ISSN 1810-634X

REVISTA de la SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ

REVISTA TRIMESTRAL

VOLUMEN 77 Nº 3
JULIO - SETIEMBRE 2011

INSTITUCIÓN CIENTÍFICA FUNDADA EN 1933

LIMA, PERÚ

SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ
CONSEJO DIRECTIVO
(marzo 2011 - marzo 2013)

Presidenta	: Ing. Quím. Flor de María Sosa Masgo
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	: Quím Farm. Gabriela Soriano Chávez
Director Administrativo	: Quím. Neptalí Ale Borja
Vocales	: Dr. José Juárez Eyzaguirre
	: Quím. Lucía Mondragón Hernández
	: Dra. María Luisa Castro de Esparza
	: Dra. María del Rosario Sun Kou
	: M. Sc. Jorge Eduardo Loayza Pérez
	: Quím. Marco Guerrero Aquino
	: M.Sc. Graciela Untiveros Bermúdez
	: Quím Farm. Nora Herrera Hernández

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

LABORATORIO DANIEL ALCIDES CARRIÓN 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

Comité Editor

Presidente : Mario Ceroni Galloso
Editor en Jefe : Luis Valles Fernández
Miembros : Ana Valderrama Negrón
Julio Santiago

Comité Consultivo

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
Troncoso Corzo, Luzmila
Facultad de Medicina UNMSM - Perú
Guitiérrez Correa, Marcel
Universidad Nacional Agraria La Molina - Perú

Revista indizada en el Chemical Abstracts, SciELO y Latindex
Licenciada en EBSCO
Sede: Av. Nicolás de Araníbar 696 Santa Beatriz – Lima 01
Casilla Postal 14-0576 – Lima 14 Perú
Teléfono (511) 472-3925 Fax: (511) 265-9049
e-mail: **revsqp@gmail.com / sqperu@gmail.com**
Portal web: **www.sqperu.org.pe**
Ley 26905 – Hecho el depósito legal a la Biblioteca Nacional del Perú
Certificado N° 95-1567

Vol 77 **JULIO - SETIEMBRE 2011** **N°3**

En el Perú: N° suelto S/.15 Suscripción anual: S/. 60.00 En el extranjero: Suscripción anual: $50.00

CONTENIDO
(Vol 77 N° 3 - 2011)

- *Editorial* 171

Trabajos originales

- Estudio de la cinética de biosorción de iones plomo en pectina reticulada proveniente de cáscaras de cítricos, por Víctor R. García Villegas, Andrea G. Yipmantin Ojeda, Enrique G. Guzmán Lezama, Rodolfo Pumachagua Huertas y Holger J. Maldonado García. 173
- Purificación y caracterización de un nuevo principio coagulante del veneno de la serpiente peruana *Bothros pictus*, por Marco Mesía Guevara, Fanny Lazo Manrique y Armando Yarlequé Chocas. 182
- Interacción del ácido morín-5-sulfónico (MSA) y el ácido quercetín-5-sulfónico (QSA) con agentes surfactantes de diferente carga, por Edgar O. Nagles, Roxana Ríos y Manuel Otiniano. 191
- Actividad antifúngica de cuatro plantas usadas en la medicina tradicional peruana: Aislamiento de 3´-formil-2´,4´,6´-trihidroxidihidrochalcona, principio activo de *Psidiun acutangulum*, por Louise Wen, Mohamed, Haddad, Irma Fernández, Giovana Espinoza, Candy Ruiz, Edgar Neyra, Beatriz Bustamante y Rosario Rojas. 199
- Características morfológicas y químicas de 3 cultivares de maíz morado (*Zea mays* L.) en Arequipa - Perú, por Fredy Quispe Jacobo, Karim Arroyo Condorena y Arilmí Gorriti Gutiérrez. 205
- Caracterizacion química de tres palmeras del género *Attalea*, por Éricka Jeannette Dávila Guerrero, Claudia Merino Zegarra, Kémber Mateo Mejía Carhuanca, Dora Enith García De Sotero, Michel Sauvain y Víctor Erasmo Sotero Solís. 218
- Efecto antiagregante plaquetario *in vivo* y fibrinolítico *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Oenothera rosea* Aiton (chupasangre), por Hilda Vanessa Díaz Porras, César Fuertes Ruitón, Delia Whu Whu, Bertha Jurado Teixeira, Mirtha Roque Alcarraz, Jorge Arroyo Acevedo. 225
- **4**º Congreso Mundial de Química de la IUPAC. 235

INFORMACIONES
de la Sociedad Química del Perú

- Foro: "La Química, Sociedad y Desarrollo Sostenible". 238
- Conferencias en la Sociedad Química del Perú. 242
- Encuentro Científico Internacional 2011. 243
- Semblanza del maestro Q.F.Dr. José C. Mondragón Romero. 244

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.
Por exceso de correcciones de estilo se cobrará a partir de un mínimo de S/. 50.00

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 arábiga seguido de punto. A continuación se coloca la leyenda que explique su significado. La numeración y leyenda en una tabla, cuyo formato debe ser básico 1, se colocan en la parte superior a diferencia de las figuras y los esquemas que se ubican en la parte inferior. Las figuras deben ser originales y de alta resolución.

8. Las tablas, fotos, figuras y esquemas deben estar incluidos en el documento de Microsoft Word.

9. Las referencias, se citan en el texto correlativamente como superíndice. El número de estas referencias no debe ser excesivo. Deberán fluctuar entre 7 y 15. La sección Referencias se escribe con tamaño de fuente 14, centrado y **en negrita**. Las abreviaturas de la revistas se escribirán según el Chemical Abstracts Service Source Index (http://www.cas.org/sent.html) y List of Journals Indexed in Index Medicus,. (http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lsiou.html) Las referencias citadas se escribirán con el tamaño de fuente 10 y se seguirá el estilo de Vancouver.

Editorial

Homenaje al Dr. José Matías Manzanilla Barrientos, a los 100 años de promulgada la Ley de Accidentes de Trabajo, N° 1378

Hace ya un siglo, exactamente el 20 de enero de 1911, durante el gobierno de Augusto B. Leguía, que se promulgó en el Perú la Ley 1378, donde queda establecido la llamada doctrina del riesgo de los accidentes de trabajo: "La responsabilidad económica debido a lesiones, incapacidad física y muerte que sufran los obreros y empleados en el desempeño de sus prestaciones laborales, la asumirá el empresario, aun si no existiera culpabilidad por parte de éste, o si ella no se llegara a demostrar". Esta teoría del riesgo profesional surgió en Europa y USA a mediados del siglo XIX, debido a que el progreso de la actividad industrial ocasionaba frecuentes accidentes y muertes de los operarios y trabajadores de las empresas.

Fue en el año 1884 cuando en Alemania se aprobó la Ley del Seguro de Accidentes de Trabajo, cuya base sustentatoria fue la llamada responsabilidad objetiva del empresario, donde todo accidente laboral debe quedar cubierto por un seguro social financiado por el empleador. En los años siguientes, otros países europeos fueron recogiendo la teoría del riesgo profesional en su normativa laboral. En América Latina el Perú fue el primero que la estableció en 1911; Chile en 1925, y en años posteriores, el resto de los países.

La Ley del año 1911 fue posible gracias al diputado José Matías Manzanilla Barrientos (1867-1947), ilustre peruano y brillante orador parlamentario, siempre presente en la historia de la seguridad laboral en el Perú. Hizo sus estudios escolares en el Colegio San Luis Gonzaga. Años después, en 1890, optó el grado de bachiller en Jurisprudencia en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; al año siguiente logra el grado de bachiller en Ciencias Políticas; el 9 de diciembre de 1892 se recibe como abogado ante la Corte Superior de Lima, y en 1895 obtiene el grado de Doctor en Ciencias Políticas. Fue catedrático de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y posteriormente, Decano de la Facultad de Ciencias Políticas y Administrativas. En 1924 fue elegido Rector interino. En opinión de Jorge Basadre, Manzanilla, aparte de su actividad parlamentaria, encarnó en San Marcos una etapa netamente conservadora. En 1927 ocupó el cargo de Rector titular. Fue obligado a renunciar en 1928 debido a la reforma universitaria de Leguía. Retoma como Rector en 1930, dejando la universidad al año siguiente por problemas políticos.

Manzanilla fue también varias veces Decano del Colegio de Abogados de Lima. Sanchezcerrista de corazón y representante ilustre del civilismo, fue miembro del Partido Civil y elegido diputado en tres oportunidades por la provincia de Huallaga, entre 1896 y 1904; por Lima de 1905 a 1908, por Ica, en 1909 y 1919. También ejerció la Presidencia de la Cámara de Diputados en 1916. Tuvo una fructífera labor parlamentaria. Muchos de sus proyectos de ley laborales salieron a luz en esos años. A solicitud del Presidente José Pardo redacta 10 proyectos de ley laborales: 1) Higiene y seguridad de los trabajadores. 2) Trabajo de los niños y las mujeres. 3) Descanso obligatorio. 4) Horas de trabajo. 5) Indemnización por los accidentes de trabajo. 6) Contrato de trabajo. 7) Contrato de aprendizaje. 8) Asociaciones industriales y obreras. 9) Huelgas, conciliaciones y arbitrajes. 10) Junta nacional del trabajo.

El proyecto de Ley de Accidentes del trabajo pasó por muchos avatares en el Congreso. Fue tildado de tener una orientación socialista, de difícil adaptación en nuestro país, que

disminuiría la industria. Pero Manzanilla contó con aliados, como el senador Luis Miró Quesada de la Guerra, el diputado Carlos Losa y Quiñones y otros. Manzanila defendió su proyecto ardorosamente, llegando a pronunciar las siguientes palabras: "Yo no quiero hacer la sombría pintura de las familias en la miseria y de los pobres inválidos mendigando la caridad pública. Renuncio a todos los ropajes retóricos que pudieran dar brillante envoltura a esta exposición. Yo me limito a sostener que si la industria produce esos daños, ella debe repararlos". La Cámara de Diputados aprobó el proyecto con algunas modificaciones el 5 de setiembre de 1908. El Senado también lo aprobó, con modificaciones de varios artículos. Por fín el 20 de enero de 1911 fue promulgada por el presidente Leguía como Ley de Accidentes de Trabajo, que contenía 82 artículos distribuidos en siete títulos.

Promulgada la Ley y su reglamento, los empresarios aseguraron a sus trabajadores contratando pólizas con seguros privados.

Años después, en 1936, se creó el Seguro Social Obrero, dando cobertura por enfermedad, maternidad, invalidez, vejez y muerte. No se consideraron los accidentes y enfermedades ocupacionales. Después de mucho avatares, el 28 de abril de 1971 se emitió el D.L. 18846 que creó el Seguro de Accidentes de Trabajo y Enfermedades Profesionales a cargo del Seguro Social Obrero. Su reglamento, DS. 009-2005-TR es publicado el 29 de setiembre de 2005.

El 20 de agosto del presente año (2011) aparece publicado en el diario oficial El Peruano, la Ley N° 29783, Ley de Seguridad y Salud en el Trabajo. Esta ley extiende el ámbito del Reglamento anterior, de setiembre del 2005, que era, extrañamente, sólo aplicable a la actividad privada; ahora la ley comprende a todos los empleadores y trabajadores bajo el régimen laboral de la actividad privada en todo el territorio nacional, trabajadores y funcionarios del sector público, trabajadores de las Fuerzas Armadas y de la Policía Nacional, y de trabajadores independientes.

Es de esperar que mientras se elabora el Reglamento de esta Ley, el Ministerio de Trabajo y Promoción del Empleo capacite bien a los inspectores de seguridad y salud en el trabajo y que éstos sean profesionales competentes, habilitados en sus colegios profesionales como químicos, biólogos, físicos o ingenieros, especializados.

El Dr. José Matías Manzanilla Barrientos, considerado por los juristas como precursor del derecho de trabajo en el Perú y legislador social de innovadoras y avanzadas ideas, para su época, ejemplo de los abogados laboralistas, recibió merecidos reconocimientos, tales como la Gran Cruz de la Orden del Sol del Perú, la Gran Cruz de la Orden del Mérito de Chile, la Gran Cruz de la Corona de Italia y la de Oficial de la Legión de Honor. Una escultura suya, obra del artista Luis Valdettaro, se puede apreciar al frente del Ministerio de Trabajo de la Av. Salaverry. Es justo rendirle un homenaje a quien fuera un ilustre diputado que dedicó su vida para que los trabajadores contaran con una cobertura legal adecuada que los protegiera.

Mario Ceroni Galloso
Presidente del Comité Editor

Recibido el 27-10-2010
Aprobado el 11-01-2011

ESTUDIO DE LA CINÉTICA DE BIOSORCIÓN DE IONES PLOMO EN PECTINA RETICULADA PROVENIENTE DE CÁSCARAS DE CÍTRICOS

Víctor R. García Villegas[a *]; Andrea G. Yipmantin Ojeda[a,b]; Enrique G. Guzmán Lezama[b,c]; Rodolfo Pumachagua Huertas[a]; Holger J. Maldonado García[b,c]

RESUMEN

La pectina es una mezcla de polisacáridos que presentan principalmente unidades de ácido galacturónico en su estructura y se encuentra formando parte de la pared celular de vegetales, como los cítricos. Los grupos carboxílicos en su forma aniónica se caracterizan por tener tendencia hacia la captación de especies catiónicas como Pb^{2+}. La fuente empleada para la obtención de pectina, mediante hidrólisis ácida (pH 1,4, temperatura: 80ºC tiempo: 60 min.), fueron las cáscaras de naranja. Para disminuir la capacidad de hidratación e hinchamiento de la pectina cuando se encuentra en medio acuoso se realizó la reticulación empleando formaldehído. El rango de pH en el cual se obtuvo la máxima capacidad de sorción fue 4,5 – 5,5. En la mayoría de los casos el modelo matemático de cinética de pseudo primer orden se ajustó mejor que pseudo segundo orden a la cinética de biosorción de plomo en pectina, tanto para diferentes concentraciones iniciales del metal en la solución, como para diferentes cantidades de biosorbente.

Palabras clave: biosorción, pectina, plomo, reticulacion, cinética

KINETIC STUDIES OF LEAD ION BIOSORPTION BY CROSSLINKED PECTIN FROM CITRUS PEEL

ABSTRACT

Pectin is a mixture of polysaccharides containing galacturonic acid units, as main compound, into its structure and it is found by forming a part of the vegetables cell wall, such as citrus. Carboxylic groups in their anionic form are characterized for their binding capacity for cationic species, such as Pb^{2+}. Orange peels were used as a source of pectin, through acid hydrolysis (pH 1,4, temperature: 80°C, time: 60 min.). For decreasing the hydration and swelling capacity when pectin is found in aqueous solution medium, crosslinked by using formaldehyde was made. Maximum sorption capacity was obtained at pH between 4,5 and 5,5. The most of the cases pseudo first order mathematic kinetic model fit it better than Pseudo second order to kinetic biosorption of lead in pectin for either different initial metal concentrations in solution or different amounts of biosorbent.

Key word: biosorption, pectin, lead, crosslinked, kinetic

INTRODUCCIÓN

La contaminación ambiental y el deterioro de algunos ecosistemas han sido intensificados debido al incremento de la actividad industrial, generando una acumulación de metales pesados y compuestos sintéticos. Las aguas residuales provenientes de las actividades

[a] Escuela de Química, Universidad Nacional Federico Villarreal, Lima 10. Vrgv03@gmail.com
[b] Departamento de Química, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima 31
[c] Facultad de Quím. e Ing. Quím., Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima 1

mineras y metalúrgicas son consideradas como la mayor fuente de contaminación de metales pesados y la necesidad de métodos económicos y efectivos para la remoción de estos metales ha conllevado al desarrollo de nuevas tecnologías de separación.[1] Muchas de estas sustancias tóxicas que contienen metales pesados tienden a persistir indefinidamente en el medio ambiente, comprometiendo la salud de animales y personas mediante su acumulación e ingreso a la cadena alimenticia.[2] Para remover materia orgánica de alta masa molecular o sustancias inorgánicas presentes en aguas residuales, se emplea carbón activado como sustancia adsorbente o resinas de intercambio iónico, los cuales son efectivos, pero tienen alto costo. Un adsorbente natural de bajo costo es la pectina, la cual presenta una propensión a adsorber metales pesados, tales como Hg, Cd y Pb, que se encuentran como principales contaminantes de las aguas residuales y de los cuales el plomo es quien presenta mayor afinidad a la biosorción en pectina por quelación.[3]

Las pectinas están conformadas por polisacáridos aniónicos heterogéneos que se encuentran en la pared celular de vegetales.[4] Estos polisacáridos están conformados, principalmente, por unidades de ácido 1–4–α–D–galactopiranosilurónico (comúnmente llamado ácido α–D–galacturónico), mediante los cuales algunos de los grupos carboxilo se encuentran metoxilados.[5] El mecanismo de biosorción de plomo en pectinas provenientes de cítricos está determinado principalmente por el números de grupos de ácidos carboxílicos presentes, los cuales son mayores en pectina de bajo grado de metoxilación y se encuentran en menor cantidad cuando tienen altos grados de metoxilación.[6] En la figura 1 se muestra la unión de las unidades estructurales del ácido α–D–galacturónico y sus derivados metoxilados mediante los enlaces α-1-4.

El uso de pectinas como biosorbente natural para el tratamiento de efluentes industriales contaminados con metales pesados puede incrementar su valor. Sin embargo, aunque se puedan dar un uso similar a las de algunas resinas sintéticas u otros biosorbentes, la pectina también presenta un grado de solubilidad e hidratación como para ser usada de manera directa. Dronnet *et al*. (1998) demostraron que la reticualción con formaldehído reduce la capacidad de hinchamiento y retención de agua en pectina de pulpa de betarraga; no obstante, disminuye la capacidad de adsorción de Zn^{2+} y Pb^{2+}.

Por otra parte, la rapidez de fijación del soluto en el biosorbente es estudiada por la cinética de biosorción, la cual expresa el cambio de concentración del soluto en el tiempo y es definida por la ley de velocidad. Entre los modelos cinéticos ampliamente empleados por muchos autores se encuentran el modelo de la cinética de pseudo primer orden o ecuación de Lagergren y el modelo de pseudo segundo orden o ecuación de Ritchie[7,8].

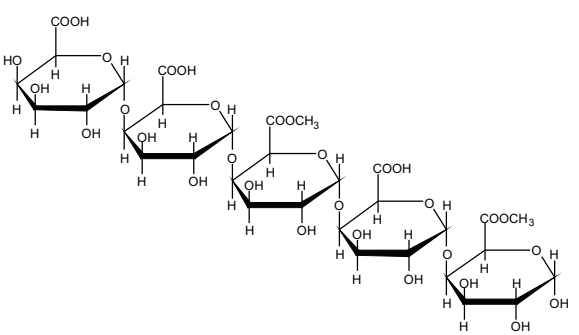


Figura 1: Estructura polimérica conformada por unidades de ácido α–D–galacturónico y derivados metoxilados unidas entre sí por enlaces α-1-4.

Modelo de pseudo primer orden
Este modelo asume la biosorción como una reacción de primer orden en cada uno de sus reactantes a partir de:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_1\left(q_{eq} - q_t\right) \quad (1)$$

Al resolver la ecuación diferencial tomando en cuenta los límites de integración desde $t = 0$ hasta $t = t$ se tiene:

$$q_t = q_{eq}\left(1 - e^{-k_1 t}\right) \quad (2)$$

Donde:

q_{eq}: Cantidad de soluto adsorbido en el equilibrio por unidad de masa de adsorbente, ($mg.g^{-1}$).
q_t: Cantidad de soluto adsorbido en el equilibrio por unidad de masa de adsorbente al tiempo t, ($mg.g^{-1}$).
k_1: Constante de velocidad de pseudo primer orden, (min^{-1}).

La constante k_1 se puede determinar por análisis de regresión no lineal de la gráfica: q_t vs t.

Modelo de pseudo segundo orden
En el modelo de Pseudo Segundo Orden la ecuación cinética está representada por:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_2\left(q_{eq} - q_t\right)^2 \quad (3)$$

Al resolver la ecuación diferencial tomando en cuenta los límites de integración desde $t = 0$ hasta $t = t$ se tiene:

$$q_t = q_{eq} - \frac{1}{1 + k_2 t} \quad (4)$$

Donde:

k_2: Constante de velocidad de pseudo segundo orden, ($g.mg^{-1}.min^{-1}$).

Las constantes k_2 y q_{eq} se pueden determinar por análisis de regresión no lineal de la gráfica: q_t vs t.

El objetivo de este trabajo fue encontrar el pH óptimo y el modelo matemático que represente mejor la cinética de biosorción de plomo en pectina reticulada extraída de cáscaras de naranja.

PARTE EXPERIMENTAL

Extracción del material péctico

Se pesó y lavó 100 g de cáscaras de naranja seca y pulverizada hasta tres veces en 2 L de agua caliente. Después del tercer lavado se realizó la hidrólisis en 2 L de agua acidulada a pH 1,4, manteniendo la temperatura en 80º C durante una hora.[9] Se empleó HCl para ajustar el pH. Luego se filtró y se retiró el bagazo. El material péctico fue precipitado añadiendo al filtrado un volumen igual de etanol de 96º. La pectina coagulada que se obtuvo después de filtrar el precipitado fue lavada varias veces con etanol de 96º hasta eliminar la mayor cantidad de impurezas. Se dejó secar en placas de vidrio a temperatura ambiente (22º C) y se obtuvo el porcentaje de rendimiento.

Tratamiento con formaldehído

Se suspendió 13 g de pectina seca extraída de la cáscara de naranja en 100 ml de H_2SO_4 0,1 M y suficiente cantidad de formaldehído hasta obtener una ratio molar (formaldehído/unidades de ácido galacturónico en la muestra) comprendido entre 70 y 100. La suspensión se sometió a reflujo con agitación en baño de agua a 50ºC. Después de 4 horas, se dejó enfriar a temperatura ambiente. El residuo fue filtrado y lavado con agua ultra pura, etanol de 96º y acetona. Finalmente, se dejó secar como se describe en el apartado anterior.[10]

Obtención del pH óptimo en biosorción de Pb^{2+}

Se preparó 2 L de solución de $Pb(NO_3)_2$ 100 ppm y se vertieron a 10 frascos de vidrio hasta un volumen de 100 ml ajustando cada muestra a diferentes pH (1,14; 1,54; 2,02; 2,51; 3,02; 3,42; 3,95; 4,52; 5,03; 5,66). Se añadieron 25 mg de biosorbente (0-100µm) a cada muestra y se colocaron, seguidamente, en un agitador mecánico a 250 rpm, durante 72 h y a temperatura ambiente. Una vez transcurrido el tiempo, el biosorbente se separó de las muestras mediante filtración; se midió el pH final de las soluciones y se procedió a determinar la concentración residual de plomo (c_{eq}) en dichas soluciones mediante la técnica de Espectrometría de absorción atómica de llama (equipo modelo Perkin Elmer AAnalyst 100).

Cinética de biosorción de Pb^{2+}

Para el estudio de la cinética con diferentes concentraciones de metal se prepararon tres soluciones de 1L de sal de plomo (II) cada una de 19,2; 37,8 y 55,7 ppm y se ajustó el pH a 5,5 con HNO_3 0,5M. Se colocaron las soluciones en un agitador magnético, poniendo 100 mg de biosorbente (0-100µm) en contacto con cada solución. Seguidamente se procedió a registrar el tiempo de reacción, considerando $t = 0$ el instante en que el biosorbente se pone en contacto con la solución. A partir de $t = 0$ se tomaron muestras de 10 ml periódicamente hasta $t = 600$ min. Finalmente, se determinó la concentración de plomo (c_t) para cada muestra mediante la técnica de espectrometría de absorción atómica de llama (equipo modelo Perkin Elmer AAnalyst 100).

Para el estudio de la cinética con diferentes cantidades de biosorbente se prepararon tres soluciones de 1L de sal de plomo (II) de 53,9 ppm y se ajustó el pH a 5,5 con HNO_3 0,5M. Se colocaron las soluciones en un agitador magnético, poniendo en contacto, con cada solución, 150,2; 250,4 y 351,7 mg de biosorbente (0-100µm). Se determinó la cinética de biosorción para cada sistema de la misma forma en que se describe para la cinética con diferentes concentraciones del metal.

Procesamiento de datos

La capacidad de adsorción se puede determinar mediante la siguiente relación:

$$q = \frac{V(C_0 - C_{eq})}{m}$$

Donde:

q: Capacidad de adsorción ($mg.g^{-1}$)
V: Volumen de la solución (*i*)
C_0: Concentración inicial de plomo (ppm)
C_{eq}: Concentración del residual de plomo en el equilibrio (ppm)
m: Masa del biosorbente (g)

Para el procesamiento de datos se empleó el programa estadístico Origin 6.0

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El pH en el cual se produce la mayor adsorción corresponde a la presencia de la mayor cantidad posible de carboxilos en forma aniónica. En la figura 2a se observa que la mayor adsorción se produce a valores de pH inicial de la solución de entre 4,5 y 5,5. Por encima de esos valores el plomo precipita. La figura 2b muestra valores de pH después de haberse producido la quelación de la pectina con el metal. La disminución del pH después de la quelación se debe a la desprotonación de los grupos carboxílicos de ácido galacturónico desde el momento que se ponen en contacto con el medio acuoso. La disminución del pH a valores bajos de pH inicial se hace menos considerable debido a que el exceso de iones H^+ en la solución evita que la mayoría de los grupos carboxílicos se desprotonen.

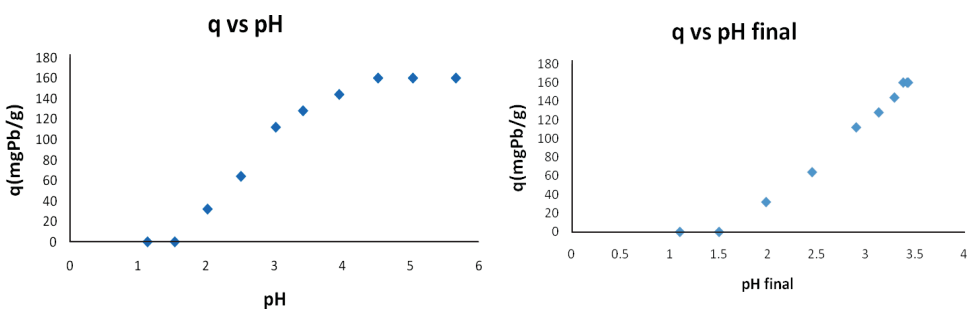


Figura 2: a: Capacidad máxima de sorción (*q*) en mg/g diferentes valores de pH al inicio de la reacción y b: *q* a diferentes valores de pH al final de la reacción.

En la figura 3a se observa que el tiempo de saturación del adsorbente es menor para el sistema con mayor concentración de metal ([Pb] = 55,7 ppm) debido a que existe mayor población de iones Pb^{2+} para ocupar los sitios activos. En la figura 3b se observa que a una mayor cantidad de adsorbente (351,7 mg), también aumenta la cantidad de sitios activos para la adsorción reflejándose mayor disminución en la concentración del metal no adsorbido, en comparación con las otras cantidades de biosorbente.

En la figura 4 y la tabla 1 se muestra la cinética y los parámetros cinéticos, respectivamente, tanto para diferentes concentraciones iniciales del metal en la solución, como para diferentes cantidades de biosorbente. De acuerdo a estos resultados la cinética corresponde a una interacción de pseudo primer orden para la mayoría de los casos. El coeficiente de correlación no lineal se ajusta mejor a este tipo de modelo con excepción del sistema E en donde se obtiene

el mismo coeficiente de correlación para ambos modelos. La figura 4 también muestra que para los seis casos la concentración en el equilibrio se alcanza en menor tiempo (tiempo de saturación del adsorbente) cuando se aplica el modelo de pseudo primer orden (línea continua), distinguiéndose con mayor exactitud el momento en que se alcanza el equilibrio. En la curva del ajuste para el modelo de pseudo segundo orden la q_e no se distingue de manera precisa, por lo que se obtienen mayores valores para q_e.

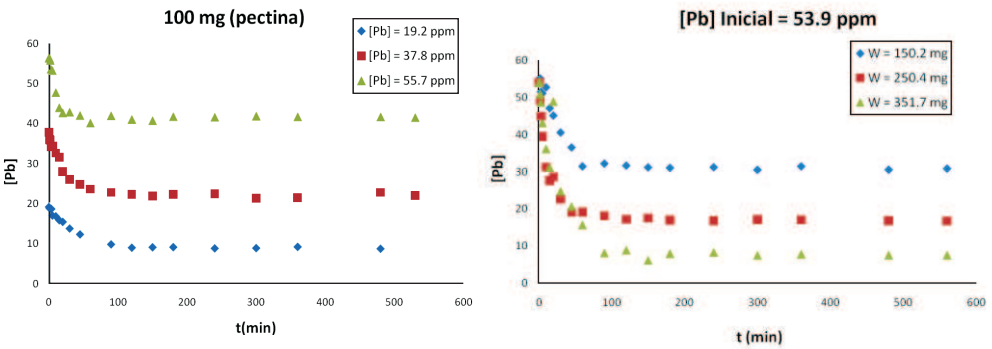
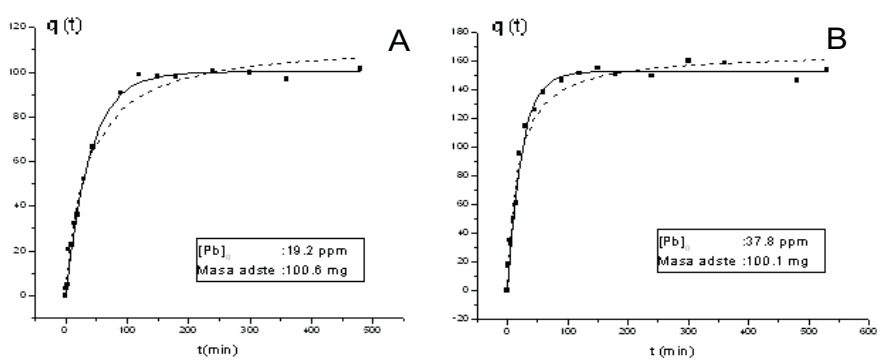


Figura 3: a: Disminución de la concentración del metal a diferentes concentraciones con igual cantidad de biosorbente y b: Disminución de la concentración del metal a una misma concentración con diferentes cantidades de biosorbente.

En la figura 5, como consecuencia de lo observado en la figura 3, los incrementos de la cantidad de plomo adsorbido por unidad de masa de pectina en el equilibrio son mayores para los dos sistemas con soluciones de plomo más concentradas (37,8 y 55,7 ppm) (figura 5a) y decrecen cuando se aumenta la cantidad de biosorbente (figura 5b).

Para ambos modelos cinéticos se puede observar que cuando se incrementa el valor de las constantes de velocidad (k_1 y k_2), el tiempo para alcanzar el equilibrio disminuye, obteniéndose un valor diferente para la constante de velocidad en cada caso. La obtención de un valor de k_1 y k_2 diferente para cada proporción metal/adsorbente en el sistema demuestra que la cinética de biosorción depende de ambos componentes y no de uno solo como se esperaría en una cinética de primer orden.



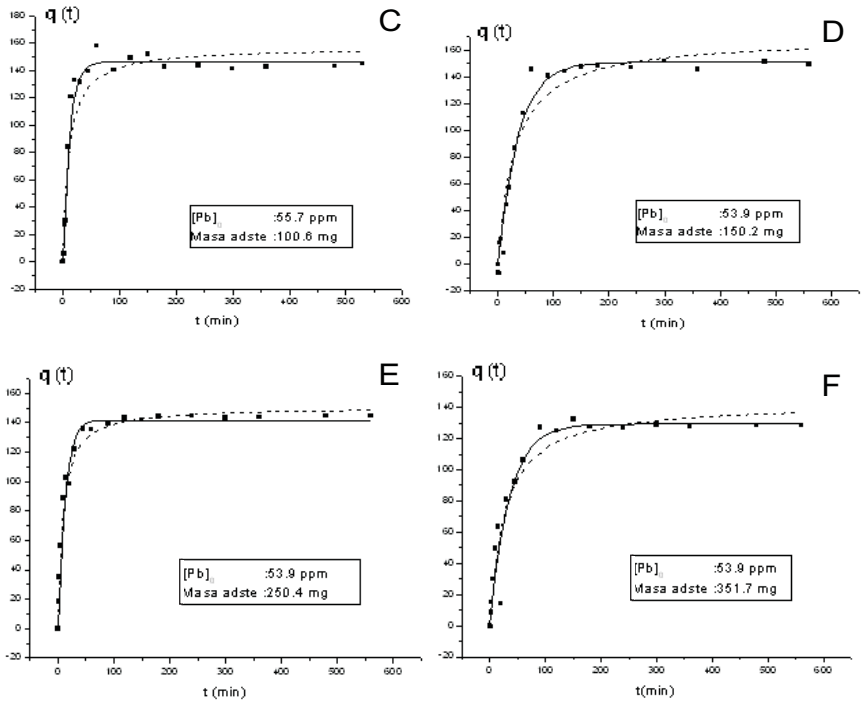


Figura 4: Efecto de la cantidad de plomo adsorbido por unidad de masa de adsorbente con respecto al tiempo, q (t) en mg/g para diferentes concentraciones de metal [Pb], manteniendo constante la cantidad de pectina (Masa de adsorbente = 100 g para A, B y C) y para diferentes cantidades de adsorbente, manteniendo constante la concentración de metal ([Pb] = 53,9 ppm para D, E y F). Los ajustes no lineales para el modelo de pseudo-primer orden están representados por líneas continuas (———) y para el modelo de pseudo segundo orden por líneas punteadas (--------).

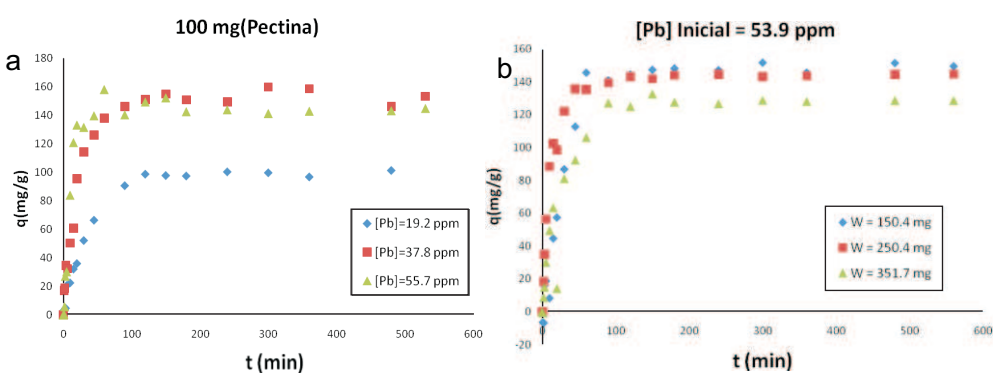


Figura 5: a: Incremento de la cantidad de metal adsorbido por gramo de biosorbente a diferentes concentraciones iniciales de metal con igual cantidad de biosorbente y b: Incremento de la cantidad de metal adsorbido por gramo de biosorbente a una misma concentración inicia de metal con diferentes cantidades de biosorbente.

Tabla 1: Valores de q_{eq} , k_1 y k_2 para los modelos de pseudo 1er. orden y pseudo 2do. orden.

	Pseudo 1er. orden			Pseudo 2do. orden		
	q_{max} (mg/g)	$k_1(s^{-1})$	r^2	q_{max} (mg/g)	k_2x10^4 $(g.mg^{-1}s^{-1})$	r^2
A	100,1369	0,0251	0,9953	113,9773	2,6	0,9858
B	152,3962	0,0427	0,9882	165,7015	3,5	0,9802
C	146,2961	0,0844	0,9746	156,9493	6,1	0,9332
D	151,0341	0,0275	0,9767	169,4667	2,0	0,9537
E	141,5380	0,0809	0,9868	150,6640	7,8	0,9868
F	129,2547	0,0288	0,9471	142,8424	2,7	0,9372

CONCLUSIONES

La biosorción de especies catiónicas como el Pb^{2+} en pectina se ve favorecida con el incremento del pH. La baja cantidad de iones H^+ en la solución y la mayor cantidad de grupos carboxílicos en forma aniónica facilitan la quelación con el metal.

Cuando la solución de plomo presenta mayor concentración aumenta la capacidad de sorción de la pectina en el equilibrio debido a que la mayor cantidad de iones del metal que presenta el medio aumenta la probabilidad de ocupación de sitios activos.

El modelo de pseudo primer orden describe con mayor exactitud la velocidad de quelación de la pectina con el metal que pseudo segundo orden; sin embargo, la cinética de biosorción de plomo en pectina reticulada depende de las concentraciones tanto de biosorbente como del metal en la solución, lo que confirma que el proceso no obedece a una cinética de primer orden.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Comisión Europea por el financiamiento del Programa Alfa Bioproam y al Departamento de Química de la Facultad de Ciencias y Filosofía de la UPCH por el apoyo brindado en esta investigación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Volesky B. & Holan Z. R. Rev. Biosorption of Heavy Metals. *Biotechnol. Prog* (1995) 11, 235-250.
2. Veglio F. & Beolchini F. Rev. Removal of metals by biosorption. *Hydrometallurgy* (1997) 44, 301-316.
3. Debbaudt A.L.; Ferreira M.L. & Gschaidera M.E. Theoretical and experimental study of M^{2+} adsorption on biopolymers. III. Comparative kinetic pattern of Pb, Hg and Cd. *Carbohydrate Polymers* (2004) 56, 321-332.
4. Aydin Z. & Akbuga J. Preparation and evaluation of pectin beads. *International Journal of Pharmaceutics* (1996) 137, 133-136.

5. Sharma S.K.; Liptay A. & Le Maguer M. Molecular characterization, physico-chemical and functional properties of tomato fruit pectin. *Food Research International* (1998) 30, 543-547.
6. Balaria A. & Schiewer S. Assessment of biosorption mechanism for Pb binding by citrus pectin. *Separation and Purification Technology* (2008) 63, 577-581.
7. Nàcera Y. & Aicha B. Equilibrium and kinetic modelling of methylene blue biosorption by pretreated dead *streptomyces rimosus*: effect of temperature. *Chemical Ingineering Journal* (2006) 119, 121-125.
8. Bayramoğlu G.; Çelik G. & Arica, M.Y. Biosorption of Reactive Blue 4 dye by native and treated fungus *Phanerocheate chrysosporium*: Batch and continuous flow system studies. *Journal of Hazardous Materials* (2006) 137, 1689-1697.
9. Pagán J.; Ibarz A.; Llorca M.; Pagán A. & Barbosa-Cánovas G.V. Extraction and characterization of pectin from stored peach pomace. *Food Research International* (2001) 34, 605-612.
10. Dronnet V.M.; Axelos M.A.V.; Renard C.M.G.C. & Thibault J. Improvement of the binding capacity of metal cations by sugar-beet pulp. 1. Impact of cross-linking treatments on composition, hydration and binding properties. *Carbohydrate Polymers* (1998) 35, 29-37.

Recibido el 15-06-2011
Aprobado el 28-06-2011

PURIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN NUEVO PRINCIPIO COAGULANTE DEL VENENO DE LA SERPIENTE PERUANA *Bothrops pictus*

Marco Mesía Guevara[1], Fanny Lazo Manrique[2] y Armando Yarlequé Chocas[2*]

RESUMEN

Se ha purificado una proteína coagulante del tipo enzima similar a trombina, del veneno de la serpiente peruana *Bothrops pictus* mediante dos pasos cromatográficos, sobre Sephadex G-100 SF y CM-Sephadex C-50, en ambos casos utilizando buffer acetato de amonio 0,05M pH 6,0. La enzima fue purificada 18 veces con un rendimiento de 40,74% y por PAGE- SDS se obtuvo una sola banda proteica de 54,4 kDa en condiciones reductoras con 2 β-mercaptoetanol y de 45,4 kDa en condiciones no reductoras, por lo que se estableció que la enzima consta de una sola cadena polipeptídica con al menos un enlace disulfuro. La enzima coagulante mostró tener actividad sobre fibrinógeno bovino así como sobre el substrato cromogénico BApNA; siendo inhibida por heparina y por el inhibidor de serinoproteasa PMSF. La enzima registró un pH óptimo de 8,0 para su actividad amidolítica. Los ensayos térmicos mostraron que es estable hasta los 50 ^{o}C. El ion Mn^{2+}, a una concentración final de 10mM, es un potente activador de la enzima, mientras que Ca^{2+} y Mg^{2+} no muestran efecto significativo.

Palabras clave: Veneno, serpiente, enzima similar a trombina, *Bothrops pictus*, coagulación

PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF A NEW COAGULANT PRINCIPLE FROM THE VENOM OF *Bothrops pictus* PERUVIAN SNAKE

ABSTRACT

A coagulant protein called trombin like enzyme, was purified from the venom of the *Bothrops pictus* peruvian snake, using two chromatographic steps: Sephadex G-100 SF and CM Sephadex C-50, equilibrated with 0,05 M ammonium acetate buffer pH 6,0. The enzyme was purified 18 folds with 40,74% of yield and the PAGE-SDS analysis showed an unit protein band with 45,4 kDa and of 54,4 kDa under no reducing and reducing s. Thus it is a single polypeptide chain with at least a S-S bond. The enzyme was capable to clot bovine fibrinogen and attack BApNA chromogenic substrate; being an inhibitor agent as well as PMSF serinoprotease inhibitor. It had a 8,0 as optimum pH on BApNA and it was stable until 50 ^{o}C. Mn^{2+} ion (10 mM) was a activator instead.

Key words: Venom, snake, thrombin like, *Bothrops pictus*, clot.

[1] Escuela de Estomatología - Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud - Universidad Alas Peruanas.
[2] Laboratorio de Biología Molecular - Facultad de Ciencias Biológicas Universidad Nacional Mayor de San Marcos
[*] ayarlequec@unmsm.edu.pe

INTRODUCCIÓN

Las serpientes del género *Bothrops* habitan una extensa región de América y en nuestro país viven hasta 17 especies[1,2]. *Bothrops pictus,* llamada "jergón de costa", es una serpiente endémica del Perú, que se localiza en la costa central desde el nivel del mar hasta los 2,300 m. Su distribución geográfica abarca la vertiente occidental de los Andes, desde Majes, departamento de Arequipa, hasta el río Moche, departamento de La Libertad. La creciente población que habita esta zona está originando la lenta desaparición de la especie, con el peligro de su extinción.

Los estudios realizados sobre el veneno de esta serpiente muestran que su mordedura causa el típico cuadro de un accidente botrópico: dolor intenso con edema, hemorragia, hipotensión moderada, trastornos en la coagulación y uremia[3].

Se han identificado en el veneno enzimas como: hialuronidasa, L-aminoácido oxidasa, fosfolipasa A2 , proteolítica, habiéndose evaluado la capacidad del antiveneno botrópico (INS-Perú) para inhibirlas[4,5].

Siendo las serpientes un eslabón importante de la cadena biológica y teniendo en cuenta que cada veneno es potencialmente un complejo proteico con características propias, en el presente estudio se ha desarrollado la metodología para purificar uno de los componentes más importantes de la ponzoña de *Bothrops pictus* que está relacionado con los severos daños al sistema circulatorio, tal como es la enzima similar a trombina (EST).

El estudio de este principio coagulante contribuirá no sólo al conocimiento de su rol durante el envenenamiento sino a considerarlo como un agente promisorio para su futura aplicación terapéutica[6].

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales

El veneno de *Bothrops pictus* fue obtenido de ejemplares adultos procedentes de la localidad de Canta-Lima, los cuales fueron mantenidos en el Serpentario Oswaldo Meneses del Museo de Historia Natural de la UNMS. El veneno fue extraído por presión manual de las glándulas venenosas, siendo luego liofilizado y conservado a 4°C hasta su uso.

Fibrinógeno bovino, benzoil arginil p-nitroanilida (BApNA), estándares de peso molecular e inhibidores de proteasas fueron adquiridos de Sigma Chemical Company (USA).

Contenido proteico

La cantidad de proteína fue calculada midiendo la absorbancia de luz UV a 280 nm[7] en un espectrofotómetro Shimadzu UV 120-02. Además, se empleó el método de Lowry[8] modificado en nuestro laboratorio[9] utilizando albúmina sérica bovina como proteína estándar.

Purificación

Veneno total liofilizado (60 mg) fue diluido en 1 ml de buffer acetato de amonio 0,05M pH 6,0 y centrifugado a 4,000 rpm por 15 minutos a 20 ^{o}C para remover los componentes insolubles. El sobrenadante fue aplicado a una columna cromatográfica de exclusión molecular sobre Sephadex G-100 SF (19 x 2cm). La columna fue equilibrada con el mismo buffer a un flujo de 15 ml/h, colectándose fracciones de 2 ml. En las fracciones colectadas se determinó la cantidad de proteína por absorbancia a 280 nm y la actividad amidolítica. Las fracciones con mayor actividad fueron juntadas y aplicadas a una columna de CM-Sephadex C-50 (17 x 1,2 cm) usándose como eluente el mismo buffer. La proteína retenida en el sistema fue eluída aplicándose al buffer NaCl 0,2M.

Evaluación de la pureza y peso molecular

Fue llevada a cabo mediante electroforesis en gel de poliacrilamida PAGE-SDS, siguiendo el método de Laemmli[10], bajo condiciones reductoras y no reductoras con 2- β-mercaptoetanol, usando una cámara vertical OMNIPAGE MINI-GEL System y con una fuente de poder OMNIPAC MIDI 300V (Cleaver Scientific Ltd). Las corridas se realizaron a voltaje constante de 100 voltios durante una hora y los geles fueron teñidos con azul brillante de Coomasie. En el mismo sistema se corrieron los estándares de peso molecular: albúmina sérica bovina (66 kDa), ovoalbúmina (45 kDa) y lisozima (14,3 kDa).

Actividad coagulante

La mezcla de reacción contenía 0,2 ml de fibrinógeno bovino 5 mg/ml, 0,1 ml de buffer Tris HCl 0,05M pH 7,5 y 25 µl de la enzima, midiéndose el tiempo de formación del coágulo.

Actividad amidolítica

Fue determinada por el método de Erlanger[11], empleando benzoil arginil-p-nitroanilida (BApNA) como substrato. La actividad se determinó por absorbancia a 405 nm. Una unidad de actividad amidolítica fue definida como la cantidad de enzima necesaria para hidrolizar 1 µmol de BApNA por minuto, con la consiguiente liberación de nitroanilina.

Efectos del pH y la temperatura

El pH óptimo para la actividad amidolítica fue determinado usando una batería de buffers en el rango de 5 a 9. El substrato BApNA ($9x10^{-2}$M) se diluyó independientemente en los buffers a sus respectivos pH hasta una concentración de $9x10^{-4}$M. La cantidad de enzima empleada fue de 30 µl.

La tolerancia de la enzima a la temperatura fue determinada por calentamiento térmico de la muestra por 10 minutos en un rango de 37 a 90 ^{o}C. La actividad amidolítica se midió con 20 µl de la enzima.

Efecto de los inhibidores de proteasas

La enzima purificada (60 µl) fue preincubada con 20 µl del inhibidor proteolítico correspondiente a 37 ^{o}C por 10 minutos. La actividad residual fue determinada usando BApNA como substrato y la reacción fue detenida agregando ácido acético al 60%. La absorbancia se midió a 405 nm.

Efecto de iones metálicos

Esta prueba nos permitió determinar si la presencia de algunos iones metálicos bajo la forma de cloruros, como el Ca^{2+}, Mg^{2+} y Mn^{2+}, a concentraciones finales de 1, 5 y 10 mM, modifican la actividad enzimática; para ello se hicieron mezclas: enzima-ion metálico y se preincubaron por 10 minutos antes de medir la actividad amidolítica.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Purificación de la EST de *Bothrops pictus*

La figura 1 muestra el perfil cromatográfico del veneno de *Bothrops pictus* sobre Sephadex G-100 SF. Se obtuvo tres picos de proteína y se monitoreó las actividades amidolítica y coagulante para las fracciones eluídas. Sólo en el primer pico se registró ambas actividades.

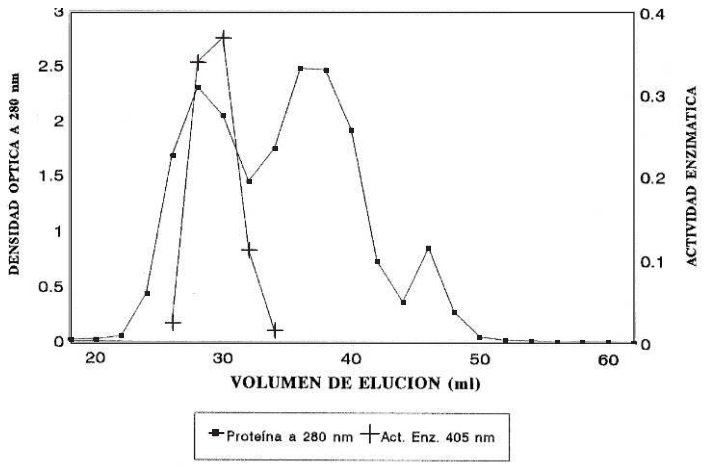


Figura 1. Primer paso de purificación de la EST del veneno de *Bothrops pictus* por cromatografía de filtración molecular sobre Sephadex G-100

Estas fracciones fueron juntadas para luego ser pasadas a través de una columna de CM-Sephadex C-50, en donde se resolvieron tres picos. La actividad similar a trombina se encontró en el tercer pico (figura 2). Este segundo paso de purificación ha determinado la separación completa de la enzima, lográndose una purificación de 18 veces, un rendimiento de 40,7 % y 2,2 % de proteína activa recuperada (tabla 1) .
El hecho de que la EST fuera atrapada por el intercambiador catiónico CM-Sephadex C-50, indica que se trata de una proteína con un PI superior a 6, vale decir tiene naturaleza básica.

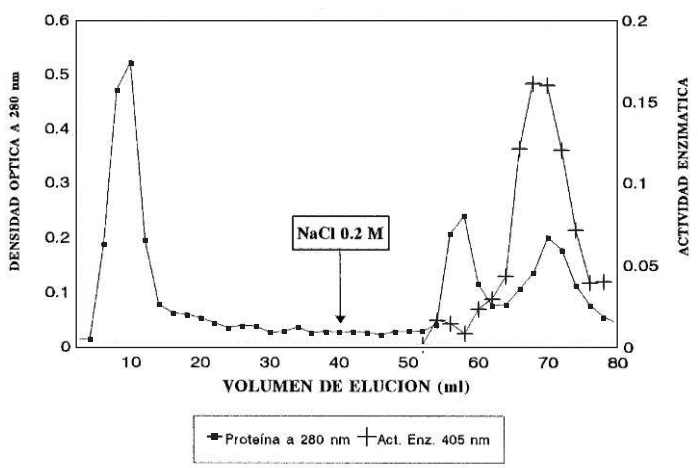


Figura 2. Segundo paso de purificación de la EST por cromatografía de intercambio iónico CM Sephadex C-50

Peso molecular

En el análisis de PAGE-SDS bajo condiciones reductoras y no reductoras, la enzima se mostró como una entidad homogénea migrando como una sola banda, lo que indica que se trata de una proteína monomérica. El peso estimado en condiciones no reductoras fue de 45,4 kDa y de 54,5 kDa en condiciones reductoras (figura 3), lo que indica la presencia de, por lo menos, un puente S-S intracatenario.

Tabla 1. Purificación de la EST de *Bothrops pictus*

	Proteína	total	AE*	UTA**	Rendimiento	Purificación
	(mg)	(%)			(%)	
Crudo	54,8	100,0	3,6	191,7	100,0	1
Sephadex G-100	11,6	21,2	13,4	155,2	80,9	3,8
CMSephadex C-50	1,2	2,2	63,5	78,1	40,7	18,1

*Actividad específica sobre BApNA en µmoles/min/mg de proteína
**Unidades totales de actividad µmoles/min

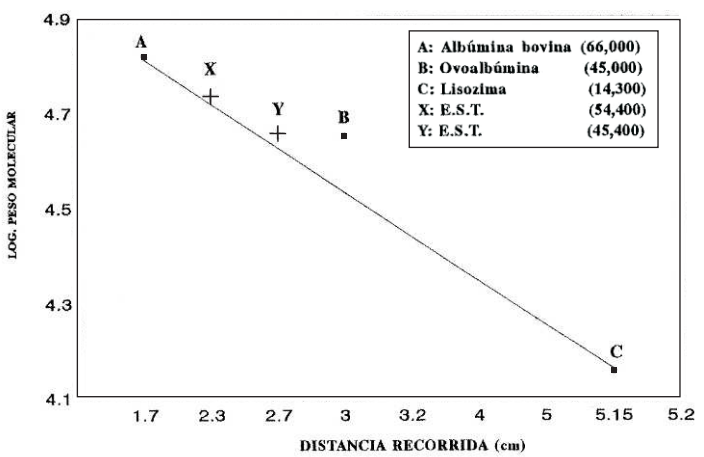


Figura 3. Determinación del peso molecular de la EST de *Bothrops pictus* por PAGE-SDS en condiciones reductoras (X) y no reductoras (Y)

pH óptimo y temperatura

La EST de *B. pictus* actúa en un rango de pH de 6,0 a 9,0, siendo su máxima actividad amidolítica a pH 8,0 (figura 4). Por otra parte, la exposición de alícuotas de la enzima en estudio, a temperaturas de 37, 40, 50, 60, 70, 80 y 90 °C demostró que la enzima sólo mantiene intacta su actividad hasta los 50 °C . De la misma manera, se puede observar que a 60 °C la

actividad amidolítica se reduce en aproximadamente 11,6% y a 90 °C la pérdida de actividad fue de 48% (figura 5).

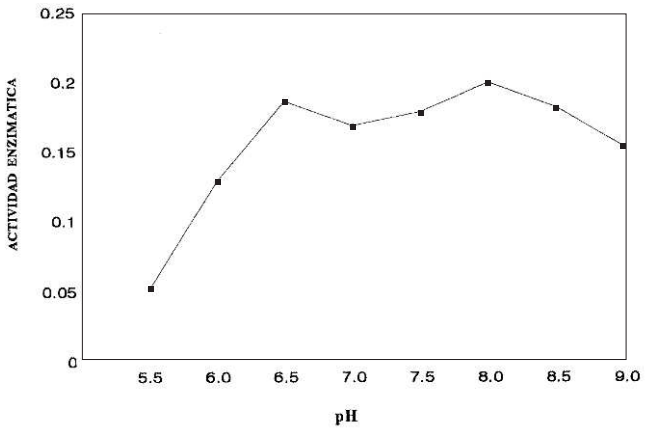


Figura 4. Curva de pH óptimo de la EST de *Bothrops pictus*

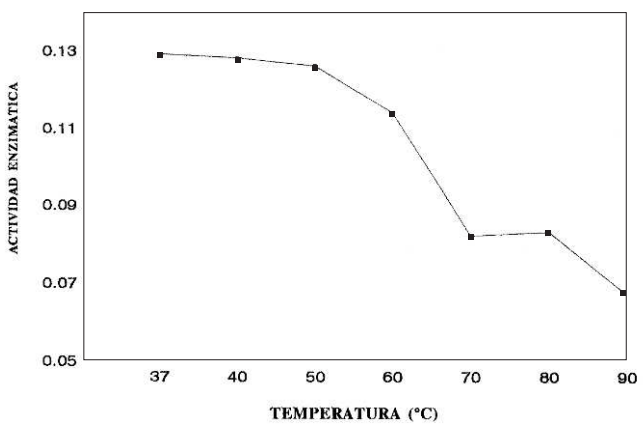


Figura 5. Termoestabilidad de la EST de *Bothrops pictus*.

Inhibidores enzimáticos

En la tabla 2 se muestra el efecto que algunos inhibidores de proteasas ejercen sobre la actividad amidolítica. Es interesante mencionar que la heparina, a una concentración final de 1,250 U/ml, ejerce una marcada inhibición con un porcentaje aproximado de 67,6%; porcentaje similar de inhibición se observó después del tratamiento con PMSF (3mM). Con respecto al pepstatin podemos indicar que este agente ejerce un efecto leve sobre la actividad (12,9%).

Tabla 2. Acción de algunos agentes químicos sobre la actividad enzimática

Agente	Concentración final (%)	Actividad amidoltica
Control	----	100,0
PMSF	3,0 mM	32,4
Iodoacetato	5,0 mM	102,7
Pepstatin	0,9 mM	87,1
EDTA	7,5 mM	105,4
TLCK	3,0 mM	105,4
Heparina	1250,0 U/m	32,4
Antitrombina III	5,0 U/ml	113,1
Mercaptoetanol	15,0 mM	91,7

Efecto de iones metálicos

La enzima similar a trombina aislada del veneno de *Bothrops pictus* presenta una ligera activación con los iones calcio y magnesio en concentraciones de 1 a 10 mM. Sin embargo, el ion manganeso a 10 mM incrementa la actividad en un 97,1% (tabla 3).

Tabla 3. Acción de algunos iones metálicos sobre la actividad de la enzima

Ion	Concentración final	Actividad amidolítica (%)
Control	----	100,0
Ca^{2+}	1,0 mM	118,9
Ca^{2+}	5,0 mM	121,8
Ca^{2+}	10,0 mM	120,6
Mg^{2+}	1,0 mM	113,2
Mg^{2+}	5,0 mM	115,5
Mg^{2+}	10,0 mM	122,4
Mn^{2+}	1,0 mM	125,2
Mn^{2+}	5,0 mM	105,1
Mn^{2+}	10,0 mM	197,1

Aun cuando las serpientes son reptiles que habitan principalmente en las selvas tropicales y subtropicales, también se han encontrado ofidios en lugares desérticos y costeros. Este último es el caso de *B. pictus*, cuya presencia en los alrededores de grandes ciudades como Lima, Trujillo e Ica no sólo son motivo de preocupación para las poblaciones sino que, visto desde otro ángulo, significa que los seres humanos desplazan continuamente a muchas especies, entre ellas, las serpientes. Aunque parezca paradójico, las serpientes son los mejores aliados de los agricultores ya que se alimentan de comadrejas, ratas y otros roedores, que en ausencia de ellas causan severos daños a las plantaciones y por ende al equilibrio ecológico[1].

Dentro del género *Bothrops*, *B. pictus* es una especie importante, ya que la presencia de un principio coagulante señalaría claramente su relación con la actividad tóxica de esta ponzoña, pues generaría serios y rápidos trastornos en la coagulación[6].

Con respecto a la purificación de la EST, el método empleado mostró ser idóneo para obtenerla al estado homogéneo, siendo el rendimiento de 40,7% una evidencia de la relativa abundancia de esta proteína en el fluido tóxico, tabla 1. Asimismo, el peso molecular de la enzima aislada está en el rango de 45 a 54 kDa, lo que la ubica entre las enzimas de este grupo con los mayores pesos encontrados[12]; para el caso de *Bothrops atrox* el peso de la EST es de 29,6 kDa[13] y la de *B. barnetti* en el rango de 52 kDa y 48 kDa[6]. La estructura unicatenaria encontrada para esta enzima es semejante a las EST estudiadas[14]. Sin embargo, se logró evidenciar la presencia de puentes S-S en la proteína, los cuales son reducidos por el β-mercaptoetanol y no revelan un papel crucial en la actividad enzimática, lo que indicaría que dichos puentes estarían ubicados en un dominio alejado del sitio activo. El estudio del efecto del pH y la temperatura sobre la actividad enzimática mostraron que la enzima tendría una alta actividad a pH sanguíneo cuando la ponzoña ingresa a la sangre de su presa o víctima, siendo por ello muy eficiente la conversión de fibrinógeno a fibrina. Adicionalmente, la tolerancia hasta 90 ^{o}C es un hecho interesante y frecuente en las enzimas de este tipo, ya que aún en venenos sometidos a calentamiento y luego inyectados a perros, es posible observar su actividad[15]. Otra especie que registra esta tolerancia es la de *B. barnetti*[4].

Por otro lado, la fuerte inhibición de la actividad enzimática por parte del inhibidor PMSF y por heparina, sugieren que esta enzima tiene un comportamiento más semejante a la trombina humana que las otras EST, ya que estas últimas no sufren inhibición por heparina aun cuando en esos casos las concentraciones de heparina máximas fueron de 166,66U/ml[16]. Se trataría entonces de la primera EST de origen ofídico que sufre inhibición por heparina.

CONCLUSIONES

Se ha obtenido al estado homogéneo una proteína coagulante del veneno de la "jergón de costa" *Bothrops pictus*, la cual es una enzima similar a trombina, de naturaleza básica, unicatenaria y termoestable, capaz de coagular el fibrinógeno bovino, siendo inhibida por heparina y PMSF, y en cambio activada por el ion Mn^{2+}.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la International Foundation for Science (IFS) de Suecia por el apoyo financiero recibido para el estudio de principios coagulantes de venenos de serpientes peruanas, incluyendo el presente trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Campbell J.; Lamar W. The venomous reptiles of Latin America. New York: Crustock Publishing Associated; 1989
2. Meneses O. Los animales venenosos y sus peligros. Instituto de Salud Pública, Lima-Perú - 1974; Publicación No. 2. p 3-14
3. Martínez E.; Bonilla C.; Zavaleta A. Actividad fosfolipásica del veneno de serpiente. *Bol Soc Quím. Perú* 1990; LVI(3):160-166.
4. Yarlequé A.; Vivas D.; Inga R.; Rodríguez E.; Sandoval G.; Pessah S.; Bonilla C. Acción del antiveneno botrópico polivalente sobre las actividades proteolíticas presentes en los venenos de serpientes peruanas. *Rev Peru Med Exp Salud Pública* 2008; 25(2): 169-173.
5. Mendoza J.; Lazo F.; Yarlequé L.; Ruiz N.; Yarlequé A.; Pessah S.; Flores V.; Bonilla C. Efecto del antiveneno botrópico sobre las actividades de fosfolipasa A2, L-aminoácido oxidasa y hialuronidasa de los venenos de serpientes peruanas. *Rev Perú Med Exp Salud Pública* 2008; 25(2): 174-178
6. Vivas D.; Inga R.; Mendoza J.; Lazo F.; Yarlequé A. Barnetobina: un nuevo principio coagulante purificado del veneno de la serpiente peruana *Bothrops barnetti. Rev Soc Quím Perú* 2010; 76(3): 261-270.
7. Warburg O.; Christian W. Isolierung and kristallisation der Garungs ferments enolase. *Biochem Z* 1941; 310:384-421.
8. Lowry OH.; Rosebrough NJ.; Farr A.L.; Randall R. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem 1951*; 193(1):265-275.
9. Loayza S.; Morante Y.; Campos S.; Yarlequé A. Enzimas proteolíticas en el veneno de las serpientes peruanas *Lachesis muta* y *Bothrops atrox*. *Bol Soc Quim* Perú 1985; LII(3):151-163.
10. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970; 227:680-685.
11. Erlanger B.; Kokowsky N.; Cohen W. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Arch Biochem Biophys* 1961; 95: 271-278.
12. Pirkle H. Thrombin- like enzymes from snake venoms: An updated inventory. *Thromb haemost* 1998;79:675-683.
13. Sandoval G.; Ruiz N.; Lazo F.; Rodríguez E.; Yarlequé A.; Zingali R. Aislamiento y caracterización parcial de una enzima similar a trombina del veneno de la serpiente peruana *Bothrops atrox* "jergón". *Rev Soc Quím Perú* 2010; 76(2): 156-164.
14. Castro HC.; Zingali R.B.; Albuquerque M.G.; Pujol-Luz M.; Rodríguez CR. Snake venom thrombin-like enzymes: from reptilase to now. *Cell Mol Life Sci* 2004; 61:843-856.
15. Vellard J. El veneno de *Lachesis muta*. Museo de Historia Natural Javier Prado. 1948; Serie A. Zoología. Publicación No. 1
16. Cahuana Macedo G. Características de una enzima coagulante iaslada del veneno de la serpiente *Bothrops bilineatus* "loro machaco" y su comparación con una coagulasa bacteriana. Tesis para optar al título profesional de Biólogo. Lima-Perú, UNMSM; 1996.

Recibido el 24-05-2011
Aprobado el 07-07-2011

INTERACCIÓN DE ÁCIDO MORÍN-5- SULFÓNICO (MSA) Y EL ÁCIDO QUERCETÍN-5-SULFÓNICO (QSA) CON AGENTES SURFACTANTES DE DIFERENTE CARGA

Edgar O. Nagles[*a], Roxana Ríos[b], Manuel Otiniano[c]

RESUMEN

La interacción del ácido morín-5-sulfónico (MSA) y del ácido quercetín-5-sulfónico (QSA) con los surfactantes dodecilbenceno sulfonato de sodio (SDS) y bromuro de cetilpiridinio (CPB) de carga negativa y positiva, respectivamente, fueron estudiadas por absorción molecular y voltametría cíclica a pH 4,0 y 6,0. Su interacción y localización en los surfactantes fue estudiada por los cambios sufridos en los espectros de absorción y los voltamperogramas cíclicos a diferentes concentraciones de surfactantes, observándose efectos batocrómicos, hipercrómicos, catálisis de los potenciales de oxidación y aumento de la corriente de oxidación.

Palabras clave: Flavonoide, surfactantes, voltametría cíclica.

INTERACTION BETWEEN MORIN-5-SULPHONIC ACID AND THE QUERCETIN-5-SULPHONIC ACID (QSA) WITH SURFACTANT AGENTS OF DIFFERENT CHARGE

ABSTRACT

The interaction of morin-4-sulphonic acid and the quercetin-5-sulphonic acid (QSA) with the surfactants sodium dodecil sulphate (SDS) and cetilpiridine bromide (CPB) of positive and negative charge, respectively, were studied by molecular absorption and cyclic voltameter at pH 4,0 and 6,0. Its interaction and localization in the surfactants was studied by the changes suffer in the absorption spectra and the cyclic voltamgrams at different concentrations of surfactants to show effects batochromics, hyperchromics, catalysis of oxidation potentials, and an increase of the oxidation current.

Key words: Flavonoid, surfactants, cyclic voltameter.

INTRODUCCIÓN

Morín y quercetín cuyos nombres IUPAC son: (2, 3', 4', 5, 7-pentahidroxiflavona) y (2', 3, 4', 5, 7-pentahidroxiflavona), respectivamente, son activos flavonoides. Sin embargo, la actividad de quercetín es el doble de la de morín[1], lo cual indica la importancia de los 2–OH adyacentes en el anillo B de las hidroxiflavonas. Los potenciales de reducción de los flavonoides dependen de las propiedades donoras de los sustituyentes en los anillos A y B; estos anillos tienen los sitios más activos a pH casi neutros y el anillo A presenta mayor capacidad complejante[2].

[*a] Facultad de Química, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago 7820436, Chile.
E-mail: ernagle@uc.cl.
[b] Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Universidad Nacional Federico Villarreal, Perú.
[c] Facultad de Química e Ingeniería Química, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú.

Son ampliamente usados en química analítica como ligandos para determinar iones metálicos, como plomo y cadmio, por técnicas electroanalíticas de redisolución con pulso diferencial (ASVDP)[3,4]. En algunos casos su aplicación se ve restringida por la baja solubilidad que presentan en agua. Por otro lado, el derivado sulfónico del morín y quercetín son más solubles en agua y forman complejos con iones metálicos en soluciones acuosas con constantes de formación mucho más grandes[2].

El morín y quercetín, como derivados sulfónicos, se presentan en la figura 1. Fueron sintetizados por primera vez por Kopacz en donde se observa el desplazamiento de un hidrógeno del anillo B por un grupo sulfónico (SO_3^-) del ácido sulfúrico.

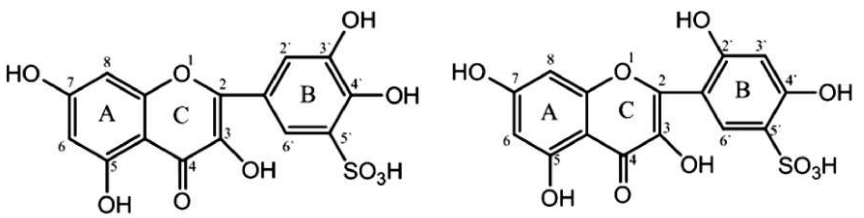


Figura 1. Estructura del morín y quercetín, con derivado sulfónico.

Por otro lado, los surfactantes han sido usados últimamente en procesos de corrosión, electrochapado, celdas eléctricas, electrocatálisis y fotoelectroquímica. La concentración micelar crítica (CMC) es una característica de cada surfactante y corresponde a la concentración donde cambian abruptamente las propiedades físicas de conductividad y tensión superficial, debido a un ordenamiento de las moléculas; ésta varía entre 10^{-4} a 10^{-2} mol L^{-1}.

La interacción de surfactantes con flavonoides ha sido estudiada últimamente, principalmente entre quercetín con surfactantes no iónicos (Triton X-100)[5] y surfactantes catiónicos y aniónicos[6] y morín con surfactantes catiónicos[7], mostrando una actividad de interacción principalmente entre los oxígenos nucleofílicos de los anillos aromáticos presentes en su estructura, estudiada por espectrofotometría y voltamperometría cíclica.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales

Morín fue obtenido de Merck (Darmstsdt), quercetín fue obtenido de Sigma. MSA y QSA fueron sintetizados como reporta Kopacz[8]. CPB y SDS fueron obtenidos de Sigma-Aldrich. Todas las soluciones fueron preparadas con agua Milli-Q (18,2 MΩ). Las soluciones buffer Britton-Robinson (BR) fueron preparadas por mezcla de iguales volúmenes de 0,4 mol L^{-1} de ácido fosfórico, ácido acético y ácido bórico y ajustando el pH requerido con NaOH 0,2 mol L^{-1} y diluyendo 10 veces con agua.

Estudio espectrofotométrico

MSA y QSA fueron mezclados con diferentes concentraciones de SDS y CPB; se ajustó el pH a 4,0 y 6,0 con 100uL de buffer B-R 0,04 mol L^{-1}; después se agitó por 1 hora en ultra

sonido Branson 2200. Los espectros UV-visible fueron tomados usando un Spectronic Milton Roy 3000 Array con arreglo de diodos en un rango de longitudes de onda de 200-600 nm. Agua destilada fue usada como blanco.

Estudio voltamperométrico

Los voltamperogramas cíclicos se realizaron con un analizador voltamétrico BAS CV50W. Un electrodo de platino fue usado como electrodo de trabajo, una varilla de platino como electrodo auxiliar y un electrodo de Ag/AgCl como electrodo de referencia. El buffer B-R 0,04 mol L^{-1} fue usado también como electrolito soporte.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudio espectrofotométrico de MSA y QSA a pH 4,0 y 6,0

A un valor de pH 4,0 el MSA se encuentra con dos cargas negativas correspondientes al grupo SO_3^- y a la desprotonación del OH de la posición 5; por otro lado, el QSA sólo tiene una carga negativa correspondiente al SO_3^-. A pH 6,0 el MSA presenta tres cargas negativas correspondiendo la tercera a otro grupo OH de la posición 7. A este mismo pH el QSA presenta una carga negativa más correspondiente al OH de la posición 5.

Se observa en la figura 2 que a pH 4,0 y 6,0 se presenta dos máximos de absorción para el MSA a 262-265nm (banda II) y 375-390 nm (banda I) las cuales corresponden a transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ del grupo benzoil formado por los anillos AC y del grupo cinamol formado por los anillos BC, respectivamente[2]. Se ha reportado que los pKa del MSA son: pK_1 4,48; pK_2 769; pK_3 9,47 y pK_4 11,40 y para el QSA son: pK_1 7,18; pK_2 8,02; pK_3 9,59 y pK_4 10,84 para los grupos 5-OH, 7-OH, 4'-OH, 2'3'-OH y 3-OH, respectivamente[2]. De acuerdo a estos valores, a pH 4,0 el MSA está en forma monoaniónica (grupo sulfónico) y a pH 6,0 en forma dianiónica. Al subir el pH de 4,0 a 6,0 no se afecta la banda (II); sin embargo, la banda (I) sufre un efecto batocrómico y la absorbancia cambia de 0,766 a 1,157, efecto hipercrómico. Se observó resultados similares para el QSA pero con valores de absorbancia más altos.

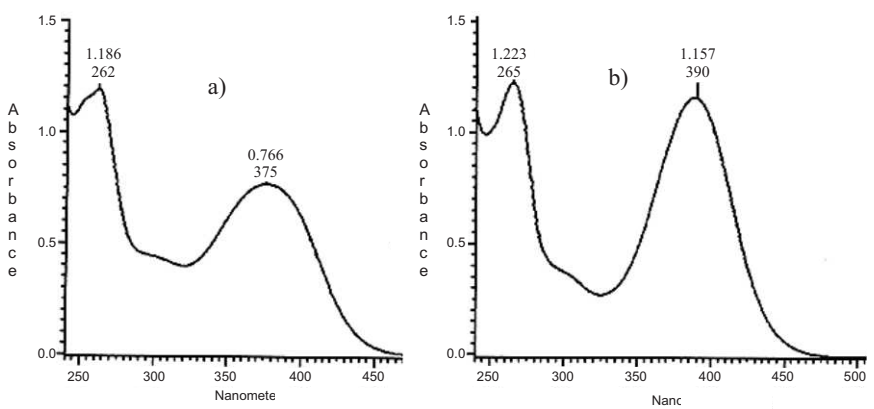


Figura 2. Espectros UV-VIS de MSA (0,04 mmol L^{-1}). a) pH 4,0. b) pH 6,0.

Estudio espectrofotométrico del MSA y QSA en presencia de SDS y CPB

Como se puede apreciar en la figura 3 (a), en presencia de CPB los espectros cambian notoriamente. Al adicionar CPB baja la concentración micelar (0,17 mmol L^{-1}); ambas bandas

presentan menor intensidad, debido probablemente a que existen interacciones electrostáticas entre el MSA negativo y el CPB positivo afectando las transiciones (espectro 2). Cuando se alcanza la concentración micelar (2,00 mmol L^{-1}) se produce un aumento de ambas bandas (espectro 3) y un nuevo hombro alrededor de 325 nm. La banda I se desplaza desde 375 a 426 nm. Se ha reportado que la micela tiene forma cilíndrica[9]. Se encerraría la zona hidrofóbica y queda al exterior la cabeza hidrofílica positiva, lo que "neutraliza" el MSA en su forma monoaniónica, modificando el pKa y facilitando la transición electrónica a longitudes de onda de menor energía. Sobre la concentración micelar nuevamente se observan cambios en los espectros: la banda I vuelve a una posición intermedia de 400 nm sin afectarse su intensidad; en cambio, la banda II sube su intensidad sin producirse desplazamiento (espectro 4). Al adicionar SDS, figura 3 (b), se observa una pequeña disminución de las intensidades de ambas bandas independiente de la concentración de este surfactante aniónico. Esto se explica por la carga negativa del ligando y del surfactante. Por otro lado, la similitud estructural del MSA con el QSA permite que se observe un comportamiento similar. En la figura 4 se presentan los espectros obtenidos a pH 6,0.

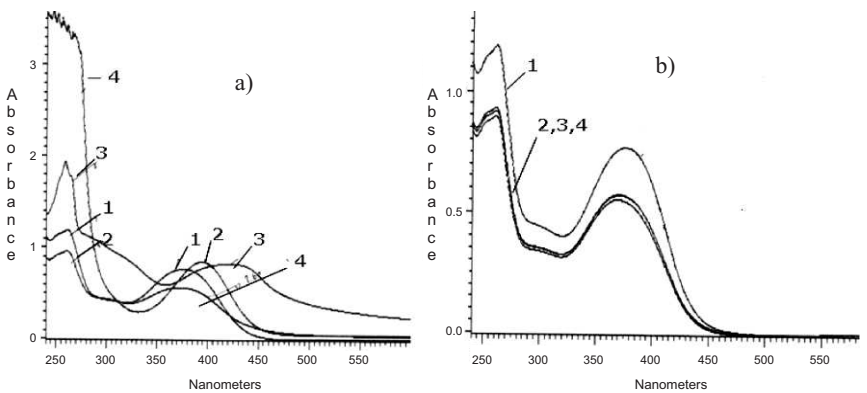


Figura 3. Espectros UV-VIS de MSA (0,04 mmol L^{-1}) en presencia de CPB (a) y SDS (b). pH 4,0. Surfactante: 0,00(1); 0,17(2); 2,00(3) y 17,03 mmol L^{-1} (4).

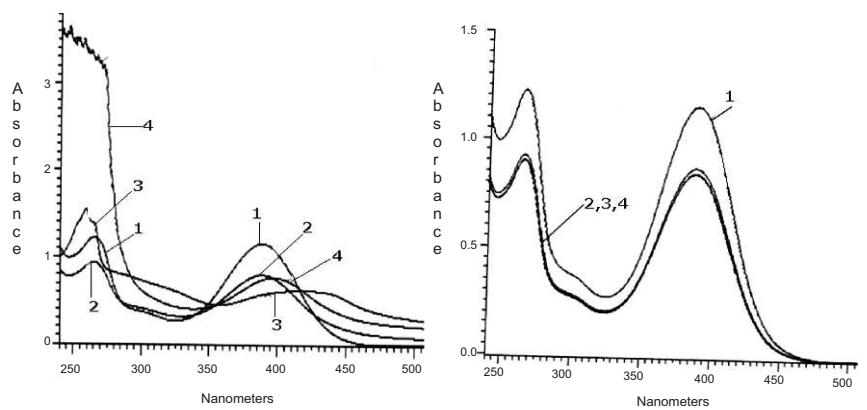


Figura 4. Espectros UV-VIS de MSA (0,04 mmol L^{-1}) en presencia de CPB (a) y SDS (b). pH 6,0. Surfactante: 0,00(1); 0,17(2); 2,00(3) y 17,03 mmol L^{-1} (4).

A pH 6,0 el MSA y QSA están en la forma dianiónica y presentan máximos de absorción a 265 y 390 nm como se ve en la figura 2. Al adicionar CPB (espectros 2-4) en las tres concentraciones (pre-micelar, micelar y post-micelar) disminuye la intensidad del máximo de absorción produciéndose desplazamiento batocrómico notable en la concentración micelar (desde 390 a 440 nm) y en la concentración post-micelar de sólo 10 nm. En cambio en presencia de SDS no se producen desplazamientos de las bandas, sino sólo una disminución de la intensidad al igual que lo observado a pH 4,0.

Estudio voltamperométrico del MSA y QSA en presencia de SDS y CPB

La notable actividad electroquímica del MSA se debe al 2'-OH y 4'-OH y para el QSA al 3'-OH y 2'-OH[7].

Se preparó disoluciones de MSA 0,04 mmol L^{-1} ajustando el pH a 4,0 y 6,0 con tampones Britton Robinson (BR) 0,04 mol L^{-1} y adicionando SDS y CPB en concentración pre-micelar, micelar y post-micelar. Los voltamperogramas cíclicos de MSA a pH 4,0 y 6,0 en ausencia y presencia de SDS se presentan en las figuras 5 (A) y (B). En estas medidas se utilizó un electrodo rotatorio de platino.

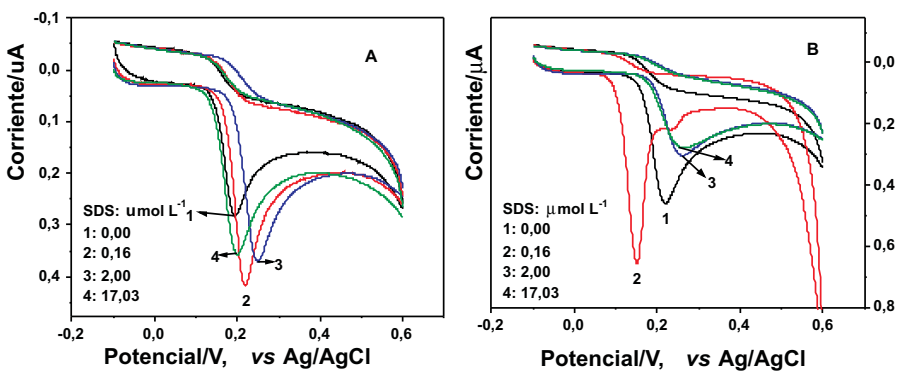


Figura 5. Voltamperogramas cíclicos del MSA en presencia de SDS a pH 4,0 (A) y 6,0 (B). C_{MSA}: 0,04 mmol L^{-1}. Surfactante: 0,00(1); 0,17(2); 2,00(3) y 17,03 mmol L^{-1} (4).

El MSA presenta un proceso electroquímico irreversible a pH 4,0 y pH 6,0 de 0,2 V. Con la adición de pequeñas cantidades de SDS a la solución de pH 4,0, el pico de oxidación se desplaza a potenciales más positivos, aumentando la corriente (curva 2, figura 5 A), lo cual indica mayor polarización del electrodo de platino. Cuando se aumenta la cantidad de SDS el desplazamiento es mayor, pero la corriente baja un poco con respecto a la adición anterior, pero mayor con respecto a la oxidación en ausencia de SDS. En cambio, a pH 6,0 la señal de oxidación se desplaza hacia potenciales menos positivos y aumenta la corriente (curva 2, figura 5 B), lo cual indica que este surfactante favorece la transferencia de carga y además facilita la adsorción en el electrodo de trabajo. Debido a que el SDS tiene carga negativa y a pH 6,0 la carga negativa del MSA aumenta, es probable que la interacción entre SDS y MSA ocurra a través de la parte hidrofóbica del surfactante, de lo contrario la repulsión desfavorecería el proceso electroquímico.

De igual forma se procedió a realizar los estudios en presencia de CPB. Los resultados se presentan en las figuras 6 A y B.

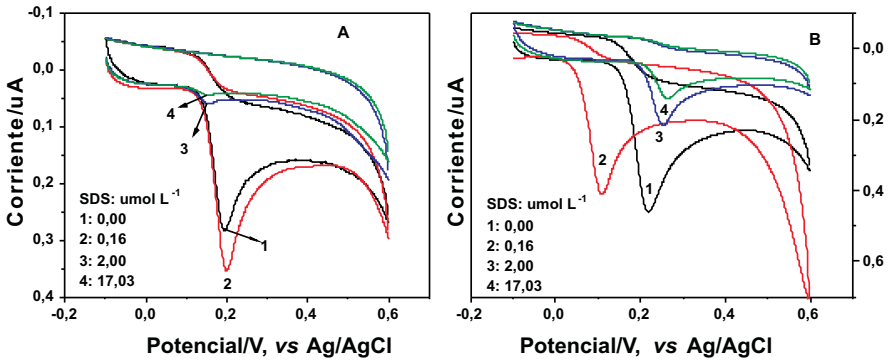


Figura 6. Voltamperogramas cíclicos del MSA en presencia de CPB a pH 4,0(A) y 6,0(B). C_{MSA}: 0,04 mmol L^{-1}. Surfactante: 0,00(1); 0,17(2); 2,00(3) y 17,03 mmol L^{-1} (4).

Cuando se agrega pequeñas cantidades de CPB, el pico de oxidación del MSA se mantiene al mismo potencial pero aumenta la corriente (curva 2, figura 6 A). Debido a que el CPB es un surfactante catiónico es probable que interaccione electrostáticamente con el MSA monoaniónico a pH 4,0. En cambio, a pH 6,0 se favorece la oxidación del MSA desplazando la señal hacia potenciales menos positivos (curva 2, figura 6 B). A concentraciones mayores de CPB la corriente disminuye casi en su totalidad debido, probablemente, a adsorción preferencial del surfactante en el electrodo.

Estudio voltamperométrico del QSA en presencia de SDS y CPB

Se preparó disoluciones de QSA 0,04 mmol L^{-1} ajustando el pH a 4,0 y 6,0 con tampones Britton Robinson (BR) 0,04 mol L^{-1} y adicionando SDS y CPB en concentración pre-micelar, micelar y post-micelar. Los voltamperogramas cíclicos de MSA a pH 4,0 y 6,0 en ausencia y presencia de SDS se presentan en las figuras 7 A y B. En estas medidas se utilizó un electrodo rotatorio de platino.

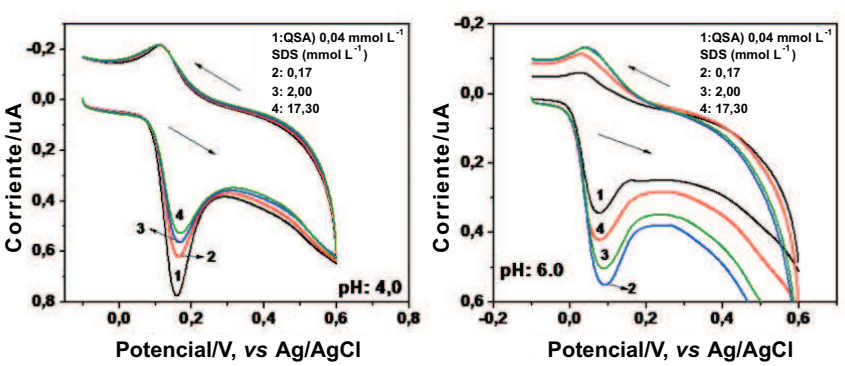


Figura 7. Voltamperogramas cíclicos del ácido quercetin-5-sulfónico (0,04 mmol L^{-}) en presencia de SDS. pH 4,0 (A) y pH 6,0 (B); SDS: 1(0,00); 2(0,17); 3(2,00) y 4(17,30) mmol L^{-1}.

El QSA presenta un proceso electroquímico cuasi-reversible a 0.16-/-0.12 V a pH 4,0 y de -0,05/0,09 V a pH 6,0. Las corrientes de pico son mayores a pH 4,0 pero es más difícil de oxidar. Posteriormente, se realizaron medidas en presencia de SDS, variando la concentración de éste entre 0,00 y 17,30 mmol L^{-1}. Los voltamperogramas cíclicos a pH 4,0 y 6,0 se presentan en las figuras 6 A y B.

Como se puede apreciar en la figura 6 A, la señal de reducción del QSA se mantiene inalterada en presencia de SDS; en cambio, la señal de oxidación disminuye ligeramente. A este valor de pH el ligando se encuentra en su forma monoaniónica. Por otra parte, no se observaron cambios en el potencial al adicionar SDS. Cuando pequeñas cantidades de bromuro de acetil piridinio (CPB), surfactante catiónico, se adicionaron a la disolución no se observó cambios significativos.

Como se puede apreciar en la figura 6 B, al adicionar SDS bajo la concentración micelar se observa un aumento de la corriente del pico de oxidación; esta señal disminuye al aumentar la concentración de SDS hasta 2,00 mmol L^{-1} (CMC). De igual forma, sigue disminuyendo al sobrepasar la CMC; sin embargo, el valor aún sigue siendo mayor que en ausencia de SDS. A este valor de pH tampoco se observó cambios en los potenciales de las señales. Debido a que el ligando se encuentra en forma aniónica y el surfactante es aniónico también, es probable que la interacción ocurra a través de la zona hidrófoba y no la hidrofílica porque de lo contrario se observaría una disminución de la corriente por problemas de repulsión. Al adicionar CPB no se observó cambios positivos ni negativos en la corriente de los picos.

CONCLUSIONES

Las propiedades espectroscópicas del MSA y del QSA son muy similares ya que presentan dos máximos de absorción a valores similares de longitudes de onda, Por otro lado, la interacción de MSA y QSA con el surfactante CPB de carga positiva produce cambios en las longitudes de onda (efectos batocrómicos) y aumento en la intensidad de absorbancia (efecto hipercrómico).

El SDS, por ser un surfactante aniónico, puede poseer una CMC de mucha más concentración comparado con el CPB, y esto puede explicar los pocos cambios en los máximos de absorción del MSA y QSA ya que la interacción no se pierde a valores de concentración entre 2,00-17,03 mmol L^{-1} en donde con el CPB se pierde por la formación de micelas cilíndricas.

En la determinación de MSA y QSA por técnicas electroanalíticas la presencia de SDS entre 0,10 y 0,17 mmol L^{-1} aumenta la concentración del analito sobre la superficie del electrodo, permitiendo determinar concentraciones bajas que, combinado con técnicas de pulso, se pude llegar a límites de detección de los $\mu g\ L^{-1}$

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al proyecto FONDECYT 1080524, apoyo al término de tesis 24100108 y a la Pontificia Universidad Católica de Chile por la beca MECESUP de Doctorado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Heijnen C.G.M.; Haenen G.R.M.; Vekemans J.A.J.; Bast A. *Environ. Toxicol. Pharmacol. 10 : 199, 2001.*
2. Kopacz M., *J. Anal. Chem. 58: 225, 2003.*
3. Shams E.; Babaei A.; Soltaninezhad M. *Anal. Chim. Acta 501:119-124, 2004.*
4. Fei J.; Li J.; Yi F. *Huaxue Fence 38 : 166, 2002.*
5. Liu E.; Guo R. *Colloid and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects 274 : 192, 2006.*
6. Liu E.; Guo R. *J. Colloid Interface Sci., 302 : 625, 2006.*
7. Liu E.; Guo R. *J. Colloid Interface Sci. 290: 564, 2005.*
8. Kopacz M. *Polish J. Chem. Sci., 55: 227, 1981.*
9. *Vittal R.; Gomathi H.; Kang-jim K., Adv. Colloid Interfase Sci., 119: 55, 2006.*

Recibido el 20-07-2011
Aprobado el 04-08-2011

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE CUATRO PLANTAS USADAS EN LA MEDICINA TRADICIONAL PERUANA. AISLAMIENTO DE 3'-FORMIL – 2',4',6' – TRIHIDROXIDIHIDROCHALCONA, PRINCIPIO ACTIVO DE *Psidium acutangulum*

Louise Wen[a], Mohamed Haddad[b,c], Irma Fernández[d], Giovana Espinoza[e], Candy Ruiz[e], Edgar Neyra[f], Beatriz Bustamante[f], Rosario Rojas[d,e,*]

RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó la actividad antifúngica de los extractos etanólicos de *Thevetia peruviana* (Pers.) K. Schum. (Apocynaceae), *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae), *Calycophyllum spruceanum* (Benth.) Hook. f. ex K. Schum. (Rubiaceae) y *Psidium acutangulum* DC (Myrtaceae), cuatro plantas utilizadas en la medicina tradicional peruana contra las infecciones micóticas de la piel.

El extracto etanólico de *Psidium acutangulum* fue el más activo contra los hongos evaluados (*Candida albicans*, *Sporothrix schenckii* y *Trychophyton mentagrophytes*), por lo que fue sometido a fraccionamiento biodirigido que condujo al aislamiento de 3'-formil-2',4',6'-trihidroxidihidrochalcona. Este compuesto mostró concentraciones inhibitorias mínimas en el rango de 16-512 µg/mL contra los hongos *Cryptococcus neoformans*, *S. schenckii* y varias especies de *Candida*.

Los resultados obtenidos apoyan el uso de *Psidium acutangulum* en la medicina tradicional peruana. Su actividad antifúngica se debe principalmente a la 3'-formil-2',4',6'-trihidroxidihidrochalcona.

Palabras clave: antifúngico, *Psidium acutangulum*, plantas peruanas

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF FOUR PLANTS USED IN PERUVIAN TRADITIONAL MEDICINE: ISOLATION OF THE ACTIVE PRINCIPLE OF *Psidium acutangulum*

ABSTRACT

We report here the antifungal activities of the ethanolic extracts of *Thevetia peruviana* (Pers.) K. Schum. (Apocynaceae), *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae), *Calycophyllum spruceanum* (Benth.) Hook. f. ex K. Schum. (Rubiaceae) and *Psidium acutangulum* DC (Myrtaceae), four plants used in peruvian traditional medicine against skin mycosis. The most active sample against the evaluated fungi (*Candida albicans*, *Sporothrix schenckii* and *Trychophyton mentagrophytes*) was the ethanol extract of *Psidium acutangulum*, which was submitted to bioassay-guided fractionation, leading to the isolation of 3'-formyl-2',4',6'-trihydroxydihydrochalcone. This compound showed minimum inhibitory concentrations of

[a] School of Medicine, Stony Brook University, USA; [b] IRD; UMR-152; Mission IRD; [c] Université de Toulouse, UPS, UMR152 PHARMA-DEV, Francia; [d] Dpto. de Ciencias Celulares y Moleculares, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH), [e] Unidad de Investigación en Productos Naturales, Laboratorios de Investigación y Desarrollo, UPCH; [f] Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt, UPCH

[*] autor de correspondencia: rosario.rojas@upch.pe, Av. Honorio Delgado 430, San Martín de Porres, Lima, Perú, Tel +51 1 3190000 ext. 2705

16-512 µg/mL against *Cryptococcus neoformans*, *S. schenckii* and several *Candida* species. All these results support the use of *Psidium acutangulum* in Peruvian traditional medicine. Its antifungal activity is due mainly to the 3'-formyl-2',4',6'-trihydroxydihydrochalcone.

Key words: antifungal, *Psidium acutangulum*, peruvian plants

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas representan un problema crítico para la salud y son una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo. La aparición de resistencia de los microorganismos a algunos antibióticos sintéticos, junto con la toxicidad durante el tratamiento prolongado, hace que sea necesario continuar la búsqueda de nuevas sustancias antimicrobianas, antifúngicos en particular[1-4] *Candida albicans* y *Cryptococcus neoformans* son hongos patógenos frecuentemente implicados en las infecciones que amenazan la vida de seres humanos, particularmente de pacientes con sistemas inmunes comprometidos. *Cryptococcus neoformans* es un hongo oportunista que causa infecciones mortales en pacientes inmunodeprimidos por el SIDA, la quimioterapia, el trasplante de órganos, o por altas dosis de esteroides. Los tratamientos actuales son la anfotericina B, flucitosina y el fluconazol. La esporotricosis es una enfermedad crónica cutánea y subcutánea causada por el hongo dimorfo *Sporothrix schenckii* que es el agente más común de las micosis subcutáneas en América Latina. La terapia estándar para esta enfermedad se basa principalmente en el itraconazol; sin embargo, el yoduro de potasio es el fármaco de elección en los países en desarrollo debido a su bajo costo. Aunque los actuales fármacos disponibles suelen ser eficaces, los fracasos terapéuticos y la toxicidad después de la larga duración del tratamiento son comunes, por lo que es necesario explorar nuevas alternativas para el tratamiento de infecciones graves.[5-11]

Las plantas medicinales y sus extractos son ampliamente utilizados por los practicantes de la medicina tradicional para curar diversas enfermedades. La creciente aceptación de la medicina tradicional como una forma alternativa de atención de la salud y la búsqueda de nuevos agentes antifúngicos a partir de plantas medicinales, se ha vuelto muy importante. [12,13]

En el presente estudio se seleccionaron cuatro plantas peruanas que se usan tradicionalmente contra infecciones superficiales de la piel y se les evaluó por su actividad antifúngica *in vitro*. La planta más activa fue posteriormente sometida a fraccionamiento biodirigido para determinar el compuesto responsable de la actividad antifúngica.

PARTE EXPERIMENTAL

Colecta de las plantas

Las especies *Thevetia peruviana* (Pers.) K. Schum. (Apocynaceae), *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae), *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook. f. ex K. Schum. (Rubiaceae) y *Psidium acutangulum* DC. (Myrtaceae) fueron seleccionadas en base a su uso en la medicina tradicional de la tribu shipibo-conibo[14] y colectadas por uno de nosotros (I.F.) en el barrio de San Francisco de Pucallpa, Perú. Las muestras botánicas de las plantas fueron depositadas en el Departamento de Ciencias Farmacéuticas de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, en Lima.

Preparación de los extractos

El material vegetal fue secado bajo sombra, molido finamente y posteriormente extraído por percolación a temperatura ambiente con etanol al 95%. El solvente se evaporó a sequedad bajo presión reducida a una temperatura inferior a 40 ^{o}C. Los rendimientos de extracción de cada una de las especies se muestran en la tabla 1. Para los bioensayos, los extractos fueron resuspendidos en DMSO a una concentración de 20 mg/ml.

Ensayos antifúngicos

El ensayo de difusión en agar se utilizó para evaluar la actividad de extractos de plantas y fracciones frente a *Candida albicans* ATCC 90028, *Sporothrix schenckii* IHEM 15503 y *Trychophyton mentagrophytes* IHEM 0584. Se mezcló 20 mL de agar dextrosa Sabouraud (Difco) fundido con 1 mL de una suspensión fúngica (10^4 CFU/mL para *C. albicans* y 10^5 CFU/mL para *S. schenckii* y *T. mentagrophytes*). La mezcla se vertió en placas de Petri estériles de 100 mm x 15 mm. Luego que el agar se solidificó, se perforó pozos de 10 mm con un sacabocados estéril.

Sobre los pozos se depositaron 100 µL de los extractos de plantas (20 mg/mL) o de las fracciones (10 mg/mL) y posteriormente las placas se incubaron a temperatura ambiente durante 48 h (*C. albicans*) o 7 días (*S. schenckii* y *T. mentagrophytes*). Anfotericina B (0,2 mg/ml) y DMSO fueron utilizados como controles positivos y negativos, respectivamente. Los ensayos se realizaron por triplicado y la actividad antifúngica se midió por el diámetro (mm) de la zona de inhibición del crecimiento.

Las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) del compuesto activo, anfotericina B y fluconazol se determinaron mediante un ensayo de microdilución en caldo de acuerdo con el International Control Laboratory Standards (ICLS) método de referencia M27-A3 y M-38A. El inóculo fúngico fue visualmente estandarizado a 0,5 de la escala de McFarland (2,4 a 3,5 x 10^6 CFU/mL de células de levadura y 2,3 x 10^4 CFU/mL para *Sporothrix schenckii*). Los pozos se llenaron con 100 L de la dilución de los compuestos. Posteriormente se añadieron 100 L del inóculo a cada pozo y las microplacas se incubaron durante 48 -72 horas a 35 °C. La CMI se define como la menor concentración de la muestra en la que se observó inhibición del crecimiento del hongo.

Fraccionamiento bioguiado del extracto etanólico de *Psidium acutangulum*

Hojas secas de *P. acutangulum* (262 g) se percolaron con 2 litros de etanol al 95%. El extracto etanólico (9,7 g) obtenido después de la evaporación del disolvente a presión reducida fue extraído con solventes de diferente polaridad (éter de petróleo, el 90% de metanol 90%, acetato de etilo, agua). La evaluación antifúngica de estas cuatro fracciones en contra de *C. albicans* mostraron que la actividad se concentró en la fracción de metanol al 90%; esta fracción (4,2 g) fue sometida a fraccionamiento mediante cromatografía en columna de gel de sílice usando un gradiente de cloroformo-metanol. Las 4 fracciones obtenidas (A: 0,20 g; B: 0,36 g; C: 0,16 g; D: 2,45 g) fueron evaluadas a una concentración de 10 mg/mL frente a *C. albicans* en el test de difusión en agar. La fracción más activa (D: 24 mm de inhibición del crecimiento de diámetro) se purificó aún más, utilizando una columna de fase reversa. Una porción (200 mg) de la fracción D fue sometida a cromatografía de columna de fase reversa con 10 g de gel de sílice RP-18, con MeOH-H_2O (1:1) como sistema de solvente, obteniéndose tres fracciones (D1: 8 mg; D2: 72 mg; D3: 53 mg). La fracción con mejor actividad anti *C. albicans* (D2) fue finalmente purificada por recristalización en diclorometano, obteniéndose 34 mg de un polvo de color rosa claro (compuesto **1**, 0,16% de rendimiento).

3'-formil-2',4',6'-trihidroxidihidrochalcona (1) (figura 1).

Los espectros de RMN (300 MHz para ^{1}H-NMR y 125 MHz para ^{13}C-NMR) fueron obtenidos con $CDCl_3$ en un espectrómetro Bruker Avance 500. El espectro de masas ESI-MS (3,5 kV en MeOH– CH_3CN) se registró en un equipo Perkin–Elmer Sciex API-365; $[M-H]^-$: 285 (de acuerdo con PM=286). ^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$):δ 3,01 ppm (2H, t, J = 7,5 Hz, H-β), 3,45 ppm (2H, t, J = 7,5 Hz, H-α), 5,77 ppm (1H, s, H-3'), 7,18 ppm (5H, m, Ar), 10,02 ppm (1H, s, OH). ^{13}CNMR (125 MHz, $CDCl_3$): 30,4 ppm (C-), 45,6 ppm (C-β), 94,8 ppm (C-3'), 126,1 ppm (C-4), 128,6 ppm (C-3, C-5), 141,1 ppm (C-1), 192,47 ppm (CHO), 205,4 ppm (C=O).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En nuestra búsqueda de productos naturales con actividad antifúngica, escogimos cuatro plantas utilizadas en la medicina tradicional peruana para el tratamiento de lesiones infecciosas de la piel. La tabla 1 muestra el nombre científico, nombre popular, el número de muestra (voucher) y actividad antifúngica de los extractos etanólicos de las plantas seleccionadas.

Tabla 1. Actividades antifúngicas *in vitro* de cuatro plantas peruanas

				Diámetro de inhibición de crecimiento (mm)[*]		
Especies de plantas	**Familia (Voucher)**	**Nombre común (parte usada)**	**Rendimiento de extracción (%)**	***C.a.***	***S.s.***	***T.m.***
Calycophyllum spruceanum (Benth.) Hook. f. ex K. Schum.	Rubiaceae (IFV2511)	Capirona (corteza)	22,7	0	0	18
Psidium acutangulum DC.	Myrtaceae (IFV2509)	Guayaba de agua (hojas)	12,6	22	22	29
Spondias mombin L.	Anacardiaceae (IFV2510)	Ubos (corteza)	25,8	0	0	19
Thevetia peruviana (Pers.) K. Schum	Apocynaceae (IFV2508)	Shacapa (hojas)	11,4	0	0	0
Controles						
Anfotericina B (0.2 mg/ml)				31	0	31
DMSO				0	0	0

[*] *C.a.*: *Candida albicans*; *S.s*: *Sporothrix schenckii*; *T.m.*: *Trichophyton mentagrophytes*

En base a los resultados obtenidos, el extracto etanólico de las hojas de *Psidium acutangulum* fue elegido para los estudios de fraccionamiento biodirigido, que condujo al aislamiento e identificación del compuesto 3'-formil-2',4',6'-trihidroxidihidrochalcona (figura 1). La tabla 2 muestra los valores de CMI de este compuesto contra de diversos hongos

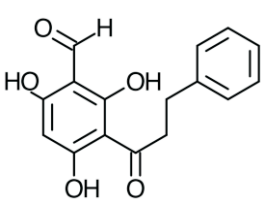


Figura 1. 3'-formil-2', 4', 6'-trihidroxidihidrochalcona (**1**)

Tabla 2. CIM del compuesto **1** contra diversos hongos

	CIM (µg/ml)		
Microorganismos	**1**	**Anfotericina B**	**Fluconazol**
Candida glabrata CAP F-7	16	1	32
Candida albicans ATCC 90028	128	0,5	>64
Candida parapsilosis ATCC 22019	512	0,5	2
Candida krusei ATCC 6928	64	1	16
Candida albicans ATCC 14053	128	0,5	>64
Cryptococcus neofomans ATCC 3963	32	1	4
Sporothrix schenckii ISHEM 15503	32	8	64

El compuesto **1** fue aislado previamente de *Psidium acutangulum*, mostrando actividad contra los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia solani* y *Helminthosporium teres*.[15] En el presente trabajo el compuesto **1** fue aislado a través de fraccionamiento bioguiado, evaluando las fracciones obtenidas contra varios hongos patógenos humanos. Interesantemente, el compuesto **1** mostró actividad contra los hongos *Candida glabrata* y *Sporothrix schenckii* que fue comparable a la del fluconazol.

CONCLUSIONES

El extracto etanólico de *Psidium acutangulum* mostró una buena actividad antifúngica *in vitro* frente a diversos hongos patógenos humanos. Este hallazgo apoyaría el uso de esta planta en la medicina popular para el tratamiento de infecciones de la piel. Los estudios de fraccionamiento bioguiado sobre el extracto etanólico de *P. acutangulum* mostraron que la actividad antifúngica de dicha especie se debe principalmente a la 3'-formil-2',4',6'-trihidroxidihidrochalcona.

AGRADECIMIENTO

L.W. recibió una subvención de Stony Brook Escuela de Medicina de Barry Coller (Fondo para la Investigación en Salud Internacional). Agradecemos al Dr. Nicolás Fabre de la Universidad de Toulouse, Francia por la asistencia en la obtención de espectros RMN (^{1}H, ^{13}C) y MS.

BIBLIOGRAFÍA

1. Weitzman, I., Summerbell, R., *Clinical Microbiology Reviews.* **1995**, *8*, 240–259.
2. Freixa, B., Vila, R., Vargas, L., Lozano, N., Adzet, T., Cañigueral, S. Phytotherapy Research. **1998,** *12*, 427–431.
3. Sangeorzan, J.A., Bradley, S.F., He, X., Zarins, L.T., Ridenour, G.L., Tiballi, R.N., Kauffman, C.A., *Americal Journal of Medicine*. **1994** ,*97*, 339–346,
4. Debruyne, D., *Clinical Pharmacokinetics*. **1997**, *33*, 52–77.
5. Mathew, B.; Nath, M. *Chem.Med.Chem.* **2009**, *4*, 310-323.
6. Mukherjee, P.K., Leidich, S.D., Isham, N., Leitner, I., Ryder, N.S., Ghannoum, M.A., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **2003**, *47*, 82–86.
7. Svetaz, L., Zuljan, F., Derita, M., Petenatti, E., Tamayo, G., Cáceres, A., Filho, V.C., Giménez, A., Pinzón, R., Zacchino, S.A., Gupta, M., *Journal of Ethnopharmacology*. **2010,** *127*, 137–158.

8. Redding, S., Smith, J., Farinacci, G., Rinaldi, M., Fothergill, A., Rhine-Chalberg, J., Pfaller, M., *Clinical Infectious Diseases*. **1994**, *18*, 240–242.
9. Ruhnke, M., Eigler, A., Tennagen, I., Geiseler, B., Engelmann, E., Trautmann, M., *Journal of Clinical Microbiology*. **1994**, *32*, 2092–2098,
10. Goldman, M., Cloud, G.A., Wade, K.D., Reboli, A.C., Fichtenbaum, C.J., Hafner, R., Sobel, J.D., Powderly, W.G., Patterson, T.F., Wheat, L.J., Stein, D.K., Dismukes, W.E., Filler, S.G., *Clinical Infectious Diseases*. **2005**, *41*, 1473–1480,
11. Hamza, O.J.M., van den Bout-van den Beukel, C.J.P., Matee, M.I.N., Moshi, M.J, Mikx, F.H.M., Selemani, H.O., Mbwambo, Z.H., Van der Ven, A.J.A.M., Verweij, P. E., *Journal of Ethnopharmacology.* **2006**, *108, 124–132*
12. Cos, P., Vlietinck, A.J., Vanden Berghe, D., Maes, L., *Journal of Ethnopharmacology*. **2006**, *106*, 290–302,
13. Maregesi, S.M., Pieters, L., Ngassapa, O.D., Apers, S., Vingerhoets, R., Cos, P., Vanden Berghe, D.A., Vlietinck, A.J., *Journal of Ethnopharmacology.* **2008**, *119*, 58–66,
14. Arévalo, G., "Medicina Indígena. Las plantas medicinales y su beneficio en la salud Shipibo-Conibo", Editorial AIDESEP, Lima, Perú, 1994. 354 pp.
15. Miles, D.H., Rosa del Medeiros, J.M., Chittawong, V., Hedin, P.A., Swithenbank, C., Lidert, Z., *Phytochemistry*. **1991**, *30*, 1131-1132

Recibido el 05-06-2009
Aprobado el 15-07-2011

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y QUÍMICAS DE 3 CULTIVARES DE MAÍZ MORADO (*Zea mays* L.) EN AREQUIPA - PERÚ

Fredy Quispe Jacobo[1*], Karim Arroyo Condorena[1], Arilmí Gorriti Gutiérrez[2]

RESUMEN

Las características morfológicas y químicas de los cultivares TC, PM 581 y TJ de maíz morado, cultivados en el distrito de La Joya-Arequipa, se evaluaron en la investigación. Los resultados indican diferencias altamente significativas en $p<0,01$ para altura de planta a los 8, 15, 30, 60, 90, 120 y 150 días después de siembra; diferencias significativas en $p<0,05$ para peso de planta en la cosecha y los caracteres morfológicos: diámetro de mazorca, diámetro de coronta y peso de coronta. El análisis de antocianinas y fenoles totales de las corontas muestra diferencias significativas en $p<0,05$, sobresaliendo PM 581; la actividad antioxidante en los tiempos 1, 3, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 minutos indica diferencias altamente significativas en $p<0,01$ entre los extractos de las corontas y las soluciones estándar de ácido gálico y ácido ascórbico. El análisis proximal de los granos se encontró dentro de los valores reportados en la literatura.

Palabras clave: Maíz morado, cultivo, PM 581, antocianinas, fenoles, actividad antioxidante

MORPHOLOGICAL AND CHEMISTRY CHARACTERISTICS FROM THREE CULTIVARS OF PURPLE CORN (*Zea mays* L.) IN AREQUIPA - PERÚ

ABSTRACT

The morphology and chemistry of the TC, PM 581 y TJ cultivars of purple corn cultivated in the distric of La Joya in Arequipa - Perú was evaluated in the investigation. The results indicate highly significant differences at $p<0,01$ for the plant height at the 8, 15, 30, 60, 90, 120 and 150 days after sowing, and significant differences at $p<0,05$ for weigh of plant and the morphological characters such as ear diameter, cob diameter and cob weight at the harvest. The anthocyanins analysis and total phenolic compounds from the cobs show significative differences at $p<0,05$, where PM 581 stood out; the antioxidant activity at the times 1, 3, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 minutes, indicates highly significant differences at $p<0,01$ between the extracts from the cobs and standard solutions of gallic acid and ascorbic acid. Proximal analysis of the grains revelead values reported in the literature.

Key words: Purple corn, crop, PM 581, anthocyanins, phenolic compounds, antioxidant activity

[*] Corresponding author
E-mail address: agronegocios.peruagro@gmail.com
[1] Unidad de I-D+I Empresa AGRONEGOCIOS PERUAGRO S.R.L.
[2] Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

INTRODUCCIÓN

En el mundo existen diversas clases de maíz que se caracterizan por presentar varios colores como: blanco, amarillo, rojo, morado, marrón, verde y azul.[1,2] El maíz morado de la variedad *Zea mays* L. tiene su origen en países de Latinoamérica como México, Bolivia y Perú, y fue introducido en numerosos países por los pigmentos que posee.[1,3] En el Perú los estudios en maíz morado revelaron la presencia de la raza ancestral primitiva Kulli y la raza incipiente Morado Canteño, así como variedades derivadas de las razas. Su cultivo se realiza principalmente en los departamentos de Cajamarca, Ayacucho, Ancash, Lima y Arequipa con semillas obtenidas de diversas procedencias: mercado central de la Parada en Lima, mercados locales, tiendas de la localidad, semillas obtenidas de Asociaciones de productores de semillas de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM) o del Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA).[2,4]

Estudios realizados en el maíz morado indican la presencia de antocianinas. Las antocianinas, por los colores atractivos naranja, rojo, morado y azul que presentan, tienen un alto potencial para su uso como colorantes naturales.[5,6,7,8]. El color y estabilidad de estos pigmentos antociánicos depende de varios factores, entre los que se encuentran: estructura y concentración del pigmento, pH, temperatura, calidad e intensidad de la luz a los que son sometidos, presencia de copigmentos, iones metálicos, enzimas, oxígeno, ácidos orgánicos con propiedades oxidantes y reductoras, azúcares, productos de degradación, y dióxido de azufre, entre otros[8,9]. En medio acuoso cuatro estructuras de antocianinas pueden encontrarse en equilibrio: el catión flavilium, una base quinoidal, una pseudo base carbinol y una chalcona; y la relativa cantidad de estas estructuras en equilibrio varía con el pH y la estructura de la antocianina[9,14]. De acuerdo a la estructura molecular, algunas antocianinas son más estables que otras; por ejemplo, los glicósidos de malvidina que se encuentran entre los principales pigmentos en la uva presentan los colores más estables debido a la metoxilación de la molécula en dos lugares de su estructura[10]. La acilación con ácidos orgánicos aromáticos hidroxilados también confiere una alta estabilidad a la estructura de las antocianinas, así como la copigmentación intermolecular[6,8]; así, en medio acuoso, extractos de frutas, hortalizas y cereales que presentan antocianinas, contienen también mezclas de otros compuestos con los que se unen copigmentos, vía procesos de asociación intermolecular; sin embargo, no todos los compuestos confieren estabilidad de las antocianinas: los azúcares y sus productos de degradación, por ejemplo, tienden a acelerar la descomposición de las antocianinas y ésta se asocia con la velocidad con que el azúcar se descompone en compuestos del tipo furfural, desde una reacción de Maillard[11].

En la naturaleza, las antocianinas exhiben, a nivel de sistemas vegetales, una elevada estabilidad, que necesita caracterizarse a nivel de composición química y atributos de estabilidad. En ese sentido, el Perú ofrece una gran diversidad de germoplasmas de naturaleza vegetal con enorme potencial para ser fuente de colorantes y alimentos funcionales en la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética; el maíz morado es uno de ellos que se utiliza como alimento y colorante desde tiempos ancestrales, y que se caracteriza por presentar antocianinas del tipo cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido, y peonidina-3-glucósido a nivel de coronta con bajos contenidos de sólidos solubles[3,5], lo que facilita su uso a nivel industrial; en ese sentido, la investigación se realiza con el objetivo de conocer las características morfológicas y químicas de 3 cultivares comerciales de maíz morado en el distrito de La Joya de la Región Arequipa.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales y reactivos

Semillas de maíz morado (*Z. mays* L.) de los cultivares TJ (Testigo Joya), TC (Testigo Canta) y de la variedad PM 581 de la Asociación de productores de semillas de maíz de la Universidad Nacional Agraria La Molina - UNALM, se utilizaron para su cultivo, entre los meses de mayo a noviembre del 2008. Urea con 45-46% de nitrógeno y productos fitosanitarios todos de marca nacional se utilizaron durante el cultivo. Todos los reactivos y solventes utilizados en laboratorio fueron de grado analítico Sigma Aldrich Chemical Co. y Merck.

Campo experimental

Para la investigación se utilizó el terreno de un campo experimental ubicado en el distrito de La Joya de la provincia y departamento de Arequipa, Perú, localizado en latitud sur 16º2527.34 y longitud oeste 71º4843.90 sobre los 1644 msnm. El suelo es de textura franco arenosa, con bajos contenidos de materia orgánica y nitrógeno, elevadas cantidades de fósforo disponible y valores normales de potasio y carbonato de calcio, tabla 1.

Tabla 1. Características fisicoquímicas del suelo del campo experimental en el distrito de La Joya en Arequipa

Análisis físico							
Arena (%)	Limo (%)	Arcilla (%)	Textura	Porosidad (%)	CC (%)	AD (%)	PMP (%)
86,8	7,6	5,6	Arena Franca	37	8,5	6,2	2,3
Análisis químico							
Elemento	Unidad	Valor	Deficiente	Bajo	Normal	Alto	Excesivo
MO	%	1,78					
N: C/N	%	0,09					
P	ppm	40,19					
K	ppm	174,99					
$CaCO_3$	%	2,03					
			No salino	Débilmente salino	Moderado salino	Salino	Muy salino
CE ext. 1:2.5	dS/m	0,73					
			Acido	Moderado	Neutro	Moderado alcalino	Alcalino
pH ext. 1:2.5	Unidades	7,04					
Sales solubles en pasta saturada (meq/100 g de suelo)							
Calcio (Ca^{2+})	Magnesio (Mg^{2+})	Sodio (Na^{+})	Potasio (K^{+})	Sulfato ($SO_4^{=}$)	Cloruro (Cl^{-})	Bicarbonato (HCO_3^{-})	Carbonato ($CO_3^{=}$)
0,757	0,354	0,388	0,034	0,041	0,548	0,146	0,000

CC: Capacidad de campo, AD: Agua disponible, PMP: Punto de marchites permanente, MO: Materia orgánica, CE y pH ext. 1:2,5: Representan conductividad eléctrica y pH en razón de extracción suelo: agua destilada.
Fuente: Laboratorio de Análisis de suelos, aguas y semillas EE Arequipa - INIA.

Para fines del experimento, el campo experimental se dividió en 3 bloques, según un diseño completo al azar, donde se cultivaron la variedad PM 581 de la Asociación de productores de semilla de maíz de la UNALM, semillas testigo de la zona etiquetados como TJ (Testigo de La

Joya) y en otro bloque semillas del Testigo Canta (TC) obtenidas de un local comercial de la localidad de Arequipa; la densidad de plantas por tratamiento fue de 71428 plantas/ha y la fertilización en el experimento fue de 230 kg N/ha a los 45 dds (días después de siembra).

Métodos

Evaluaciones en planta: Se evaluaron 60 plantas al azar correspondientes a 3 surcos centrales (20 plantas/surco) donde se midió altura de planta (cm), peso de planta (g), peso de mazorca (g), peso de panca (g) al momento de la cosecha (170 dds); adicionalmente se realizaron evaluaciones de altura de planta (cm) a los 8, 15, 30, 60, 90, 120 y 150 dds, desde la base de la planta hasta la altura de inserción masculina (panoja)[12,13].

Evaluación morfológica de mazorca: En mazorcas cosechadas, escogidas al azar (sin espata), en un número representativo del lote de producción, se procedió a evaluar la longitud de mazorca desde la base hasta el último grano formado (cm), el diámetro medio de mazorca (cm), peso de mazorca (g), peso de coronta (g), peso de granos/mazorca (g) y número de granos/mazorca[12,13].

Evaluación proximal: Muestras representativas de los granos de maíz morado de los cultivares TC, PM 581 y TJ se evaluaron según humedad, cenizas, grasa cruda, proteínas, carbohidratos y energía total de acuerdo a metodologías validadas[15].

Preparación del extracto y determinación de antocianinas según el método de pH diferencial: Alrededor de 1 g de muestra (coronta molida y tamizada de maíz morado) fueron extraídos con 200 mL de solución etanólica al 20% y pH 2, durante un tiempo de 60 minutos a la temperatura de 90 ºC; los extractos obtenidos fueron filtrados a través de papel filtro (Whatman No.1) con la ayuda de una bomba de vacío (COPELAMETIC, USA), y una alícuota del extracto se diluyó convenientemente en una fiola de 25 mL con las soluciones buffer de cloruro de potasio (pH 1) y acetato de sodio (pH 4,5). En las soluciones preparadas se determinó el contenido de antocianinas según el método de pH diferencial, de acuerdo a Giusti & Wrosltad (2001) utilizando el espectrofotómetro UV-Vis (Spectroquant PHARO 300, Merck), y su contenido se expresó como cianidina-3-glucósido, de acuerdo a la siguiente expresión:

$$Total\ antocianinas\ (mg/L) = A \times PM \times FD \times 1000/(\varepsilon \times l) \quad (1)$$

Donde $A = (A_{510}\ \ A_{700})\ pH\ 1{,}0\ \ (A_{510}\ \ A_{700})\ pH\ 4{,}5$; *PM* (peso molecular) = 449,2 g/mol para cianidina-3-glucósido; *FD* = factor de dilución; *l* = longitud de paso de celda en cm; = 26900 coeficiente de extinción molar para cianidina-3-glucósido; *1000* = factor de conversión de g a mg; todos los análisis fueron realizados por triplicado (n = 3)[14].

Determinación de fenoles totales: La cantidad de fenoles totales se determinó según el método modificado de Folin-Ciocalteu usando ácido gálico como estándar; para esto se prepararon soluciones de 40, 80, 120, 160 y 200 ppm con las que se construyó la curva de calibración, dando un $r^2 = 0{,}9994$. El procedimiento para la evaluación de fenoles totales fue el siguiente: una alícuota de la muestra (0,7 mL) se mezcló con 7 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu (10%) dejándose en reposo por 3 min; seguidamente se mezclaron con 7 mL de carbonato de sodio (7,5%) y la solución resultante se dejó en reposo por 2 horas a temperatura ambiente protegida de la luz; las absorbancias de las muestras fueron leídas a 760 nm en el espectrofotómetro UV-Vis. Todas las muestras fueron analizadas por triplicado, y los fenoles totales fueron expresados como equivalentes miligramos de ácido gálico (GAE) por g de muestra.[16]

Determinación de la actividad antioxidante según DPPH: El efecto antioxidante de las muestras sobre el radical estable 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) se evaluó de la

siguiente manera: 0,1 mL de la muestra se mezcla con 3,9 mL de la solución 0,35 mM del radical DPPH, se homogeniza y miden las absorbancias a 517 nm en los tiempos de 0, 1, 3, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 minutos en el espectrofotómetro UV-Vis. Durante la reacción las soluciones se mantuvieron en la oscuridad a temperatura ambiente y la actividad antioxidante se reportó como porcentaje de inhibición de DPPH, de acuerdo a Rivero y Betancor (2006):

$$\text{Inhibición de DDPH (\%)} = [(Ao - Ae)/Ao)] \times 100 \qquad (2)$$

Donde *Ao y Ae*, representan respectivamente la absorbancia sin extracto del DPPH y absorbancia con extracto, evaluados después de 1, 3, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 minutos. Soluciones estándar de 100 ppm de ácido gálico y ascórbico se prepararon para comparar la actividad antioxidante.[17]

Análisis estadístico: Todos los resultados fueron analizados en el paquete estadístico SAS V7 (SAS Institute Inc.); los datos de planta durante el experimento y en cosecha, así como los datos morfológicos de mazorcas de maíz morado, antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante se evaluaron en un análisis de varianza y prueba de rangos múltiples de Duncan ($p<0,05$), empleando el procedimiento GLM en un diseño completo al azar en el programa SAS. Los datos en (%) fueron convenientemente transformados a $arcoseno\sqrt{(\%/100)}$ para el análisis de varianza y prueba de significancia de Duncan. La hipótesis aquí planteada indica que bajo las condiciones experimentales del distrito de La Joya, las semillas del TC, PM 581 y TJ expresan los mismos caracteres morfológicos, composición proximal, composición de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante[18,19].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Altura de planta

Los resultados promedios de altura de planta de los cultivares TC, PM 581 y TJ se presentan en la tabla 2, donde se observa diferencias altamente significativas con $p<0,01$ a los 8, 15, 30, 60 y 120 dds mientras que a los 90 y 150 dds se observan diferencias significativas con $p<0,05$. Los valores promedio de altura de planta indican que a los 8 dds los cultivares PM 581 y TJ presentaron los valores más altos con respecto al cultivar TC; a los 15 dds los cultivares TC y TJ presentaron los valores más altos, 19,733 cm y 20,700 cm, respectivamente; al respecto, Lazo[13] en una investigación desarrollada sobre diferentes niveles de fósforo y potasio con las semillas PM 581 en el Cural-Arequipa, indica valores inferiores de altura de planta entre 12 y 13 cm para todos los experimentos; a los 30 dds los cultivares TC y TJ presentaron los valores más altos con 27,695 y 28,704 cm, respectivamente; en ese sentido, Lazo[13] señala valores superiores de altura de planta entre 30 y 32 cm para todos los tratamientos; a los 60 dds el cultivar TC presentó el valor más alto (79,333 cm) con respecto a los cultivares PM 581 y TJ; en tal sentido, Lazo[13] indica valores entre 66 y 72 cm inferiores al TC; a los 120 dds el cultivar PM 581 presentó la mayor altura de planta (173,333 cm) con respecto a los cultivares TC y TJ; Lazo[13], para esta etapa, indica valores entre 226 y 241 cm; a los 150 dds el cultivar TC alcanzó los 183,950 cm con respecto a los otros cultivares; en ese sentido, la variedad PM 581 de la investigación realizada por Lazo[13] en el Cural-Arequipa alcanzó valores superiores entre 233 y 250 cm para los tratamientos con diferentes niveles de fósforo y potasio; mientras tanto, Puma[12] en otra investigación realizada con semillas de la variedad Canteño en la Irrigación Majes-Arequipa con el factor niveles de materia orgánica, indica valores superiores de altura de planta (195 y 210 cm) para todos los tratamientos implementados. Los valores inferiores de altura de planta de los cultivares TC, PM 581 y TJ, con respecto a los encontrados por Lazo[13] y Puma[12] para PM 581 y Canteño, respectivamente, se deben a varios factores, entre los que se encuentran: las altas temperaturas máximas mensuales alcanzadas en el distrito de La Joya entre 26,3 y 27,9 °C con tiempos prolongados de horas sol (9,9 y 10,8 horas) durante los meses

de producción (mayo y octubre, 2008), los que fueron superiores a los meses de verano y de años anteriores (SENAMHI, 2009)[20], que acompañado por bajos niveles de fertilización del campo experimental de textura franco arenosa con bajos niveles de nitrógeno (tabla 1), fertilización limitada durante el cultivo, y la limitada disponibilidad de agua de riego de baja calidad donde la evaporación mensual estuvo entre 4,4 y 7,0 mm para los meses de producción (SENAMHI, 2009)[20], no favorecieron el desarrollo óptimo de los cultivares en el distrito de La Joya, en Arequipa.

Tabla 2. Altura de planta de los cultivares de maíz morado en La Joya

	Altura - días después de siembra (cm)						
Cultivar	8**	15**	30**	60**	90*	120**	150*
TC	3,534 ± 1,118 b	19,733 ± 4,058 a	27,695 ± 4,956 a	79,333 ± 11,217 a	161,700 ± 23,596 a	168,017 ± 13,275 b	183,950 ± 20,707 a
PM 581	4,477 ± 1,144 a	16,117 ± 5,554 b	24,348 ± 3,831 b	72,100 ± 10,697 b	150,083 ± 17,529 b	173,333 ± 8,046 a	161,450 ± 23,228 b
TJ	4,824 ± 1,408 a	20,700 ± 6,204 a	28,704 ± 3,363 a	66,917 ± 9,210 c	153,383 ± 15,674 b	166,322 ± 7,617 b	169,350 ± 17,542 b

*, **: Indican significancia a $p<0,05$ y $p<0,01$. Valores con diferentes letras dentro de cada columna denotan significancia en la prueba de Duncan ($p<0,05$) entre los diferentes cultivares, valores promedio de 60 repeticiones ± desviación estándar.

Planta en cosecha

Los cultivares TC, PM 581 y TJ se cosecharon a los 170 dds (noviembre 2008) cuando las plantas y mazorcas se encontraron parcialmente secas. Entre los caracteres morfológicos evaluados se encontraron: peso de planta, peso de choclo, peso de panca, peso de mazorca y rendimiento de mazorca (%). Los resultados indican que bajo las condiciones experimentales del distrito La Joya sólo se encontraron diferencias significativas con $p<0,05$ para el carácter peso de planta; los otros caracteres de peso de choclo, peso de panca, peso de mazorca y rendimiento de mazorca no presentaron diferencias significativas al momento de la cosecha, tabla 3 y figura 1.

Tabla 3. Caracteres morfológicos de planta en cosecha de los cultivares de maíz morado en La Joya

	Pesos de planta en cosecha (g)				
Cultivar	Planta*	Choclo	Panca	Mazorca	Mazorca (%)
TC	628 ± 208 a	256 ± 119 ns	136 ± 52 ns	120 ± 104 ns	41,90 ± 23,34 ns
PM 581	500 ± 215 b	232 ± 100 ns	146 ± 68 ns	86 ± 56 ns	35,17 ± 17,77 ns
TJ	692 ± 159 a	268 ± 88 ns	142 ± 52 ns	126 ± 52 ns	46,64 ± 8,41 ns

*, ns: Indican significancia a $p<0,05$ y *no significante*. Valores con diferentes letras dentro de cada columna denotan significancia en la prueba de Duncan ($p<0,05$), valores promedio de 20 repeticiones ± desviación estándar.

Lazo[13], en la investigación desarrollada con PM 581 y diferentes niveles de fósforo y potasio en el Cural-Arequipa, menciona valores superiores de peso de planta al momento de la cosecha entre 830 y 1010g, con respecto al peso de mazorca Puma[12] en la investigación con el cultivar Canteño, en la irrigación Majes, menciona valores entre 77,89 y 97,52g similares al encontrado en la investigación para las mazorcas del cultivar PM 581 e inferiores a los encontrados para las mazorcas TC y TJ; por otro lado, Lazo[13] en el cultivar PM 581 en el Cural encontró valores entre 114,67 y 159,67g superiores a los encontrados en la investigación para las mazorcas de PM 581.

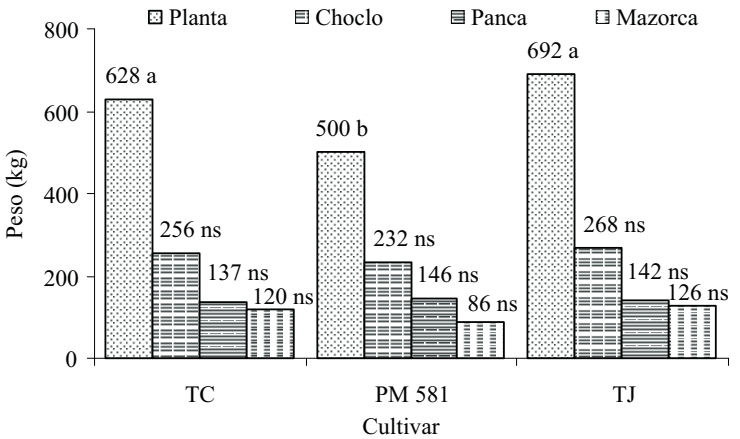


Figura 1. Caracteres morfológicos de los cultivares TC, PM 581 y TJ en la cosecha. Valores con diferentes letras dentro de cada grupo de caracteres: peso de planta ( ), peso de choclo ( ), peso de panca ( ) y peso de mazorca ( ) denotan, diferencias significativas en la prueba de Duncan ($p<0,05$). Valores promedio de 20 repeticiones ± desviación estándar.

Morfología de la mazorca

Las mazorcas, convenientemente seleccionadas y secas, de los lotes de producción de los diferentes cultivares: testigo TJ de la localidad, testigo TC y la variedad PM 581, se compararon según los caracteres morfológicos a nivel de mazorca. Los resultados de las evaluaciones se presentan en la tabla 4, donde se observa diferencias significativas con $p<0,05$ para los caracteres diámetro de mazorca, diámetro de coronta y peso de coronta; mientras que para longitud de mazorca, número de granos por mazorca, peso de mazorca, peso de grano y rendimiento de coronta, no se observaron diferencias significativas entre las muestras de los cultivares TJ, PM 581 y TC. Puma[12] con el cultivar Canteño en la irrigación Majes encontró valores superiores en diámetro de mazorca (5,06-4,67 cm), longitud de mazorca (14,23-12,82 cm) y peso de mazorca (97,52-77,89g), y cuyas diferencias se relacionan principalmente con los niveles de fertilización orgánica y mineral aplicados en el experimento; por otro lado Lazo[13], en la investigación con el cultivar PM 581 en el Cural, encontró valores superiores de diámetro de mazorca (3,91-4,33 cm) a los encontrados en la investigación, valores similares de longitud de mazorca entre 9,31 y 16,41 cm , valores superiores de peso de coronta (24,01-36,83g) y peso de granos por planta (90,66-126,34g) con

respecto a los encontrados en la investigación, que en este caso se deben principalmente a los niveles de fósforo y potasio aplicados en el experimento.

Tabla 4. Caracteres morfológicos de las mazorcas para TC, PM 581 y TJ

	Caracter morfológico							
Muestra	Diámetro mazorca (cm)*	Diámetro coronta (cm)*	Longitud mazorca (cm)	Número granos mazorca	Peso de mazorca (g)	Peso de grano (g)	Peso de coronta (g)*	Coronta (%)
TJ	3,382 ± 0,236 b	2,127 ± 0,119 b	13,991 ± 2,349 ns	178 ± 38 ns	66,791 ± 20,667 ns	54,545 ± 20,736 ns	12,236 ± 3,105 b	20,56 ± 9,74 ns
PM 581	3,671 ± 0,448 ab	2,371 ± 0,176 a	12,482 ± 2,108 ns	184 ± 63 ns	64,041 ± 22,896 ns	49,588 ± 20,388 ns	14,453 ± 4,422 a,b	24,03 ± 7,46 ns
TC	3,780 ± 0,575 a	2,460 ± 0,339 a	13,440 ± 1,963 ns	178 ± 53 ns	70,460 ± 25,732 ns	53,125 ± 23,079 ns	17,335 ± 6,358 a	26,28 ± 10,18 ns

*, ns: Indican significancia a $p<0,05$ y *no significante*. Valores con diferentes letras dentro de cada columna denotan significancia en la prueba de Duncan ($p<0,05$) entre las diferentes muestras. Valores promedio de 20 repeticiones ± desviación estándar.

Composición proximal

Los resultados de la evaluación proximal de los granos indica valores de humedad entre 12,20 y 12,70% para el TJ y TC, cenizas entre 1,80 y 1,90% para TC y PM 581, grasa de 4,00, 4,20 y 4,30% correspondiente a PM 581, TC y TJ, carbohidratos de 71,60, 71,80 y 72,40% para PM 581, TC y TJ, respectivamente, proteínas obtenidas a partir del factor 6,25 de la determinación de nitrógeno total iguales a 9,30, 9,50 y 10,10% para TJ, TC y PM 581, respectivamente, y energía total (kcal) iguales a 362,8, 363,00 y 365,50 para PM 581, TC y TJ, respectivamente. Al respecto, Manrique[2] presenta los siguientes valores nutricionales para los granos de las variedades de maíz, Morado Kiulli y Morado: humedad de 12,20 y 11,90%, respectivamente, similares a los encontrados para los cultivares investigados; cenizas de 1,50 y 1,34% inferiores a los encontrados en la investigación para los cultivares TC, PM 581 y TJ; grasa de 3,98 y 4,50% parecidos a los encontrados en la investigación; carbohidratos de 74,41% y 74,20% superiores a los encontrados en la investigación; proteínas iguales a 6,69% y 7,38% inferiores a los valores hallados en la investigación, y energía total de 360 y 366 kcal similares a los valores encontrados en el trabajo de investigación.

Antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante

El análisis de varianza para el contenido de antocianinas, según la expresión *(1)* de las corontas de los cultivares TC, PM 581 y TJ, muestra diferencias significativas en $p0,05$; estos valores se encontraron entre 13,359 y 20,595 mg/g coronta, sobresaliendo el cultivar PM 581. Los resultados de fenoles totales para las corontas de los tres cultivares, muestra que el cultivar PM 581 presenta el mayor contenido (40,584 mg GAE/g de muestra); mientras que los resultados de la actividad antioxidante expresados como porcentaje de inhibición de DPPH, según la expresión *(2)*, revelan diferencias altamente significativas con $p<0,01$ en los tiempos evaluados para los extractos obtenidos de las corontas de TC, PM 581 y TJ y las soluciones de ácido ascórbico y ácido gálico empleadas como soluciones estándar, tabla 5.

Antocianinas

En relación a antocianinas Gorriti *et al.*[21] muestran valores entre 11,56 y 37,112 mg/g de coronta, parecidos a los encontrados en la investigación donde el cultivar PM 581 sobresalió, tabla 5 y figura 3.

Tabla 5. Antocianinas, fenoles y actividad antioxidante de las corontas de maíz morado

Muestra	Acy (mg/g)*	Fenoles Totales (GAE mg/g)*	Inhibición de la actividad oxidante del DPPH (%)							
			Tiempo (minutos)							
			1**	3**	5**	10**	15**	20**	25**	30**
Ácido gálico	-	-	73,89 ± 0,23 a	74,20 ± 0,13 c	78,40 ± 0,17 d	80,02 ± 0,23 c	84,98 ± 0,29 b	86,00 ± 0,33 c	87,33 ± 0,87 b	88,12 ± 0,69 c
Ácido ascórbico	-	-	50,17 ± 0,41 c	73,59 ± 0,29 c	86,87 ± 0,46 c	92,66 ± 0,17 a	92,66 ± 0,17 a	93,34 ± 0,13 a	92,92 ± 0,29 a	92,62 ± 0,11 b
TC	13,359 ± 2,892 b	33,388 ± 2,548 b	70,49 ± 4,54 a	90,92 ± 0,23 b	92,40 ± 0,30 a	92,55 ± 0,24 a	92,74 ± 0,23 a	93,19± 0,23 a	93,53± 0,30 a	93,76± 0,34 a
PM 581	20,595 ± 2,684 a	40,584 ± 2,828 a	72,23 ± 0,57 a	91,90 ± 0,36 a	92,28± 0,23 a	92,70± 0,24 a	92,89± 0,35 a	93,19 ± 0,23 a	93,34 ± 0,40 a	93,72 ± 0,35 a
TJ	14,751 ± 0,964 b	36,224 ± 2,316 a,b	65,38 ± 0,57 b	67,16 ± 1,02 d	91,64 ± 0,36 b	92,13 ± 0,13 b	92,47 ± 0,29 a	92,70 ± 0,07 b	92,92 ± 0,17 a	92,92 ± 0,17 b

*, **: Indican diferencias significativas con $p<0,05$ y $p<0,01$. Valores con diferentes letras dentro de cada columna denotan diferencias significativas en la prueba de Duncan ($p<0,05$). Valores promedio de 3 repeticiones ± desviación estándar. Acy: Antocianinas. La absorción promedio en t = 0 del DPPH fue 0,881 para todos los casos de la actividad antioxidante.

Otra investigación relacionada con antocianinas de Yang *et al.*[22] indican valores cercanos a 6 mg/g muestra. Ese mismo año, Yang *et al.*[1] reportaron el valor de 0,680 mg/g muestra; en ambos casos los valores fueron inferiores a los hallados en la investigación. Escribano-Bailón *et al.*[3] en su revisión de antocianinas en cereales mencionan contenidos de 1642 mg/100 g muestra en base húmeda y 1779 mg/100 g para base seca en el maíz morado, valores cercanos a los encontrados en la investigación. Por otro lado Pedreschi y Cisneros-Zevallos[23] señalaron que la fracción acuosa (FA) del atomizado presentó un valor total de 40,25 mg de antocianina/g de FA, valor superior al encontrado en la investigación y que se justifica por la naturaleza de la muestra.

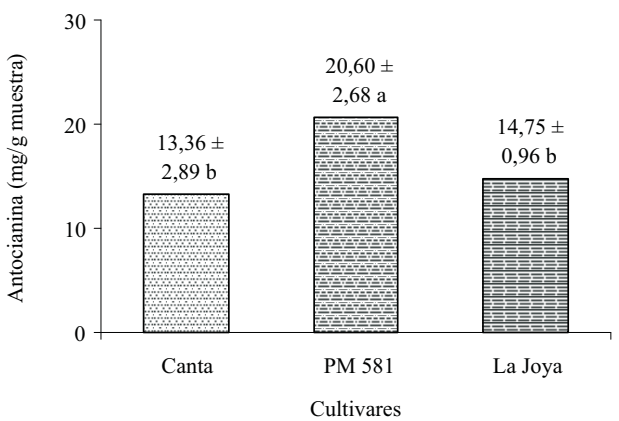


Figura 3. Antocianinas de los cultivares Canta (TC), PM 581 y La Joya (TJ). La figura muestra valores promedio de 3 repeticiones ± desviación estándar y letras que denotan diferencias significativas en *p0,05* en la prueba de Duncan.

Fenoles totales

Los fenoles totales expresados como mg GAE/g coronta, de los cultivares TC, PM 581 y TJ fueron respectivamente 33,388, 40,584 y 36,224, sobresaliendo el cultivar PM 581 según el análisis de varianza y prueba de significancia de Duncan en *p 0,05,* tabla 5 y figura 4; valores que se encontraron dentro de los reportados por Gorriti *et al.*[21] que indican valores entre 23,426 mg GAE/g muestra para la temperatura de 25 ºC y 30 minutos y 76,945 mg GAE/g muestra para la temperatura y tiempo de 90 ºC y 240 minutos. Pedreschi y Cisneros-Zevallos[23] en otro estudio, reportan que la fracción de acetato de etilo (FAE) de la muestra según el análisis por HPLC-DAD presentó valores totales de 135 mg de fenoles totales/g de muestra, superiores a los encontrados en la investigación que se explican por la naturaleza de la muestra comercial investigada.

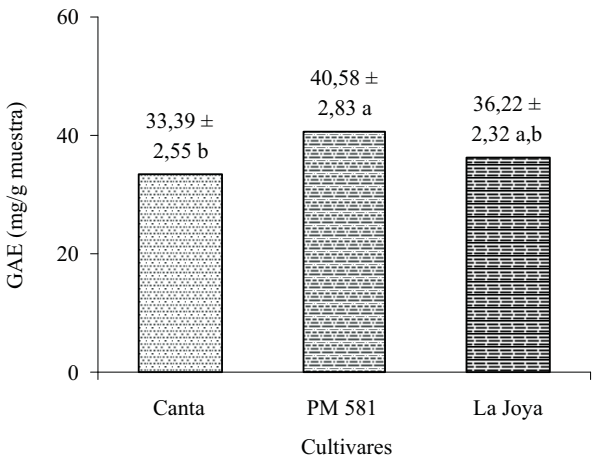


Figura 4. Fenoles totales expresados como mg GAE/g de coronta de los cultivares Canta (TC), PM 581 (PM 581) y La Joya (TJ). La figura muestra valores promedio de 3 repeticiones ± desviación estándar y letras que denotan diferencias significativas en *p0,05* en la prueba de Duncan.

Relaciones entre antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante de los extractos de los cultivares Canta, PM 581 y La Joya de maíz morado

El análisis de varianza de la regresión lineal entre el contenido de antocianinas y los fenoles totales de los extractos de los cultivares TC, PM 581 y TJ de maíz morado indica relaciones altamente significativas con *p0,01* y un r^2*= 0,7201.* La figura 5, explica que dentro de los extractos se encuentran otros compuestos fenólicos, tales como el ácido protocatechuico, ácido vaníllico, ácido p-coumárico, derivados de quercetina, derivados de hesperitina, derivados de ácido hidroxicinámico y otros fenólicos simples que fueron encontrados por Pedreschi y Cisneros-Zevallos[23]. Gorriti *et al.*[21] muestran relaciones altamente significativas con *p 0,01* y un r^2*= 0,5888* entre antocianinas y fenoles totales, valor que se encuentra por debajo del encontrado en la investigación (r^2*= 0,7201*); por otro lado Netzel *et al.*[24] encontraron el valor de regresión lineal (r^2*= 0,545*) inferior al encontrado en la investigación.

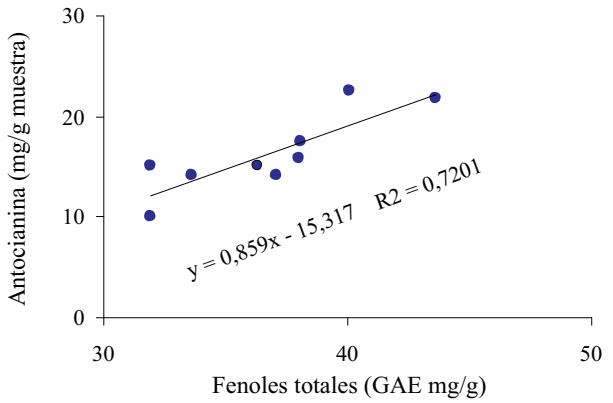


Figura 5. Análisis de regresión lineal entre el contenido de antocianinas y los fenoles totales de los cultivares Canta, PM 581 y La Joya. La figura muestra relaciones altamente significativas en *p 0,01* en el análisis de varianza.

Los porcentajes de inhibición de DPPH mostrados por los extractos de los cultivares Canta, PM 581 y La Joya muestran la capacidad antioxidante que posee el maíz morado, siendo estos superiores a la solución de ácido gálico en la concentración de 100 ppm y comparable a la actividad que exhibe el ácido ascórbico en la misma concentración; al respecto Gorriti *et al*.[21] demostraron que la capacidad antioxidante del maíz morado frente al radical estable DPPH se debe principalmente a los compuestos fenólicos presentes en los extractos donde los investigadores encontraron relaciones altamente significativas con $r^2 = 0,9774$ entre los compuestos fenólicos y el porcentaje de DPPH remanente en solución; por otro lado, Netzel *et al*.[24] encontraron relaciones significativas cercanas a 1 ($r = 0,949$) entre actividad antioxidante y fenoles totales, y Cai *et al*.[25] encontraron correlaciones altamente significativas en los extractos metanólicos ($r^2 = 0,9638$ para 112 plantas y $r^2 = 0,9530$ para 110 plantas) y acuosos ($r^2 = 0,9580$ para 112 plantas y $r^2 = 0,9504$ para 110 plantas) preparados a partir de 112 plantas de la medicina tradicional China, sugiriendo que los compuestos fenólicos contribuyen significativamente a la capacidad antioxidante de las plantas.

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones experimentales del distrito de La Joya, los cultivares TC, PM 581 y TJ presentan diferentes comportamientos: en altura de planta sobresalió el cultivar TC al momento de la cosecha y dentro de los caracteres peso de planta, peso de choclo, peso de panca y peso de mazorca sobresalió el cultivar TJ. Los resultados de la evaluación proximal de los granos muestra valores concordantes con la literatura no habiendo diferencias sustanciales entre los cultivares, y con respecto a los resultados de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante de las corontas el cultivar PM 581 presentó significativamente los valores más altos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresamos nuestro agradecimiento al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología del Perú - CONCYTEC por el financiamiento a la investigación, Proyecto No. 317-2007-CONCYTEC.

BIBLIGRAFÍA

1. Zhendong Yang; Yonbin Han; Zhenxin Gu; Gongjian Fan; Zhigang Chen. Termal degradation kinetics of aqueous anthocyanins and visual color of purple corn (*Zea mays* L.). *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 2008; 9(3): 341-347.
2. Pío Antonio Manrique Chávez. El maíz en el Perú. *Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología - CONCYTEC* 1997, Lima. 362 pp.
3. Mª Teresa Escribano-Bailón; Celestino Santos Buelga; Julián C. Rivas-Gonzalo. Anthocyanins in cereals. *Journal of Chromatography* 2004; 1054, 129-141.
4. Antonio Brack. Diccionario Enciclopédico de las Plantas Útiles del Perú. CBC. 1999, Cusco. 650 pp.
5. Pascual Teresa S.; Santos-Buelga C.; & Rivas-Gonzalo J.C. LC-MS. Análisis of anthocyanins from purple corn cob. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2002; 82, 1003-1006.
6. Bolívar A.; Cevallos-Casals Luis; Cisneros-Zevallos. Stability of anthocyanins-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. *Food Chemistry* 2004; 86, 69-77.
7. Markakis P. Anthocyanins as food additives. *In Anthocyanins as food colours* (pp 245-253) 1982, New York: Academic Press (Chapter 9).
8. Francis, F. Colourants. Anthocyanins. *Critical Review in Food Science and Nutritive* 1989; 28, 273-314
9. Mazza G. & Miniati E. Anthocyanin in fruit, vegetables and grains (pp 1-28)1993, CRC Press: Boca Ratón, FL.
10. Bridle P. & Timberlake C.F. Anthocyanins as natural food colours-Selected aspects. *Food Chemistry* 1997; 58, 103-109.
11. Duhard V.; Garnier C. & Megard D. Comparison of the stability of selected anthocyanin colorants in drink model systems. *Agro Food Industry Hi Tech* 1997; 8, 28-34.
12. José Manuel Puma Valdivia. Dos Fuentes de material orgánica y el rendimiento del maíz morado (*Zea mays* L.) cv. "Canteño" en zonas áridas. Tesis para optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo, Escuela Profesional de Agronomía, UNSA. 1998, Arequipa. 140 pp.
13. Rafael Néstor Lazo Cama. Fertilización potásica y fosfórica en el rendimiento de maíz morado (*Zea mays* L.) P.M. 581, El Cural - Arequipa. Tesis para optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo, Escuela Profesional de Agronomía, UNSA. 1999, Arequipa. 146 pp.
14. Giusti M.M. & Wrosltad, R.E. Characterization and measurements of anthocyanins by UV-VIS spectroscopy. In *Current protocols in Food Analitical Chemistry* (pp 13) 2001, New YorK: John Wiley & Sons, Inc. (Unit F1.2.1-F1.2.13).
15. A.O.A.C. Official Methods of Analysis. 15th Edition. *Association of official Analytical Chemists,* 1990. Washington, D.C.
16. Sidsel Fiskaa Haagen; Grethe Iven A. Borge; Gunnar B. Bengtison; Wolfgang Bilger; Aroid Berge; Karin Haffner; Knut Asbjørn Solhaug. Phenolics contents and other health and sensory properties of apple fruit (*Malus domestica* Borkh., cv. Aroma): Effects of post harvest UV-B irradiation. *Postharvest Biology and Technology* 2007; 45, 1-10.
17. Argimiro Rivero Rosales; Juana Betancort Rodríguez. Evaluación de la actividad antioxidante de polifenoles de algas marinas, Práctica VI.3, 2006. *www.iupac.org/publications/cd/medicinal_chemistry*

18. Jesús Salinas Flores; Luis Daza Portocarrero. Manual de SAS para PC´S. Departamento de Estadística e Informática, Facultad de Economía y Planificación, UNALM. 1996, Lima. 114 pp.
19. Orlando Chipana Quispe. Guía SAS aplicado a diseños experimentales. Centro de Cómputo, Escuela de Posgrado, UNALM. 1997, Lima. 40 pp.
20. SENAMHI. Informe No. 001 - SENAMHI - DR6 - 2009, SENAMHI, 2009. Arequipa.
21. Arilmí Gorriti Gutiérrez; Jorge Arroyo Acevedo; Luisa Negrón Ballarte; Bertha Jurado Teixeira; Harold Purizaca; Ilario Santiago Aquise; Evelyng Taype Espinoza; Fredy Quispe Jacobo. Antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante de las corontas de maíz morado (*Zea mays* L.): Método de extracción. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas – BLACPMA*, 2009; 8(6): 509-518.
22. Zhendong Yang; Gongjian Fan; Zhenxin Gu; Yonbin Han; Zhigang Chen. Optimization extrction of anthocyanins from purple corn (Zea mays L.) cob using tristimulus colorimetry. *Eur Food Res Technol* 2007; DOI 10.1007/S 00217-007-0735-4: Springer-Verlag.
23. Romina Pedreschi; Luis Cisneros-Zevallos. Phenolics profiles of Andean purple corn (*Zea mays* L.). *Food Chemistry*, 2007; 100: 956-963.
24. Michael Netzel; Gabriele Netzel; Qingguo Tian; Steven Schwartz; Izabela Konczak. Native Australian fruits - a novel source of antioxidants for food. *Innovative Food Secience & Emerging Technologies,* 2007; 8: 339-46.
25. Yizhong Cai; Qiong Luo; Mei Sun; Harold Corke. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, 2004; 74: 2157-2184.

Recibido el 20-12-2010
Aprobado el 02-08-2011

CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE TRES PALMERAS DEL GÉNERO *Attalea*

Ericka Jeannette Dávila Guerrero[1*]; Claudia Merino Zegarra[1]; Kémber Mateo Mejía Carhuanca[1]; Dora Enith García De Sotero[2]; Michel Sauvain[3]; Víctor Erasmo Sotero Solís[1]

RESUMEN

Se caracterizó químicamente la almendra de los frutos de tres palmeras del género *Attalea*: *Attalea moorei, Attalea* sp. y *Attalea salazarii* que fueron colectadas en la región amazónica peruana. La composición centesimal para las tres especies presenta en peso seco: cenizas: 1,54%, 1,30% y 1,44%; proteínas: 20,63%, 17,48% y 10,16%; grasas: 23,02%, 18,03% y 19,47; y carbohidratos: 54,81%, 63,19% y 68,93% para *A. moorei*, *A.* sp. y *A. salazarii*, respectivamente. La concentración de elementos analizados por espectrofotometría de absorción atómica, en mg/100g indican: (Cu): 0,955, 0,827 y 1,390; (K): 490,13, 405,43 y 578,68; (Mn): 1,43, 1,98 y 1,65; (Mg): 134,83, 102,37 y 111,68; (Na): 153,18, 126,28 y 120,55; (Zn): 1,73, 1,21 y 1,86; (Fe): 2,95, 1,68 y 0,51; y (Ca): 24,30, 78,40 y 44,55 para *A. moorei*, *A.* sp. y *A. salazarii*, respectivamente. La caracterización de ácidos grasos se realizó por cromatografía gaseosa; se observó que las *Attaleas* presentaron mayor concentración de ácidos grasos saturados, encontrándose en mayor concentración el ácido láurico, siendo de 44,40%, 47,97% y 51,84% para *A. moorei, A. sp* y *A. salazarii*, respectivamente. La identificación de aminoácidos se realizó mediante la cromatografía de capa fina y se observa que los frutos presentan todos los aminoácidos esenciales.

Palabras clave: *Attalea,* elementos, aminoácidos, absorción atómica.

CHEMICAL CHARACTERIZATION OF THREE PALMS OF GENDER *Attalea*

ABSTRACT

The seed of the fruits of three palm of the *Attalea* gender were characterized chemically. They are: *Attalea moorei*, *Attalea sp* and *Attalea salazarii,* which were collected in the Peruvian Amazon. The centesimal composition for the three species presents in dry weight: ash: 1,54%, 1,30% and 1,44%; proteins: 20,63%, 17,48% and 10,16%; greases 23,02%, 18,03% and 19,47%; and carbohydrates: 54,81%, 63,19% and 68,93% for *Attalea moorei*, *Attalea sp.* and *Attalea salazarii*, respectively. The concentration of elements analyzed by atomic absorption spectrophotometríc, indicated (in: mg/100g), (Cu) : 0,955, 0,827 and 1,390; (K) : 490,13, 405,43 and 578,68; (Mn) : 1,43, 1,98 and 1,65; (Mg) : 134,83, 102,37 and 111,68; (Na) : 153,18, 126,28 and 120,55; (Zn) : 1,73, 1,21 and 1,86; (Fe) : 2,95, 1,68 and 0,51; and (Ca) : 24,30, 78,40 and 44,55 for *A. moorei*, *A.* sp. and *A. salazarii*, respectively. The characterization of fat acids, were realized by gas chromatography, and it was observed that

[1] Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP); Apartado 784. Iquitos, Perú. Laboratorio de Sustancias Naturales Bioactivas-IIAP. jedague@hotmail.com
[2] Facultad de Ing. Química. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana
[3] Institut de Recherche pour le Développement – IRD.

this gender in study, presented a higher concentration of saturated acid, and the lauric acid was of the major, with 44,40%, 47,97% y 51,84% for *A. moorei, A. sp. and A. salazarii*, respectively. Identification of amino acids were made by means of the chromatography of fine layer and is observed that the fruits present all the essential amino acids.

Key words: *Attalea,* elements, aminoacids, atomic absorption

INTRODUCCIÓN

Según la literatura, el complejo *Attalea* es uno de los más destacados en el neotrópico, del género Palmae. Se las encuentra desde México a Bolivia, Paraguay, el sur de Brasil y el Caribe, y también en los ecosistemas de tierras bajas y en los Andes hasta las alturas de 1200-1600 metros sobre el nivel del mar[1]. Numerosas especies son palmeras masivas de alta densidad y son elementos notables del paisaje, aunque también hay especies pequeñas, tanto en los bosques como en las sabanas. La identificación de la especie *Attalea* fue difícil por varias razones. El primer problema fue la escasez de colecciones buenas de herbario. La mayoría de las especies tienen las hojas muy grandes, las inflorescencias y las frutas también exhiben características biológicas, como fonología, muy estacional que hacen difícil reunir material completo. El segundo problema fue el uso de diferentes conceptos de géneros por los taxonomistas. En el Field Guide to the Palms of the Americas, todas las especies de la subtribu Attaleinae *sensu* UBV and Dransfield (1987), citado por PINTAUD[2] (2008), son incluidas en el género *Attalea*, mientras que en el Taxonomic Treatment of Palm Subtribe Attaleinae, el grupo es tratado como cinco géneros separados (*Attalea sensu stricto*, *Orbignya*, *Scheelea*, *Maximilian* y *Ynesa*)[2].

Los frutos de las palmeras han servido como parte de la alimentación del poblador amazónico peruano; entre las principales se tiene: el pijuayo (*Bactris gasipaes* H.B.K.), muy utilizado en diferentes formas para bebidas y cocido; el aguaje (*Mauritia flexuosa*), que se utiliza para preparar refrescos y helados; el huasai (*Euterpe oleracea* y *Euterpe precatoria*), tambien utilizado para la alimentación humana, y las *Attaleas*, conocidas comúnmente como shapajas o shebones, cuyos frutos, no todos con pulpa y almendra, presentan alta concentración de grasas. [3,4,5,6]

Los ácidos grasos en los aceites de frutos amazónicos se han convertido en una fuente interesante para potenciarlos, ya sea en la industria oleaginosa, como en la futura de biocombustibles, de tal modo que, Pinataud (2010) cree que este género se presenta como una excelente alternativa para fortalecer el desarrollo industrial de los pueblos amazónicos[7].

Los frutos de las palmeras han demostrado tener cierta concentración de material proteico, entre éstas se encuentran al pijuayo (*Bactris gasipes* H.B:K) (6,1%); huasaí (*Euterpe oleracea*) (3,8%); ungurahui (*Jessenia bataua* Mart.) (7,4%)[8]. Una especie similar a las Attaleas en estudio y que por mucho tiempo se la consideró en este género, es el babasú (*Orbiygnia speciosa*), el cual llamó la atención como un árbol no suficientemente utilizado, pero que tenía un valor económico de interés. Las almendras contienen de un 60 a 70% de aceite; el contenido proteico de las harinas de almendra del babasú está alrededor del 19%; presenta todos los aminoácidos esenciales. Es considerablemente rico en ácidos saturados de cadena carbonada media, conteniendo 33,6 y 19,9% de ácido láurico y mirístico, respectivamente; el único ácido graso insaturado de importancia que se encontró fue el ácido oleico, con un 14%[9].

El objetivo del presente estudio es realizar la caracterización química de las especies *A. moorei, A.* sp. y *A. salazarii.*

PARTE EXPERIMENTAL

Material

Se colectaron muestras de *Attalea moorei*, *Attalea* sp. y *Attalea salazarii* (figura 1), en poblaciones naturales de los distritos de Tarapoto (Región San Martín), Jenaro Herrera, Bagazán y Tamshiyacu. La identificación de las especies para este estudio la realizó el botánico Dr. J. Pintaud.

(a) (b) (c)

Figura 1. (a) Fruto de *Attalea moorei*; (b) Fruto de *Attalea sp.*; (c) Fruto de *Attalea salazarii*

El material colectado fue trasladado al Laboratorio de Sustancias Bioactivas del IIAP en Iquitos.

Métodos

Análisis bromatológicos

En los análisis bromatológicos se determinó los siguientes parámetros: humedad, ceniza, proteína bruta y lípidos[10].

Análisis de minerales por espectrofotometría de absorción atómica

Para la determinación de minerales se realizó digestiones sucesivas con HCl 6N y 3N partiendo de cenizas y los estándares se prepararon con HCl 0,3N; se utilizó un espectrofotómetro de absorción atómica VARIAN AA240[10,11].

Análisis de aminoácidos por cromatografía de capa fina

Se identificaron aminoácidos esenciales en la semilla de los frutos, para lo cual se pesó 0,05g de muestra desengrasada, realizándose una extracción con agua destilada denominada extracto "A" y otra con agua acidulada con HCl 1N, denominada extracto "B"; ambas fueron colocadas en baño de agua a 100 ºC y centrifugadas. Posteriormente se aplicó 20 µl de cada extracto para la identificación por cromatografía de capa fina. Los sistemas y reveladores utilizados fueron: extracto "A", sistema: alcohol n-butílico: acetona: amoníaco: agua (50:50:10:50) y solución etanólica de ninhidrina al 0,20% como revelador; extracto "B", sistema: alcohol n-butílico: ácido acético glacial: agua (80:48:32) y solución acetónica de ninhidrina al 0,25% como revelador[12].

Caracterización de ácidos grasos

Para la caracterización de ácidos grasos, los aceites fueron purificados y esterificados[13]. La identificación por cromatografía gaseosa se realizó utilizando un equipo VARIAN 450-GC, columna de sílica fundida supelcowax de 60 m y 0,25 mm. de d.i. conteniendo 0,25 µm de polietilenglicol, detector de ionización de llama (FID), helio como gas de arrastre a un flujo de 1,5 ml/min, programación de temperatura de la columna con calentamiento a 1 °C/min desde 170 °C hasta 225 °C, temperatura del detector de 260 °C, razón de división split de la muestra en el inyector de 1/20[10].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo a la tabla 1, donde se observa los análisis bromatológicos de las palmeras, el porcentaje de proteínas de estas especies del género *Attalea* es considerable, observándose mayor porcentaje en la *Attalea sp*.

Tabla 1. Análisis bromatológicos de las almendras de palmeras A. *moorei*, *A.* sp. y *A. salazarii*

Muestras	Parámetros, g/100g				
	Humedad	Cenizas	Proteínas	Grasas	Carbohidratos
Attalea moorei	$22,49^{a} \pm 1,27$	$1,54^{a} \pm 0,07$	$14,41^{a} \pm 0,19$	$23,02^{a} \pm 3,85$	$54,81^{a} \pm 1,54$
***Attalea* sp.**	$52,46^{b} \pm 0,56$	$1,30^{b} \pm 0,06$	$17,48^{b} \pm 0,74$	$18,03^{b} \pm 1,93$	$63,19^{b} \pm 2,48$
Attalea salazarii	$23,55^{a} \pm 0,25$	$1,44^{c} \pm 0,01$	$10,16^{c} \pm 0,11$	$19,47^{b} \pm 0,32$	$68,93^{c} \pm 2,25$

* Los datos en las tablas representan el promedio ± desviación estándar y las letras difieren, si estadísticamente son diferentes $p<0,05$.

En la tabla 2 se observa la concentración de minerales en la semilla de las palmeras en estudio. En cuanto a los análisis de los micro y macro nutrientes presentes en la almendra, se tiene que la *Attalea salazarii* presenta mayor contenido de potasio y la *Attalea moorei* presenta mayor contenido de sodio y magnesio.

Tabla 2. Concentración de minerales en almendras de palmeras *A. moorei, A.* sp. y *A. salazarii*

Minerales mg/100g	*Attalea moorei*	*Attalea* sp.	*Attalea salazarii*
Ca	$24,30^{a} \pm 0,28$	$78,40^{b} \pm 7,12$	$44,55^{c} \pm 3,06$
K	$490,13^{a} \pm 25,68$	$405,43^{b} \pm 19,70$	$578,68^{c} \pm 28,90$
Fe	$2,95^{a} \pm 0,24$	$1,68^{b} \pm 0,09$	$0,51^{c} \pm 0,07$
Cu	$0,96^{a} \pm 0,08$	$0,83^{a} \pm 0,03$	$1,39^{b} \pm 0,02$
Zn	$1,73^{a} \pm 0,03$	$1,21^{b} \pm 0,04$	$1,86^{a} \pm 0,08$
Mg	$134,83^{a} \pm 3,57$	$102,37^{b} \pm 8,90$	$111,68^{c} \pm 2,52$
Mn	$1,43^{a} \pm 0,06$	$1,98^{b} \pm 0,25$	$1,65^{a,b} \pm 0,13$
Na	$153,18^{a} \pm 6,03$	$126,28^{b} \pm 8,30$	$120,55^{b} \pm 9,21$

* Los datos en las tablas representan el promedio ± desviación estándar y las letras difieren, si estadísticamente son diferentes $p<0,05$.

En la tabla 3 se muestra la identificación de los aminoácidos de las palmeras en estudio, donde se observa que las tres especies presentan los diez aminoácidos esenciales.

Tabla 3. Identificación de aminoácidos en almendras de palmeras *A. moorei*, *A.* sp. y *A. salazarii*

Aminoácidos esenciales	Muestras		
	Attalea moorei	***Attalea* sp.**	***Attalea salazarii***
Lisina	++	+++	+++
Arginina	++	+++	+++
Valina	+++	++	+++
Metionina	++	++	++
Treonina	++	+	+
Histidina	+	+	++
Isoleucina	++	+	+
Leucina	++	+	+++
Fenilalanina	+++	++	++
Triptófano	+++	++	+++

* Presencia: +, baja; ++, media; +++, alta

En la tabla 4 se observa los resultados de la caracterización de ácidos grasos de las almendras extraídas de las semilla de dos de las especies en estudio: *Attalea* sp. y *Attalea salazarii*, comparadas con la almendra de *Attalea moorei;* como se ve, la composición es muy rica en ácido láurico, observándose diferencias significativas entre las tres especies en casi todos los ácidos grasos; dichos resultados son similares a los reportados en la *Attalea butyracea* (palma yagua)[14].

Tabla 4. Caracterización de ácidos grasos de las almendras de *A. moorei*, *A.* sp. y *A. salazarii*

Ácidos grasos mg/100g	***Attalea moorei***	***Attalea* sp.**	***Attalea salazarii***
Ácido caprílico	$6,17 \pm 0,14^{a}$	$7,71 \pm 0,24^{b}$	$7,06 \pm 0,06^{c}$
Ácido cáprico	$4,66 \pm 0,08^{a}$	$6,67 \pm 0,10^{b}$	$6,31 \pm 0,20^{b}$
Ácido láurico	$44,40 \pm 0,25^{a}$	$47,97 \pm 0,70^{b}$	$51,84 \pm 0,53^{c}$
Ácido mirístico	$18,73 \pm 0,10^{a}$	$15,54 \pm 0,87^{b}$	$15,40 \pm 0,52^{b}$
Ácido palmítico	$9,27 \pm 0,11^{a}$	$7,60 \pm 0,55^{b}$	$7,53 \pm 0,43^{b}$
Ácido esteárico	$3,41 \pm 0,08^{a}$	$3,42 \pm 0,03^{a}$	$3,55 \pm 0,08^{a}$
Ácido oleico	$11,77 \pm 0,17^{a}$	$9,47 \pm 0,21^{b}$	$7,53 \pm 0,45^{c}$
Ácido linoleico	$1,60 \pm 0,03$	N.P.	N.P.

* Los datos en las tablas representan el promedio ± desviación estándar y las letras difieren, si estadísticamente son diferentes $p<0,05$.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos concluimos que:

- *Attalea moorei* reportó un mayor porcentaje de lípidos, presentando mayor porcentaje de ácidos saturados, ácido láurico en *Attalea salazarii* y ácido mirístico en *Attalea moorei*.
- En la cuantificación de minerales la *Attalea moorei* presentó mayor concentración de sodio y magnesio en relación a *Attalea* sp. y *Attalea salazarii*. La *Attalea salazarii* reportó mayor concentración de potasio. Se observó que *Attalea* sp. presentó una concentración tres veces mayor de Ca, que *Attalea moorei*.
- En la identificación de aminoácidos se observó que los frutos presentan todos los aminoácidos esenciales.
- De acuerdo a la composición de ácidos grasos, en las tres especies estudiadas se clasifica como un aceite del tipo láurico, con potenciales de uso similares al aceite de coco.

AGRADECIMIENTO

- Al Programa de Ciencia y Tecnología – FINCyT, por el financiamiento parcial del presente estudio a través del Proyecto "Potencial nutracéutico, caracterización química y genética de palmeras promisorias del complejo Attalea: *Attalea moorei* (shapaja), *Attalea* sp. (shebón), *Attalea salazarii* (sheboncillo)".
- Al Dr. Jacques Pintaud, del IRD por la identificación de las especies en estudio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Pintaud J.-C., G. Galeano, H. Balslev, R. Bernal, F. Borchsenius, *et al.* Las palmeras de América del Sur: diversidad, distribución e historia evolutiva. *Rev. per. biol*. 2008. 15(supl. 1): 7-29.
2. Pintaud, J.-C. An overview of the taxonomy of Attalea (Arecaceae). Rev. Perú. Biol. 2008. 15(Supl 1): 55-63.
3. Flores, P. S. Cultivo de frutales nativos amazónicos: Manual para el extensionista. Secretaria Pro Témpore. Tratado de Cooperación Amazónica. Lima. 1997, 307p.
4. Ferreira, E. Manual de palmeras do Acre, Brasil. Ferreira, E. J. L. F. Manual das palmeiras do Acre, Brasil. Disponível en: http://www.nybg.org/bsci/acre/www1/manual_palmeiras.html. Acesso em: 20 ago. 2009.
5. García, D., Gonzales, J., Moreno, M., Belén, D.R., Medina, C., Linares, O: Caracterización fisicoquímica del aceite del endospermo de la palma-yagua (*Attalea cryptanthes*). *Grasas y Aceites*, 2006; 57(3):308-312.
6. Vásquez, P., Sotero, V., Del Castillo, D, Freitas, L., Maco. M. Diferenciación química de tres morfotipos de *Mauritia flexuosa* L de la Amazonía peruana. *Rev. Soc. Qui. Peru*, 2009; (75)3: 320-328.
7. Montufar, R.; Andreina, L; Pintaud J.-C.; Serge, H.; Sylvie, A.; Stephane, *D*. *Oenocarpus bataua* Mart. (Arecaceae): redescubrir una fuente de ácido oleico del aceite vegetal de la alta Amazonía. *Revista de la Sociedad Americana de Químicos del Petróleo* 2010, 87 (2),167-172.
8. Villachica, H. Frutales y hortalizas promisorias de la Amazonía. Tratado de Cooperación Amazónica. Lima - Perú. 1996.
9. Ly, J.; Sarmiento, L. y Santos, R. Las palmas como fuente de alimento para cerdos en el trópico. Universidad Autónoma de Yucatán. México. 2005; 148 - 153.

10. Official Methods of Analysis of AOAC international. 18th ed., Gaithersburg, MD, USA, Official Method. 2005. Chapter 41, 11, 13, 20.
11. Osborne, D.R.; Voogt, P.. Análisis de los nutrientes en los alimentos. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza - España, 1978, 160-170.
12. Ramos-Aliaga, R. Fraccionamiento químico de la hoja de coca y obtención de un producto rico en proteínas. Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición (CIBN), Facultad de Medicina Humana (UNMSM); *Rev. Sociedad Química del Perú,* 2005, 71, 3-11.
13. Hartman & Lago. Rapid preparation of fatty acid methyl ester from lipids, Lab. Pract. 1973. 22**:**475-477.
14. Cordero, J.; Alemán, W.; Torrellas, F.; Ruiz, R.; Nouel, G.; De Sousa, N.M.; Espejo, M.; Sánchez, R. y Molina, E. Características del fruto de la palma yagua (Attalea butyracea) y su potencial para producción de aceites. *Bioagro.* 2009. 21(1). 49-55.

Recibido el 20-07-2011
Aprobado el 17-08-2011

EFECTO ANTIAGREGANTE PLAQUETARIO *in vivo* Y FIBRINOLÍTICO *in vitro* DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Oenothera rosea* Aiton (chupasangre)

Hilda Vanessa Díaz Porras[a*], César Fuertes Ruitón[a], Delia Whu Whu[b], Bertha Jurado Teixeira[c], Mirtha Roque Alcarraz[d], Jorge Arroyo Acevedo[e].

RESUMEN

En el análisis fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de *Oenothera rosea* Aiton, se identificaron: taninos, flavonoides, quinonas, alcaloides y saponinas, teniendo como objetivo principal determinar el efecto del extracto etanólico de las hojas de *Oenothera rosea* Aiton sobre la hemostasia; para eso se evaluó el efecto fibrinolítico *in vitro* del extracto etanólico a las siguientes concentraciones: 5,8; 0,29 y 0,014 mg/ml en sangre venosa humana; para el efecto antiagregante plaquetario se administró 25, 50 y 100 mg/kg del extracto a 40 ratas albinas hembras, las que se dividieron en 5 grupos de 8 animales cada uno. Al grupo control se administró suero fisiológico 5 ml/kg y se utilizó aspirina 100 mg/kg, como fármaco estándar; se determinó el tiempo de protrombina y tiempo de coagulación, obteniéndose mayor efecto a 50 mg/kg al variar en 8% ($p<0,000$) y 45% ($p<0,001$), respectivamente.

Palabras clave: *Oenothera rosea*, fibrinolítico, antiagregante plaquetario, flavonoides.

ANTIPLATELET EFFECT *in vivo* AND FIBRINOLYTIC *in vitro* ETHANOL EXTRACT LEAVES *Oenothera rosea* Aiton (chupasangre)

ABSTRACT

The phytochemical analysis of the ethanol extract of the leaves of *Oenothera rosea* Aiton were identified: tannins, flavonoids, quinones, alkaloids and saponins, the main objective to determine the effect of ethanol extract of the leaves of *Oenothera rosea* Aiton on hemostasis, to that was evaluated the *in vitro* fibrinolytic effect of ethanol extract at the following concentrations: 5.8, 0.29 and 0.014 mg/ml human venous blood to the antiplatelet effect was given 25, 50 and 100 mg/kg of extract 40 female albino rats, which were divided into 5 groups of 8 animals each. The control group was administered saline 5 ml/kg and used aspirin 100 mg/kg, as standard drug, we determined the prothrombin time and clotting time obtaining greater effect than 50 mg/kg to vary by 8% ($p < 0.000$) and 45% ($p <0.001$) respectively.

Key words: *Oenothera rosea*, fibrinolytic, antiplatelet effect, flavonoids.

INTRODUCCIÓN

El Perú es uno de los países más destacados en diversidad biológica; existen alrededor de 25,0000 especies de plantas medicinales, mucha de las cuales poseen propiedades

[*a] Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara". U.N.M.S.M.
[b] Laboratorio de Química Instrumental. U.N.M.S.M.
[c] Laboratorio de Farmacognosia y Medicina Tradicional. U.N.M.S.M.
[d] Laboratorio de Microbiología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. U.N.M.S.M.
[e] Laboratorio de Farmacología. Facultad de Medicina Humana. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Jr. Puno 1002. Jardín Botánico. Lima. Perú. E- mail: vanessadiaz646@hotmail.com.

terapéuticas. La Organización Mundial de la Salud reconoce la importancia del rol que desempeña el uso y utilización de las plantas medicinales en la "Atención Primaria de la salud"; recomienda y respalda su integración en los sistemas nacionales de salud; estima que casi el 80% de todos los habitantes de la Tierra los usan para resolver sus principales problemas de salud [1]. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), las enfermedades cardiovasculares, como el infarto al miocardio y accidente cerebro vascular, cobran 17,5 millones de vidas al año en el mundo y tienen como causa principal la trombosis o coagulación sanguínea en el interior de las arterias para producir estas enfermedades; entre otras. Para su tratamiento se dispone de varios grupos de medicamentos, denominados en conjunto como anticoagulantes; entre éstos se encuentran: antiagregantes plaquetarios, anticoagulantes orales y trombolíticos. Entre los antiagregantes plaquetarios reconocidos tenemos la Aspirina, pero produce inflamación gástrica como efecto adverso principal.
Oenothera rosea Aiton es conocida vulgarmente como chupasangre en la medicina tradicional peruana; es utilizada para diferentes tratamientos como: antiinflamatorio, para la neumonía, tuberculosis pulmonar, gonorrea y para nuestro interés, en hinchazones por su uso para absorber la sangre de los hematomas provocados por golpes y contusiones [2].

PARTE EXPERIMENTAL

Las hojas de *Oenothera rosea* Aiton se colectaron en la comunidad campesina de San José de Huaylahichan, distrito de Acobamba, provincia de Tarma, departamento de Junín en el mes de abril del 2010

Preparación del extracto etanólico de hojas de *Oenothera rosea* Aiton

Doscientos veintiocho gramos de las hojas secadas y molidas de *Oenothera rosea* Aiton fueron macerados con 1400 ml de etanol 96% por 7 días con constante agitación y protegido de la luz en un frasco de color ámbar de boca ancha, el macerado fue filtrado sobre papel filtro; la solución extraída se guardó en un recipiente de vidrio de 5 L de capacidad. Una segunda maceración se realizó en las condiciones antes señaladas; se filtró y la solución extraída se adicionó al recipiente de vidrio de la primera maceración. Las soluciones filtradas se sometieron a evaporación en el evaporador rotatorio con baño María de 60 °C, obteniéndose treinta y dos gramos de extracto etanólico.

Estudio fitoquímico

Ensayos preliminares

Con la finalidad de detectar los diferentes constituyentes químicos del extracto etanólico desecado, se emplearon los siguientes ensayos:

Ensayos físicos

Marcha de solubilidades

En una batería de tubos de ensayo se colocó el extracto etanólico seco de las hojas de *Oenothera rosea* Aiton y se le agregó 2 ml del solvente en el siguiente orden: n- hexano, éter de petróleo, benceno, acetona, cloroformo, acetato de etilo, 1-butanol, metanol, etanol y agua destilada.

Screening fitoquímico

Ensayos de coloración

Se han realizado pruebas de color a través de reacciones cromogénicas, en tubos de ensayo para determinar los metabolitos primarios y secundarios más importantes, mediante la marcha fitoquímica preliminar.[3,4].

Análisis cromatográfico.
Se realizó sobre papel Whatman Nº 1, cuya medida fue de 11 cm de ancho x 60 cm de largo; como fase móvil se usó BAA (1- butanol - ácido acético - agua, 4: 1: 5). Los cromatogramas obtenidos fueron examinados con luz UV y NH_3 / UV; cada banda fue cortada y eluida con metanol y analizada mediante la reacción de Shinoda; asimismo, se observó los desplazamientos de los máximos de absorción al agregar: MeONa, NaAcO, NaAcO/H_3BO_3, $AlCl_3$ y $AlCl_3$/HCl a la solución metanólica de la banda con mayor concentración[5], haciendo uso de un espectrofotómetro UV- visible.

Prueba preliminar del efecto fibrinolítico *in vitro* de los flavonoides del extracto etanólico seco de *Oenothera rosea* Aiton (chupasangre)
Procedimiento: Se usó el método descrito por Prasad[6], se hizo un ensayo como piloto con sangre venosa humana, proveniente de personas que no consumen anticonceptivos ni anticoagulantes, se pesaron inicialmente los tubos Eppendorf, se agregó 500 µl de sangre y se puso en la estufa a 37 ºC por 45 minutos; una vez formado el coágulo, se retiró todo el suero de la muestra por aspiración con micropipeta sin alterar el coágulo formado, se pesó nuevamente y se obtuvo por diferencia el peso del coágulo seco. Cada tubo Eppendorf que contuvo el coágulo se rotuló debidamente y se agregó 500 µl de la solución metanólica que contenían los flavonoides; nuevamente se pusieron en la estufa a 37 ºC por 90 minutos. Finalmente, se removió el líquido de los tubos y se pesaron.

Efecto fibrinolítico *in vitro* del extracto etanólico seco de *Oenothera rosea* Aiton
Se usó el método descrito por Prasad[6], se trabajó con sangre venosa de 10 personas voluntarias, cuya edad promedio fue de 24 años, quienes nunca consumieron anticonceptivos ni anticoagulantes. Se pesaron inicialmente los tubos Eppendorf; se agregó 500 µl de sangre y se pusieron en la estufa a 37 °C por 45 minutos; una vez formado el coágulo, se retiró todo el suero de la muestra por aspiración con micropipeta sin alterar el coágulo formado; se pesó nuevamente y se obtuvo por diferencia el peso del coágulo seco. Cada tubo Eppendorf se rotuló debidamente y se agregó 500 µl del extracto etanólico seco a la concentración de 5,8 mg/ml previamente reconstituido en etanol al 96º; con el mismo procedimiento se trabajaron las concentraciones 0,29 y 0,014 mg/ml; nuevamente se colocaron en la estufa a 37 ºC por 90 minutos. Finalmente, se removió el líquido de los tubos y se pesaron. La prueba se repitió por triplicado, con un total de 90 tubos Eppendorf.

Efecto antiagregante plaquetario *in vivo* del extracto etanólico seco de las hojas de *Oenothera rosea* Aiton
Siguiendo el método de CYTED[7] para la actividad antiagregante plaquetario, se utilizaron 40 ratas albinas hembras cuyo peso fue 210 $\pm$ 4 g las que fueron divididas en 5 grupos de 8 animales cada uno.

Grupo control: Se administró 5 ml/kg de suero fisiológico 5 ml/kg dos veces al día.
1er. grupo experimental: Se administró 25 mg/kg del extracto de chupasangre dos veces al día.
2do. grupo experimental: Se administró 50 mg/kg del extracto de chupasangre dos veces al día.
3er. grupo experimental: Se administró 100 mg/kg del extracto de chupasangre dos veces al día.
Grupo estándar farmacológico: Se administró 100 mg/kg de aspirina dos veces al día.

Análisis estadístico

Los datos fueron agrupados y presentados en tablas, expresados en valores medios ± error estándar, en un intervalo de confianza del 95%. Se ha tenido en cuenta una $p<0,05$ para considerar significativos los hallazgos. Se aplicó el análisis de varianza para establecer la significancia estadística del tratamiento. Se utilizó el programa estadístico SPSS, versión 13, año 2006; asimismo, los programas Word y Excel 2007.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis fitoquímico

El extracto etanólico de las hojas de *O. rosea* fue sometido al ensayo de solubilidad; para lo cual se hizo uso de un grupo de solventes ordenados de acuerdo a su polaridad (tabla 1).

Tabla 1. Prueba de solubilidad

SOLVENTES	RESULTADOS
n - hexano	-
Éter de petróleo	-
Benceno	-
Acetona	+
Cloroformo	++
Acetato de etilo	++
1- utanbl	++
Metanol	+++
Etanol	+++
Agua destilada	++

\+ Es soluble - No es soluble

Screening fitoquímico

Se determinó la presencia de taninos, saponinas, flavonoides, quinonas y alcaloides**.** Los datos coinciden con los obtenidos por Gonzales y cols[8], quienes realizaron un estudio fitoquímico comparativo entre *Oenothera rosea* y *Oenothera multicaulis*; sin embargo, los resultados reportados para *Oenothera multicaulis* coinciden con *Oenothera rosea* Aiton, planta estudiada en este trabajo de investigación; destacando que *Oenothera multicaulis* reporta tambien alcaloides y saponinas (tabla 2)**.**

Tabla 2. Screening fitoquímico del extracto etanólico

Constituyente químico	Reactivo	Resultado	Calificación
Carbohidratos	R. Molish	Anillo en zona color violeta	+++
Fenoles	R. Cloruro de fierro (III)	Precipitado azul	++++
Taninos	R. gelatina	Precipitado blanco	+++
Aminoácidos y grupos aminas	R. Ninhidrina	Precipitado blanco	-

sigue ...

viene ...

Flavonoides	R. Shinoda	Coloración ligeramente rojizo	++
Quinonas	R. Borntranger	Coloración rojo	+++
Alcaloides	R. Dragendorff	Precipitado ligeramente rojizo	++
Alcaloides	R. Mayer	Precipitado blanco	++
Leucoantocianidinas	R. Rosenheim	Precipitado ligeramente naranja	+
Grupo carbonilo	R. Hidroxilamina	No se forma abundante precipitado	+
Glicósidos	R. Vainillina - sulfúrica	La formación de anillos coloreados	+ +
Saponinas		Producción de 0,5 cm de espuma estable por 10 minutos	+++
Esteroides libres o triterpenoides	R. Lieberman Burchardt	Coloración verde	+++

+ Reacción positiva - Reacción negativa

Análisis cromatográfico en papel (CP)

Los flavonoides fueron analizados y fraccionados por cromatografía en papel, en un sistema descendente; se obtuvo 16 fracciones de flavonoides, cuyas propiedades fluorescentes fueron analizadas en la lámpara de luz UV con y sin vapores de amoníaco, seguida de la reacción de Shinoda y su lectura en el espectrofotómetro UV - Visible (tabla 3).

Tabla 3. Análisis de las bandas cromatográficas en papel eluidas con metanol y caracterizadas por espectrofotometría UV / Visible

Eluatos de las fracciones obtenidas por cromatografía en papel		Con NH_3 en la lámpara de luz UV	Shinoda	Bandas espectrales UV	
Fracción N°	Color en la lámpara UV			Banda I	Banda II
1	Celeste débil	No cambia	--	--	--
2	Púrpura	No cambia	--	362	272
3	Amarillo	Intensificó	--	356	258
4	Púrpura	No cambia	--	365	272

sigue ...

viene ...

5	Amarillo fluorescente	Intensificó	--	353	257
6	Púrpura intenso	No cambia	--	355	259
7	Amarillo débil	Lila claro	--	361	266
8	Púrpura claro	Celeste claro	--	364	260
9	Púrpura intenso	Verde claro	Lila claro	360	259
10	Púrpura azulado	Celeste claro intenso	Melón	345	260
11	Púrpura oscuro	Verde muy intenso	Rosado intenso	362	259
12	Amarillo	Rosado	Melón	362	258
13	Púrpura claro	No cambia	--	358	258
14	Púrpura intenso	Celeste claro+++	--	--	--
15	Púrpura claro	Celeste claro ++	Amarillo	--	--
16	Rojo naranja	Intensificó	Amarillo	--	--

Con la finalidad de obtener la posible estructura del flavonoide responsable de la actividad farmacológica, se realizó una prueba preliminar donde se detectó que la fracción 9 fue la que presentó mayor actividad en la prueba piloto; estos ensayos fueron complementados con las reacciones de desplazamiento[9]. Al tratarlo con metóxido de sodio hubo un efecto batocrómico de 14 nm (tabla 4), lo que nos indicaría que el compuesto tiene hidroxilos libres, principalmente en la posición 4´; al hacer reaccionar con tricloruro de aluminio se formó un complejo fuerte entre el carbonilo y el oxidrilo de la posición del C- 5; al agregarle el HCl el complejo formado no se descompuso, lo que indicó la presencia de un oxidrilo en el C – 5, cuyo esqueleto básico correspondería al de una flavona; por consiguiente se propone la estructura siguiente (figura 1):

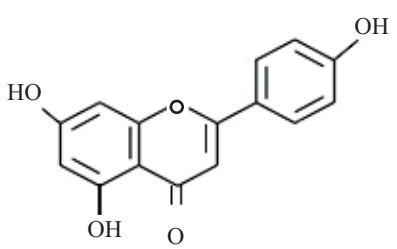


Figura 1. 4´- 5, 7 trihidroxiflavona

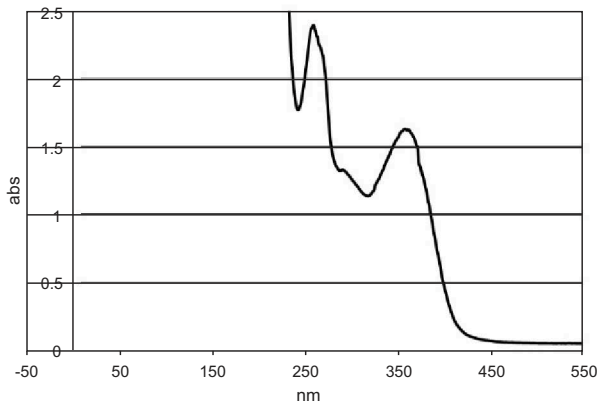


Figura 2. Espectro UV / Visible del flavonoide de la fracción 9 del extracto etanólico de las hojas de *Oenothera rosea* Aiton

Tabla 4. Comportamiento de la fracción 9 frente a los reactivos de desplazamiento para determinar las características estructurales del flavonoide.

Extracto	Fracción	Pico	**Lectura de picos** Las bandas de absorción en nm por efecto de los reactivos de desplazamiento					
			λ^{MeOH}	λ^{MeOH} + MeONa	λ^{MeOH} + $AlCl_3$	λ^{MeOH} + $AlCl_3$ + HCl	λ^{MeOH} + ACONa	$\lambda\lambda^{MeOH}$ + ACONa + H_3BO_3
Extracto etanólico de hojas de *Oenothera rosea* Aiton	**9**							
		1	**360**	**403**	**367**	**358**	**382**	**376**
		2	**258**	**272**	**265**	**267**	**266**	**263**

Cuantificación de flavonoides

Se obtuvo 58,25 mg de flavonoides totales por 1 gramo de extracto etanólico seco de las hojas de *Oenothera rosea* Aiton

Efecto fibrinolítico *in vitro* de los flavonoides del extracto etanólico de las hojas de *Oenothera rosea* Aiton

Según el método señalado por Prasat y cols[6], para el efecto fibrinolítico *in vitro* se utilizó estreptoquinasa; ésta es un agente fibrinolítico demostrado[10]; se adicionó un tampón fosfato salino, debido a que la estreptoquinasa es una proteína, que para su funcionamiento es imprescindible el mantenimiento del pH; las diluciones fueron realizadas con agua estéril (figura 3).

Para el estudio del efecto fibrinolítico *in vitro* el extracto etanólico se diluyó en alcohol de 96°; a las concentraciones 5,8; 0,29 y 0,014 mg/ml, además del blanco y el control: se observó la actividad fibrinolítica del flavonoide sometido a la prueba piloto. (figura 4).

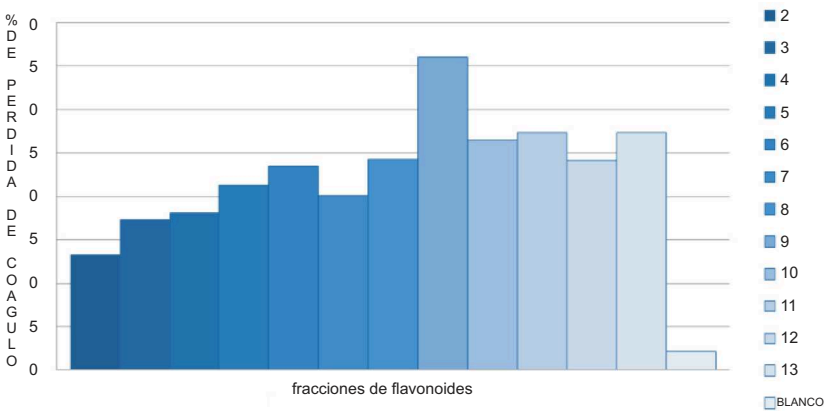


Figura 3. Prueba preliminar del efecto fibrinolítico de los flavonoides de *Oenothera rosea* Aiton

Del efecto fibrinolítico del extracto etanólico de las hojas de *Oenothera rosea* Aiton

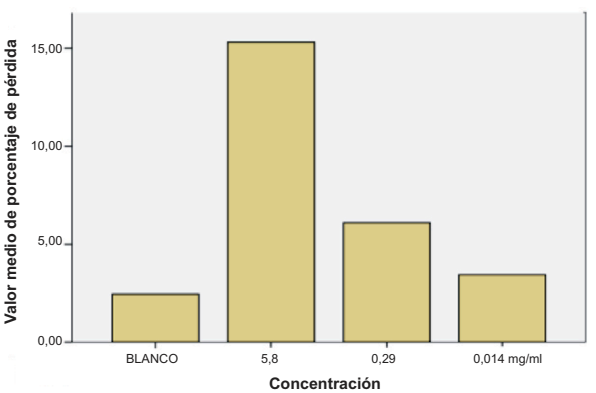


Figura 4. Efecto fibrinolítico *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Oenothera rosea* Aiton (chupasangre)

Efecto antiagregante plaquetario *in vivo* del extracto etanólico de las hojas de *Oenothera rosea* Aiton

Posiblemente los flavonoides contenidos en el extracto etanólico de las hojas de *Oenothera rosea* Aiton son los responsables de la actividad antiagregante plaquetario, por la inhibición de la formación de tromboxano[11]; nos basamos en la información proporcionada por Álvarez y cols[12], que hizo un estudio de la acción cardiovascular y sanguínea de los flavonoides, citando en su publicación que los flavonoides bloquean la ruta del ácido araquidónico, por inhibición de la ciclooxigenasa y/o lipoxigenasa, o el impedimento de la formación del tromboxano y el antagonismo sobre su receptor; esta información concuerda con Triboli y cols[13]

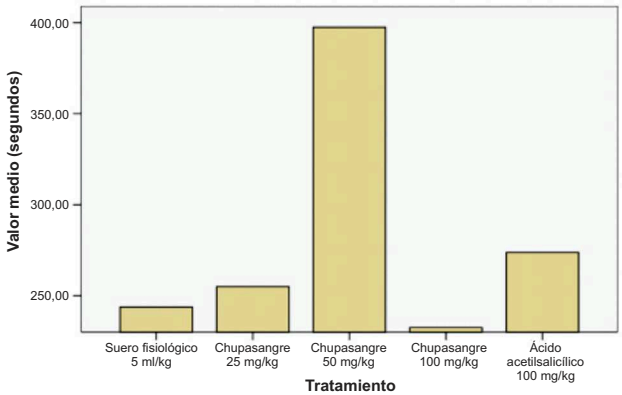


Figura 5. Efecto del extracto etanólico de las hojas de *Oenothera rosea* Aiton sobre el tiempo de coagulación.

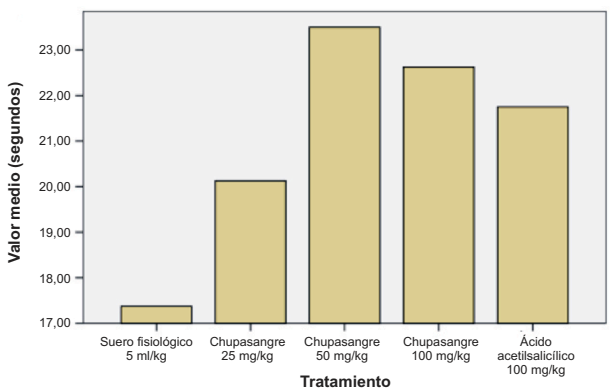


Figura 6. Efecto del extracto etanólico de las hojas de *Oenothera rosea* Aiton sobre el tiempo de protrombina.

CONCLUSIONES

- El estudio fitoquímico cualitativo del extracto etanólico de las hojas de *Oenothera rosea* Aiton (chupasangre) indica la presencia de flavonoides, taninos, alcaloides, quinonas y saponinas, entre los metabolitos más importantes. Se encontró flavonoides en una concentración de 58,25 mg por gramo de extracto; el principal flavonoide tiene una estrcutura general que responde a la estructura 4',5, 7- trihidroxiflavona, la cual parece ser la responsable de la actividad fibrinolítica *in vitro*.
- Se demostró el efecto antiagregante plaquetario *in vivo* del extracto etanólico de las hojas de *Oenothera rosea* Aiton (chupasangre) al haber diferencia significativa en 8 % ($p<0,000$) para la prueba de tiempo de protrombina y 45% para la prueba de tiempo de coagulación ($p<0,001$) comparado con la aspirina que fue usada como fármaco estándar.
- Se demostró el efecto fibrinolítico *in vitro* al lisar los coágulos formados en sangre de voluntarios sanos, con el extracto etanólico de *Oenothera rosea* Aiton, a la concentración de 5,8 mg/ml.

AGRADECIMIENTO

- Nuestro profundo agradecimiento al Dr. José Juárez Eyzaguirre, profesor de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM, por sus consejos, asesoría y orientación brindada.

BIBLIOGRAFÍA

1. Tanigushi S.; Imayoshi Y.; Yazaki K.; Yoshida T. Hydrolysable Tannin Production in Oenothera tetraptera Shoot Tissure Culture. *Plant Biotechnology* 2002: 19(5): 357-363.
2. Soria R. Estudio farmacobotánico de *Oenothera multicaulis* R&P. Tesis de Maestría en Recursos Vegetales y Terapéuticos - UNMSM, Lima, 1988.
3. Lock, O. Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de Productos Naturales. Primera edición. Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica. Lima.1994.
4. Gorriti, A.; Jurado, B.; Quispe, F. Manual de Laboratorio I y II. UNMSM. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Cátedra de Farmacognosia y Medicina Tradicional. Lima. 2004.
5. Cruz, S. Estudio Químico de Dioon Edule. 1984. Disponible en: http://148.206.53.231/UAM20875.PDF
6. Prasad S.; Kashyap R.; Deopujari J.; Purohit H.; Taori G.; Daginawalo H. Development of an *in vitro* model to study clot lysis activity of thrombolytic drugs. *Thrombosis Journal* 2006; 14(4): 1-4
7. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Actividad antiagregante plaquetario. CYTED, Santafé de Bogotá, 1995.
8. Gonzales J.; Lechuga A.; Serrano C. Estudio fitoquímico comparativo de *Oenothera rosea* y *Oenothera multicaulis* (Yawar chonq'a). *Rev. Situa* 2000; 9(17): 66-76.
9. Mabry T.; Markham K.; Thomas M. The Systematic Identification of Flavonoids. Berlin: Springer - Verlag; 1970.
10. Herrera L.; Marrero A. Estreptoquinasa: a propósito de un agente trombolítico patentado en Cuba. *Biotecnología Aplicada* 2005; 22(1):182-190.
11. García M.; Armenteros D.; Vilas M.; Coma C.; Hernández J.; Díaz A.; Fernández J. Plantas cítricas en el tratamiento de enfermedades vasculares. *Revista Cubana de Angiología y Cirugía vascular* 2002; 3(2): 39-46.
12. Álvarez E.; Orallo F. Actividad biológica de los flavonoides (II). Acción cardiovascular y sanguínea. OFFARM 2003; 22(11): 102-109.
13. Triboli D.; Valter G.; Naccari G. Combinación de catequina y la quercetina para su empleo farmacéutico o alimenticio. Madrid. Disponible en: http://www.espatentes.com/pdf/2238495_t3.pdf.

43º Congreso Mundial de Química de la IUPAC (30 de julio - 7 de agosto - 2011)

La realización del 43º Congreso Mundial de Química de la IUPAC tuvo ribetes particulares y únicos. Puerto Rico se convirtió en el primer lugar en Latino América en organizar esta magna reunión; así como también, la Asamblea General de la International Union of Pure & Applied Chemistry (IUPAC).

Se congregaron, en este evento, científicos, químicos y visitantes de todas partes del orbe con el tema del año: "Chemistry Bridging Innovation Among the Americas and the World"– IUPAC 2011 ("Química Puente de Innovación entre las Américas y el Mundo). Se incluyeron, plenarias, simposios, presentaciones, talleres, seminarios, cursos, reuniones de grupo y eventos científicos sobre el estado del arte.

El programa, desarrollado completamente en idioma inglés, desarrolló 36 simposia que cubrieron una amplia gama de temas, los que incluyeron: Fuentes de energía alternativas; Química y Medio Ambiente; Química de la Vida; Educación Química y Patrimonio; Química Industrial y Aplicada; Ciencias de los Materiales; Nanotecnología; Síntesis Química; Análisis Químico y de Imagen; y , Química Teórica, Física y Computacional.

Se contó, además, con la participación de siete Premios Nobel de Química:

? Dr. Aaron Ciechanover (2004) de Israel
? Dr. Richard R. Ernst (1991) de Suiza
? Dr. Robert Grubbs (2005) de EE.UU.
? Dr. Roald Hoffmann (1981) de EE.UU: (Universidad de Cornell)
? Dr. Mario J. Molina (1995) de EE.UU. (Universidad de California en San Diego y el único latinoamericano con un Premio Nobel en Química)
? Dr. Richard Schrock (2005) de EE.UU (Massachusetts Institute of Technology)
? Dra. Ada Yonath (2009) de Israel.

En el discurso de la sesión plenaria *Why Our Proteins Have to Die so We shall Live: The Ubiquitin Proteolytic System – From Basic Mechanism Thru Human Diseases and onto Drug Development,* el Dr. Aaron Ciechanover se refirió a la compleja cascada de la ubiquitina, involucrada en la degradación de las proteínas celulares a través de un proceso altamente complejo, controlado temporalmente y regulado de manera estrecha. Esta cascada juega un papel principal en una variedad de procesos celulares básicos, tales como el ciclo y la diferenciación celulares, la comunicación de la célula con el medio extracelular y el mantenimiento del control de la calidad celular. Señaló además que con la multitud de sustratos blanco y el sinfín de procesos involucrados. No es sorpresa que las aberraciones en esta vía hayan sido implicadas en la patogénesis de muchas enfermedades, ciertos cánceres y la neurodegeneración, entre otras; y, que el sistema haya devenido en una importante plataforma para la orientación del desarrollo de nuevos fármacos.

En el abordaje del tema *From Monsieur Fourier's Calculus to Medical Imaging: The Importance of the Fourier Transformation in Spectroscopy,* el Dr. Richard R. Ernst señaló la relevancia de la transformada de Fourier en la ciencia, su importancia fundamental para cualquier exploración experimental donde las relaciones insumo-producto están siendo

utilizadas. Los resultados experimentales, obtenidos en un experimento con dominio del tiempo, necesitan ser transformados a dominio de la frecuencia para su comprensión, y los datos de las investigaciones espaciales de impulso requieren una transformación al espacio geométrico para visualizar los resultados.

La transformada de Fourier se utiliza para pasar al dominio de la frecuencia una señal para así obtener información que no es evidente en el dominio temporal. Por ejemplo, es más fácil saber sobre qué ancho de banda se concentra la energía de una señal analizándola en el dominio de la frecuencia.

También sirve para resolver ecuaciones diferenciales con mayor facilidad y, por consiguiente, se usa para el diseño de controladores clásicos de sistemas realimentados si conocemos la densidad espectral de un sistema y la entrada podemos conocer la densidad espectral de la salida. Esto es muy útil para el diseño de filtros de radiotransistores.

La transformada de Fourier también se utiliza en el ámbito del tratamiento digital de imágenes, como por ejemplo para mejorar o definir más ciertas zonas de una imagen fotográfica o tomada con una computadora. Sin embargo, el primer uso práctico de la transformada de Fourier en la espectroscopìa tuvo lugar en la interferometrìa ´`óptica, empezando con las investigaciones de A.A. Michelson. Posteriormente, la resonancia magnética, especialmente la NMR, se benefició enormemente a partir de las aplicaciones de la transformada de Fourier. Los experimentos moleculares y de imágenes médicas, utiliznado los rayos X y la resonancia magnética están actualmente dentro de las aplicaciones más prominentes de la transformada de Fourier. Finalmente, el Dr. Ernst presentò una visión general de las excitantes posibilidades aplicativas de la transformada de Fourier.

La premio Nobel Ada Yonath expuso el tema *The Stunnin Ribosomal Architecture & Advanced Antibiotics Ribosomes*, iniciàndolo señalando la impresionante arquitectura ribosomal que hace que actúen como polimerasas muy eficientes que traducen el código genético en proteínas. Esta estructura supone además una movilidad inherente que facilita su buen rendimiento como las enzimas del RNA. El sitio de formación del enlace peptídico se localiza dentro de una región simétrica interna universal que conecta todas las funciones de control remoto ribosomal involucradas en sus funciones. La elaborada arquitectura de esta región posiciona a los sustratos ribosomales en estereoquímicas apropiadas para la formación de enlaces peptìdicos para la catálisis mediada por sustrato y para la translocación de sustratos. La alta conservación de esta región simétrica implica su existencia independientemente de las condiciones ambientales e indica que puede ser un remanente de una máquina RNA prebiótica que está funcionando aún en los ribosomas contemporáneas. Adyacente al sitio de formación del enlace peptídico se encuentra un túnel elongado, a lo largo del cual progresan las cadenas nacientes hasta que emergen fuera del ribosoma. Este túneless está involucrado en las funciones de señalización y entrada, provee del sitio de unión de la primera chaperona celular que encuentra la cadena naciente que emerge y alberga a una importante familia de antibióticos que actúan a nivel ribosomal. Los avances en la diferenciación entre los ribosomas de los patógenos y de los organismos superiores y en los mecanismos de resistencia a los antibióticos, incluyendo reordenamientos conformacionales secundarios ocasionados por mutaciones remotas; la resistencia cruzada a los antibióticos ribosomales. Así, se ha orientado el uso clínico de los antibióticos a blancos que sean regiones completamente conservadas, tales como el centro de la peptidil transferasa (PTC), habiéndose además caracterizado diferencias químicas pequeñas que pueden convertir la competencia en sinergismo. Así, la posibilidad de antibióticos avanzados eficientes y/o la mejora de los

compuestos existentes podrían ser evaluados, allanando el camino para el desarrollo interesante en esta área.

Al exponer el tema *All the ways to have a bond* el Dr. Roald Hoffman expresó el concepto de enlace químico, como esencial para la química, discutiendo algunos de los criterios experimentales frecuentes para juzgar la presencia y fuerza de un enlace: longitud, energía, constantes de fuerza, magnetismo, desdoblamientos de energía y otros criterios espectroscópicos. Asímismo, se refirió a los órdenes de enlace, los análisis de población, los puntos críticos del enlace y las funciones de localización de electrones. Consideró que cualquier definición rigurosa de enlace químico pudiera ser pobre y que un enlace será un enlace por algunos criterios pero no por otros, debiendo respetarse la tradición química y divertirse con la riqueza de la misma de algo que tal vez no pueda definirse con claridad.

En la conferencia *Chemistry and Climate Change*, el Dr. Mario Molina considerando al cambio climático como el reto ambiental más serio que enfrenta la sociedad en el siglo XXI, evidenciado por el creciente aumento de la temperatura terrestre y el incremento en la frecuencia de eventos climáticos extremos y reconociendo que hay muy poca duda de que las actividades humanas han modificado la composición de la atmósfera con el incremento en la concentración de gases invernadero tales como el dióxido de carbono, metano y óxido nitroso, significativamente desde tiempos pre-industriales, es muy probable que este cambio sea la causa del incremento de la temperatura. A pesar de esto, considera que urge la necesidad de que la comunidad científica mejore el modo en que la ciencia del cambio climático se comunica al público.

Durante el Congreso, el Dr. Richard R. Schrock expuso *The Unique Abilities of MAP Catalysts for Olefin Metathesis* indicando que la metátesis de las olefinas conserva su actualidad y redifinió cómo se harán en el futuro los dobles enlaces carbono-carbono.

Siendo el 2011, el Año Internacional y de Química y del Centenario del Premio Nobel de Química Marie Curie, el Congreso rindió un homenaje a tan noble científica y al papel de la mujer en la Química y la Ingeniería Química través de la realización del Festival de Química, Ceremonia de Premiación de ocho distinguidas mujeres en Química e Ingeniería Química en Puerto Rico, y ”Una historia de vida de Marie Curie” (ceremonia de premiación de veintitrés mujeres distinguidas en Química e Ingeniería Química.

La SQP y su delegación peruana integrada por cerca de 30 participantes intervinieron con trabajos de investigación presentados en exposiciones y en paneles, compartiendo e intercambiando conocimiento y renovando conjuntamente su amor por la química, a través del establecimiento de nuevos lazos con químicos, ingenieros químicos, farmacéuticos y otros profesionales relacionados con esta ciencia, procedentes de diferentes partes del mundo.

Finalmente, para los organizadores las expectativas se vieron colmadas con un impecable programa llevado a cabo, la asistencia de casi 3,000 personas ávidas de los últimos avances en la química tanto a nivel de la educación científica, la tecnología y la innovación; para los participantes, además de satisfacer las necesidades antes señaladas, significó un acercamiento a científicos de diversas regiones del mundo y un enriquecimiento con la cultura y hospitalidad portorriqueñas.

(Resumen, presentado por la Ing. Quím. Flor de María Sosa Masgo).

INFORMACIONES

de la Sociedad Química del Perú

FORO
"La Química, Sociedad y Desarrollo Sostenible"

Del 19 al 21 de octubre de 2011

Este Foro está organizado por la Sociedad Química del Perú con la colaboración del Comité de la Industria Química (de la Sociedad Nacional de Industrias), UNESCO, Academia Nacional de Ciencias, Colegio de Químicos del Perú y con el auspicio de varias Universidades, Colegios Profesionales, Autoridad Nacional del Agua, Cátedra de UNESCO de la Universidad Ramón Llull, Empresas, Bancos, los Ministerio de Educación, del Ambiente, de Energía y Minas y de la Producción.

El foro se organiza en el marco del Decenio de las Naciones Unidas de la Educación para el Desarrollo Sostenible (2005-2014) y de la celebración del "Año Internacional de la Química-2011", proclamado por las Naciones Unidas a, propuesta de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC), y en homenaje a María Sklodowska-Curie en el centenario de su premiación con el Nobel de Química (1911).

Está orientado a difundir entre el público en general, y muy especialmente entre jóvenes, la contribución de la química al desarrollo sostenible y al bienestar humano.

Comité organizador. Este Comité está presidido por la Dra. María Luisa Castro de Esparza y lo conforman los Doctores:

- Flor de María Sosa Masgo
- Malena de Silva
- Roger Guerra García
- Olga Lock Sing

***Comités técnicos y administrativos*:**

1. Química, salud de las personas y del ambiente	**3. Química, cambio climático y desarrollo sostenible**
Betty Chung Marco Ramírez María Quevedo Ana Ramos Angélica Rodríguez Ena Cárcamo María Luisa Castro	**Adrián Montalvo** Ada Barrenechea Malena Silva Rosalina Condemarín Marco Ramírez Juana Hidalgo María Luisa Castro
2. Química, cultura de calidad y eficiencia de los procesos	**4. Química, transmisión y generación del conocimiento**
Manuel Siña Malena Silva Rosalina Condemarín Jorge Villena Leonor Méndez Patricia Aguilar Fausto Roncal Ricardo Espinoza	**Lily Chang** Margarita Aurazo Rosario Pastor Olga Lock Mario Ceroni Rosa Miglio Nelson Tapia Neptalí Ale Borja

sigue ...

... viene

Raimundo Carranza María Luisa Castro	Ana María Osorio Leonor Méndez Juan Rodríguez Jorge Angulo Roberto Esparza Jhonny Marchand María Luisa Castro
Experimentos de Química para estudiantes	**Visitas técnicas**
Margarita Aurazo Lily Chang Rosario Pastor Juan Carlos Morales Roberto Esparza Leonor Mendez Laura Cortez María Luisa Castro	**Ada Barrenechea** Alfredo Barrantes Ricardo Espinosa Ana Ramos Alejandro Cori
Logística	**Financiamiento**
Jorge Villena Malena Silva Ada Barrenechea Betty Chung Rosalina Condemarín Marco Ramírez Flor de María Sosa Masgo Maria Luisa Castro	**Malena Silva** Flor de María Sosa Masgo Ada Barrenechea Juana Hidalgo Maria Luísa Castro Ana María Osorio

PROGRAMA TENTATIVO

HORA	TEMA
	Miércoles 19 de octubre
08:30 – 09:00	**Registro de participantes**
09:00 – 09:30	**Inauguración** Año Internacional de la Química y el Foro Carlos Herrera Descalzi / Ricardo Gisecke (a confirmar)
09:30 – 10:00	**Salud de las Personas** **Presentación 1.1.** La Química en los medicamentos y alimentos Amelia Villar, OPS/OMS
10:00 – 11:00	**Mesa Redonda 1.1** Medicamentos y alimentos
11:15 – 11:30	**Receso**
11:30 – 12:00	**Salud del Ambiente** **Presentación 1.2** Tóxicos ambientales Josino Moreira, Instituto FIOCRUZ (Brasil)

sigue ...

... viene

12:00 – 13:30	**Mesa Redonda 1.2** Tóxicos ambientales, agua y saneamiento
	Almuerzo
14:30 – 15:15	**Presentación 2** **Cultura de calidad y eco-eficiencia** Marcos Alegre
15:15 – 16:30:	**Mesa Redonda 2** Gestión de calidad y ecoeficiencia en la industria y el comercio
16:45 – 17:30	**Receso**
17:45 – 18:30	**Alegoría a María Curie** Lucía Pozzi Escott
11:00 – 17:00	**Sala paralela** Maquetas, pósters y demostraciones
18:00 – 19:00	**Pisco de honor**
Jueves 20 de octubre	
08:30 – 09:15	**Presentación 3** **Cambio climático y desarrollo sostenible** Nadia Gamboa
09:15 – 10: 15	**Mesa redonda 3** Ambiente, energía, cambio climático y desarrollo sostenible
10: 15 –10: 30	**Receso**
10:30 – 11:15	**Presentación 4.1.** **Sociedad del conocimiento** León Tratenberg
11:15 – 12:30	**Mesa redonda 4.1** Química y educación para el desarrollo
	Almuerzo
14:30 – 15:15	**Presentación 4.2** **Investigación, desarrollo e innovación** Roger Guerra García
15:15 – 16:30	**Mesa redonda 4.2** Investigación, desarrollo e innovación
16:30– 16:45	**Receso**
16:45 – 17:45	**Presentación final** **Reflexiones y futuro asociado al fortalecimiento de las Ciencias y Química en el Perú.** José María Bayona (España) a confirmar
18:00 – 19:00	**Clausura**

sigue ...

sigue ...

11:00 – 17:00	**Sala paralela** Demostraciones, maquetas y paneles
Viernes 21 de octubre	
8:00 – 19:30	**Visitas:** • SEDAPAL, Planta de Tratamiento de Agua • Alicorp ó Backus (SNI),Industrias con programas degestión de la calidad • SENASA, Laboratorio de alimentos y productos fitosanitarios • Instituto Peruano de Energía Nuclear IPEN, Reactor nuclear de potencia cero • Antamina, bosque ecológico en Huarmey

El foro tendrá lugar en el auditorio del Colegio Nacional Alfonso Ugarte, en Av. Paseo de la República 3530, San Isidro, Lima.

Inscripciones: Sociedad Química del Perú. E-mail: sqperu@gmail.com

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

Ciclo de Conferencias: "La Química en sus diversas aplicaciones"

- *Sección: Química Ambiental*
  "Mitigación del calentamiento global mediante la gestión responsable y sostenible de sustancias químicas", dictada por el Mg. Jorge Eduardo Loayza Pérez, Ingeniero Químico, profesor principal de la Facultad de Química e Ingeniería Química, Departamento Académico de Procesos de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el día jueves 09 de junio del 2011.

- *Sección: Química de Productos Naturales*
  "Desafíos y logros en la investigación de productos naturales", dictada por la Dra. Olga Lock de Ugaz, de la Pontificia Universidad Católica del Perú, Past Presidenta de la SQP, el día jueves 16 de junio del 2011.

- *Sección: Química Alimentaria*
  "Química e inocuidad de los alimentos: una relación amor/odio", dictada por el Dr. Fernando Quevedo Ganoza, profesor principal de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el día jueves el 23 de junio del 2011.

- *Sección: Bioquímica Molecular*
  "Genotipificación del virus de la hepatitis C", dictada por la Mg. Ana Hurtado Alendes, investigadora docente del Instituto de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de Porres, el día viernes 24 de junio del 2011.

- *Sección: Nanotecnología*
  "El aporte de la química en el desarrollo de la nanotecnología", dictada por la Ing. Ana María Osorio Anaya, docente de la Facultad de Química e Ingeniería Química de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el día jueves 30 de junio del 2011.

Otras Conferencias

- "El mundo de la química a través de la filatelia", dictada por el Dr. Daniel Rabinovich, profesor principal del Departamento de Química de la Universidad de Carolina del Norte en Charlotte, el día viernes 08 de julio del 2011.

- "Recubrimiento electrolítico en medio ácido de aleaciones en base a Zn, Ni y Co", dictada por el MSc. Warren Reátegui Romero, docente de la Universidad Nacional de Ingeniería, el día jueves 14 de julio del 2011.

- "Materiales con microestructura eutéctica como alternativa en la generación limpia de energía mediante pilas de combustible SOFC", dictada por el Dr. Luis Ortega San Martín, el día jueves 21 de julio del 2011.

Curso: "Gestión de calidad de laboratorios de ensayo según la norma ISO/IEC 17025"
Se dictó este curso con la finalidad de dar a conocer el entorno bajo el cual está instituida la acreditación de los laboratorios de ensayo y, con base en ello, comprender los objetivos que persigue la norma ISO/IEC 17025. Asimismo, se mostró la estructura de la norma y se

abordaron los requisitos de gestión y técnicos que la conforman, aplicados a la estructura organizacional típica de un laboratorio. El profesor del curso fue el Ing. Enrique Eduardo Cáceres Aguinaga (Ingeniero en Metalurgia y Materiales, de la Universidad de Lima), se llevó a cabo los días sábado 25 de junio, 2 y 9 de julio del 2011.

Encuentro Científico Internacional 2011 de invierno (ECI 2011i) "Neantro Saavedra Rivano"

El pasado miércoles 03 de agosto se llevó a cabo el Encuentro Científico Internacional 2011 de invierno (ECI 2011i) "Neantro Saavedra Rivano" en la Universidad Nacional de Ingeniería, Auditorio de la Facultad de Ingeniería Económica y Ciencias Sociales. La Sociedad Química, participó en la Sesión: "Año Internacional de la Química". Actuó en el cargo de Presidente de la sesión el Quím. Neptalí Ale Borja, quien también la clausuró. Las palabras de bienvenida estuvo a cargo de la Dra. Maria Luisa Castro de Esparza, en representación de la SQP quien, además, participó con la Conferencia: "La Química, La Protección Ambiental y el Desarrollo*".*

43º Congreso Mundial de Química de la IUPAC

Se llevó a cabo del 30 de julio al 7 de agosto del 2011 en San Juan, Puerto Rico. Asistieron a este evento: Ing. Flor de María Sosa Masgo (Presidente SQP), Dra. Olga Lock Sing (Past President), Dr. Juan José León Cam ((Past President), Dr. Mario Ceroni Galloso (Director de la Revista), Dra. Ana María Muñoz Jáuregui (Presidenta de la Comisión de Actuaciones Científicas), Ing. Ana María Osorio Anaya (Tesorera) de la SQP. La delegación peruana estuvo conformada por 23 profesionales de la química. Cabe resaltar el merecido reconocimiento a los organizadores del evento. Participaron 7 reconocidos Premios Nobel de la Química: Aaron Ciechanover (2004); Richard R. Ernst (1991); Robert H. Grubbs (2005); Roald Hoffmann (1981); Mario J. Molina (1995), Richard R. Schrock (2005) y Ada E. Yonath (2009). Puerto Rico, llamada **"La Isla del Encanto", nos acogió en todo su esplendor.**

Sensible pérdida:

Con profundo pesar comunicamos el fallecimiento de la socia:

- Químico Elvira Salazar de Puertas

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

Semblanza del maestro Q.F. Dr. José Cirilo Mondragón Romero

(Marzo 20, 1926 – Agosto 9, 2010)

A un año desde su partida a la eternidad, seguimos recordando a quien fuera un gran maestro de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, José Cirilo Mondragón Romero. Nació en Huacho, siendo el menor de tres hermanos. Hizo los estudios primarios en su ciudad natal, en el colegio Nuestra Señora de la Merced. Estudió la secundaria en Lima, en el Colegio Superior. Fue siempre un estudiante modelo, orgullo de sus profesores.

A los 18 años ingresa a San Marcos, siendo nombrado alumno- asistente en el tercer año, en la cátedra de Química Farmacéutica Inorgánica. En 1949 presta juramento de ley como Químico Farmacéutico. Unos años más tarde obtiene el grado de Doctor en Farmacia y Bioquímica.

A poco de iniciarse en su trabajo profesional viaja a los EEUU de Norteamérica, visitando diversos laboratorios farmacéuticos, especializándose en las áreas de gestión y administración de la producción industrial de medicamentos.

En el Perú trabaja en diferentes laboratorios: Abeefe, Wyeth, Pfizer, Chermond, Omega Distribuidora SA, ABL Pharma International, V.W.Peruana, Cofana, Andrómaco, iniciador de la producción de Laboratorios Wyeth, Anakol y Pfizer, participando en la producción, formulación y distribución de productos farmacéuticos, cosméticos, y otros, de uso en el hogar. En 1983 es nombrado Director Técnico de los Laboratorios Wyeth.

Su actividad docente la desarrolla en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, en las Facultades de Farmacia y Bioquímica, Medicina Humana y Medicina Veterinaria. En la Facultad de Farmacia y Bioquímica, contribuye a impulsar la Escuela de Post-grado. Es nombrado Profesor Principal en 1989.

El Dr. Mondragón perteneció a diferentes asociaciones científicas: Federación Nacional de Químicos Farmacéuticos del Perú, Asociación de Químicos Farmacéuticos Laboratoristas de la Industria Nacional, Sociedad Química del Perú, Académico de Número de la Academia Peruana de Doctores en Farmacia. Fue también socio de la American Chemical Society.

Es autor de numerosos trabajos científicos en síntesis orgánica, microsíntesis, microanálisis orgánico y otros. En 1972 obtuvo el Premio del Instituto Hipólito Unanue por su trabajo "Síntesis y análisis de Fenotiazimil-derivados".

Como docente y activo investigador trataba de mantenerse al día sobre los diferentes temas de su especialidad, participando en muchas empresas y otros eventos sobre Farmacia y Química.

Contrajo matrimonio con Marta Hernández Lengua, natural de Ica. De este feliz matrimonio nacieron tres 3 hijos: Margarita, Lucía y José Víctor. De ellos, Lucía, siguió los pasos de su padre, en la especialidad de Química. El Dr. Mondragón supo mantener su familia basada en sólidos valores humanos y cristianos. Fue un miembro activo del Consorcio Católico de Químicos Farmacéuticos del Perú.

Invitado por muchas promociones a la celebración de sus bodas de plata y de oro, para dictar la Clase Magistral, comentaba sobre sus investigaciones y otros temas de interés para la profesión.

Tras una corta enfermedad, el Dr. José Cirilo Mondragón Romero durmió en la paz del Señor el 9 de agosto del 2010, a los 84 años de edad.

Quienes tuvimos la dicha de conocerlo, lo recordaremos por sus enseñanzas, su don de gente y caballerosidad, su espíritu altruista y cristiano.

(por Juan Manuel Parreño Tipian, Q.F.)

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"

FORO:

QUÍMICA, SOCIEDAD Y DESARROLLO SOSTENIBLE

Del 19 al 21 de octubre de 2011

QUÍMICA DE LA VIDA y DEL FUTURO

- **Química, salud de las personas y salud ambiental**
- **Química, cultura de calidad y ecoeficiencia**
- **Química, cambio climático y desarrollo sostenible**
- **Química y la sociedad del conocimiento**

Alegoría a María Curie
Reflexiones sobre el fortalecimiento de la Química en el país
Actividades demostrativas
Visitas técnicas

Sede: Auditorio del Colegio Nacional Alfonso Ugarte
(Av. Paseo de la República 3530, San Isidro - Lima)

INSCRIPCIONES Y CONSULTAS

Sociedad Química del Perú
Teléfono: 472-3925 e-mail: sqperu@gmail.com
Atención: Julissa Gonzales, Gladys Torres.

Comité de la Industria Química - Sociedad Nacional de Industrias
Teléfonos: 441-2772 / 616-4444 Anexos: 138-139 e-mail: comquimicos@sni.org.pe
Atención: María del Pilar Morales.

INSCRIPCIÓN GRATUITA / VACANTES LIMITADAS

ORGANIZAN:

Sociedad Química del Perú
Comité de la Industria Química - Sociedad Nacional de Industrias

COLABORAN:

Colegio de Químicos del Perú 1972
UNESCO - Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura
Universidad Ramon Llull - Cátedra UNESCO de Educación, Desarrollo y Tecnología
aecid - Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo

www.quimicasociedadydesarrollo.org.pe