

ISSN 1810-634X

REVISTA de la SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ

REVISTA TRIMESTRAL

VOLUMEN 77 Nº 1
ENERO - MARZO 2011



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	:
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 Aránibar 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 77

ENERO - MARZO, 2011

N°1

En el Perú: N° suelto S/.15

Suscripción anual: S/. 60.00

En el extranjero: Suscripción anual: \$50.00

CONTENIDO

(Vol 77 N° 1 - 2011)

- *Editorial* 7

Trabajos originales

- Síntesis de catalizadores nanoestructurados basados en óxido de Mn, para la eliminación de n-hexano, por Gino Picasso, María del Rosario Sun Kou, Ivonne Salazar, Alcides López. 11
- Determinación de la estructura de bases de Schiff derivadas de 2 - aminofenol, nitro y fluor sustituidas, utilizando la RMN 1D y 2D, por Sergio Zamorano, Juan Camus. 27
- Preparación y caracterización de nuevos electrodos nanoestructurados de Ti/Co₃ O₄ – RuO₂, por A. La Rosa Toro Gómez, Miguel Ponce Vargas, Eduardo Medina. 35
- Evaluación de la actividad antioxidante “in vivo” de tres frutos de la amazonía: *Gustavia augusta* L., *Grias neuberthii* Macbr y *Theobroma bicolor*, por Dora García, Víctor Sotero, Dalva Mancini, Rosângela Pavan Torres, Jorge Mancini Filho. 44
- Contribución al estudio fitoquímico de la *Psiloparmelia distincta* (Nyl.) Hale, por Olivo Nino Castro Mandujano. 56
- Evaluación de la actividad antioxidante y compuestos fenólicos en pulpa y semillas de cuatro frutales amazónicos, de la familia Sterculiaceae, por Víctor Sotero, Martha Maco, Jorge Vela, Claudia Merino, Éricka Dávila, Dora García. 66
- Aprovechamiento agrícola del lodo generado en la PTAR de Puente Piedra - Lima, por Francisco Atencio, Jenny; Ramos Matías, Pedro; Aguirre Yato, Guillermo. 75
- Estudios preliminares acerca del cargado y liberación controlada del complejo cobre – metronidazol a partir de micropartículas de quitosano reticuladas con tripolifosfato, por Nathalie A. Sánchez López, Ana C. Valderrama Negrón, Clemente A. Luyo Caycho. 86

INFORMACIONES

- A.- De la Sociedad Química del Perú 95
- B.- Otras informaciones 97

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

Editorial

Rememorando a Robert Boyle (En el Año Internacional de la Química - 2011)

Nunca mejor que este “2011 - Año Internacional de la Química” para recordar a una de las grandes figuras que ayudaron a pasar de la Alquimia a la Química científica.

Robert Boyle nace el 25 de enero de 1627 en el castillo de Lismore, Irlanda, en una época en que el pensamiento contrario a Aristóteles o Paracelso era considerado algo así como “herejía científica”. Por entonces, todavía se consideraba que las sustancias estaban dotadas de personalidad, se amaban y odiaban. Galileo había sentado la base de la filosofía mecánica, lo cual dio otra visión a la ciencia. La gente de ciencia de esa época, trataba de explicar mecánicamente el funcionamiento de la naturaleza y se alejaba de las explicaciones ocultistas y místicas. La persona más representativa de esa filosofía mecánica fue Robert Boyle. No podría decirse que Boyle acabó con el predominio de la alquimia, ya que él, como otros de sus contemporáneos todavía aceptaban algunos conceptos de la misma. Por ejemplo, Boyle creía en la transmutación de los elementos, ya que en 1689 pidió al Parlamento británico eliminar una prohibición para hacer oro.

En 1654, terminados sus estudios en el King's College of Our Lady of Eton y viajado por Europa, Boyle se fue a vivir a Oxford; trabajó mucho con las bombas de aire y quedó prendado de los efectos del vacío. A los 30 años había diseñado varias bombas de vacío y máquinas neumáticas, pero no tenía talento para construirlas, por lo que contrató a un joven llamado Robert Hooke, quien las construía y hacía funcionar. Boyle quien se hizo llamar a sí mismo químico, tenía su laboratorio privado, contrataba asistentes y secretarías y daba becas a los jóvenes estudiantes.

Entre los más notables descubrimientos de Boyle podemos mencionar la ley que lleva su nombre y que todos los químicos conocemos bien, el de la comprensibilidad de los gases, que fue estudiada por él en 1661, para lo cual diseñó su famoso experimento. En un tubo en forma de J de más de 5 metros de longitud, que contenía un gas atrapado, vertía una cantidad determinada de mercurio. A más cantidad de mercurio añadido mayor era la presión sobre el gas y su volumen disminuía. Boyle fue el primero que estudió el efecto de la presión sobre el volumen de los gases. Observó que todos los gases se comportan igual al ser sometidos a cambios de presión, siempre que la temperatura se mantenga constante.

Gracias al diseño de Boyle y a la pericia de Hooke, pudieron construir un dispositivo de vidrio al que se le había extraído el aire y al colocar un pedazo de plomo y una pluma se observó que caían a la misma velocidad. Con este, ahora sencillo experimento, pero revolucionario para su época, Boyle se hizo famoso en Inglaterra y en Europa.

No todos los experimentos que hizo Boyle están descritos en los libros de texto. Motivado por la curiosidad realizó toda una serie de experimentos, desde los más simples hasta los más bizarros, algunos no muy apreciados por sus pares actuales. Se le ocurrió colocar un reloj al interior de un tubo de vacío; no se escuchó sonido del tic tac del reloj. En otra ocasión llevó a cabo experimentos para divertir a los visitantes de la corte, como en el que un hombre metía su brazo en un dispositivo y luego se extraía el aire; el brazo del hombre se hinchó horriblemente. En otros experimentos se metían pequeños animales, se hacía vacío y pacientemente se observaba qué pasaba. Una vez puso una avispa que no pudo volar por más esfuerzo que hiciese. En algunos experimentos los animales morían cuando el vacío duraba demasiado tiempo. Es memorable el episodio que protagonizó Hooke, quien construyó un recipiente de gran tamaño con una cara de vidrio y se metió al tubo mientras se extraía el aire. La bomba ese

día, como muchos otros, falló; Hooke sobrevivió y pudo contar luego que sintió dolor en los oídos y en el pecho.

Boyle llevó a cabo muchos experimentos realizando importantes contribuciones en el área de la química. Así, obtuvo un nuevo procedimiento para aislar el fósforo y realizó estudios con el aire y este elemento; estudió los ácidos, bases y sus indicadores; explicó el fuego usando la teoría corpuscular; realizó diversos experimentos de calcinación, estudió la combustión en el aire, obtuvo acetona por destilación de acetatos, aisló el alcohol metílico de la destilación de la madera, etcétera.

Escribió varios libros, unos 40, como *The Experimental History of Colours* escrito en 1664, *The Origin of Forms and Qualities* (1666), *New Experiments Touching the Relations between Flame and Air* (1672), *New Experiments to Make Fire and Flame Stable and Ponderable* (1673), *Reflections Upon the Hypothesis of Alkali and Acidum* (1675), entre otros. También escribió artículos científicos.

Boyle, junto con otros personajes, rompe abiertamente con algunas concepciones alquimistas. El libro escrito por él *The Sceptical Chymist* (*El Químico Escéptico*) apareció en Londres el año 1661, hace 350 años; está escrito en forma de diálogo entre partidarios de las viejas teorías y el químico escéptico Carneades (que obviamente era Boyle). Allí están argumentos de peso y convincentes donde las ideas aristotélicas, las de Paracelso y las alquímicas son puestas a discusión y, por supuesto, quedan mal paradas.

Boyle afirma que los elementos de Aristóteles (aire, fuego, agua y tierra), los tría prima (tres principios) de Paracelso (sal, azufre y mercurio) no eran los primeros ni más simples de los cuerpos, sino que están compuestos de corpúsculos o partículas más simples que poseen propiedades universales como: volumen, forma y movimiento. Algunas de estas ideas, años antes, ya habían sido expresadas por Joan Baptista van Helmont.

Obsérvese que el prefijo "al" de la palabra alquímico no figura en el título de Boyle, hecho ya realizado por Jean Béguin cuando en 1610 publicó *Tyrocinium Chymicum* (*El Principiante Químico*, donde el autor distingue las áreas del físico, médico y del químico. Esto es prueba que ya desde inicios del siglo XVII se reconocía al químico, como tal. Boyle también separó la química de la medicina, más concretamente de la farmacia, y luego de su contribución refutó la teoría de los cuatro elementos de Aristóteles, así como la teoría de los tres principios de Paracelso.

En el apéndice de *El Químico Escéptico*, Boyle señala algo importante: "que por elementos entiendo ahora lo mismo que aquellos químicos que, hablando sencillamente, llaman principios: a ciertos cuerpos primitivos y simples o perfectamente separados, que no están formados por otros cuerpos, ni unos de otros, y son los ingredientes que componen inmediatamente todos aquellos cuerpos perfectamente mixtos, y en los que últimamente éstos pueden descomponerse. Y me pregunto ahora si existe un cuerpo de este tipo que se encuentre de manera constante en todos y en cada uno de los que consideramos constituidos por elementos". Aquí Boyle explica lo que entiende por elementos, pero al final no afirma, sino que cuestiona la existencia de los elementos, fiel a su pensamiento escéptico.

Se ha postulado que Boyle es el fundador de la química moderna; su contribución más importante fue haber dado un extraordinario impulso a la química con una fuerte base experimental," el laboratorio es el lugar donde se demuestran los hechos, lo que Boyle denomina "matter of fact". También fue el primero en acuñar el término "análisis químico". Además, se dio cuenta que la química era importante para interpretar y comprender a la naturaleza, que puede ser estudiada por sí misma y separada de la farmacia o de la alquimia;

introdujo el método experimental químico riguroso y cuestionó la definición de elemento, diferenciándose de las contribuciones aristotélica, paracélsica y alquímica.

Robert Boyle fue uno de los fundadores del llamado Colegio Invisible, lo que después se denominaría la Royal Society. Debido a sus méritos científicos figuró en una lista muy selecta de 40 personas, primeros invitados a formar parte de esta prestigiosa institución. Fue, además, la segunda persona en convertirse en fellow. La Royal Society se constituye formalmente en 1660 en el Gresham College y Carlos II otorga la cédula real y legaliza a esa institución en 1662 que era un lugar extraño para la época, donde en las reuniones no se trataban ni discutían temas religiosos ni políticos; sólo ciencia. En esos años la Royal Society representaba una nueva filosofía y actitud científica, apoyada por la monarquía, algo sorprendente para la época.

Los biógrafos señalan a Boyle como delgado, alto, con un semblante pálido y escuálido, bondadoso, cortés, caritativo y quien, con su manera de ser, ganaba el aprecio y respeto de sus contemporáneos. Se dice que nunca ofendió a persona alguna. Fue también una persona religiosa, como lo prueban algunos libros que escribió sobre religión. Tanto por sus cualidades personales como por su aporte científico, Boyle es un buen ejemplo a quien honrar durante este año Internacional de la Química.

Mario Ceroni G.
Presidente

SÍNTESIS DE CATALIZADORES NANOESTRUCTURADOS BASADOS EN ÓXIDO DE Mn PARA LA ELIMINACIÓN DE n-HEXANO

Gino Picasso^{a*}, María del Rosario Sun Kou^b, Ivonne Salazar^a, Alcides López^a

RESUMEN

Se sintetizaron catalizadores nanoestructurados basados en óxidos de Mn por el método sol-gel y óxidos de Mn máscicos por el método de precipitación. Adicionalmente se prepararon catalizadores a base de nanopartículas (NP's) de óxido de Mn soportadas en bentonita (montmorillonita) por impregnación incipiente.

Antes de la calcinación se realizaron algunos análisis TEM a las muestras sintetizadas para observar el efecto peptizante del ácido acético. Las micrografías revelaron que la muestra preparada a partir del precursor nitrato de manganeso (0,06M) presentó la mayor monodispersión. Luego de la calcinación de las NP's, se realizó un estudio para evaluar el grado de dispersión obtenida por la acción peptizante del ácido acético. Las micrografías TEM de las muestras preparadas a partir de precursor nitrato revelaron que el efecto peptizante aumentó al incrementarse la concentración de ácido acético. El análisis XRD mostró que las muestras máscicas y las nanoparticuladas de óxido de Mn presentaron picos de difracción correspondientes a las especies Mn_2O_3 , Mn_3O_4 y MnO_2 con presencia mayoritaria de Mn_2O_3 y la espinela Mn_3O_4 . Finalmente, los óxidos de Mn nanoparticulados se incorporaron a la estructura de la bentonita purificada (montmorillonita) por impregnación incipiente.

Los óxidos de Mn máscicos y soportados fueron probados como catalizadores en la combustión de n-hexano en un reactor de lecho fijo. La muestra nanoparticulada soportada en bentonita mostró menor actividad que la del óxido de Mn puro, pero mayor respecto a la actividad obtenida con el soporte (arcilla bentonita) sin componente activo, debido posiblemente al grado de dispersión de las nanopartículas de óxido de Mn dentro de la estructura laminar de la bentonita de partida.

Palabras clave: Óxido de Mn nanoparticulado, sol-gel, bentonita, combustión de n-hexano

SYNTHESIS OF NANOSTRUCTURED CATALYSTS BASED ON Mn OXIDE FOR n-HEXANE ELIMINATION

ABSTRACT

Nanostructured Mn oxide based catalysts were synthesized by sol-gel method and corresponding bulk samples were prepared by precipitation procedure. In addition, some nanostructured samples based on Mn oxide supported on bentonite (montmorillonite) were prepared by incipient impregnation.

Prior to calcination, the system was submitted by TEM analysis in order to study the peptizing effect of acetic acid. The micrographs revealed that the sample prepared from

^{a*} Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Ingeniería,
Av. Túpac Amaru 210, Rímac, Lima- Perú, gpicasso@uni.edu.pe

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

nitrate precursor (0,06 M) achieved the highest monodispersion. After calcination of nanoparticles, TEM analysis has been performed in order to evaluate how extent the peptizing agent is able to disperse. TEM micrographs of samples prepared from nitrate precursor revealed that the peptizing effect increased with the concentration of acetic acid. XRD diffractograms of Mn oxide samples showed characteristic well-defined diffraction peaks associated to Mn species as Mn_2O_3 , Mn_3O_4 and MnO_2 with more relative intensive signals in Mn_2O_3 and Mn_3O_4 spinel. Finally, synthesized manganese oxide nanoparticles were incorporated into layered structure of purified bentonite (montmorillonite) by incipient impregnation.

Some essays with the unsupported and supported samples were performed for n-hexane combustion in a fixed bed reactor. Activity of bentonite supported sample was lower than its unsupported bulk sample counterpart; however the performance was higher than the corresponding to the support without active component probably due to more suitable structure position of nanoparticles into layered framework of starting bentonite.

Key words: Nanosized Mn oxide, sol-gel, bentonite, combustion of n-hexane

INTRODUCCIÓN

La eliminación total de los compuestos orgánicos volátiles (COV's), como n-hexano, sin generación de subproductos o intermedios de reacción, requiere de tecnologías altamente eficaces que garanticen su remoción a la menor temperatura posible con el subsiguiente ahorro energético. La combustión catalítica es una alternativa eficiente para el tratamiento de COV's respecto la incineración térmica debido fundamentalmente a: 1) las bajas temperaturas de operación, evitando de esta manera la contaminación secundaria, y 2) las altas conversiones alcanzadas en el proceso¹.

Para este trabajo, los óxidos de manganeso son, entre los compuestos metálicos de transición, los materiales más eficientes y amigables con el medio ambiente. Entre sus características más relevantes están: (i) La presencia de varios estados de oxidación, permitiendo una buena movilidad del oxígeno superficial. (ii) Suficiente estabilidad térmica. (iii) Presentan buena resistencia al envenenamiento por haluros, y (iv) poca volatilidad². Los óxidos de Mn presentan una estructura típica de la bertolita² con oxígenos lábiles en la red permitiendo al Mn actuar como agente reductor: $Mn^{2+}Mn^{3+}Mn^{4+}$ o como agente oxidante $Mn^{4+}Mn^{3+}Mn^{2+}$. Se ha mostrado también que los óxidos de Mn con estructura tipo espinela de valencia mixta (Mn_3O_4) han presentado mayor eficiencia como catalizador combustor que MnO_2 , Mn_2O_3 , debido posiblemente, a interacciones de intercambio electrónico en los orbitales "d" que controlan el paramagnetismo en el material^{3,4}. Dicho óxido mixto, Mn_3O_4 , ha sido empleado como un catalizador en diversas reacciones de oxidación y reducción; por ejemplo, en la oxidación de metano y de monóxido de carbono⁵ y en la reducción catalítica selectiva del nitrobenzeno⁶. Además, la aplicación catalítica del Mn_3O_4 se ha extendido para la combustión de compuestos orgánicos por ser catalizadores activos y estables a temperaturas entre 373 y 773 K⁷.

Catalizadores basados en otros óxidos, como Mn_2O_3 , han sido aplicados para remover monóxido de carbono y óxidos de nitrógeno de los tubos de escape de autos⁸ y como agente almacenador de oxígeno⁹. El óxido α - Mn_2O_3 (bixbita) ha sido usado como catalizador combustor ya que puede absorber oxígeno y actuar en una atmósfera oxidante, como semiconductores tipo "p"; ello debido a la posibilidad del catión Mn de tener diferentes estados de oxidación.

Varios estudios han mostrado que el método de preparación de catalizadores basados en óxidos de Mn, ya sea en forma pura¹⁰, soportada en arcillas modificadas con Al y Zr¹¹ y promocionada con metales alcalinos¹², tienen una gran importancia en la eficiencia de la reacción de combustión de los COV's. Sin embargo, la investigación sobre catalizadores basados en óxidos de Mn nanoparticulados para la combustión de COV's es bastante limitada, aunque se encuentran algunos trabajos relacionados con la preparación de nanocristales de óxidos de Mn puros¹³, soportados en sílica¹⁴ y como material dopante de óxidos de Sn¹⁵.

El objetivo de este trabajo está orientado a la obtención de catalizadores activos, térmicamente estables y selectivos hacia el CO₂. Con este fin, se han preparado catalizadores basados en óxidos de Mn máxicos y nanoparticulados soportados sobre bentonita que es una arcilla natural. El uso de la arcilla como soporte se debió a que podría lograrse una mejor dispersión de las nanopartículas del óxido de Mn sobre la estructura laminar de la arcilla lo que podría influir en el aumento de la eficiencia de la reacción de combustión de n-hexano. En este estudio, la elección del compuesto orgánico volátil (n-hexano) fue realizada considerando primero, su gran amplia aplicación como disolvente en la industria química y segundo, por el interés de reducir su concentración residual por debajo de los límites permisibles, en ambientes laborales cerrados. Este trabajo ha considerado también el estudio de la influencia que podía presentar la estructura cristalográfica de las muestras, el tamaño de la partícula y el rol de la bentonita como soporte en la actividad de los catalizadores.

PARTE EXPERIMENTAL

Preparación de las nanopartículas de óxido de Mn

Las nanopartículas (NP's) de óxido de Mn fueron sintetizadas por el método sol-gel¹⁶ mediante una hidrólisis forzada empleando un álcali, NaOH, que fue adicionado gradualmente a las soluciones de las sales precursoras de Mn empleadas en este trabajo: Mn (NO₃)₂ · 4H₂O (MERCK, 98,5%) y Mn (COOCH₃)₂ · 4H₂O (MERCK, 99,5%), respectivamente.

En ambos casos se usó NaOH_(ac) como agente precipitante empleando una relación molar estequiométrica de sal precursora:álcali de 1:2 con el objeto de producir una hidrólisis forzada del sistema y favorecer el proceso de nucleación. Para controlar la precipitación de los óxidos se utilizó una solución de ácido acético al 60% en volumen (agente peptizante) preparado a partir de ácido acético glacial (BAKER, 99,8%). La peptización se realizó a un pH comprendido entre 2,5 y 3,5; intervalo en el cual se obtuvo buena dispersión en todos los sistemas estudiados. La calcinación de todas las muestras se realizó con una velocidad calentamiento de 2°C por min y empleando la siguiente secuencia de calentamiento (rampa) a partir de la temperatura ambiental: 100°C por 30 min, luego 200 °C por 30 min y finalmente 300 °C por 2 h. Con fines de comparación se preparó una muestra máxica de óxido de Mn por precipitación a partir de un precursor nitrato y una solución amoniacal (PANREAC, solución amoniacal 14-15%), como agente precipitante.

Un compendio de las concentraciones de las soluciones precursoras, así como del volumen del agente peptizante y el pH final del proceso de peptización se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Condiciones de preparación de las muestras basadas en nanopartículas de óxido de Mn

Muestra	Precursor	[precursor] M	[NaOH] M	Volumen CH ₃ COOH 60% (mL)	¹ pH de peptización
Mn-nit1	Mn(NO ₃) ₂	0,01	0,09	16,7	3,13
				33,4	3,04
Mn-nit2	Mn(NO ₃) ₂	0,06	0,45	50	2,56
				33,3	3,40
				66,6	3,08
				100	2,89
² Mn-bulk	Mn(NO ₃) ₂	0,06	-	-	-
Mn-ace1	Mn(COOCH ₃) ₂	0,04	0,24	75	2,82
Mn-ace2	Mn(COOCH ₃) ₂	0,06	0,4	100	2,83
Mn-ace3	Mn(COOCH ₃) ₂	0,08	0,48	151	2,77

¹ Se estudió el crecimiento de las nanopartículas en las muestras Mn-nit1 y Mn-nit2, en base al pH final obtenido durante la peptización.

² Se utilizó solución amoniacal como agente precipitante.

Preparación de las muestras soportadas

Preparación y purificación de la arcilla

Se trabajó con una bentonita suministrada por la empresa Agregados Calcáreos (Perú) cuyos análisis previos mostraron que se correspondía con una arcilla sódica con alto contenido de montmorrillonita, de color pardo claro, con una capacidad de cambio catiónico (CEC) de 60 meq/100 g de arcilla seca. Posteriormente, este material fue sometido a diversos procesos de purificación (para eliminar impurezas como feldespatos, cuarzo, mica y materia orgánica), y sedimentación controlada para obtener la fracción montmorrillonítica pura menor de 2 micras.

Incorporación de las nanopartículas de óxido de Mn sobre la arcilla

La incorporación de las nanopartículas de óxido de Mn sobre la arcilla se realizó por impregnación; para ello se partió de una suspensión de arcilla (1g. de arcilla por 50 mL de agua destilada), a la cual se agregó en pequeñas proporciones la suspensión acidificada que contenía las nanopartículas de óxido de Mn; la mezcla fue mantenida bajo agitación constante a temperatura ambiente, evitando de esta manera la formación de grumos. La cantidad de arcilla por precursor se calculó manteniendo una relación constante de metal/arcilla de 4 mmol/g¹⁶. La mezcla se calentó hasta 35°C y se mantuvo en agitación con un tiempo de contacto de aproximadamente 24 h. Luego, el producto final obtenido fue filtrado y secado a 100°C por 30min. Finalmente, el material resultante se calcinó en las mismas condiciones que las muestras no soportadas.

Un compendio de las condiciones experimentales utilizadas en la preparación de las muestras soportadas se encuentra en la tabla 2.

Tabla 2. Condiciones de preparación de las muestras basadas en nanopartículas de óxido de Mn soportadas en bentonita

Muestra	Precursor	Concentración Precursor M	Peso de bentonita (g)	Volumen de agua (mL)
Mn-nit2/b	Mn(NO ₃) ₂	0,06	5	250
Mn-ace2/b	Mn(COOCH ₃) ₂	0,06	2,25	125

Caracterización y evaluación de la actividad catalítica

Los equipos empleados para realizar la caracterización textural (superficie específica- S_{BET} , tamaño de poros e isoterma de adsorción) fueron: Pulse Chemisorb 2700 y Micromeritics modelo ASAP 2000. En todos los casos se utilizó N₂ como adsorbato a la temperatura del nitrógeno líquido (-196 °C). Previo a la adsorción, las muestras fueron desgasificadas al vacío durante una noche a 200 °C.

El análisis estructural fue efectuado mediante difracción de rayos X (XRD) en un difractómetro de la marca Rigaku/Max System. El equipo está provisto de un ánodo rotatorio. Se utilizó un monocromador de grafito con el objeto de seleccionar la radiación CuK α del ánodo de cobre ($\lambda=1,5418 \text{ \AA}$) y se trabajó con ángulos de barrido entre 3 y 100°, a una velocidad de corrimiento de 0,04°/s.

Para determinar el tamaño de las nanopartículas se utilizó un microscopio electrónico de transmisión (TEM, transmission electron microscopy) Modelo Philips EM 300G que tiene un límite de resolución ideal para detectar nanopartículas en el rango 5 – 30 nm. La energía de los electrones fue de 80 KeV. El protocolo experimental aplicado a las muestras fue el siguiente: Se preparó una solución conteniendo las nanopartículas, la cual fue sometida a ultra sonido por 5 minutos y luego fue depositada sobre una rejilla especial para el microscopio electrónico que posee una membrana de soporte de parlodion para homogenizar la suspensión. El equipo fue calibrado usando nanopartículas de Au como muestra patrón.

Los ensayos para evaluar la actividad de los catalizadores en la combustión catalítica de n-hexano se llevaron a cabo en un reactor tubular de cuarzo de 8 mm de diámetro interno y 300 mm de longitud, introducido en un horno eléctrico que operaba a presión atmosférica. En todos los ensayos se cuidó de establecer las condiciones de reacción que garantizarán ausencia de resistencias difusionales (externa e interna) a la transferencia de materia. La posibilidad de formación de puntos calientes en el lecho catalítico fue reducido gracias a la dilución de la masa del catalizador (100 mg) con 200 mg de cuarzo pulverizado hasta el mismo rango de tamaño de partícula que el de los catalizadores (160 – 320 μm). Aproximadamente en el centro del lecho (de unos 10 mm de longitud), se insertó un termopar para la medida y el control de la temperatura de reacción.

Todos los ensayos se realizaron con una concentración inicial de n-hexano de 2000 ppmv en aire sintético (Praxair, 99,999%) y una velocidad espacial basada en la masa de catalizador y caudal total (WHSV) de 80 h⁻¹. El sistema experimental utilizado para la alimentación del compuesto orgánico volátil (n-hexano), así como el método de análisis ha sido descrito en trabajos previos^{17,18}.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización físico química de las muestras

Los catalizadores calcinados resultantes de diferentes condiciones de preparación fueron analizados por XRD para conocer la evolución de las fases cristalinas. En la figura 1 se presentan los difractogramas obtenidos con la muestra de óxido de Mn másico (Mn-bulk), nanoparticulado (Mn-nit2) y soportado en bentonita (Mn-nit2/b). Los difractogramas de las dos primeras muestras revelaron la presencia de picos de difracción correspondientes a las especies Mn_3O_4 , Mn_2O_3 y MnO_2 (fichas: JCDs 80-0382 para Mn_3O_4 , JCDs 33-0900 para Mn_2O_3 y JCDs 24-0735 para MnO_2), indicando que las condiciones de preparación de los catalizadores han conducido a la formación de un sistema multifásico que confirmó la naturaleza multivalente del Mn. En la figura 1 se observa, además, que los picos de difracción de mayor intensidad corresponden a las fases mayoritarias Mn_2O_3 y Mn_3O_4 , que confirma resultados obtenidos en trabajos previos^{18,19}.

La comparación de los difractogramas XRD de la muestra másica (Mn-bulk) con la obtenida de su homóloga nanoparticulada (Mn-nit2), muestra en el primero una mejor definición de los picos de difracción y un mayor tamaño de los granos cristalinos que refleja mayor crecimiento de las partículas en contraste con la muestra nanoparticulada (menos cristalina), posiblemente el menor tamaño de la partícula se debió a la presencia del peptizante que mitigó el crecimiento de grano luego de la etapa de nucleación.

El análisis XRD de la muestra soportada sobre bentonita (Mn-nit2/b) reveló la presencia de picos de difracción que correspondían a una arcilla esmectítica del tipo montmorillonita (fichas ASTM 13-259 y 29-1498), con presencia en bajas concentraciones de otros minerales huéspedes: muscovita, cristobalita que pueden estar presentes en la arcilla natural. No se ha observado en este último caso picos característicos al óxido de Mn, indicando probablemente que las partículas del óxido de Mn estarían dispersas en la estructura laminar de la arcilla y que el tamaño de las partículas fue lo suficientemente pequeño para no ser detectadas por la técnica XRD.

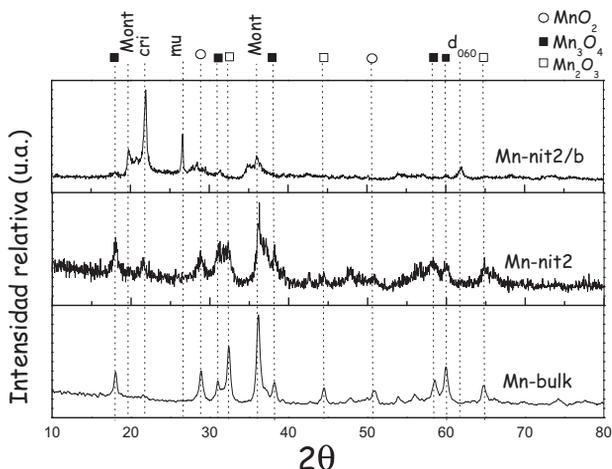


Figura 1. Difractogramas XRD de la muestra nanoparticulada Mn-nit2; másica Mn-bulk y soportada en bentonita Mn-nit2/b. Mont: montmorillonita, cri:cristobalita, mu: muscovita

En la figura 2 se presentan los difractogramas de las nanopartículas de óxido de Mn preparadas con diferente cantidad de sal precursora de acetato de Mn. Como se observa, las muestras con pequeñas cantidades de acetato (0,04 y 0,06 M) aparentemente no afectan la forma del perfil del difractograma; sin embargo, la muestra Mn-ace3 con mayor cantidad de acetato (0,08 M) presenta los picos mejor definidos, indicando una mayor cristalización del grano. Por tanto, se puede establecer que la mayor presencia de precursor acetato en la etapa de preparación mejora la formación de las diferentes fases del Mn, haciendo que la estructura sea más cristalina.

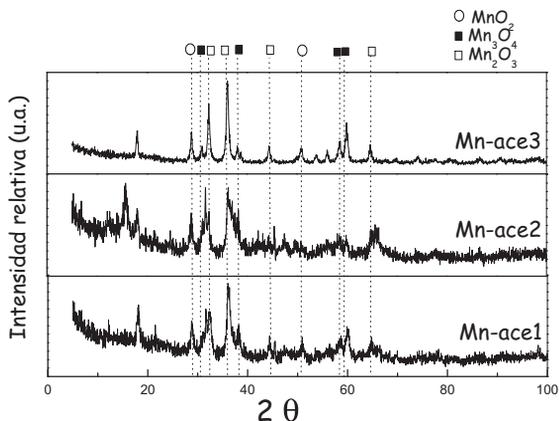


Figura 2. Difractogramas XRD de las muestras de óxido de Mn nanoparticulados preparados con diferentes concentraciones de sal precursora de acetato de Mn

En la figura 3 se comparan los difractogramas XRD de las muestras Mn-ace2/b y Mn-nit2/b, preparadas con diferentes sales precursoras y soportadas en bentonita. Como se observa, los difractogramas de las muestras Mn-ace2/b y Mn-nit2/b son similares al de la bentonita. De este análisis se puede inferir que el tipo de sal precursora de Mn usado en la síntesis de las NP's no ha modificado la estructura cristalográfica matriz de la arcilla de partida.

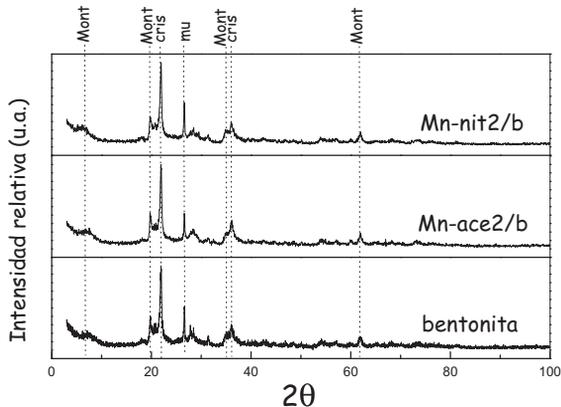


Figura 3. Difractogramas XRD de las muestras soportadas Mn-nit2/b, Mn-ace2/b y de la bentonita (sin componente activo)

Con el fin de evaluar la evolución del tamaño de las nanopartículas en solución durante la síntesis a partir del precursor de la sal de nitrato y previo a la calcinación de las muestras, se realizó mediante la técnica TEM (figura 4), un estudio del efecto peptizante del ácido acético evaluándolo en función al grado de dispersión y tamaño de las partículas.

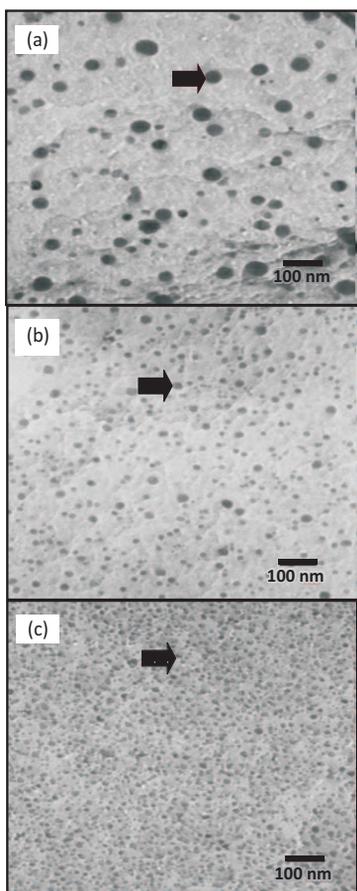


Figura 4. Micrografías TEM de la muestra Mn-nit2 no calcinada preparada con diferentes cantidades del agente peptizante y su correspondiente pH de la solución final a) pH=3,40 b) pH=3,08 c) pH=2,89

Como se observa en la figura 4, en el caso de la muestra Mn-nit2 no calcinada, el tamaño de partícula disminuye de 43 nm pasando por 23 nm hasta llegar finalmente a 17 nm cuando el pH de la solución fue de 3,40; 3,08 y 2,89, respectivamente; es decir, el efecto peptizante se incrementa con la formación de partículas más pequeñas al aumentarse la concentración de ácido acético. Se ha seleccionado la muestra Mn-nit2 frente a la muestra Mn-nit1 por la mayor monodispersión de partículas obtenida y por generar un menor tamaño promedio de las partículas dispersas con la adición del agente peptizante.

El tamaño de las partículas de los óxidos aumentó por efecto térmico hasta 50 nm (figura 5) después de realizada la calcinación de la muestra Mn-nit2 con pH=2,89 (figura 4c). Este tamaño se mantuvo también para las nanopartículas de óxido de Mn depositadas sobre la estructura de la bentonita (figura 6).

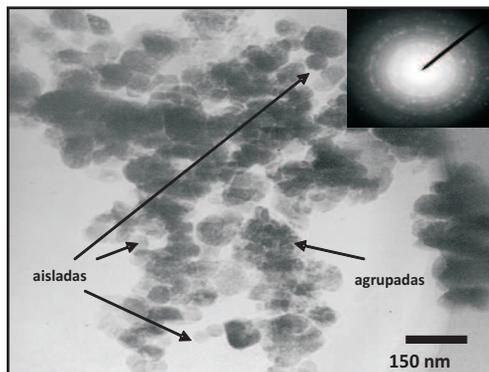


Figura 5. Micrografía TEM de la muestra Mn-nit2 preparada con agente peptizante a un pH=2,89 luego de la calcinación

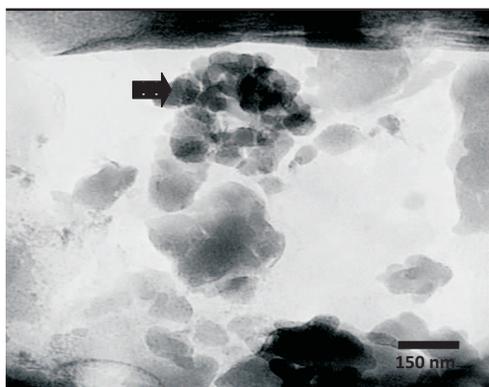


Figura 6. Micrografía TEM de la muestra Mn-nit2/b luego de la calcinación

En forma similar, se realizó el estudio de la evolución del tamaño de partícula en las muestras preparadas a partir del acetato de Mn después de la calcinación. Como se observa en las figuras 7, 8 y 9, el tamaño promedio de partícula crece de 15 nm en la muestra obtenida con 0,04 M de acetato de Mn, hasta aproximadamente 20-25 nm en la muestra con 0,06 M de acetato para finalmente crecer hasta 50 nm en la muestra preparada a partir de 0,08 M (comportamiento similar al obtenido por el ion nitrato).

Los resultados indican que el tamaño de partícula aumentó a medida que la concentración del acetato se incrementó, ello debido posiblemente a un menor control del proceso de la hidrólisis. Por tanto, el tamaño promedio de partícula de las muestras calcinadas preparadas a partir de la sal de acetato de Mn fue dependiente de la concentración del precursor.

Al comparar las micrografías TEM de las muestras Mn-nit2 con Mn-ace2 (figuras 5 y 8), ambas calcinadas y preparadas a partir de la misma concentración del agente precursor, se observa en el primer caso mayor monodispersión de partículas esferoidales en contraste con la polidispersión de partículas de forma no definida en las muestras preparadas con ion acetato, aunque ambos poseen en promedio un tamaño similar. Adicionalmente, se encontró que el ion nitrato presentaba una mayor capacidad para producir una hidrólisis más rápida, por ser mejor grupo saliente que el ion acetato. Por estas razones, en los ensayos de actividad para la combustión de hexano fue seleccionada la muestra preparada a partir de 0,06 M de nitrato de Mn (Mn-nit2) como catalizador.

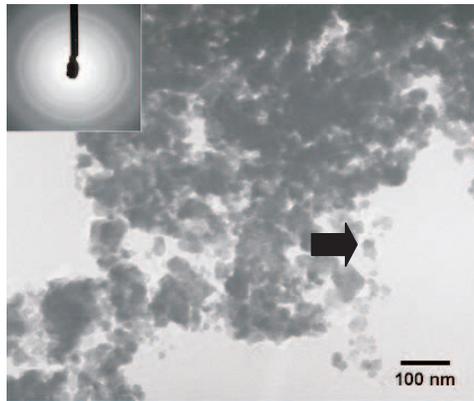


Figura 7. Micrografía TEM de la muestra Mn-ace1 luego de la calcinación con un tamaño promedio de partícula de 15 nm

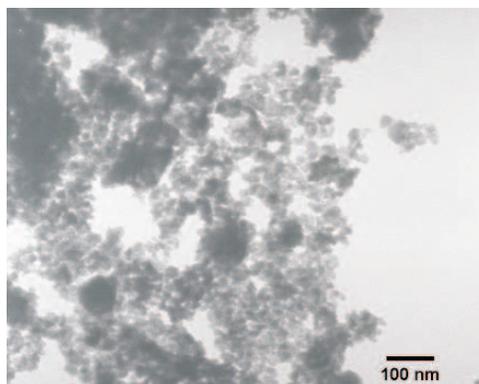


Figura 8. Micrografía TEM de la muestra Mn-ace2 luego de la calcinación con un tamaño promedio de partícula de 20 a 25 nm

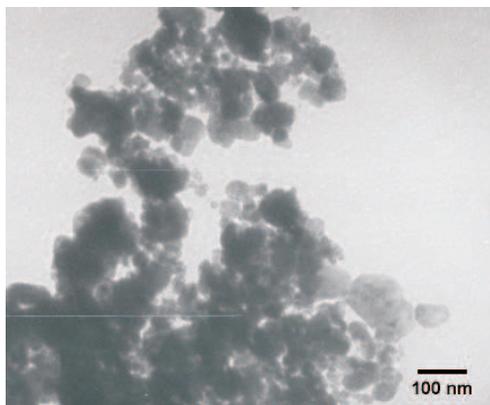


Figura 9. Micrografía TEM de la muestra Mn-ace3 luego de la calcinación con un tamaño promedio de partícula de 40 a 50 nm

Los valores de la superficie BET de las muestras nanoparticuladas calcinadas Mn-nit2 y Mn-ace2 y soportada en bentonita Mn-nit2/b se presentan en la tabla 3. Las muestras Mn-nit2 y Mn-ace2 no soportadas presentaron una isoterma típica correspondiente a una superficie mesoporosa de tipo IV (según clasificación de la IUPAC) y el ciclo de histéresis se asoció al tipo H1 correspondiente a poros cilíndricos. Todas las muestras presentaron muy poca microporosidad, en especial la preparada con acetato (Mn-ace2). La muestra nanoparticulada preparada a partir de precursor nitrato (Mn-nit2) presentó una superficie mayor respecto a la del acetato (Mn-ace2), por lo que constituyó un argumento adicional para su aplicación en los ensayos catalíticos. Por otro lado, la isoterma de la muestra soportada Mn-nit2/b también fue del tipo IV pero el ciclo de histéresis fue del tipo H3 correspondiente a un material mesoporoso con poros laminares (figura 10). Dicha muestra soportada también mostró tener mayor área superficial que las dos anteriores, lo que sería lógico considerando la estructura laminar de la arcilla de partida. Adicionalmente, en la tabla 3 se ha incluido los datos de la superficie específica del óxido de cobre (CuO) y del óxido mixto equimolar Cu-Mn preparados por coprecipitación a partir de precursor nitrato (obtenidos en trabajo previo²⁰), en este caso se observa que el sistema formado por el óxido mixto ha presentado mayor área superficial que los óxidos simples de Mn (Mn-bulk) y de Cu (CuO).

Tabla 3. Valores de las superficies específicas S_{micro} , S_{meso} y S_{BET} de las muestras nanoparticuladas másica y soportada en bentonita y de los óxidos de Mn y Cu

Muestra	S_{micro}	S_{meso}	$S_{\text{BET}}(\text{m}^2/\text{g})$
Mn-nit2	2,5	22,5	25,0
Mn-ace2	0,7	15,3	16,0
Mn-bulk	2,0	18,0	20,0
Mn-nit2/b	2,3	34,7	37,0
*CuO	-	-	4,5
*Cu-Mn	-	-	27,7

*Datos obtenidos en trabajo previo²⁰

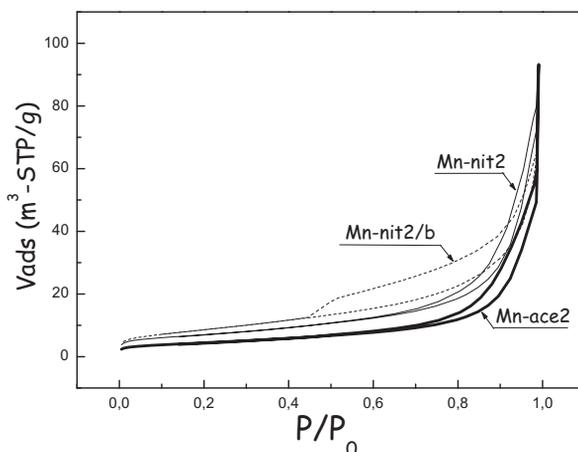


Figura 10. Isotermas de adsorción de las muestras Mn-nit2, Mn-ace2 y Mn-nit2/b después de calcinar

Estudio de la actividad catalítica en la combustión de n-hexano

Se realizaron algunos ensayos con óxido de Mn másico fresco (sin ensayo previo) para verificar la actividad y estabilidad del sistema en la combustión de n-hexano. Como se observa en la figura 11, la muestra de óxido de Mn luego de 24 h de contacto y mantenida a $T=240\text{ }^{\circ}\text{C}$ (correspondiente a 50% de conversión), presentó pérdida de actividad, evidenciado por el desplazamiento de la curva de ignición hacia temperaturas mayores. Después de 48 y 72 h de contacto, las curvas obtenidas fueron similares en esta muestra, comportamiento que también se observó en trabajo previo¹⁹ para un catalizador másico de óxido de Mn calcinado a $350\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 3 h.

Por otro lado, a pesar de que el catalizador presentaba una estructura conformada por diferentes fases o multifase (observado en los XRD de la figura 1), los ensayos de actividad han mostrado que pierde estabilidad debido posiblemente a procesos de sinterización y/o la formación de residuos carbonosos en la superficie del catalizador¹⁹. Es necesario resaltar que en este catalizador de Mn, la combustión completa de n-hexano se obtuvo a una temperatura menor de $300\text{ }^{\circ}\text{C}$ (figura 11), indicando que fue comparativamente más activo que un catalizador de cerio (CeO_2), un óxido también reducible y estudiado en trabajo previo para la misma reacción en la que se obtuvo temperaturas mayores a $300\text{ }^{\circ}\text{C}$ ¹⁹. La mayor actividad de los catalizadores de óxido de Mn se explica por las propiedades redox del Mn y la facilidad de almacenamiento de oxígeno en la estructura del óxido²⁰.

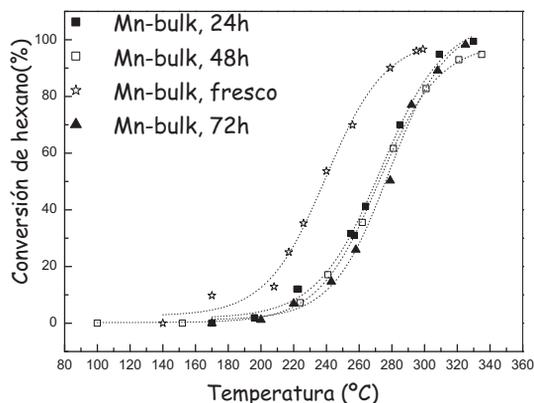


Figura 11. Curvas de ignición del óxido de Mn másico fresco y luego de 24, 48 y 72 h de contacto

Con fines comparativos se realizaron ensayos con el catalizador conformado por el sistema mixto equimolar Cu-Mn preparado en trabajo previo²⁰ para verificar el rol de la interacción Cu-Mn en el sistema mixto. La actividad de la muestra fresca Cu-Mn comparada con la obtenida a partir de catalizadores de óxidos simples fue mayor como se muestra en la figura 12. Esto revela el efecto sinérgico favorable del Cu con el Mn en la estructura del óxido, además de una mayor superficie específica del óxido mixto presente respecto a la de los óxidos simples (tabla 3).

A pesar que el sistema Cu-Mn pierde actividad después de un tiempo de contacto de 24 h a la $T = 220\text{ }^{\circ}\text{C}$ en atmósfera de reacción, ésta no es severa y comparativamente la muestra es más activa que los catalizadores análogos másicos basados en óxidos simples que estuvieron también 24 horas en atmósfera de reacción, como se observa en la figura 13. Se realizó otro experimento (no se muestran los resultados) a $T=345\text{ }^{\circ}\text{C}$ (95% de conversión) hasta el día siguiente y no se observó mayor desactivación.

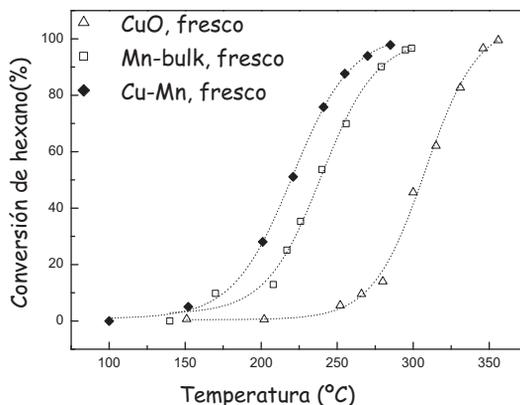


Figura 12. Comparación de la actividad del sistema equimolar Cu-Mn con la correspondiente a los óxidos simples CuO y MnO

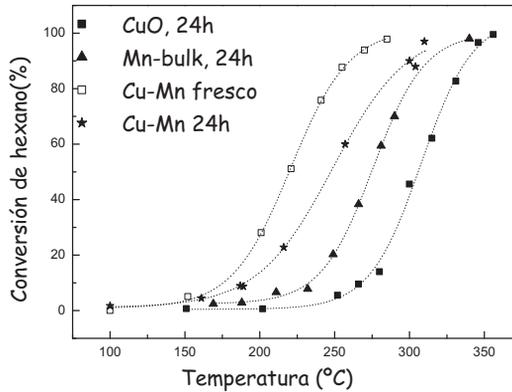


Figura 13. Comparación de las curvas de ignición del Cu- Mn (fresco y luego de 24 h) con las correspondientes a las muestras máscas de óxido de Cu y de Mn luego de 24 h

La muestra Mn-nit2/b soportada en bentonita fue más activa que el soporte solo (arcilla bentonita), lo que indica que la dispersión de la fase activa en una estructura laminar y porosa, contribuye favorablemente en la actividad (figura 14). Sin embargo, la muestra Mn-bulk fresca resultó ser más activa inicialmente que la muestra soportada Mn-nit2/b (figura 14), que es explicable considerando que el componente activo en la muestra máscas se encuentra en estado puro y en mayor cantidad que en la muestra soportada nanoparticulada donde se encuentra más disperso. Sin embargo, como se pudo observar la muestra máscas pierde actividad (figura 11), en tanto que la muestra soportada no presentó pérdida de actividad luego de 24 h en atmósfera de reacción, por lo que desde el punto de vista de estabilidad térmica la aplicación del catalizador Mn-nit2/b podría resultar prometedor en este tipo de reacción.

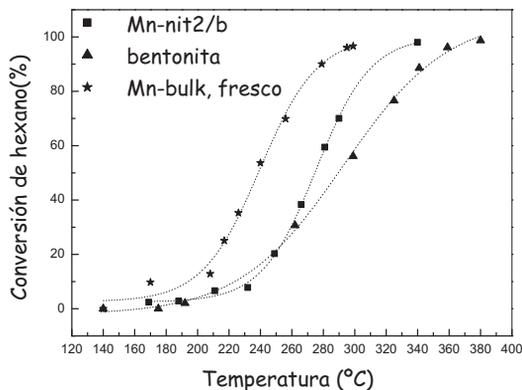


Figura 14. Comparación de las curvas de ignición de Mn-nit2/b, Mn-bulk con la correspondiente a la bentonita pura (sin componente activo)

CONCLUSIONES

- Se han sintetizado nanopartículas basadas en óxido de Mn por el método sol-gel considerando diversas variables experimentales en la preparación: tipo de precursor, concentración inicial de reactivos y cantidad de agente peptizante, que influyeron en el tamaño y dispersión de las mismas.
- El análisis XRD reveló la composición policristalina en todas las muestras calcinadas (nanoparticuladas y másicas) conformado por las especies Mn_2O_3 , Mn_3O_4 y MnO_2 con presencia mayoritaria de Mn_2O_3 y de la espinela Mn_3O_4 . En la muestra nanoparticulada soportada en bentonita, el difractograma XRD mostró que se trataba de una bentonita sódica pero no se evidenció la presencia del componente metálico (óxido de Mn), ni alteración de la estructura matriz de la arcilla, lo que indicaría una buena dispersión del componente activo en la estructura laminar
- En el caso de las muestras calcinadas preparadas a partir de precursor acetato, el análisis TEM reveló que el tamaño y polidispersión obtenida fue dependiente de la concentración inicial del precursor mientras que las preparadas a partir de precursor nitrato presentó una tendencia hacia la monodispersión y el tamaño promedio final de las partículas luego de la calcinación fue de 50 nm.
- Todas las muestras presentaron una superficie mesoporosa, presentando mayor área específica la muestra soportada en bentonita (Mn-nit2/b).
- Los ensayos de actividad en la combustión de n-hexano mostraron que el catalizador másico presentó pérdida de actividad luego de 24 h de contacto en atmósfera de reacción. La actividad fue mayor en el catalizador basado en óxido mixto equimolar de Cu-Mn incluso luego de permanecer 24 h en atmósfera de reacción. El catalizador de óxido de Mn nanoparticulado soportado en bentonita mostró tener menor actividad que el óxido de Mn másico pero presentó mayor estabilidad térmica.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al CONCYTEC (PROYECTO PROCYT 310-2009-CONCYTEC-OAJ) y al Instituto de Investigación de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería por la ayuda financiera otorgada a este trabajo. También se extiende el agradecimiento a la Pontificia Universidad Católica del Perú y a la Universidad de Zaragoza por el apoyo logístico para la preparación de las muestras y la realización de los ensayos de actividad de los catalizadores.

BIBLIOGRAFÍA

1. Spivey J., Complete catalytic oxidation of volatile organics, *Ind. Eng. Chem. Res.* 26, 2165-2180 (1987).
2. Garetto T., Legorburu I., Montes M, editores. Eliminación de emisiones atmosféricas de COV's por catálisis y adsorción. Monografía multi-autoral. Programa CYTED, pag. 37-49 (2008).
3. Hasan M.A., Zaki M.I., Paupelety L., Kumasi K., Promotion of the hydrogen peroxide decomposition activity of manganese oxide catalysts, *Appl. Catal. A.* 181, 171-179 (1999).
4. Delimaris D., Ioannides T., VOC oxidation over MnO_x - CeO_2 catalysts prepared by a combustion method, *Appl. Catal. A.* 84, 303-312 (2008).
5. Stobbe E.R., De Boer B.A., Geus J.W., The reduction and oxidation behaviour of manganese oxides, *Catal. Today* 47, 161-167 (1999).

6. Grootendorst E., Verbeek Y., Ponc V., The role of the Mars and Van Krevelen mechanism in the selective oxidation of Nitrosobenzene and the deoxygenation of nitrobenzene on oxidic catalysts, *J. Catal.* 157, 706-712 (1995).
7. Baldi M., Finocchio E., Milella F., Busca G., Catalytic combustion of C3 hydrocarbons and oxygenates over Mn_3O_4 , *Appl. Catal. B* 16, 43-51 (1998).
8. Zhang H. M., Teraoka Y., Yamazoe H., Effects of preparation methods on the methane combustion activity of supported Mn_2O_3 and $LaMnO_3$ catalysts, *Catal. Today* 6, 155-162 (1989).
9. Chang Y.F., McCarty J.G., Novel oxygen storage components for advanced catalysts for emission control in natural gas fueled vehicles, *Catal. Today* 30, 163-170 (1996).
10. Santos V.P., Pereira M.F.R., Órfão J.J.M., Figueiredo J.L., The role of lattice oxygen on the activity of manganese oxides towards the oxidation of volatile organic compounds, *Appl. Catal. B*, 99, 353-363 (2010).
11. Gandía L. M., Vicente M. A., Gil A., Complete oxidation of acetone over manganese oxide catalysts supported on alumina- and zirconia-pillared clays, *Appl. Catal. B: Environ.* 38, 295-307 (2002).
12. Kim S.C., Shim W.G., Catalytic combustion of VOCs over a series of manganese oxide catalysts, *Appl. Catal. B*, 98, 180-185 (2010).
13. Yang L.X., Zhu Y.J., Tong H., Wang W.W., Cheng G.F., Low temperature synthesis of Mn_3O_4 polyhedral nanocrystals and magnetic study, *J. Solid State Chemistry* 179, 1225-1229 (2006).
14. Todorova S., Kolev H., Holgado J.P., Kadinov G., Bonev Ch., Pereñíguez R., Caballero A., Complete n-hexane oxidation over supported Mn-Co catalysts, *Appl. Catal. B*, 94, 46-54 (2010).
15. Tian Z.M., Yuan S.L., Je J.H., Li P., Zhang S.Q., Wang C.H., Wang Y.Q., Yin S.Y., Liu L., Structure and magnetic properties in Mn doped SnO_2 nanoparticles synthesized by chemical co-precipitation method, *J. Alloys and Compounds* 466, 26-30 (2008).
16. Li J., Mu Z., Xu X., Tian H., Duan M., Li L., Hao Z., Qiao S., Lu G., A new and generic preparation method of mesoporous clay composites containing dispersed metal oxide nanoparticles, *Microporous and Mesoporous Materials* 114, 214-221, (2008).
17. Picasso G., Sun Kou M.R., Gómez G., Hermoza E., López A., Pina M.P., Herguido J., Catalizadores nanoestructurados basados en óxidos de Fe para la combustión de n-hexano, *Revista de la Sociedad Química del Perú*, v. 75, N° 2, p. 163-176 (2009).
18. Picasso G., Gutiérrez M., Pina M. P., Herguido J. Preparation and characterization of Ce-Zr and Ce-Mn based oxides for n-hexane combustion: Application to catalytic membrane reactors, *Chem. Eng. J.* 126, 119-130 (2007).
19. Picasso G., Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas: "Combustión de compuestos orgánicos volátiles en reactores de membrana catalítica mesoporosa basados en óxidos metálicos. Estudio cinético y simulación", Universidad de Zaragoza (2005).
20. Picasso G., Sun Kou M.R., Pina M.P., Herguido J., Iruستا S., López de Castillo R., Apolinario G., Arzamendi G., Gandía L, Eliminación de etilmetilcetona en lecho fijo con óxidos mixtos equimolares de Fe-Mn y Cu-Mn máscicos y soportados en arcillas modificadas, *Revista de la Sociedad Química del Perú*, v. 73, N° 2, p. 66-84 (2007).

DETERMINACIÓN DE LA ESTRUCTURA DE BASES DE SCHIFF DERIVADAS DE 2-AMINOFENOL, NITRO Y FLÚOR SUSTITUIDAS, UTILIZANDO LA RMN 1D Y 2D

Sergio Zamorano^{a*}, Juan Camus

RESUMEN

En este trabajo se presenta el resultado de la síntesis de bases de Schiff a partir del 2- amino fenol con 4-nitro y 2-fluorbenzaldehído y se caracterizan los productos, usando el microanálisis, la espectroscopía infrarroja, la espectroscopía de RMN de H^1 y C^{13} y la RMN en dos dimensiones (COSY y HMBC), para determinar sus estructuras. Además, se estudia el corrimiento que sufren los carbonos con respecto al tipo de sustituyente del aldehído en la base de Schiff

Palabras clave: Bases de Schiff, espectroscopía RMN 1D y 2D

STRUCTURE DETERMINATION OF THE SCHIFF BASES DERIVATED FROM 2- AMINOPHENOL, NITRO AND FLUORID SUBSTITUTED, USING RMN 1D AND 2D

ABSTRACT

In this work the result of the synthesis of a base of Schiff is presented, starting from the 2 - amino phenol with 4-nitro and 2- fluorbenzaldehyde and the products are characterized, using the microanalysis, the infrared spectroscopy, the spectroscopy of RMN of H^1 and C^{13} and the RMN in two dimensions (COSY and HMBC), to determine their structures. In addition, the shifts that suffering the carbon atoms respecting to the type of substituents in the Schiff base are studied.

Key words: Schiff bases, NMR 1D and 2D spectroscopy

INTRODUCCIÓN

En la publicación anterior describimos detalladamente el uso y la importancia que está teniendo la RMN 1D y 2D en la determinación de la estructura de moléculas orgánicas y su penetración al campo de los compuestos de coordinación,^{1,2}. En los sistemas homo y heteronucleares, la RMN bidimensional está siendo ampliamente utilizada para dilucidar estructuras, debido a su gran versatilidad, permitiendo por ejemplo, determinar la conectividad del número y el tipo de protones que se encuentran a dos o tres enlaces de distancia³⁻⁷

Los experimentos homonucleares RMN COSY como el NOESY entregan valiosa información en los llamados diagramas de contorno, que permiten determinar los desplazamientos químicos de los protones y las distancias entre núcleos^{4,7}

Los experimentos heteronucleares RMN HMBC permiten detectar al núcleo más sensible y muestra la correlación a dos o tres enlaces de distancia entre núcleos distintos como el H^1 y C^{13} en un rango más amplio (hasta cuatro enlaces de distancia)^{4,7}.

^a Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Playa Ancha, Carvallo N°270, Playa Ancha, Valparaíso, Chile.

* szamoran@upla.cl

El objetivo de este trabajo es estudiar la actividad de los grupos que ceden densidad electrónica por hiperconjugación y que dirigen la sustitución en orto y para⁸; para ello hemos utilizado la fluoración y nitración electrófila de las bases de Schiff que se han sintetizado anteriormente^{1,9,10}. En definitiva, la idea es conocer cuál es la influencia que tendrán estos grupos dirigentes en la capacidad de la molécula de estabilizar compuestos de coordinación. Suponemos que estos productos fluor y nitro derivados favorecerán la formación de enlaces metal-ligando¹¹⁻¹³.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales y métodos

Síntesis de las bases de Schiff a partir del 2-aminofenol con 4-nitrobenzaldehído y con 2-fluorbenzaldehído

En un vaso de precipitado de 100 ml se disolvió 0,248 gramos de 4-nitrobenzaldehído (Aldrich) en 20 ml de etanol; se agregó 0,225 gramos de sulfato de magnesio (Fluka), para eliminar el agua producida en la reacción. Sobre esta mezcla se añadió directamente 0,250 gramos de 2-aminofenol (Merck). Se agitó durante 1 hora, se dejó reposar 1 día, bajo refrigeración y luego se mantuvo en el congelador durante 2 semanas a -5°C. Se obtuvo cristales aciculares de color amarillo que pudieron ser separados de la solución, lavados con etanol y secados en estufa a 50°C. El rendimiento de la reacción fue de 64,04%.

De manera similar se sintetizó la segunda base de Schiff:

En un vaso de precipitado de 100 ml se disolvió 0,238 gramos de 2-fluorbenzaldehído (Aldrich) en 20 ml de etanol; se agregó 0,225 gramos de sulfato de magnesio (Fluka), para eliminar el agua producida en la reacción. Sobre esta mezcla se añadió directamente 0,225 gramos de 2-aminofenol (Merck). Se agitó durante 1 hora, se dejó reposar 1 día, bajo refrigeración y luego se mantuvo en el congelador durante 2 semanas a -5°C. Se obtuvo cristales aciculares de color amarillo que pudieron ser separados de la solución, lavados con etanol y secados en estufa a 50°C. El rendimiento de la reacción fue de 71,67%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del análisis químico elemental se obtuvieron usando un equipo Fison EA-1108 (CHNS-O): Para el caso de derivado de fluor: El % de carbono, teórico/experimental 64,46/64,46 el % de hidrógeno 4,16/4,52 y el % de nitrógeno 11,56/11,58%, respectivamente. Para el nitroderivado: El % de carbono, teórico/experimental 72,54/71,94 el % de hidrógeno 4,68/4,79 y el % de nitrógeno 6,50/6,58%, respectivamente.

El espectro de RMN H^1 de la amina presenta una señal a los 3,6 ppm, correspondiente al N-H; también se observa una señal a los 4,8 ppm correspondiente al OH. Los protones del anillo aromático C-H absorben a campo bajo, en el intervalo 6,8-6,9 ppm.

En el espectro de RMN H^1 del 2-fluorbenzaldehído se observa un singlete a campo muy bajo, a los 10,31 ppm correspondiente al C-H del aldehído. Las señales del anillo aromático se encuentran en el intervalo de 7,17-7,81 ppm. En la base de Schiff fluorderivada a campo bajo (9,00 ppm) aparece un singlete característico del protón imínico del -N=CH- correspondiente a la formación de la base. También se observan los C-H aromáticos (figura 1) presenta la molécula y que aparecen en el intervalo de 6,91-8,15 ppm.

Similarmente, en el espectro de RMN H^1 del 4-nitrobenzaldehído se observa un singlete a campo muy bajo a los 10,15 ppm, correspondiente al C-H del aldehído. Las señales del anillo aromático se encuentran en el intervalo de 8,09-8,35 ppm. En la base de Schiff nitroderivada 8,79 ppm aparece un singlete característico del protón imínico -N=CH- correspondiente a la formación de la base de Schiff. Se identificaron 7 átomos de hidrógeno, (figura 1) que presenta la molécula y que aparecen en el intervalo de 6,94-8,35 ppm.

El espectro de RMN C^{13} , de la amina presenta a campo bajo la señal del carbono unido al grupo hidroxilo a los 143,8 ppm. En cambio, la señal del carbono unido al grupo amino aparece a los 136,4 ppm. Los carbonos aromáticos presentan los siguientes desplazamientos químicos δ (ppm) 114,3; 116,4; 119,4; 114,4.

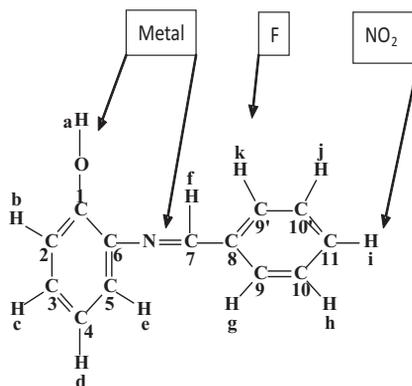


Figura 1. Modelo bidimensional de la base de Schiff de tipo BS-BZ ($C_{13}H_{11}NO$), fluoroderivada ($C_{13}H_{10}FO$), y nitroderivada ($C_{13}H_{10}N_2O_3$). Posible formación de compuesto complejo metal-O-N

En el caso de las bases de Schiff fluoroderivada, los espectros RMN C^{13} y DEPT 135 permiten identificar las 13 señales atribuibles a la totalidad de los carbonos de los cuales 9 están protonados y 4 son cuaternarios (que no aparecen en el DEPT). Los carbonos cuaternarios presentan 4 señales ubicadas en los desplazamientos químicos $\delta = 152,7$; 135,6 ; 161,4 y 164,3 ppm. La señal de 150,2 ppm es característica del carbono imínico $N=CH-$ reafirmando la formación de la base de Schiff. Las otras señales corresponden a carbonos aromáticos, que presentan los siguientes desplazamientos químicos: 115,2; 116,1; 123,9; 124,7; 128,4; 129,4; 133,4 y 161,4 ppm (figura 2).

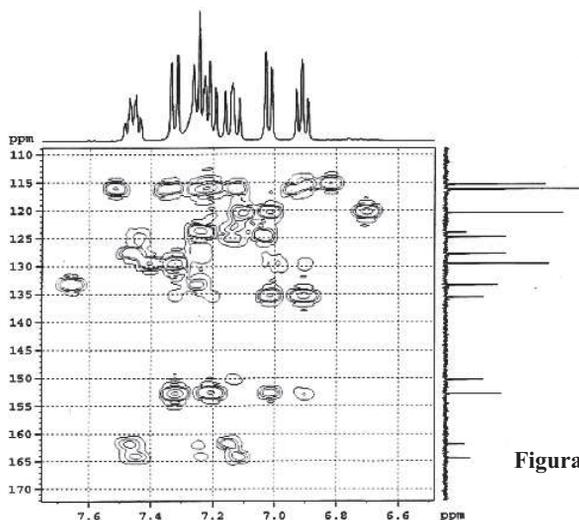


Figura 2. Espectro bidimensional HMBC de BS-F

En la base de Schiff nitroderivada, los espectros RMN C^{13} y DEPT 135 permiten identificar las 11 señales atribuibles a la totalidad de los carbonos de los cuales 2 están sobrepuestos, son equivalentes. Se presentan 7 señales que corresponden a carbonos que están protonados y 4 son cuaternarios (que no aparecen en el DEPT). Estos carbonos cuaternarios presentan 4 señales ubicadas en los desplazamientos químicos $\delta = 153,0; 134,7; 141,4$ y $149,6$ ppm. La señal de $154,0$ ppm es característica del carbono imínico $-N=CH-$ reafirmando la formación de la base de Schiff. Las otras señales corresponden a carbonos aromáticos, que presentan los siguientes desplazamientos químicos: $115,8; 116,1; 120,6; 124,8; 124,8; 129,5; 129,5$ y $130,7$ ppm (figura 3).

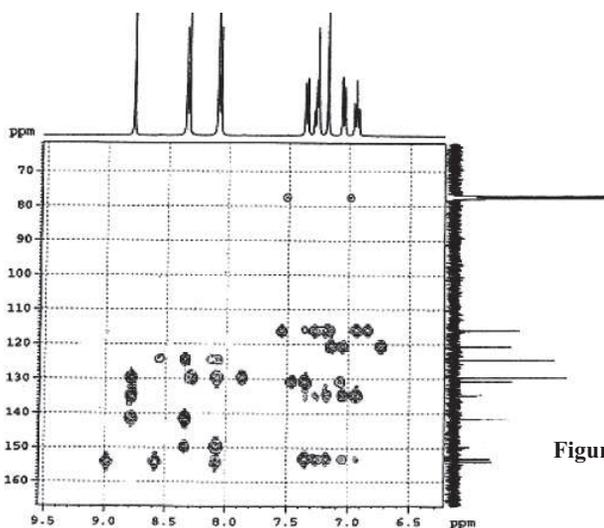


Figura 3. Espectro bidimensional HMBC de BS-NO₂

En resumen, los espectros RMN correspondientes a las bases de Schiff de fórmula $C_{13}H_{10}N_2O_3$ y $C_{13}H_{10}FO$, respectivamente, permitieron asignar los núcleos de hidrógeno-1 y carbono-13 y encontrar sus correlaciones en la estructura. El análisis del espectro de RMN H^1 se inició observando cada señal, se extrajo información básica como el corrimiento químico de los picos (δ), el tipo de pico (doblete, triplete, o multiplete) y la relación de intensidades de los picos. En el espectro se identificaron los hidrógenos que presentan los compuestos.

En el modelo bidimensional propuesto (figura 1) los carbonos se marcaron en forma correlativa del 1 al 11 y los protones con letras minúsculas a-k.

Para verificar el modelo estructural propuesto se utilizaron los espectros bidimensionales COSYHH y HMBC (figuras 4 y 5).

El espectro bidimensional HMBC muestra las conectividades entre el H^1 y el C^{13} . Los carbonos cuaternarios presentan una o varias señales, pero no se observa acoplamiento, debido a que la interacción C-H no es directa, sino que el carbono interacciona con un protón que se encuentra a dos, tres y hasta cuatro enlaces de distancia. Este espectro proporciona información sobre los carbonos acoplados y no acoplados y además, sobre la conectividad de ellos, con los hidrógenos unidos a través de uno a cuatro enlaces.

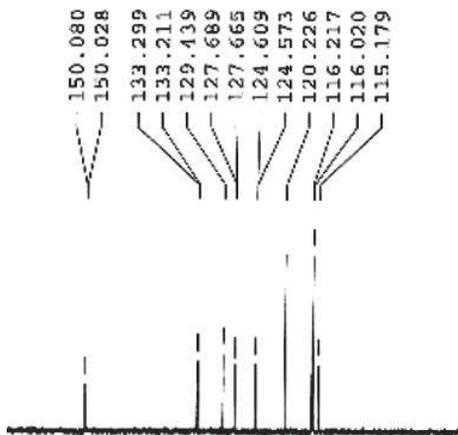


Figura 4. Espectro DEPT de la BS-F

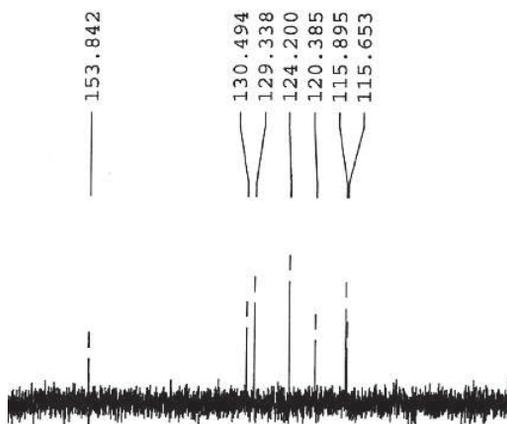


Figura 5. Espectro DEPT de la BS-NO₂

La interpretación del espectro RMN bidimensional y HMBC de interacción C – H, a través de 2 ó 3 enlaces, para la base de Schiff BS-BZ, considerando la asignación de los núcleos de hidrógeno de la figura 1, es la siguiente:

El carbono N° 1(152,4 ppm) no tiene hidrógeno directamente; interacciona con el hidrógeno b (7,2 ppm) a través de dos enlaces y con el hidrógeno c (7,1 ppm) a través de tres enlaces.

El carbono N°2(115,1 ppm) tiene el hidrógeno b directamente (7,2 ppm); interacciona con el hidrógeno c (7,1 ppm) a través de dos enlaces y con el hidrógeno d (7,2 ppm) a través de tres enlaces.

El carbono N°3(128,9 ppm) tiene el hidrógeno c directamente (7,1 ppm); interacciona con el hidrógeno b (7,2 ppm) a través de dos enlaces y con el d (7,2 ppm) a través de dos enlaces y con el e (7,2 ppm) a través de tres enlaces.

Tabla 1. Interpretación del espectro RMN bidimensional y HMBC de interacción C – H, a través de varios enlaces.

Nº C	δ, ppm	Δ, ppm	H-C directo	δ, ppm	Δ, ppm	H	δ, ppm	Δ, ppm	C _e
7	157,2		f	8,7		g	7,4		3
						k	7,4		3
F ⁻	150,23	6,97	f	9,0	-0,3	h	8,15		4
NO ₂ ⁻	154,04	3,16	f	8,79	-0,09	g	8,09	-0,69	3
						j	8,09	-0,69	3
8	135,9					f	8,7		2
						g	7,4		2
						k	7,4		2
						h	7,3		3
						j	7,3		3
F ⁻	161,39	-25,49				f	7,21	0,19	2
						h	8,15		3
						i	7,14	0,16	2
						j	7,49		4
NO ₂ ⁻	141,37	-5,47				f	8,79	-1,39	2
						h	8,35		3
						i	8,35		3
9 y 9'	128,9		g	7,4		h	7,3		2
			k	7,4	0,00	j	7,3		2
						f	8,7		3
						i	7,2		3
F(9)	123,94	4,96	g	7,26	0,14	i	7,14	0,16	2
NO ₂ ⁻ (9)	129,51	-0,61	g	8,09	-0,69	f	8,79		3
						j	8,09		3
NO ₂ (9')						f	8,79		3
	129,51	-0,61	j	8,09					
						g	8,09	-0,79	3
10 y 10'	129		h	7,3		i	7,2		2
						g	7,4		2
						k	7,4		2
F ⁻ (10)	128,43	0,57	h	8,15	-0,85	f	8,15		4
						g	7,26	0,14	2
						j	7,49		3
F ⁻ (12)	133,39	-4,39	j	7,49		h	8,15	-0,75	3
NO ₂ (10)	124,38	4,62	h	8,35	-1,05	g	8,09		2
						i	8,35		3
						j	8,09		4
NO ₂ (10')	124,38			8,35		g	8,09		4
		4,62	i		-1,05				
						h	8,35	-1,15	3
						J	8,09		2
11	131,7		i	7,2		J	7,3		2
						h	7,3		2
F ⁻	116,22	15,48	i	7,14	0,06	j	7,49		2
NO ₂ ⁻	149,59	-17,89				g	8,09	-0,79	3
						h	8,35		2
						i	8,35		2
						j	8,09		3

El carbono N°4(120,1 ppm) tiene el hidrógeno d directamente (7,2 ppm); interacciona con el hidrógeno c (7,1 ppm) a través de dos enlaces y con el hidrógeno e (7,2 ppm) a través de dos enlaces y con el b (7,2 ppm) a través de tres enlaces.

El carbono N°5(115,9 ppm) tiene el hidrógeno e directamente (7,2 ppm); interacciona con el hidrógeno c (7,1 ppm) a través de tres enlaces y con el hidrógeno d (7,2 ppm) a través de dos enlaces.

El carbono N°6(135,6 ppm) no tiene el hidrógeno directamente; interacciona con el hidrógeno e (7,2 ppm) a través de dos enlaces y con el hidrógeno d (7,2 ppm) a través de tres enlaces y con el f (8,7 ppm) a través de tres enlaces.

A partir del carbono 7 se producen importantes desplazamiento en los espectros debido a la presencia del flúor en la posición orto (9' en la figura 1) y por la presencia del grupo nitro en la posición para (11 en la figura 1), por lo que resulta interesante cuantificar estos corrimientos (Δ) en ppm, que se presentan en la tabla 1.

El carbono N°7(157,2 ppm) tiene el hidrógeno f directamente (8,7 ppm); interacciona con el hidrógeno g (7,4 ppm) a través de tres enlaces y con el hidrógeno k (7,4 ppm) a través de tres enlaces. Esta conectividad se presenta en la tabla 1 en la última columna como C_e.

El carbono N°8(135,9 ppm) no tiene el hidrógeno directamente; interacciona con el hidrógeno f (8,7 ppm) a través de dos enlaces y con el hidrógeno g (7,4 ppm) a través de dos enlaces, con el k (7,4 ppm) a través de dos enlaces, con el h (7,3 ppm) a través de tres enlaces y con el j (7,3 ppm) a través de tres enlaces.

El carbono N°9 y su equivalente 9' (128,9 ppm) tiene el hidrógeno g directamente (7,4 ppm) y k (7,4 ppm); interacciona con el hidrógeno h (7,3 ppm) a través de dos enlaces y con el hidrógeno j (7,3 ppm) a través de dos enlaces, con el f (8,7 ppm) a través de tres enlaces y con el i (7,2 ppm) a través de tres enlaces.

El carbono N°10(129,0 ppm) y su equivalente 10', tiene el hidrógeno h directamente (7,3 ppm) y j (7,3 ppm); interacciona con el hidrógeno i (7,2 ppm) a través de dos enlaces, con el hidrógeno k (7,4 ppm) a través de dos enlaces y con el g (7,4 ppm) a través de dos enlaces.

El carbono N°11(131,7 ppm) tiene el hidrógeno i directamente (7,2 ppm); interacciona con el hidrógeno h (7,1 ppm) a través de dos enlaces, con el hidrógeno j (7,3 ppm) a través de dos enlaces, con el k (7,4 ppm) a través de dos enlaces y con el g (7,4 ppm) a través de dos enlaces.

Llama la atención los considerables desplazamientos hacia campos bajos como altos, en los espectros RMN C¹³ (segunda columna tabla1) en el caso del carbono 8 de los flúor y nitroderivados estarían indicando una alta facilidad para formar compuestos de coordinación con metales de transición paramagnéticos.

CONCLUSIONES

Se sintetizaron bases de Schiff flúor y nitro derivadas de la 2-aminofenol y se caracterizaron los compuestos integrando varias técnicas de investigación, como el microanálisis, espectroscopia IR, RMN de H¹ y de C¹³, para determinar las estructuras propuestas se utilizaron los espectros DEPT, HMBC y COSY que permiten en ambiente magnético de los sistemas de spin, proponer la posible estructura tridimensional de las moléculas (figuras 6 y 7) y facilitar el ambiente electrónico para formar enlaces de coordinación con diversos metales de transición. Se determinaron, además los corrimientos de los carbonos con respecto al tipo de sustituyente del aldehído en la base de Schiff.

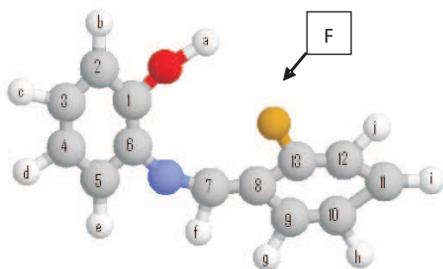


Figura 6. Modelo final de la estructura tridimensional de la base de Schiff BS-F

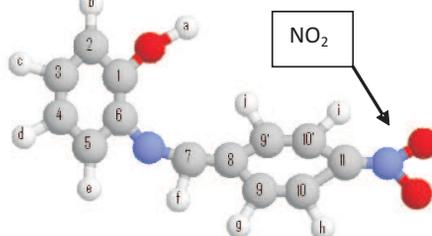


Figura 7. Modelo final de la estructura tridimensional de la base de Schiff BS-NO₂

BIBLIOGRAFÍA

1. Zamorano S., Camus J., Orellana A., M. Osorio M. *Rev. Soc. Quím. Perú* 2010; 76(2):187-192
2. Gaggelli E., Gaggelli N. y Valensin G. 2D NMR Methods for Structural Delineation of Copper(II) Complexes of Penicillin and Pilocarpine. *Metal-Based Drugs. Volume 1 Issue 2-3, Pages 279-287.* 1994.
3. Friebolin H. "Basic one-and two-dimensional NMR spectroscopy" Wiley-VCH, 1998.
4. Dudderck H., Dietrich W. y Toth G." Elucidación Estructural por RMN" Ed. Springer. 3ra.ed 2000.
5. Dyer J.R. "Aplicaciones de espectroscopía de absorción en compuestos orgánicos" Editorial Prentice/Hall-Internacional. España. Pag 606.
6. Del Río. Determinación de la estructura de proteínas por RMN. *Mensaje Bioquímico.* Vol 2003 en <http://bq.unam.mx/mensajebioquimico>
7. Morris G.A. Modern NMR techniques for structure elucidation. *Magn. Reson. Chem.* 24:371 1986.
8. Peter K., Vollhard C., y Schore N.E. *Química Orgánica.* II edición Ed. Omega S.A. 1994.
9. Orellana J.A. y Osorio M. Seminario de Tesis para optar al título de Profesor de Química y al grado de Licenciado en Educación. Universidad de Playa Ancha ; 2007. Valparaíso, Chile.
10. Aedo D. y León N. Seminario de Tesis para optar al título de Profesor de Química y al grado de Licenciado en Educación. Universidad de Playa Ancha ;2009. Valparaíso, Chile.
11. Niccolai N., Tiezzi E. and Valensin G., *Chem. Rev.* 1982, 82, 359.
12. Bertini I. and Luchinat C., *NMR of Paramagnetic Species in Biological Systems,* Benjamin Cummings, Menlo Park, CA 1986.
13. G. Navon and G. Valensin, *Metal Ions in Biological Systems,* H. Sigel ed., Marcel Dekker, New York, Vol.21. 1987.

PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE NUEVOS ELECTRODOS NANOESTRUCTURADOS DE Ti/Co₃O₄-RuO₂

A. La Rosa Toro Gómez^{*}, Miguel Ponce Vargas^{**}, Eduardo Medina¹

RESUMEN

El electrodeposición es una técnica que permite la obtención de óxidos metálicos nanoestructurados de Co₃O₄ y RuO₂ en intercapas sobre soportes de titanio. Estos composites soportados sobre titanio presentan propiedades electrocatalíticas superiores a las de materiales obtenidos por otras técnicas clásicas como sol- gel o impregnación seguida de descomposición térmica. La actividad electrocatalítica para la generación de oxígeno es determinada mediante voltametría cíclica y el aumento de la conductividad a potenciales más anódicos mediante espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS). Las técnicas Raman, DRX, SEM y EDX son utilizadas para la caracterización estructural de los óxidos.

Palabras clave: Electrodo nanoestructurado, electrocatalisis, espinela de cobalto, óxido de rutenio.

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF NOVEL Ti/Co₃O₄- RuO₂ ELECTRODES

ABSTRACT

The electrodeposit is a technique that allows the production of nanostructured metal oxides of RuO₂ and Co₃O₄ in interlayers on titanium supports. That titanium supported composite electrodes have better electrocatalytic properties than materials obtained by other classic techniques such sol- gel or impregnation followed by thermal decomposition. The electrocatalytic activity for oxygen evolution is determined by cyclic voltammetry and the conductivity increased to more anodic potentials by electrochemical impedance spectroscopy (EIS). Raman, XRD, SEM and EDX techniques are used for structural characterization of the oxides.

Key words: Nanostructured electrodes, electrocatalysis, cobalt spinel, ruthenium oxide.

INTRODUCCIÓN

Los óxidos tipo espinela basados en cobalto son una buena alternativa para procesos electrolíticos en medio alcalino, debido a que poseen un amplio periodo de estabilidad bajo condiciones anódicas, buena conductividad eléctrica y una gran actividad catalítica para diversas reacciones.

La nanotecnología es una ciencia que estudia la manipulación de la estructura de la materia a escala nanométrica (5-100 nm), generando así materiales estructurados con características físico-químicas diferentes a las de materiales macroparticulados. Las características

¹ Laboratorio de Electroquímica Aplicada, Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Ingeniería. Av. Túpac Amaru 210, Rímac.

^{*} toro@uni.edu.pe

^{**} miguelpv@uni.edu.pe

superficiales de los materiales nanoestructurados dominan la propiedades fisicoquímicas de los óxidos, entre ellas la actividad catalítica y la adsorción superficial; dos propiedades clave para la configuración de un buen electrocatalizador. Además, el alto grado de cristalinidad y las formas estructurales atómicas, hacen de las nanopartículas sistemas ideales para el desarrollo de una nueva generación de sensores de gas, reduciendo la inestabilidad relacionada con las propiedades eléctricas.

Existen varias técnicas utilizadas para la síntesis de nanopartículas (sol-gel, precipitación, descomposición térmica, electrodeposición). Todas ellas persiguen la obtención de nanopartículas con tamaño predefinido, estructura estable, morfología adecuada, sensibilidad eléctrica y propiedades superficiales que permitan la adsorción. La técnica de electrodeposición permite obtener depósitos nanoestructurados de metales y de sus óxidos, los cuales deben ser convenientemente evaluados para su potencial aplicación tecnológica. La estabilidad electroquímica de los electrodos fue evaluada mediante pérdida de masa, la cual está relacionada a la coalescencia de las partículas.

PARTE EXPERIMENTAL

Acondicionamiento del soporte

Se utilizaron láminas de titanio de 2 x 0,5 cm de área. El soporte es previamente atacado con ácido oxálico a ebullición durante una hora. En la figura 1 se observa la imagen de la superficie del titanio, posterior al ataque. La rugosidad con macrocráteres de 50 a 100 μm y microcráteres de 1 a 10 μm de diámetro favorece el anclaje de las partículas de óxidos metálicos.

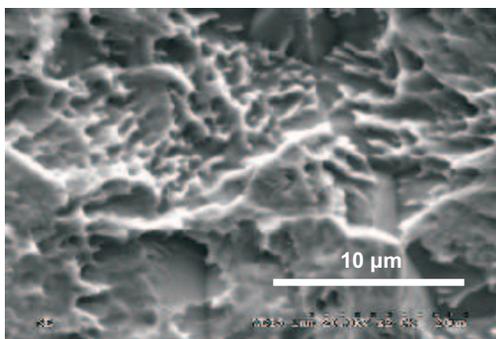


Figura 1. Imagen SEM (5000X) del soporte de titanio tras el mordentado químico

Preparación de los electrodos nanoestructurados de espinela de cobalto ($\text{Ti}/\text{Co}_3\text{O}_4$) y de espinela de cobalto dopado con óxido de rutenio ($\text{Ti}/\text{Co}_3\text{O}_4\text{-RuO}_2$)

La técnica empleada para la formación de los óxidos nanoestructurados es la de electrodeposición (ED), realizada a partir de soluciones precursoras. En el caso del electrodo de $\text{Ti}/\text{Co}_3\text{O}_4\text{-RuO}_2$, éste se prepara electrodepositando en forma alternada capas de cada tipo de óxido y sometiéndolo, finalmente, a un tratamiento térmico de 300 °C.

Se utilizan dos soluciones precursoras:

- Solución A, formulación acuosa de $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 0,025M.
- Solución B, formulación acuosa de $\text{RuCl}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$; KCl 0,1M y HCl 0,010M (pH=2).

Procedimiento para el electrodeposición de Co_3O_4 utilizando la solución A

1. Electrodeposición con una densidad de corriente de $1\text{mA}/\text{cm}^2$, durante 10 minutos sobre la lámina pretratada de titanio
2. Secado con aire caliente por 2 minutos
3. Secado en estufa a $100\text{ }^\circ\text{C}$ por 5 minutos.
4. Tratamiento térmico a $300\text{ }^\circ\text{C}$ por 10 minutos.
5. Enfriado.

Procedimiento para el electrodeposición de las intercapas de Co_3O_4 y RuO_2 utilizando la solución B

1. Electrodeposición con una densidad de corriente de $2\text{mA}/\text{cm}^2$ durante 5 minutos sobre la capa previamente electrodepositada de Co_3O_4
2. Secado con aire caliente por 2 minutos
3. Secado en estufa a $100\text{ }^\circ\text{C}$ por 5 minutos
4. Enfriado

La homogenización del material depositado en las diferentes intercapas se favorece realizando un tratamiento térmico final de 12 horas a $300\text{ }^\circ\text{C}$ mediante el cual se promueve la difusión del material. El promedio de masa depositada fue de $2\text{ mg}/\text{cm}^2$.

Preparación de electrodo de espinela mediante descomposición térmica

Con fines comparativos se prepararon electrodos de espinela de cobalto empleando la técnica de impregnación y descomposición térmica (DT). La solución precursora contiene $1,455\text{ g}$ de $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ en 10 mL de etanol. La aplicación de la disolución precursora se llevó a cabo utilizando una brocha, humedeciendo la superficie del soporte. Las etapas seguidas fueron las siguientes:

- Impregnación de la solución
- Secado a $80\text{ }^\circ\text{C}$ por 2 minutos
- Tratamiento térmico a $350\text{ }^\circ\text{C}$ por 10 minutos
- Enfriado a temperatura ambiente

Repetición del proceso a partir del primer paso hasta aplicar 20 capas de la disolución precursora. Se realizó un tratamiento térmico final a $350\text{ }^\circ\text{C}$ por 1 hora. En la tabla 1 se presentan las masas depositadas.

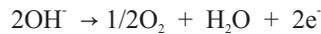
Tabla 1. Masa de óxido depositado sobre soporte de Ti, con 20 capas de depósito

Técnica	Soporte	Masa inicial/ g	Masa final/ g	Masa de óxido depositado/ mg
Ti/ Co_3O_4	Ti	0,2048	0,2068	2,0
Ti/ Co_3O_4	Ti	0,2132	0,2114	1,8
Ti/ Co_3O_4 - RuO_2	Ti	0,2101	0,2082	1,9

Caracterización de los electrodos***Voltametrías cíclicas de los electrodos***

Se utilizó un potenciostato Autolab 12, equipado con Scan Gen; agua ultrapura de resistividad de $18,2\text{ M}\Omega$ obtenida de un equipo Millipore Simplicity; un electrodo de referencia de Ag/AgCl y un electrodo auxiliar de platino. Las voltametrías se realizaron empleando como electrolito NaOH $0,1\text{M}$.

En la figura 2 se muestra los voltagramas de los electrodos de $\text{Ti}/\text{Co}_3\text{O}_4$ preparados empleando las técnicas de electrodeposición (ED) (2a) (línea sólida) y descomposición térmica (DT) (2b) (línea punteada). En el gráfico se observa un pico característico correspondiente a la transición $\text{Co}(\text{III}) \rightarrow \text{Co}(\text{IV})$. A potenciales más positivos el incremento de corriente se encuentra asociado a la generación de oxígeno, de acuerdo a la siguiente reacción:



El electrodo de espinela ED desarrolla la reacción a 0,4 V y 0,75 mA/cm^2 , en tanto que el electrodo DT presenta la misma reacción a 0,55 V y 0,25 mA/cm^2 revelando una mayor actividad electrocatalítica de la espinela nanoestructurada.

Voltametrías de caracterización del electrodo nanoestructurado de óxido de rutenio Ti/RuO_2

En la figura 3 se presenta el voltagrama correspondiente al Ti/RuO_2 nanoestructurado obtenido mediante electrodeposición. En el gráfico se observa los potenciales de los procesos redox $\text{Ru}(\text{II}) \rightarrow \text{Ru}(\text{III})$ y $\text{Ru}(\text{III}) \rightarrow \text{Ru}(\text{IV})$ a 0,06 V y 0,44 V, respectivamente. El perfil voltamétrico del electrodo de Ti/RuO_2 , es similar al obtenido por otros investigadores. En la figura 4 se muestra el voltagrama correspondiente al electrodo $\text{Ti}/\text{Co}_3\text{O}_4\text{-RuO}_2$ preparado empleando la técnica de electrodeposición de ambos óxidos en multicapas. En el gráfico se observa los perfiles voltamétricos de ambos óxidos, con predominio del correspondiente a la espinela de cobalto, identificándose un potencial intermedio para la liberación de oxígeno a 0,8 V.

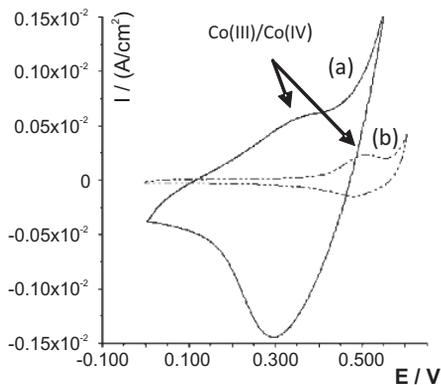


Figura 2. Voltagramas de los electrodos $\text{Ti}/\text{Co}_3\text{O}_4$, de los tipos a) Nanoestructurado (ED), b) Descomposición térmica (DT), H_2SO_4 0,1 M y 20 mV/s.

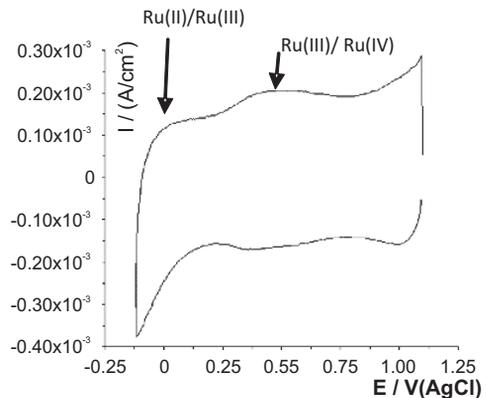


Figura 3. Voltagrama del electrodo Ti/RuO_2 nanoestructurado, H_2SO_4 0,1 M y 20 mV/s.

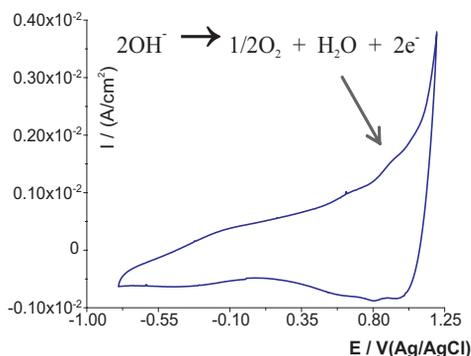


Figura 4. Voltagrama del electrodo de $Ti/Co_3O_4-RuO_2$ obtenido mediante electrodeposición (ED) de capas superpuestas de los óxidos, Na_2SO_4 0,1 M y 20 mV/s.

SEM y EDX de los electrodos de Ti/Co_3O_4 , Ti/RuO_2 y $Ti/Co_3O_4-RuO_2$

Las espectroscopías se realizaron con un equipo JEOLLV-SEMJSM5900LV y un analizador de energía dispersiva EDX Shimadzu, EDX-1300. En la figura 5 se presenta las imágenes de microscopía electrónica (SEM) y el correspondiente análisis de espectroscopía de dispersión de rayos X (EDX) del electrodo Ti/Co_3O_4 preparado mediante electrodeposición. En las imágenes se observa la estructura tipo fibras entrecruzadas del material electrodepositado, morfológicamente muy diferente a la estructura de la espinela de cobalto obtenida mediante impregnación seguida de descomposición térmica.

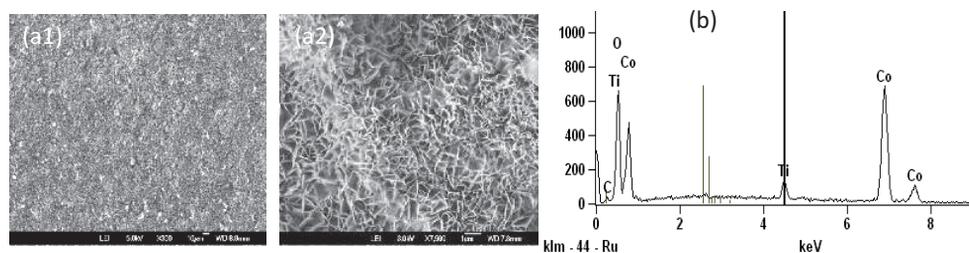


Figura 5. SEM del electrodo Ti/Co_3O_4 (ED) a1) 300X; a2) 4000X; b) Análisis EDX

Las imágenes SEM y el análisis EDX de los electrodos de Ti/RuO_2 presentadas en la figura 6, muestran una morfología tipo nanoesferas, las cuales se agrupan en clusters de 100 nm de diámetro promedio. El análisis EDX se muestra en la figura 6b.

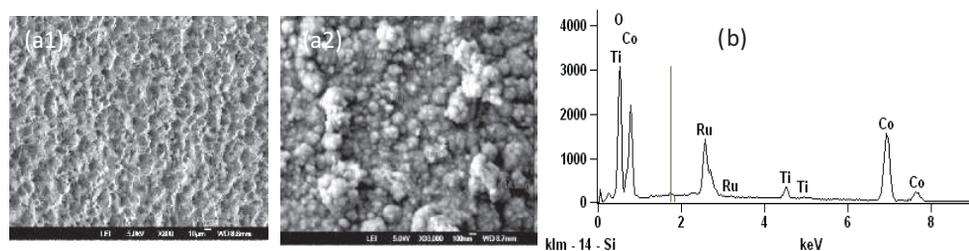


Figura 6. SEM del electrodo Ti/Co_3O_4 (ED) a1) 300X; a2) 4000X ; b) Análisis EDX

En la figura 7 se muestra las imágenes SEM y análisis EDX del electrodo $\text{Ti}/\text{Co}_3\text{O}_4\text{-RuO}_2$ obtenido mediante electrodeposición en intercapas. En la figura se observa una superficie rugosa y homogénea (figura 7a). La formación de las fibras entrecruzadas de Co_3O_4 se encuentra influenciada epitaxialmente por las características propias de las nanopartículas de RuO_2 de la subcapa, tal como se observa en la figura 7b, en la cual se han resaltado con círculos punteados las zonas de mayor influencia en el crecimiento cristalino.

Fueron preparados electrodos de $\text{Ti}/\text{Co}_3\text{O}_4\text{-RuO}_2$ con composiciones de rutenio de 2, 4 y 6, en porcentaje atómico. El análisis de la composición química de los electrodos fue realizado mediante espectroscopía EDX. Los resultados se presentan en la tabla 2.

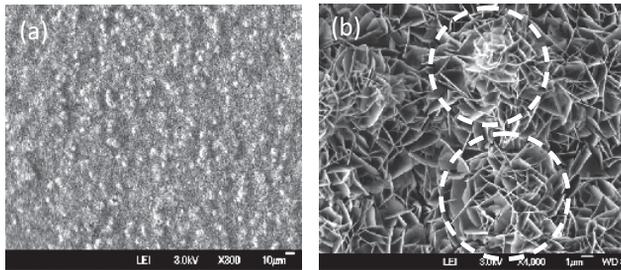


Tabla 2. Análisis EDX del electrodo nanoestructurado $\text{Ti}/\text{Co}_3\text{O}_4\text{-RuO}_2$ obtenido por electrodeposición.

% Atómico			
Co	Ru	O	Ti
23	4	71	2

Figura 7. SEM del electrodo $\text{Ti}/\text{Co}_3\text{O}_4\text{-RuO}_2$ obtenido por electrodeposición a) 300X y b) 4000X

DRX del electrodo $\text{Ti}/\text{Co}_3\text{O}_4\text{-RuO}_2$

El difractograma del electrodo $\text{Ti}/\text{Co}_3\text{O}_4\text{-RuO}_2$ mostrado en la figura 8 presenta picos espectrales característicos de los óxidos de rutenio y de cobalto, ambos identificados con sus índices de Miller. La técnica DRX permite caracterizar la estructura cristalina del composite $\text{Ti}/\text{Co}_3\text{O}_4\text{-RuO}_2$. Se observa un pico correspondiente al titanio utilizado como soporte.

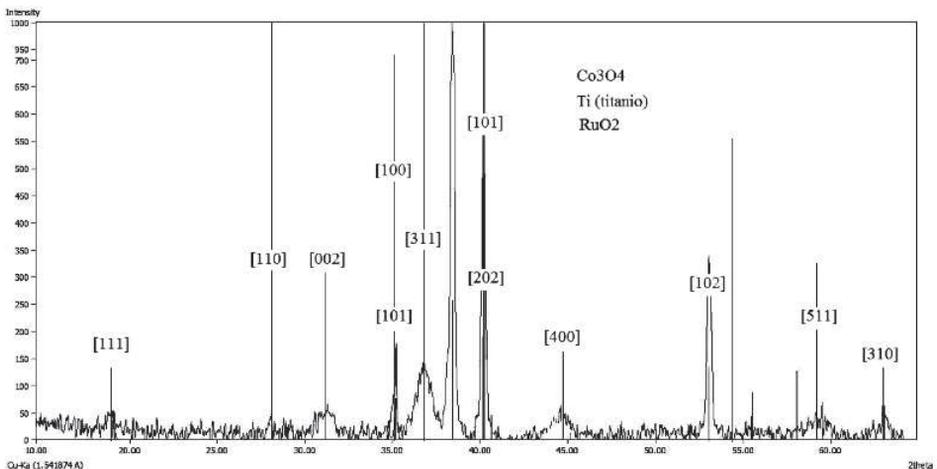


Figura 8. Análisis DRX del electrodo nanoestructurado de $\text{Ti}/\text{Co}_3\text{O}_4\text{-RuO}_2$

Espectroscopía Raman de caracterización estructural de los electrodos Ti/Co_3O_4 y $Ti/Co_3O_4-RuO_2$

El espectro Raman obtenido en un equipo Renishaw Raman imaging microscope (system 3000) equipado con un microscopio metalúrgico Olympus y detector CCD, presentado en la figura 9 muestra los picos característicos de la espinela de cobalto. En el espectro se observan dos picos débiles en las posiciones 510 y 610 cm^{-1} y dos de señal intensa en las posiciones 470 y 670 cm^{-1} . El análisis fue realizado enfocando la óptica sobre la superficie del electrodo en 3 puntos, tomando para el gráfico el que se considera más representativo. No se observan picos propios del RuO_2 . Esto puede ser atribuido a la poca penetración del láser utilizado, que no logra ir más allá de la capa superficial de Co_3O_4 .

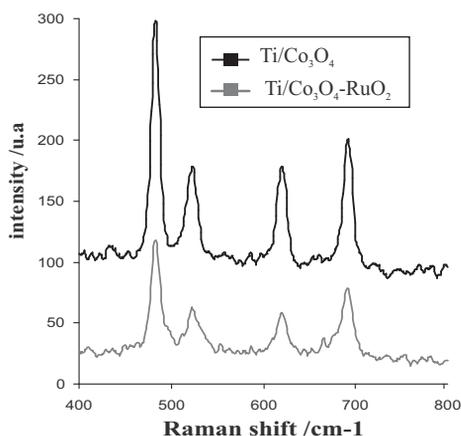


Figura 9. Análisis Raman de los electrodos $Ti/Co_3O_4-RuO_2$ y Ti/Co_3O_4

Impedancia electroquímica del electrodo nanoestructurado Ti/Co_3O_4

El estudio se realizó utilizando un equipo Autolab PGSTAT30 (EcoChemie) equipado con FRA2. La impedancia electroquímica nos permite estudiar la variación de la conductividad de la espinela de cobalto como material semiconductor tipo-p, en función al potencial anódico. En la figura 10 se observa los resultados representados en el diagrama de Nyquist.

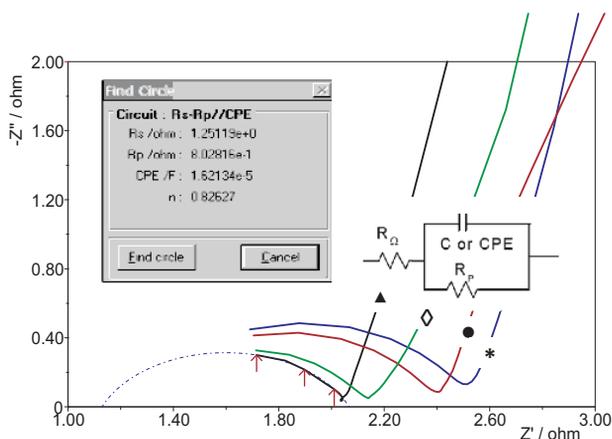


Figura 10. El diagrama Nyquist del electrodo Ti/Co_3O_4 obtenido por electrodeposición en solución de $NaOH$ $0,1\text{ M}$ a diferentes potenciales fijos $0,35\text{ V}$ (*); $0,40\text{ V}$ (●); $0,45\text{ V}$ (◇); $0,50\text{ V}$ (▲)

La variación de la resistencia del material (R_p) en función de la variación del potencial se muestra en la tabla 3

Tabla 3. Valores del gráfico de Nyquist del electrodo nanoestructurado de Ti/Co_3O_4 a diferentes potenciales

E/V	Rs/ Ω	Rp/ Ω	CPE/ μF
0,5	1,10	0,96	9,7
0,45	1,12	1,01	10,8
0,40	1,28	1,11	19,9

Ensayos de estabilidad de los electrodos en condiciones agresivas

En la tabla 4 se presenta los resultados de la prueba de estabilidad de los electrodos de espinela de cobalto sin dopar, y dopado con porcentajes variados de óxido de rutenio. El ensayo se realizó en condiciones agresivas. Los resultados fueron medidos como pérdida de masa en función al tiempo. La densidad de corriente utilizada fue de 500 mA/cm^2 en solución de NaCl 6% en masa. El volumen de electrolito utilizado fue de 1 litro, suficiente como para considerar despreciable la variación de la concentración durante el tiempo de electrólisis.

Tabla 4. Pérdida de masa frente al tiempo para un electrodo de $Ti/Co_3O_4-RuO_2$ en NaCl 6% durante 24 horas a $0,5 \text{ A/cm}^2$

Electrodo	Pérdida de masa/mg	Porcentaje de pérdida de masa/ %
Co_3O_4	0,1155	56,2
$Co_3O_4-RuO_2$ (2%)	0,0500	17,7
$Co_3O_4-RuO_2$ (4%)	0,0081	2,9
$Co_3O_4-RuO_2$ (6%)	0,0008	0,3

La menor pérdida de masa del electrodo para las mismas condiciones de electrólisis se encuentra relacionada a una mayor cantidad de óxido de rutenio en su estructura.

CONCLUSIONES

Se ha obtenido y caracterizado electrodos nanoestructurados de Ti/Co_3O_4 y $Ti/Co_3O_4-RuO_2$, empleando la técnica de electrodeposición. Los voltogramas de caracterización han permitido deducir que la mayor actividad catalítica de los electrodos preparados mediante electrodeposición está relacionada a su morfología nanoestructurada. Las técnicas, Raman, DRX, SEM y EDX han permitido caracterizar la estructura y composición de los electrodos Ti/Co_3O_4 y $Ti/Co_3O_4-RuO_2$, definiendo su forma cristalina, además de mostrar que los óxidos forman fases segregadas.

De acuerdo a los resultados de impedancia electroquímica, el electrodo de Ti/Co_3O_4 mejora su conductividad eléctrica al funcionar como ánodo, resultado importante en electrodos que trabajan en celdas de electro-oxidación. La mayor estabilidad de los electrodos está relacionada al RuO_2 incorporado como material dopante.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al CONCYTEC por el financiamiento otorgado a través del PROYECTO PROCYT. A la Dra. Susana Córdoba de Torresi del Laboratorio de Materiales Electroactivos del Instituto de Química de la Universidad de Sao Paulo-Brasil por la estancia concedida para efectuar los análisis de Microscopías Raman e Impedancia Electroquímica.

BIBLIOGRAFÍA

1. L. G. Tejuca, J. L. F. Fierro and J. M. Tascon, *Advances in Catalysis*, Vol. 36, Academic Press, New York (1989)
2. S. Trasatti, Editor, *Studies in Physical and Theoretical Chemistry*, Vol. 11, Elsevier Science, Amsterdam (1980/1981)
3. E. B. Castro and C. A. Gervasi, *Int. J. Hydrogen Energy*, 25, 1163 (2000)
4. R. Boggro, A. Carugati, G. Lodi, and S. Trasatti, *J. Appl. Electrochem.* (1985), 15, 335
5. P. Cox and D. Pletcher, *J. Appl. Electrochem.* (1990), 20, 549
6. P. Cox and D. Pletcher, *J. Appl. Electrochem.* (1991), 21, 11
7. A. Stavart and A. Van Lierde, *J. Appl. Electrochem.* (2001), 31, 469
8. Ailton J. Terezo, Ernesto C. Pereira, *Materials Letters* (2002), 53, 339–345
9. Adriane V. Rosario, Luis O.S. Bulhoes, Ernesto C. Pereira, *Journal of Power Sources* (2006), 158, 795–800
10. Vladimir Panic, Aleksandar Dekanski, Slobodan Milonjic and Branislav Nikolic, *J. Serb. Chem. Soc.* (2006), 71, 1173–1186
11. A. La Rosa-Toro, R. Berenguer, C. Quijada, F. Montilla, E. Morallón, and J. L. Vázquez. *J. Phys. Chem. B* (2006), 110, 24021–24029
12. Suraj Kumar Tripathy, Maria Christy, Nam-Hee Park, Eun-Kyung Suh, ShashiAnand, Yeon-Tae Yu. *Materials Letters* (2008), 62, 1006–1009
13. A. La Rosa Toro Gómez, Miguel Ponce Vargas. *REVCIUNI* (2007), 11, 16-10.

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE “*In vivo*” DE TRES FRUTOS DE LA AMAZONÍA: *Gustavia augusta* L., *Grias neuberthii* Macbr y *Theobroma bicolor*

Dora García^{1*}, Víctor Sotero², Dalva Mancini³, Rosângela Pavan Torres⁴,
Jorge Mancini Filho⁴

RESUMEN

En el presente estudio se evaluó la actividad antioxidante “*in vivo*” del chope (*Gustavia augusta* L), sachamangua (*Grias neuberthii* Macbr), y macambo (*Theobroma bicolor*), de frutos colectados en la región amazónica peruana.. Fueron utilizados 32 ratones albinos del linaje Wistar. Se les dividió en cuatro grupos de ocho animales y un grupo de control. Se les administró 200 µl de los extractos acuosos de los frutos en estudio, y a los de control una solución de glucosa al 1%. Se evaluó en un periodo de 28 días y se obtiene que: En el tejido adiposo, los ácidos grasos poliinsaturados fueron superiores a los de control, destacando el grupo de macambo con 40%. En el hígado, el sachamango logró proteger mejor los ácidos grasos y presenta el valor de 51,11%. En el cerebro, hubo un incremento en la concentración de ácido oleico para los grupos de sachamango 21,55% y macambo 21,77%; ácido linoleico para los grupos chope y sachamangua (1,29 y 1,37%). Los ácidos grasos poliinsaturados fueron superiores a los de control, destacando chope 48,14% y macambo 48,57%.

Palabras clave: *Gustavia augusta*, *Grias neuberthii*, *Theobroma bicolor*, antioxidantes.

EVALUATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY “*In vivo*” OF THREE AMAZON FRUITS: *Gustavia augusta* L., *Grias neuberthii* Macbr AND *Theobroma bicolor*

ABSTRACT

In the present study the antioxidant activity was evaluated "in vivo" of the chope (*Gustavia august* L), sachamangua (*Grias neuberthii* Macbr), and macambo (*Theobroma bicolor*), of fruits collected in the Peruvian Amazon region. They were utilized 32 albino mice of the lineage Wistar. It was divided them into four groups of eight animals and a control group. It was administered them water extracts of the fruits in study, in the concentration of 200 µl and to those of control a solution of glucose to the 1%. It was evaluated in a period of 28 days and is obtained the following results: Fat tissue: the polyunsaturated fatty acids were over those of control, emphasizing the group of macambo with 40%. Sachamango group protected better to the fatty acids in the liver and presents the value of 51,11%, as well as in the brain there was an increment in the concentration of oleic acid, for the groups of sachamango 21,55% and macambo 21,77%; linoleic acid, for the groups chope and sachamangua (1,29 and 1,37%). The polyunsaturated fatty acids were over those of control, emphasizing chope 48,14% and macambo 48,57%.

Key words: *Gustavia augusta*, *Grias neuberthii*, *Theobroma bicolor*, antioxidants

¹ Facultad de Ingeniería Química. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. UNAP-Iquitos-Perú.

² Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana. IIAP-Iquitos-Perú

³ Laboratorio de Virología, Instituto Butantã, São Paulo, Brasil.

⁴ Facultad de Ciencias Farmacéuticas de la Universidad de Sao Paulo

* dora@usp.br, doegato@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

Los frutos chope (*Gustavia augusta* L.), sachamangua (*Grias neuberthii* Macbr) y macambo (*Theobroma bicolor*) son originarios de la amazonía peruana, siendo los dos primeros pertenecientes a la familia Lecytidaceae y el tercero a la familia sterculiaceae; sus frutos son parte de la dieta del poblador amazónico, sea en forma directa, como es el caso de chope y sachamangua o tostando sus semillas, como es el caso del macambo¹.

Se ha encontrado que tanto la pulpa de chope y sachamangua, así como las semillas de macambo presentan un importante porcentaje de inhibición de la actividad antioxidante tanto de sus extractos acuosos, alcohólicos y etéreos, cuando evaluados “in vitro” y comparados con el BHT sintético^{2,3,4}.

Los antioxidantes son sustancias que presentan la propiedad de inhibir las alteraciones oxidativas que puede sufrir una molécula. Todas las moléculas presentes en la naturaleza son blancos potenciales del daño oxidativo: lípidos, proteínas, ácidos nucleicos, carbohidratos y otras. Entre los principales antioxidantes naturales se tiene a los compuestos fenólicos, el ácido ascórbico, el α -tocopherol, los carotenoides, siendo encontrados con mayor frecuencia en las fuentes vegetales, destacándose los frutos, semillas y aceites vegetales⁵.

La destrucción de moléculas lipídicas se manifiesta por la peroxidación, la cual es definida como el deterioro oxidativo de los lípidos poliinsaturados⁶. La oxidación lipídica origina la rancidez debido a la producción de compuestos responsables de los malos olores y la ocurrencia de elevado número de reacciones de polimerización y de rompimiento molecular. Estas reacciones no sólo disminuyen el tiempo de vida y el valor nutritivo de los productos alimenticios, sino que también pueden generar compuestos nocivos al organismo. Los fenómenos de oxidación de los lípidos dependen de mecanismos de reacción diversos y extremadamente complejos, los cuales están relacionados con el tipo de estructura lipídica y el medio donde los lípidos se encuentran, El número y la naturaleza de las insaturaciones presentes, el tipo de interfase³ entre los lípidos y el oxígeno, la exposición a la luz y al calor, la presencia de prooxidantes o de antioxidantes, son factores determinantes para la estabilidad oxidativa de los lípidos⁷.

De acuerdo con la literatura, los ácidos grasos ingeridos en la dieta, que se encuentran en la posición sn-2 de los triglicéridos son los más importantes desde el punto de vista nutricional. Siendo que el destino de los sn-2 monoalquilglicéridos resultantes de la digestión, van a depender de las características fisicoquímicas del ácido graso. Si éste fuera saturado y de cadena larga (de pequeña ocurrencia en la posición sn-2, con excepción del ácido esteárico), no va a ser soluble, siendo arrastrado en las heces y si fuera un ácido graso monoinsaturado o poliinsaturado o sn-2 monoalquilglicerol será absorbido y reesterificado en las células intestinales en sus posiciones libres (sn-1 y sn-3), por los ácidos grasos de origen endógena, y los triglicéridos resultantes serán llevados a circulación como quilomicron^{8,9}.

El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad antioxidante “in vivo” de tres especies amazónicas, como son el chope, macambo y sachamangua, mediante la ingesta de extractos acuosos a ratones por 28 días y, entre éstos el análisis comparativo de su perfil de ácidos grasos.

PARTE EXPERIMENTAL

Material.

Se utilizaron frutos de chope (*Gustavia augusta* L), sacha mangua (*Grias neuberthii* Macbr) y macambo (*Theobroma bicolor*), colectados en los alrededores de la ciudad de Iquitos, y 32 ratones machos albinos del linaje Wistar, (*Rattus norvegicus*, variedad Albinus Rodentia), recién desmamados y obtenidos a partir de la colonia procedente del Bioterio de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas de la Universidad de São Paulo (FCF/USP).

Obtención de la harina para los análisis

Los frutos fueron descascarados, despulpados y retiradas las semillas, manualmente. Las pulpas de los frutos de chope, sachamangua y las semillas del macambo, fueron secadas a 60°C en estufa ventilada. Parte de este material fue colocada en frascos con atmósfera de nitrógeno y almacenada en freezer a -18°C; la otra parte fue triturada en un mixer a la temperatura ambiente (24±1°C) y tamizada (tamiz 32-Mesh). Las harinas así obtenidas fueron acondicionadas en frascos color ámbar bajo una atmósfera de nitrógeno y almacenadas en freezer a -18°C, hasta la realización de cada una de las determinaciones.

Obtención de los extractos

El extracto etéreo, etanólico y acuoso de las harinas de chope, sachamangua y macambo, fueron obtenidos por el método de extracción secuencial (figura 1).

Se pesaron 20 gramos de harina de cada una de las muestras, adicionados 100 ml de éter etílico y agitado en el homogenizador por una hora a temperatura ambiente (24°C); en seguida la solución es filtrada en embudo de Buchner y completado el volumen a 100 ml con éter etílico. Los residuos fueron recuperados a través de secado en estufa a 60°C; se pesó. Para la obtención de los demás extractos (alcohólico y acuoso), se siguió el mismo procedimiento de obtención que para el extracto etéreo, en la misma proporción de 1:5. Fueron colocados en frascos color ámbar, con atmósfera de nitrógeno y almacenados a -18°C.

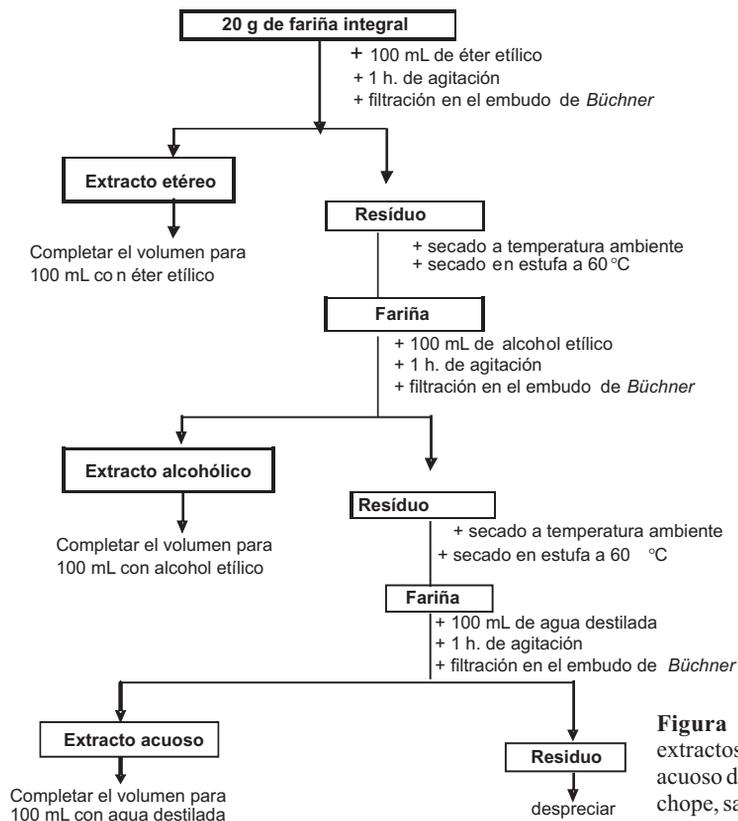


Figura 1. Obtención de los extractos etéreo, alcohólico y acuoso de la harina de los frutos de chope, sachamangua y macambo.

Actividad antioxidante “in vivo”

Para evaluar la actividad antioxidante in vivo, se realizó de la siguiente manera:

Todos los grupos fueron de ocho ratones cada uno, y se les administró extractos acuosos en medidas de 200 μ l de los diferentes frutos en estudio. Se mantuvo un grupo control, al cual se les administró 200 μ l de un placebo de glucosa al 1%. El consumo de agua y ración alimenticia fue “ad libitum”. El periodo del experimento fue de 28 días.

Para diferenciar la evolución de la actividad antioxidante de los extractos, se sacrificaron los ratones y se les realizó análisis de perfil de ácidos grasos en el tejido adiposo, cerebro, hígado y plasma. Para lo cual se mutilan las muestras y se someten a comparación con un estándar de ésteres metílicos de ácidos grasos, utilizando un cromatógrafo de gases, marca Shimadzu modelo 17-A, equipado con detector de ionización de llama y una columna capilar de 30 m por 0,25 mm de diámetro interior (carboxmax 20). La temperatura para la operación fue inicialmente de 150°C, y programada para incrementarse hasta 210°C a 3°C/min. Se utilizó helio como gas de arrastre, a razón de 1 ml/min¹⁰.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se presentan los promedios y porcentajes de aumento de peso de los ratones del grupo control y de los ratones que recibieron 200 μ l de los extractos acuosos de chopé, sachamangua y macambo durante 28 días. Se observa que el mayor aumento de peso fue en los ratones del grupo que recibió el extracto del chopé.

Los animales presentaron un desarrollo dentro de lo esperado demostrando así que no hay efectos antinutricionales en los extractos estudiados que pueda comprometer el crecimiento de los animales.

Tabla 1. Media del porcentaje del aumento de peso de los ratones control y de los ratones que fueron administrados con 200 μ l del extracto acuoso de los frutos de chopé, sachamangua y macambo durante 28 días

Días	control	chopé	sachamangua	macambo
0	56,85 \pm 4,10	53,76 \pm 11,83	58,79 \pm 2,57	57,98 \pm 3,70
7	83,65 \pm 7,35	86,51 \pm 6,18	84,51 \pm 3,83	86,99 \pm 5,38
14	109,86 \pm 10,02	116,46 \pm 8,55	114,74 \pm 9,92	117,35 \pm 8,46
21	129,29 \pm 11,81	148,09 \pm 11,65	146,67 \pm 11,62	141,80 \pm 13,68
28	158,19 \pm 15,65	173,94 \pm 19,37	168,74 \pm 16,24	164,10 \pm 16,76
Peso ganado (g.)	101,34^a	120,18^a	109,95^a	106,12^a

^a No difieren estadísticamente entre sí al nivel de 5%.

Tabla 2. Perfil de ácidos grasos del tejido adiposo de los ratones del grupo control y de los ratones que fueron administrados con 200 µl del extracto acuoso de los frutos durante 28 días.

Ác. grasos	Control	Chopé	Sacha mangua	Macambo
C 10:0	0,14 ± 0,09 ^a	0,09 ± 0,04 ^a	0,11 ± 0,05 ^a	0,16 ± 0,08 ^a
C 12:0	0,36 ± 0,21 ^a	0,26 ± 0,12 ^a	0,29 ± 0,09 ^a	0,40 ± 0,16 ^a
C 14:0	1,67 ± 0,15 ^a	1,57 ± 0,23 ^a	1,52 ± 0,25 ^a	1,61 ± 0,15 ^a
C 15:0	0,26 ± 0,05 ^a	0,25 ± 0,02 ^{ab}	0,26 ± 0,06 ^{abc}	0,33 ± 0,08 ^{ac}
C 16:0	24,84 ± 1,97 ^a	24,10 ± 1,96 ^a	23,31 ± 2,18 ^a	23,03 ± 0,92 ^a
C 17:0	0,25 ± 0,04 ^a	0,25 ± 0,02 ^{ab}	0,25 ± 0,04 ^{abc}	0,30 ± 0,06 ^{ac}
C 18:0	3,96 ± 0,51 ^a	3,83 ± 0,36 ^a	3,77 ± 0,58 ^a	3,82 ± 0,64 ^a
C 20:0	0,09 ± 0,01 ^a	0,07 ± 0,01 ^a	0,07 ± 0,02 ^a	0,07 ± 0,01 ^a
	Σ 31,57	Σ 30,42	Σ 29,58	Σ 29,72
Saturados				
C 16:1	4,98 ± 0,91 ^a	4,95 ± 1,16 ^a	4,56 ± 1,55 ^a	4,42 ± 0,93 ^a
C 17:1	0,26 ± 0,12 ^a	0,22 ± 0,03 ^a	0,23 ± 0,04 ^a	0,28 ± 0,07 ^a
C 18:1	24,87 ± 1,16 ^a	25,65 ± 1,10 ^{ab}	24,77 ± 0,98 ^{abc}	24,17 ± 0,49 ^{ac}
C 20:1	0,38 ± 0,06 ^a	0,34 ± 0,04 ^a	0,37 ± 0,08 ^a	0,37 ± 0,06 ^a
	Σ 30,49	Σ 31,16	Σ 29,93	Σ 29,24
Monoinsaturados				
C 18:2	30,75 ± 1,77 ^a	33,74 ± 3,09 ^{ab}	35,92 ± 3,41 ^b	35,84 ± 1,42 ^b
C 18:3	2,01 ± 0,21 ^a	1,99 ± 0,31 ^a	2,10 ± 0,37 ^a	2,17 ± 0,26 ^a
C 20:3	0,26 ± 0,14 ^a	0,23 ± 0,03 ^a	0,21 ± 0,04 ^a	0,22 ± 0,02 ^a
C 20:4 (n -6)	1,35 ± 0,30 ^a	1,28 ± 0,26 ^a	1,19 ± 0,33 ^a	1,32 ± 0,26 ^a
C 20:5	0,09 ± 0,02 ^a	0,11 ± 0,02 ^a	0,08 ± 0,03 ^a	0,10 ± 0,02 ^a
C 22:5	0,17 ± 0,04 ^a	0,17 ± 0,06 ^a	0,12 ± 0,05 ^a	0,13 ± 0,04 ^a
C 22:6	0,35 ± 0,09 ^a	0,32 ± 0,08 ^a	0,30 ± 0,10 ^a	0,34 ± 0,07 ^a
	Σ 34,98	Σ 37,84	Σ 39,92	Σ 40,12
Poliinsaturados				
	nd 2,96	nd 0,58	nd 0,57	nd 0,92

Nota:

Los valores están expresados en media desvío padrón.

nd = no detectado

^{a,b,c} Medias en la misma línea seguidas de letras diferentes, difieren estadísticamente entre sí al nivel de 5%, comparando las muestras con el grupo control.

En la tabla 2 se presenta el perfil de ácidos grasos del tejido adiposo de los ratones del grupo control y de los ratones de los grupos experimentales que recibieron los extractos acuosos de las muestras de chopé, sachamangua y del macambo.

Dentro de los datos presentados, se puede observar una mayor incidencia de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados. Se verifica también que dentro de éstos, el ácido linoleico se presentó en mayor cantidad en los animales que recibieron extractos acuosos de los frutos en relación al grupo control. Es posible que este efecto esté relacionado con la acción protectora de los compuestos fenólicos en los extractos administrados.

Las sumatorias de los ácidos grasos poliinsaturados fueron superiores en los animales que recibieron los extractos acuosos de macambo, sachamangua y chopé cuando son comparados con el grupo control, indicando así que existe un posible efecto protector de los extractos sobre los ácidos grasos poliinsaturados.

De acuerdo a la tabla 3 donde son presentados los resultados de la peroxidación lipídica de los hígados de los ratones, tanto del grupo control como de los grupos experimentales, se observa que hubo una diferencia estadísticamente significativa en relación al grupo control, y la mejor protección fue para el macambo (0,06 μmol de MDA/mg de proteína) que presentó mejores resultados comparados con los otros dos extractos.

Se puede atribuir esta diferencia a la acción de los compuestos fenólicos de los extractos administrados toda vez que actuarían como antioxidantes de los ácidos grasos.

Asociando las informaciones entre el perfil de los ácidos grasos de los hígados (tabla 4) y la medida de la peroxidación lipídica (tabla 3) verificamos que hubo incremento en el contenido de los ácidos linoleico, araquidónico, y docosahexaenóico en los grupos experimentales en relación al control y menor concentración de malonaldehído se puede deducir que hay una fuerte evidencia de la acción inhibitoria de los compuestos fenólicos de los extractos sobre el proceso oxidativo en el tejido.

Tabla 3. Peroxidación lipídica de los hígados de los ratones control y de los ratones que fueron administrados con 200 μl del extracto acuoso de los frutos durante 28 días

Grupos	Peroxidación lipídica (μmol de MDA/mg de proteína)
Control	0,11 \pm 0,01 ^a
Chopé	0,09 \pm 0,02 ^b
Sachamangua	0,08 \pm 0,03 ^b
Macambo	0,06 \pm 0,01 ^c

Nota:

Los valores están expresados en medias desvío padrón.

^{a,b,c} Medias en la columna seguidas de letras diferentes, difieren estadísticamente entre sí al nivel de 5 % ($P < 0.05$) comparando las muestras con el grupo control.

Tabla 4. Perfil de ácidos grasos de los hígados de los ratones control y de los ratones que fueron administrados con 200 µl del extracto acuoso de los frutos durante 28 días

Ác. Grasos	Control	Chopé	Sacha mangua	Macambo
C 12:0	0,48 ± 0,08	nd	nd	nd
C 14:0	0,61 ± 0,26 ^a	0,31 ± 0,04 ^b	0,34 ± 0,06 ^b	0,36 ± 0,09 ^b
C 15:0	0,36 ± 0,05 ^a	0,41 ± 0,08 ^a	0,37 ± 0,09 ^a	0,43 ± 0,10 ^a
C 16:0	16,67 ± 1,77 ^a	16,83 ± 0,68 ^a	16,15 ± 1,79 ^a	16,56 ± 0,98 ^a
C 17:0	0,78 ± 0,06 ^a	0,73 ± 0,21 ^a	0,68 ± 0,12 ^a	0,90 ± 0,21 ^a
C 18:0	15,70 ± 2,51 ^a	17,04 ± 1,10 ^a	14,81 ± 1,42 ^{ab}	17,33 ± 0,81 ^{ac}
	Σ 34,6	Σ 35,32	Σ 32,35	Σ 35,58
Saturados				
C 16:1	1,22 ± 0,45 ^a	0,68 ± 0,23 ^b	0,74 ± 0,26 ^a	0,79 ± 0,09 ^b
C 17:1	nd	0,27 ± 0,11 ^a	nd	0,28 ± 0,07 ^a
C 18:1	13,82 ± 2,71 ^a	10,16 ± 0,55 ^b	11,15 ± 1,96 ^a	10,38 ± 0,94 ^b
C 20:1	nd	nd	nd	0,27 ± 0,07
	Σ 15,04	Σ 11,11	Σ 11,89	Σ 11,72
Monoinsaturados				
C 18:2	20,48 ± 1,25 ^a	22,52 ± 1,52 ^a	21,61 ± 1,95 ^a	21,84 ± 1,71 ^a
C 18:3	0,67 ± 0,21	0,55 ± 0,09	0,62 ± 0,21	0,54 ± 0,13
C 20:2	nd	nd	1,26 ± 0,77	0,75 ± 0,14
C 20:3	0,77 ± 0,13 ^a	0,76 ± 0,11 ^a	0,70 ± 0,21 ^a	nd
C 20:4 (n-6)	17,79 ± 2,65 ^a	21,40 ± 1,79 ^b	18,21 ± 2,28	22,37 ± 1,91 ^b
C 20:4 (n-3)	nd	0,30 ± 0,09	2,07 ± 0,89	0,33 ± 0,09
C 20:5	nd	0,29 ± 0,05	nd	0,26 ± 0,05 ^a
C 22:3	nd	nd	2,43 ± 1,00	nd
C 22:5	0,62 ± 0,14 ^a	0,80 ± 0,11 ^a	0,81 ± 0,25 ^a	0,79 ± 0,13 ^a
C 22:6	3,28 ± 0,52 ^a	3,84 ± 0,26 ^a	3,40 ± 0,53 ^a	3,41 ± 0,50 ^a
	Σ 43,61	Σ 50,46	Σ 51,11	Σ 50,29
Poliinsaturados				
	nd 6,75	nd 3,11	nd 4,65	nd 2,41

Nota:

Los valores están expresados en media desvío padrón.

nd=no detectado

^{a,b,c} Medias en la misma línea seguidas de letras diferentes, difieren estadísticamente entre sí al nivel de 5%, comparando las muestras con el grupo control.

Además, se puede observar también la presencia de ácidos grasos de cadena larga, tales como el C 20:4 (n-3) y C 20:5 productos de la elongación y desaturación de los ácidos grasos esenciales, los cuales son altamente susceptibles al proceso oxidativo por el elevado número de dobles enlaces, siendo esto una evidencia más de la inhibición de la oxidación de los compuestos fenólicos presentes en los extractos de las muestras.

No fue verificada diferencia estadística en el contenido del DHA y del EPA; pero hubo incremento en los grupos experimentales; por tanto, se hace necesario investigar si tanto el aumento del tiempo de consumo como la concentración de los extractos puedan tener una mayor acción antioxidante sobre los ácidos grasos de los tejidos.

De acuerdo con los datos del perfil de ácidos grasos de los cerebros de los ratones del grupo control y de los ratones de los grupos experimentales presentados en la tabla 5, se puede observar que en los grupos experimentales sachamangua y macambo hubo un incremento en el contenido de ácido oleico, así como el ácido linoleico tuvo la misma tendencia para los grupos chopé y sachamangua, siendo que este incremento no fue estadísticamente significativo cuando es comparado con el grupo control. Sin embargo, fue observado la presencia de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga como C 20:5 y C 22:5 en los grupos experimentales. Tales ácidos grasos son resultantes de la síntesis a partir del ácido linoleico, lo que lleva a suponer que también en el cerebro los extractos administrados a los ratones presentaron acción antioxidante del ácido linoleico, permitiéndose así que hubiese la síntesis de esos compuestos. Acentuando la evidencia de la acción protectora de los compuestos fenólicos de los extractos testados

Tabla 5. Perfil de ácidos grasos de los cerebros de los ratones control y de los ratones que fueron administrados con 200 μ l del extracto acuoso de los frutos durante 28 días

Ác. grasos	Control	Chopé	Sachamangua	Macambo
C 14:0	0,16 \pm 0,03 ^a	0,15 \pm 0,02 ^{ac}	0,28 \pm 0,16 ^b	0,16 \pm 0,03 ^{ac}
C 16:0	19,32 \pm 0,46 ^a	19,99 \pm 0,89 ^{ab}	19,23 \pm 0,93 ^a	18,74 \pm 0,60 ^{ab}
C 17:0	0,29 \pm 0,06 ^a	0,40 \pm 0,3 ^a	0,26 \pm 0,03 ^a	0,31 \pm 0,03 ^a
C 18:0	21,68 \pm 0,40 ^a	21,31 \pm 0,6 ^{a 3}	21,66 \pm 0,20 ^a	21,55 \pm 0,17 ^a
C 20:0	0,42 \pm 0,12 ^a	0,30 \pm 0,05 ^a	0,35 \pm 0,06 ^a	0,35 \pm 0,09 ^a
C 22:0	0,29 \pm 0,06 ^a	nd	nd	nd
	Σ 42,16	Σ 42,15	Σ 41,78	Σ 41,11
Saturados				
C 16:1	0,53 \pm 0,05 ^a	0,51 \pm 0,08 ^{ac}	0,38 \pm 0,05 ^{bd}	0,57 \pm 0,12 ^{ac}
C 17:1	4,42 \pm 0,15 ^a	4,26 \pm 0,13 ^a	4,39 \pm 0,25 ^a	4,49 \pm 0,20 ^a
C 18:1	21,27 \pm 0,96 ^a	20,09 \pm 0,90 ^{ac}	21,55 \pm 0,81 ^{ab}	21,77 \pm 1,00 ^{ab}
C 20:1	1,87 \pm 0,43	1,54 \pm 0,40	2,06 \pm 0,41	2,10 \pm 0,58
	Σ 28,09	Σ 26,40	Σ 28,38	Σ 28,93

sigue pág. 52 ...

...viene de pág. 51

Monoinsaturados				
C 18:2	1,17 ± 0,31 ^a	1,29 ± 0,48 ^a	1,37 ± 0,64 ^a	1,02 ± 0,15 ^a
C 20:2	0,14 ± 0,05 ^a	0,53 ± 0,19 ^a	nd	0,39 ± 0,09
C 20:3	0,20 ± 0,09 ^a	0,19 ± 0,03 ^a	nd	nd
C 20:4 (n-6)	9,99 ± 0,47 ^a	9,96 ± 0,68 ^a	9,54 ± 0,49 ^a	9,59 ± 0,69 ^a
C 20:5	nd	0,25 ± 0,05	0,29 ± 0,05	0,31 ± 0,05
C 22:5	nd	0,45 ± 0,12	0,36 ± 0,06	0,40 ± 0,08
C 22:6	11,40 ± 0,50	11,60 ± 0,38 ^a	11,25 ± 0,26 ^a	11,18 ± 0,47 ^a
	Σ 22,90	Σ 24,27	Σ 22,81	Σ 22,89
Poliinsaturados				
	nd 6,85	nd 7,18	nd 7,03	nd 7,07

Nota:

Los valores están expresados en media ± desvío padrón.

nd = no detectado

^{a,b,c,d} Medias en la misma línea seguidas de letras diferentes, difieren estadísticamente entre sí al nivel de 5%, comparando las muestras con el grupo control.

Trabajando con dietas¹¹ conteniendo 100 ppm de α -tocoferol, 100 ppm de BHT y 1,4 gr de extracto de alecrín proporcionados a los peces (paco) en cautiverio, se demostró que el uso de antioxidantes en la dieta alteró la composición de los ácidos grasos en los filetes del “paco”, siendo que los valores de TBARS y la irradiación confirmaron el papel importante de los antioxidantes para proteger a los ácidos grasos frente a la oxidación lipídica concordando con nuestros resultados.

En la tabla 6 están presentados los ácidos grasos del plasma de los ratones control y de los animales experimentales; observándose mayores contenidos de los ácidos grasos insaturados en comparación con los ácidos grasos del plasma del grupo control (39,92%). Destacándose los ácidos grasos insaturados en los animales que recibieron extracto de macambo (48,57%) y de chopé (48,14%) y con menor contenido para la sachamangua (47,12%). De la misma forma, como ya fue comentado en los otros experimentos, el mantenimiento de la integridad de los ácidos grasos insaturados se debe a diversos mecanismos, siendo uno de ellos la capacidad de los antioxidantes que el organismo presenta. Dentro de los factores que puedan estimular esta propiedad en los organismos están los antioxidantes consumidos.

Individualmente se destaca el ácido linoleico (C 18:2) en las tres muestras cuyos contenidos fueron significativamente superiores a los del grupo control. Vale también resaltar la diferencia producida del contenido del ácido araquidónico (C20:4). Estos valores incrementados sugieren que los compuestos fenólicos pudieran ser absorbidos y transportados a través del plasma para alcanzar los tejidos estudiados del hígado, el tejido adiposo y el cerebro, teniendo una acción protectora durante todo el proceso fisiológico y metabólico de los animales.

Tabla 6. Perfil de ácidos grasos del plasma de los ratones control y de los ratones que fueron administrados con 200 µl del extracto acuoso de los frutos durante 28 días

Ác. grasos	Control	Chopé	Sacha mangua	Macambo
C 12:0	0,33 ± 0,10 ^a	0,38 ± 0,08 ^a	0,40 ± 0,10 ^a	0,39 ± 0,14 ^a
C 14:0	2,86 ± 0,78 ^a	2,49 ± 0,37 ^a	2,56 ± 0,43 ^a	2,38 ± 0,32 ^a
C 15:0	0,58 ± 0,17 ^a	0,56 ± 0,09 ^a	0,64 ± 0,11 ^a	0,65 ± 0,08 ^a
C 16:0	22,50 ± 1,44 ^a	18,82 ± 0,98 ^b	19,43 ± 0,99 ^b	18,86 ± 1,17 ^b
C 17:0	0,95 ± 0,52 ^a	1,17 ± 0,57 ^c	1,06 ± 0,42 ^a	1,53 ± 1,43 ^a
C 18:0	8,23 ± 1,68 ^a	9,93 ± 0,99 ^b	9,61 ± 0,76 ^{ab}	9,96 ± 0,66 ^b
	Σ 35,45	Σ 33,35	Σ 33,70	Σ 33,77
Saturados				
C 16:1	1,81 ± 0,63 ^a	1,55 ± 0,33 ^a	2,08 ± 0,31 ^a	1,62 ± 0,47 ^a
C 17:1	0,63 ± 0,27 ^a	0,93 ± 0,38 ^{ab}	0,87 ± 0,25 ^{ab}	0,49 ± 0,08 ^{ac}
C 18:1	13,54 ± 1,65 ^a	12,92 ± 1,20 ^a	13,57 ± 1,41 ^a	13,18 ± 1,21 ^a
	Σ 15,98	Σ 15,40	Σ 16,52	Σ 15,29
Monoinsaturados				
C 18:2	23,07 ± 1,17 ^a	27,50 ± 2,09 ^b	28,73 ± 1,82 ^b	28,94 ± 1,59 ^b
C 18:3	1,26 ± 0,57 ^a	1,05 ± 0,29 ^a	1,10 ± 0,19 ^a	1,00 ± 0,15 ^a
C 18:4	0,67 ± 0,20 ^a	0,50 ± 0,19 ^a	0,57 ± 0,04 ^a	nd
C 20:2	1,22 ± 0,45 ^a	0,88 ± 0,22 ^{ab}	1,15 ± 0,25 ^{ab}	0,67 ± 0,46 ^b
C 20:4 (n-6)	12,57 ± 2,66 ^a	16,86 ± 1,16 ^b	14,41 ± 2,52 ^{ab}	16,51 ± 1,87 ^b
C 22:6	1,13 ± 0,27 ^a	1,35 ± 0,12 ^b	1,16 ± 0,22 ^{ab}	1,45 ± 0,19 ^b
	Σ 39,92	Σ 48,14	Σ 47,12	Σ 48,57
Poliinsaturados				
	nd 8,65	nd 3,11	nd 2,66	nd 2,37

Nota:

Los valores están expresados en media desvío padrón.

nd= no detectado

^{a,b,c} Medias en la misma línea seguidas de letras diferentes, difieren estadísticamente entre sí al nivel de 5%, comparando las muestras con el grupo control.

Teniendo en cuenta los resultados promisorios obtenidos en los diferentes experimentos de este trabajo, se percibe la necesidad de la realización de otros estudios en esta misma línea, visando una adecuación de la dosis con el efecto, y obtención de mayores informaciones volcada a la seguridad en el consumo de antioxidantes naturales por los humanos.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los análisis realizados se puede concluir que:

- Por el aumento del peso de los ratones que recibieron los extractos acuosos de los tres frutos testados se puede concluir que los animales se desarrollaron normalmente, demostrando así que las muestras no presentaron efectos antinutricionales aparentes.
- Las mejores “protecciones” de los extractos acuosos en las muestras sobre los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados “in vivo” con respecto al control fueron:
 - a. En el tejido adiposo los extractos de las tres muestras presentaron buena protección.
 - b. En el cerebro los extractos presentaron buena protección siendo detectados los ácidos grasos de cadena larga en los grupos experimentales, tales como el C 20:5 y C 22:5.
 - c. En el plasma los extractos presentan buena protección y preservación de los ácidos grasos poliinsaturados, tales como el C 18:2 (ω -6), C 20:4 (ω -6) y C 22:6 (ω -3).
 - d. En el hígado, órgano que desempeña importante papel en la metabolización de los compuestos fenólicos y de los ácidos grasos, se destaca la elevada protección frente a la oxidación, siendo que el valor del TBARS fue menor para el grupo experimental “macambo”. Además de eso, se observó la aparición de ácidos grasos de cadena larga en los grupos experimentales, tales como el C 20:4 (ω -6), C 20:5 (ω -3) en los grupos del “chopé” y del “macambo” y C 22:3 (ω -3) en el grupo de la “sachamanga”.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a CAPES “Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior”, por el apoyo financiero otorgado para poder desarrollar esta investigación; a la Facultad de Ciencias Farmacéuticas de la Universidad de São Paulo por el apoyo en la parte experimental. El presente trabajo fue parte de la Tesis de la autora principal para obtener el grado de Doctora en Ciencia de los Alimentos y, finalmente a la Sociedad Química del Perú por darnos la oportunidad de hacer realidad la publicación del artículo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Flores, P.S. Cultivo de frutales nativos amazónicos: Manual para el extensionista. Lima. Secretaría Pro Tempore, 1997, p. 307.
2. García, D.E.G., Mancini, D.A.P., Pavan Torres, R., Mancini-Filho, J. Antioxidant activity of macambo (*Theobroma bicolor*) extracts. *Eur. J. Lipid. Sci. Technol*, 2000; 104: 278-281.
3. García, D.E, Sotero V.E, Manzini D, Pavan Torres, R., Mancini filho J., Actividad antioxidante de los extractos del chope (*Gustavia augusta* L). *Rev. Soc. Quím. Perú*, 2009; (75)3: 374-381,
4. García de Sotero, D., Pavan Torres, R., Mancini Dalva, Portari, A., Jorge Mancini filho, J. Actividad antioxidante de los frutos de la sachamangua (*Grias neubertii* Macbr). *Alimentaria*, 2003; N° 343:87-92,

5. Gutteridge, J.M.C., halliwell, B. Antioxidants in nutrition, health and disease. Oxford. New York, Oxford University, 1994; p. 143
6. Halliwell, B, Gutteridge, J,M.C. Free radicals in biology and medicine. 2 ed. Oxford. Clarendon, 1989; p. 366-415.
7. Silva, F.A.M. Borges, M.F.M. Ferreira, M.A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. *Qui. Nova*. São Paulo, 1999; v. 22, n. 1, p. 94-103.
8. Miller, K.W., Small, D.M. Structure of trygliceride-rich lipoproteins and analysis of core and surphase phases. In: GOTTO Jr. A new comprehensive biochemistry: plasma proteins. New York. Elsevier, 1987; p. 1-75.
9. Valenzuela, A. Digestión de los triglicéridos. PUFA infocus: LC-polyunsaturasted fatty acids. Santiago, 1999; n.2, p. 2-4.
10. Hartman, L., Lago, B.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids, *Lab. Pract*, 1973; 22:475-477.
11. Santana, L.S., Mancini-Filho, J. Influence of the addition of antioxidants *in vivo* on the fatty acid composition of fish fillets. *Food Chem. Amsterdam*, 2000; v.68; p. 175-178.

CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO FITOQUÍMICO DE LA *Psiloparmelia distincta* (NYL.) HALE

Olivio Nino Castro Mandujano^{1*}

RESUMEN

En el presente trabajo se realizó el aislamiento y estudio de sustancias líquénicas de la especie: *Psiloparmelia distincta* (Nyl.). Se hicieron extracciones sucesivas con acetona y metanol. Se separaron y purificaron algunos compuestos de los extractos; para ello se usaron solventes y mezclas de solventes de polaridad creciente, empleando diversas técnicas cromatográficas y recristalizaciones. Se elucidaron y se determinaron las estructuras de los compuestos obtenidos, analizando sus espectros de IR, RMN-H¹, RMN-C¹³, DEPT y EM; estos compuestos son: H (ácido 2-hidroxi-3-formil-4-etoxi-6-metil-benzoico), A (ácido fumarprotocetrárico).

Palabras clave: liquen, *Psiloparmelia distincta*, ácido 2-hidroxi-3-formil-4-etoxi-6-metil-benzoico, ácido fumarprotocetrárico.

CONTRIBUTION TO THE PHYTOCHEMISTRY STUDY OF THE *Psiloparmelia distincta* (NYL.) HALE

ABSTRACTS

In the present work was realized the isolation and study of lichen substances of the *Psiloparmelia distincta* (Nyl.). Successive extractions were done by acetone and methanol. It was separated and purified some compounds of the extracts, using solvents and mixtures of solvents of increasing polarity, in diverse chromatographic methods and recrystallizations. They were elucidated and decided the structures of the obtained compounds, analyzing his spectra of UV, IR, RMN-H¹, RMN-C¹³, DEPT and EM; these compounds are: H (acid 2-hydroxi-3-formil-4-etoxi-6-methyl-benzoic), A (acid fumarprotocetrárico).

Key words: Lichen, *Psiloparmelia distincta*, acid 2-hidroxi-3-formil-4-etoxi-6-metil-benzoic, fumarprotocetraric acids.

INTRODUCCIÓN

El liquen es un organismo simbiótico conformado por un hongo y un alga. Mientras el hongo se encarga del abastecimiento del agua y sales minerales, el alga provee los productos fotosintéticos, como los glúcidos. Los líquenes son consorcios biológicos de amplia difusión, que se encuentran en diversos tipos de climas, desde la región ártica hasta la región antártica; desde el nivel del mar hasta en las altas montañas; también se encuentran en los desiertos donde la temperatura es variable o en regiones polares donde las temperaturas son extremadamente bajas. Crecen^{1,2} sobre rocas, corteza, hojas de árboles, suelos, etc.

¹ Departamento de Ciencias, Pontificia Universidad Católica del Perú,
Av. Universitaria 1801, San Miguel, Lima, Perú

* ocastro@puccp.pe

Se aplica el término de “compuestos liquénicos” a todos los compuestos sintetizados exclusivamente por líquenes. Los tipos de compuestos liquénicos según su estructura son: Dépsidos, depsidonas, depsona, ácidos úsnicos y dibenzofuranos. Los líquenes son indicadores de la contaminación del ambiente, tiene las siguientes propiedades:

- Propiedades farmacológicas.
- Capacidad quelante.
- Participa en reacciones fotoquímicas ligadas a cationes.
- Capacidad pigmentante.

Para la especie liquénica en estudio, según encuesta a los lugareños de la zona de recolección, se reportó su uso medicinal en dolencias como tos, bronquitis, etc^{3,4}.

PARTE EXPERIMENTAL

Muestra vegetal.- El líquen en estudio fue clasificado taxonómicamente por la Dra. Magdalena Pavlich de la Universidad Peruana Cayetano Heredia y por la Dra. Mónica T. Adler de la Universidad de Buenos Aires – Argentina; ambas coincidieron con la siguiente clasificación taxonómica: *Psiloparmelia distincta* (Nyl.) Hale, familia Parmeliaceae.

La muestra en estudio (figura 1), constituye el líquen completo, el cual ha sido recolectado por Nino Castro, en el departamento de Junín, provincia de Jauja, en el pueblo Cachi-Cachi a una altitud de 4200 msnm, en marzo de 1998 (primera recolección para la identificación y estudios preliminares) y mayo de 2000 (segunda recolección para el aislamiento de compuestos liquénicos).

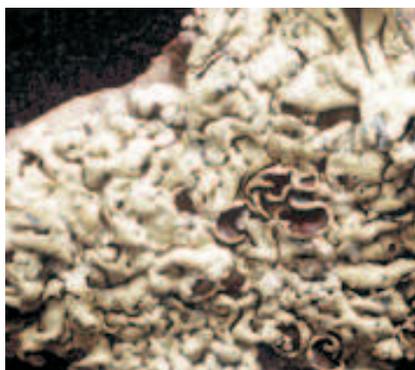


Figura 1: *Psiloparmelia distincta*

Se ha realizado una marcha fitoquímica según Lock, 1994; además, se ha llevado a cabo reacciones de coloración para los líquenes, según Robles, 1992.

Aislamiento. Un kilogramo de muestra limpia, seca y molida, se sometió a dos extracciones sucesivas por maceración con acetona; se extrajo dos veces con metanol; se concentraron los extractos y se obtuvo 65,2 g de extracto acetónico EA y 11,2 g de extracto metanólico EB. De cada extracto se fracciona por solubilidad en diversos solventes (hexano, cloroformo, acetona y etanol).

La fracción hexánica dio un residuo cremoso el que se purificó por recristalización con MeOH-acetona 1:1, hasta obtener 65 mg del compuesto H como cristales blancos, en forma de agujas muy finas, solubles en cloroformo y ligeramente solubles en metanol, con punto de fusión de 103-104 °C. Tienen reacción positiva con KOH (5% acuoso) dando una coloración amarilla.

La separación del extracto metanólico EB, se realizó aumentando la polaridad: hexano, cloroformo, acetona y metanol. La fracción metanólica se concentra y el sólido obtenido se disolvió con MeOH-acetona 1:1; se calentó y al dejarse en reposo a 0 °C se precipitó un sólido el cual fue recristalizado en el mismo sistema dando los cristales A, 100 mg.^{2,3,6}

Se realiza un análisis por HPLC, y se envía la muestra al Dr. J. Elix, químico orgánico (Universidad Nacional de Australia) especialista en plantas líquénicas quien tiene una base de datos para líquenes en el HPLC. La muestra fue disuelta en acetona fría, se decantó y se tomó una alícuota para inyectar al Cromatógrafo⁷. Las condiciones instrumentales fueron: Cromatógrafo HPLC Kontron HPLC, Systems-Data, 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; la fase móvil es el agua bidestilada con 1% de ácido ortofosfórico, flujo 0,7 mL/min; volumen de inyección 5 µL, longitud de onda a 245 nm.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis cualitativo. Los resultados del análisis indican que el líquen en estudio posiblemente contiene ácidos fenólicos, depsidonas, dépsidos, ácidos úsnicos, fenoles y triterpenos y que no contiene alcaloides, flavonoides ni antraquinonas.

Elucidación estructural del compuesto H

El espectro IR del compuesto H (medido en KBr), mostró las absorciones como a 3478 cm⁻¹ alargamiento de OH, a 2997 cm⁻¹ alargamiento de C-H del CH₂, a 2448 cm⁻¹ alargamiento de C-H aldehídico, a 1738 cm⁻¹ alargamiento de C=O carboxilo, a 1700 cm⁻¹ flexión C=O aldehídico, a 1414 flexión C-O-H en el plano del COOH, y a 1395 cm⁻¹ flexión O-H carboxílico. La tabla de la composición elemental del espectro de masas, figura 2, se obtuvo la siguiente información: la fórmula global es C₁₁H₁₂O₅, su peso molecular es 224, el pico padre es 150, los fragmentos son 196 (pérdida de un CO), 178 (pérdida de H₂O a partir del fragmento 196), 150 (pérdida de CO a partir de 178).

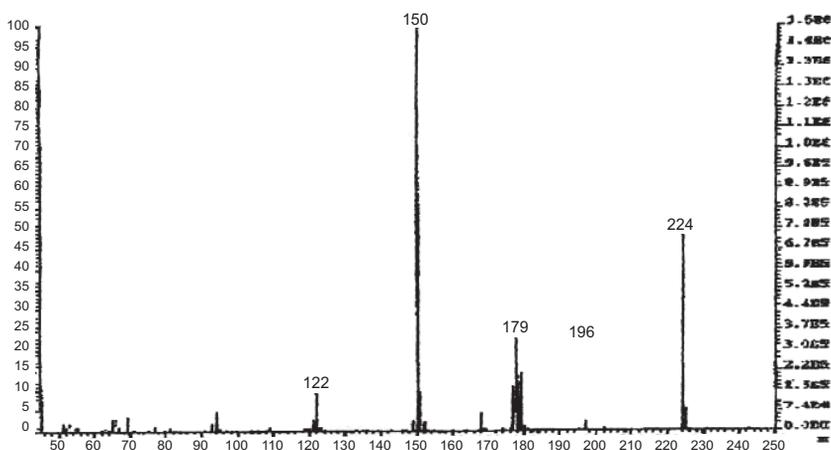


Figura 2: Espectro de masas del sólido H

Analizando los espectros de RMN-¹³C y del RMN-DEPT, figuras 3 y 4, se logró identificar la presencia de los grupos, =CH, -CH₂-, -CH₃; carbonos sp² del tipo bencénico, ácido y aldehídico; la información está resumida en la tabla 1. El espectro DEPT a 90° reconoce las señales del tipo C-H asignadas al carbono que contiene el único H aromático y al carbono aldehídico; el DEPT 135° diferencia los tipos de carbono: 2 del tipo CH₃, uno del tipo CH₂ y dos del tipo CH; hay 5 carbonos cuaternarios⁸⁻¹¹.

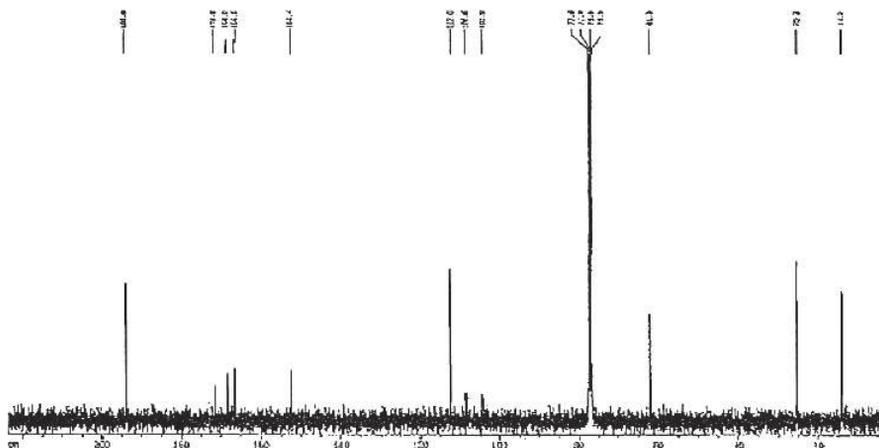


Figura 3: Espectro de RMN-C¹³ del sólido H

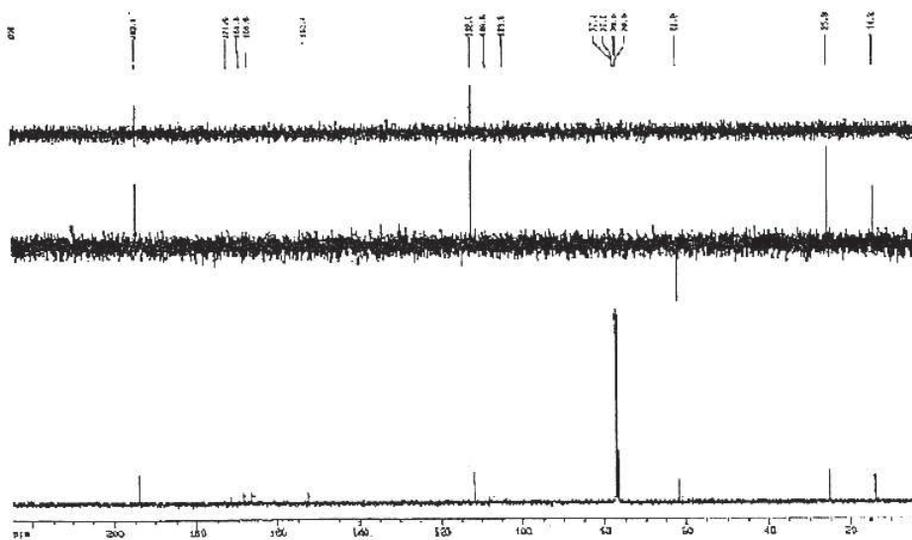


Figura 4: Espectro de RMN-C¹³ DEPT del sólido H

Tabla 1: Datos del espectro de RMN-¹³C del compuesto H

δ (ppm)	Asignación
1,5	3H, t, -CH ₃
2,5	3H, d, -CH ₃
4,4	2H, c, -CH ₂ -
6,3	1H, s, aromático
10,3	1H, s, -CHO
12,4	1H, s, Φ -OH
12,9	1H, s, -COOH

Analizando el espectro de RMN-¹H, figura 5, y comparando con las tablas espectroscópicas⁹, se observa que hay un protón aromático a 6,3 ppm, 3 protones singuletes a 10,3, 12,4 y 12,9 ppm, que podrían ser del tipo aldehídico, alcohólico o carboxílico; además, tenemos 2 grupos metílicos a 1,5 y 2,5 ppm, triplete y doblete, respectivamente; esto implica que el metil triplete está acoplado con dos protones de un CH₂ el cual a su vez presenta un cuarteto a 4,4 ppm.¹¹. Toda esta información se resume en la tabla 2.

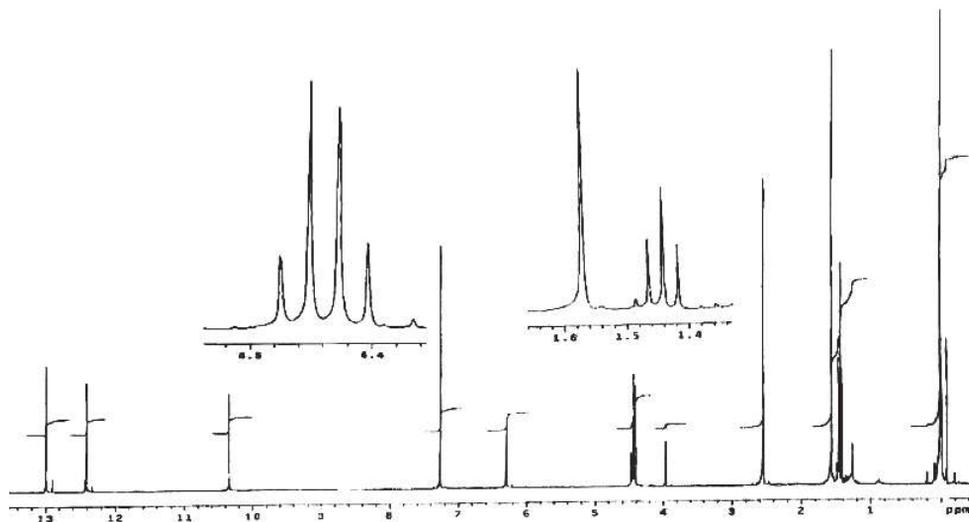
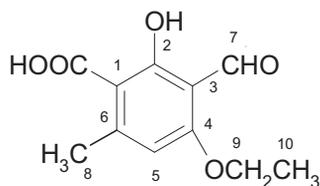
**Figura 5:** Espectro de RMN-H¹ del sólido H

Tabla 2: Datos del espectro de RMN-¹H del compuesto H

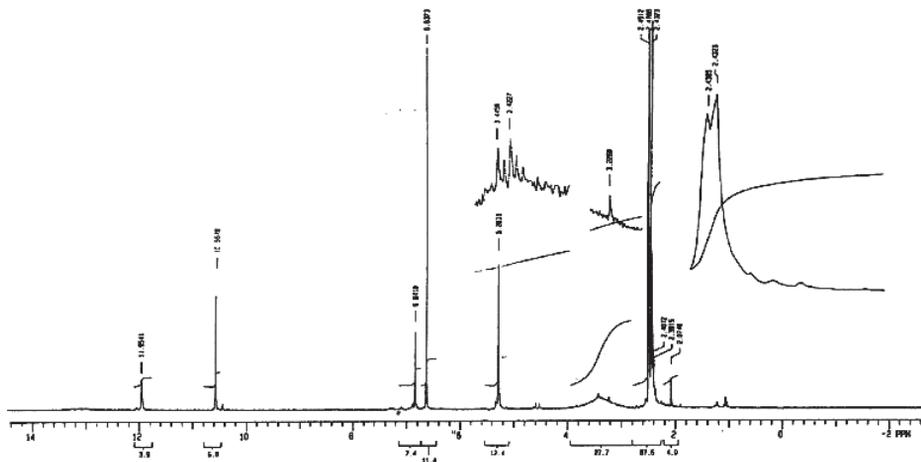
δ (ppm)	Asignación
14	CH ₃
25,6	CH ₃ - Φ
61,5	- CH ₂ - O - Φ
109,6	C aromático, cuaternario
110,1	C aromático, cuaternario
112	=CH
153	C aromático, cuaternario
166	C aromático
168	=C-CO
171	COOH
193	CHO

En base a la información presentada, se propone la siguiente estructura para el compuesto H:



Elucidación estructural del compuesto A.- El compuesto A es un sólido que cristaliza en agujas blancas, reacciona con KOH dando coloración marrón y con FeCl₃ da coloración morada, propia de las depsidonas; tiene punto de fusión 260-262 °C con descomposición. Sus longitudes de onda máximas en el espectro UV-V en etanol, son: 240 y 320 nm. Del espectro IR se determinó que el compuesto A, presenta absorciones de los grupos: OH a 3400 cm⁻¹, -CH=CH- a 987 y 701 cm⁻¹, -COOH a 1744 cm⁻¹, C=O aldehído a 1700 cm⁻¹ y C-O-C a 1207 cm⁻¹.

Analizando el espectro RMN-¹H del compuesto A, figura 6, se observó que se pueden identificar protones de: -COOH a 11,95 ppm, y el del grupo CHO a 10,57ppm; un protón aromático a 6,63 ppm, un singulete a 5,28 ppm de los hidrógenos del grupo -CH₂, un hidrógeno del tipo =CH a 6,84 ppm y dos metilos a 2,49 y 2,43 ppm; no se observa las absorciones de los grupos OH ni COOH ya que éstos tienen desplazamientos mayores de 12 ppm.



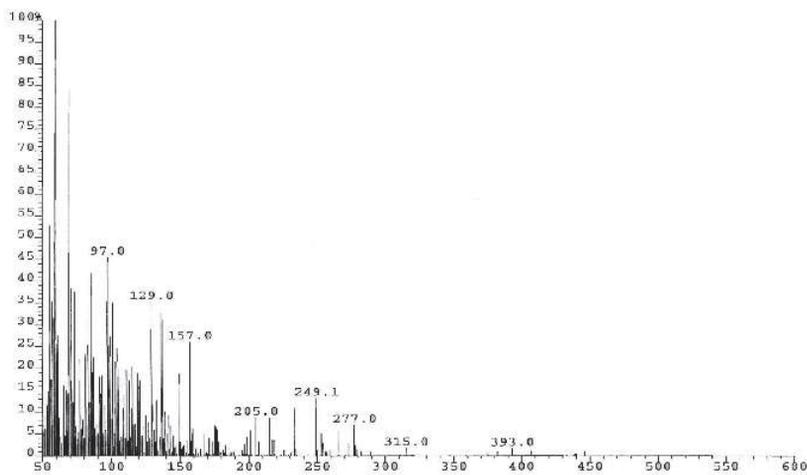


Figura 7: Espectro de masas del sólido A

El cromatograma de HPLC, Figura 10, corroboró en la identificación del compuesto A como el ácido fumarprotocetrárico¹².

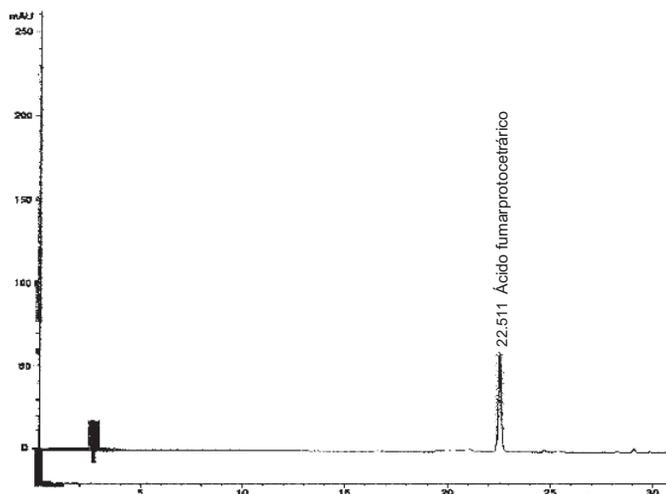
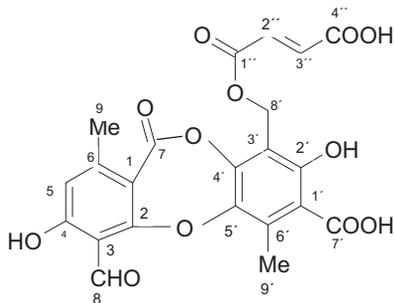


Figura 8: Cromatograma de HPLC del compuesto A

Todas estas informaciones espectroscópicas y cromatográficas nos permiten proponer que el compuesto sería el ácido fumarprotocetrárico, con la siguiente estructura:



CONCLUSIÓN

Se aisló y se determinó la estructura de 2 compuestos liquénicos; éstos son: compuesto H (ácido 2-hidroxi-3-formil-4-etoxi-6-metil-benzoico) y el compuesto A (ácido fumarprotocetrárico). En el análisis cualitativo por HPLC del compuesto liquénico aislado, el tiempo de retención es de 22,5 minutos del compuesto A (ácido fumarprotocetrárico).

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 a la Dra. Mónica T. Adler de la Universidad Nacional de Buenos Aires-Argentina, 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.

BIBLIOGRAFÍA

1. Vicente, C., Fisiología de las sustancias liquénicas, Ed. Alhambra, Madrid, (1975), pag 22-45, 68-97.
2. Robles, C., J.; Pastor, A.; Morales, P., Líquenes y sustancias liquénicas, *Revista Química* – PUCP, (1992), 6, 65-76.
3. Reinhold, L. D. ; Preiss, A., *Progress in Phytochemistry*, (1968), pag 225, 236 y 238.
4. Kika H. N; Vilegas, W., A química dos líquenes, *Química Nova*, Brasil, (1998), 21, 110 – 124.
5. Lock de Ugaz, O., Investigación Fitoquímica, Fondo Editorial, Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima, (1994), pag 110-169.
6. Randerath, K., Cromatografía de capa fina, Ed. Urmo, Bilbao, España, (1965), pag 23-25.
7. Feige, G. B.; Lumbsch, H.T., Identification of lichen substances by a standardized high-performance liquid chromatographic method, *J. Chromatog.*, (1993), 646, 417-427.
8. Robles, C., Pastor, A.; Morales, P., Líquenes y sustancias liquénicas – Segunda parte, *Revista Química*, PUCP, (1992), 6, 192-200.
9. Huneck, S., and Yoshimura, I., Identification of the lichen substances, Ed. Springer, Berlin, (1996), pag 54-57, 78-82, 114-119.
10. Silverstein, R.M., Spectrometric identification of organic compounds, 5TH. Edition, Ed. John Wiley, (1991), pag 56-116.
11. Pretsch, F., Tablas para la elucidación estructural de compuestos orgánicos, Ed. Springer-Verlag Ibérica, Barcelona, (1998), pag 67-69, 111-126.
12. Shibata, S., Chiang, H. C., The structure of fumarprotocetraric acid, *Phytochemistry*, (1965), 4, 137-139.

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPUESTOS FENÓLICOS EN PULPA Y SEMILLAS DE CUATRO FRUTALES AMAZÓNICOS DE LA FAMILIA *Sterculiaceae*

Víctor Sotero^{1*}, Martha Maco¹, Jorge Vela¹, Claudia Merino¹, Éricka Dávila¹, Dora García²

RESUMEN

Las especies de la familia *Sterculiaceae* en estudio fueron: cacao (*Theobroma cacao* L.), cacahuillo (*Herrenia nitida*), copoazú (*Theobroma grandiflorum* (Willd. Ex Spreng Schum) y macambo (*Theobroma bicolor* Humb & Bompl). La actividad antioxidante presenta los siguientes IC₅₀, mg/mL: cacao: 0,52; cacahuillo: 1,69; copoazú: 2,32 y macambo: 7,55. La mayor concentración de polifenoles se presentan en las semillas de cacao con 12101,46 mg/100g, de copoazú con 9691,94 mg/100g y en pulpa de macambo con 5738,81 mg/100g. Las mayores concentraciones de flavonoides fueron para las semillas de cacao y cacahuillo con 2037,16 y 1542,91 mg/100, respectivamente; por último, está la pulpa de macambo con 711,68 mg/100g; en antocianinas se obtuvo que la semilla del cacao presentó la mayor concentración con 638,02 mg/100g. Se cuantificó por HPLC ciertos flavonoides de los cuales se observó alta presencia de rutina trihidratada, tanto en semillas como en la pulpa de estos frutos, con valores de 7022, 0 a 10689,0 mg/100g para semillas de macambo y cacao, respectivamente. Alta concentración de quercitina en las semillas de copoazú con 18173,0 mg/100g y de cacahuillo con 17280,0 mg/100g. La epicatequina, fue encontrada en la semilla de cacahuillo que presenta 578,2 mg/100g.

Palabras clave: *Sterculiaceae*, antioxidantes, fenólicos

ANTIOXIDANT EVALUATION AND PHENOLIC COMPOUNDS IN PULP AND SEEDS OF FOUR FRUITS FROM THE *Sterculiaceae* FAMILY

ABSTRACT

Species of the *Sterculiaceae* family in study went: cacao (*Theobroma cacao* L.), cacahuillo (*Herrenia nitida*), copoazú (*Theobroma grandiflorum* (Willd. Ex Spreng Schum) and macambo (*Theobroma bicolor* Humb & Bompl). The major concentration of polyphenols was presented in the seeds of cocoa with 12101,46 mg/100g, and copoasu with 9691,94 mg/100g, and pulp of macambo with 5738,81 mg/100g. Higher concentration of flavonoids were presented at the seeds of cocoa and cacahuillo with 2037,16 and 1542,91 mg/100g, respectively, consecutively is the pulp of macambo with 711,68 mg/100g and in anthocyanins it is obtained that seed of the cocoa presented the major concentration with 638,02 mg/100g, very distant to the pulps of copoazú and macambo with 81,62 and 51,84 mg/100g,

^{1*} Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana. IIAP-Iquitos-Perú,
e-mail: vsotero@iiap.org.pe; proyectopalmeras@gmail.com

² Facultad de Ingeniería Química. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. UNAP-Iquitos-Perú.

respectively. On those which were determined certain composites of flavonides by chromatography of HPLC. Higher presence is observed of rutin trihydrate so much in seeds as in the pulp of these fruits in values that go of 7022,0 to 10689,0 mg/100g for seed of macambo and cocoa respectively. High concentrations of quercetina in seed of copoazú with 18173,0 mg/100g and in seed of cacahuillo with 17280,0 mg/100g and the best concentration of epicatequina, was encountered in the seed of cacahuillo with 578,2 mg/100g.

Key words: Sterculiaceae, antioxidants, phenolic.

INTRODUCCIÓN

La familia *Sterculiaceae* abarca cerca de 69 géneros y cerca de 110 especies en el trópico y subtrópico de ambos hemisferios y un par en regiones templadas. Entre éstas se encuentra los géneros *Theobroma* y *Herrania*, siendo el primero el de mayor relevancia. De acuerdo a la literatura¹, el género *Theobroma*, está confinado a los bosques húmedos del neotrópico y está constituido por 22 especies válidas. El género *Herrania* es de origen neotropical, extendiéndose a Sudamérica, desde Costa Rica hasta los andes del Perú.² Los frutos en estudio fueron el cacao (*Theobroma cacao* L.), cacahuillo (*Herrania nitida*), copoazú (*Theobroma grandiflorum* (Willd. Ex Spreng Schum) y macambo (*Theobroma bicolor* Humb & Bompl). Se entiende como antioxidantes a las sustancias que, cuando presentes en bajas concentraciones en relación al sustrato oxidable, retardan o inhiben de forma significativa la oxidación del mismo.³ Existen numerosos compuestos que presentan actividades antioxidantes tanto naturales como sintéticas; en tal sentido se han realizado innumerables investigaciones para identificar a estas sustancias. Entre los principales antioxidantes, se encuentran los compuestos fenólicos con sus diferentes estructuras químicas^{4,5}.

Los compuestos fenólicos o polifenoles, constituyen un grupo bastante amplio de sustancias químicas, que se caracterizan por presentar en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos y abarcan a más de 8000 compuestos distintos y han demostrado poseer importante actividad antioxidante. El organismo humano no los produce y se les encuentra en plantas, frutas y diversas bebidas y representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana. Los compuestos fenólicos más característicos son los flavonoides, cumarinas, cromenos y benzofuranos. De éstos, los más característicos son los flavonoides, que son un grupo muy numeroso, y se conocen cerca de diez clases; todos contienen quince átomos de carbono en su núcleo básico y están arreglados bajo un sistema C₆-C₃-C₆, en el cual los dos anillos aromáticos están unidos por una unidad de tres carbonos que pueden o no formar un tercer anillo (figura 1).

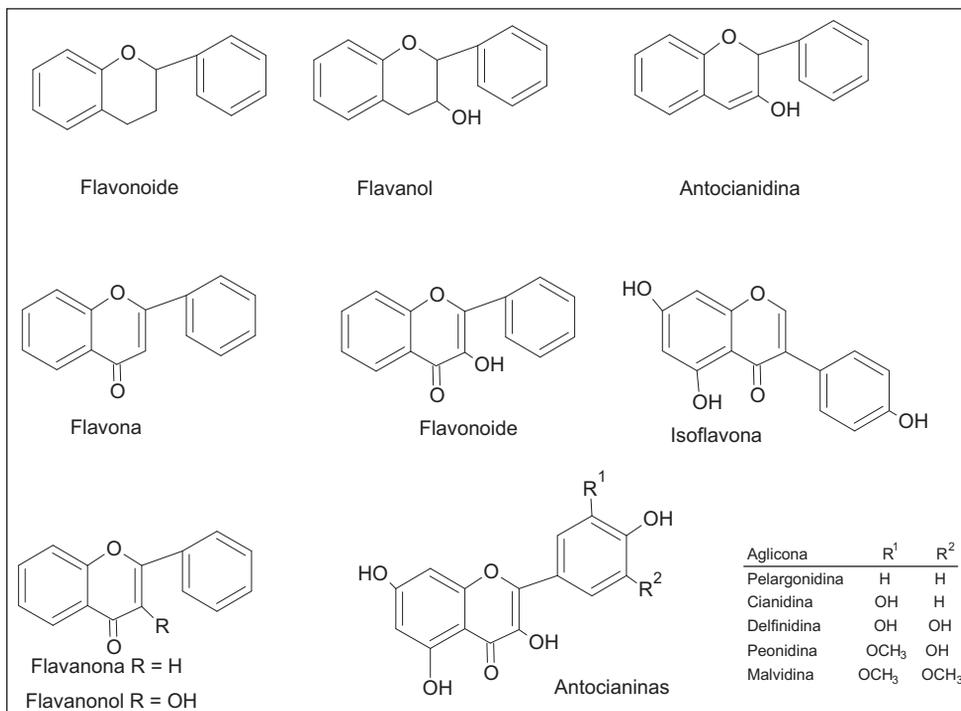


Figura 1. Estructura básica de flavonoides

En este grupo se encuentran las flavonas y flavononas que, generalmente, se encuentran en frutos cítricos; del mismo modo las antocianinas, responsables por el color rojo del vino, las catequinas en el té y procianidinas en la semilla de cacao. Aunque los hábitos alimenticios son muy diversos en el mundo, la ingestión media por día de algún tipo de flavonoide se estima en 23 mg/día. La concentración total de compuestos polifenólicos en vino varía de 1,8 a 4,0 g/L con un promedio de 2,54 g/L para el vino tinto y de 0,1 a 0,3 g/L con un promedio de 0,24 g/L para el vino blanco⁶⁻¹⁰.

El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad antioxidante de cuatro especies comestibles de origen amazónico como son: cacao, cacahuillo, copoazú y macambo, de la familia *Sterculiaceae* y cuantificar los compuestos fenólicos presentes en estos frutos.

PARTE EXPERIMENTAL

Material y métodos

Material

El material vegetal de cacao se adquirió del mercado de Quillabamba (Cuzco) y las muestras de cacahuillo, copoazú y macambo se colectaron de la Estación Experimental del IIAP en la Reserva Allpahuayo- Mishana, en Iquitos.

Actividad antioxidante

Para evaluar la actividad antioxidante se obtuvo extractos por maceración de las muestras secas en metanol y concentración en rotavapor. La actividad antioxidante se realizó por reducción del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), con lecturas de la absorbancia a una longitud de onda de 515 nm¹¹. Para calcular la capacidad de secuestro de radicales DPPH se utilizó la siguiente expresión:

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

Donde:

A_{control} : Absorbancia del control.

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

Compuestos fenólicos

Para la extracción de los compuestos fenólicos se sigue la técnica de Valls¹⁰. Se pesan 0,5 g de la muestra y se extraen sucesivamente con 3 volúmenes de 25 mL de etanol absoluto acidulado con un 1% de ácido fórmico. El extracto se evapora hasta sequedad en un rotavapor a temperatura de 40°C. El residuo seco se redissuelve en una solución de metanol al 50% acidulado con una solución de ácido fórmico, y se lleva a un volumen de 10 mL. Se guarda en alícuotas para las otras determinaciones de:

- a) Antocianinas y flavonoides totales: La determinación de antocianinas totales se efectúa mediante la lectura de la absorbancia a 535 nm, previa dilución de las muestras. Para realizar los cálculos, se utiliza el coeficiente de extinción molar de la malvidina-3-glucósido: 29500 L/mol cm.¹²
- b) Compuestos fenólicos totales¹³: Para ello se tratan 40 µl de muestra con 0,5 mL de reactivo de Folin Ciocalteu y 2 mL de carbonato de sodio al 20 (p/v), y se llevan a 10 mL. Transcurrida media hora, se efectúa la lectura de absorbancia a 765 nm. Para establecer el calibrado, se utilizan patrones de catequina de concentraciones entre 0–100 mg/L.

Análisis de la estructura de los flavonoides: las soluciones metanólicas se analizan con un espectrofotómetro UV/vis⁶.

Compuestos fenólicos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) Se realiza según el método indicado para investigaciones similares¹⁴. Se toma 5 g de la parte a analizar del fruto y se mezcla y homogeniza con 10 mL de la solución de extracción: agua/metanol 2:8, conteniendo 2 mmol de NaF para inactivar las polifenol oxidasas y prevenir la degradación fenólica debido al oscurecimiento. Esta muestra se mantiene en hielo hasta ser centrifugada a 11500 rpm por 15 min a 2-5°C; el sobrenadante se recupera cuidadosamente y se mide el volumen. Se toma 1 mL de la porción del extracto, se pasa a través de un filtro de nylon de 0,45 µm y se analiza directamente en el HPLC en un periodo que no exceda las 24 horas. Los compuestos fenólicos fueron identificados en un equipo de HPLC marca Agilent technology, utilizando un detector de arreglo de diodos. Las muestras se corrieron de 280 nm a 355nm, hasta establecer un protocolo definido, utilizando como fase móvil agua nanopura: metanol grado HPLC (88:12), teniendo una razón de flujo isocrático de 1,5 mL/min. Se utilizó una columna LiChroart RP 18 (250x4,6 mm). Las muestras fueron comparadas con los estándares de ácido clorogénico, catequina, epicatequina, epigallocatequina, rutina trihidratada, quercitina, quercitina 3–D- galactósido y quercitina 3-β-D-glucosídico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1, se presentan los porcentajes de inhibición de las pulpas y semillas de los frutos en estudio. Se observa que las pulpas de cacao, cacahuillo y copoazú presentan mejor porcentaje de inhibición que sus semillas; en cambio, la semilla de macambo obtuvo mejores resultados que la pulpa.

Tabla 1. Porcentaje de inhibición e IC₅₀ de las pulpas y semillas de cacao, cacahuillo, copoazú y macambo.

Muestra	Pulpa	Semilla					IC ₅₀	SD ±
		100 µg/ml	300 µg/ml	1000 µg/ml	3000 µg/ml	10000 µg/ml		
Cacao	30000 µg/ml	100 µg/ml	300 µg/ml	1000 µg/ml	3000 µg/ml	10000 µg/ml		
Promedio;%	33,50	17,01	36,65	78,31	93,27	0,52	0,0021	
SD ±	1,87	1,76	1,77	1,60	0,28			
Cacahuillo	30000 µg/ml	300 µg/ml	1000 µg/ml	3000 µg/ml	10000 µg/ml	1,69	0,183	
Promedio,%	13,25	22,62	36,65	80,65	93,92			
SD ±	0,43	1,20	1,77	0,25	1,09			
Copoazú	30000 µg/ml	300 µg/ml	1000 µg/ml	3000 µg/ml	10000 µg/ml	2,32	0,019	
Promedio, %	13,48	9,98	23,17	63,72	93,33			
SD ±	0,08	0,62	1,78	1,19	2,40			
Muestra	Semilla	Pulpa						
Macambo,%	30000 µg/ml	1000 µg/ml	3000 µg/ml	10000 µg/ml	30000 µg/ml	7,55	0,25	
Promedio	31,76	13,93	30,07	60,78	83,75			
SD	0,24	0,79	0,02	1,73	1,07			

En la tabla 2, se presenta la concentración de polifenoles totales (mg/100g) de las cuatro especies en estudio. La mayor concentración se dio en la semilla de cacao con 12101,46 mg/100g, seguido de la semilla de copoazú con 9691,94 mg/100g y pulpa de macambo con 5738,81 mg/100g.

Tabla 2. Polifenoles totales en las pulpas y semillas de los frutos de cacao, cacahuillo, copoazú y macambo.

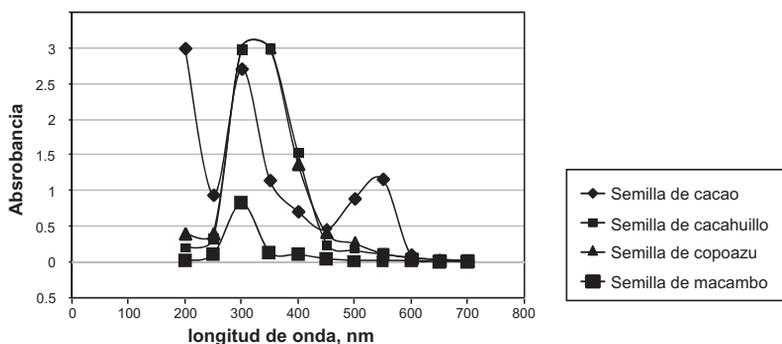
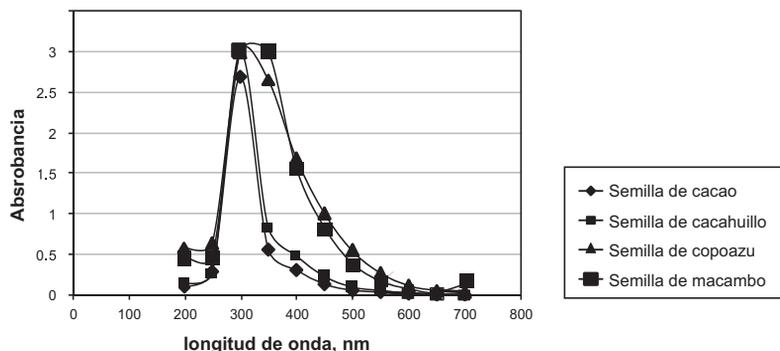
Muestra	Polifenoles mg/100g	SD ±
Semilla macambo	61,37	0,00
Semilla cacao	12101,46	0,14
Semilla cacahuillo	3043,15	0,12
Pulpa cacahuillo	5554,33	0,11
Pulpa copoazú	5057,37	0,09
Semilla copoazú	9691,94	0,55
Pulpa macambo	5738,81	0,10
Pulpa cacao	4083,99	0,15

Se presenta en la tabla 3, la concentración de flavonoides y antocianinas de los frutos en estudio. Se observa que las mejores concentraciones de los primeros en las semillas de cacahuillo y copoazú con 2037,16 y 1542,91 mg/100g, respectivamente; seguidamente está la pulpa de macambo con 711,68 mg/100g. Asimismo, se observa que en el contenido de antocianinas, destacan nitidamente la semilla del cacao con 638,02 mg/100g, muy distante a las pulpas de copoazú y macambo con 81,62 y 51,84 mg/100g, respectivamente.

Tabla 3. Flavonoides y antocianinas en las pulpas y semillas de los frutos de cacao, cacahuillo, copoazú y macambo.

Muestras	Flavonoides, mg/100g	SD ±	Antocianinas mg/100g	SD ±
Semilla de macambo	30,30	2,30	7,47	0,64
Semilla de cacao	538,60	12,49	638,02	7,64
Semilla de cacahuillo	2037,16	4,37	28,25	1,42
Semilla de copoazú	1542,91	2,87	35,88	0,67
Pulpa de cacahuillo	201,10	2,40	15,35	1,03
Pulpa de copoazú	658,00	3,82	81,62	1,98
Pulpa de macambo	711,68	3,14	51,84	0,89
Pulpa de cacao	112,06	3,88	10,18	1,78

En las figuras 2 y 3 se presentan los espectros de absorción del barrido en longitud de onda de 200 a 800 nm, que comprenden la región UV/VIS, para soluciones metánolicas de las pulpas y/o semillas de las especies en estudio para identificación de compuestos fenólicos. De un análisis somero y comparando con los espectros indicados en la literatura,⁶ se puede deducir en forma preliminar lo siguiente:

**Figura 2.** Espectros de absorción de componentes fenólicos de semillas de cacao, copoazú, cacahuillo y macambo**Figura 3.** Espectros de absorción de componentes fenólicos de pulpas de cacao, copoazú, cacahuillo y macambo

En la figura 2, la semilla de cacao presenta un perfil definido entre 250 - 350 nm y otra curva entre 450 - 600 nm, lo cual indica en el primero la presencia de flavanonas y flavonoles y la segunda de antocianinas; esto último coincide con los resultados de la tabla 3. La semilla de cacahuillo y de copoazú coinciden en la región de 250 a 450 nm, alcanzando picos máximos entre 300 a 350 nm, indicando también la presencia de flavonoles. La curva de la semilla de macambo, se observa la absorción característica de flavononas.

En la figura 3, se observa que la pulpa de cacao y cacahuillo tienen absorbancias muy similares, entre 250 - 350 nm, indicando la presencia de flavanonas. Las pulpas de copoazú y macambo, alcanzan absorbancias mayores, entre 250 - 450 nm indicando posiblemente la presencia de flavonoles. Cabe notar que las curvas de absorción de semillas de cacahuillo y copoazú y las pulpas de macambo y copoazú son muy similares.

En la tabla 4 se presentan los principales compuestos fenólicos presentes en las pulpas y semillas de las especies en estudio. Se observa una importante presencia de rutina trihidratada, tanto en semillas como en la pulpa de estos frutos, en valores que van de 7022,0 mg/100g para semilla de macambo, a 10689,0 mg/100g para semilla de cacao.

Tabla 4. Compuestos fenólicos obtenidos en pulpa y semilla de los frutos de cacao, cacahuillo, copoazú y macambo.

Muestras	quercitina 3 D-galactósido		quercitina 3 - β -D-glucosídico	
	mg/100g	SD \pm	mg/100g	SD \pm
Pulpa de macambo	0,518	0,005	3,755	0,232
Semilla de macambo	ND	ND	ND	ND
Pulpa de copoazú	0,717	0,087	0,625	0,168
Semilla de copoazú	0,381	0,007	ND	ND
Pulpa de cacao	0,118	0,001	0,280	0,001
Semilla de cacao	0,089	0,001	ND	ND
Pulpa de cacahuillo	0,236	0,002	ND	ND
Semilla de cacahuillo	ND	ND	ND	ND
Muestras	quercitina		rutina trihidratada	
	mg/100g	SD\pm	mg/100g	SD\pm
Pulpa de macambo	ND	ND	7986,0	0,844
Semilla de macambo	ND	ND	7022,0	0,005
Pulpa de copoazú	ND	ND	7952,0	0,075
Semilla de copoazú	18173,0	0,018	8607,0	0,056
Pulpa de cacao	ND	ND	9961,0	0,601
Semilla de cacao	ND	ND	10689,0	0,119
Pulpa de cacahuillo	ND	ND	8547,0	0,001
Semilla de cacahuillo	17280,0	0,006	8975,0	0,074
Muestras	epicatequina		epigallocatequina	
	mg/100g	SD\pm	mg/100g	SD\pm
Pulpa de macambo	ND	ND	ND	ND
Semilla de macambo	ND	ND	ND	ND
Pulpa de copoazú	ND	ND	ND	ND
Semilla de copoazú	ND	ND	ND	ND
Pulpa de cacao	ND	ND	ND	ND
Semilla de cacao	ND	ND	54,062	1,773
Pulpa de cacahuillo	ND	ND	ND	ND
Semilla de cacahuillo	578,2	0,915	ND	ND

Destaca, además, la presencia de quercitina en semilla de copoazú con 18173,0 mg/100g y en semilla de cacahuillo con 17280,0 mg/100g. El metabolito de más alta concentración, la epicatequina, fue encontrado en la semilla de cacahuillo que presenta 578,2 mg/100g; comparando, estos resultados son superiores a los obtenidos por otros investigadores¹⁴, quienes obtiene de 9,5 - 164,8 mg/100g en el fruto de durazno de diferentes cultivares. La rutina se usa en terapéutica¹⁵ como normalizador de la permeabilidad y resistencia de los capilares. También se utiliza como materia prima para la semi-síntesis de la trixerutina (trisetoxietil rutina), empleada con la misma finalidad, aunque con una acción más pronunciada. Del mismo modo¹⁶, se encontraron otros compuestos fenólicos en el macambo, como: salicílico, trans-cinámico, ácido p-hidroxibenzoico, protocatequina, ácido gálico, ácido sináptico, y también catequina y ácido clorogénico. Por otro lado¹⁷, indica que en el cacao se encuentra principalmente, compuestos flavan-3-ols, como epicatequina y procianidina.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los análisis realizados se puede concluir que:

- Las semillas de cacao, cacahuillo, copoazú y la pulpa de macambo presentan una excelente actividad antioxidante y una importante concentración de compuestos fenólicos.
- De estos compuestos fenólicos la familia química de los flavonoides reporta una importante presencia en las cuatro especies en estudio
- La rutina trihidratada, se encontró en todas las especies en estudio y destaca la presencia de epicatequina en la semilla de cacahuillo.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen a IIAP, por el apoyo técnico-económico otorgado para poder desarrollar esta investigación; a la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana por el apoyo para realizar parte del trabajo de laboratorio. Finalmente a la Sociedad Química del Perú por darnos la oportunidad de hacer realidad la publicación del artículo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cuatrecasas, J. Cacao and its allies: Taxonomic revision of the genus *Theobroma*, Bulletin of United States National Museum. Smithsonian Institution. Washington. DC. 1964; Vol 35. Part 6.
2. Hutchinson, J. The genera of flowering plants. Clarendon Press. Oxford. England. 1967. p.117
3. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. Free radicals in biology and medicine. 2.ed. Oxford: Clarendon, 1989. p.366-415.
4. Donnelly, J.K., Robinson, D.S.. Free radical in foods. *Free Radical Res.*, 22(2), 1995. p.47-76,
5. Nawar, W.W. Lipids. In: Fennema, O.R., ed. Food chemistry. 3.ed. New York: Marcel Dekker. 1996. p.189-244..
6. Lock O. Investigación Fitoquímica, PUC - Lima, 1988. p.103-104.
7. Martínez Valverde, I.; Perriago, M. y Ros, G.. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 2000; 50(1): 5-18.

8. Dreosti, J.E. Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine. *Nutrition*, 16: 692-694. 2000
9. Martínez-Flores, Gonzáles-Gallego, J.; Culebras, J. M.; Tuñón, M.J. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr.Hosp.* 2002, XVIII (6): 271-278.
10. Valls, J.; Lampreave, M.; Nadal, M.; Arola, L.; Importancia de los compuestos fenólicos en la calidad de los vinos tintos de crianza. *Alimentación*, 2000; 119-124.
11. Lebeau, J.; Furman, C.; Berner, J.L.; Dunez, P.; Teisser, E.; Cotelle, N. Antioxidant Properties of Di-Tert-Butylhydroxylated Flavonoids. *Free Rad. Biol. Med.* 2000; 29:990-912.
12. Lees, D.H.; Francis, F.J. Standardization of pigment analysis in cranberries. *Hort Science.* 1972; 71(1): 83-84.
13. Singleton, V. L.; Orthofer, R.; Lamuela-Raventos, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology*, 1999. 299:152-178.
14. Tomás – Barberán, F.; Gil, M.; Cremin, P.; Waterhouse, A.; Hess-Pierce, B.; Kader, A. HPLC-DAD.-ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches and plums. *J. Agric. Food. Chem.* 2001; 49.4748-4769.
15. Sharapin, N. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Santa Fé. Colombia: Quebecor-Inpresiones, 2000. p.247
16. García, D.E.G., Mancini, D.A.P., Torres, R.P., Mancini-Filho, J. Antioxidant activity of macambo (*Theobroma bicolor*) extracts. *Eur. J. Lipid. Sci. Technol* 2000. 104: 278-281.
17. Cros, L. Factores condicionantes de la calidad del cacao. Memorias del I Congreso del cacao y su industria, Maracay, Venezuela I Congreso venezolano del cacao y su industria. 2000. p. 16-36.

APROVECHAMIENTO AGRÍCOLA DEL LODO GENERADO EN LA PTAR DE PUENTE PIEDRA - LIMA

Francisco Atencio, Jenny^a; Ramos Matías, Pedro^b; Aguirre Yato, Guillermo^c

RESUMEN

Se llevaron a cabo a nivel de invernadero y en macetas, ensayos preliminares de fertilización en diferentes dosis de lodo procedente de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales PTAR - Puente Piedra, Lima – Perú, con el objetivo de determinar su aprovechamiento agrícola. Se aplicó el diseño estadístico completamente al azar DCA, y el método estadístico de la varianza – ANVA y el Test de Tukey ($P \leq 0,05$) para el análisis de las variables agronómicas de emergencia de la plántula (s), altura (H), grosor del tallo (D) y materia seca (F_p) de la planta indicadora de maíz (*Zea mays L.*). El ensayo N° 1, contenía dosis de lodo seco 0, 2, 4, 6, 8 y 10 %, mezclado con arena lavada, y el ensayo N° 2 contenía dosis de lodo compostado de 0, 25, 50, 75 y 100 %. En ambos casos se usó un fertilizante inorgánico, control NPK 300-400-200 (en partes por millón, ppm). Los resultados estadísticos mostraron diferencias altamente significativas de las variables a mayores dosis de lodo seco o lodo compostado respectivamente. En tanto, el porcentaje de emergencia de la plántula en los tratamientos mostró pérdida significativa en ambos ensayos, que fue atribuido a una ligeramente alta salinidad del lodo, que generalmente inhibe el crecimiento de las plantas, y la lenta mineralización del lodo que afecta la absorción de nutrientes.

Ninguna de las concentraciones de los elementos As, Hg, Pb, Cd y Cr, en el lodo, en el suelo antes y después de la fertilización, y en la planta de maíz excedieron los valores límites exigidos por las normas de aplicación agrícola del lodo – USEPA 40 CFR Part 503, a excepción del Pb y Cr al final de la fertilización en ambos ensayos, aunque sin producir toxicidad a la planta. Estos valores fueron evaluados estadísticamente a través de la media y la desviación estándar, aplicando la técnica Univariate del *Statistical Analysis System Software - SAS* vs 8.

El estudio demostró que el lodo seco y el lodo compostado pueden ser beneficiosamente aprovechados a bajas tasas para producir bioabono, proporcionando una solución a largo plazo sostenible de la gestión de la disposición final de los residuos sólidos.

Palabras clave: lodos de PTAR, metales pesados en lodos, aprovechamiento agrícola, diseño experimental, variable agronómico, Norma Técnica 40 CFR Part 503.

POTENTIAL USE IN AGRICULTURE OF SEWAGE SLUDGE FROM PUENTE PIEDRA'S WASTE WATER TREATMENT PLANT - LIMA

ABSTRACT

Previous tests of fertilization in pots under greenhouse conditions applied in several rates of sewage sludge generated in Puente Piedra's wastewater treatment plant were conducted with the objective to evaluate the potential agricultural use. Completely randomized design – DCA

^a Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Callao. Av. Juan Pablo II 306, Bellavista Callao. Casilla Postal 138, Perú. jennyfra042004@gmail.com

^b Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental. Universidad César Vallejo, Lima – Perú.

^c Dpto. de Suelo, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima – Perú.

was applied. The analysis of variance of the average – ANVA, and Tukey comparison test ($p < 0,05$) to evaluate the agronomic variables such as the number of emerging seedlings (s), stem length (H), stem thickness (D) and dry matter (F_c) of maize as indicator plant, were used with this statistic method. Test N° 1 contained dry sludge in rates 0, 2, 4, 6, 8 and 10% mixed with washed sand, whereas, test N° 2 contained composted sludge in rates 0, 25, 50, 75 and 100% mixed with washed sand. Also control with NPK inorganic fertilizer (300-400-200) ppm in both tests. Highly significant difference of the measured variables, at higher rates of dried or composted sewage sludge respectively was observed. The emergency showed died of seedlings in both assays. It was attributed to slightly higher salinity of sludge, because it generally inhibits the normal growth of seedlings. Moreover, the slowly mineralization processes in sludge affected the nutrients uptake by plants.

The heavy metals concentrations, As, Hg, Pb, Cd and Cr, in sewage sludge, in the soil before and after fertilization and the plant, were evaluated through mean statistic and standard deviation using the Univariate Technic SAS v8. None of the metal concentration in soil, except Pb and Cr after fertilization, in both tests, exceeded comparable with concentration limits make land application of sludge identified by Title 40CFR Part 503.

The study demonstrates that dry sewage sludge and composted sewage sludge can be beneficially reused at low rates to produce biosolid providing a long-term sustainable waste management solution for final deposition.

Key words: sludge of PTAR, heavy metals in sludge, agricultural use, experimental design, bio-statistical analysis, agronomic variable.

INTRODUCCIÓN

La Planta de Tratamiento de Aguas Residuales PTAR Puente Piedra, Lima - Perú, cuenta con la tecnología de lodos activados y con el sistema *Sequencing Batch Reactor*.¹ Actualmente, se genera una carga potencial de lodos residuales en exceso, constituyendo una creciente preocupación su disposición final, así como los costos económicos y ambientales debido a sus componentes tóxicos como es el contenido de metales pesados. Actualmente, en el país no se cuenta con una norma técnica que determine la aplicabilidad de estos residuos, y están clasificados como residuos de instalaciones o actividades especiales determinándose su disposición final en un relleno sanitario.² Aunque, existe un solo reglamento que establece su aplicabilidad como acondicionador de suelos por el contenido de nutrientes que posee.³

Sin embargo, EE UU de Norteamérica y la Comunidad Económica Europea han legislado diversos límites permisibles de metales pesados para la aplicación de lodo sobre terreno agrícola en su intento por evitar la contaminación del suelo,^{4,5} documentos que han sido la base normativa del presente trabajo de investigación, por no existir una propia en el país.

Según antecedentes, la aplicación de lodo al suelo en su forma compostada como abono o enmienda, favorece la producción agrícola y mejora la calidad del suelo,^{6,7,8} significando una fuente de alto valor nutritivo para las plantas, permitiendo reducir su disposición final en un relleno sanitario. La toxicidad del lodo en los cultivos debido a la presencia de metales pesados, compuestos orgánicos persistentes, entre otros, constituye riesgo a la salud de las personas y los ecosistemas, particularmente el suelo y el agua. La información científica es aún escasa, aunque ya se plantea la preocupación en este aspecto.^{8,9,10}

El propósito de este trabajo de investigación es determinar el aprovechamiento agrícola del lodo de la PTAR Puente Piedra evaluando la toxicidad de los elementos As, Hg, Pb, Cd y Cr, presentes en el lodo seco y lodo compostado del suelo antes y después de la fertilización y en la parte aérea de la planta indicadora de maíz, y su influencia en las variables agronómicas de emergencia, altura, grosor y materia seca de la parte aérea de la planta indicadora.

El presente trabajo de investigación tiene el carácter de novedoso en el Perú, y es la primera realizada en lodos procedentes de una planta de tratamiento de aguas residuales domésticas de lodos activados con el sistema *Sequencing Batch Reactor* (SBR). El incremento de plantas de tratamiento de aguas residuales que se proyectan instalar en el país y el impacto de los lodos que se producirá requiere documentarse, evaluarse y legislarse.

PARTE EXPERIMENTAL

Los ensayos experimentales se realizaron en la Estación de Invernadero de Fertilidad de Suelo de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria La Molina - Lima, entre enero de 2007 y enero de 2008, a escala de laboratorio con la fertilización del lodo procedente de la planta de tratamiento de aguas residuales de Puente Piedra. La temperatura promedio del ambiente durante la fase experimental fue mínimo 14,7°C y máximo 25,3°C, y la humedad relativa entre 71% y 91%. (Estación meteorológica Von Humboldt – UNALM).

Se realizaron 2 muestreos de lodo seco desde la cancha de secado de lodos de la PTAR (05-02-2007 y 13-03-2007), previa homogenización y se analizaron metales: cadmio (Cd), cromo (Cr), plomo (Pb), mercurio (Hg) y arsénico (As), aplicándose los métodos analíticos de espectrofotometría; los análisis microbiológicos: *E. coli*, Salmonella y parásitos. Se utilizó arena fina (obtenida de la cancha de acumulación de arena de la UNALM) para la mezcla con lodo (lodo seco, o lodo compostado) en los tratamientos, analizándose los mismos metales, pH y CE, para asegurar la fertilización de la planta.

En el ensayo N° 1, el lodo seco se utilizó directamente a los tratamientos. En tanto, en el ensayo N° 2, se utilizó lodo previamente compostado por un tiempo de 8 meses aprox. (técnica Indore) pasando luego por una molienda para uniformizar las partículas antes de su aplicación en los tratamientos.

Todos los tratamientos estuvieron a las mismas condiciones de temperatura y ambiente, y recibieron riego a capacidad de campo y mesa con protección contra aves. Se aplicó el diseño experimental completamente al azar, en macetas de 4 kg y por triplicado en ambos ensayos. La dosis de lodo seco y de lodo compostado aplicados en los ensayos N° 1 y N° 2 respectivamente, se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Descripción de la formulación de los ensayos experimentales

Tto.	Ensayo N° 1		Ensayo N° 2	
1-T	Testigo	(0%)	Testigo	(0%)
2-T	0,08 kg lodo	(2%)	1,0 kg lodo	(25%)
3-T	0,16 kg lodo	(4%)	2,0 kg lodo	(50%)
4-T	0,24 kg lodo	(6%)	3,0 kg lodo	(75%)
5-T	0,32 kg lodo	(8%)	4,0 kg lodo	(100%)
6-T	0,40 kg lodo	(10%)	- - -	
7-T	Fertilizante NPK	(0%)	Fertilizante NPK	(0%)
	300-400-200 (sin lodo)		300-400-200 (sin lodo)	

Fuente: Elaboración propia (2007). ppm: partes por millón (concentración de nutrientes)

Ensayo N° 1, contiene lodo seco en la mezcla con arena.

Ensayo N° 2, contiene lodo compostado en la mezcla con arena.

Los resultados de las concentraciones de metales se evaluaron a través de la media \bar{X} y la desviación estándar DS, de la estadística básica aplicando la técnica Univariate; las mediciones de las variables biométricas de la planta indicadora de maíz en ambos ensayos (figuras 1 y 2): altura (H, m), grosor (D, cm) materia seca (g) y el número de plantas emergentes que crecieron hasta los 60 días, se evaluaron aplicando el análisis de la varianza – ANVA y el Test de Tukey con $p < 0,05$ de comparación de promedios. Se utilizó el software *Statistical Analysis Software – SAS v8*.

Ensayo N°1



Figura 1. Altura de la planta a los 60 días del ensayo con lodo seco.

Ensayo N° 2

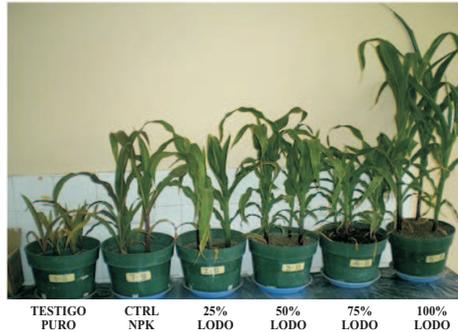


Figura 2. Altura de la planta a los 60 días del ensayo con lodo compostado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la caracterización de las 02 muestras de lodo, del compost producido y de la arena utilizada en las mezclas de los tratamientos, se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Características del lodo y compost de los lodos y arena empleados

Parámetro	Lodo 1 5-2-2007	Lodo 2 12-3-2007	Compost de lodo	Arena fina ¹⁵ 6-2-2007	USEPA 40CFR Part 503
Fisicoquímicos ⁽¹⁾					
pH	6,97	6,82	7,86	7,38	
CE (mS/cm)	4,69	3,65	0,33	0,51	
Materia Orgánica (g/100g)	41,94	61,55			
Densidad (kg/l)		0,756			
Humedad (g/100g)		8,22			
Metales pesados (mg/kg) ⁽²⁾					
Arsénico (As)	16,00	11,40	42,10	24,08	75
Mercurio (Hg)	0,725	0,81	0,540	0,050	57
Plomo (Pb)	49,6	48,49	0,37	8,60	840
Cadmio (Cd)	< 2,00	< 2,00	6,75	< 2,00	85
Cromo (Cr)	12,4	22,59	20,00	38,68	3 000

sigue en la pag 78 ...

...viene de la pag. 78

Análisis microbiológicos (NMP/g) ⁽³⁾		
CF	14*10	>160 000
Salmonella sp	6	>1 600
Análisis parasitológico (Nº/g) ⁽⁴⁾		
Giardia lamblia (quistes)	2	
Uncinaria (huevos)	1	
Uncinaria (larvas)	4	132

^{1), (2)}: Laboratorio de División Ambiental CERPER S.A.

^{(3), (4)}: Laboratorio de Control de Calidad de Alimentos y Aguas. Fac. Ciencias Biológicas, UNMSM

mg/kg : miligramos de metal por kilogramo de muestra

NMP/g : número más probable de microorganismos por gramo de muestra

Nº/g : número de huevos de nematodos por gramo de muestra

El pH del lodo está dentro del rango normal y no afecta las condiciones de vida del suelo y el crecimiento de la planta, y la CE indicó que era un material entre ligeramente hasta muy ligeramente salino y se aceptó para su aplicación al suelo.^{3,7,11} El contenido de materia orgánica considerado bueno, es mayor al 35% recomendado por la EPA.⁷ El contenido de metales es menor que el límite máximo permisibles de metales en lodos que se disponen al suelo de las normas técnicas,^{4,5} sin riesgo de toxicidad para las plantas. El análisis microbiológico y de parásito lo califica como lodo clase B.^{4,6,12}

El contenido en mg/kg de As, Hg, Pb, Cd y Cr en el suelo al inicio y final de la fertilización y en la planta de maíz (60 días de la siembra o momento del corte) de los tratamientos T1 (testigo puro), T4 (6% lodo) y T7 (control NPK) del ensayo N° 1, se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Contenido de As, Hg, Pb, Cd y Cr en suelo y planta (mg kg⁻¹ peso seco) - Ensayo N° 1

Metal	Suelo inicio de la fertilización			Final de la fertilización Suelo			Foliar		
	T1	T4	T7	T1	T4	T7	T1	T4	T7
As	24,08	15,09	14,68	10,99	4,464	13,39	1,2	2,09	2,34
Hg	0,05	0,1179	0,0572	0,0583	0,0592	< 0,04	< 0,02	< 0,02	< 0,02
Pb	8,6	9,7	< 5,0	19,18	< 5,0	< 5,0	3,15	0	4,21
Cd	< 2,0	< 2,0	< 2,0	< 2,0	< 2,0	< 2,0	< 1,0	0	< 1,0
Cr	38,68	12,62	16,47	24,97	12,28	20,48	4,94	0	2,68

Fuente: Datos de Laboratorio. CERPER S.A.2007 y 2008

Los resultados mostraron que el valor más alto de As se presentó en T1 al inicio del ensayo, con tendencia al rango crítico de concentración establecido en la norma técnica. La planta mostró valores dentro de los rangos normales, aunque con tendencia al valor crítico.^{9,10,11} En

tanto, el Hg presentó el valor más alto en T4 en suelo al inicio del ensayo, aunque dentro del rango normal, y la planta presentó valores dentro del rango normal y sin riesgo de toxicidad. Para el Pb, T1 presentó aumento del valor al final del ensayo, aunque todos los valores estuvieron dentro del rango normal, y la planta sin riesgo de toxicidad. Los valores del Cd estuvieron dentro de los rangos normales durante todo el ensayo y sin riesgo de toxicidad para la planta. Para el Cr, T1 presentó el valor más alto y T4 el valor más bajo, en T7 se observa aumento de la concentración al final del ensayo, aunque todos los valores estuvieron dentro del rango normal, en la planta los valores estuvieron en el rango normal, aunque con ligera tendencia hacia el valor crítico, y T7 muestra ausencia de cromo en la planta. Existen algunas evidencias de toxicidad moderada por metales pesados.^{9,8,11,12,13}

La tabla 4 muestra el contenido en mg kg⁻¹ de As, Hg, Pb, Cd y Cr en el suelo al inicio y final de la fertilización y en la planta de maíz 60 días después de la siembra (momento del corte) de los tratamientos T1 (testigo), T5 (100% lodo compostado) y T7 (control NPK) del ensayo N° 2.

Tabla 4. Contenido de As, Hg, Pb, Cd y Cr en suelo y planta (mg kg⁻¹ peso seco) - Ensayo N° 2

Metal	Suelo inicio de la fertilización			Suelo final de la fertilización			Foliar		
	T1	T5	T7	T1	T5	T7	T1	T5	T7
As	24,08	42,10	14,68	10,99	22,97	11,37	0,08351	0,9055	0,9143
Hg	0,05	0,54	0,0572	0,0583	0,6791	0,0398	0,0391	0,0393	0,039
Pb	8,60	0,37	< 5,00	19,18	69,52	10,19	2,945	1,944	3,482
Cd	< 2,00	6,75	< 2,00	< 2,00	< 2,0	< 2,0	< 1,00	< 1,0	< 1,00
Cr	38,68	20,00	38,68	24,97	45,85	21,27	15,35	9,023	7,785

Fuente: Datos de Laboratorio. CERPER S.A.2007 y 2008

T5 (100% lodo compostado) presentó valores altos para As y Hg en el suelo al inicio y final del ensayo, con tendencia al rango crítico, aunque sin riesgo de toxicidad para la planta. El Pb en suelo de todos tratamientos aumentó al final del ensayo, siendo mayor en T5, aunque todos estuvieron dentro del rango normal exigido por la norma técnica y sin riesgo de toxicidad para la planta. Sin embargo, el Cr en el suelo al final del ensayo, aumentó su valor en T7 y T5, siendo este último el más elevado y en el rango crítico de concentración, nivel en el cual se puede producir toxicidad y ocasionar el 10% de depresión en el campo.^{8,9,12,13} En cuanto al Cd, se observó un contenido dentro del rango normal en suelo y planta.

Tabla 5. Resultados de la estadística de los metales pesados en suelo y planta de maíz

Metal en suelo y planta	Ensayo N° 1		Concentración normal	Ensayo N° 2		
	\bar{X}	DS		\bar{X}	DS	
As	suelo inicial	17,95	5,31269	0,10 - 40	26,95	13,934
	suelo final	9,61	4,6192	0,10 - 40	15,11	6,809
	Planta (aérea)	1,88	0,5992	0,02 - 7	0,634	0,477
Hg	suelo inicial	0,75	0,0373	0,01 - 0,5	0,216	0,2808
	suelo final	0,525	0,0108	0,01 - 0,5	0,259	0,3638
	Planta (aérea)	0,02	0,00	0,005 - 0,17	0,0391	0,000
Pb	suelo inicial	7,77	2,458	2,0 - 300	4,66	4,1257
	suelo final	9,727	8,1868	2,0 - 300	32,96	31,976
	Planta (aérea)	2,45	2,1898	0,2 - 20	2,79	0,7806
Cd	suelo inicial	2,0	0,0	0,01 - 2,0	3,6	3
	suelo final	2,0	0,0	0,01 - 2,0	2,0	0
	Planta (aérea)	0,67	0,577	0,10 - 2,4	1,0	0
Cr	suelo inicial	22,59	14,067	5,0 - 1500	32,45	10,785
	suelo final	19,24	6,435	5,0 - 1500	30,70	13,253
	Planta (aérea)	2,54	2,473	0,03 - 14	10,72	4,059

Leyenda: \bar{X} : media o valor promedio de los datos de metales totales (mg/kg PS)

DS : Desviación Estándar.

suelo inicial: es el suelo antes de la fertilización

suelo final: es el suelo después de la fertilización.

Planta (aérea): toda la planta desde la superficie del suelo.

En la tabla 5 se presenta el análisis estadístico de la Media y la Desviación Estándar de la data obtenida en la evaluación de metales de los ensayos N° 1 y N° 2. Los resultados de la media y la desviación estándar mostraron dispersión normal de los datos en el ensayo N° 1, excepto el Pb y Cr, que mostraron ligera dispersión debido al comportamiento variable de los metales presentes en los materiales estudiados. Análogamente, el ensayo N° 2 presentó este comportamiento de dispersión de los datos muy variable para todos los metales evaluados, excepto el Cd, que mostró homogeneidad de los resultados. Los valores del Pb y del Cr presentaron los mayores alejamientos con respecto a la media y la desviación estándar con alta dispersión. No se determinó que factor o factores influyeron en este comportamiento de los metales evaluados.

Tabla 6. Análisis estadístico de las variables biométricas del maíz en el Ensayo N° 1

Medición	Altura (cm)		Grosor, (cm)	Emerge (semillas)		Materia seca (g)
	26 días	60 días	60 días	26 días	60 días	60 días
ANVA	**	**	**	**	**	**
Coef.Var.	11,9%	38,59%	56,67%	19,78%	28,06%	33,85%
Prueba	2 (62,6) A	4 (98,23) A	4 (1,67) BA	7 (6) A	7 (6) A	7 (45,67) A
Tukey	7 (59,1) A	3 (96,44) A	3 (1,23) BA	1 (5,67) BA	1 (5,97) A	4 (41,33) A
	3 (57,1) A	2 (86,80) A	7 (0,98) BA	2 (5,33) BA	2 (5,33) A	2 (39,0) A
	4 (33,8) B	7 (84,77) A	2 (0,91) BA	4 (5,0) BA	3 (5) A	3 (38,0) A
	1 (32,0) B	1 (41,14) BA	5 (0,64) B	3 (5,0) BA	4 (4) A	1 (12,33) A
	5 (25,8) B	5 (32,67) BA	1 (0,28) B	6 (3,33) B	5 (0,67) B	5 (10,67) B
	6 (11,4) C	6 (0) B	6 (0) B	5 (3,33) B	6 (0) B	6 (0,0) C

(*): Significativa;(**): altamente significativa; ANVA: análisis de variancia; CV: coeficiente de variabilidad
Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes.

La tabla 6 muestra el análisis estadístico de la data obtenida de las variables biométricas de la planta indicadora de maíz, en el ensayo N° 1.

Altura de planta.- El ANVA mostró diferencia altamente significativa con un buen grado de confiabilidad de los resultados, y la Prueba de Tukey determinó que T2 alcanzó la mayor altura promedio a los 30 días de la siembra, seguido por T7 y T3. Posteriormente, a los 60 días T4 presentó la mayor altura promedio, seguida por T3, T2 y T7, en ese orden. Se observó que, excepto T7, un mayor tiempo de contacto lodo-maíz favoreció su crecimiento, comprobándose la acción fertilizante del lodo. T1 mostró características de planta raquítica. En T6 se observó 100% pérdida de las plántulas antes de finalizar el ensayo. T5 presentó una sola planta con 98 cm de altura al final del ensayo. Se sabe que la planta sufre el efecto de un lento grado de transformación (mineralización) producido por las mayores dosis de lodo afectando en su crecimiento y desarrollo. Este proceso requiere la evaluación de la estabilidad del lodo antes de su aplicación.

Grosor del tallo.- el ANVA mostró evidencia significativa de la diferencia entre los promedios de la variable en los tratamientos, y la Prueba de Tukey presentó a T4 con el mayor grosor promedio, luego T3, T7 y T2, en ese orden, sin diferencia significativa. T5 presentó el menor grosor promedio (la única planta tenía 1,91 cm de grosor). T1 mostró el menor grosor. Se observó que la mayor dosis de lodo favoreció al aumento del grosor de la planta, lo que indica la disponibilidad de los nutrientes en el lodo.

Emergencia de las semillas de maíz¹³. - T7 presentó el número total de 6 semillas de maíz sembradas hasta el final del ensayo,; T1 mostró 17% de pérdidas; T5 con 89% fallas, y T6 con 100% fallas. No se evaluaron más factores para determinar las pérdidas. Se sabe que esta característica se presenta en un lodo inmaduro y poco estabilizado.⁶

Materia seca.- estadísticamente, T7 registró el mayor peso promedio en peso seco de la planta, seguido por los T4, T2 y T3, en ese orden, sin diferencia significativa entre ellos. En tanto, T1 y T5 mostraron el menor promedio de la variable. Este resultado mostró una buena

asimilación de los nutrientes por parte de las plantas, aunque T7 mostró alta eficiencia. La mayor acumulación de materia seca en el maíz es influida por el nivel de fertilidad y disponibilidad de nitrógeno, elemento asimilable adecuado del suelo y factor limitante más común de las plantas, y un suministro deficiente puede provocar descensos notables en la producción vegetal.⁶

Tabla 7. Análisis estadístico de las variables biométricas del maíz en el Ensayo N° 2

Medición	Altura (cm)		Grosor, (cm)		Emerge (semillas)	Materia seca (g)
	37 días	60 días	37 días	60 días	37=60, días	60 días
ANVA	**	**	**	**	**	**
Coef.Var.	14,59%	7,37%	22,36%	13,82%	34,02%	17,31%
Prueba	5 (77,0) A	4 (142,67) A	5 (1,37) BA	5 (2,07) A	7 (4,68) A	5 (129,67) A
Tukey	2 (62,17)A	3 (137,33) A	2 (1,14) BA	3 (1,98) BA	1 (4,0) A	4 (62,67) B
	7 (60,5) BA	5 (135,33) A	3 (1,02) BA	4 (1,85) BA	4 (3,67) A	3 (45,33) B
	3 (60,8) BA	2 (123,68) A	7 (0,94) BA	2 (1,51) BA	5 (3,67) A	7 (38,0) B
	4 (51,8) BC	7 (87,0) B	4 (0,85) B	7 (1,21) BA	2 (3,0) A	2 (42,33) B
	1 (35,17) B	1 (46,0) C	1 (0,47) B	1 (0,63) B	3 (3,0) A	1 (9,67) C

(*): Significativa;(**): altamente significativa; ANVA: análisis de variancia; CV: coeficiente de variabilidad
Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes.

La tabla 7 muestra el análisis estadístico de la data obtenida de las variables biométricas de la planta indicadora de maíz, en el ensayo N° 2.

Altura de planta.- El estadístico ANVA mostró diferencia altamente significativa entre los tratamientos, y de acuerdo con la Prueba de Tukey. T5 logró la mayor altura promedio a los 30 días, siguen T2, T7 y T3 en ese orden sin diferencia significativa entre ellos. A los 60 días, la mayor altura promedio lo logró T4, seguido por T3, T5 y T2 en ese orden. T7 y T1 mostraron valores más bajos para la variable evaluada. Se observó que el lodo compostado favoreció el crecimiento de la planta. El lodo compostado presenta una alta disponibilidad de nutrientes, los que se descomponen y mineralizan en forma rápida y fácilmente en el suelo, pudiendo proporcionar grandes cantidades de N y P para el uso inmediato por las plantas.⁷

Grosor del tallo.- el ANVA mostró diferencia altamente significativa de la variable evaluada. A los 60 días de la siembra, T5 alcanzó el mayor valor de la variable espesor del tallo, seguido por T3, T4 y T2, en ese orden y sin diferencia significativa entre ellos; T7 mostró diferencia significativa con respecto a los anteriores; T1 mostró el menor valor. Considerando la dosis de lodo compostado. Al final del ensayo se observó para los espesores el orden siguiente:

$$LC\ 100\% > LC\ 50\% > LC\ 75\% > LC\ 25\% > NPK$$

El ensayo mostró que el compostaje permite un buen proceso de mineralización de la materia orgánica contenida en el lodo, favoreciendo la disponibilidad de los nutrientes aprovechables por las plantas comparado con el fertilizante NPK.

Emergencia de las semillas de maíz¹³. - Los valores de la variable emergencia a los 30 y 60 días mostraron igual cantidad de plantas en T7 y T1 sin dosis de lodo compostado. T7 presentó la mayor cantidad de plantas favorecidas por el fertilizante, T1 mostró buena germinación y emergencia, aunque no favoreció al crecimiento de la planta.

Materia seca. - alta diferencia estadística en los tratamientos, se observó T5 con el mayor peso seco promedio (parte aérea) seguido por T4, T3, T7 y T2. T1 registró el valor más bajo de peso seco promedio. El nivel de fertilidad del suelo y disponibilidad de nutrientes influye en la adecuada acumulación de materia seca del maíz.⁷ El compost es una fuente de nutriente disponible para la absorción de elementos nutritivos, que además de hacer crecer más a las plantas, le proporciona mayor peso seco.⁶

CONCLUSIONES

- La evaluación de los ensayos preliminares realizados determinaron que el lodo generado en la planta de tratamiento de aguas residuales de Puente Piedra cumple las exigencias sanitarias y ambientales permitiendo su utilización con fines agrícolas.
- La caracterización del lodo mostró los parámetros analizados en los rangos normales, la concentración de Hg, Pb, Cd, Cr y As en suelo antes y después de la fertilización y en la planta indicadora de maíz estuvieron dentro de los rangos normales de la norma técnica de aplicación de lodo en suelo US-EPA Part 503 y la Directiva 86/278/EEC, excepto el Cr que mostró incremento en el suelo al final del ensayo, y valor en el rango crítico y con riesgo de toxicidad para la planta.
- Los resultados de las variables biométricas de la planta indicadora de maíz del Ensayo N° 1, mostraron diferencias significativas a bajas tasas de contenido de lodo seco, 2%, 4% y 6% inclusive. En tanto, en el Ensayo N° 2, la diferencia altamente significativa se observó en la dosis de 100% lodo compostado. Mayores dosis de lodo seco en los tratamientos del Ensayo N° 1 afectaron el crecimiento y desarrollo de la planta indicadora disminuyendo los valores de sus variables agronómicas. Este hecho también fue observado por otras investigaciones⁶ que recomiendan tomar en cuenta la estabilización del lodo previo a su incorporación al suelo.
- La evaluación estadística aplicada mostró que el lodo seco y el lodo compostado presentan diferencias significativas comparadas con los controles. Aunque el lodo compostado es la forma de aplicación más favorable proporcionando los resultados más significativos en el crecimiento del cultivo, se tiene que verificar la presencia de metales y el riesgo de toxicidad.
- El suelo arenoso fertilizado con lodo o lodo compostado permite implementar nuevas áreas forestales en suelos arenosos.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen las contribuciones oportunas de los siguientes profesionales investigadores: Dra. Adriana Carrasco (Chile), Dr. Abdul Ghani Liew Abdullah (Malasya), Ing. Omelio León (Cuba), Ing. Luis Carrasco V., Ing. Sonia Aranibar T., Bach. Olga Andrade L., Ing. Ronald Huertas, Blg. Sofia Basilio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Sedapal. Planta de tratamiento de aguas residuales. (http://www.sedapal.com.pe/erdf/resumen_df.htm, (último acceso Octubre 2006).
2. Ley General de Residuos Sólidos. Ley N° 27314. Normas Legales del Diario oficial El Peruano, 21-07-2000. Año XVIII–N° 7333, pp. 190739-190748.
3. Reglamento Nacional de Construcciones NORMA S.090. Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales. Vice-Ministerio de Vivienda y Construcción. 1997. Lima-Perú.
4. U.S.E.P.A., United States- Environmental Protection Agency 625/10-84-003. Standard for the use or disposal of sewage sludge. 40CFR Part 503.
5. Directiva 86/278/CEE de 12/06/86. Directiva del Consejo de la UE sobre límites máximo permisibles de metales pesados en lodos que se disponen al suelo. 2001.
6. Alva, E. Estudio del empleo del humus de lombriz con fines agrícolas, procedentes de lodos residuales de depuradora en Cajamarca. [Tesis de Maestría] UNALM – Lima Perú; 1999.
7. Falcón, E. Producción de compost a partir de los lodos generados en la planta de tratamiento de aguas residuales Covicorti de SEDALIB S.A. Trujillo. [Tesis de grado]. UNALM, Lima Perú; 2005.
8. Castillo, G.; Duran, A.; Ahumada, I.; Mendoza, J. & Carrasco, A. Evaluación de toxicidad de lodos de aguas servidas. Simposio Residuos Orgánicos y su uso en sistemas agroforestales. XXV Jornadas Chilenas de Química. 2007.
9. Alloway, B. Heavy metals in soil. U. of London. John Wiley & Sons, Inc. 1993. p. 83-235.
10. Granato, T. & Col. Trace element concentrations in soil, corn leaves, and grain after cessation of biosolids applications. J. Environmental Quality. Vol.33 part 6, pág 2078–2089. *American Society of Agronomy* 2004.
11. Fassbender, H.; Bornemisza, E. Introducción a la química de suelos con énfasis en suelos de América Latina. Monografía N° 25. OEA. 1982.
12. EPA 832-F-00-064. Biosolids Technology Fact Sheet. Office of Water Washington, D.C. EPA-United States Environmental Protection Agency. 2000.
http://www.epa.gov/owm/mtb/cs_00_064.pdf (último acceso, diciembre 2007).
13. Mendoza, J.; Garrido, T. & Castillo, G. Aplicación de biosólidos al suelo toxicidad y efecto sobre la movilidad y biodisponibilidad de metales pesados. Simposio Residuos Orgánicos y su uso en sistemas agroforestales. Boletín N° 20. 2004. ISSN 0716-6192.
14. Miralles, R.; Beltrán, E.; Porcel, M.; Delgado, M. Emergencia de seis cultivos tratados con lodo fresco y compostado, de estaciones depuradoras. Rev. Int. Contaminación Ambiental. 2002, 18 (3) 139-146. España.
<http://www.editoraperu.com.pe> (último acceso Agosto 2008).
15. Universidad Nacional Agraria La Molina. Informe de análisis especial en suelo - Tabla de interpretación. Laboratorio de análisis de suelos, plantas, aguas y fertilizantes. (2007).

ESTUDIOS PRELIMINARES ACERCA DEL CARGADO Y LIBERACIÓN CONTROLADA DEL COMPLEJO COBRE-METRONIDAZOL A PARTIR DE MICROPARTÍCULAS DE QUITOSANO RETICULADAS CON TRIPOLIFOSFATO

Nathalie A. Sánchez López^a, Ana C. Valderrama Negrón^a, Clemente A. Luyo Caycho^b

RESUMEN

Las micropartículas de quitosano tienen aplicaciones potenciales como sistema de liberación controlada de fármacos, ya que muestran ser un excelente mucoadhesivo y a su vez mejora el efecto de permeabilidad a través de las superficies biológicas.

En el presente estudio las micropartículas de quitosano fueron reticuladas con tripolifosfato (TPP) mediante reticulamiento iónico. El trabajo de reticulado se realizó a diferentes concentraciones de TPP 1%, 5% y 10% y ellos en tres distintos medios de pH: FGS(pH=1,2), FIS(pH=6,8) y PBS(pH=8,6). La morfología de las micropartículas TPP-quitosano fueron examinadas por SEM. Cuando el pH y la concentración de TPP decrecen, las micropartículas presentan una forma esférica y una superficie lisa. El comportamiento relacionado a la liberación del cobre-metronidazol (complejo que presenta estudios de actividad biológica) fue afectado por el proceso de preparación de las micropartículas. Las micropartículas de quitosano preparadas con bajo pH y alta concentración de TPP producen una lenta liberación del complejo, indicando que el TPP-quitosano forman una buena matriz para el sistema de liberación del metalofármaco, cobre-metronidazol.

Palabras clave: quitosano, tripolifosfato, cobre-metronidazol, liberación controlada.

PRELIMINARY STUDIES ON THE LOADED AND CONTROLLED RELEASE OF COPPER-METRONIDAZOLE COMPLEX FROM CHITOSAN MICROPARTICLES CROSSLINKED WITH TRIPOLYPHOSPHATE

ABSTRACT

Chitosan microparticles have potential applications as drug delivery systems, because they have an excellent mucoadhesive effect and also simultaneously enhance the permeability through biological surfaces. In this study chitosan microparticles were crosslinked with tripolyphosphate (TPP) by ionic crosslinking. The lattice work was performed at different concentrations of TPP 1%, 5% and 10% and each concentration was evaluated in three different conditions: FGS(pH=1,2), FIS(pH=6,8) and PBS(pH=8,6). The morphology of TPP-chitosan microparticles were examined by SEM. When the pH and TPP concentration decreases, the microparticles present a spherical shape and smooth surface. The performance of the release of copper-metronidazole (complex with biological activity) was affected by the

^a Laboratorio de Investigación de Biopolímeros y Metalofármacos, Escuela Profesional de Química, Universidad Nacional de Ingeniería

^b Laboratorio de Películas Delgadas, Escuela Profesional de Física, Universidad Nacional de Ingeniería.

Av. Túpac Amaru 210 - Rímac / Lima 25 - Perú.

Correo electrónico: amesanlopez@gmail.com, anitacvn29@yahoo.com.mx

preparation process of the microparticles. Chitosan microparticles prepared with low pH and high concentration of TPP produced a slow release of the complex indicating that the TPP-chitosan is a good matrix for the release of the copper-metronidazole complex.

Keywords: chitosan, tripolyphosphate, copper-metronidazole, release control

INTRODUCCIÓN

La química bioinorgánica es un área que se viene desarrollando rápidamente y presenta un potencial enorme para las aplicaciones en medicina. La química inorgánica medicinal ofrece posibilidades reales para la industria farmacéutica tratando de descubrir nuevas drogas que sean más adecuadas para su uso en ese campo.

La *Entamoeba histolytica* (*E. histolytica*), que causa la disentería amebiana y abscesos amebianos de hígado, sigue siendo una amenaza significativa para la salud en muchas partes del mundo. Más de 50 millones de personas están afectadas, y solamente la malaria y la esquistosomiasis superan a la amibiasis como causa de la muerte por parásitos¹. Los nitroimidazoles, como metronidazol, son muy eficaces contra la enfermedad aguda, pero son relativamente ineficaces en la erradicación de los parásitos intestinales². Hasta la fecha, ha habido muy pocos informes de la resistencia de *E. histolytica* al metronidazol.

En este trabajo se utiliza el complejo cobre-metronidazol que consiste en la modificación del metronidazol 2-(2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol-1-il)etanol por la coordinación con Cu(II). Este nuevo complejo es activo frente a *E. histolytica in vitro e in vivo*^{3,4}, siendo más eficaces que el metronidazol y que puede resultar de utilidad como alternativa clínica a éste.

En la mayoría de los sistemas de liberación controlada, el fármaco, pesticida o cualquier otro agente biológico, se introduce en el interior de lo que se denomina transportador, siendo éste normalmente un material polimérico. La velocidad de liberación de la sustancia deseada está prácticamente controlada por las propiedades del polímero, aunque por otra parte, existen otros factores de menor influencia, tales como el pH del medio en el que se va a realizar la liberación. Teniendo en cuenta estos factores, es posible conseguir sistemas de liberación que actúen lentamente y de forma continua durante largos periodos de tiempo.

PARTE EXPERIMENTAL

Reactivos

Quitosano en polvo; Sigma- Aldrich, Inc, USA, Chitosan from crab shells minimum 85% desacylated. Ácido acético (Patrón analítico); Productos Químicos Monterrey S.A, México. Hidróxido de sodio, pellet J.T. Baker, USA. Tripolofosfato de sodio, Sigma-Aldrich Inc, USA. G.A.

Síntesis del complejo cobre-metronidazol⁵

El complejo cobre-metronidazol desarrollado en este trabajo fue sintetizado en medio etanólico, en el que se disuelven 0,6021g (0,0035 mol) de metronidazol en 20mL de etanol (cerca del punto de ebullición) agregándose acetato de cobre 0,4062g (0,001 mol) disuelto en 30mL de etanol. La mezcla se mantuvo en agitación constante a temperatura de aproximadamente 60 °C y luego se concentró hasta aproximadamente 10mL por evaporación. La mezcla se filtró en un embudo de placa porosa al vacío. El sólido aislado fue lavado con etanol a temperatura ambiente y secado al vacío durante 10 horas, en un desecador conteniendo sílica gel.

Preparación de micropartículas de quitosano⁶

Una solución al 2%(w/w) se preparó disolviendo el quitosano en una solución de ácido acético al 3%.

Las micropartículas formadas por el método de coacervación simple se dejan reposar en la solución de NaOH 2M por 24 horas con agitación continua, para luego lavarlas, hasta obtener un pH casi neutro, dejándolas en agua para su conservación.

Reticulación con TPP

Se prepararon soluciones de TPP y buffers como lo muestra la siguiente tabla 1:

Tabla 1. Relación de % de TPP en diferentes soluciones buffer.

TPP 1% Buffer1,2	TPP 5% Buffer1,2	TPP 10% Buffer1,2
TPP 1% Buffer6,8	TPP 5% Buffer6,8	TPP 10% Buffer6,8
TPP 1% Buffer8,6	TPP 5% Buffer8,6	TPP 10% Buffer8,6

Se colocaron 6,0 g de las micropartículas de quitosano en 25mL de la solución de TPP con un porcentaje y un determinado pH y se dejaron en agitación por 30 minutos. Se lavaron con agua destilada fría, hasta obtener un pH neutro y se mantuvieron en agua destilada.

Cargado del complejo cobre-metronidazol en micropartículas de quitosano

Seis gramos de micropartículas de quitosano reticuladas con TPP (ver tabla 1) se agitaron por 30 minutos en 50mL de una solución acuosa del complejo cobre-metronidazol 1 411,2 ppm. Una vez concluida la agitación fueron realizadas medidas de absorbancia en la región de 190-400nm para determinar la concentración del complejo cobre-metronidazol remanente en la solución.

Estudio de liberación in vitro

Se colocaron 100mg de micropartículas quitosano-TPP secas y cargadas con el complejo cobre metronidazol en 50mL de una solución buffer pH 1,2 (simulador de jugo gástrico) a una temperatura promedio de 37°C, utilizando un sistema compuesto de una chaqueta de calefacción y un termostato. Cada 10 minutos fueron tomadas muestras de 1mL de solución y luego adicionándose 1mL de solución buffer pH 1,2. Se determinó la absorbancia de la solución en la región de 190-400nm.

Se realizó el mismo ensayo para cada una de las muestras de micropartículas cargadas con el complejo y reticuladas con TPP (1; 5 y 10%) durante un periodo de 4 horas a pH 1,2.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudio de la estabilidad del complejo cobre-metronidazol a diferentes pH

El estudio fue desarrollado a pH 1,2 fluido gástrico simulado (FGS), pH=6,8 fluido intestinal simulado (FIS) y a pH=8,6 (PBS) en solución acuosa del complejo a una concentración $2 \times 10^{-3}M$.

Debido a las propiedades del cobre de precipitar a pH >5,5, se estudió la estabilidad del complejo en solución a pH 1,2.

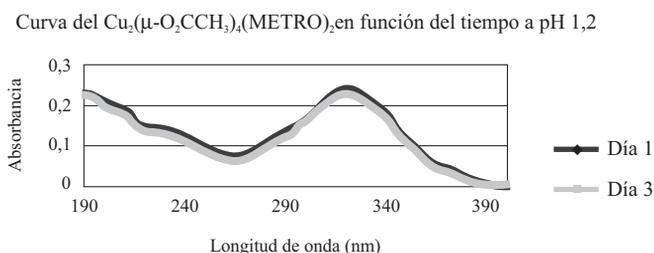


Figura 1. Curva del cobre metronidazol en buffer pH= 1,2 en distintos tiempos.

A partir de los espectros obtenidos, se observa la poca variación de la absorbancia en relación a los días, lo que demuestra que el complejo cobre-metronidazol es estable sólo en medio ácido (pH=1,2) en un tiempo máximo de evaluación de 3 días (72 horas) (figura 1)

Reticulación con TPP al 1%, 5%, 10% ⁷.

El quitosano, debido a los grupos aminos en medio ácido (ácido acético), produce la siguiente reacción:



Donde los grupos aminos se protonan; éstos entran en contacto con el NaOH y se forman las micropartículas, produciéndose una separación de fases, (método de coacervación). El NaOH actúa como un medio coagulante, produciendo una membrana polimérica por precipitación.

Esta membrana depende de factores como el tamaño de la micropartícula de acuerdo a su realización, a la viscosidad del goteo y a la altura del goteo a la solución alcalina.

Las micropartículas de quitosano-TPP fueron preparadas por la interacción iónica entre un grupo amino de quitosano cargado positivamente y un contraión de TPP de carga negativa. El grado de ionización del TPP depende del valor de pH de la solución.

En la solución original el TPP (pH 8,6), se disocia en iones OH⁻ y los iones de TPP: $\text{HP}_3\text{O}_{10}^{4-}$ y $\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$. Sin embargo, a un pH bajo, sólo hay aniones $\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$.

Por otra parte, el quitosano es una base débil, y como el pH de la solución disminuye, la ionización del grupo amino del quitosano es aumentada. Por lo tanto, las micropartículas de quitosano-TPP preparadas en la solución original de TPP son dominadas por la desprotonación y un poco de reticulación iónica, pero las micropartículas de quitosano preparadas en una solución ácida de TPP son completamente dominadas por entrecruzamiento iónico.

Las micropartículas de quitosano preparadas a pH 6,8 no fueron completamente esféricas, y presentaban una superficie rugosa, mientras que las micropartículas preparadas con la solución de TPP (pH 1,2) presentaban forma esférica y superficie lisa.

Estos resultados muestran que la formación de la matriz TPP-quitosano depende de los valores de pH de la solución de TPP.

Cargado de cobre-metronidazol en las micropartículas de quitosano-TPP⁸.

Una vez realizado el proceso de cargado del complejo cobre metronidazol se registraron los espectros de las soluciones remanentes del complejo obteniéndose los datos de absorbancias

medidas a $\lambda=320\text{nm}$, que es la longitud de onda de máxima absorbancia de acuerdo al espectro inicial del complejo cobre-metronidazol a la región del visible (tabla 2).

Considerando que la solución preparada para el cargado es de 1 411,12ppm ($2,10^{-3}\text{M}$), se obtuvo los siguientes resultados:

La eficiencia de cargado está dada por la siguiente ecuación

$$E_{\%} = \frac{C_1}{C_2} 100$$

$E_{\%}$: eficiencia de cargado

C_1 : concentración real del principio activo en las micropartículas

C_2 : concentración inicial del principio activo

El cargado de las micropartículas de quitosano-TPP está en relación al medio ácido y al porcentaje de TPP. Como se sabe, este medio favorece a una mayor formación de iones amina que interaccionan con aniones del tripolifosfato, estables también en el medio ácido. Como se observa en la tabla 2, el medio ácido proporciona valores altos de eficiencia.

Tabla 2. Datos obtenidos de la absorbancia del complejo cobre-metronidazol después del cargado en micropartículas de quitosano reticuladas con distintos porcentajes de TPP en diferentes buffers, a $\lambda=320\text{nm}$.

TPP %	TPP (pH)	Absorbancia	Concentración (ppm)	Eficiencia de cargado (%)
1	1,2	0,052	103,01	92,7
1	6,8	0,689	1378,66	2,3
1	8,6	0,672	1343,38	4,8
5	1,2	0,046	91,72	93,5
5	6,8	0,386	771,88	45,3
5	8,6	0,404	807,16	42,8
10	1,2	0,013	25,40	98,2
10	6,8	0,034	66,32	95,3
10	8,6	0,373	745,07	47,2

Estudio de liberación in vitro⁹

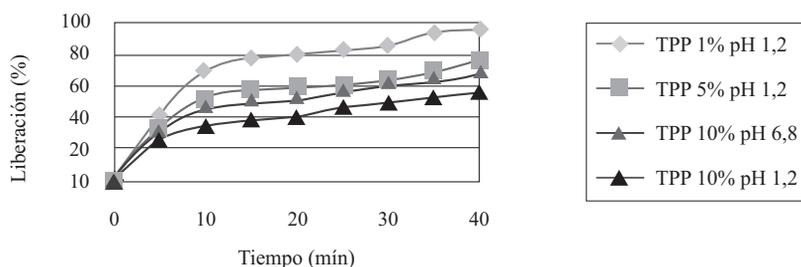
La tabla 3 muestra el porcentaje del complejo cobre-metronidazol liberado en un periodo de 40 minutos.

Tabla 3. Porcentajes de liberación del complejo cobre-metronidazol en el tiempo.

Tiempo (minutos)	1% TPP pH 1,2 % de liberación	5% TPP pH 1,2 % de liberación	10% TPP pH 1,2 % de liberación	10% TPP pH 6,8 % de liberación
0	0	0	0	0
5	42,3	33,6	26,4	30,8
10	69,5	52,1	34,2	45,3
15	77,3	57,6	38,6	49,5
20	79,3	59,4	40,2	52,3
25	82,4	60,4	46,3	55,6
30	85,1	64,3	49,3	60,1
35	93,4	68,9	52,1	62,4
40	95,6	76,2	55,9	68,3

Este estudio preliminar de la liberación del complejo cobre-metronidazol se ha efectuado en un periodo de 40 min. Este tiempo es verdaderamente corto, pero se debe al hecho de que la micropartícula de quitosano- TPP poseen una pobre fuerza mecánica, la cual facilita la liberación rápida del complejo.

El porcentaje de TPP y el pH de la solución, tienen influencia en la formación de redes internas dadas por la reticulación iónica del TPP y iones amino. Esto ha sido posible observar ya que algunas micropartículas sufrieron una deformación durante el secado.

**Figura 2.** Curva de liberación del complejo cobre-metronidazol.

En la figura 2 se observan los resultados de liberación del complejo para los 4 tipos de micropartículas que fueron aptas para este estudio. Se observa que la liberación del complejo a partir de las micropartículas trabajadas en medio ácido (pH 1,2), es mucho mayor cuando éstas presentan poca concentración del reticulante TPP, lo que se puede explicar porque a menor concentración de TPP ocurre una menor formación de redes internas por la reticulación iónica, facilitando la liberación del complejo.

Si comparamos la liberación del complejo a una misma concentración de TPP, (10%), el medio básico favorece la liberación del complejo. Esto debido a que en este medio hay menor presencia de aminas en la estructura del quitosano, reduciendo la cantidad de redes dentro de

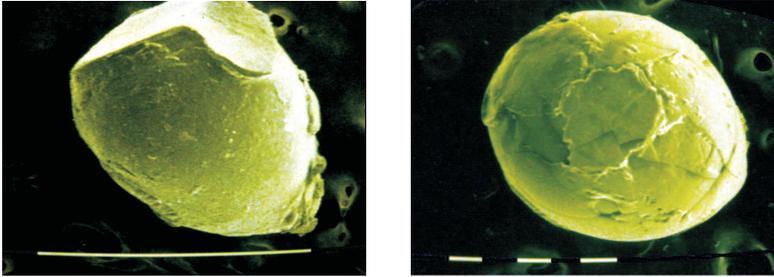


Figura 3. Fotografías de micropartículas secas de quitosano-TPP 1% en buffer 1,2 sin cargar (izq) y cargadas (der) con $\text{Cu}_2(\mu\text{-O}_2\text{CCH}_3)_4(\text{METRO})_2$ $2 \times 10^{-3}\text{M}$

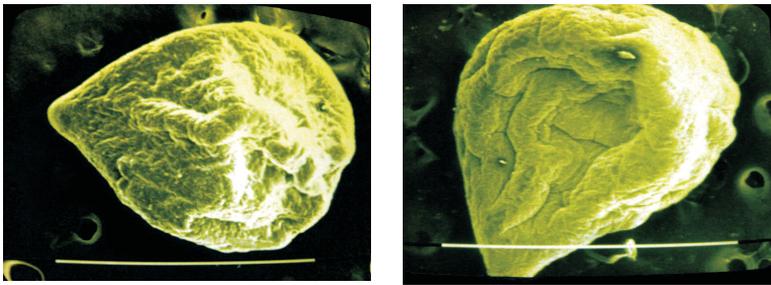


Figura 4. Fotografías de micropartículas secas de quitosano-TPP 5% en buffer 1,2 sin cargar (izq) y cargadas (der) con $\text{Cu}_2(\mu\text{-O}_2\text{CCH}_3)_4(\text{METRO})_2$ $2 \times 10^{-3}\text{M}$

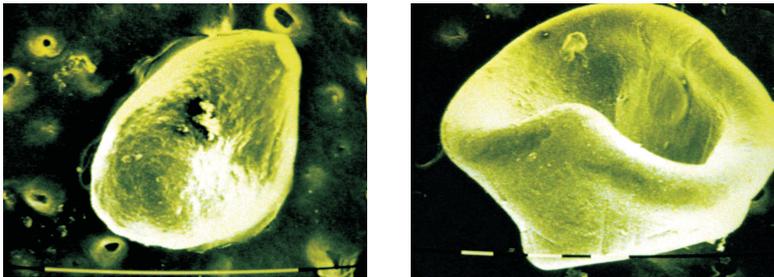


Figura 5. Fotografías de micropartículas secas de quitosano-TPP 10% en buffer 1,2 sin cargar (izq) y cargadas (der) con $\text{Cu}_2(\mu\text{-O}_2\text{CCH}_3)_4(\text{METRO})_2$ $2 \times 10^{-3}\text{M}$

En las figuras 3-5 desarrolladas en el medio pH 1,2 se observa las diferencias en la superficie de las micropartículas las cuales presentan una superficie lisa cuando se encuentran cargadas y las no cargadas presentan rugosidades en su superficie.

La superficie lisa de las micropartículas cargadas se debe probablemente a la acumulación del complejo en la superficie.

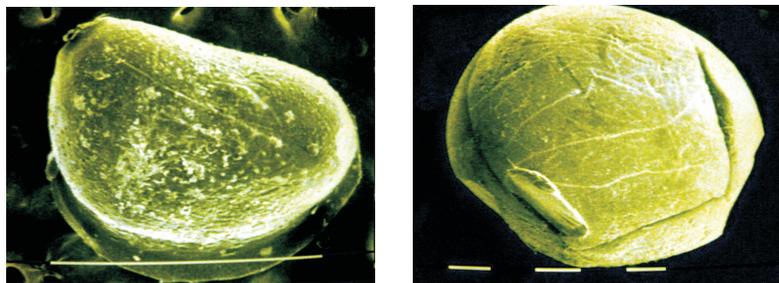


Figura 6. Fotografías de micropartículas secas de quitosano-TPP 10% en buffer 6,8 sin cargar (izq) y cargadas (der) con $\text{Cu}_2(\mu\text{-O}_2\text{CCH}_3)_4(\text{METRO})_2$ $2 \times 10^{-3} \text{M}$

La figura 6 muestra la estructura de unas micropartículas “casi esféricas”, en relación a las anteriores, esto puede ser debido a que existe una relación equivalente entre las interacciones de la amida del quitosano dadas por el medio (pH 6,8) con los oxígenos del tripolifosfato en relación a la concentración, 10%.

En la figuras se puede observar que la superficie de las micropartículas de quitosano son afectadas según el porcentaje de TPP utilizado en la reticulación a pH 1,2 afectando la estructura mecánica de las esferas.

Un mayor porcentaje de TPP siempre aumenta la interacción de los fosfatos con las aminas de quitosano, pero esto también conllevaría a una desprotonación, es decir, probablemente se generen zonas de mayor atracción de iones generando deformación en las micropartículas, esto se puede observar en la micropartícula al 10% de TPP, la cual se encuentra hundida en el centro.

CONCLUSIONES

El complejo cobre-metronidazol es estable por un periodo de 3 días a un pH = 1,2, no mostrando la misma estabilidad los medios a pH 6,8 y 8,6, por lo cual la liberación del complejo se desarrolló en medio ácido. El cargado del complejo cobre-metronidazol se optimiza en micropartículas desarrolladas por el método de coacervación simple y reticuladas con TPP al 1; 5 y 10% a pH=1,2 y al 10% a pH=6,8. La liberación del complejo cobre-metronidazol se dio rápidamente (aprox. 4h) lo cual hace creer en la necesidad de modificar la estructura mecánica de las micropartículas reticuladas con TPP, lo que quedó demostrado por los estudios realizados por SEM.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi agradecimiento al Dr. Hugo Alarcón Cavero por las facilidades para el uso del espectrofotómetro

BIBLIOGRAFÍA

1. J. A. Walsh, in –Amoebiasis×, Ed. J. I. Ravdin, John Wiley & Sons, 1988, p. 93.
2. P. Pehrson, E. Bengtsson, *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 1984, 78, 505.
3. C. M. Beard, K. L. Noller, W. M. O'Fallon, L. T. Kurland, M. B. Dockerty, *New Eng. J. Med.* 1979, 301, 519.
4. G. D. Friedman, *New Eng. J. Med.* 1980, 302, 519.
5. Ana Cecilia Valderrama Negrón, Síntese, Caracterização e Investigação da Potencialidade Biológica de Carboxilatos Dinucleares de Ru, Rh e Cu com Nitroimidazóis. Tese de Doutorado, Instituto de Química, USP.2005.
6. Christian Jacinto Hernández, Liberación controlada del difosfato de cloroquina a través de micropartículas de quitosano entrecruzadas con glutaraldehído. Tesis de Maestría, Escuela Profesional de Química, Facultad de Ciencias, UNI, 2010.
7. J.A. Ko, H.J. Park, S.J. Hwang, J.B. Park, J.S. Lee. Preparation and characterization of chitosan microparticles intended for controlled drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics* (2002) 249, 165-174.
8. Fwu-Long Mi, Hsing-Wen Sung, Shin-Shing Shyu, Chia-Ching Su, Chin-Kang Peng. Synthesis and characterization of biodegradable TPP/genipin cocrosslinked chitosan gel beads. *Polymer* (2003) 44, 6521-6530.
9. M.L. Lorenzo-Lamosa, C. Remuñan-López, J. L. Vila-Jato, M. L. Alonso. Design of microencapsulated chitosan microspheres for colonic drug delivery. *Journal of Controlled Release* (1998) 52, 109-118.

INFORMACIONES

A. De la Sociedad Química del Perú

Conferencias de los "Jueves Científicos" en la Sociedad Química del Perú

- "Influencia del descerado y composición del almíbar en la optimización del tratamiento térmico de la conserva de aguaymanto (*Physalis peruviana*, Linnaeus, 1753) para la mayor retención de ácido ascórbico", dictada por el Ing. Christian Encina Zelada, docente de la Facultad de Industrias Alimentarias-Departamento de Tecnología de Alimentos de la Universidad Nacional Agraria, La Molina - UNALM, el día jueves 2 de diciembre del 2010.
- "Avance en la investigación de Yacón *Smallanthus sonchifolius*", dictada por la Dra. Ana María Muñoz Jáuregui, Doctora en Farmacia y Bioquímica de la UNMSM, ofrecida el día jueves 9 de diciembre del 2010.
- "Importancia del aprendizaje adecuado de los números de oxidación para su aplicación en diversos temas en química", dictada por la Ing. Ana María Osorio Anaya, docente de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ofrecida el día viernes 14 de enero del 2011.
- "Nanotecnología: desarrollo y comercialización de tecnologías", dictada por José Raez, Ph.D. en Química de polímeros y materiales de la Universidad de Toronto, ofrecida el día viernes 4 de febrero del 2011.

Curso: Enfoque moderno de la Química básica en el año internacional de la química

Con el objetivo de hacer una revisión de temas básicos de química, de manera atractiva y dinámica, mediante el planteamiento y desarrollo de ejercicios de aplicación, se llevó a cabo este curso, dictado por catedráticos de la Facultad de Química e Ingeniería Química de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, realizado del 17 al 22 de enero último.

Ceremonia de Inauguración del "2011 - Año Internacional de la Química"

Tuvo lugar el jueves 13 de enero, en el local institucional de la SQP. Asistieron el Dr. Roger Guerra-García Cueva. Presidente de la Academia Nacional de Ciencias; M.Sc. Manuel Alejandro Solís Gómez, director General de Educación Superior y Técnico Profesional; la Dra. María Isabel Miyán de Chiabra, Secretaria General de la Comisión Nacional Peruana de Cooperación con la UNESCO, a quienes agradecemos su presencia en este evento.

Asimismo, agradecemos la participación de la Dra. María Luisa Castro de Esparza por la Conferencia "La Química en la protección de la salud ambiental y el desarrollo", expuesta en forma muy didáctica y ofreciendo una extensa panorámica del quehacer de la química en el desarrollo del bienestar de la humanidad.

Calendario "2011 - Año Internacional de la Química"

En el marco de la celebración, por el "Año Internacional de la Química"; nuestra Institución ha programado diversas actividades científicas, las que han sido plasmadas en un calendario. Este calendario incluye también otros eventos científicos coordinados con diversas instituciones, y que se irán desarrollando a lo largo del año.

Teniendo como lema "La Química - nuestra vida, nuestro futuro", estas actividades tienen como principal objetivo sensibilizar al público, en general, y especialmente a la juventud estudiosa, sobre la importancia de la química en nuestras vidas.

Felicitamos a la Dra. Olga Lock por la coordinación en la edición de este hermoso calendario.

Té de Damas

Nuestra Institución organizó el pasado 18 de enero en el Hotel Marriot, un té de damas, iniciativa que tuvo una gran acogida entre las profesionales de la química. Este encuentro tuvo como finalidad celebrar el aporte de la mujer en la química. Cabe resaltar que el presente año, 2011, coincide con el centenario del Premio Nobel de Química otorgado a Marie Curie. Un evento similar se realizó ese mismo día en muchos países, organizado por las respectivas Asociaciones de química y de la UNESCO.



Asistieron al té de Damas 78 profesionales de distintas ramas de la química

IUPAC World Chemistry Congress of 2011

Nuestra Institución está coordinando, la formación de una delegación peruana para participar en el IUPAC World Chemistry Congress of 2011, a realizarse del 30 de julio al 7 de agosto del 2011, en San Juan, Puerto Rico. Asimismo, viene tramitando la respectiva carta de invitación para los asistentes, requisito indispensable para el trámite de la visa. Para mayor información del Congreso visite: <http://www.iupac2011.org>

XVIII Encuentro Científico Internacional 2011 de verano ECI2011v "Gustavo Gonzales Rengifo"

El pasado 06 de enero, el Colegio de Químicos del Perú y la Sociedad Química del Perú participaron en este evento con el tema "Año Internacional de la Química", en la sala 1 del Instituto Peruano de Energía Nuclear (IPEN). La inauguración de esta Sesión estuvo a cargo del Dr. Mario Ceroni Galoso, en representación del Colegio de Químicos y la clausura por la Ing. Quím. Flor de María Sosa Masgo, Presidenta de la Sociedad Química. Asimismo, cabe resaltar la participación de la Dra. Olga Lock Sing, Dra. Ana María Muñoz Jáuregui, y el Dr. Gino Picasso, entre otras personalidades, en este importante evento.

Movimiento Internacional para el Recreo Científico y Técnico - MILSET AMLAT

El MILSET AMLAT, llevó a cabo la semana del 6 a la que denominó "Sociedad Química del Perú. Química y los alimentos". Este evento contó con la participación de la Dra. Ana María Muñoz Jáuregui con la exposición de la conferencia "Aminoácidos y fibra alimentaria" el 8 de febrero, del Dr. Mario Carhuapoma Yance con la conferencia "Salud y alimentación con omega 3", el 10 febrero. Agradecemos a la Dra. Muñoz y al Dr. Carhuapoma por su participación en representación de nuestra Institución.

Sensibles pérdidas:

Con profundo pesar comunicamos el fallecimiento de los socios:

- Doctor Segundo Gibaja Oviedo, socio vitalicio de nuestra Institución, acaecido el 30 de diciembre del 2010.
- Quím. César Augusto Días Tassara, socio vitalicio de nuestra Institución. Formó parte del Consejo Directivo durante el periodo 1976-1977 y fue presidente de la Comisión de Publicaciones desde 1986 al 1990. Nos dejó el 30 de diciembre 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

Colegio de Químicos del Perú

El Dr. Jorge Reinaldo Angulo Cornejo juramentó como Presidente Decano del Consejo Nacional para el periodo 2011-2012, en ceremonia realizada el 27 de enero, en el local institucional del Colegio de Químicos del Perú. Felicitamos al Dr. Angulo por esta nueva etapa en su trayectoria profesional. Asimismo, hacemos extensivo nuestra felicitación a nuestros socios: Quím. José Gonzalo Beretta Enciso y a la Mg. María Nieves Lino Pacheco, quienes han asumido el cargo de Secretario y Tesorera, respectivamente.

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