ya que las perlas de gel son las más afectadas.

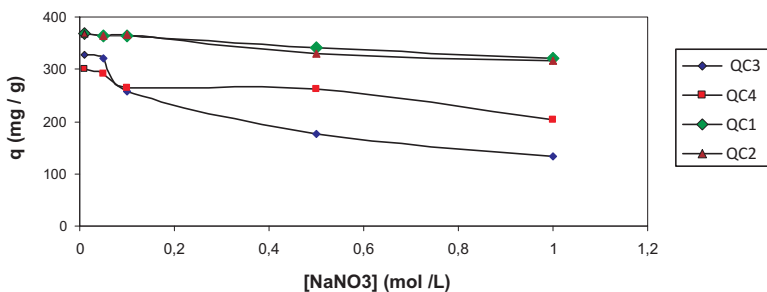


Figura 3. Efecto de la fuerza iónica en la capacidad de adsorción de Au (III).

Isotermas de adsorción en el equilibrio

La cantidad de oro (III) adsorbido fue determinada por espectrofotometría de absorción atómica. Las relaciones isotérmicas entre las concentraciones en equilibrio de oro (III) en los adsorbentes QC1, QC2, QC3 y QC4 y la concentración remanente en la fase líquida (q vs C_e) a 25°C se muestran en las figuras 4 y 5. Un resumen de los parámetros y constantes de los modelos aplicados se muestran en la tabla 1.

De acuerdo a la clasificación de Giles *et al.*¹⁹, las isotermas para QC1, QC2 y QC4 son del tipo H, indicando una alta afinidad entre el ion oro (III), bajo la forma de $AuCl_4^-$, y la superficie del adsorbente; la parte inicial de estas isotermas son casi verticales y en soluciones muy diluidas el soluto es totalmente adsorbido, como se puede observar en los resultados mostrados en la figura 4 y 5. Las formas de las isotermas muestran claramente que QC1 y QC2 tiene una mejor capacidad de adsorción comparada que QC4 en ambas masas de adsorbente estudiadas. Pero los resultados también nos muestran que QC3 tiene menor capacidad de adsorción y la forma según Giles parece ser un tipo S, en este caso como solo es quitosano cuaternario, tiene una mejor afinidad con el solvente, en este caso agua, y compite con los iones de oro (III). Los procesos de adsorción fueron descritos por los modelos matemáticos de Langmuir, Freundlich y Dubinin-Radushkevich (D-R). El modelo de Langmuir asume que la adsorción ocurre en sitios específicos del adsorbente y que cada proceso de adsorción tiene una energía homogénea; además, no hay interacciones entre las moléculas adsorbidas. La máxima capacidad de adsorción por monocapa de Langmuir fue de 333,3; 500,0; 13,1 y 111,1 $mg \cdot g^{-1}$ para una masa de 10 mg para QC1, QC2, QC3 y QC4, respectivamente (tabla 1), sin embargo, para QC4 con 20 mg, fue de 526,3 $mg \cdot g^{-1}$.

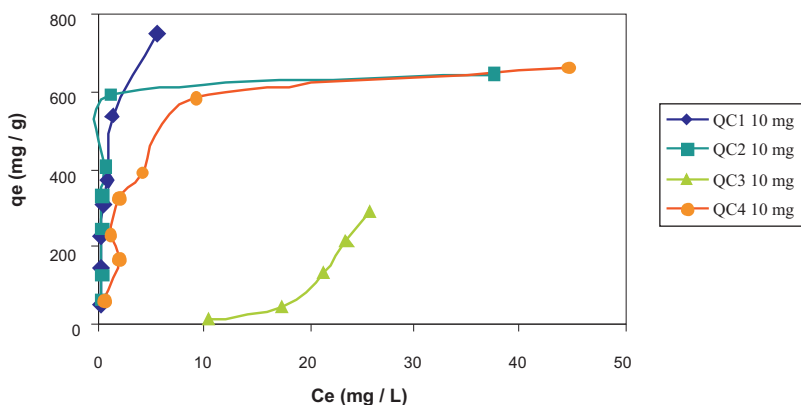


Figura 4. Isoterma de adsorción de Au (III) mediante 10 mg de los adsorbentes QC1, QC2, QC3 y Qc4.

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

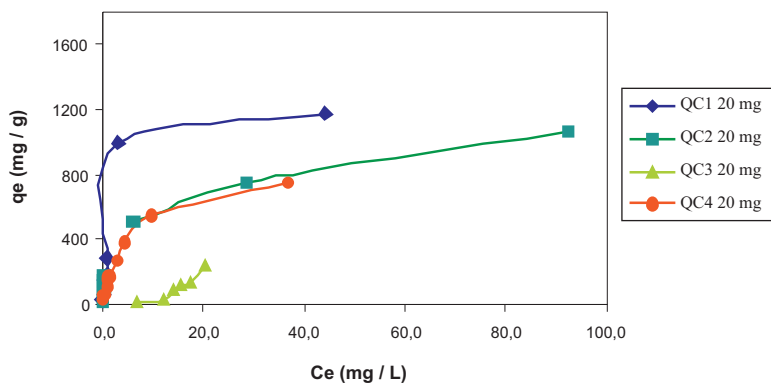


Figura 5. Isoterma de adsorción de Au (III) mediante 20 mg de los adsorbentes QC1, QC2, QC3 y Qc4

De acuerdo a la linearización del modelo de Freundlich, el valor de k indica que QC2 tiene la mejor capacidad de adsorción que los otros adsorbentes en soluciones acuosas; sin embargo, QC1 y QC4 tienen también k altos comparados con QC3. Además, el valor de $1/n$ encontrado para QC1, QC2 y QC4 indican un proceso favorable ($0 < 1/n < 1$).

Los resultados obtenidos también fueron ajustados a la isoterma de D-R para determinar si la adsorción ocurre por procesos físicos o químicos. Para tal efecto, el coeficiente de correlación lineal debe estar dentro de los márgenes aceptables. Los datos experimentales obtenidos para los cuatro adsorbentes se ajustan muy bien a este modelo con coeficientes de correlación R^2 mayor a 0,90. De esto se deduce que el modelo de D-R se aplica al proceso de adsorción de Au (III) en los adsorbentes a altas concentraciones iniciales del metal. Pensamos que esta reducción del rango de concentración estudiado es la causante de las discrepancias entre los valores de $q_{máx}$ obtenidos por el modelo de Langmuir y los obtenidos por el modelo de D-R (tabla 1).

La importancia del modelo de D-R radica en la magnitud de E por su utilidad en la determinación del tipo de adsorción. Por ejemplo, un rango de energía entre $8-16 \text{ kJ.mol}^{-1}$ indica un proceso de intercambio iónico²². En el caso de $E < 8 \text{ kJ.mol}^{-1}$, fuerzas físicas débiles, como las de Van der Waals y puentes de hidrógeno pueden ser las responsables del mecanismo de adsorción¹⁸. En el caso de $E > 16 \text{ kJ.mol}^{-1}$, el tipo de adsorción puede ser definida como adsorción química²³. Los valores de E para la adsorción del ion Au (III) por QC1, QC2 y QC4 son 25, 25 y 16 KJ mol^{-1} , respectivamente, mientras que para QC3 fue de $0,14 \text{ kJ.mol}^{-1}$. Esto implica que el tipo de adsorción para QC1, QC2 y QC4 puede ser definida como adsorción química, mientras que para QC3 están dominando las fuerzas de Van der Waals.

Tabla 1. Parámetros y constantes de las isothermas de la adsorción de Au (III) en los adsorbentes QC1, QC2, QC3 y Qc4

Isoterma de Adsorción	QC1		QC2		QC3		QC4	
	10 mg	20 mg	10 mg	20 mg	10 mg	20 mg	10 mg	20mg
Langmuir								
$q_{\max}$ (mg.g ⁻¹)	333,3	200,0	500,0	200,0	13,1	20,4	111,1	526,3
b (L.mg ⁻¹)	1,765	1,064	1,053	2,000	0,041	0,048	1,406	0,413
R^2	0,90	0,97	0,94	0,98	0,98	0,95	0,94	0,99
Freundlich								
k (L.g ⁻¹)	289,4	192,6	298,3	173,7	0,30	0,30	156,5	130,9
N	3,03	1,548	2,98	2,134	0,001	0,022	2,31	1,384
R^2	0,81	0,82	0,56	0,89	0,97	0,76	0,78	0,99
Dubinin-Radushkevich								
$q_{\max}$ (mg.g ⁻¹)	726	1077	655	547	1749	801	498	437
$B \times 10^{-4}$ (mol ² .J ⁻²)	0,0008	0,0002	0,0008	0,0007	20	0,9	0,002	0,004
R^2	0,93	0,94	0,97	0,91	0,99	0,99	0,94	0,92

Tabla 2. Cinética de adsorción de pseudo-segundo orden para oro (III) de los adsorbentes.

Adsorbente	QC1	QC2	QC3	QC4
q_e (mg/g)	166,67	188,68	256,41	232,56
K_2 (g mg ⁻¹ min ⁻¹)	$8,0 \times 10^{-3}$	$4,39 \times 10^{-3}$	$2,06 \times 10^{-5}$	$1,16 \times 10^{-4}$
R^2	1,000	1,000	0,9581	0,9829

Cinética de adsorción

Los adsorbentes en polvo y perlas de gel, respectivamente, alcanzan rápidamente el equilibrio, QC1 y QC2 en 3 horas y para las perlas de gel QC3 y QC4 en 8 horas (figura 6); el modelo que siguen es la de pseudo-segundo orden con coeficiente de correlación altos, tal como se aprecia en la tabla 2, y con constantes de velocidad bajas; esto demuestra la alta afinidad entre adsorbente y adsorbato donde más del 95 % se absorbe con rapidez.

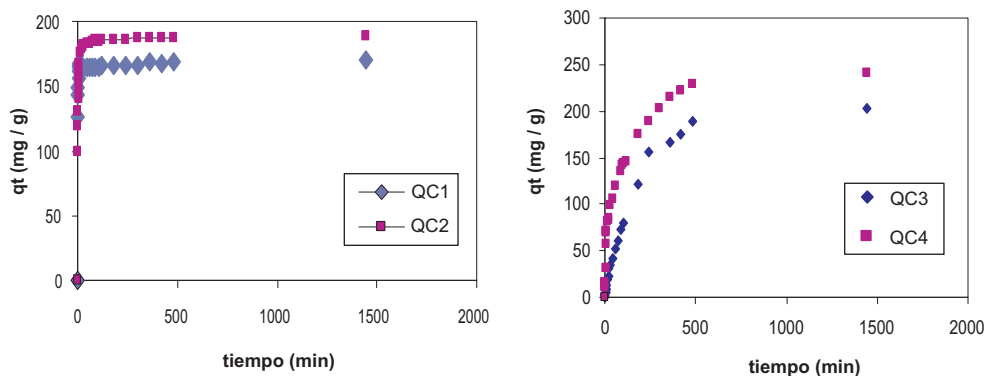


Figura 6. Cinéticas de adsorción de oro (III) de QC1 y QC2 a pH 4 y QC3 y QC4 a pH 3, T ambiente

CONCLUSIONES

El ion Au (III), bajo la forma de AuCl_4^- , es rápidamente adsorbido en la superficie de los quitosanos modificados como son quitosano cuaternario en polvo (QC1) y quitosano cuaternarios entrecruzados en polvo y perlas de gel (QC2 y QC4), a partir de soluciones acuosas. La optimización del proceso se consiguió a un pH de 3 para los adsorbentes tipos perlas de gel y pH 4 para los adsorbentes en polvo, con una masa óptima de 10 mg de adsorbente; se alcanzó el equilibrio en menos de 8 horas para las perlas de gel y 3 horas para los polvos.

La adsorción QC2 es mejor que QC1 y QC4 a las masas de adsorbentes estudiadas; sin embargo QC3 no resultó ser un buen adsorbente. El estudio del equilibrio indica un comportamiento mixto, obedeciendo a las isotermas de Langmuir y Freundlich, proponiendo un mecanismo por monocapa, con ciertas interacciones entre los adsorbatos luego de la adsorción, sobre una superficie energéticamente heterogénea. El proceso de adsorción fue también sometido al modelo de Dubinin-Radushkevich; este modelo indica un mecanismo de adsorción química, ya que la energía asociada al proceso es mayor de 16 kJ.mol^{-1} para los mejores adsorbentes.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecemos al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC)**, por el apoyo brindado para el desarrollo y culminación de esta investigación. Además, a nuestra institución, Universidad Peruana Cayetano Heredia-Facultad de Ciencias- Departamento de Química, por el soporte logístico y laboral.

BIBLIOGRAFÍA

1. G. Mejía. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 2006, 1, 77-99.
2. Página de Peru.com:
<http://www.peru.com/economiafinanzas/PORTADA20100929/120440/Produccion-nacional-de-oro-cayo-2543-en-agosto>
3. P. Navarro, C. Vargas, V. Reveco, J. Orellana. *Revista de Metalurgia*, 2006, 42, 354-366.
4. R. Cañizares-Villanueva. *Rev. Latinoamer. Microbiol.*, 2000, 42, 131-143.
5. F. Peirano, J. Flores, A. Rodriguez, N. Ale, M. Ly, H. Maldonado. *Rev. Soc. Quím. Perú*, 2003, 69, 211-221.
6. J. Flores, M. Ly, H. Maldonado. *Rev. Latinoamer. Quím.*, 2003, 31, 100-110.
7. A. Navarro, K. Ramos, K. Campos, B. Llanos, H. Maldonado. *Rev. Quím PUCP*, 2005, XIX, 53-59.
8. K. Khoo, Y. Ting. *Biochem. Eng. J.*, 2001, 8, 51-59.
9. Z. Lin, J. Wu, W. Xue, Y. Yang. *Spectrochim. Acta A*, 2005, 61, 761-765.
10. A. Aworn, P. Thiravetyan, W. Nakbanpote. *J Colloid Interf. Sci.*, 2005, 287, 394-400.
11. E. Torres, Y. Mata, M. Blazquez, J. Muñoz, F. Gonzales, A. Ballester. *Langmuir*, 2005, 21, 7951-7958.
12. T. Tsuruta. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 2004, 50, 221-228.
13. A. Navarro, D. Blanco, B. Llanos, J. Flores, H. Maldonado. *Rev. Soc. Quím. Perú*, 2004, 70, 147-157.
14. N. Cuizano, B. Llanos, A. Navarro. *Rev. Soc. Quím. Perú*, 2009, 75, 33-43.
15. N. Cuizano, A. Navarro. *An. Quím*, 2008, 104, 120-125.
16. S. Rosa, M. Laranjeira, H. Riela, V. Fávere. *J. Hazard. Mater.*, 2008, 155, 253-260.
17. L. Sun, Y. Du, X. Shi, X. Chen, J. Yang, Y. Xu. *J Appl. Polym. Sci.*, 2006, 102, 1303-1309.
18. U. Reyes, A. Navarro, B. Llanos., *Rev. Soc. Quím. Perú*, 2009, 75, 353-361.
19. Giles C., MacEwan T., Nakhwa S., Smith D., *J. Chem. Soc.* 1960; 111, 3973-3993.

ESTUDIO QUÍMICO DEL ACEITE ESENCIAL DEL FRUTO DE *Morinda citrifolia* Lineo (noni)

Zoila Garay Cauti¹, Otilia Acha De la Cruz¹, Amada de Souza², Ingrid E. Collantes Díaz^{3*}

RESUMEN

Las hojas y frutos de *Morinda citrifolia* Lineo fueron colectados en el Perú, en el departamento del Ucayali (Pucallpa). La identificación de los compuestos principales del aceite esencial de la pulpa con semillas y cáscaras del fruto fresco del noni se realizó a través del análisis del índice de Kovats; asimismo, del extracto hexánico del fruto fresco se aisló el ácido 3-*epi*-corosólico, el cual fue identificado por análisis espectroscópico de RMN¹H y RMN¹³C.

Palabras clave: *Morinda citrifolia* L., aceite esencial, índice de Kovats, ácido 3-*epi*-corosólico.

CHEMICAL STUDY OF THE ESSENTIAL OIL OF *Morinda citrifolia* Lineo (noni)

ABSTRACT

The leaves and fruit of *Morinda citrifolia* Lineo was collected in Peru in the department of Ucayali (Pucallpa). The identification of major compounds of essential oil from the pulp with seeds and peel fresh noni fruit was done through analysis of Kovats index; also the hexane extract of fresh fruit was isolated 3-*epi*-corosolic acid, which was identified by spectroscopic analysis of the RMN¹³C RMN¹H.

Key words: *Morinda citrifolia* L., essential oil, Kovats index, acid 3-*epi*-corosolic.

INTRODUCCIÓN

La familia Rubiaceae está conformada por 600 géneros y alrededor de 7000 especies distribuidas principalmente en los trópicos y subtrópicos; el género *Morinda* comprende alrededor de 80 especies. *Morinda citrifolia* Linneo (noni) es conocida como el queso de frutas, morera india. Nativa del sud este del Asia, Australia, Oceanía y de Asia tropical, se extiende desde la Polinesia a la India; es usada popularmente en muchas partes del mundo para un sin número de enfermedades, llegando a ser llamada como “cura todo”; es por esta razón que despertó gran interés económico y ha sido utilizada en la medicina tradicional desde hace 2000 años. La planta viene siendo estudiada desde 1920¹; el artículo de revisión de esta planta² reporta que las diferentes partes de *M. citrifolia* es usado para afirmar el sistema inmunológico, contra las bacterias, virus, algunos parásitos, para infecciones por hongos; previene la diabetes incluso previene la formación y la proliferación de tumores malignos. Actualmente se cultiva en la selva peruana, y como consecuencia de la divulgación de sus efectos curativos popularmente se presentó el consumo indiscriminado de jugos del “noni”;

¹ Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería, Av Tupac Amaru 210, Lima 25, Perú.

² Departamento de Botânica do Instituto de Biociencias da Universidade de São Paulo

^{3*} Laboratório de Extração da Universidade Paulista. Av. Paulista 900, Bela Vista, C.E.P. 01310-100 São Paulo, Brasil. ingrit_uni@hotmail.com

para algunos autores la administración del jugo en animales de laboratorios no se observó toxicidad^{3,4}; sin embargo, en el estudio clínico en seres humanos fue confirmado insuficiencia renal crónica⁵. Existen muchos estudios en el jugo industrial como medida de evitar adulteraciones⁶. El fruto maduro tiene un olor fétido ya que es muy rico en ácidos grasos, y según el artículo de revisión por Pawlus & Kinghorn 2007², hasta ese año se tiene resultados de 200 moléculas aisladas de las diferentes partes de la planta, como ácidos grasos, antraquinonas, ésteres, glicolípidos, flavonoides, iridoides, lignanos, triterpeno, etc. En este artículo abordaremos el estudio de los componentes del aceite esencial de las cáscaras y de la pulpa con semillas de *M. citrifolia*, así como también el aislamiento de ácido 3-*epi*-corosólico del extracto hexánico del fruto fresco.

PARTE EXPERIMENTAL

Colecta de la muestra y la identificación botánica

La muestra de hojas y frutos frescos (20 kg) (figura 1), fueron colectadas en la ciudad de Pucallpa, departamento de Ucayali, el 15 de mayo de 2007.

La muestra vegetal fue clasificada como *Morinda citrifolia* Linneo y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1998). Fue determinado por la Ms. Joaquina Albán Castillo y una muestra de la planta fue depositada en el Museo de Historia Natural de Lima, Perú.

Tabla 1. Identificación taxonómica de *M. citrifolia*.

División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	Magnoliopsida (Dicotiledoneae)
Sub-clase	Asteridae
Orden	Rubiales
Familia	Rubiaceae
Genero	<i>Morinda</i>
Especie	<i>Morinda citrifolia</i> Linneo
Nombre vulgar	Noni



Figura 1. Hojas y fruto fresco de *M. citrifolia*.

Extracción del aceite esencial

El aceite esencial de la cáscara y de la pulpa con semillas del fruto fresco fue extraído por el método de arrastre de vapor de agua por 4 h en un aparato de Clevenger⁷; el aceite obtenido después del condensador del aparato de Clevenger fue separado del agua con pentano; posteriormente secado con sulfato de sodio anhidro.

Análisis por cromatografía de gases, acoplado con espectro de masas (GC/MS)

Para el análisis de la composición química del aceite esencial, el aceite fue diluido en acetona en la proporción 1:100 v/v y sometido a análisis de cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas (CG-EM); se utilizó un cromatógrafo de la marca Agilent (6890 Series) acoplado a un espectrómetro de masas cuadrupolo (5973) operando a 70 eV, 0,25 μ m. utilizándose columna capilar DB-5 (30m x 0,25 mm x 0,25 μ m). La temperatura del inyector fue de 250°C y el detector de ionizador de llama FID. La programación de la temperatura del horno fue 40°C por 1 min, 40- 240°C, a 3°C/min teniendo helio como gas de arrastre (1 mL/min) y con tiempo total de análisis de 80 minutos.

Los compuestos fueron identificados por comparación de sus IK (índice de Kovats) relativos a C5-C29 n-alcenos obtenidos en una columna apolar DB-5 con los proporcionados en la literatura, por comparación de sus espectros de masas de la NIST 08 (Natl. Inst. of Standards and Technology)⁸.

Aislamiento del ácido 3-*epi*-corosólico

El fruto fresco fue cortado en rodajas y secado en una estufa a 40°C por 4 días, luego fue molido en un molino Molinex hasta obtener granos finos (350 gr), el material molido fue sometido a extracción en soxhlet por 20 horas, utilizando como solvente n-hexano.

El extracto fue concentrado en rotaevaporador, obteniéndose un extracto pastoso (2,6g), el cual fue resuspendido en metanol para hacer una partición con hexano (983,6 mg), y la fase metanol-agua (1616,4 mg) fue extraído con cloroformo sucesivas veces, obteniéndose una fracción resinosa (10 mg), la cual fue cromatografiada en una placa de sílica gel PF 254 preparativa de la marca MERCK en una placa de vidrio de 20x20 cm y 1 mm de espesor, eluyendo en una mezcla de solventes cloroformo: acetato de etilo: metanol (2:2:1) sucesivas veces para aislar el ácido 3-*epi*-corosólico.

Análisis por resonancia magnética nuclear

Los espectros de resonancia magnética nuclear ¹H y de ¹³C fueron registrados en un espectrómetro de la marca Bruker AC-200 operando a 200 MHz (4,69T) para RMN ¹H y 50 MHz (7,05T) para RMN ¹³C, de acuerdo con la solubilidad de las muestras, los espectros fueron obtenidos en CDCl₃, marca Merck y piridina-*d*₅, deuterada, marca Aldrich.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El aceite esencial de ambas partes estudiadas del fruto fresco se caracteriza por ser incoloro y tener un olor fétido, que está en concordancia con el trabajo de FARINE, J.P 1996⁹.

La figura 2 representa los cromatogramas obtenidos del análisis por CG-MS del aceite esencial de la pulpa con semillas y de la cáscara del fruto fresco, en los que se puede observar que el cromatograma de la pulpa con semillas es más rico en composición química, comparado con el obtenido de la cáscara de la fruta fresca.

En la tabla 2 se presenta en paralelo los componentes químicos en porcentaje, tiempo de retención y los índices de Kovats calculados relativos a C5-C29 n-alcenos, de la pulpa con semillas y de la cáscara del fruto fresco de *M. citrifolia*, en la que se observa que 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona, heptanona, hexanoato de metil, hexanoato de etilo, linalol, octanoato de

metilo, octanoato de etilo, ácido nonanoico, hexanoato de prenila, decanoato de metilo, están presentes en ambas partes estudiadas, donde tenemos cetonas, ésteres de hidrocarburos alcanos, ácidos y un único alcohol; también está la presencia de alto porcentaje en la cáscara de hexanoato de metilo, octanoato de metilo y octanoato de etilo, comparado con el aceite esencial de la pulpa con semillas.

Nonanona-2, α -terpineol, acetato de bornilo, prezizaeno, α -humuleno, γ -muroleno, γ -cadineno, δ -cadineno y oxicariofileno que en su mayoría son terpenos están solamente presente en el aceite esencial de la pulpa con semillas en bajas proporciones, a excepción de prezizaeno (11,9%) y oxicariofileno (7,4%); ya en la cáscara fue identificado benzoato de bencilo en baja proporción (0,5%).

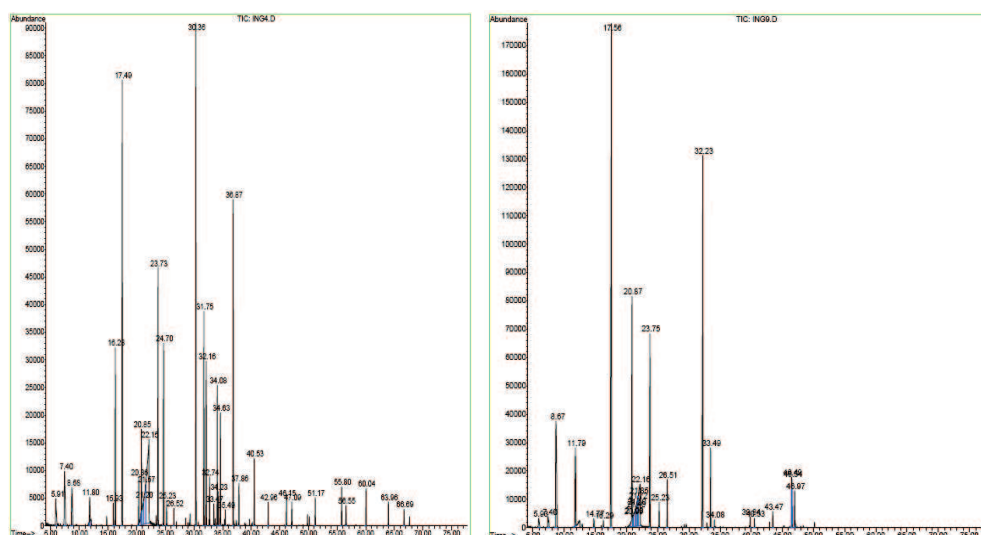


Figura 2. 1. Cromatograma del aceite esencial bruto de la pulpa con semillas y
2. Cromatograma del aceite esencial bruto de la cáscara *M. citrifolia*.

En el aceite esencial de la cáscara están presentes componentes menos volátiles que en el aceite de la pulpa con semillas y eso puede observarse porque ellos tienen mayor tiempo de retención como el caso de benzoato de bencilo.

Existen otros compuestos que aún no fueron identificados, que están presentes en el aceite esencial de ambas partes estudiadas, así como también están presentes solamente en la pulpa con semillas o en la cáscara del fruto fresco.

El análisis del espectro de RMN ^1H (figura 3) del aceite esencial bruto de la pulpa con semillas presenta señales características de ácidos grasos alifáticos, como un triplete a 0,88 ppm de metil terminal de una cadena alifática, un singlete ancho en 1,29 ppm característico de CH_2 de la cadena y 9,93 ppm característico del hidrógeno COOH .

Tabla 2. Composición química (porcentaje) del aceite esencia de la pulpa con semillas y de la cáscara del fruto de *M. citrifolia* usando el método de arrastre de vapor.

Compuesto	TR (ps)	% (ps)	IK (ps)	TR (c)	% (c)	IK (c)
4-hidroxi -4-metil-2-pentanona	5,90	1,48	839	5,93	0,8	839
Heptanona	7,41	3,34	892	7,41	0,9	892
Hexanoato de metilo	8,68	2,12	929	8,67	9,6	928
Hexanoato de etilo	11,80	1,21	999	11,8	4,6	999
ni	-	-	-	14,77	0,4	1068
Nonanona-2	15,93	0,5	1091	-	-	-
Linalol	16,28	4,1	1098	16,29	0,2	1098
Octanoato de metilo	17,49	11,1	1126	17,56	26,5	1128
α -terpineol	20,35	1,02	1186	-	-	-
Octanoato de etilo	20,85	2,6	1196	20,88	8,9	1197
ni	-	-	-	20,99	0,4	1199
ni	-	-	-	21,08	0,4	1200
ni	21,19	1,98	1203	-	-	-
ni	-	-	-	21,4	2,3	1208
ni	-	-	-	21,49	0,9	1210
ni	21,58	4,24	1213	-	-	-
ni	-	-	-	21,72	2,6	1216
ni	-	-	-	21,84	1,99	1219
ni	22,15	13,2	1226	22,15	6,4	1226
Ácido nonanoico	23,73	5,9	1261	23,75	7,2	1262
Acetato de bornil o	24,71	3,9	1282	-	-	-
Hexanoato de prenila	25,23	0,5	1293	25,23	0,7	1293
Decanoato de metila	26,52	0,3	1323	26,51	1,4	1323
Prezizaeno	30,35	11,9	1411	-	-	-
α -humuleno	31,75	4,6	1447	-	-	-
ni	32,16	3,5	1457	-	-	-
ni	-	-	-	32,22	16,5	1458
γ -muroleno	32,75	0,96	1471	-	-	-
ni	33,47	0,5	1488	33,49	2,3	1488
γ -cadineno	34,23	0,7	1507	-	-	-
δ -cadineno	34,63	2,7	1517	-	-	-
oxicariofileno	36,87	7,4	1576	-	-	-
ni	37,86	0,8	1601	-	-	-
ni	-	-	-	39,83	0,3	1655
Benzoato de bencilo	-	-	-	43,46	0,5	1763
ni	-	-	-	46,49	0,5	1855
ni	-	-	-	46,54	1,4	1856
ni	-	-	-	46,97	1,1	1869

TR tiempo de retención, IK Índice de Kovats, (ps) pulpa con semillas,
(c) cáscara y (ni) no identificado.

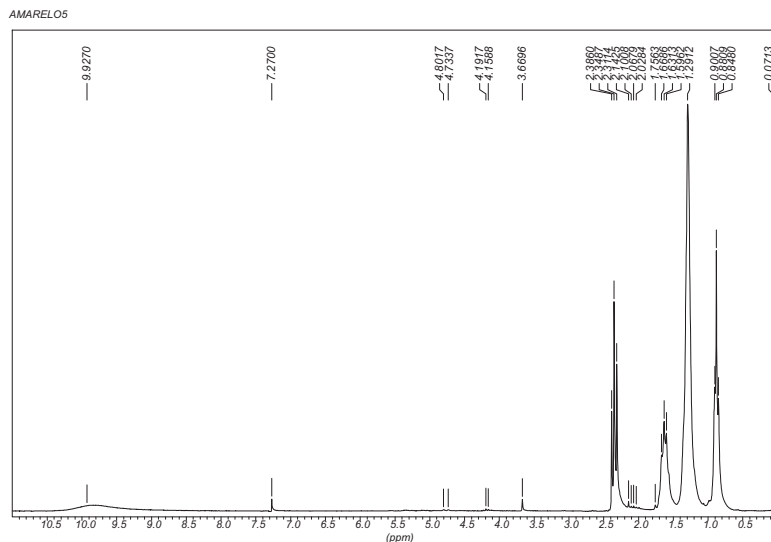


Figura 3. Espectro de RMN ^1H del aceite esencial bruto de la pulpa con semillas de *M. citrifolia* en CDCl_3 (δ 7,27 ppm).

El análisis del espectro de RMN ^{13}C (figura 4) del aceite esencial bruto de la pulpa con semillas presenta señales a 180,5 ppm, característico del carbonilo del ácido, 14,0 ppm del metilo terminal de la cadena alifática, 28,9 ppm es un pico ancho característico de los CH_2 de la cadena alifática, un pico en 34,1 ppm señal característica del CH_2 que está en posición α al carbonilo del grupo ácido.

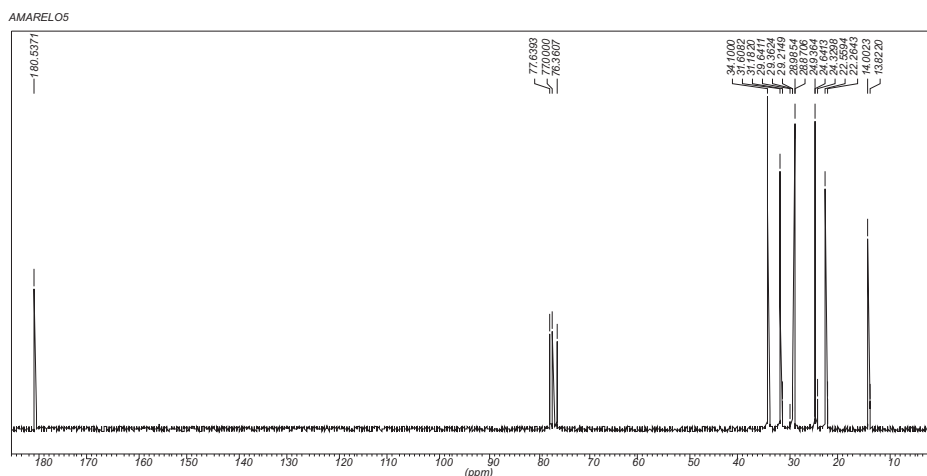


Figura 4. Espectro de RMN ^{13}C del aceite esencial bruto de la pulpa con semillas de *M. citrifolia* en CDCl_3 (δ 77,0 ppm).

El espectro de RMN ^1H (figura 5) del aceite esencial bruto de la cáscara presenta señales características de ácidos grasos alifáticos, como un triplete a 0,84 ppm de metil terminal de una cadena alifática, un singlete ancho en 1,26 ppm característico de CH_2 de la cadena, un triplete en 2,3 ppm característico de los hidrógenos del carbono que está en posición α al carbonilo del grupo ácido y 10,7 ppm característico del hidrógeno COOH .

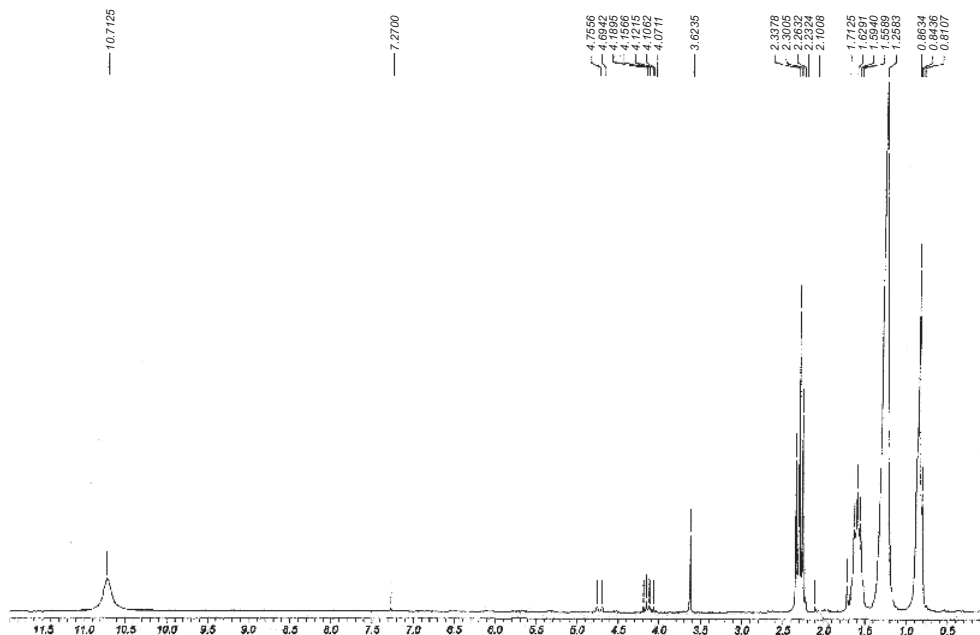


Figura 5. Espectro de RMN ^1H del aceite esencial bruto de la cáscara de *M. citrifolia* en CDCl_3 , δ 7,27 ppm.

El espectro de RMN ^{13}C (figura 6) del aceite esencial bruto de la cáscara presenta señales a 180,3 ppm característico del carbonilo del ácido, 13,9 ppm del metilo terminal de la cadena alifática, 28,8 y 28,9 ppm son dos singletes característico de los CH_2 de la cadena alifática, un pico en 34,0 señal característica del CH_2 que está en posición α al carbonilo del grupo ácido.

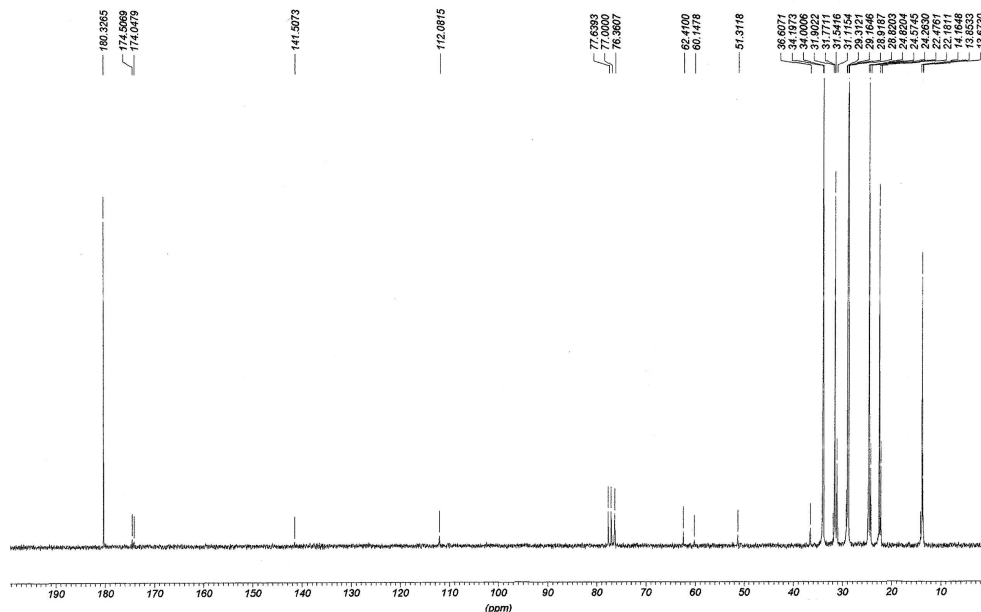


Figura 6. Espectro de RMN ^{13}C del aceite esencial bruto de la cáscara de *M.citrifolia* en CDCl_3 δ 77,0 ppm.

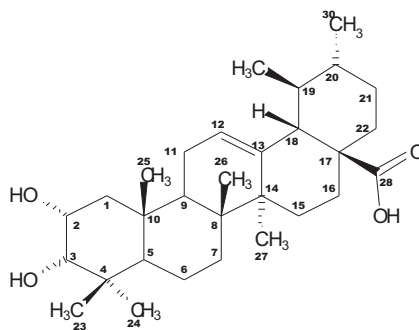


Figura 7. Ácido 3-*epi*-corosólico.

Ácido 3-*epi*-corosólico (figura 7) con fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_4$, fue aislado 3 mg de un sólido crema amorfo. La identificación fue posible a través del análisis del espectro de RMN ^{13}C (figura 8), donde se observa 30 picos, con desplazamiento químico de 180,10 ppm típico de un carbono de COOH del C-28, 139,22 y 125,35 ppm, señales típicas de carbonos de doble enlace correspondiente a los C-13 y C-12, 79.16 y 65.94 ppm señales típicas de carbonos enlazados a grupos hidróxido correspondientes a los carbonos C-3 y C-2,

desplazamientos químicos característicos de triterpenos con esqueleto básico del tipo ursano. La comparación de estas señales con el ácido 3-*epi*-corosólico disponibles en la literatura¹⁰, permitió verificar que se trataba del mismo compuesto.

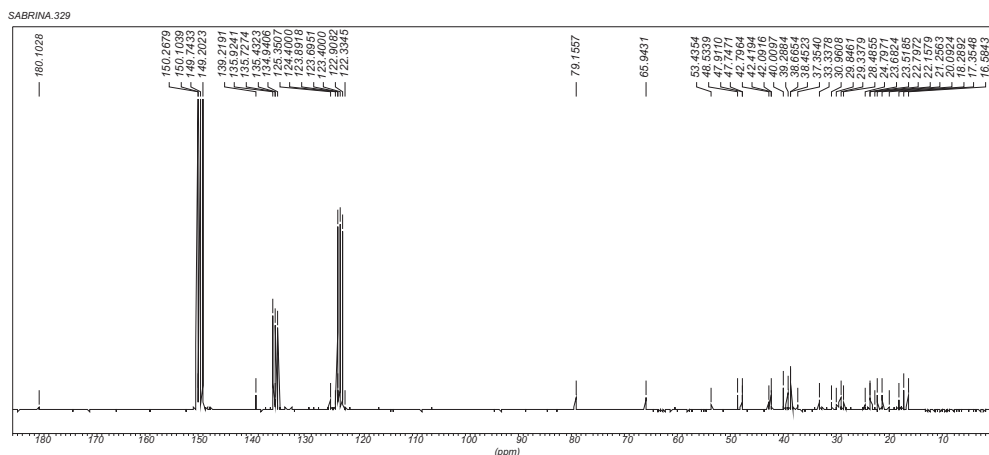


Figura 8. Espectro de RMN¹³C del ácido 3-*epi*-corosólico en piridina-*d*₅, a 50 Mhz.

El espectro de RMN de hidrógeno (figura 9) presentó señales 0,79; 0,85; 0,93; 1,00; 1,2; 1,3; 1,16 ppm; son singletes de los metilos (s, CH₃) 0,84; 2,51 ppm un duplete (con *J*= 11,42 Hz) correspondiente al H-18; 3,66 ppm correspondiente al H-3β; 4,20 ppm, al H-2β.

Tabla 3. Correlación de los desplazamientos químicos de RMN¹³C del ácido 3-*epi*-corosólico.

Nº (C)	Tipo de carbono	δ (ppm) (C 13)	Nº (C)	Tipo de carbono	δ (ppm) (C 13)
1	CH ₂	47,91	16	CH ₂	29,33
2	CH	65,94	17	C	42,79
3	CH	79,15	18	CH	48,53
4	C	39,28	19	CH	38,45
5	CH	53,43	20	CH	42,09
6	CH ₂	21,25	21	CH ₂	30,96
7	CH ₂	33,33	22	CH ₂	29,84
8	C	40,00	23	CH ₃	28,45
9	CH	47,74	24	CH ₃	24,79
10	C	38,66	25	CH ₃	16,58
11	CH ₂	22,79	26	CH ₃	18,28
12	CH	125,35	27	CH ₂	23,51
13	C	139,21	28	C	180,10
14	C	42,41	29	CH ₃	17,35
15	CH ₂	23,68	30	CH ₃	22,15

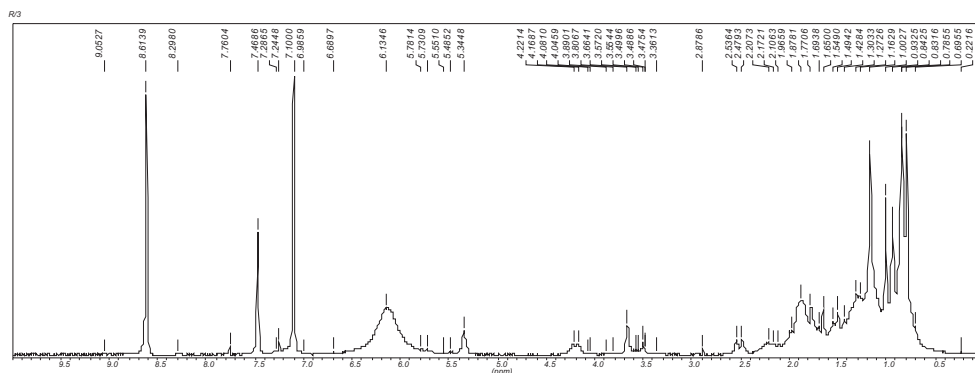


Figura 9. Espectro de RMN¹H del ácido 3-*epi*-corosólico en piridina-*d*₅, a 200 Mhz.

CONCLUSIONES

De los resultados de análisis cromatográfico del aceite esencial bruto de la pulpa con semillas, fueron observados 25 componentes, de los cuales 19 fueron identificados, teniendo como componentes mayoritarios octanoato de metilo (11,1%), un compuesto no identificado (13,2%) y preizaeno (11,9%); para el caso de la cáscara se observó 25 componentes, de los cuales 11 fueron identificados, presentando como componentes mayoritarios hexanoato de metilo (9,6%), octanoato de metilo (26,6%), octanoato de etilo (8,9%) y un compuesto no identificado (16,5%).

A partir de extracto hexánico de la fruta *M. citrifolia* fue aislado 3mg del ácido 3-*epi*-corosólico, el cual no fue reportado en trabajos precedentes.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Instituto General de Investigación de la UNI y al Instituto de Investigación de la Facultad de Ciencias-UNI, por el apoyo económico que nos brindaron, para la realización de todo este trabajo de investigación, desde la colecta de la muestra hasta la etapa final de la parte experimental.

BIBLIOGRAFÍA

1. J.L. Simonsen, Note on the Constituents of *Morinda citrifolia*. *J. Chem. Soc. Tran.*, 1920, 117, 561 – 564.
2. A.D. Pawlus, D. Kinghorn, Review of the ethnobotany, chemistry, biological activity and safety of the botanical dietary supplement *Morinda citrifolia* (noni). *J. Pharm. Pharmacol.* 2007, 59, 1587-1609.
3. B.J. West, Hepatotoxicity from interferon-beta, not noni juice. *Digestion* 2006, 74, 47-48.
4. J. Westendorf, K. Effenberger, H. Iznaguen, S. Basar, Toxicological and Analytical Investigations of noni (*Morinda citrifolia*) Fruit Juice. *J. Agric. Food Chem.* 2007, 55, 529-537.
5. B. Mueller, M.K. Scott, K.M. Sowinski, K.A. Prag, Noni Juice (*Morinda citrifolia*): Hidden Potential for Hyperkalemia? *Am. J. Kidney Dis.* 35, 310-312, 2000.
6. O. Potterat, R. Von Felten, P.W. Dalsgaard, M. Hamburger, Identification of TLC Markers and Quantification by HPLC-MS of Various Constituents in Noni Fruit Powder and Commercial Noni-Derived Products, *J. Agric. Food Chem.* 2007, 55, 7489 – 7494.
7. Farmacopéia Brasileira 4ed. Parte II, Fascículo 2. In: Diário Oficial, Suplemento n.1. 2001.
8. R.P. Adams, “Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry”. 4ed. Carol Stream: Allured Publishing, Illinois, USA, 2007, 804.
9. Farine, J.P.; Legal, L. Moreteau, B.; Quere, J.L.L. Volatile Compounds of Ripe Fruits of *Morinda citrifolia* and their Effects on *Drosophila*. *Phytochemistry* 1996, 41, 433-438.
10. X. Wen, J. Xia, K. Cheng, L. Zhang, P. Zhang, J. Liu, *et. al.*, Pentacycles Triterpenes part 5: Synthesis and SAR Study of Corosolic Acid Derivatives as Inhibitors of Glycogen Phosphorylases. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2007, 17(21), 5777-5782.

SUSTITUCIÓN PARCIAL DE HARINA DE TRIGO *Triticum aestivum* L. POR HARINA DE KIWICHA *Amaranthus caudatus* L., USANDO EL MÉTODO DIRECTO Y ESPONJA Y MASA, EN LA ELABORACIÓN DE PAN

Gloria Pascual Chagman¹, Joaquín Zapata Huamán^{1*}

RESUMEN

El presente estudio evaluó el efecto de la sustitución parcial de harina de trigo por harina de kiwicha de la variedad Óscar Blanco (provincia de Huaraz - Departamento de Ancash) en la elaboración del pan, para lo cual se planteó diez tratamientos que involucraron dos métodos de panificación (directo y esponja y masa) y cinco niveles de sustitución (al 5%, 10%, 15% y 20%), incluyendo el testigo sin sustitución. El arreglo factorial, con un diseño completamente al azar, reveló que el pan preferido se alcanzó con el método esponja y masa para un nivel de sustitución al 10%.

Para la elaboración de este producto se siguieron las siguientes operaciones: pesado, amasado, primera fermentación, amasado-sobado, división-formado, fermentación y horneado. Las harinas, para cada nivel de sustitución, fueron evaluadas por medio de análisis fisicoquímico, químico y microbiológico. El comportamiento de las masas, para cada nivel de sustitución, fue determinado mediante análisis fisicoquímico, químico (humedad) y reológico. Por último, a los panes obtenidos mediante cada tratamiento, se realizaron análisis físico, fisicoquímico, químico, organoléptico y biológico. Finalmente, el pan preferido mostró un valor de PER de 0,76.

Palabras clave: Kiwicha, *Amaranthus caudatus* L., trigo, *Triticum aestivum* L., pan, sustitución parcial de harinas.

PARTIAL SUBSTITUTION OF WHEAT FLOUR (*Triticum aestivum* L.) BY AMARANTH FLOUR (*Amaranthus caudatus* L.), BY USING THE DIRECT AND SPONGE AND DOUGH METHOD IN BREAD MAKING

ABSTRACT

This study assessed the effect of partial replacement of wheat flour with amaranth flour from Oscar Blanco variety (province of Huaraz - department of Ancash) in breadmaking, which was raised to ten treatments involving two methods of bread baking (direct and sponge and dough) and five levels of replacing (at 5%, 10%, 15% and 20%), including the control without replacement. The factorial arrangement in a completely randomized design reveals that the preferred bread was reached with sponge and dough method for a replacement level of 10%.

¹ Facultad de Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria La Molina, Av. La Universidad s/n, Lima 12, Perú.

* joaquin808@hotmail.com

For the elaboration of this product, the following steps were: weighing, mixing, first fermentation, mixing, kneading, split and formed, fermentation and baking. The flours, for each level of substitution, were evaluated by physicochemical, chemical and microbiological analysis. The behaviour of the masses for each level of substitution was determined by physicochemical, chemical (humidity) and rheological analysis. Finally, breads obtained by each treatment were analyzed physically, physicochemically, chemically, biologically and with sensory evaluation. Finally, the preferred bread showed a protein efficiency ratio value of 0,76.

Key words: Kiwicha, *Amaranthus caudatus* L., wheat, *Triticum aestivum* L., bread, partial replacement of flours.

INTRODUCCIÓN

A comienzos del 2008, el mundo entero experimentó un alza en el precio de los *commodities* alimentarios, lo que obligaba a los países a preocuparse por la seguridad alimentaria de sus poblaciones. Esta crisis alimentaria a escala mundial podría tener diversas causas, tales como el cambio climático, la creciente producción de biocombustibles y el incremento del consumo de países como la China e India. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la continua fuerte demanda de cereales está manteniendo la presión ascendente sobre los precios internacionales, a pesar de la cosecha récord del año 2007^{1,2}. Esta tendencia internacional se mantendrá en un futuro porque estos *commodities* ya no estarán necesariamente a precios bajos. Por esta razón, el Estado viene promoviendo el consumo de diferentes productos panificados con sustitución parcial de la harina de trigo por harinas sucedáneas. Dentro de ellas se encuentran los granos andinos como potenciales sustitutos. En este sentido, hace falta impulsar el desarrollo de las variedades de trigo, cebada, quinua y kiwicha con mayor rendimiento en las zonas andinas del Perú³. Asimismo, se afirma que si la población andina cultiva sus granos y cereales, asegurará su alimentación cuando en el mercado internacional los precios se incrementen³. Adicionalmente, el pan, componente fundamental de la alimentación diaria, está hecho principalmente a base de trigo pero también se puede encontrar en diferentes regiones del mundo, panes de centeno, cebada, etcétera⁴. Finalmente, sería importante determinar un pan, aprovechando uno de estos granos andinos, que reúna varias características tales como que sea nutritivo y saludable.

De lo expuesto anteriormente, la presente investigación tuvo los siguientes objetivos:

- Determinar el método de panificación y el nivel óptimo de sustitución de harina de trigo por harina de kiwicha.
- Caracterización nutricional y organoléptica del pan elaborado con harina de kiwicha.

PARTE EXPERIMENTAL

Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de fisicoquímica, microbiología, planta piloto de alimentos de la Facultad Industrias Alimentarias; el análisis biológico se realizó en el laboratorio de evaluación nutricional de alimentos de la Facultad de Zootecnia, de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Los análisis reológico y de volumen se realizaron en la empresa ALICORP S.A.A y en el laboratorio de GRANOTEC PERU S.A, respectivamente.

Materia prima e insumos

La kiwicha de la variedad Óscar Blanco utilizada en la presente investigación tuvo como lugar de procedencia a Huaraz, en el departamento de Ancash. Insumos necesarios para la formulación de un pan.

Materiales y reactivos

Materiales necesarios para trabajo en el laboratorio.

Reactivos

Ácido sulfúrico 95-97% de Riedel, etanol absoluto de Riedel, éter de petróleo de Scharlau, sulfato de cobre pentahidratado de Scharlau, ácido bórico de Scharlau, hidróxido de sodio de Scharlau, ácido clorhídrico de Riedel, rojo de metilo de Sigma-Aldrich, verde de bromocresol de Riedel.

Equipos

Amasadora-sobadora, divisora cortadora, horno a convección rotativo, farinógrafo, falling number, volumenómetro, molino de martillos.

Métodos de análisis

- Análisis físico: peso (pesado directo) y volumen (volumenómetro).
- Análisis fisicoquímico: pH⁵ y acidez titulable⁶.
- Análisis químico proximal: humedad⁵, proteína⁵, grasa⁵, cenizas⁵, fibra⁵.
- Análisis microbiológico: bacterias aerobias mesófilas viables⁷ y hongos y levaduras⁷.
- Análisis reológico: método farinográfico⁸ e índice de caída⁸.
- Análisis biológico: ratio de eficiencia proteica (PER)⁹.
- Análisis organoléptico: prueba de preferencia ampliada en función a la apariencia externa, color, volumen, textura, sabor y aceptación general¹⁰.
- Análisis estadístico: Se evaluó la apariencia externa, color, volumen, textura, sabor y aceptabilidad general, se realizó la prueba no paramétrica de Friedman. Al rechazarse la hipótesis nula, se empleó la prueba de comparación de Friedman para la comparación de tratamientos por pares. Los resultados obtenidos se evaluaron para un nivel de significancia correspondiente al 5%.

Procedimiento experimental para la elaboración del pan

Los flujos de operaciones para la elaboración del pan por el método directo y el método esponja y masa se muestran en la figura 1.

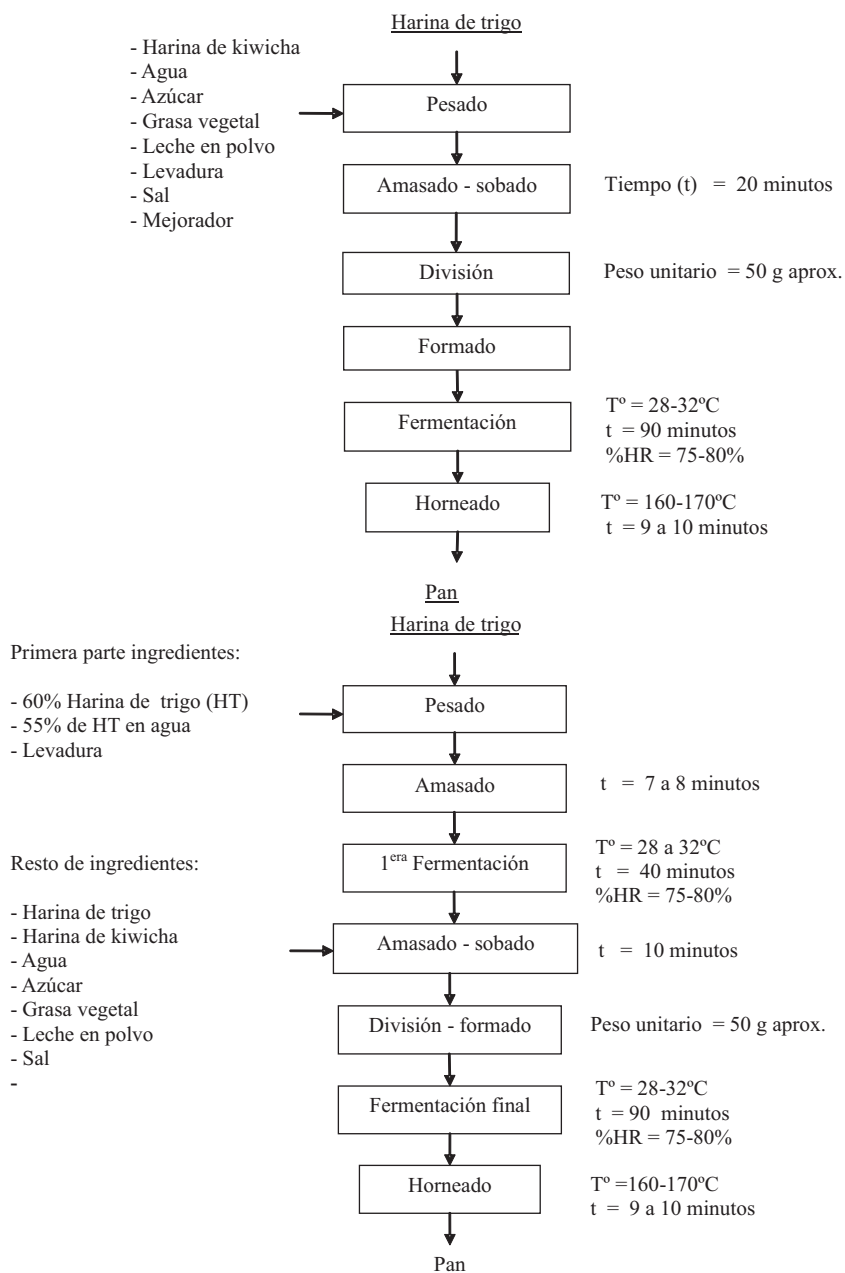


Figura 1. Flujos de operaciones para la elaboración de pan por el método directo (a) y esponja y masa (b).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis fisicoquímico

En la tabla 1 se muestra los resultados de pH y acidez titulable de las mezclas de harinas de trigo y harina de kiwicha, masas y panes para diferentes niveles de sustitución.

Tabla 1. Valores de pH y acidez titulable de las mezclas de harinas de trigo y harina de kiwicha, masas y panes para diferentes niveles de sustitución.

Niveles de sustitución (%)	Harina		Masa		Pan	
	pH	% Acidez	pH	% Acidez	pH	% Acidez
0	6,0	0,09	5,2	0,21	5,5	0,11
5	6,1	0,10	5,2	0,20	5,5	0,10
10	6,1	0,10	5,1	0,22	5,6	0,11
15	6,0	0,12	5,1	0,25	5,6	0,10
20	6,0	0,12	5,1	0,27	5,6	0,10
Harina de kiwicha	6,0	0,18	-	-	-	-

Los valores de pH de las mezclas de harina de trigo y harina de kiwicha se ubican dentro del grupo de alimento de baja acidez o no ácidos (pH de 5,0-6,8)¹¹. La acidez de la harina de trigo corresponde a una harina de tipo especial. Las mezclas de harinas con diferentes niveles de sustituciones se encuentran por debajo del valor máximo de 0,15%¹² mientras que la harina de kiwicha presenta un nivel de acidez superior al máximo permitido por la NTP, debido a la variedad de kiwicha utilizada. El valor del pH experimental de las masas (pH de 5,1-5,2) coincide con el rango de pH de 4-6 establecido en la literatura, siendo sus condiciones óptimas a un pH de 5. El ambiente ácido de las masas favorece a la formación del gluten y a lograr una masa más

extensible así como retrasa el desarrollo de microorganismos. En cuanto a los panes, el pH de 5,5-5,6 coincide con lo hallado para diferentes panes y la acidez está por debajo del nivel máximo permitido de 0,5%.

Análisis químico proximal

Los resultados del análisis químico proximal de las mezclas de harinas de trigo y de kiwicha, masas y panes para diferentes niveles de sustitución se presentan en la tabla 2.

Tabla 2. Composición química proximal de las mezclas de harinas de trigo y de kiwicha, masas y panes para diferentes niveles de sustitución.

Niveles de sustitución/ componentes		0%	5%	10%	15%	20%	Harina kiwicha
Mezclas de harinas	humedad (%)	12,8	12,5	12,4	12,5	12,2	10,3
	Proteínas (%)	11,8	12,1	12,4	12,5	13,6	13,6
	Grasa (%)	1,1	1,5	1,2	1,9	2,2	7,1
	Carbohidratos (%)	73,3	72,2	71,9	70,8	70,1	66,3
	Fibra (%)	0,1	0,3	0,3	0,5	0,3	0,5
	Cenizas (%)	0,9	1,4	1,8	1,8	1,6	2,2
Masas	Humedad %	40,0	40,4	40,1	39,6	39,6	-
Panes	Humedad (%)	27,4	27,4	27,0	28,4	27,4	-
	Proteínas (%)	9,4	9,7	9,7	8,0	9,6	-
	Grasa (%)	6,1	6,5	6,5	7,1	6,5	-
	Carbohidratos (%)	53,7	52,6	53,3	52,9	53	-
	Fibra (%)	0,1	0,4	0,4	0,4	0,5	-
	Cenizas (%)	3,1	3,4	3,1	3,2	3,1	-

En la tabla 2. se muestra que las diferentes componentes de las mezclas de harinas de trigo y de kiwicha concuerdan con lo establecido por la literatura, salvo en el caso de las cenizas, que superan lo establecido por la NTP 205,027 para harina extra (1,0%). Ello se podría explicar por el elevado contenido de cenizas en la harina de kiwicha (2,2%). La composición de la harina de kiwicha experimental alcanzó valores de humedad (10,3%) y fibra (0,5%) inferiores a lo reportado teóricamente, debido a la variedad de kiwicha empleada (Óscar Blanco).

Los valores de humedad de las masas se observan estables entre 39% y 40%, siendo importante notar que la formulación incluye niveles de 50% del peso de la harina en agua, disminuyendo la disponibilidad del mismo por su participación en la hidratación del gluten, pentosanos, gránulos de almidón dañados y mermas por evaporación.

Por último, la composición química de los panes logran un buen nivel de proteínas (9,4-9,7%) excepto al 15% (8%) y altos niveles de grasa (6,1-7,1%) y de cenizas (3,1-3,4%), siendo éstos superiores a lo reportado por la bibliografía, probablemente debido al alto contenido de grasa y de cenizas presentes en la variedad Óscar Blanco (7,1% y 2,2%, respectivamente) y al aporte en cenizas de la leche en polvo (6,9%).

Análisis microbiológico

En la tabla 3 se detalla el recuento de aerobios mesófilos viables hongos (AMV) y levaduras y hongos para los diferentes niveles de sustitución de harina de kiwicha por harina de trigo.

Tabla 3. Recuento de aerobios mesófilos viables hongos (AMV) y levaduras y hongos para los diferentes niveles de sustitución de harina de kiwicha por harina de trigo.

Niveles de sustitución (%)	Recuento de microorganismos AMV (ufc/g)	Recuento de hongos y levaduras (ufc/g)
0	38×10^2	11×10^2
5	41×10^3	45×10^2
10	14×10^3	10×10^2
15	14×10^3	9×10^2
20	28×10^3	$6,5 \times 10^2$

Los recuentos están por debajo del máximo establecido para AMV (**100 000 ufc/g e inferior a 50×10^3 ufc/g**) y hongos y levaduras (14×10^2 - 49×10^2 ufc/g). Dado que el pan constituye, por su contenido en agua, carbohidratos, proteínas, sales minerales y vitaminas, un medio sólido idóneo para el desarrollo de numerosas especies de microorganismos, se procedió a su degustación inmediatamente después de enfriado.

Análisis reológico

Los resultados del análisis farinográfico de las mezclas de harina de trigo y harina de kiwicha para diferentes niveles de sustitución se presentan en la tabla 4.

Tabla 4. Características farinográficas de las mezclas de harina de trigo y harina de kiwicha para diferentes niveles de sustitución.

Nivel Sustitución (%)	Absorción de agua (%)	Desarrollo (min)	Estabilidad (min)	Índice de tolerancia al mezclado (Unid. Brabender)
0	58,3	2,5	24,8	15
5	60,3	2,5	23,0	25
10	59,0	9,5	20,4	25
15	57,5	9,0	22,0	10
20	59,0	8,0	17,5	5
Promedio	58,8	6,3	21,5	16,0

Por lo general, el nivel de absorción de agua depende del contenido de proteína, de la presencia de gránulos de almidón dañados y del tamaño de partícula¹¹. La absorción de agua obtenida (rango de 58,3-60,3%) es un valor teórico, dado que sólo contiene harina y agua, a diferencia de la panificación experimental (50%). Este rango, con creciente niveles de proteína de 11,8-13,6%, corresponde a una harina media a fuerte (elevado contenido de proteínas) necesitando más agua que las harinas de trigo débil. En general, a medida que aumenta la sustitución, se incrementa la absorción para los niveles de 5%, 10% y 20% a excepción de 15%, siendo similar a lo encontrado por las fuentes bibliográficas.

En relación al tiempo de desarrollo de la masa, se observa una tendencia creciente (2,5-9,5 minutos); es decir, que a mayor sustitución, mayor fuerza de la harina, por lo que se incrementa el tiempo. Estos valores son similares a lo hallado para harina común (5-7 minutos).

Por otro lado, la estabilidad sigue una tendencia decreciente (24,8-17,5 minutos); es decir, que a mayor sustitución, menor estabilidad, lo que significa que el gluten se debilite y pierda fuerza.

El índice de tolerancia al mezclado es un indicador de la suavidad de la masa durante el amasado y sigue una tendencia decreciente (25-5 U.B.), conforme a lo determinado por la harina de trigo (20 U.B.). Además, a medida que se incrementa la sustitución, disminuye el índice y aumenta la fuerza de la harina.

Finalmente, luego de realizado todas las pruebas farinográficas, se determinó que la harina de trigo al 10% de sustitución por harina de kiwicha presentó buenas características reológicas.

Índice de caída

Los resultados del índice de caída para las mezclas de harina de trigo y harina de kiwicha para diferentes niveles de sustitución se señalan en la tabla 5.

Tabla 5. Índice de caída de las mezclas de harina de trigo y harina de kiwicha para diferentes niveles de sustitución

Niveles de sustitución (%)	Índice de caída (segundos)
0	389
5	387
10	379
15	378
20	375

El índice de caída analiza la viscosidad vía la medición de resistencia de una pasta de harina y agua a la caída de un émbolo. Experimentalmente se obtuvo un rango decreciente de 389 a 375 segundos, por lo que se infiere a mayor sustitución, disminuye el índice, aumentando la actividad enzimática. En términos generales, las mezclas de harinas se encontraban en buenas condiciones, pudiendo evitarse un pan de bajo volumen y migaja seca al agregar agentes enzimáticos (mejorador) con el objetivo de disminuir el índice hasta niveles recomendables de 300 segundos.

Análisis físico

El análisis físico realizado para los dos métodos de panificación y los diferentes niveles de sustitución se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Peso, volumen, volumen específico y variación porcentual de volumen por el método directo y esponja y masa para diferentes niveles de sustitución.

Nivel de Sust. (%)	Método directo			Método esponja y masa			%Δ Vol.
	Peso* (g)	Volumen* (cm ³)	Volumen específico (cm ³ /g)	Peso* (g)	Volumen* (cm ³)	Volumen específico (cm ³ /g)	
0	46,7	214	4,58	46,9	216	4,61	0,9
5	46,9	212	4,52	46,7	216	4,63	1,9
10	46,6	193	4,14	47,0	197	4,19	2,0
15	47,7	181	3,79	46,9	188	4,00	3,9
20	47,5	171	3,60	47,4	173	3,65	1,2
Prom.	47,1	194	4,12	47,0	198	4,21	2,0

* Promedio 3 repeticiones.

Con un peso inicial aproximado de 50 g por cada pan, la pérdida de humedad por la cocción es de 6%, siendo el peso final promedio de 47g . También se observa, para ambos métodos, que a mayor nivel de sustitución, mayor es el peso promedio.

Respecto del volumen promedio de los panes por el método directo (194 cm³) y el método esponja y masa (198 cm³). Se puede comprobar que al aumentarse el nivel de sustitución, disminuye la cantidad de gluten y la fuerza para crear una matriz elástica y extensible, disminuyendo el volumen de pan. En general, el volumen promedio del pan por el método esponja y masa supera al del método directo en 2,0%, a causa de la doble fermentación seguido en el flujo de operaciones por el método esponja y masa.

En lo que respecta al volumen específico, el promedio por el método directo fue de 4,12 cm³/g y por el método esponja y masa fue de 4,21 cm³/g . Asimismo, se ha comprobado que la velocidad de deterioro es menor en el caso del método esponja y masa respecto del directo por presentar un volumen específico superior.

Finalmente, se puede apreciar mayores niveles de volumen y volumen específico con el método esponja y masa respecto del método directo.

Análisis organoléptico

El análisis organoléptico se realizó en dos etapas. De la primera etapa se obtuvo los siguientes resultados, como se muestra en la tabla 7.

Tabla 7. Resultados de preferencia para ambos métodos durante la primera etapa de la evaluación sensorial.

Método	Niveles de sustitución	Preferencia superior al 10%	Características
Directo	0%	No*	Preferencia 0% en volumen
	5%	Sí	Apariencia ext. y color
	15%	Sí	Color
	20%	Sí	Todas las características
Esponja y masa	0%	Sí	Todas las características excepto en volumen
	5%	Sí	Color, volumen, sabor y aceptación general
	15%	Sí	Apariencia externa, color, volumen y aceptación general
	20%	Sí	Volumen

* Sin embargo, sí existe mejor puntaje en apariencia externa, color y sabor.

En una segunda etapa, se realizó una evaluación sensorial para determinar el pan preferido entre el mejor pan por ambos métodos. Si bien no existe diferencia significativa entre ambos métodos, en ninguna de las seis características evaluadas, la preferencia por el método esponja y masa obtuvo un mejor puntaje que el método directo, en lo que se refiere a la característica de textura, sabor y aceptación general.

Adicionalmente, se comprueba que el método esponja y masa se hace más idóneo para los procesos de panificación, en donde se utilicen diferentes niveles de sustitución con harinas sucedáneas.

Finalmente, el pan al 10% de sustitución con harina de kiwicha, realizado a través del método esponja y masa, resultó ser el pan preferido.

Análisis biológico

Los parámetros y el resultado de la prueba del ratio de eficiencia proteica se detallan en la tabla 8.

Tabla 8. Resultados de la prueba biológica PER.

Parámetros	Resultados
Número de animales	10
Peso inicial promedio(g)	46,9
Peso final promedio (g)	60,4
Materia seca de la ración (g)	95,8
Proteína de la ración (%)	10,26
Ganancia de peso promedio (g)	13,5
Consumo de alimento promedio (g)	172,12
Consumo de proteína promedio (g)	17,66
PER = Ganancia peso / consumo proteína	0,76

El PER experimental (0,76) es ligeramente superior al PER de la harina de trigo (0,6) e inferior a la mayoría de las investigaciones realizadas. Esto último podría deberse a las características de la prueba de crecimiento utilizada para medir la calidad de la proteína. Por lo general, la prueba del PER presenta las siguientes desventajas: no considera necesidades de mantenimiento del animal de ensayo; el resultado varía con la ingesta de alimentos; no siempre es válido que la ganancia de peso corporal sea un indicador de los tejidos proteicos. Es importante considerar que esta prueba tiende a sobreestimar la calidad proteica de fuentes de animales y subestimar las vegetales, además del efecto que produce el calentamiento sobre los alimentos, los cuales pueden incrementar el PER (desnaturalización de proteínas, destrucción de inhibidores de tripsina y quimotripsina, inactivación de enzimas y de otros compuestos indeseables) o disminuirlo (desulfuración, oxidación, ciclización, reacción de Maillard, deshidratación, desaminación, racemización, formación de lisinoalanina).

CONCLUSIONES

- El pan preferido se obtuvo con el método esponja y masa, a un nivel de sustitución al 10% con harina de kiwicha.
- La elaboración del pan por el método esponja y masa siguieron las siguientes operaciones: pesado, amasado, primera fermentación, amasado-sobado, división - formado, fermentación final, horneado.
- La composición química proximal del pan al 10% de sustitución fue la siguiente: 27,0% de humedad, 9,7% de proteína, 6,5% de grasa total, 53,3% de carbohidratos, 0,4% de fibra y 3,1% de cenizas. Este pan presentó buenos niveles de proteína, grasa y cenizas.
- En la prueba biológica del pan con sustitución parcial con 10% de harina de kiwicha, se produjo una ligera mejora en el valor nutricional comparado al valor de la harina de trigo.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Ing. Mercedes Malache e Ing. Nelly Vía, de Granotec Peru S.A.; al Ing. Carlos Huete, de Alicorp S.A.A; al Programa de Cereales y Granos Nativos y a la Facultad de Industrias Alimentarias de la UNALM.

BIBLIOGRAFÍA

1. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2008. Los precios de los alimentos continúan altos a pesar del aumento de producción. Disponible en: www.fao.org/newsroom/es/news/2008/1000845/index.html
2. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2008. La producción mundial de cereales aumentará en 2008, pero los precios permanecen altos. Disponible en: www.fao.org/newsroom/es/news/2008/1000783/index.html.
3. Gómez, L. 2008. Universidad Agraria impulsa cultivo de cereales con alto rendimiento en la sierra. Diario El Comercio. Miércoles 23 de abril del 2008. Lima - Perú.
4. Repo-Carrasco, R. 1998. Introducción a la ciencia y tecnología de cereales y de granos andinos. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima - Perú. Pág. 82
5. AOAC. (**Association of Official Agricultural Chemists**). 1995. Official methods of analysis of AOAC International. 16 ed. Virginia - The United States.
6. Kirk, R; Sawyer, R; Egan, H. 1996. Composición y análisis de alimentos de Pearson. 2 ed. Editorial Continental S.A. México. Pág. 323-324.
7. Mossel, D.; Quevedo, F. 1967. Control Microbiológico de los Alimentos. Métodos Recomendados. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima - Perú.
8. AACC. (American Association of Cereal Chemists). 2000. **Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists**. 10 ed. Minnesota - The United States.
9. AOAC. (**Association of Official Agricultural Chemists**). 2005. Official methods of analysis of AOAC International. 18 ed. Virginia - The United States.
10. Anzaldúa-Morales, A. 1994. Evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. Acribia S.A. Zaragoza-España. Pág. 67-69.
11. Marcelo, G. 1986. Enriquecimiento de pan con un concentrado proteico a base de plasma de sangre de vacuno. Tesis para optar el título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima - Perú.

AISLAMIENTO DEL ÁCIDO ÚSNICO DE *Flavoparmelia caperata* Y SU DETERMINACIÓN CUANTITATIVA POR ESPECTROSCOPIA UV, EN DIEZ LÍQUENES

Olivio Nino Castro Mandujano^{1*}

RESUMEN

El aislamiento del ácido úsnico se realizó a partir del líquen *Flavoparmelia caperata*, mediante extracción por maceración usando cloroformo a temperatura ambiente. El compuesto aislado denominado S2 fue purificado mediante técnicas cromatográficas y subsecuentes recrystalizaciones, obteniendo el ácido úsnico puro. La elucidación del ácido fue realizada por técnicas espectroscópicas IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR y EM.

La cuantificación de este ácido fue evaluado por espectroscopia ultravioleta-visible, y fue aplicada a los siguientes líquenes: *Flavoparmelia caperata*, *Flavoparmelia cucullata*, *Xanthoparmelia conspersa*, *Alectoria ochrolechia*, *Hypotrachyna paramense*, *Psiloparmelia denotata*, *Psiloparmelia distincta* (familia parmeliaceae); *Thamnolia vermicularis* subsp. *Vermicularis*, *Thamnolia vermicularis* subsp. *Solida* (familia siphulaceae); *Cladina arbusculata* (familia cladoniaceae) y *Stereocaulon vesuvianum* (familia stereocaulaceae).

Palabras clave: Líquen, *Flavoparmelia caperata*, ácido úsnico, espectroscopia UV.

ISOLATION OF THE USNIC ACID OF *Flavoparmelia caperata* AND CUANTITATIVE DETERMINATION BY UV SPECTROSCOPIC, OF TEN LICHENS

ABSTRACTS

The isolation of the usnic acid was realized from the lichen *Flavoparmelia caperata* by extraction – maceration with chloroform at room temperature. The isolated compound called S2 was purified by chromatography techniques and several recrystalizations. The elucidation was determined by spectroscopy techniques: IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR and MS.

The quantitative analysis of this acid was tested by UV spectroscopy and it was applied a the following lichens: *Flavoparmelia caperata*, *Flavoparmelia cucullata*, *Alectoria ochrolechia*, *Xanthoparmelia conspersa*, *Hypotrachyna paramense*, *Psiloparmelia denotata*, *Psiloparmelia distincta* (familia parmeliaceae); *Thamnolia vermicularis* subsp. *Vermicularis*, *Thamnolia vermicularis* subsp. *Solida* (familia siphulaceae); *Cladina arbusculata* (familia cladoniaceae) and *Stereocaulon vesuvianum* (familia stereocaulaceae).

Key words: Lichen, *Flavoparmelia caperata*, usnic acid, spectroscopic UV.

INTRODUCCIÓN

El líquen es un organismo simbiótico conformado por hongos (micobionte) y algas (ficobionte). Mientras los hongos se encargan del abastecimiento del agua y de las sales minerales, las algas proveen de los productos fotosintéticos, tales como los glúcidos. Se calcula que existen aproximadamente 13 500 especies dentro de 600 géneros^{1,2}.

¹ Pontificia Universidad Católica del Perú, Departamento de Ciencias - Sección Química.

* ocastro@puap.pe

El compuesto liquénico más estudiado es el ácido úsnico porque sus isómeros ópticos muestran un amplio espectro de actividad fisiológica frente a neumococos, estreptococos y estafilococos; además, tienen actividad antibiótica frente a diferentes tipos de *Mycobacterium*. Asimismo, se ha conseguido ampliar considerablemente el espectro de antibiosis de estos ácidos por la obtención de derivados³. El ácido úsnico es un metabolito frecuente en líquenes, variando su concentración según la especie. Por tanto, el objetivo de esta investigación es aislar, purificar y cuantificar el ácido úsnico del líquen *Flavoparmelia caperata* (figura 1) para emplearlo como patrón en la cuantificación del ácido en las otras especies estudiadas.



Figura 1. *Flavoparmelia caperata*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras de líquenes empleadas fueron recolectadas durante los meses de marzo a mayo de 1998 a 4100 m.s.n.m. en Pumacancha (Junín - Perú). La detección preliminar de los diferentes constituyentes liquénicos se realizó por pruebas de coloración y marchas fitoquímicas.^{2,4,5}

Aislamiento. Se usaron 210 gramos del líquen *Flavoparmelia caperata* (seco y molido) para la extracción por maceración con 1 L de acetona a temperatura ambiente. El proceso se repitió y el extracto total (1,6 L) fue concentrado al vacío en rotavapor hasta obtener 100 mL. Este extracto se mantuvo en reposo a 0 °C por 24 horas, del cual se obtuvo un precipitado denominado **sólido I** que fue separado por filtración y posteriormente lavado con cloroformo frío. El líquido filtrado fue guardado para posteriores investigaciones.

Al sólido I se le agregaron 15 mL de acetona que fue calentado hasta ebullición; el sólido fue separado por filtración en caliente (2 veces). El extracto acetónico fue concentrado a 5 mL y dejado en reposo a 0 °C durante un día, obteniendo unos cristales amarillos, S2. Estos cristales fueron separados por filtración en frío y lavados con acetona helada. Se determinó el punto de fusión de este compuesto. Se realizaron cromatografías de capa delgada (CCD) bajo el sistema: Tolueno–AcOEt - Ac.Ac. Glacial (6:4:1), que se revelaron con solución de H₂SO₄ en MeOH (10%). La caracterización del sólido denominado S2 fue realizada usando técnicas espectroscópicas de ¹H-NMR, ¹³C-NMR y espectrometría de masas en los Laboratorios de la Universidad de Salamanca (España). Los análisis de UV-Vis e IR se realizaron en el Laboratorio de Instrumentación de la PUCP.

Asimismo, se realizaron análisis por HPLC a los sólidos aislados. Cada muestra fue disuelta en acetona fría, se decantó y se tomó un alícuota que fue inyectado al cromatógrafo⁶. Las condiciones instrumentales fueron: Cromatógrafo Kontron HPLC, detector UV - 430, Columna Spherisorb 5 ODS-2 Kontron 250 x 4,6 mm, estándares internos 20 mg de ácido benzoico y 20 mg de ácido solorínico por 1000 mL de acetona, fase móvil A: Agua bidestilada con 1% de ácido ortofosfórico. B: 100 mL metanol Baker, A y B desgasificado por el Ultrasonic; Flujo 0,7 mL/min, volumen de inyección 5 µL, longitud de onda 245 nm. Se compararon los tiempos de retención para cada muestra con la base de datos disponibles, identificando la composición de cada muestra. Estos análisis fueron realizados por el Dr. J. Elix, químico orgánico de la Universidad Nacional de Australia especialista en plantas líquénicas.

Análisis cuantitativo del ácido úsnico. Esta determinación se realizó usando el método espectrofotométrico UV-V. Se obtuvo la absorbancia máxima haciendo un scan entre 200 y 400 nm usando 0,1 ppm de ácido úsnico en cloroformo.

La absorbancia máxima obtenida fue 284 nm confirmando que a esa longitud de onda no interfiere el solvente.

Rango de linealidad. Se prepararon soluciones de 1000, 100, 10 y 1 ppm de ácido úsnico en cloroformo y se midieron sus absorbancias a 284 nm. A partir de estos valores se determinó la zona de linealidad y se preparó la curva de calibración con 1,6 mg de ácido úsnico en 50 mL de cloroformo y a partir de esta solución se prepararon otras soluciones de 6,4 ppm, 3,2 ppm, 1,28 ppm y 0,64 ppm. Se plotearon los datos de concentración (ppm) vs absorbancia y se obtuvo la curva de calibración para encontrar la línea de correlación

Cuantificación del ácido úsnico en los diferentes líquenes. Se extrajo un gramo de muestra problema con 150 mL de cloroformo en un soxhlet (2 veces). Los extractos se juntaron y concentraron hasta un volumen de 100 mL, y a partir de esta solución se obtuvieron diluciones de 1/10, 1/50, 1/100, 1/500 y 1/1000 de tal forma que al registrar la absorbancia de las soluciones a 284 nm se encuentren en la zona de linealidad. Por último se realizó el cálculo del contenido de ácido úsnico por gramo de muestra usando la curva de calibración.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La marcha fitoquímica realizada al líquen *Flavoparmelia caperata* indicó que éste contiene fenoles, taninos, aminoácidos, esteroides, triterpenos, ácidos fenólicos, depsidonas, dépsidos y ácido úsnico.

De la fracción I se obtuvo 110 mg del compuesto S2, en forma de agujas amarillas. Su punto de fusión varió entre 203-204°C. La reacción con KOH dio una coloración amarillo intenso y los cromatogramas CCD bajo el sistema: Tolueno-AcOEt - Ac.Ac. Glacial (6:4:1) revelados con solución de H₂SO₄ en MeOH (10%) evidencian una sola mancha con R_f de 0,45.

Elucidación estructural del compuesto S2. El compuesto S2 es un sólido cristalino cuya rotación óptica dio $[\alpha]^{25} = +492$. Estas características indicaron que podría tratarse del (+) R ácido úsnico (R por su configuración y + giro dextrógiro); por otro lado, el cromatograma de HPLC, confirma que efectivamente se trata del ácido úsnico cuyo tiempo de retención fue 26,103 min.⁷⁻⁹

En el espectro UV-vis, (figura 2), se aprecia los valores de absorbancia máxima los cuales son bastante cercanos comparados con los reportados por Morales⁸ y Culberson⁹, ambos medidos en cloroformo; los valores de longitud de onda máxima se muestra en la tabla 1.

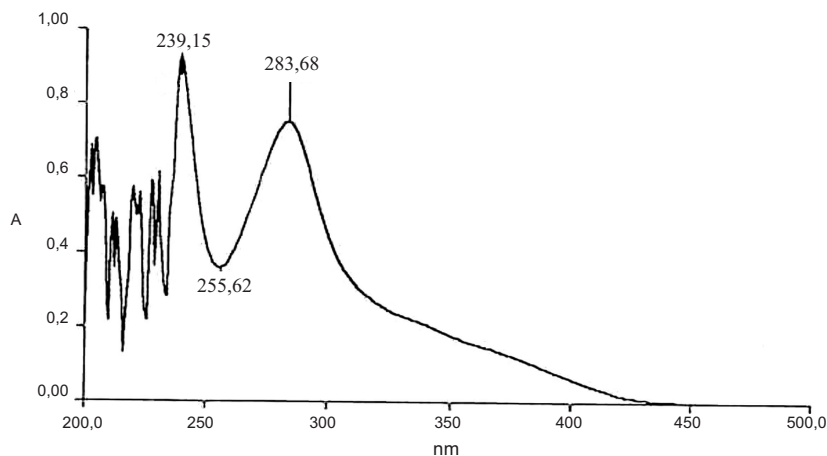


Figura 2. Espectro UV-Visible del compuesto S2

Tabla 1: Comparación de las absorbancias máximas del espectro UV-vis del compuesto S2 y el ácido úsnico

Banda de absorción reportados	Banda 1	Banda 2
Patricia Morales ⁸	234,4 nm	284,2 nm
Culberson ⁹	233,3 nm	283,2 nm
Compuesto S2	239,6 nm	283,1 nm

Del espectro IR, (figura 3), se observan valores a 1691 cm^{-1} que indica un alargamiento del C=O; a 1290 cm^{-1} alargamiento del C-O-C en el anillo; 1632 cm^{-1} para el grupo C=C conjugado, a 3008 cm^{-1} alargamiento del C-H aromático, a 3438 cm^{-1} presencia del los OH; en general, las zonas de huella dactilar son bastante parecidas en KBr (cm^{-1}) IR 700,8; 803,2; 819,5; 840,5; 930,7; 959,1; 992; 1024,4; 1040,1; 1070,4; 1118,5; 1144; 1190,7; 1221,5; 1290,8; 1317,5; 1334,5; 1358,1; 1375,6; 1421,2; 1456,1; 1542; 1632,2; 1691,4; 3008,3; 3438,1 [15-17].

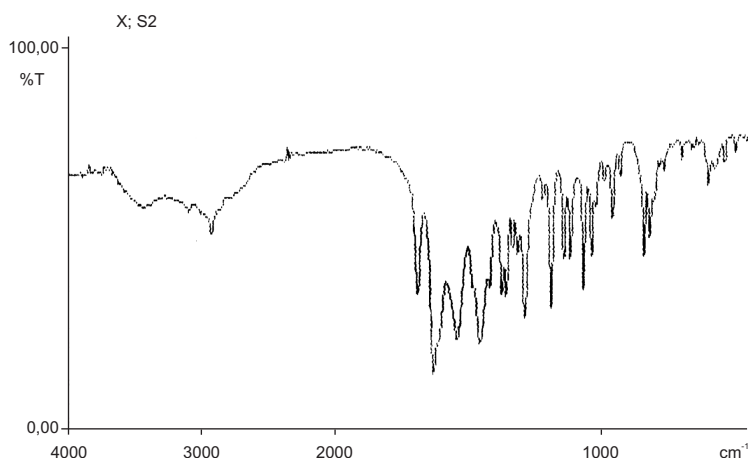


Figura 3: Espectro IR del compuesto S2

Analizando el espectro RMN- H^1 ($CDCl_3$) del compuesto S2 (figura 4), se determina que hay 2 metilos singuletes a 1,76 ppm y a 2,1 ppm, aproximadamente. Este último está desplazado por estar unido a un anillo aromático; además, hay otros 2 grupos metoxilo singuletes que sus señales están muy cerca (2,66 ppm y 2,68 ppm); por otro lado, hay también un protón aromático. Se observa, además, 2 oxhidrilos; el tercero no se distingue porque su señal está alrededor de 18 ppm y el espectro no indica este rango. En la tabla 2 se muestra una comparación de los valores de desplazamiento con los que indican las referencias.

En el espectro de ^{13}C - RMN (figura 5), medido en $CDCl_3$, se observa que los carbonos de los carbonilos de los grupos del -COMe se encuentran desplazados a 200,29 (C-14) y 201,73 (C-17) ppm; para los metilos aromáticos los valores son 27,88 (C-13) y 7,50 (C-16) ppm; para el desplazamiento 98,27 ppm se concluye que hay una sola señal para dos tipos de carbonos con desplazamientos muy cercanos (C-4 y C-6).

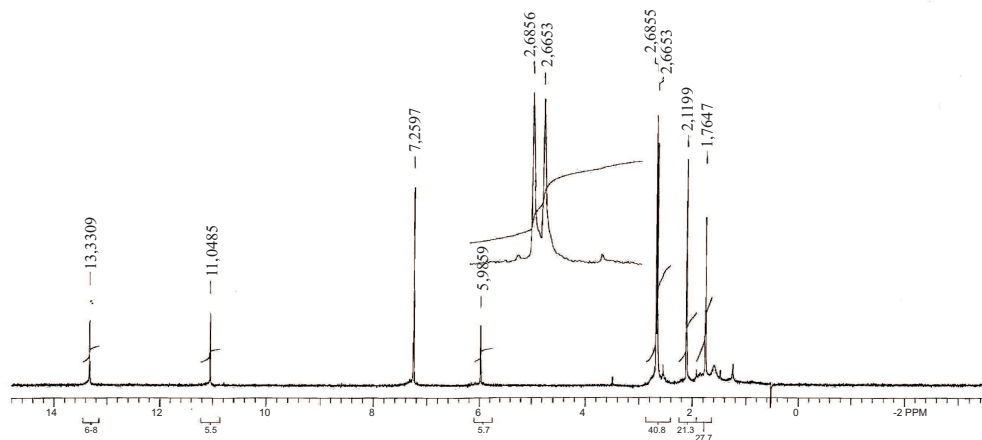


Figura 4. Espectro RMN- ^1H del compuesto S2

Tabla 2. Comparación del desplazamiento del espectro de RMN- H^1 del compuesto S2 y el ácido úsnico

Desplazamientos ? en ppm	
Ácido úsnico ¹⁰	Compuesto S2
1,75 (3H, s, Me-13)	1,7647 (3H, s, Me)
2,10 (3H, s, Me-16)	2,1133 (3H, s, Me)
2,66 (3H, s, Me-15)	2,6653 (3H, s, -COMe)
2,67 (3H, s, Me-18)	2,6855 (3H, s, -COMe)
5,92 (1H, s, H-4)	5,9859 (1H, s, aromático)
11,02 (1H, s, C ₁₀ -OH)	11,0485 (1H, s, OH)
13,31 (1H, s, C ₈ -OH)	13,3309 (1H,s, OH)
18,84 (1H, s, C ₃ -OH)	

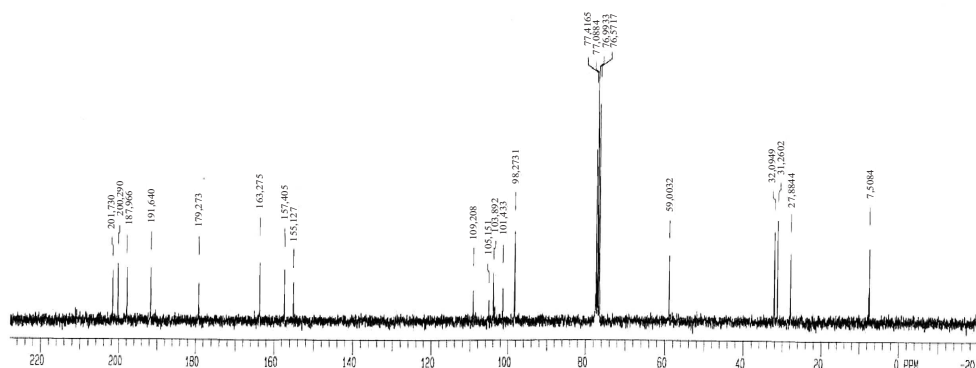


Figura 5. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto S2

En general, se observa que hay valores de desplazamiento muy parecidos entre el compuesto S2 y el ácido úsnico, tabla 3.

Tabla 3. Comparación de los desplazamientos del espectro ^{13}C -RMN de S2 y el ácido úsnico

No. Carbono	δ del ácido Úsnico ¹⁰	δ de S2	No. Carbono	δ del ácido Úsnico ¹⁰	δ de S2
C-1	198,2	197,966	C-10	164,1	163,775
C-2	179,4	179,273	C-11	105,4	105,151
C-3	155,1	155,127	C-12	59,2	59,0032
C-4	98,3	98,2731	C-13	27,4	27,8844
C-5	101,7	101,433	C-14	200,1	200,290
C-6	99,8	98,2731	C-15	32,0	32,0949
C-7	109,5	109,208	C-16	7,7	7,5084
C-8	157,6	157,405	C-17	201,3	201,730
C-9	104,2	103,892	C-18	30,9	31,2602

Analizando el espectro de masas (figura 6) nos indica que se trata del compuesto $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_7$, cuyo peso molecular es 344,0; sus fragmentos son: 260, 233(100), 217, 161, que coinciden exactamente con los datos de referencia¹⁰. En la figura 7 se propone la fragmentación del compuesto S2.

Analizando el espectro de masas (figura 6) nos indica que se trata del compuesto $C_{18}H_{16}O_7$ cuyo peso molecular es 344,0; sus fragmentos son: 260, 233(100), 217, 161, que coinciden exactamente con los datos de referencia¹⁰. En la figura 7 se propone la fragmentación del compuesto S2.

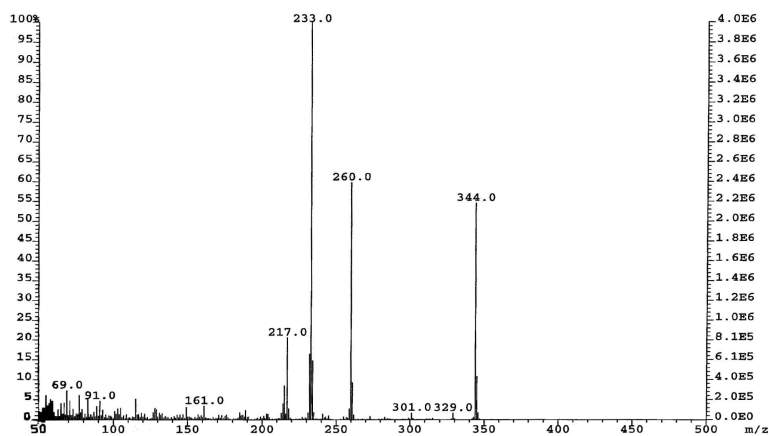


Figura 6. Espectro de masas del compuesto S2

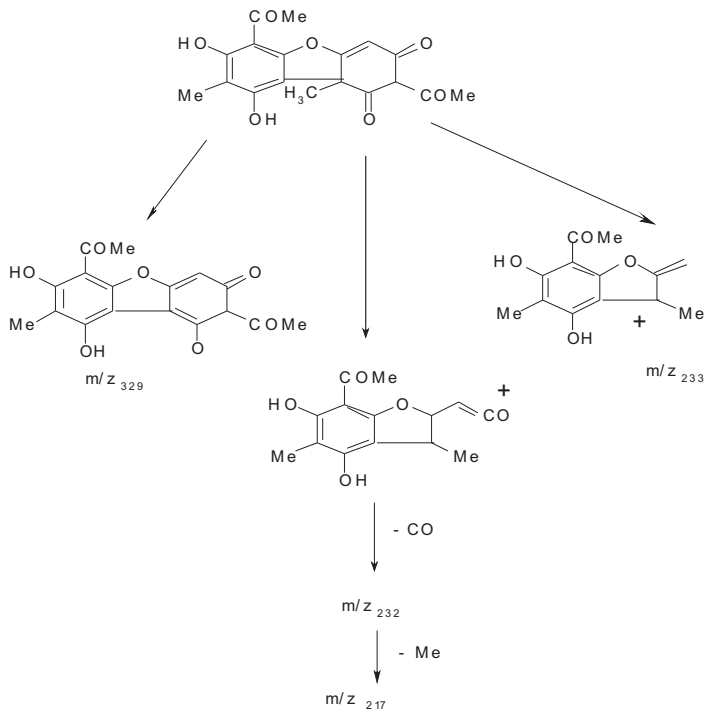
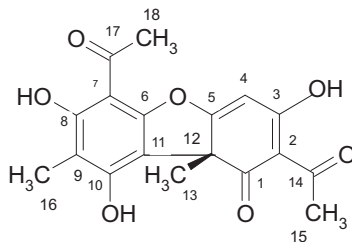


Figura 7. Fragmentación del compuesto S2

Con todos los datos espectroscópicos y cromatográficos se propone que el compuesto S2 sería el ácido úsnico cuya estructura es la siguiente:



Resultados del análisis cuantitativo del ácido úsnico. La gráfica que relaciona los valores de absorbancia para soluciones de 0-1000 ppm indicaron falta de linealidad en ese rango; mientras que en el rango de 0 a 10 ppm se cumple la correlación de la Ley de Lambert-Beer, tal como se observa en la figura 8.

De la curva de calibración se obtuvo la línea de correlación $Y = 0,0343 X$, donde Y = absorbancia y X = concentración. La cuantificación de ácido úsnico en las diferentes especies líquénicas se muestran en la tabla 4.

Calibration
Date : 27/4/2000 Time : 15:17:14

Date: 27/04/2000 Time: 03:10:11 PM
Instrument: Perkin-Elmer Lambda 2 Serial No: 3293
Method: CONCPRU
Ordinate mode: Single wavelength
Baseline: No correction (0,00 0,00)
Analyst:

Wavelength(s)	Sample ID	Concentration	Ord. value	Comment
284,0	0,0 nn1.A01	0,6400 mg/l	0,0200	
284,0	0,0 nn2.A02	1,2800 mg/l	0,0417	
284,0	0,0 nn3.A03	3,2000 mg/l	0,1086	
284,0	0,0 nn4.A04	6,4000 mg/l	0,2210	

Equation: $y = 3.433990e-02 * x$
Residual error: 0,002024
Correlation coefficient: 0,999749

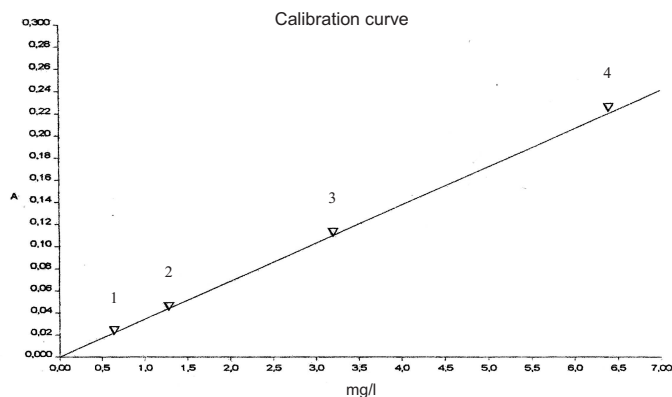


Figura 8. Curva de calibración de 0-10 ppm

Tabla 4. Porcentaje del ácido úsnico de diversos líquenes

Muestra líquénica [18, 19]	Familia	% de ácido úsnico (bs)
<i>Flavoparmelia caperata</i>	Parmeliaceae	0,35%
<i>Flavoparmelia cucullata</i>	Parmeliaceae	0,31%
<i>Xanthoparmelia conspersa</i>	Parmeliaceae	0,32%
<i>Alectoria ochrolechia</i>	Parmeliaceae	0,29%
<i>Hypotrachyna parámense</i>	Parmeliaceae	0,25%
<i>Psiloparmelia denotata</i>	Parmeliaceae	0,34%
<i>Psiloparmelia distincta</i>	Parmeliaceae	0,32%
<i>Thamnomia vermicularis</i> subsp. <i>Vermicularis</i>	Siphulaceae	0,06%
<i>Thamnomia vermicularis</i> subsp. <i>Solida</i>	Siphulaceae	0,07%
<i>Cladonia arbusculata</i>	Cladoniaceae	0,10%
<i>Stereocaulon vesuvium</i>	Stereocaulaceae	0,12%

bs = base seca

CONCLUSIÓN

Todos los líquenes estudiados contienen el ácido úsnico en diferentes proporciones, de ellos, las especies de la familia Parmeliaceae son las que tienen mayor cantidad de ácido úsnico 0,30-0,35% y los líquenes de otras familias (siphulaceae, stereocaulaceae, cladoniaceae) contienen solamente de 0,07 hasta 0,12%.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación se realizó gracias a la colaboración de los siguientes profesionales: Por la identificación botánica de los líquenes estudiados, a la Dra. Magdalena Pavlich de la Universidad Peruana Cayetano Heredia; a la Dra. Mónica T. Adler de la Universidad de Buenos Aires, Argentina; al Dr. H. Thorsten Lumbsch de la Universität GH Essen, Germany y al Dr. Teuvo Ahti de la University of Helsinki, Finlandia. Por la realización del análisis de RMN- H^1 , RMN- C^{13} y EM al Dr. Arturo San Feliciano de la Universidad de Salamanca, España, y por los análisis de HPLC al Dr. John Elix de la Universidad Nacional de Australia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Vicente Córdova, C., Fisiología de las sustancias líquénicas, Ed. Alhambra, Madrid, 1975.
2. Kika Honda, N, y Vilegas, W., *Química Nova* – Brasil, 21, 110 – 124 (1998), “A química dos líquenes”.
3. Reinhold Leonora, D., Progress in Phytochemistry, Ed. Interscience, London, 1968, p 225.
4. Robles Caycho, J., Pastor de Abram, A. “Líquenes y sustancias líquénicas”, *Revista química* – PUCP, 6, 65-76 (1992).
5. Lock De Ugaz, O., Investigación fitoquímica, Fondo editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima, 1994.
6. Feige, G. B., “Identification of lichen substances by a standardized High-performance liquid chromatographic method”. *J. Chromatography* 646, 417-427 (1993).
7. Robles Caycho, J., Pastor De Abram, A. “Líquenes y sustancias líquénicas - Segunda parte”. *Revista Química* - PUCP, 6, 192-200 (1992).
8. Morales Bueno, P. Tesis de licenciatura, Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima, Perú, PUCP, 1992.
9. Culberson, C.F., *Phytochemistry*, 2, 335-340 (1963).
10. Huneck, S., and Yoshimura, Isao, Identification of the lichen substances, ed. Springer, Berlin, 1996.
11. Silverstein Robert., M., Spectrometric identification of organic compounds, 5th. Edition, Ed. John Wiley, 1991.
12. Pretsch, E., et al., Tablas para la elucidación estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos, Ed. Springer – Verlag Ibérica, Barcelona, 1998.

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE FERRITA DE COBALTO OBTENIDAS POR EL PROCESO SOL-GEL

Juan Montes de Oca^{a*}, Llojan Chuquisengo^a, Hugo Alarcón^a

RESUMEN

En el presente trabajo se realizó una coprecipitación de sales de hierro (II) y cobalto (II) en medio alcalino y de nitratos, usando como surfactantes al bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) y al ácido oleico, para así obtener una dispersión homogénea de tamaños de partícula. El análisis estructural se realizó por difracción de electrones, concluyendo que la estructura era FCC, mientras que el análisis morfológico se realizó por microscopía electrónica, obteniéndose un tamaño de partícula de 4 y 10 nm para el ácido oleico y el CTAB, respectivamente. Los espectros FTIR confirmaron algunos picos característicos de la ferrita de cobalto, así como el tipo de coordinación del surfactante a la superficie de la partícula.

Palabras clave: proceso sol-gel, nanopartículas, ferrita de cobalto, CTAB, ácido oleico.

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF COBALT FERRITE NANOPARTICLES OBTAINED BY SOL-GEL PROCESS

ABSTRACT

In order to achieve a monodispersed distribution of particle diameters, a coprecipitation process of iron (II) and cobalt (II) salts in alkaline and nitrate media was performed, using cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) or oleic acid as surfactants. The structural characterization of the precipitate was made by electron diffraction, concluding that the structure of the solid was FCC, whereas the morphological characterization was made by transmission microscopy, obtaining 4 nm and 10 nm main diameters with oleic acid and CTAB, respectively. The FTIR spectra confirmed some characteristic peaks of the cobalt ferrite and the type of coordination of the surfactants onto the particle surface.

Key words: sol-gel process, nanoparticles, cobalt ferrite, CTAB, oleic acid

INTRODUCCIÓN

La ferrita de cobalto es un óxido doble de hierro (III) y cobalto (II), cuya fórmula química es CoFe_2O_4 . Es ampliamente estudiada por su elevada anisotropía magnética, moderada magnetización de saturación, buena estabilidad química y dureza mecánica. La ferrita de cobalto presenta una estructura tipo espinela inversa, es decir, es una red cúbica centrada en las caras (FCC) de aniones oxígeno, en la cual los iones Fe (III) ocupan todos los huecos tetraédricos y la mitad de los octaédricos, mientras que los iones Co (II) ocupan la otra mitad de los huecos octaédricos^{1,2}, según se esquematiza en la figura 1:

^a Universidad Nacional de Ingeniería, Laboratorio de películas delgadas

* jmontesdeocaav@yahooes

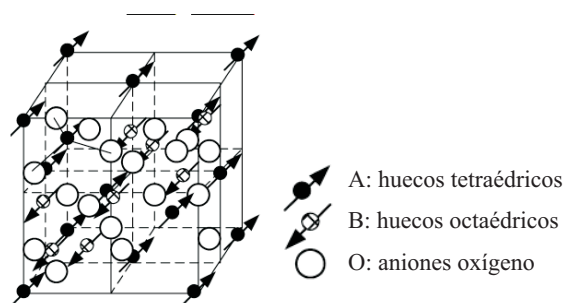


Figura 1. Esquema de la estructura de la ferrita de cobalto ³

La ruta de síntesis utilizada en este trabajo fue el proceso sol-gel. A pesar que los fundamentos en los que se basa se conocen desde hace ya mucho tiempo, gran parte de su desarrollo corresponde a las últimas dos décadas, en las cuales se ha realizado una gran cantidad de trabajos en este tema. Aunque se han dado muchas definiciones para el proceso sol-gel, éste se puede resumir como un conjunto de técnicas que nos permiten tener control de los procesos químicos involucrados durante la formación del material que se desea obtener. Estas técnicas permiten, entre otras cosas, el ahorro energético debido a que no se necesita excesivo calentamiento o uso de sistemas de alto vacío.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales y reactivos

Los reactivos usados en el presente trabajo se resumen en la tabla 1.

Tabla 1. Reactivos utilizados en el proceso de síntesis

Reactivo	Marca	Grado de pureza
$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Merck	P.A.
$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Riedel-de Haën	P.A.
NaOH	Fermont	P.A.
Ácido oleico	Sigma-Aldrich	P.A.
CTAB	Sigma-Aldrich	P.A.
NaNO_3	Merck	P.A.

Todos los materiales de vidrio utilizados fueron lavados con HCl caliente para eliminar cualquier resto de óxidos remanentes. Las soluciones se prepararon con agua bidestilada, la cual fue hervida por media hora y desaireada con N_2 por 5 minutos. El proceso completo de síntesis se realizó en atmósfera de nitrógeno para evitar la oxidación no controlada del $\text{Fe}(\text{II})$ ⁴⁻⁸.

Procedimiento

Se prepararon soluciones según la tabla 2.

Tabla 2. Soluciones preparadas y su concentración para realizar la síntesis

Reactivo	Concentración	Vol agregado (mL)
FeCl ₂	0,05 M	100
Co(NO ₃) ₂	0,10 M	100
Surfactante	0,2% w/v	250
NaNO ₃	1,0 M	50
NaOH	1 M	Hasta pH = 11

El ácido oleico se preparó saponificándolo con NaOH 5M en caliente (70°C). El agregado de NaOH a la mezcla reaccionante se realizó gota a gota con agitación constante dentro de un *glovebox* en atmósfera de nitrógeno. Luego de agregar el hidróxido hasta pH 11 se trasvasó la muestra a un frasco cerrado y se le dejó calentar en la estufa a 95°C por 16 horas. Las muestras para el FTIR se lavaron precipitándolas con ayuda de un electroimán hasta que la prueba de cloruros diese negativa. Los análisis TEM y difracción de electrones se realizaron directamente sobre el sol obtenido.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados

Se obtuvo un sol de color negro que por precipitación producía un sólido negro-marrón finamente dividido.

Los análisis que se realizaron se listan a continuación.

Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

Las micrografías TEM obtenidas para las muestras sin surfactante (usado como control), con CTAB y con ácido oleico, se muestran en la figura 2.

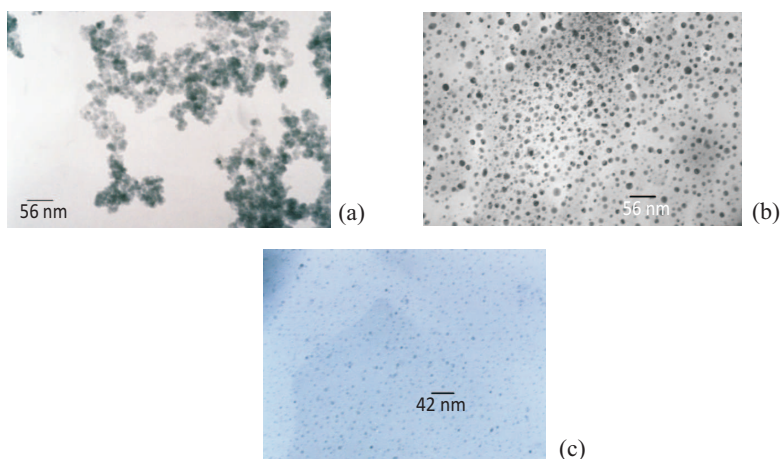


Figura 2. Micrografías TEM para las muestras: a) sin surfactante, b) con CTAB, c) con ácido oleico

Además, para las dos muestras con surfactante se ha calculado la distribución de tamaños de partícula, las cuales se muestran en la figura 3.

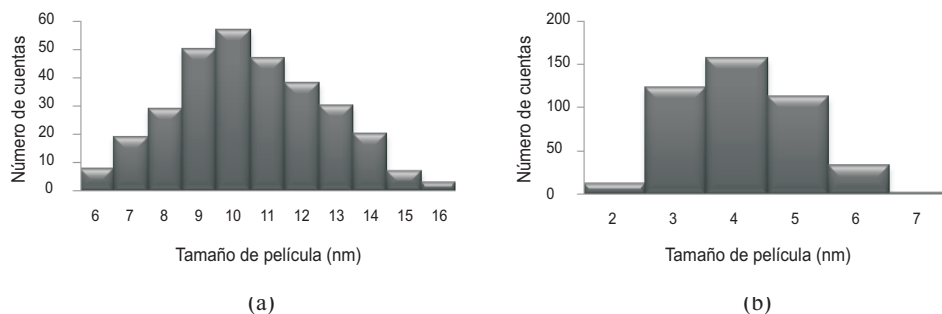
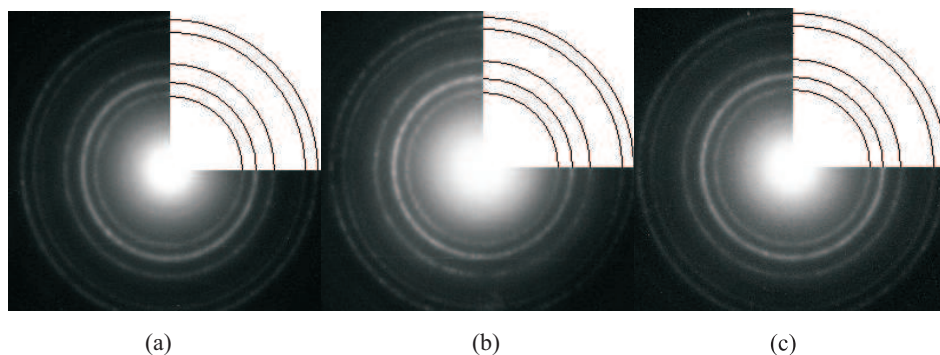


Figura 3. Distribución de tamaños de partícula para las muestras a) con CTAB y b) con ácido oleico

Difracción de electrones

Los patrones de difracción de electrones para las muestras analizadas se muestran en la figura 4.



a) sin surfactante, b) con CTAB, c) con ácido oleico

Figura 4. Patrones de difracción de electrones para las muestras:

Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

El espectro para el sólido obtenido sin surfactante se muestra en la figura 5.

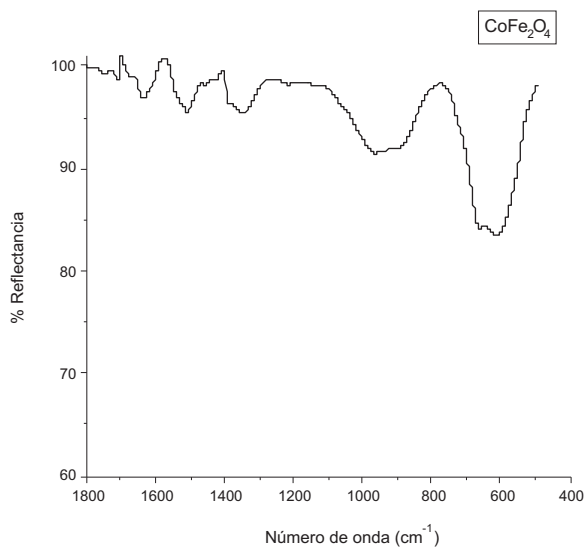
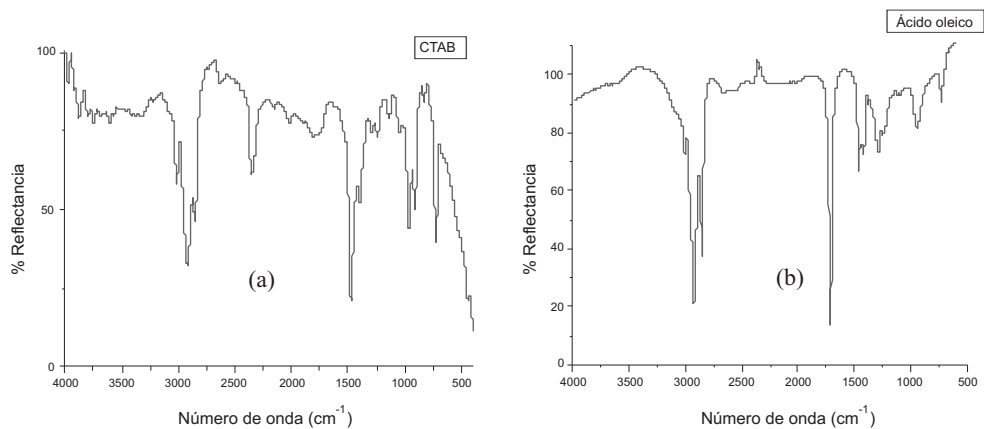


Figura 5. Espectro FTIR para la muestra sin surfactante

Los espectros para los dos surfactantes puros y de las partículas obtenidas con dichos surfactantes se muestran en la figura 6.



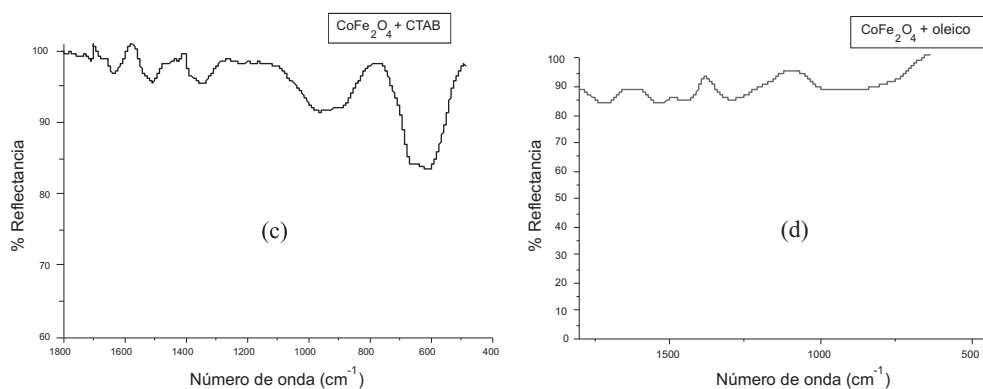


Figura 6. Espectros FTIR para: a) CTAB, b) ácido oleico, c) CoFe_2O_4 + CTAB, d) CoFe_2O_4 + oleico

DISCUSIÓN

El análisis por difracción de electrones corrobora una estructura cúbica centrada en las caras (FCC), propia de la ferrita de cobalto en las tres muestras analizadas. Las asignaciones de los índices de Miller para cada una de las circunferencias concéntricas son: [111], [200], [220], [311] y [222].

Las micrografías TEM muestran una fuerte aglomeración de las partículas obtenidas sin surfactante, no sólo por el hecho de que no tienen un agente estabilizador, sino porque al presentar propiedades magnéticas, el movimiento Browniano las hace estar suficiente tiempo en contacto como para que la fuerza magnética las haga coagular, formándose dichos aglomerados. Por el contrario, cuando se usa surfactante para estabilizarlas, no se muestra aglomeración de partículas, sino más bien se muestran más separadas y homogéneas. De la figura 3 se puede calcular los parámetros estadísticos de la distribución, resumidos en la tabla 3:

Tabla 3. Parámetros estadísticos obtenidos a partir de las micrografías TEM

	CTAB	Ácido oleico
$\bar{x}$	10,5	4,1
?	2,2	1,0

Para el caso del ácido oleico, no sólo se muestra una distribución más homogénea, sino también un menor tamaño medio de partícula.

El análisis por FTIR del sólido muestra 2 picos característicos de la ferrita de cobalto, los cuales se encuentran alrededor de 600 cm^{-1} , atribuidos a enlaces metal-oxígeno en la ferrita⁹. Para los sólidos obtenidos usando surfactante, no hay diferencia entre los picos obtenidos usando CTAB con respecto a los picos obtenidos sin surfactante. Esto implica el hecho de que

el CTAB no posee propiedades para coordinarse a la superficie del sólido obtenido, sino que se mantiene unido por fuerzas electrostáticas a éste, y que con los lavados sucesivos se elimina en el sobrenadante. Por otro lado, el espectro del sólido obtenido con ácido oleico como surfactante muestra una fuerte disminución del pico del carbonilo con respecto al espectro del ácido oleico puro. Esto nos permite deducir que el ácido oleico (en su forma desprotonada) se ha coordinado a la superficie de la partícula en su forma bidentada (por los dos oxígenos del carboxilato), corroborado por la reducción del pico del carbonilo debido a los efectos de resonancia que traen consigo el cambio de simetría correspondiente a la estructura bidentada. Esta coordinación debe ser una unión química más fuerte que la del CTAB debido a que la señal no se elimina con los procesos de lavado.

CONCLUSIONES

Se obtuvo nanopartículas de ferrita de cobalto mediante el proceso sol-gel usando surfactantes, lo cual se corroboró por estudios de difracción de electrones y FTIR. Cuando se usó ácido oleico, se obtuvo nanopartículas de $4,1 \pm 1,0$ nm en las cuales el surfactante permanecía adherido a la nanopartícula aún después del proceso de lavado.

Cuando se usó CTAB, se obtuvo nanopartículas de $10,5 \pm 2,2$ nm. Como comparación, se realizó una prueba sin surfactante, en la cual se observan partículas más grandes y aglomeradas, con lo cual se destaca la función del surfactante en la obtención de partículas monodispersas y más pequeñas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Instituto de Investigación de la Facultad de Ciencias - UNI, al CONCYTEC y Cátedra de Nanomateriales - UNI, por su apoyo económico para la realización del presente trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Smart, L.; Moore, E. 'Química del Estado sólido'. Addison-Wesley Iberoamericana, Estados Unidos, 1995.
2. West, A. 'Basic Solid State Chemistry'. Thomson Press, Great Britain, 1984.
3. Daliya S.; Ruey-Shin J. *Chem Eng.*, 2007, 129, 51–65.
4. Regazzoni, A.; Matijevic, E. *J. Colloids Surf.*, 1983, 6, 189-201.
5. Sugimoto, T.; Matijevic, E. *J. Colloid and Interf. Science*, 1980, 74.
6. Regazzoni, A.; Matijevic, E. *National Association of Corrosion Engineers*, 1982, vol. 38, N° 4.
7. Liu, C.; Rondinone, A.; Zhang, Z. *Pure Appl. Chem.* 2000, 72.
8. Vayssières, L.; Chanéac, C.; Tronc, E.; Jolivet, J. J. *Colloid and Interf. Science*, 1998, 205.
9. Calero, V. 'Synthesis and characterization of cobalt-substituted ferrite nanoparticles using reverse micelles'. Tesis de Maestría en Ingeniería Química. Universidad de Puerto Rico, 2005.

EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE DE LAS LARVAS DEL *Tenebrio molitor*

César Valdez Pantoja^a, Graciela Untiveros Bermúdez^{a*}

RESUMEN

Los aceites comestibles insaturados son muy apreciados por el público; en el presente estudio se extrajo el aceite de las larvas del coleóptero *Tenebrio molitor*. Se determinó un porcentaje de grasa de 38,44%. En el aceite se determinó los índices de saponificación (192 mg KOH/g de grasa), yodo (89,8 g I/100 g de grasa), acidez (1,65%) y peróxidos (2,4 meq O₂/kg de grasa). Los resultados de la cromatografía de gases del aceite mostraron que contenía 77,93% de ácidos grasos insaturados. La prueba de toxicidad oral aguda no presentó reacciones adversas en los animales utilizados.

Palabras clave: *Tenebrio molitor*, larvas, toxicidad oral aguda.

CHARACTERIZATION OF THE OIL EXTRACTED FROM THE LARVAE OF THE *Tenebrio molitor*

ABSTRACT

The unsaturated edible oils are very appreciated by the public, in the present study the oil from the larvae of the coleopteran *Tenebrio molitor* was extracted. The fat percentage determined was 38,44%. The indexes determined were saponification (192 mg KOH/g of fat), iodine (89,8 g I/100 g of fat), acidity (1,65%) and peroxide (2,4 meq O₂/kg of fat). The gas chromatography results of the oil showed that it contained 77,93% of unsaturated edible oils. The acute oral toxicity test did not show adverse reactions in the animals used.

Key words: *Tenebrio molitor*, larvae, acute oral toxicity.

INTRODUCCIÓN

Los insectos, por lo general, son estudiados a causa de los problemas que provocan en la sociedad. Pero rara vez se pone atención a los aspectos benéficos de los mismos. Existen comunidades que los emplean como alimento, tal es el caso de algunos pueblos mexicanos y africanos, que practican la entomofagia; desafortunadamente, el consumo de insectos se asocia a costumbres insanas; estos tabúes no toman en cuenta los atributos nutritivos que los insectos poseen, como su alto contenido de proteínas de alto valor biológico, de elevada digestibilidad y de grasas insaturadas^{1,2}.

Los escarabajos tienen un ciclo biológico de cuatro fases: huevo, larva, crisálida y adulto. En vida silvestre este ciclo varía de 6 a 12 meses, dependiendo de parámetros físicos ambientales³.

En la etapa larval se observa una cutícula algo endurecida que cambia a medida que la larva crece. El tamaño puede alcanzar los 3 cm de largo por 2 mm de grosor y tener unos 0,35 g de

^a Dpto. de Química, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Avenida Honorio Delgado 430. Lima 31, Perú.

* graciela.untiveros@upch.pe

peso antes de convertirse en crisálidas. Las larvas tienen que sufrir una metamorfosis, acumulando grasa para superar este proceso. Esta es la etapa más importante, ya que si no logra transformarse en crisálida, nunca se obtendrá el insecto maduro. Sólo el escarabajo es capaz de reproducirse; su tamaño adulto va desde los 1,5 cm hasta los 2,5 cm de largo; a los 7 días la hembra puede poner huevos. Los escarabajos y las larvas pueden comer hojas; también material descompuesto y granos almacenados; no necesitan de mucha agua; obtienen el agua necesaria del alimento³.

La mayor fuente de aceite comestible está constituida actualmente por las semillas de las plantas anuales, tales como el lino, soya, cacahuete, etc. Algunas de estas plantas, en especial el ricino y las variedades oleaginosas del lino, se cultivan solamente por su aceite; otras, por ejemplo la soya y el cacahuete, producen semillas que se usan ampliamente como alimento. En el caso de algunas otras plantas oleaginosas, tales como el algodón y maíz, el aceite es meramente un subproducto de una cosecha, que se obtiene con otra finalidad, como objetivo primordial.

El objetivo general de este trabajo consiste en extraer y determinar si el aceite de las larvas del *Tenebrio molitor*, en su etapa larval, es comestible de tal forma que permita compararlo con otros aceites comestibles existentes en el mercado.

Los objetivos específicos están en:

- Determinar el contenido de aceite de las larvas del *Tenebrio molitor* en base seca y su composición por cromatografía de gases.
- Realizar análisis fisicoquímicos del aceite para su caracterización.
- Comparar su composición y propiedades fisicoquímicas con los de otros aceites comestibles.
- Evaluar la toxicidad oral aguda del aceite de larvas de *Tenebrio molitor*.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales y métodos

Se trabajó con larvas del insecto *Tenebrio molitor* L., obtenidas del Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales de la Dra. Magdalena Pavlich, de la Facultad de Ciencias de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Se colocaron en envases plásticos de dimensiones: largo 24 cm, ancho 16 cm y altura 10 cm, las larvas, crisálidas, huevos e insectos en diferentes envases.

Se colocó 30 larvitas en cada envase y se observó que el crecimiento era más rápido; en esta fase se consume mucho alimento por lo que se debe revisar periódicamente; de ser necesario se procedía a cambiar el alimento. También se debe revisar con atención, ya que se deben retirar las mudas.

El alimento fue molido pasando el mismo a través de una malla de 600 μ ; la composición fue: harina 25%, alimento para pollos 25%, salvado de trigo 25%, avena 25%.

Cuando las larvas ya tenían un tamaño adecuado fueron retiradas del recipiente y sometidas a un choque térmico con agua hervida; se pusieron en envases que se colocaron en el congelador; esto permitió conservar las larvas.

Para la determinación de grasa se pesaron 40 gramos de muestra seca, se realizó la extracción con hexano durante unas 5 a 6 horas en un equipo Soxhlet, se pesó el balón para determinar el porcentaje de grasa.

Se procedió a determinar las propiedades fisicoquímicas que caracterizan al aceite:

- Para determinar la gravedad específica se utilizó un picnómetro con una capacidad de 10 mL a 20°C; se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Gravedad específica} = \frac{(\text{Peso de picnómetro} + \text{muestra}) - (\text{Peso de picnómetro})}{(\text{Peso de picnómetro} + \text{agua}) - (\text{Peso de picnómetro})}$$

- Para determinar el **Índice de refracción** se colocó unas gotas del aceite con una pipeta en el prisma inferior del refractómetro Abbe a 20°C.
- Determinación del **Índice de saponificación**: se pesó 5 g de aceite en un matraz de 250 mL de capacidad. Se añadió 50 mL de la solución etanólica de KOH y se sometió a reflujo suavemente hasta que se completó la saponificación (unos 30 minutos). Se enfrió y se tituló el exceso de álcali con HCl 0,5N; se hizo una determinación en blanco.

$$\text{Índice de saponificación} = \frac{(\text{Título blanco} - \text{Título muestra}) \times 0,5 \text{ eq/L} \times 56,1 \text{ g/eq}}{\text{Peso muestra (g)}}$$

Determinación del **Índice de yodo** (Método de Wijs): se pesó 0,50g de aceite en un erlenmeyer de 250 mL con tapa y se agregaron 10 mL de tetracloruro de carbono, 25 mL de solución de Wijs, se agitó suavemente y se dejó reposar en lugar oscuro durante 30 minutos. Se agregaron 10 mL de KI al 15 %, luego se agregó 100 mL de agua destilada. Se tituló lentamente con solución valorada $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N hasta casi decoloración de la solución; se añadió unas gotas de almidón al 1 % y se continuó la titulación hasta la desaparición del color azul; se hizo una determinación en blanco.

$$\text{Índice de yodo} = \frac{(\text{Título del blanco} - \text{Título muestra}) \text{ mL} \times \frac{\text{eq}}{\text{L}} \times \frac{127 \text{ g}}{\text{eq}} \times \frac{\text{L}}{\text{eq}} \times \frac{100}{1000 \text{ mL}}}{\text{Peso de muestra (g)}}$$

- Determinación del **Índice de acidez**: se pesó 10 g de muestra y se disolvió en 50 mL de etanol neutro caliente. Se tituló la muestra con NaOH 0,1N usando fenolftaleína como indicador, hasta color débilmente rosa que debe persistir durante 30 segundos.

$$\text{Índice de acidez} = \frac{(\text{Volumen de NaOH}) \text{ mL} \times 0,1 \text{ eq/L} \times 1 \text{ L}/10^3 \text{ mL} \times 282 \text{ g/eq} \times 100}{\text{Peso de muestra (g)}}$$

-Determinación del **Índice de peróxidos**: se pesó 5 g de muestra en un erlenmeyer de 250 mL con tapa esmerilada. Se agregó 30 mL de cloroformo / ácido acético (1:3), 0,5 mL de solución KI saturada, se agitó, se agregaron 30 mL de agua y se tituló el yodo liberado con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N hasta decoloración; se agregaron 0,5 mL de solución de almidón y se terminó la titulación cuando desapareció el color azul.

$$\text{Índice de peróxidos} = \frac{\text{Volumen } \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 (\text{mL}) \times \text{N (meq)} / \text{mL}}{(\text{Peso de muestra}) \text{ g} \times \frac{1 \text{ kg}}{1000 \text{ g}}}$$

- **Cromatografía de gases.** Las condiciones fueron: la temperatura del detector (280°C). Temperatura del inyector (250°C). La temperatura del horno (140°C) por 5 minutos; se aumentó la temperatura a razón de 40°C por minuto hasta 280°C y se mantuvo por 2 minutos. El flujo de gas carrier fue: 50 cm/seg - hidrógeno. Split: 1:200. El volumen de inyección fue de 1 uL. El tiempo de corrida fue de 60 minutos. La columna utilizada fue una Omegawax 100 de 15 m x 0,10 mm I.D., 0,10 um.
- **Toxicidad oral aguda.** El procedimiento se fundamenta en la norma OECD (Organisation for Economic Cooperation and Development) Test 401: Acute oral toxicity. Se utilizaron 30 ratones machos de cepa Balb/c. El rango de pesos fue de 28,8g – 30,8g. El control de los pesos se realizó por un periodo de 14 días.

Se dividieron en 6 grupos de 5 ratones cada uno. A 5 grupos se les inocularon 0,5 mL de aceite de larvas del *Tenebrio molitor* a diversas concentraciones (15,66g aceite /kg ratón, 14,93g aceite /kg ratón, 14,75g aceite /kg ratón, 14,7g aceite /kg ratón y 14,65 g aceite /kg ratón) y se tuvo un grupo control al cual se le administró aceite vegetal.

Las dosis ensayadas del aceite extraído de las larvas del *Tenebrio molitor*, se administraron mediante vía oral con una sonda nasogástrica. Los parámetros o signos clínicos evaluados fueron: piloerección, convulsiones, postración y alteración de la actividad motriz.

Al final de la prueba se procedió al sacrificio de los animales por dislocación cervical para realizar la disección y posterior comparación de los órganos (hígado y riñón) de los ratones de los grupos a las dosis ensayadas con los del control.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados del análisis organoléptico

Tabla 1. Análisis organoléptico del aceite de las larvas del *Tenebrio molitor*

Características	Aceite extraído de las larvas del <i>Tenebrio molitor</i>
Estado	Líquido
Consistencia	Oleoso
Olor	Ligeramente a maní. Exento de rastros del solvente empleado.
Color	2,5 color ASTM (norma utilizada ASTM D1500-98)
Sabor	Suave
Impurezas visibles	No lleva partículas extrañas en suspensión

Tabla 2. Índices obtenidos del aceite crudo de las larvas del *Tenebrio molitor*

Índice	Promedio	Límites para aceites comestibles refinados en gener:
Gravedad específica	0,9076	Norma técnica venezolana Límites: 0,914-0,920
Índice de refracción	1,4715	Norma técnica venezolana Límites: 1,465-1,467
Índice de saponificación	192,2	Norma técnica venezolana Límites: 182-193
Índice de acidez	1,64	Norma técnica peruana Límite: Menor a 0,2%
Índice de yodo	89,2	Norma técnica venezolana Límites: 110-126
Índice de peróxido	2,3	Norma técnica peruana Límite: No mayor a 5meq/k

Tabla 3. Comparación de índices de aceite de larvas de *Tenebrio molitor* con otras fuentes de aceites.

Índices	Fuentes							
	Tenebrio molitor	Oliva	Soya	Suri	Palta	Tarhui	Aguaje	Ungurahui
Gravedad específica	0,9076	0,9148	0,922	0,9052	0,9202	0,8967	0,9126	0,9150
Índice de refracción	1,4715	1,469	1,476	1,4527	1,4657	1,46 91	1,466	1,464
Índice de saponificación	192,2	192,4	195	192	192,8	178,4	194,82	192,21
Índice de acidez	1,64	1	1	4,780	0,5	1,64	5,22	2,07
Índice de yodo	89,2	75-94	118	43,2	109,8	94,80	66,6	77,27
Índice de peróxido	2,3	1,5 máx	1,5 máx	3,290	3,52	11,0	4,61	2,49

Tabla 4. Cromatografía gaseosa del aceite de las larvas de *Tenebrio molitor*

Código GC	Cali669		
Fecha	20.11.09		
Método	FAMES/Trans		
Muestra	Aceite procedencia animal		
Solic	127		
C n:m	%		
C8:0	0		
C10:0	0		
C12:0	0,26		
C14:0	3,69		Otros
C16:0	14,98		C14:1 0,28
C16:1	3,73		C15:0 0,25
Suma C16	18,71		C15:1 0
C 18:0	2,54		C17:0 0,35
C18:1	51,33		C17:1 0,12
C18:2	22,47		
C18:3	0		
Suma C18	76,34		
C20:0	0		
C20:1	0		
C22:0	0		
Suma C 20	0		
Saturados	22,07		
Monoinsaturados	55,46		
Poliinsaturados	22,47		

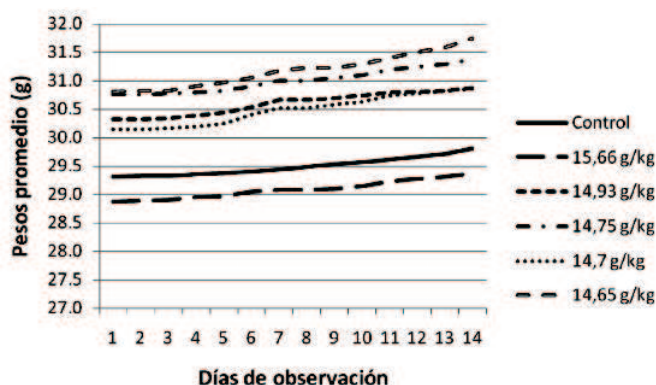


Figura 1. Pesos promedio de ratones durante el periodo de observación de 14 días

En la tabla 3 se puede comparar varios índices del aceite de las larvas del *Tenebrio molitor* con los de otros aceites. El índice de saponificación del aceite de las larvas del *Tenebrio molitor*, cuyo valor es de 192,2 mg KOH/g de grasa es muy similar al de aceite de oliva, cuyo valor es de 192,4 mg KOH/g de grasa. El índice de yodo del aceite extraído a partir de las larvas del *Tenebrio molitor* presenta un valor de 89,2 gI/100 g de grasa; el de oliva se encuentra en un rango comprendido entre 75 a 94 gI/g de grasa.

Al comparar el índice de acidez del aceite de las larvas del *Tenebrio molitor*, éste presenta un valor de 1,64%; este valor es mucho menor al de suri (4,780%), aguaje (5,22%), ungurahui (2,07%) y a los de oliva y soya, los cuales después de ser refinados, en teoría, deben estar en un valor menor al 1%.

El índice de peróxido del aceite de las larvas del *Tenebrio molitor* es de 2,3 meq O_2 /kg de grasa, menor al aceite de ungurahui (2,49 meq O_2 /kg de grasa), aguaje (4,61 meq O_2 /kg de grasa), palta (3,52 meq O_2 /kg de grasa), tarhui (11,0 meq O_2 /kg de grasa); es mayor a los valores de los aceites de oliva y soya (en teoría deben ser 1,5 meq O_2 /kg de grasa máximo al envasar); estos aceites han pasado por el proceso de hidrogenación, en el que el hidrógeno se adiciona directamente a los puntos de insaturación por lo que se aumenta la estabilidad del aceite a la oxidación.

Podemos apreciar en la tabla 4 que el aceite obtenido a partir de las larvas de *Tenebrio molitor* presenta lo que se busca en un aceite y que lo hace atractivo para consumir: presenta ácidos grasos insaturados (monoinsaturados y poliinsaturados) en un porcentaje que alcanza un total de 77,93%, lo cual ayuda a conservar un buen estado de salud, descendiendo los niveles del llamado “colesterol malo”.

Si apreciamos los valores como resultado de la cromatografía del aceite proveniente del *Tenebrio molitor* con el de oliva se observa lo siguiente:

Ácido graso	<i>Tenebrio molitor</i>	Oliva
18: 1 Ácido oleico	51,33%	49,5%
18: 2 Ácido linoleico	22,47%	22,9%

Lo expuesto líneas arriba confirma la similitud de la composición del aceite obtenido a partir del *Tenebrio molitor* con el de oliva.

Además, si observamos lo que corresponde a la cromatografía realizada al aceite extraído a partir de las larvas del *Tenebrio molitor*, no se observa la presencia del ácido erúico (22:1). Este es nocivo para la salud ya que afecta el crecimiento de las personas que lo consumen, razón por la cual el aceite de colza, que lo presenta en su composición, fue retirado del mercado en Chile.

El ensayo de toxicidad oral aguda demostró que no ocasionó efectos adversos en los ratones de estudio. Se determinó que la dosis letal media era $DL_{50} \gg 15,6$ g de aceite de larvas de *Tenebrio molitor* /kg de ratón.

También se puede observar, en la figura 1, que los ratones experimentaron un aumento de peso al ser inoculados con el aceite de larvas de *Tenebrio molitor* con respecto al control. El aceite de larvas de *Tenebrio molitor*, de dosis 14,65 g aceite/kg ratón, mostró un incremento de peso de 3,05 %, el cual es muy superior al del control que fue de 1,67%. Se puede apreciar, en la figura 1, que se muestra una tendencia ascendente de los pesos en función del tiempo.

CONCLUSIONES

- El porcentaje de grasa obtenido en base seca de las larvas del *Tenebrio molitor* es de 38,44%.
- El aceite extraído a partir de las larvas del *Tenebrio molitor* presenta 51,33% de ácido oleico y 22,47% de ácido linoleico lo cual lo hace una alternativa interesante para consumo.
- El aceite extraído a partir de las larvas del *Tenebrio molitor* presenta ciertos valores similares con los del aceite de oliva, en lo referente a sus índices y cromatografía.
- El aceite extraído a partir de las larvas del *Tenebrio molitor* no presenta el ácido erúico, el cual es dañino para los consumidores.
- El valor de dosis letal media de la prueba de toxicidad oral aguda del aceite de las larvas de *Tenebrio molitor* es: $DL_{50} \gg 15,6$ g de aceite de larvas de *Tenebrio molitor*/kg ratón.

AGRADECIMIENTOS

Al Departamento de Química de la Facultad de Ciencias y Filosofía de la Universidad Peruana Cayetano Heredia por su apoyo en el desarrollo del proyecto, al facilitarnos los ambiente de laboratorios. En especial, a los alumnos que participaron activamente durante la ejecución del proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aullah, M. "Recopilación de noticias sobre insectos comestibles con comentarios personales y recetas culinarias". Editorial Graellsia, México, 1993, 226-237.
2. Sánchez, P.; Jaffe, K.; Hevia, P. "Consumo de Insectos" . *Boletín Entomología, Venezuela*, 1997, 12(1), 125-127.
3. Damborsky, M.; Sandrigo, T.; Oscherov, E. "Ciclo de vida del *Tenebrio molitor* (Coleóptera: Tenebrionidae) en Condiciones Experimentales". Editorial Mc Graw Hill Interamarericana, México, 1998, 46-67.
4. Balcázar, C. ; Barboa, J. "Caracterización Química y Nutricional del insecto *Tenebrio molitor* L. en estado larval". Editorial Universidad de Sonora, México, 2003, 65-86.
6. Ramos, J.; Avila, E.; Rocha, A. "The use of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) to recycle organic wastes and their use as feed for Broiler Chickens". *Journal of Entomology*, 2002, 95 (1), 214-220.
7. Hinton, H.; Corbet, A. "Insectos Comunes de Productos Alimenticios Almacenados". Editorial Alambra, México, 2001, 47-52.
8. Matissek, R.; Schnepel, F.; Steiner, G. *Análisis de los Alimentos*. España. Editorial Acribia S.A.; 2006, 416 p.
9. Badui, S. "Química de los alimentos". 3ª edición. Editorial Wesley Longman, México, 1999, 624-636
10. Lawson, H. *Aceites y Grasas Alimentarios*. España. Editorial Acribia S.A.; 2004, 333 p.
11. Skoog, D.; Holler, J.; Nieman, T. *Principios de Análisis Instrumental*. 5ª Edición. España. Mc Graw Hill.; 2001, 1028 p.

INFORMACIONES

A. De la Sociedad Química del Perú

XXV Congreso Peruano de Química

Este congreso tuvo lugar durante los días 14, 15 y 16 de octubre pasado. Se llevó a cabo en el Centro Cultural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Se contó con la participación de conferencistas peruanos y de otros países.

La presentación de trabajos de investigación se hizo en paneles, y se dictaron varios cursos sobre temas de actualidad de la Química. La clausura tuvo lugar el sábado 16, en la tarde. Durante la misma se rindió homenaje a la Sociedad Química del Perú, a sus fundadores y otros socios notables, pues su aniversario es el 17 de octubre, y es alrededor de esta fecha que se organizan los congresos de Química.

Durante la ceremonia tomaron la palabra diferentes oradores. Fueron notables las intervenciones del Dr. Quím. Mario Ceroni Galloso, presidente de este congreso, y la Ing. Quím. Flor de María Sosa Masgo, presidenta de la Sociedad Química, quien dirigió el siguiente discurso:

Esta noche nos encontramos reunidos por dos motivos principales. Primero, para dar por finalizado el XXV Congreso Peruano de Química, cuyo excelente desarrollo tanto en conferencias, como mesas redondas y la exposición de trabajos en paneles, ha cumplido con las metas que el Comité Organizador planteó en un inicio. En segundo lugar, mañana, 17 de octubre, la Sociedad Química del Perú (SQP) cumplirá 77 años de vida institucional, gracias a un grupo de pioneros que tuvo la idea de fundar una institución que agrupase a los químicos del Perú. Esta primigenia idea, propuesta por el Dr. Fortunato Carranza y el Dr. Víctor Cárcamo fue acogida inmediatamente; y, es así que, el 7 de octubre de 1933 se sentó la primera acta de la nueva institución científica, convocándose a una reunión oficial y pública el 17 de octubre, fecha en la cual se constituye la “Asociación de Químicos del Perú” según reza el acta de fundación. Luego de varias reuniones donde se discuten y aprueban los estatutos, el 5 de diciembre de 1933, el Consejo Directivo realiza su primera sesión siendo presidida por el Dr. José Rafael De La Puente. A lo largo de sus casi ocho décadas de vida fructífera al servicio de la química, la SQP ha organizado:

- 25 Congresos Peruanos de Química.
- 2 Congresos Latinoamericanos de Química.
- 2 Congresos Iberoamericanos de Química.
- 1 Congreso Sudamericano de Química
- 10 Jornadas Peruanas de Bromatología y Nutrición.
- 7 Jornadas Peruanas de Bioquímica.
- 5 Jornadas Peruanas de Fitoquímica.
- 2 Jornadas Peruanas de Fisicoquímica.
- 10 Simposios Peruanos de Educación Química.
- 2 Simposios de Química y Medio Ambiente.

Además, ha desarrollado otros muchos eventos científicos; entre ellos:

- Foros Nacionales de Educación Química.
- Simposios Nacionales de Química e Ingeniería Química.
- Cursos y seminarios en las diferentes especialidades de la Química.
- Conferencias en los “Jueves Científicos”.
- 15 Olimpiadas Peruanas de Química, con participación en las Olimpiadas Iberoamericanas.

Por otro lado, el próximo año ha sido declarado el “Año Internacional de la Química”, por las Naciones Unidas, a iniciativa de la IUPAC y la UNESCO, que bajo el lema “La Química: nuestra vida, nuestro futuro”, busca:

- Incrementar la apreciación pública de la Química como herramienta fundamental para satisfacer las necesidades de la sociedad.
- Promover el interés por la Química entre los jóvenes, y generar entusiasmo por el futuro creativo de la misma.

Del mismo modo, el año 2011 coincide con el centenario del Premio Nobel de Química otorgado a Marie Curie, y de la fundación de la Asociación Internacional de Sociedades Químicas. La conmemoración enfatizará la contribución de la Química como ciencia creativa esencial para mejorar la sostenibilidad de nuestros modos de vida y para resolver los problemas globales y esenciales de la humanidad.

Enmarcada dentro de las actividades que durante sus 77 años ha estado desarrollando la SQP, nuestra institución estará presente en ellas, realizando las propias y proponiendo la agenda de los eventos que se realizarán en los diferentes centros de educación, ya sea en universidades o diversas instituciones educativas a nivel nacional.

Por lo tanto, invitamos a todos ustedes a enviarnos sus propuestas de eventos para considerarlos en dicha agenda.

Las metas propuestas por la IUPAC para las celebraciones del Año Internacional de la Química, en una acertada coincidencia, no hacen sino confirmar la visión de futuro que tuvieron los miembros fundadores de la SQP. He señalado algunos de los aspectos que enfatiza nuestra institución, y este nuevo aniversario es también un día de meditación, de recuerdo permanente y de homenaje y gratitud para todos los que dieron su conocimiento, su tiempo y esfuerzos desinteresados, sin los cuales no hubiera sido posible llegar a la posición de institución respetable, como es considerada hoy en día.

Siendo el principal componente del desarrollo el capital humano, y siendo la solidez de la Sociedad Química del Perú la calidad de sus miembros, invitamos a todos los químicos jóvenes a esta su Institución, constituyendo equipos donde se conjuguen experiencia y juventud, lograremos así mayores realizaciones en la tarea de promover las Ciencias Químicas en nuestro país.

Antes de terminar, permítanme agradecer la labor de conjunto y el esfuerzo de este Comité Organizador del XXV Congreso Peruano de Química y QUIMITEC 2010, a quienes se debe lo alcanzado en este evento, cuyas conclusiones y recomendaciones se harán llegar al destino respectivo, y pedirles que sigamos trabajando más allá de la fatiga física, que lo hagamos con mística, con integridad y con ética.

Asimismo, vaya mi agradecimiento a todos los conferencistas extranjeros y nacionales por su magnífica contribución en el éxito de este Congreso.

Finalmente, a sus 77 años, nuestra Sociedad Química, ha asumido el compromiso de organizar el XXXI Congreso Latinoamericano de Química el año 2014. Los esperamos para aunar esfuerzos y conseguir logros notables.

Muchas gracias.

Conferencias de los “Jueves Científicos” en la Sociedad Química del Perú

- “Extracción de aceites esenciales”, dictada por el Ing. Pedro Romero y Otiniano, Docente de la Facultad de Química e Ingeniería Química de la UNMSM y de la Facultad de Ingeniería Química e Ingeniería Textil de la UNI, el día jueves 26 de agosto del 2010.
- “Actualización en análisis sensorial de alimentos: vinos y aceites”, dictada por Teresita Daroca Capell, Diplomada en Nutrición y Dietética Humana por la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Ramón Llull de Barcelona, el día jueves 16 de setiembre del 2010.
- “Plasmas y Microplasmas”, dictada por el Dr. Israel Jiménez Zapata, docente Asociado de Posgrado de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería, el día jueves 30 de setiembre del 2010.
- “Proceso del teñido con índigo sobre fibras de algodón”, dictada por el Ing. Félix Marco Antonio Carbajal Gutiérrez, docente de la Facultad de Química e Ingeniería Química de la UNMSM, el día jueves 7 de octubre del 2010.
- “Utilización del “Ring Puckering” en la investigación de la estructura molecular”, dictada por la Ms. Sc. Esther Juliana Ocola Torres, candidata al grado Doctor Ph. D. (especialidad físico-química) en la Texas A& M University, USA, el día miércoles 20 de octubre del 2010.
- “Aplicaciones de la Ciencia de los Materiales en la industria del cemento”, dictada por el Dr. José Luis Solís Véliz, Jefe de la División de Materiales de la Dirección de Investigación y Desarrollo del Instituto Peruano de Energía Nuclear, el día jueves 28 de octubre del 2010.
- “Proceso de cementación del cobre obtenido a partir de un mineral sulfurado del Complejo Marañón, Perú”, dictada por el Ing. Quím. Daniel Florencio Lovera Davila, Profesor Principal de la FIGMMG de la UNMSM (Pre y Post grado), Profesor Investigador del Instituto de Investigación IIGEO de la UNMSM, el día martes 23 de noviembre del 2010.

XXXI Congreso Latinoamericano de Química

La Federación Latinoamericana de Asociaciones Químicas – FLAQ, acordó otorgar la Sede del XXXI Congreso Latinoamericano de Química, a realizarse en el 2014, a la Sociedad Química del Perú. Por este motivo, expresamos nuestro profundo agradecimiento a los directivos de la FLAQ, y estamos seguros que nuestra experiencia en la realización de actividades científicas, será al determinante para el éxito que esperamos alcanzar, teniendo como consigna: superar los anteriores eventos, sensibilizar al público en general, difundir los avances de la investigación, contribuir al intercambio de experiencias y fortalecer la camaradería entre los países agremiados a la FLAQ.

2011 Año Internacional de la Química

La Sociedad Química del Perú, en el marco de la conmemoración del Año Internacional de la Química, ha programando una serie de actividades científicas, en las que se enfatiza la contribución de la Química al bienestar de la humanidad. En esta celebración se realizarán diferentes eventos, entre ellos, cursos para profesores del nivel de secundaria, “Ciclo de Conferencias” y el Foro: “La Ciencia y el Desarrollo Sostenible en el marco del Cambio Climático”.

Designación de la tesorera de la FLAQ

La Federación Latinoamericana de Asociaciones Químicas - FLAQ, durante la II Asamblea, realizada el pasado 28 de setiembre, en el marco del XXIX Congreso Latinoamericano de Química, realizado en Cartagena de Indias, Colombia, acordó designar en el cargo de Tesorera de la FLAQ, a la Ingeniera Química Flor de María Sosa Masgo, actual presidenta de la Sociedad Química del Perú.

Cena de Navidad

Como ya es tradicional, esta reunión tuvo lugar el viernes 10 de diciembre en nuestro local institucional. Contó con la asistencia de asociados, colaboradores y amigos. Hubo obsequios para todos los asistentes, gracias a las donaciones hechas por las instituciones y empresas protectoras de la Sociedad Química.

Sensibles pérdidas:

Con profundo pesar comunicamos el fallecimiento de los socios:

- Q. F. Dra. Luz Oyola de Bardales, socia vitalicia que formaba parte del actual Consejo Directivo de la Sociedad Química, acaecido el 31 de octubre del 2010.
- Ing. Quím. César Raúl Díaz Gonzales, socio activo. Formó parte del Consejo Directivo durante el periodo 2007 – 2009; nos dejó el 30 de noviembre del 2010.

La Sociedad Química del Perú expresa sus más sentidas condolencias a sus familiares y amigos por tan irreparables pérdidas.

¡Descansen en paz!

B. Otras informaciones

XIII Coloquio de Química del Cemento

La Asociación de Productores de Cemento (ASOCEM), celebró el XIII Coloquio de Química del Cemento, el martes 23 de noviembre en el Miraflores Park Hotel, Av. Malecón de la Reserva 1035, Miraflores.

VI Congreso Latinoamericano de Biología, Física y Química Ambiental

La Sociedad Química del Perú, en el marco del Año Internacional de la Química, está auspiciando el “VI Congreso Latinoamericano de Biología, Física y Química Ambiental”, a realizarse en Octubre del 2011 en la ciudad de Arequipa. Auguramos al Ph.D. José A. Villanueva Salas, Presidente del Comité, el mayor de los éxitos en el desarrollo de este importante evento.

Premio Graña y Montero a la Investigación en Ingeniería Peruana

Graña y Montero, invita a presentar candidatos mediante la presentación de trabajos de investigación al “Premio Graña y Montero a la Investigación en Ingeniería Peruana”. La convocatoria va desde el 22 de agosto del 2010 hasta el 22 de marzo del 2011. Este premio destaca el trabajo científico que vienen desarrollando los profesionales peruanos de la ingeniería, en búsqueda de soluciones creativas a los distintos retos que plantea el desarrollo de nuestro país y el rol importante que tienen las universidades y centros de investigación del Perú.

Felicitamos al Mg. Jorge Eduardo Loayza Pérez

Nuestra Institución, se complace en felicitar al Mg. Jorge Eduardo Loayza Pérez, destacado docente de la Facultad de QIQ de la UNMSM y Socio de nuestra Institución, por la invitación recibida del Centro Nacional de “Producción más Limpia y Tecnologías Ambientales” y la Organización de las Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial, para participar en el marco del Proyecto Chemical Leasing, en calidad de conferencista con el tema “Manejo de sustancias y residuos químicos”, que se realizó el 28 de octubre pasado en la ciudad de Bogotá, Colombia.

Premio Nacional Loreal –Unesco- CONCYTEC por la Mujer en la Ciencia

Felicitamos a la Dra. Ana María Muñoz Jáuregui, Presidenta de la Comisión de Actuaciones Científicas de nuestra Institución, por haber recibido recientemente el “Premio Nacional Loreal-UNESCO-CONCYTEC por la mujer en la ciencia 2010”, el pasado 22 de octubre último, en ceremonia convocada por Loreal Perú S.A, Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC) y la Comisión Nacional Peruana de Cooperación con la UNESCO.

CONCYTEC-PUCP organizaron el Taller Internacional “Planificación en comunicación para editores de Revistas Científicas”, durante los días 11 y 12 de noviembre pasado. Tuvo lugar en los ambientes de la Pontificia Universidad Católica del Perú.

Índice de Materias (Vol. 76 – Año 2010)

Actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de cuatro plantas medicinales y estimulación de la proliferación de fibroplastos.	73
Adsorción de plomo de efluentes industriales usando carbonos activados con H_3PO_4	165
Aislamiento del ácido úsnico de <i>Flavoparmelia caperata</i> y su determinación cuantitativa por espectroscopía UV, en diez líquenes.	389
Aislamiento y caracterización parcial de una enzima similar a trombina del veneno de la serpiente peruana <i>Bothrops atrox</i> , “jergón”.	156
Algunas propiedades cinéticas de una L- aminoácido oxidasa purificada del veneno de la serpiente peruana <i>Bothrops atrox</i> , “jergón”.	218
Análisis por espectroscopía UV y FTIR de macerados acuosos y alcohólicos de <i>Aloe vera</i> L. y <i>Aloe barbadensis</i> Miller. Interacción de sales inorgánicas.	242
Antocianinas, polifenoles, actividad anti-oxidante de sachapapa morada (<i>Dioscorea trifida</i> L. y evaluación de lipoperoxidación en suero humano.	61
A study of the complexation of picolinic acid derivatives with Cd^{2+} , Ni^{2+} and Zn^{2+}	7
Barnetobina; un nuevo principio coagulante purificado del veneno de la serpiente peruana <i>Bothrops barnetti</i>	261
Caracterización de bases de Schiff derivadas del 2-amino-fenol, usando RMN ID y 2D.	187
Carlos Chirinos Villanueva: Un impulsor de la ciencia y tecnología en el Perú.	302
Centenario del nacimiento del Maestro Juan de Dios Guevara Romero.	111
Cinética de la bioadsorción de iones $Cd(II)$ y $Pb(II)$ de soluciones acuosas por biomasa residual de café (<i>Coffea arabica</i> L.)	279
Contenido de alcaloides en corteza de <i>Uncaria tomatosa</i> (Wild) DC procedente de diferentes hábitats de la región Ucayali, Perú.	271
Contribución al estudio fitoquímico del líquen <i>Thamnolia vermicularis</i> Subsp. <i>vermicularis</i> S.STR.	322
Correlación entre la estructura cristalina y la Tc en un superconductor de óxido de cobre; el caso $CaLaBaCu_3O_4$	43
Cuantificación de taninos condensados en <i>Triplaris americana</i> L. (tangerana colorada)	138
Determinación de fenoles totales, fructanos y pungencia en seis cultivares de ajos (<i>Allium sativum</i> L.) en el Perú.	101
Dionisio Ugaz Mont. Recordando su obra a los diez años de su partida.	119
Editoriales	1,119,197,310
Efecto de la asistencia del líquido iónico [BMIM] $[BF_4]$ en la cristalinidad y la morfología de nanoestructuras del Sb_2S_3 sintetizadas por ultrasonido.	227

Effects of deposition period on the chemical bath deposited Cu ₄ SnS ₄ thin films	54
Estudio farmacognóstico, actividad antioxidante y toxicidad a dosis límite de <i>Triplaris americana</i> L. (tangarama colorada).	34
Estudio teórico de las propiedades estructurales y reactividad para los sistemas cis – y trans – 2R –butadieno (R=H,OH,NH ₂ y CN)	92
Estudio de la biosorción del ion oro (III) mediante quitosano cuaternario y quitosano cuaternario.	355
Estudio químico del aceite esencial de la fruta del <i>Mirinda citrifolia</i> Lineo (noni). ..	366
Evaluación de la purificación de biodiésel en la etapa final de producción.	25
Evaluación de los parámetros de rendimiento del método espectrofotométrico para la determinación de NO ₂ en el medio ambiente.	80
Evaluación preliminar de la actividad coagulante del veneno de la serpiente peruana <i>Bothrops bilineatus</i> (loro machaco).	131
Evaluación de metales pesados en el tóner usado en fotocopiadoras. Su relación con los trabajadores y medidas de mitigación.	179
Evaluación del contenido de fitoesteroles, compuesto fenólicos y métodos químicos para determinar la actividad antioxidante en semillas del sachu inchi (<i>Plukenetia volubilis</i> L.)	234
Extracción y caracterización del aceite en las larvas del <i>Tenebrio molitor</i>	407
Ozonización del antibiótico trimetoprim: Evaluación de la toxicidad durante la degradación.	149
Paper electrophoretic technique in the study of beryllium (II) – Cobalt (II) – proline binary complexes in solution.	293
Preparación de partículas de quitosano reticuladas con tripolifosfato y modificadas con polietilenglicol.	336
Relevancia del pH en la adsorción de iones metálicos mediante algas pardas.	123
Sensores basados en óxido de Fe dopado con Ag para la detección de sulfuro de hidrógeno.	199
Síntesis y caracterización de quitosano cuaternario nativo y reticulado en polvo.	313
Síntesis y caracterización de nanopartículas de ferrita de cobalto, obtenidas por el proceso sol-gel.	400
Sustitución parcial de harina de trigo (<i>Triticum aestivum</i> L.) por harina de kiwicha (<i>Amaranthus caudatus</i> L.) usando el método directo y esponja y masa, en la elaboración de pan.	377
Use of basic Methylene Blue Dye for specific surface area measurement of metal hexacyanoferrate (II) complexes.	330

Índice de Autores (Vol. 76 – Año 2010)

Acha de la C., Otilia	366	Díaz, Carlos	313
Aguilar, Yennyfert	199	Dietze, Frank	7
Alanota, Rosa	271	Dimínguez, Susana	123
Alarcón C., Hugo	336 , 400	Domínguez T., Gilberto	27
Ale B., Neptalí	242		
Alvarado – Ortiz U., Carlos	61,234	Elias P., Carlos C.	101
Amiel P., David	73	Enciso B., Nathaly	73
Amiel P., José	73	Enciso G., Javier	73
Anuar, Kassim	54	Espinoza C., Fernando W.	101
Apesteguía I., Alfonso	242		
Arruebo, Manuel	199	Feyjoo, J.	43
Astudillo, Luis	149	Fuertes R., César	34, 138
		Fukusaki Y., Alejandro	73
Barnett M., Edy	334		
Bendezú, Salvador	165	Garay C., Zoila	366
Berroa A., Heloína	80	García M., Juan de J.	271
Beteta A., Víctor	25	González, J.C	43
Beyer, Lothar	7	González, María J	7
Bhushan T., Brij	293 - 330	Gordillo R., Gloria	242
Bustamante, A.	43	Guija P., Emilio	73
		Guillén Z., María O.	179
Cahuana, Gladys	131	Guzmán L., Deysi	271
Cajaleón A., Delia	234		
Calle M., José L.	25	Ho, So M.	54
Camus, Juan	187	Hurtado, J.J.	92
Castañeda C., Benjamín	234		
Castillo, Liliana	25	Inga A., Rosalina	26
Castro M., Olivio N.	322 , 389	Inocente C., Miguel A.	34, 138
Ceroni G., Mario	6	Iparraguirre, Ernesto	313, 355
Césare C., Mary F.	25		
Chuquisengo, Llojan	400	Jacinto, Christian	313
Collantes D., Ingrit E.	366	Jurado T., Bertha	34, 138, 242
Condori de Z., Yolanda	80		
Cuizano, Norma A.	123	Lavado M., Carmencita	165
		Lazo, Fanny	156, 218, 261
De los Santos, L	43	León C., Juan J.	25
Delgadillo, Álvaro	149	Llanos, Bertha P.	123, 313, 355

Lock, Olga	304	Rodríguez H., Nadia	336
López M., Alcides	199, 336	Rodríguez B., Raquel	73
		Roque V., Wilfredo F.	279
Mamoun, Muhammed	7	Ruiz, Nora	156, 218
Manrique, Ángela	313, 355		
Martínez R., Katia	80	Saavedra N., Félix	242
Medina, Rosa	355	Salinas E., Juan P.	227
Mendoza F., Julio	261	Sánchez C., Eduardo	227
Mondragón T., Iris G.	34,138	Sandoval, Gustavo A.	131, 156, 218
Montes de Oca, Juan	400	Saravanan, Nagalingam	54
Muñoz, Ana M.	61,234	Solís, Christian	218
		Sosa M., Flor de M.	197, 416
Nagles, E.D.	92	Souza de, Amada	366
Navarro, Abel E.	123, 313, 355	Sun Kou, María del R.	165, 199
Neira L., Katia	73		
		Talavera N., María E.	179
Orellana, Andrea	187	Tan, Wee T.	54
Osorio, Ana M.	43	Taype E., Eveling del R.	34, 138
Osorio, Maribel	187	Thornton, Clint O.	330
Ostos F., Henry	34	Ticona Q. Juana	80
Pacheco T., Myriam E.	279	Untiveros B., Graciela	407
Pascual Ch., Gloria	377		
Pecho, R.H.	92	Valderrama N., Ana	336
Picasso, Gino	199	Valdez P., César	407
Pimentel F., Jorge P.	279	Valdivia, Elfer	73
Pino, R.H	92	Valles F., Luis	122, 310
Pumachagua, R.	92	Villaseñor, Jorge	149
		Vivas R., Dan	261
Quevedo G., Fernando	111	Yáñez, Jaime A.	61,234
Quispe, Cristina	149	Yarlequé, Armando	131,156,218,261
		Yarlequé, Mirtha	131
Ramos – Escudero, Fernando	61,234		
Reátegui A., Óscar	73		
Revilla C., Andrés	242	Zamorano, Sergio	187
Reyes, Úrsula F.	123	Zapata H., Joaquín	377
Ríos R., Elva M.	101	Zingali, Russolina B.	156
Rodríguez, Edith	13,156,218		

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

SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ

SOCIOS HONORARIOS

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)



2011

AÑO INTERNACIONAL
de la
QUÍMICA

La Química - nuestra Vida, nuestro Futuro