

ISSN 1810-634X

# REVISTA de la SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ

REVISTA TRIMESTRAL

VOLUMEN 84 N° 4  
OCTUBRE - DICIEMBRE 2018



INSTITUCIÓN CIENTÍFICA FUNDADA EN 1933

LIMA, PERÚ



**SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ**  
**CONSEJO DIRECTIVO**  
**(marzo 2018 – marzo 2020)**

<b>Presidente</b>	: MSc. Graciela Untiveros Bermúdez
<b>Vice-Presidente</b>	: Mg. Helmer Helí Lezama Vigo
<b>Tesorero</b>	: Dr. Juan Manuel Parreño Tipián
<b>Secretaria</b>	: Quím. Claudia Cecilia Villanueva Huerta
<b>Director Administrativo</b>	: Mg. Neptalí Ale Borja
<b>Director Biblioteca</b>	: Mg. Julio Reynaldo Ruiz Quiroz
<b>Vocales</b>	: Ing. Richard Hernández Morán MSc. Christian Jacinto Hernández Mg. Lía Elis Concepción Gamarra Lic. Norma Cuizano Vargas Q.F. Mario Bolarte Arteaga Ing. Quím. Hernán Zapata Gamarra

**Comisión de Economía y Finanzas**

Presidenta: Ing. Quím. Flor de María Sosa Masgo

**Comisión de Publicaciones**

Presidenta: Dra. Ana Cecilia Valderrama Negrón

**Comisión de Actuaciones Científicas**

Presidenta: MSc. Luz Castañeda Pérez

**INSTITUCIONES Y EMPRESAS PROTECTORAS DE LA  
SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ**

**UNIÓN DE CERVECERÍAS BACKUS Y JHONSTON S.A.A.  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA – UNMSM**



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

**(Rev Soc Quím Perú)**

**ISSN 1810 – 634X**

**Revista Trimestral**

**Comité Editor**

**Editor en Jefe** : Ana Cecilia Valderrama Negrón

**Miembros** : Julio Santiago Contreras

Lisveth Flores Del Pino

Julio Reynaldo Ruiz Quiroz

**Comité Consultivo**

Alarcón Cavero, Hugo

**Univ. Nac. de Ingeniería, Perú**

Caramatin Soriano, María

**Universidad de Talca, Chile**

Dávalos Prado, Juan

**Consejo Superior de Investigaciones**

**Científicas de España**

Calvo Buendía, Eduardo

**Univ. Nac. Mayor de San Marcos – Perú**

De La Cruz Azabache, Mario

**Univ. Nac. de Ingeniería, Perú**

Gamboa Fuentes, Nadia

**Pontificia Universidad Católica del Perú**

Guija Poma, Emilio

**Universidad Científica del Sur – Perú**

Lock Sing, Olga

**Pontificia Universidad Católica del Perú**

Lon Kan Prado, Elena

**Universidad Le Cordon Bleu**

Muñoz Jáuregui, Ana

**Universidad San Ignacio de Loyola**

Picasso Escobar, Gino

**Univ. Nac. de Ingeniería, Perú**

Rabinovich Jaitin, Daniel

**University of North Carolina, USA**

Rueda Sánchez, Juan Carlos

**Pontificia Universidad Católica del Perú**

Sun Kou, María del Rosario

**Dpto. Ciencias, Sec. Química PUCP**

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

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

Casilla Postal 14-0576 – Lima 14 Perú

Teléfono (511) 472-3925

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

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

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

**Certificado N° 95-1567**

---

**Vol 84**

**OCTUBRE - DICIEMBRE 2018**

**N° 4**

En el Perú: N° suelto S/.15

Suscripción anual: S/. 60.00

En el extranjero: Suscripción anual: \$50.00



**CONTENIDO**  
**(Vol. 84 – Nº 4 – 2018)**

<b>Editorial</b> .....	409
<b>In Memoriam</b> .....	413
<b>Trabajos Originales</b>	
- Evaluación de las características del destilado alcohólico de Anís Verde ( <i>Pimpinella anisum</i> L.) obtenido por destilación simple, por Clesez Tunqui Quispe, Alexia Pardo Figueroa Dianderas, Gustavo Tejada Flores, Ivette del Rosario Cjuro Farfán	415
- Xanthones from <i>Hypericum laricifolium</i> Juss., and their antiproliferative activity against Hep3B cells, por Marlon Miguel Morales Moisea, Orianne Brel, Geneviève Bourdy, Mercedes Gonzales de La Cruz, Inés Yolanda Castro Dionicio, Maelle Carraz, Valérie Jullian	428
- Estudio de la actividad antimicrobiana de la cuprita sintetizada por ruta química, por Orfelinda Avalo Cortez, David Pedro Martínez Aguilar.	436
- Aplicación de Tecnología Analítica de Proceso (PAT) para controlar atributos de calidad críticos utilizando la espectroscopia NIR en un proceso de fabricación de un polvo para suspensión, por Ruben Cueva Mestanza.	451
- Evaluación de dos atributos de calidad críticos en la producción de formas farmacéuticas sólidas utilizando la espectroscopia de infrarrojo cercano, por Ruben Cueva Mestanza.	465
- Evaluación de Ocratoxina A en <i>Theobroma cacao</i> L. “cacao trinitario”, por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) y análisis micotoxigénico durante el proceso de cosecha, fermentado, secado y almacenado, por Norma Ramos, Américo Castro, Miguel Felix, Felix Milla, Raúl Soria, Mario Alcarraz, Donald Ramos, Fritz Choquesillo, Otilia Acha de la Cruz, Jesús Blanca, Nadia Rodríguez, Diego Valdivieso.	471
- Composición nutricional de la alga roja <i>Rodhymenia howeana</i> de la bahía de Ancón, Perú, por Naddia Carolina Rojas Vega, Rubén Valdivieso Izquierdo, Inés Arnao Salas.	488
- Aplicación del nanocomposito arcilla-carboximetilquitosano-nanopartículas de plata en filtros para el tratamiento de aguas de consumo de zonas rurales de Camaná - Arequipa, por María Elena Talavera Núñez, Irene Zea Apaza, Corina Vera Gonzales, Julia Zea Álvarez, Luis Rodrigo Benavente Talavera.	499
- Esteroles presente en el extracto apolar de las raíces de ajo sacha <i>Mansoa alliacea</i> , por Jenny E. Grovas Llamocca, Elena a. Cándor Cuyubamba, Ingrid E. Collantes Díaz, Víctor M. Ryna Pinedo.	513

- Síntesis de catalizadores Ru-Ni soportados en  $\gamma$ -  $\text{Al}_2\text{O}_3$  para la hidrogenación de palmitato de metilo derivado del aceite de palma y conversión a alcohol cetílico, por Miguel Rojas, Harlich Castañeda, José Luis Cconislla, Enrique Neira, Rosario Sun Kou, Gino Picasso. 522

**Informaciones** 542

**Índice de materias** 536

**Índice de autores** 538

---

**Revista Arbitrada**

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

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





## INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

If the authors reside abroad US \$ 110,00

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

## Formato para los artículos

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

1. El texto completo, debe ser escrito en formato Microsoft Word, tamaño de página A4. Márgenes; izquierdo 3 cm, derecho 3 cm, superior 3 cm, inferior 3cm. Espacio 1½, fuente Times New Roman, estilo de fuente regular (salvo indicación contraria), color de fuente negro (texto y gráficos) y tamaño de fuente 12. Se imprimirá de manera vertical. Todo el texto, excepto el título, debe estar alineado a la derecha y a la izquierda (usar la opción “justificar”). Los decimales deben llevar coma.
2. Los idiomas de publicación son español e inglés.
3. El título del trabajo, que debe ser **breve y claro**, en español y en inglés (este último antes del abstract) se escribe con tamaño de fuente 16, centrado y en negritas. Los nombres completos de los autores aparecerán a continuación con tamaño de fuente 12, el autor corresponsal se identificará con un asterisco. Las instituciones de la cual proceden los autores se escriben con tamaño de fuente 10 e irán a pie de página, donde también sólo el autor corresponsal colocará su correo electrónico después de la dirección postal completa de su institución.
4. Se presentarán dos resúmenes, uno en español y otro en inglés (Abstract), con una extensión aproximada entre 50 y 200 palabras. Las palabras Resumen y Abstract se escriben con tamaño de fuente 14, centrado y en negrita. Además, después del Resumen se deberá incluir entre 3 y 6 palabras clave, en español. Tanto Palabras clave como Key words se escriben a la izquierda del texto, con tamaño de fuente 12 y en negrita.).
5. Deberá respetarse las normas internacionales referentes a la nomenclatura, símbolos y sistemas de medida. Los nombres científicos de género y especie van en cursiva (itálica).
6. El caso de artículos originales y comunicaciones cortas, el texto debe contener las siguientes secciones: Introducción, Parte Experimental, Resultados y Discusión, Conclusiones, Agradecimientos, Referencias. Éstas se escriben con tamaño de fuente 14, en negritas y centradas. Las cartas al editor, artículos de revisión, enseñanza de la química y notas informativas, tendrán las secciones que el autor crea más conveniente.
7. Las tablas, figuras y esquemas, que no deben ser mayores que una página A4, tienen numeración arábica seguido de punto. A continuación se coloca la leyenda que explique su significado. La numeración y leyenda en una tabla, cuyo formato debe ser básico 1, se colocan en la parte superior a diferencia de las figuras y los esquemas que se ubican en la parte inferior. Las figuras deben ser originales y de alta resolución.
8. Las tablas, fotos, figuras y esquemas deben estar incluidos en el documento de Microsoft Word.
9. Las referencias, se citan en el texto correlativamente como superíndice. El número de estas referencias no debe ser excesivo. Deberían fluctuar entre 7 y 15. La sección Referencias se escribe con tamaño de fuente 14, centrado y en **negrita**. Las abreviaturas de la revistas se escribirán según el Chemical Abstracts Service Source Index (<http://www.cas.org/sent.html>) y *List of Journals Indexed in Index Medicus*, (<http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lsiou.html>) Las referencias citadas se escribirán con el tamaño de fuente 10 y se seguirá el estilo de Vancouver.



## Editorial

En el pasado mes de julio de 2017 fui invitada por el Consejo Directivo de la SQP para presidir el Comité Organizador del “Congreso Iberoamericano de Química: 85 años de la Sociedad Química del Perú” y “XXIX Congreso Peruano de Química”, designación que me ha permitido, una vez más, contribuir a promocionar la ciencia química no solo en nuestro país sino en países vecinos.

Para cumplir el objetivo de organizar los eventos mencionados, en primer lugar, me permití convocar a un grupo de colegas, especialmente docentes universitarios, para conformar el Comité Organizador, quienes también muy gustosamente aceptaron el reto de cumplir ciertas funciones y dedicar el mayor de los esfuerzos en esta ardua tarea. Y, es así que durante 15 meses, desde julio 2017 hasta la fecha del evento, 16 al 19 de octubre 2018, hemos coordinado acciones a través de sesiones mensuales y comunicaciones frecuentes a través de correos electrónicos y de comunicaciones por whatsapps.

Desde esta primeras reuniones y comunicaciones se fue estableciendo la relación de conferencistas a ser invitados en los diferentes temas de la química y su posible participación, logrando el apoyo de sus propias instituciones en solventar sus pasajes aéreos y, en algunos casos, inclusive, su propio alojamiento en la ciudad de Lima, entre otras facilidades que lograron cada uno de ellos, por lo cual estamos bastante agradecidos a los 25 conferencistas de diversos países que finalmente aceptaron colaborar ofreciéndonos ya sea conferencias plenarias, conferencias temáticas, dictar cursos y/o participar además en los simposios y hasta inclusive lograr acuerdos de colaboración con alguna de nuestras universidades.

En el mes de diciembre se contó con un apoyo para el diseño de la página web específica para difundir el evento y así se inicia la difusión a través de la misma invitando a la inscripción en línea, así como el envío de los resúmenes de trabajo en un formato especialmente diseñado para ello y en las diversas áreas temáticas que comprendía el evento. Igualmente, en esa página web se inicia la presentación de los primeros invitados a través de sus CV.

Paralelamente, se fueron gestionando los diferentes auspicios académicos en universidades que forman profesionales químicos, ingenieros químicos y químicos farmacéuticos, así como los auspicios institucionales de los respectivos colegios profesionales y de otras organizaciones ligadas al sector químico. Por gestiones personales se logró que IUPAC, a través de un programa de apoyo a países emergentes, destinara una subvención de 500 dólares USA para seis jóvenes científicos y otra subvención para que un representante de ellos estuviera presente en nuestras actividades e informara sobre las actividades de IUPAC, especialmente la que se desarrollará en el mes de julio del 2019 en el que la IUPAC cumple 100 años de su creación y los 150 años de la Tabla Periódica, así como de otras diversas convocatorias. Igualmente, por gestiones personales y directas ante la ACS, se logró una subvención para convocar al Premio “Ernest E. Eliel” y la inscripción de alrededor de 10 estudiantes de pre y posgrado.

Las diferentes direcciones de conferencias, simposios, mesas redondas y cursos, una vez definidos las diferentes temáticas, fueron contactando a los posibles participantes en las diferentes actividades. Igualmente, la Dirección de QUIMITEC 2018, haciendo contactos con las diferentes empresas comercializadoras de equipos, materiales y reactivos, logró contar finalmente con 10 empresas expositoras.

La convocatoria para el Concurso La Química y Yo se inició aproximadamente en el mes de junio, cerrando la recepción casi a fines de setiembre, afortunadamente hubo receptividad en las diferentes categorías (kids, junior y senior) y los ganadores fueron premiados en la ceremonia de clausura, habiéndose colocado en el Calendario 2019 los trabajos ganadores. Es un concurso que en su segunda convocatoria nos hace pensar que es un modo de atraer la atención de las personas de diferentes edades e intereses, pues no se necesita ser un profesional relacionado a la química para ser concursante.

En el mes de junio CONCYTEC-FONDECYT lanzaron una convocatoria para la subvención de organización de eventos a la cual postulamos e hicimos entrega, el día 14 de julio, de una propuesta en el formato dispuesto por las entidades convocantes, propuesta que fue trabajada entre la Presidencia y el Dr. Mario Ceroni en su condición de Director Científico y con el apoyo permanente de nuestra secretaria, señorita Mercedes Camacho. Como es de vuestro conocimiento, esta subvención fue aprobada casi en la tercera semana del mes de setiembre y la subvención ingresada a la SQP el día 6 de noviembre.

En meses más cercanos a la realización de nuestro evento, algunas Direcciones, por la naturaleza de sus funciones, adquieren mayores responsabilidades, no queriendo decir que en meses anteriores no lo tuvieron como tampoco significa que las Direcciones que realizaron los trabajos previos no tuvieron que estar presente a lo largo de estos 15 meses y durante el desarrollo mismo del evento. Haciendo esta salvedad, debemos señalar que las distintas Direcciones, como la de Actividades Científicas continuó con la evaluación de los trabajos y la exhibición de los pósteres, así como la selección de los ganadores en las diferentes convocatorias; la de Publicaciones con la elaboración del CD conteniendo los resúmenes de los trabajos; la de Relaciones Públicas y Protocolo con la atención a los conferencistas desde su llegada a Lima, así como la atención de los refrigerios y almuerzos; la Vicepresidencia y la Dirección de Organización y Administración con el apoyo del personal especialmente nombrado y entrenado para la atención en sus lugares y en donde fuera necesario y, finalmente, pero no menos importante, la Tesorería, la Secretaría y el personal administrativo, que tuvieron a su cargo las inscripciones y regularización de las mismas, trabajaron desde muy tempranas horas en esos días y, a mi entender, aún siguen completando este trabajo que al parecer nunca tiene fin.

Todos estuvimos presentes, vigilantes que el evento se desarrollara sin incidentes negativos, que la programación se llevara a cabo lo más estrictamente posible, que los participantes se sintieran cómodos y atendidos en sus necesidades. Esta, nuestra actitud, ha generado que la encuesta de satisfacción a 100 participantes nos haya otorgado una calificación positiva.

En la Sección Nota Informativa de este número se detallarán las actividades académicas realizadas, la relación de conferencistas extranjeros así como nacionales, la relación de simposios, mesas redondas, cursos, de expositores QUIMITEC, la relación de ganadores de las subvenciones IUPAC, ganadores Premios Eliel, ganadores Concurso La Química y Yo, la relación de auspiciadores académicos e institucionales y patrocinadores, resumen de las encuestas de satisfacción, entre otros. Nuestro agradecimiento a todos ellos por su participación.

Reitero mi agradecimiento al Consejo Directivo de la Sociedad Química del Perú así como a los miembros del Comité Organizador: Profesores Neptalí Ale (Vicepresidente), Claudia Villanueva (Secretaria Ejecutiva), Juan Manuel Parreño Tipian (Tesorero), Mario Ceroni Galloso/Ana Valderrama Negrón (Directores del Comité Científico), Margot Bravo Ayala/Elizabeth Deza Marti (Directores de Conferencias), María Quintana Cáceda (Directora de Simposios), Luz G. Castañeda Pérez (Directora de Mesas Redondas), Norma Amparo Cuizano Vargas (Directora de Cursos), Flor de María Sosa Masgo/Nora Herrera Hernández (Directoras de RR.PP y Protocolo), Patricio Muñoz Huillca (Director de Publicaciones), Helmer Helí Lezama Vigo/Rodolfo Pumachagua Huertas (Directores Administrativo y de Organización), Dora Inés Delmás Robles/ María Angélica Rodríguez (Directoras de Quimitec' 2018), Graciela Untiveros Bermúdez (Directora de Quimifest), Myra E. Flores Flores (Directora de La Química y Yo), Cinthia Maldonado Rafael/Juan Carlos Rodríguez/ Lucy Coria Oriundo (Comité de Difusión).

Sumo a ellos el agradecimiento muy especial al Comité Evaluador, al Comité de Apoyo, al Coro y al Grupo Folclórico de la UNMSM; y a quienes engalanaron nuestra Mesa de Honor durante la Ceremonia de Inauguración, la Doctora Fabiola León Velarde, Presidenta del Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica CONCYTEC; Dr. Benjamín Marticorena, ex Presidente de CONCYTEC; Dr. Marcial Torres Caballero, Decano del Colegio Químico Farmacéutico del Perú; Dr. Javier García Martínez, Universidad de Alicante, España - IUPAC, y MSc. Graciela Untiveros B., Presidenta de la SQP y durante la Ceremonia de Clausura al Dr. Bernabé Rivas Quiroz, Presidente Honorario de la Federación Latinoamericana de Asociaciones Químicas- FLAQ.

*Dra. Olga Lock  
Presidenta del Comité Organizador CibQ*





## IN MEMORIAM

### DOCTOR FERNANDO GILBERT QUEVEDO GANOZA

Muchas veces hemos escuchado que un Amigo y Maestro, es un hermano que el destino nos dio la oportunidad de conocer, tratar y conservarlos por siempre; por eso empiezo esta semblanza diciendo que si el destino nos hubiera dado la oportunidad de escoger, nos habríamos considerado privilegiados, por haber tenido y tener amigos, como el Maestro y Amigo Fernando Gilbert Quevedo Ganoza.

Los directivos de nuestra Sociedad Química del Perú me piden escribir unas palabras de despedida para el Maestro; pero, para mí, es algo imposible de decirlo, pero aún más imposible rehusarme, porque no siento la necesidad de despedir a quien tanto nos dio de su sapiencia y de su experiencia de vida. El haberlo conocido desde mis primeros años de estudiante en nuestra gloriosa Facultad de Farmacia y Bioquímica-UNMSM y luego haber sido convocado por él, varias décadas más tarde, para acompañarlo en la tarea de re-impulsar esta facultad, generaron -como ocurrió con muchos- sentimientos de gratitud para quien consideramos un hombre cabal y admirable. Estas líneas están escritas llenas de sentimientos encontrados, ya que debo referirme a la partida hacia la eternidad de este gran Maestro y Amigo, pero a la vez tengo el honor de referirme a él en momentos en que ya no lo tenemos presente; por eso, se asocia un sentimiento de melancolía y añoranzas de los tiempos que pudimos disfrutar de su compañía, amistad y conocimiento. Hablar o escribir del Maestro Fernando Gilbert Quevedo Ganoza, es un honor que quizás pocos podemos asumir; pero también debo mencionar que resulta difícil seleccionar solo algunos aspectos de su vida profesional, porque todos los considero importantes, pero que tal vez, esta selección, pudiera dejar de lado muchos otros, que son igualmente importantes, y hay mentes y plumas con mayor autoridad que yo para hacerlo. Por eso, lo que a continuación se escriba, son aspectos y sentimientos que nacen del sentimiento profundo de un alumno a su maestro.

Pocos hombres en la profesión Farmacéutica han sabido darle lustre a esta ciencia y hacerla grande, porque la sabiduría del Maestro Quevedo sobrepasó los límites de nuestras fronteras, presentándose ante muchos e importantes Foros mundiales con la firmeza de sus conocimientos, generados por tantas y tantas investigaciones.

Esto no podemos decir que solo se forjó en su vida profesional, ya que desde sus años escolares fue un destacado estudiante, llegando a ser primer alumno de su Promoción (1951) en el tradicional Colegio Guadalupe; también lo alcanzó en su vida universitaria y en su formación posterior, en universidades del Perú y del extranjero. Esto le permitió llegar a ser convocado por organismos internacionales vinculados a la Salud: Organización Mundial de la Salud, Organización Panamericana de la Salud y también por la Organización Mundial del Comercio, etc., donde su desempeño en el área de los alimentos -su gran dedicación- desde donde logró hacer importantes aportes que los plasmó en una serie de obras de alcance mundial.

Supo brindar amistad con valor sincero, así como también supo respetar la amistad; por eso no pretendo que esta semblanza represente una despedida, porque en nuestros corazones no considero que haya espacio para despedir a quien nos brindó tanto; esto es apenas un pequeño testimonio personal y afectivo que nos haga reflexionar desde nuestra perspectiva lo que el destino ha querido privarnos de la presencia del Maestro y Amigo, pero nos quedan sus marcas y recuerdos.

Quisiera cerrar estas líneas parafraseando un texto anónimo, que dice: “Hay momentos en que no alcanzan las palabras para expresar nuestra angustia; pero nos quedan los recuerdos del Maestro incansable, del amigo entrañable, al que sabía escuchar y con pocas palabras reflexionar y dar un consejo sabio”.

Maestro y Amigo; Fernando Quevedo Ganoza, queda en nuestro corazón, en el lugar donde nuestros buenos recuerdos harán que no te olvidemos. Siempre has estado cerca nuestro y allí te quedarás.

*Dr. José R. Juárez Eyzaguirre*  
*Past Presidente*

## EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL DESTILADO ALCOHÓLICO DE ANÍS VERDE (*Pimpinella anisum* L.) OBTENIDO POR DESTILACIÓN SIMPLE

Clesez Tunqui Quispe<sup>a</sup>, Alexia Pardo Figueroa Dianderas<sup>b</sup>, Gustavo Tejada Flores<sup>b</sup>,  
Ivette del Rosario Cjuro Farfán<sup>c</sup>

### RESUMEN

En el presente trabajo de investigación fueron evaluadas las propiedades cualitativas, físicas y químicas del destilado alcohólico de anís (*Pimpinella anisum* L.) obtenido por destilación simple. Por análisis fisicoquímico se obtuvo un grado alcohólico de 60 a 61,9 °G.L., densidad de 0,907 a 0,911 g/mL, índice de refracción de 1,3622, punto de congelación menor a -10 °C, punto de ebullición de 85 a 87 °C, acidez de 5,138 mg/100 mL y 27,05 % de contenido de ésteres. En las pruebas espectroscópicas se determinó que el destilado tiene 1,371 mg/L de *trans*-anetol y 4,397 mg/L de *p*-anisaldehído. Según los análisis de cromatografía en capa fina, en donde se usó como fase móvil tolueno:acetato de etilo (93:7) y como fase estacionaria cromatoplasmas de Silicagel 60 F<sub>254</sub>, se reportó una Rf. para las fases móviles de 0,86 y 0,48, lo que indica la presencia elevada de *trans*-anetol; no se detectó la presencia de *p*-anisaldehído. En las pruebas de HPLC se comprobó la presencia de *trans*-anetol en un 0,1104% y la ausencia de *p*-anisaldehído. Finalmente, se detectó la presencia de cuatro componentes a través de las pruebas de GC-MS: *trans*-anetol como compuesto mayoritario (92,7 %), 1,4-metanocicloocta[d]piridacina (3,2 %), estragol (2,08 %) y ácido ftálico, di-(1-hexen-5-il) éster (2,02 %). Estos datos permitirán, en un futuro, analizar las propiedades del destilado de anís para mejorar la calidad de las bebidas alcohólicas que se producen a base de él en la industria licorera donde se realizó el trabajo.

**Palabras clave:** anís verde (*P. anisum* L.), destilado alcohólico, destilación simple, *trans*-anetol.

### ABSTRACT

The article reports the assessment of qualitative, physical and chemical properties of the alcohol distillate of anise (*Pimpinella anisum* L.) obtained by simple distillation. By physical-chemical analysis an alcoholic grade of 60 to 61.9 ° G.L was obtained, density from 0.907 to 0.911 g/mL, refractive index of 1.3622, freezing point lower than -10°C, boiling point of 85 at 87 °C, acidity of 5,138 mg/100 mL and 27.05 % ester content. In the spectroscopic

<sup>a</sup> Facultad de Química, Universidad Nacional de San Agustín, Calle Santa Catalina N° 117, Arequipa, Perú, cleseztq1402@gmail.com

<sup>b</sup> Facultad de Ingeniería y Computación, Universidad Católica San Pablo, Quinta Vivanco S/N Urb. Campiña Paisajista, Arequipa, Perú.

<sup>c</sup> Facultad de Ingeniería de Procesos, Nacional de San Agustín, Calle Santa Catalina N° 117, Arequipa, Perú.

tests it was determined that the distillate has 1,371 mg/L of trans-anethole and 4,397 mg/L of p-anisaldehyde. According to thin layer chromatography analysis, where toluene:ethyl acetate (93: 7) was used as a mobile phase and silica gel 60 F<sub>254</sub> chromate plates as a stationary phase, an Rf of 0.86 and 0.48 was reported for the mobile phases, which indicates the high presence of trans-anethole; the p-anisaldehyde was not detected. In the HPLC tests the presence of trans-anethole in 0.1104 % and the absence of p-anisaldehyde were checked. Finally, the presence of four (04) components was detected through the GC-MS tests: *trans*-anethole as the major compound (92.7 %), 1,4-methanocycloocta [d] pyridazine (3.2 %), estragole (2.08 %) and phthalic acid, di- (1-hexen-5-yl) ester (2.02 %). These data will allow, in the future, to analyze the anise distillate properties to improve the quality of the alcoholic beverages which are produced base on it in the liquor industry where this work was carried out.

**Key words:** green anise (*P. anisum* L.), alcoholic distillate, simple distillation, *trans*-anethole.

## INTRODUCCIÓN

Las plantas hacen posible la vida del organismo animal y condicionan su estado de salud mediante la producción de dos clases de componentes químicos complejos: metabolitos primarios y metabolitos secundarios. Los metabolitos primarios como los prótidos, glúcidos y lípidos, son sustancias que no ejercen una actividad farmacológica directa sobre las funciones fisiológicas del organismo animal, pero les son imprescindibles para mantener su vida. Los metabolitos secundarios como los terpenoides, compuestos fenólicos, taninos y alcaloides, son sustancias que no participan en el desarrollo del individuo, sino que se activan como defensa ante estímulos externos. Una de las plantas con un principio activo medicinal y aromatizante es el anís (*P. anisum* L.), perteneciente a la familia de los Apiaceae (umbelíferas), originaria del mediterráneo oriental (específicamente de la zona de Oriente Medio: Turquía, Siria, Egipto y Grecia), donde crece de manera silvestre. En la edad media fue empleado como aromatizante y fue también un ingrediente importante en la preparación de digestivos<sup>1</sup>.

El aceite esencial de anís (*Pimpinella anisum* L.) de Cochabamba (Bolivia), extraído por arrastre de vapor de agua, presentó un rendimiento de 2,76 mL/kg, densidad 0,98 g mL<sup>-1</sup>, índice de refracción 1,5534, soluble en hexano, diclorometano y etanol. Por HPLC se separó el anetol, soluble en acetato de etilo, acetona, alcohol etílico con punto de fusión de 21,5, densidad 0,986 g mL<sup>-1</sup>; índice de refracción 1,5633, identificando al *trans*-anetol. Por cromatografía en capa fina los valores de Rf. fueron: 0,83; 0,76 y 0,66, coincidiendo con el valor del anetol separado por HPLC<sup>2</sup>. Se ha evidenciado que no existen trabajos de investigación, libros o artículos que hayan estudiado específicamente las características del destilado alcohólico de anís obtenido por destilación simple. La industria donde se realizó el trabajo de investigación actualmente produce anisados y licores a base de destilado alcohólico de anís verde (*P. anisum* L.). Sin embargo, no ha realizado estudios sobre las principales características y componentes de este destilado, por lo que presenta estabilidad variable, repercutiendo esto en el tiempo y costo de producción del producto final. El objetivo

de la investigación fue evaluar las propiedades del destilado alcohólico de anís (*P. anisum* L.) obtenido por destilación simple para que, a partir de estos resultados, la industria licorera pueda en un futuro mejorar la calidad de sus bebidas alcohólicas.

## PARTE EXPERIMENTAL

### 1. Clasificación taxonómica del anís verde

En la tabla 1 se muestra la clasificación científica del anís verde (*P. anisum* L.). La muestra fue recolectada en agosto de 2017 en el valle de Curahuasi, Apurímac.

**Tabla 1.** Taxonomía del anís verde.

Clasificación científica	
<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Subclase</b>	Rosidae
<b>Orden</b>	Apiales
<b>Familia</b>	Apiaceae
<b>Subfamilia</b>	Apiodeae
<b>Género</b>	Pimpinella
<b>Especie</b>	<i>Pimpinella anisum</i> L.

**Fuente:** Herbarium Arequipense (HUSA) Universidad Nacional de San Agustín, Constanca N° 22-2017-HUSA.

### 2. Preparación de la muestra

El anís verde fue macerado por 15 días en aguardiente a 52 °G.L. (mezcla de alcohol extraneutro a 96 °G.L. y agua desionizada) y luego fue destilado. Fueron realizadas cinco corridas de producción, obteniéndose cinco muestras que fueron analizadas tres veces cada una. En cada corrida fueron colectados 500 mL de destilado una vez que se homogenizó todo el producto obtenido, utilizando como referencia para el muestreo el método estandarizado en la NTP 319.079.1974, Extracción de muestras<sup>3</sup>.

### 3. Pruebas cualitativas

#### 3.1 Análisis sensorial

La valoración sensorial es una prueba subjetiva que involucra los sentidos (gusto, olfato y vista), la cual es utilizada exclusivamente en muestras de alimentos y bebidas. Se evaluó el destilado de anís en función de su color, sabor, olor y estado físico. Para este análisis se utilizó como referencia el método estandarizado en la Guía Técnica Colombiana 191<sup>4</sup>.

#### 3.2 Marcha fitoquímica

La marcha fitoquímica es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, permite determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en una muestra. Se realizaron las siguientes pruebas: insaturaciones y carbonilos, con permanganato de potasio (KMnO<sub>4</sub>) y 2,4-dinitrofenilhidracina; fenoles, prueba de FeCl<sub>3</sub>;

esteroles y terpenos, prueba de Lieberman Burchard y Salkowski; lactonas, prueba de cumarinas; sesquiterpenlactonas, prueba de Wagner. Para estas pruebas se utilizó como referencia la tesis de Y. Quiñones sobre especies mexicanas de anís<sup>5</sup>.

#### 4. Pruebas físicas

##### 4.1 Grado alcohólico

La graduación alcohólica se expresa en grados y lo que mide es el contenido de alcohol absoluto en 100 mL (porcentaje de alcohol). El método consistió en colocar la muestra en una probeta a 45°C, para evitar la formación de burbujas. Una vez estabilizada la temperatura de la muestra, se determinó el grado alcohólico con la ayuda de un alcoholímetro calibrado a 20°C, realizando la corrección por la temperatura (mediante la tabla correspondiente) y expresándolo en porcentaje. Se utilizó como referencia el método estandarizado en la NTE 340<sup>6</sup>.

##### 4.2 Densidad

Es la relación entre la densidad del aceite esencial a 20°C y la del agua destilada a la misma temperatura. El método consistió en colocar la muestra en un picnómetro cuyo peso haya sido determinado previamente. Se limpió el picnómetro con una solución sulfocrómica y luego fue sumergido en un baño de agua a 20°C durante 30 min. Finalmente, se extrajo del baño, se limpió y se secó para determinar su masa. Se utilizó como referencia el método estandarizado en la NTP 319.081<sup>7</sup>.

##### 4.3 Índice de refracción

Es la relación del seno del ángulo de incidencia al seno del ángulo de refracción de un rayo luminoso de longitud de onda determinada, que pasa del aire al destilado alcohólico a una temperatura constante. El método consistió en la medición del ángulo de refracción del destilado manteniendo condiciones de transparencia e isotropismo, siendo la temperatura de 20°C y la longitud de onda de la luz de 589,3 nm (que corresponde a la línea D del sodio). Manteniendo una temperatura ambiente, se circuló una corriente de agua en el refractómetro y para obtener la lectura se colocó en el prisma la muestra. El resultado se obtuvo mediante lectura directa de un refractómetro (aparato que mide el índice de refracción) y fue expresado con un número de cuatro decimales. Se utilizó como referencia el método estandarizado en la NTP-ISO 280<sup>8</sup>.

##### 4.4 Punto de congelación

Es una medida de la temperatura de solidificación a medida que se va disminuyendo la temperatura. Puede ser reflejo de la calidad del destilado alcohólico, cuyo punto de congelación depende del contenido de *trans*-anetol, su componente mayoritario y el responsable de su aroma y sabor. El método consistió en tomar 150 mL de muestra en un matraz y se colocó en un baño de hielo. Manteniendo la muestra en constante agitación, y con la ayuda de un termómetro, se mantuvo la temperatura constante. Luego se retiró el matraz y se sometió a una corriente de aire; una vez que se encontró en reposo, se registró la temperatura. Se utilizó como referencia el método estandarizado en la NTP 319.082<sup>9</sup>.

#### 4.5 Punto de ebullición

La temperatura de ebullición es aquella a la cual la presión de líquido es igual a la temperatura externa. La temperatura se mantiene constante hasta que el líquido se evapore. Hay algunos factores que influyen en la determinación, como son la presión, la estructura, la polaridad y la presencia de impurezas. El método consistió en colocar la muestra dentro de unos capilares sellados para introducirlos dentro de un tubo y calentarlo hasta observar que todas las burbujas se hayan desprendido. Finalmente, se tomó la temperatura a la cual ocurrió lo mencionado. Se utilizó como referencia el método estandarizado en el libro de Experimentos de Química<sup>10</sup>.

### 5. Pruebas químicas

#### 5.1 Acidez

El pH es un valor numérico que representa la acidez o alcalinidad de una solución acuosa. Se define como el logaritmo del valor recíproco de la concentración de ion hidrógeno en una solución. El método consistió en tomar 25 mL de muestra en un matraz, se le agregaron 2 mL de fenolftaleína y se tituló con NaOH 0,1N para determinar la acidez por fórmula, considerando el consumo de este último. Se utilizó como referencia el método estandarizado en la NTP 319.085<sup>11</sup>.

#### 5.2 Índice de ésteres

Es el número de mg de hidróxido de potasio necesarios para neutralizar los ácidos liberados por hidrólisis de los ésteres contenidos en un 1g de destilado. El método consistió en introducir en un matraz resistente a álcalis 1,5 g de esencia, luego se añadieron 5mL de etanol neutro y 3 gotas de fenolftaleína al 1 %. Los ácidos libres se neutralizaron con una solución 0,5 N de KOH. También se añadió 10 mL de una solución etanólica 0,5 N de KOH. Finalmente, el matraz con la solución fue conectado a un condensador de reflujo, y calentado a ebullición; el exceso de álcali se tituló con HCl 0,5 N. Se utilizó como referencia el método estandarizado en la NTP 319.088<sup>12</sup>.

### 6. Pruebas cromatográficas y espectroscópicas

#### 6.1 Espectroscopía UV-Visible

Es una técnica instrumental que describe la interacción entre la radiación electromagnética y la materia. Cuando la radiación Ultravioleta-Visible del espectro incide sobre un compuesto, si esta tiene la energía adecuada, será absorbida por dicho compuesto y se producirá la promoción de un electrón a un nivel de energía superior. Las pruebas se realizaron con un Espectrofotómetro UV-visible. Para la determinación de la longitud de onda de los estándares (*trans*-anetol y *p*-anisaldehído) se realizó un barrido espectral a un rango de 200-400 nm; para lo cual se preparó una solución de 0,1 µL/10 mL de *trans*-anetol y 0,1 µL/10 mL de *p*-anisaldehído. Para esta prueba se utilizó como referencia el libro de los Principios del Análisis Instrumental<sup>13</sup>.

#### 6.2 Cromatografía en capa fina

El sistema de solventes usado para el análisis y la comparación directa de los compuestos fue hexano-diclorometano (15:3). Se expusieron las cromatoplasmas a luz ultravioleta

a 254 nm como método de detección, y se utilizaron mezclas de ácido sulfúrico con vainillina para revelar. Para la separación del destilado alcohólico se utilizó una cámara cromatográfica elaborada por los autores. Como fase estacionaria se utilizaron placas de silicagel, y como fase móvil se utilizaron dos mezclas de eluyentes de diferentes polaridades: hexano:diclorometano (15:3) y tolueno:acetato de etilo (93:7), y a diferentes proporciones. Para esta prueba se utilizó como referencia el artículo sobre la Extracción y caracterización de aceite esencia de *P. anisum* L.<sup>2</sup>.

### 6.3 Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC)

La fase móvil fue preparada mezclando metanol y agua en gradiente (50:50; 95:5), luego se filtró en una membrana de fina porosidad y posteriormente se desgasificó. Para las soluciones de trabajo primero se prepararon los estándares en una solución metanol:agua (50:50). Se midió un volumen conocido de solución estándar, fue colocado en un matraz aforado de 10 mL, se adicionó metanol hasta aforo, y finalmente se filtró en una membrana de 0,45  $\mu\text{m}$ . A continuación, se preparó la muestra en una solución metanol:agua (50:50). Se transfirió aproximadamente 1 mL de muestra en una fiola de 10 mL, y se aforó con la solución preparada (metanol:agua) hasta completar el volumen. Finalmente, se filtró en una membrana de 0,45  $\mu\text{m}$ . Para esta prueba se utilizó como referencia el artículo sobre el Aislamiento e identificación de *trans*-anetol en el aceite esencial de *P. anisum* L.<sup>14</sup>.

### 6.4 Cromatografía gaseosa con detección de masas (GC-MS)

El análisis cromatográfico se realizó con un cromatógrafo de marca Perkin Elmer, con detector FID y MS, y con una columna capilar SPD 20. La temperatura de la columna fue de 45°C/3°C, la temperatura de inyección de 250°C y la temperatura de detección de 300°C (en el detector de conductividad térmica FID). Las muestras se prepararon en una solución de hexano, un volumen de 5  $\mu\text{L}$  en 10 mL de solvente, y luego se filtraron. Para esta prueba se utilizaron como referencia los artículos sobre la extracción y caracterización de aceite esencial de *P. anisum* L.<sup>2</sup> y sobre la composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *P. anisum* L.<sup>15</sup>.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos que se presentan a continuación son resultado de las pruebas experimentales realizadas por los autores. La discusión se hace en base a la información obtenida y procesada a partir de dichos datos.

### 1. Pruebas cualitativas

#### 1.1 Análisis sensorial

Según las pruebas realizadas, el destilado alcohólico de anís verde obtenido por destilación simple es incoloro y líquido cristalino, de sabor ácido ligeramente dulce y con olor ligeramente a anís. En la tabla 3 se muestran los resultados del análisis sensorial del destilado alcohólico de anís verde obtenido por destilación simple.



**Tabla 2.** Resultados del análisis sensorial.

<b>Variable</b>	<b>Resultado</b>
<b>Color</b>	Incoloro cristalino
<b>Sabor</b>	Ácido, ligeramente dulce
<b>Olor</b>	Aromático, ligeramente a anís
<b>Estado físico</b>	Líquido cristalino

## 1.2 Marcha fitoquímica

En la tabla 4 se muestran los resultados de la marcha fitoquímica realizada en el destilado alcohólico de anís verde obtenido por destilación simple. No se ha evidenciado la presencia de fenoles, esteroides y terpenos, lactonas ni sesquiterpenlactonas.

**Tabla 3.** Resultados de la marcha fitoquímica.

<b>Variable/Muestra</b>	<b>M1</b>	<b>M2</b>	<b>M3</b>	<b>M4</b>	<b>M5</b>	
<b>Insaturaciones y carbonilos</b>	KMnO <sub>4</sub>	+	+	+	+	+
	2,4-dinitrofenilhidracina	+	+	+	+	+
<b>Fenoles</b>	Prueba de FeCl <sub>3</sub>	-	-	-	-	-
	Lieberman Burchard	-	-	-	-	-
<b>Esteroides y terpenos</b>	Salkowski	++	++	+	++	+++
	Cumarinas	-	-	-	-	-
<b>Lactonas</b>	Wagner	-	-	-	-	-

**Leyenda:** (-) ausencia, (+) poca presencia, (++) moderada presencia, (+++) elevada presencia.

## 2. Pruebas físicas

### 2.1 Grado alcohólico

El grado alcohólico del destilado de anís verde en grano obtenido por destilación simple fue de 60 a 61,9° con una varianza de 0,10 a 1,08%, lo cual indica que está dentro del rango estandarizado por la empresa (60-62°) para ser utilizado como materia prima en la producción de sus tres tipos de anisados; y que por lo tanto, evitará una variación del porcentaje de alcohol del producto final.

### 2.2 Densidad

La densidad del destilado alcohólico de anís verde en grano obtenido por destilación simple fue de 0,907 a 0,911 g/mL. El rango obtenido es menor a la densidad del aceite esencial y mayor a la del etanol debido a que es un destilado de un macerado de anís verde (aceite esencial) con aguardiente (etanol y agua)<sup>7</sup>.

### 2.3 Índice de refracción

El índice de refracción del destilado alcohólico de anís verde en grano obtenido por destilación simple fue de 1,3622. Este valor indica que la muestra posee pocos componentes aromáticos, a diferencia de la alta presencia de estos en el aceite esencial de anís verde (*P. anisum* L.)<sup>8</sup>.

## 2.4 Punto de congelación

El punto de congelación del destilado alcohólico de anís verde en grano obtenido por destilación simple fue menor a  $-10^{\circ}\text{C}$ , debido a que el etanol tiene un punto de congelación inferior a  $-110^{\circ}\text{C}$ . Según la solubilidad, el punto de congelación varía; es decir, a menor grado de alcohol mayor punto de congelación. A partir de  $17^{\circ}\text{C}$  empieza a cambiar su color, de incoloro a blanco lechoso. El punto de congelación es importante debido a la inestabilidad del *trans*-anetol a temperaturas inferiores a  $15^{\circ}\text{C}$ , pues a partir de esta temperatura el aceite esencial empieza a solidificarse<sup>9</sup>.

## 2.5 Punto de ebullición

En la destilación simple la temperatura de ebullición fue de  $78$  a  $91^{\circ}\text{C}$  según el sensor de temperatura del alambique utilizado. El punto de ebullición del destilado alcohólico de anís verde en grano obtenido por destilación simple fue de  $85$  a  $87^{\circ}\text{C}$ , rango que permitirá estandarizar la temperatura de operación del equipo para obtener el destilado con las características deseadas.

En la tabla 5 se muestran los resultados de las pruebas físicas realizadas a las muestras de destilado alcohólico de anís verde obtenido por destilación simple.

**Tabla 4.** Resultados de la marcha fitoquímica.

Variable	Resultado
Grado alcohólico	60 – 61,9 °G.L.
Densidad	0,907-0,911 g/mL
Índice de refracción	1,362 – 1,363
Punto de congelación	Menor a $-10^{\circ}\text{C}$
Punto de ebullición	85 - $87^{\circ}\text{C}$

## 3. Pruebas químicas

### 3.1 Acidez

El destilado alcohólico de anís verde en grano, obtenido por destilación simple, tuvo una acidez de  $5,138$  mg/100 mL de alcohol anhidro. Este valor se debe a la oxidación del etanol a acetaldehído, y luego a ácido acético. La acidez del destilado aumenta por la presencia de otros ácidos, como el ácido ftálico (pruebas GC-MS). Por otro lado, el *trans*-anetol se oxida a un aldehído catalizado por oxidantes fuertes, y es posible que esta reacción se dé hasta la obtención de ácido anísico<sup>11</sup>. La acidez es importante porque influye directamente en el tiempo potencial de almacenamiento del destilado para ser usado como insumo en la elaboración de bebidas alcohólicas, esto se ha comprobado por las determinaciones de acidez que hace periódicamente la industria licorera donde se realizó el trabajo.

### 3.2 Índice de ésteres

El destilado alcohólico de anís verde en grano obtenido por destilación simple tiene  $27,05\%$  de contenido de ésteres. Este porcentaje representa principalmente ésteres aromáticos,

como acetato de etilo, y otros ésteres que fueron determinados en las pruebas GC-MS. La presencia de ésteres en el destilado se debió a la oxidación de alcoholes a aldehídos, y de estos a ácidos. Para aceites esenciales no existe un parámetro establecido debido a que varía de acuerdo al tipo y especie 16.

#### 4. Pruebas espectroscópicas y cromatográficas

##### 4.1 Espectroscopía UV-Visible

En la tabla 6 se muestra la curva de calibración de los estándares.

Tabla 5. Curva de calibración de estándares.

Estándar	Diluciones		Curva de calibración
	Concentración (mg/L)	Absorbancias	
<i>trans</i> -anetol	0,123	0,080	
	0,246	0,136	
	0,492	0,231	
	0,984	0,436	
	1,230	0,572	
<i>p</i> -anisaldehído	0,615	0,027	
	1,23	0,054	
	2,46	0,127	
	4,92	0,228	
	9,84	0,496	

En la tabla 7 se muestran los resultados de las pruebas de Espectroscopía UV-visible que se realizaron a las muestras, a partir los cuales se pudo afirmar que el destilado presenta mayor concentración de *p*-anisaldehído que de *trans*-anetol.

Tabla 6. Resultados de la absorbancia del destilado simple.

Pruebas	<i>trans</i> -anetol [mg/L]	<i>p</i> -anisaldehído [mg/L]
P1	1,16	3,98
P2	1,24	4,22
P3	1,08	4,16
P4	1,16	4,50
P5	2,21	5,12

##### 4.2 Cromatografía en capa fina

Primero se realizaron pruebas preliminares, en las cuales se obtuvieron las siguientes relaciones de frente (Rf): 0,45 para el estándar de *trans*-anetol (STD1), y 0,12 para el estándar *p*-anisaldehído (STD 2). Se utilizó una proporción de hexano:diclorometano (15:3) y de tolueno:acetato de etilo (93:7). A partir de las Rf preliminares se obtuvieron las Rf de las muestras y los estándares mostrados en la tabla 8.

Tabla 7. Promedio de Rf de las muestras y los estándares.

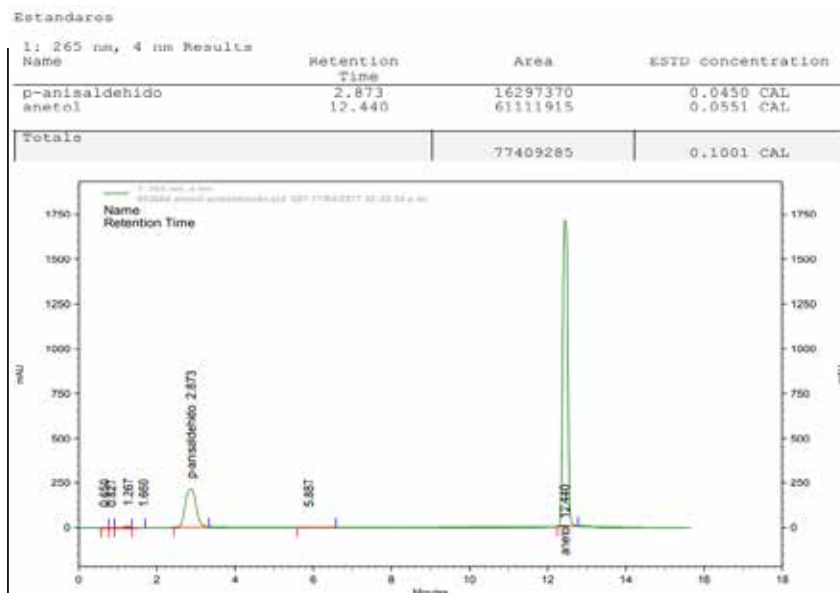
Fase móvil	Estándar		Muestra
Hexano:diclorometano	STD1	0,86	0,86
	STD2	0,50	0,00
Tolueno: Acetato de Etilo	STD1	0,51	0,48
	STD2	0,26	0,00

Las Rf obtenidas indicaron que el destilado alcohólico de anís verde en grano obtenido por destilación simple presenta *trans*-anetol, y que el *p*-anisaldehído no se percibió en las placas; es decir, existe *p*-anisaldehído pero en trazas, lo cual se comprobó en las pruebas de HPLC y GC-MS descritas líneas abajo.

### 4.3 Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

#### 4.3.1 Corrida de estándares

Los estándares *trans*-anetol y *p*-anisaldehído fueron absorbidos a 265 nm. El *p*-anisaldehído tuvo un tiempo de retención de 2,873 min y el *trans*-anetol de 12,440 min. El pico para el *trans*-anetol es bien definido y de mayor longitud como se puede observar en la figura 1.

Figura 1. Corrida de *trans*-anetol y *p*-anisaldehído por HPLC.

### 4.3.2 Corrida de muestras

A partir de la corrida de estándares se realizó la corrida de las muestras, como se puede observar en la figura 2, obteniendo como resultado que el destilado alcohólico de anís verde en grano obtenido por destilación simple posee un 0,1104% de *trans*-anetol. No se detectó la presencia de *p*-anisaldehído.

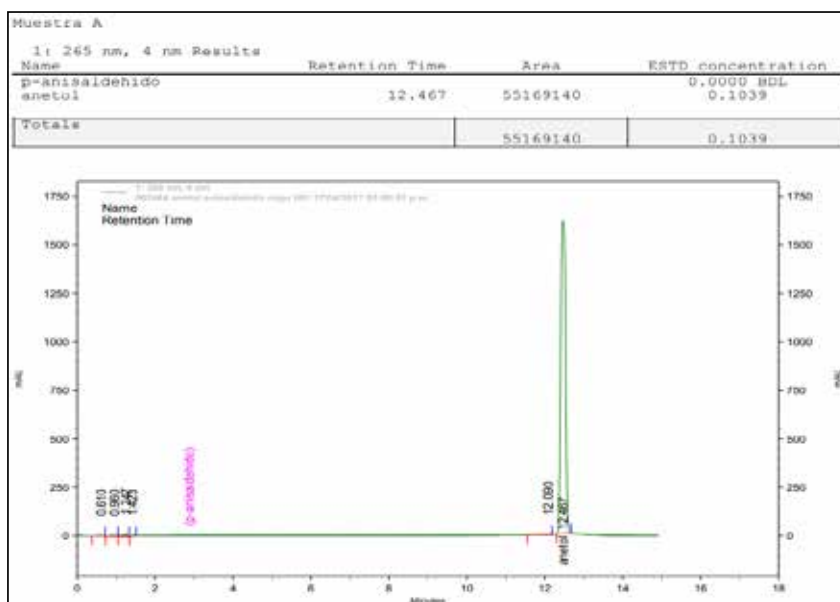


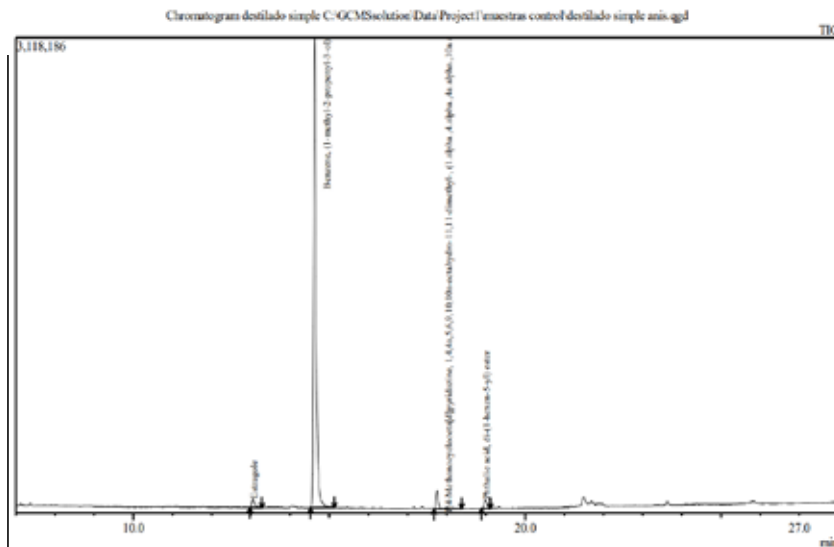
Figura 2. Corrida de muestras por HPLC.

### 4.4 Cromatografía gaseosa con detección de masas (GC-MS)

En la tabla 9 se muestran los resultados de la prueba de GC-MS, habiendo detectado cuatro (04) componentes (figura 3) en el destilado alcohólico de anís verde en grano obtenido por destilación simple.

Tabla 8. Resultados de las pruebas de GC-MS.

Fase móvil	Tiempo de retención (min)	Área (%)
Estragol	13,06	2,08
<i>trans</i> -anetol	14,63	92,7
1,4-metanocicloocta[d]piridacina	17,75	3,2
Acido ftálico, di-(1-hexen-5-il) éster	18,99	2,02



**Figura 3.** Cromatograma del destilado alcohólico obtenido por destilación simple.

## CONCLUSIONES

Según las pruebas realizadas se concluyó que el destilado alcohólico de anís verde, obtenido por destilación simple, tuvo un grado alcohólico elevado adecuado para el tipo de bebida alcohólica que se produce en la empresa, al igual que su densidad. Posee componentes aromáticos ideales y deseados para el producto final, sin embargo, estos pueden concentrarse más si se utiliza otro tipo de destilación, como la fraccionada o por arrastre de vapor. Al ser un destilado poco estable, el tiempo potencial de almacenamiento para ser usado como insumo es corto, lo que incrementa los costos de producción para la industria licorera. En general, las características del destilado son las adecuadas para la formulación de anisados y licores a base de anís, pero pueden mejorarse para reducir tiempos y costos operativos e incrementar la calidad del producto final.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a INNOVATE PERÚ por haber cofinanciado junto con la empresa Manuel Muñoz Najar S.A.C. Industria Licorera el proyecto Contrato N° 031-PITEI-2016, a partir del cual se realizó el presente trabajo. Agradecemos a todos nuestros familiares, amigos y compañeros de trabajo por el apoyo brindado.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fondo Perú-Alemania [FPA]. Manual técnico: Cultivando el anís. Curahuasi, Apurímac, Perú: Municipalidad distrital de Curahuasi; 2013.
2. Trigo R, De Groot W, Medrano, Espinoza J. Extracción y caracterización del aceite esencial de *Pimpinella anisum* L., producido en Bolivia. Agron Colomb. 2016; 34: S1447-S1449.
3. Norma Técnica Peruana 319.079.1974. Aceites Esenciales. Extracción de muestras. 1a. Edición. Extracción de muestras. Lima: INDECOPI; 2016.
4. Guía Técnica Colombiana 191. Metodología para el análisis sensorial descriptivo de bebidas alcohólicas. Bogotá: Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación; 2010.
5. Quiñones Y. Análisis de los principios activos de especies mexicanas de anís y evaluación de su actividad biológica sobre microorganismos patógenos. [Tesis Doctoral]. Monterrey, México: Universidad Autónoma de Nuevo León; 2011.
6. Norma Técnica Ecuatoriana 340. Bebidas alcohólicas. Determinación del grado alcohólico. Quito: Instituto Ecuatoriano de Normas; 2011.
7. Norma Técnica Peruana NTP 319.081. Determinación de la Densidad Relativa. Lima: INDECOPI; 2016.
8. Norma Técnica Peruana NTP-ISO 280. Determinación de Índice de refracción. Lima: INDECOPI; 2016.
9. Norma Técnica Peruana NTP 319.082. Determinación de Punto de Congelación. Lima: INDECOPI; 2016.
10. Doria S, Mainero R. Experimentos de Química en microescala. México: Universidad Iberoamericana; 2019.
11. Norma Técnica Peruana NTP 319.085. Determinación de Índice de acidez. Lima: INDECOPI; 2016.
12. Norma Técnica Peruana NTP 319.088. Determinación del índice de ésteres. Lima: INDECOPI; 2016.
13. Skoog DA, Holler FA, Crouch SR. Principles of Instrumental Analysis. Boston, USA: Cengage Learning; 2016.
14. Mohammed M. Isolation and identification of anethole from *Pimpinella anisum* L. fruit oil. An antimicrobial study. J Pharm Res. 2009; 2(5): 915-919.
15. Pino O, Sánchez Y, Rojas M, Abreu Y, Correa T. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Pimpinella anisum* L. Rev Protección Veg. 2012; 27(3): 181-187.
16. Vásquez Rojas I. Determinación de acetato de etilo en bebidas alcohólicas d Quito, Ecuador: Universidad Central del Ecuador; 2013.

## **XANTHONES FROM *Hypericum laricifolium* Juss., AND THEIR ANTIPROLIFERATIVE ACTIVITY AGAINST HEP3B CELLS.**

Marlon Miguel Morales Moisela<sup>a</sup>, Orianne Brel<sup>b</sup>, Geneviève Bourdy<sup>b</sup>,  
Mercedes Gonzales de La Cruz<sup>a</sup>, Inés Yolanda Castro Dionicio<sup>b,c</sup>,  
Maelle Carraz<sup>b</sup>, Valérie Jullian<sup>b,c\*</sup>

### **ABSTRACT**

We describe here the isolation of 6 xanthenes and one phenyl- $\gamma$ -pyrone, together with 3-epibetulinic and quercetine from the aerial parts of *Hypericum laricifolium* Juss. (Hypericaceae), collected in Peru. Isolated compounds have been evaluated against proliferation of human hepatocellular carcinoma Hep3B cells. The most active compound was xanthone **3**, with an inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) of 12  $\mu$ M.

**Key words:** Xanthenes, *Hypericum laricifolium*, Hep3B cells, hepatocellular carcinoma

## **XANTONAS AISLADAS DE *Hypericum laricifolium* Juss. Y SU ACTIVIDAD ANTIPROLIFERATIVA CONTRA LAS CÉLULAS HEP3B**

### **RESUMEN**

En el presente trabajo se describe el aislamiento de 6 xantonas, una fenil- $\gamma$ -pirona, el ácido 3-epibetulinico y quercetina a partir de las partes aéreas de *Hypericum laricifolium* Juss. (Hypericaceae), colectada en Perú. Los compuestos aislados fueron evaluados por su capacidad para inhibir el crecimiento de células de hepatocarcinoma humano Hep3B. El compuesto más activo fue la xantona **3**, con una concentración inhibitoria (CI<sub>50</sub>) de 12  $\mu$ M.

**Palabras clave:** Xantonas, *Hypericum laricifolium*, células Hep3B, hepatocarcinoma

---

\* valerie.jullian@ird.fr, UMR 152 Pharmadev, Université de Toulouse, IRD, UPS, Faculté de Pharmacie, 35 chemin des maraichers, 31062 Toulouse Cedex 09, France

<sup>a</sup>. Universidad Ricardo Palma, Av. Benavides 5440, Santiago de Surco, Lima 33, Perú

<sup>b</sup>. UMR 152 Pharmadev, Université de Toulouse, IRD, UPS, France. .

<sup>c</sup>. Laboratorios de Investigación y Desarrollo, Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH), Lima 34, Perú



## INTRODUCTION

The genus *Hypericum* includes 469 species, and belongs to the Hypericaceae family. This genus is present all over the world, with native or introduced species. *Hypericum laricifolium* Juss. is distributed in South America along the Andes cordillera from Western Venezuela, to the eastern part of Colombia, Ecuador and Peru. In Peru, *H. laricifolium* is traditionally used in the high Andes for bath against cold and post-partum bath under the name “cipres” or “romerillo”<sup>1</sup>, its also known as “Chinchango”. Two previous chemical investigations have been published and report the presence of hentriacontanyl caffeate, nonacosanyl caffeate, stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol, 3-epi-betulinic acid, caffeic acid, ferulic acid, docosanol, p-hydroxybenzoic acid, 3,4-dimethoxy benzoic acid, quercetin, quercetin-3-O-galactoside, quercetin-3-O-rutinoside, quercetin-3-O-rhamnoside, quercetin-3-O-glucuronide and shikimic acid<sup>2</sup>, as well as xanthones, 1-hydroxy-7-methoxyxanthone, 1,7-dihydroxyxanthone, 2-hydroxyxanthone, 6-deoxyisojacareubin, 1,3-dihydroxy-6-methoxyxanthone, and 1,5,6-trihydroxy-7-methoxyxanthone<sup>3</sup>.

In a former publication<sup>1</sup>, we have described the good activity of an ethanolic extract from *Hypericum laricifolium* against the growth of human hepatocellular carcinoma Hep3B cells. The lack of effective treatments against human hepatocellular carcinoma (HCC) prompted us to isolated and identify the compounds responsible for this activity.

In this work, we report the isolation from *Hypericum laricifolium* aerial part of one phenyl- $\gamma$ -pyrone, the hyperbrasilone **1** and 6 xanthones **2-7**. Hyperbrasilone **1** and xanthones **3-7** are described for the first time in the species. 3-epi-betulinic acid **8** and quercetine **9** have also been isolated. Eight compounds have been evaluated against proliferation of human hepatocellular carcinoma Hep3B cells.

## EXPERIMENTAL PART

### Plant material

Aerial parts of *Hypericum laricifolium* Juss. were collected in Huaraz surroundings (Ancash department, Peru), at the altitude of 3900 m a.s.l. and identified by specialists.

### Isolation of compounds

Aerial parts were dried at ambient temperature, away from sun, and then grinded. 650 g of powdered plant were then extracted three times with 5.6 L of ethanol 96o, to give 91.5 g of extract E. Extract E (55 g) was partitioned in 2 L of water and 2 L of ethyl acetate, to give an aqueous phase, and 21.6 g of an extract EA. 1.4 g of extract EA were submitted to two successive medium pressure liquid chromatographies (MPLC) on silica gel to give 6.6 mg of hyperbrasilone **1** and 4.3 mg of 1,7-dihydroxy-xanthone **2**.

Then, 9.1 g of EA extract were partitioned in 280 mL of petroleum ether and 280 mL of methanol-water 90-10, to give 2.40 g of extract PE and 6.70 g of extract MW. The extract

MW (6.7 g) was absorbed on 70 g of silica gel. This solid was then successively extracted with mixtures of petroleum ether-ethyl acetate of increasing polarity to give four fractions A (1.5 g), B (1.5 g), C (1.7 g), D (1.7 g). Fraction A, extracted with a mixture of petroleum ether / ethyl acetate 80 / 20, was submitted to column chromatography on silica gel, eluted with mixtures of petroleum ether / ethyl acetate of increasing polarity, from petroleum ether / ethyl acetate 80 / 20 to pure ethyl acetate. 15 fractions were obtained, A1 to A15.

A2 (97.4 mg) was submitted to column chromatography on silica gel, eluted with petroleum ether then petroleum ether / dichloromethane 50 / 50 to give A2-2 (8.0 mg), identified as **3**. A4 (115.0 mg) was submitted to column chromatography on silica gel, eluted with mixtures of dichloromethane / methanol of increasing polarity, from pure dichloromethane to dichloromethane 2% methanol, to give A4-1 (3.4 mg), identified as 1,3,8-trihydroxy-2-methoxy-xanthone **4**, A4-2 (5.1 mg), A4-3 (5.5 mg) and A4-4 (37.2 mg). A4-2 and A4-3 were submitted to chromatography on Sephadex LH-20, eluted with methanol to give respectively A4-2-1 (3.0 mg) identified as 1,3-dihydroxy-2-methoxyxanthone **5**, and A4-3-1 (1.0 mg) identified as 2,8-dihydroxy-1-methoxyxanthone **6**. A4-4 was washed with methanol to give A4-4-1 as a white precipitate (11.5 mg) identified as 3-epi-betulinic acid **8**.

A7 (19.1 mg) was submitted to successive columns chromatographies on silica gel and Sephadex LH-20 to give 3,8-dihydroxy-1,2-dimethoxyxanthone (0.6 mg) **7**.

A13 (50.0 mg) was washed with dichloromethane / methanol 90 / 10 to give 8.2 mg of a yellow solid identified as quercetin **9**.

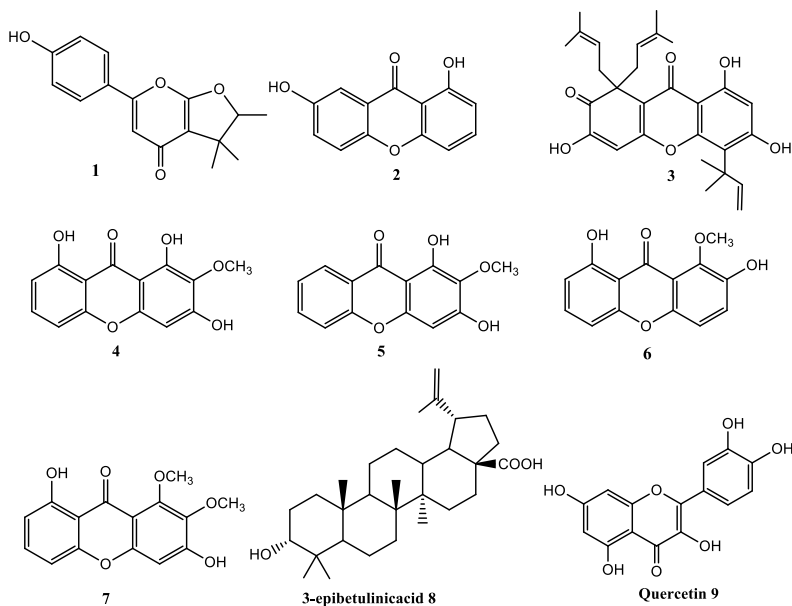


Figura 1. Structure of compounds isolated from *Hypericum laricifolium*

### Identification of compounds

Hyperbrasilone **1** was isolated as a colorless oil.  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.25 (3H, s), 1.42 (3H, d,  $J = 6.7$  Hz), 1.44 (3H, s), 4.59 (1H, q,  $J = 6.7$  Hz), 6.40 (1H, s), 6.98 (2H, d,  $J = 4.9$  Hz), 6.67 (2H, d,  $J = 4.9$  Hz).  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 14.6, 20.3, 25.5, 42.7, 91.8, 92.3, 108.3, 116.1, 123.9, 127.9, 159.1, 161.7, 163.5, 170.5. These data were compared with those previously published<sup>4</sup>. The absolute configuration of the chiral center was not determined, neither in this work, nor in the original publication.

1,7-dihydroxyxanthone **2** was isolated as a yellow solid.  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3 + 10\% \text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 6.75 (1H, dd,  $J = 8.2, 0.9$  Hz), 6.91 (1H, dd,  $J = 8.4, 0.9$  Hz), 7.29 (1H, dd,  $J = 9.0, 3.0$  Hz), 7.36 (1H, d,  $J = 9.4$  Hz), 7.50 (1H, d,  $J = 2.8$  Hz), 7.56 (1H, dd,  $J = 8.3, 8.3$  Hz).  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3 + 10\% \text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 107.1, 108.2, 109.7, 119.1, 120.8, 125.5, 136.6, 153.7, 156.5, 161.3, 182.5. APCI-MS  $m/z$ : 229 ( $\text{MH}^+$ ). These data were compared with those previously published<sup>5</sup>.

Compound **3** was isolated as a yellow-orange oil  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.52 (6H, se), 1.53 (6H, se), 1.71 (6H, se), 2.84 (2H, dd,  $J = 13.7, 8.1$  Hz), 3.45 (2H, dd,  $J = 13.7, 7.0$  Hz), 4.68 (m, 2H), 5.42 (1H, dd,  $J = 10.5, 0.8$  Hz), 5.50 (1H, dd,  $J = 17.8, 0.8$  Hz), 6.32 (s, 1H), 6.48 (1H, dd,  $J = 17.8, 10.5$  Hz), 6.50 (s, 1H), 13.44 (s, 1H).  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 18.0, 25.8, 28.2, 37.9, 40.9, 55.8, 101.6, 105.7, 108.2, 109.2, 113.6, 116.2, 117.7, 135.4, 149.0, 151.8, 154.8, 158.6, 161.1, 161.3, 179.5, 201.4. APCI-MS  $m/z$ : 465 ( $\text{MH}^+$ ). These data were compared with those previously published<sup>6</sup>.

1,3,8-trihydroxy-2-methoxyxanthone **4** was isolated as a yellow solid.  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3 + 10\% \text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 3.91 (s, 3H), 6.44 (s, 1H), 6.73 (1H, d,  $J = 8.3$  Hz), 6.84 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz), 7.52 (1H, t,  $J = 8.4$  Hz), 11.94 (s, 1H), 12.11 (s, 1H).  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3 + 10\% \text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 60.8, 94.4, 102.4, 107.0, 107.0, 110.4, 130.5, 136.6, 153.3, 153.4, 156.1, 158.4, 160.8, 184.8. APCI-MS  $m/z$ : 275 ( $\text{MH}^+$ ). These data were compared with those previously published<sup>7</sup>.

1,3-dihydroxy-2-methoxyxanthone **5** was isolated as a yellow solid.  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 4.07 (s, 3H), 6.57 (s, 1H), 7.41 (1H, ddd,  $J = 8.4, 1.1, 0.5$  Hz), 7.47 (1H, ddd,  $J = 8.1, 7.1, 1.1$  Hz), 7.75 (1H, ddd,  $J = 8.0, 1.7, 0.5$  Hz), 8.28 (1H, ddd,  $J = 8.5, 7.1, 1.7$  Hz).  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 61.0, 93.4, 104.2, 117.7, 120.2, 124.0, 125.8, 129.5, 135.0, 153.4, 153.4, 156.1, 156.4, 181.3. APCI-MS  $m/z$ : 259 ( $\text{MH}^+$ ). These data were compared with those previously published<sup>8</sup>.

2,8-dihydroxy-1-methoxyxanthone **6** was isolated as a white solid.  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 4.07 (s, 3H), 6.80 (1H, dd,  $J = 8.2, 1.0$  Hz), 6.90 (1H, dd,  $J = 8.4, 1.0$  Hz), 7.24 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz), 7.45 (1H, d,  $J = 9.1$  Hz), 7.59 (1H, dd,  $J = 8.3, 8.3$  Hz), 12.91 (s, 1H).  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 62.7, 106.5, 109.0, 110.3, 114.2, 114.7, 123.3, 136.6, 144.2, 145.4, 150.8, 155.8, 161.9, 182.1. APCI-MS  $m/z$ : 259 ( $\text{MH}^+$ ). These data were compared with those previously published<sup>9</sup>.

3,8-dihydroxy-1,2-dimethoxyxanthone **7** was isolated as a yellow solid.  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 4.04 (s, 3H), 4.06 (s, 3H), 6.78 (1H, dd,  $J = 8.2, 1.0$  Hz), 6.81 (s, 1H), 6.85 (1H, dd,  $J = 8.3, 1.0$  Hz), 7.54 (1H, dd,  $J = 8.3, 8.3$  Hz), 13.14 (s, 1H).  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 61.8, 62.0, 99.0, 106.2, 108.8, 109.2, 110.6, 136.0, 137.4, 152.2, 154.6, 155.5, 155.8, 162.1, 181.5. APCI-MS  $m/z$ : 289 ( $\text{MH}^+$ ). These data were compared with those previously published<sup>10</sup>.

3-epibetulinic acid **8** was isolated as a white solid.  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3 + 10\% \text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 0.61 (1H, m), 0.68 (3H, s), 0.75 (3H, s), 0.87 (3H, s), 0.88 (3H, s), 0.90 (3H, s), 1.65 (3H, s), 1.03-1.70 (19H, m), 1.87 (2H, m), 2.18 (2H, m), 2.94 (1H, td,  $J = 10.6-4.5$  Hz), 3.09 (1H, dd,  $J = 10.6-5.7$  Hz), 4.53 (1H, s), 4.65 (1H, s).  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3 + 10\% \text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 179.2, 150.5, 109.4, 78.8, 56.3, 55.5, 50.5, 49.2, 46.9, 42.4, 40.6, 38.7, 38.6, 38.2, 37.1, 37.0, 34.2, 32.2, 31.9, 30.6, 27.8, 27.0, 25.4, 20.9, 19.2, 18.3, 16.1, 15.9, 15.3, 14.6. APCI-MS  $m/z$ : 439 ( $\text{M-OH}^+$ ). These data were compared with those previously published<sup>11</sup>.

Quercetin **9** was isolated as a yellow solid.  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$ : 6.19 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz), 6.41 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz), 6.89 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz), 7.54 (1H, dd,  $J = 8.5, 2.2$  Hz), 7.68 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz).  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$ : 93.9, 98.6, 103.4, 115.5, 116.0, 120.4, 122.4, 136.3, 145.4, 147.3, 148.2, 156.5, 161.2, 164.4, 176.3. APCI-MS  $m/z$ : 303 ( $\text{MH}^+$ ). These data were compared with those previously published<sup>12</sup>.

### Measurement of the antiproliferative activity on Hep3B cells.

An already published protocol was followed<sup>1</sup>, with slight modifications. The human cancer cell line Hep3B has been cultivated as described and double each 20 h in our culture conditions. In this assay, Hep3B cells were seeded in 96-well plates at a density of  $5 \times 10^3$  cells per well and after 18 h of adhesion, incubated for 72 h with compounds following the concentration range: 0.1, 1, 10, 25, 50, 100  $\mu\text{g/mL}$  in DMEM supplemented with 0.1% of DMSO. Their growth was measured using an ATP-based luminescence assay (ATPliteTMkit, Perkin Elmer, France). 72 h after cells treatment by extracts, luminescence was read on a Trilux reader (Perkin Elmer). The 50% inhibitory concentration ( $\text{IC}_{50}$ ) of each extract was determined based on 3 independent experiments using the GraphPad Prism software (GraphPad Software Inc., USA).

## RESULTS AND DISCUSSION

Compounds have been isolated after successive chromatographies on silica gel and Sephadex LH-20 from an ethanolic extract of *Hypericum laricifolium* aerial part displaying a good antiproliferative activity on Hep3B cells ( $\text{IC}_{50} = 11.5 \mu\text{g/mL}$ ). Their structures were established on the basis of 1D and 2D NMR spectra ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC, HMBC) and mass spectrometry, and verified by comparison with previously published spectroscopic data.

3-epibetulinic acid **8** and quercetin **9** are ubiquitous in plants, and have already been isolated from *H. laricifolium*<sup>2,3</sup>. 1-7 dihydroxyxanthone **2** was also reported in *Hypericum laricifolium*<sup>3</sup>. Interestingly, all other **6** compounds are reported in *Hypericum laricifolium* for the first time,

and 1,3,8-trihydroxy-2-methoxyxanthone **4** and 2,8-dihydroxy-1-methoxyxanthone **6** have never been reported in the genus *Hypericum*. Interestingly, the 4 xanthenes **4-7** reported here are different from the xanthenes reported in a previous work<sup>3</sup>, describing the chemical composition of *Hypericum laricifolium* collected in Venezuela, suggesting that xanthenes metabolites of this species could vary according to location, or season of collect, and raises the hypothesis of an epigenetic influence of xanthenes metabolites production in the *H. laricifolium* specie.

Concerning the antiproliferative activity on human Hep3B cells, the interesting activity previously observed for an ethanolic extract of *H. laricifolium* prompted us to test the isolated compounds on Hep3B cells culture and determine their IC<sub>50</sub>. The most active compounds are xanthone **3** and 1,3,8-trihydroxy-2-methoxyxanthone **4** with an IC<sub>50</sub> of 12 μM and 22 μM respectively. These activity are in the same range as the activity of the reference drug Sorafenib (Table 1).

**Table 1.** Activity of compounds isolated from *Hypericum laricifolium* against Hep3B cells, compared to the activity of the ethanolic extract (extract E) and reference drug Sorafenib (NT: not tested, ND: not determined).

Compounds	IC <sub>50</sub> Hep3B Cells (μg/mL)	IC <sub>50</sub> Hep3B Cells (μM)
1	11.2 ± 2.9	41.2 ± 10.7
2	14.2 ± 2.3	62.3 ± 10.1
3	5.6 ± 1.6	12.1 ± 3.4
4	6.2 ± 3.8	22.6 ± 13.9
5	12.4 ± 3.6	48.1 ± 14.0
6	14.7 ± 4.2	57.0 ± 16.3
7	NT	NT
8	20.1 ± 4.3	44.1 ± 9.4
9	50.00	>165
Extract E	11.5 ± 2.4	ND
Sorafenib	3.5	7.6

To the best of our knowledges, the only activity of xanthenes or xanthone derivatives against the growth of Hep3B cells is reported for gambogic acid, a xanthone derivatives isolated from the tree *Garcinia hanburryi*. Gambogic acid inhibits the growth of Hep3B through apoptotic pathways with an IC<sub>50</sub> of 1.8 μM<sup>13</sup>.

Allaxanthone C, structurally close to **3**, have been shown to induce a prolongation of survival in a xenograft murine model of human chronic lymphocytic leukemia<sup>14</sup>.

1,3,8-trihydroxy-2-methoxyxanthone **4** was also tested against different multidrug-resistant human tumor cells and was moderately active against taxol-resistant SMMC-7721 human liver carcinoma cell line ( $IC_{50} = 42 \mu\text{M}$ )<sup>15</sup>. All of this suggests that xanthenes structurally close to **3** or **4** should be tested against Hep3B cell lines in order to find a potential lead against hepatocellular carcinoma, however the activity of isolated compounds is rather moderate compared to the activity of the crude ethanolic extract of *H. laricifolium* ( $IC_{50} = 11.5 \mu\text{g/mL}$ ), suggesting that other compounds with better activity may be present in the plant, or that some synergistic effect may occur between the constituents of this species.

## CONCLUSION

In this work, we have identified xanthenes inhibiting the growth of Hep3B cells. This highlights the interest of this class of compounds, and especially xanthenes structurally related to compound **3**, in the search of active compounds against human hepatocellular carcinoma.

## ACKNOWLEDGMENTS

We thank the Ando-Amazonian International Mixed Laboratory (LMI LAVI, IRD-UPCH) and its co-directors Dr Michel Sauvain (IRD, France) and Dra. Rosario Rojas (UPCH, Peru), to have hosted in the UPCH the greatest part of the chemical work described in this publication.

## REFERENCES

1. Carraz M, Lavergne C, Jullian V, Wright M, Gairin JE, Gonzales de la Cruz M, et al. Antiproliferative activity and phenotypic modification induced by selected Peruvian medicinal plants on human hepatocellular carcinoma Hep3B cells. *J Ethnopharmacol.* 2015;166:185-99.
2. El-Seedi HR, Ringbom T, Torssell K, Bohlin L. Constituents of *Hypericum laricifolium* and their cyclooxygenase (COX) enzyme activities. *Chem Pharm Bull.* 2003;51(12):1439-40.
3. Ramírez-González I, Amaro-Luis JM, Bahsas A. Xanthenes from aerial parts of *Hypericum laricifolium* Juss. *Nat Prod Commun.* 2013;8(12):1731-2.
4. Rocha L, Marston A, Kaplan MAC, Stoeckli-Evans H, Thull U, Bernard T, et al. An antifungal  $\gamma$ -pyrone and xanthenes with monoamine oxidase inhibitory activity from *Hypericum brasiliense*. *Phytochem.* 1994;36(6):1381-5.
5. Kato L, Alves de Oliveira CM, Vencato I, Lauriucci C. Crystal structure of 1,7-dihydroxyxanthone from *Weddellina squamulosa* Tul. *J Chem Crystallogr.* 2005;35(1):23-6.
6. An TY, Hu LH, Chen ZL. A new xanthone derivative from *Hypericum erectum*. *Chin Chem Lett.* 2002;13(7):623-4.

7. Kang W-Y, Ji Z-Q, Wang J-M. A new xanthone from the roots of *Securidaca inappendiculata*. Chem Pap. 2009;63(1):102-4.
8. Tanaka N, Takaishi Y. Xanthonas from *Hypericum chinense*. Phytochem. 2006;67:2146-51.
9. Kijjoa A, Joseâ M, Gonzalez TG, Pinto MMM, Damas AM, Mondranondra I-O, et al. Xanthonas from *Cratoxylum maingayi*. Phytochem. 1998;49(7):2159-62.
10. Marston A, Hamburger M, Sordat-Diserens I, Msonthi JD, Hostettmann K. Xanthonas from *Polygala nyikensis*. Phytochem. 1993;33(4):809-12.
11. Pieroni LG, de Rezende FM, Ximenes VF, Dokkedal AL. Antioxidant activity and total phenols from the methanolic extract of *Miconia albicans* (sw.) Triana leaves. Molecules. 2011;16:9439-50.
12. Fossen T, Pedersen AT, Andersen OM. Flavonoids from red onion (*Allium cepa*). Phytochem. 1998;47(2):281-5.
13. Lee PN, Ho WS. Antiproliferative activity of gambogic acid isolated from *Garcinia hanburyi* in Hep3B and Huh7 cancer cells. Oncol Rep. 2013;29:1744-50.
14. Loisel S, Le Ster K, Meyer M, Berthou C, Youinou P, Kolb J-P, et al. Therapeutic activity of two xanthonas in a xenograft murine model of human chronic lymphocytic leukemia. J Hematol Oncol. 2010;3(1):49-51.
15. Wang Q, Ma C, Ma Y, Li X, Chen Y, Chen J. Structure–activity relationships of diverse xanthonas against multidrug resistant human tumor cells. Biorg Med Chem Lett. 2017;27:447-9.

## ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LA CUPRITA SINTETIZADA POR RUTA QUÍMICA

Orfelinda Ávalo Cortez<sup>\*a</sup>, David Pedro Martínez Aguilar<sup>a</sup>

### RESUMEN

Con el auge de la nanotecnología se han desarrollado nanomateriales inorgánicos, que presentan un marcado efecto microbicida sobre una amplia variedad de microorganismos, tales como virus, bacterias y hongos. En el presente trabajo se realizó la síntesis, caracterización y estudio de la actividad antimicrobiana del óxido de cobre (I), cuprita,  $\text{Cu}_2\text{O}$ , obtenida por ruta química. Para la obtención de la cuprita se utilizó como precursor el sulfato de cobre pentahidratado y como reductores orgánicos el ácido ascórbico y la glucosa. La caracterización se realizó por Difracción de Rayos-X (DRX) y Microscopía Electrónica de Barrido (MEB). También se determinó la actividad antimicrobiana *in vitro* de las partículas de cuprita sobre la bacteria *Staphylococcus aureus*, determinándose la Concentración Mínima Inhibitoria (CIM). Los resultados del análisis por Difracción de Rayos X, confirmaron que a partir de la síntesis empleando ácido ascórbico como reductor y a  $\text{pH}=1,66$  se obtuvo 100 % Cu puro con tamaños de partícula en el rango micrométrico y de forma poliédrica. La síntesis, empleando glucosa como reductor, dio como resultado la obtención de 100 % Cuprita ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ) con morfología variable, se observaron esferas, cubos y tetraedros muy dependientes de la concentración de NaOH empleada en cada síntesis, con tamaños de partícula en los rangos nanométrico y micrométrico, es decir se obtuvo nanopartículas y nanoestructuras de  $\text{Cu}_2\text{O}$ . De acuerdo a los resultados de la actividad antimicrobiana se puede concluir que el óxido de cobre  $\text{Cu}_2\text{O}$  tiene efecto antimicrobiano sobre la bacteria *Staphylococcus aureus*, siendo la Concentración Mínima Inhibitoria, CIM, 16 mg/mL.

**Palabras clave:** cuprita, antimicrobiana, *Staphylococcus aureus*.

## STUDY OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE CUPRITA SYNTHETIZED BY CHEMICAL ROUTE

### ABSTRACT

With the rise of nanotechnology, inorganic nanomaterials have been developed, which have a marked microbicide effect on a wide variety of microorganisms, such as viruses, bacteria and fungi. In the present work, the synthesis, characterization and study of the antimicrobial

---

<sup>a</sup> Facultad de Ingeniería Geológica, Minera y Metalúrgica, Universidad Nacional de Ingeniería, Av. Túpac Amaru 210, Lima 25, Perú, oavalo@uni.edu.pe



activity of copper oxide (I), cuprite,  $\text{Cu}_2\text{O}$ , obtained by chemical route was carried out. Copper sulfate pentahydrate was used as the precursor ascorbic acid and glucose, were used as organic reducers. The characterization was carried out by X-ray diffraction (XRD) and scanning electron microscopy (SEM). The in vitro antimicrobial activity of the cuprite particles on the *Staphylococcus aureus* bacterium was also determined, determining the Minimum Inhibitory Concentration (MIC). The results of the analysis by X-ray diffraction, confirmed that from the synthesis using ascorbic acid as a reducer and at  $\text{pH} = 1.66$ , 100% pure Cu was obtained with particle sizes in the micrometric range and polyhedral shape. The synthesis using glucose as a reducer resulted in the obtaining of 100% Cuprite ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ) with variable morphology, spheres, cubes and tetrahedra were observed, very dependent on the concentration of NaOH used in each synthesis, with particle sizes in the nanoscale and micrometer, that is, nanoparticles and  $\text{Cu}_2\text{O}$  nanostructures were obtained. According to the results of the antimicrobial activity, it can be concluded that  $\text{Cu}_2\text{O}$  copper oxide has an antimicrobial effect on *Staphylococcus aureus* bacteria, with the MIC of 16 mg/ML.

**Key words:** cuprite, antimicrobial, *Staphylococcus aureus*.

## INTRODUCCIÓN

El *Staphylococcus aureus* es una bacteria gram positiva que se encuentra ampliamente diseminada en el ambiente ya que posee características particulares de virulencia y resistencia contra antibióticos, lo cual representa un grave problema de salud, además esta bacteria tiene características genéticas que le han permitido convertirse en una de las bacterias más importantes en los hospitales y en las enfermedades transmitidas por alimentos<sup>1</sup>. De acuerdo a la literatura se sabe que el cobre y los óxidos de cobre son utilizados en diversos equipos sanitarios y médicos por sus propiedades bactericidas y antimicrobianas<sup>2</sup>. El mecanismo que explica la actividad antibacteriana es la capacidad del cobre para ceder y aceptar electrones en forma continua. Los iones de cobre se desprenden de superficies de cobre penetrando en la célula bacteriana produciendo la ruptura de la membrana citoplasmática que favorece la entrada de iones cobre, lo que conduce a una disfunción de la membrana y a un aumento del estrés oxidativo. A nivel citoplasmático hay una alteración de la síntesis proteica y daño funcional de enzimas esenciales produciéndose la muerte celular y degradación del ADN bacteriano<sup>3</sup>. Si bien el cobre ocasiona que la bacteria pierda su capacidad de replicarse al alterar su estructura molecular, se sabe que no genera mutaciones en el ADN. Cualquiera de estos mecanismos afecta la supervivencia de las bacterias, pero dependerá de la concentración del metal para ver el efecto bacteriostático o bactericida. La Concentración Mínima Inhibitoria (CIM), en microbiología, es la concentración más baja de un antimicrobiano que inhibe el crecimiento de un microorganismo después de su incubación. La concentración inhibitoria mínima es importante en diagnósticos de laboratorio para confirmar la resistencia de microorganismos a un agente antimicrobiano y además para monitorizar la actividad de los nuevos agentes antimicrobianos<sup>4</sup>.

En la literatura existen diversos trabajos sobre síntesis de cobre, CuO y Cu<sub>2</sub>O, empleando reductores orgánicos y surfactantes cuyos resultados muestran que la síntesis por esta ruta química es sencilla y, lo más importante, permite el control del tamaño y forma de las partículas sintetizadas<sup>5-10</sup>. Existen también publicaciones respecto a la actividad antimicrobiana del cobre y de los óxidos de cobre sobre diversas bacterias tanto gram positivas como gram negativas, que en general sugieren que las nanopartículas de Cu, CuO y Cu<sub>2</sub>O pueden ser consideradas como nuevos agentes efectivos de bacterias resistentes a múltiples fármacos<sup>4,11-17</sup>. El presente trabajo de investigación tiene como objetivo sintetizar la cuprita, Cu<sub>2</sub>O, a partir de la sal precursora CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O y empleando como reductores orgánicos el ácido ascórbico, la glucosa y la hidracina, aprovechando la ventaja de que el empleo de reductores orgánicos requiere bajas temperaturas durante el proceso de síntesis. Realizar la caracterización microestructural de las partículas sintetizadas a través de Análisis por Difracción de Rayos-X (DRX) y Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) y finalmente estudiar la actividad microbiana de la cuprita sobre la bacteria *Staphylococcus aureus* a fin de determinar la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM).

## PARTE EXPERIMENTAL

Para la síntesis del óxido de cobre se partió del precursor en forma de sulfato de cobre pentahidratado, (CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O), el cual fue reducido con ácido ascórbico (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>) en medio ácido y con glucosa (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>) en medio básico.

### Síntesis empleando ácido ascórbico como reductor

Se procedió a pesar 5,03g de sulfato de cobre pentahidratado y 12,01g de ácido ascórbico. Luego se llevaron a disolución la sal precursora y el reductor orgánico a temperatura ambiente, empleando agua destilada. Se agregó 18mL de agua destilada a los 5,3g de CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O y 30mL de agua destilada a los 12,01g de ácido ascórbico. Luego de la disolución de las sales por separado, se procedió a adicionar de a poco la solución que contenía el sulfato de cobre pentahidratado sobre el recipiente que contenía la solución de ácido ascórbico, agitando vigorosamente. Se observó la formación de una solución final de color verde oscuro con un pH de aproximadamente 1,66. Luego de finalizar la adición de toda la solución de sulfato de cobre pentahidratado a la solución de ácido ascórbico, la solución final fue calentada a una temperatura de 70°C y por un tiempo de 20 min, empleando una plancha de calentamiento con agitación magnética. Se observó la formación de un precipitado de color naranja en la base del vaso, que nos daba indicios que se trataba de cobre puro. Se procedió a decantar la solución sobrenadante y a lavar el precipitado varias veces con agua destilada. El lavado final se realizó con alcohol, se procedió al secado de la muestra, el envasado y etiquetado.

### Síntesis empleando glucosa como reductor

Se pesó 5,71g de sulfato de cobre pentahidratado y se enrasó a 50ml en un vaso de precipitado con agua destilada. Se pesaron 2,13g de glucosa y 3,78g de hidróxido de sodio, enrasándose cada uno a 25ml en sus respectivos vasos de precipitado.

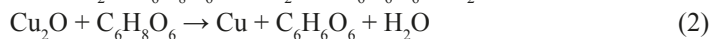
Inicialmente, se agregó el hidróxido de sodio al vaso que contenía la glucosa. Se observó la formación de una solución de un tono ligeramente amarillento. A esta solución amarillenta le agregamos poco a poco el sulfato de cobre pentahidratado que estaba colocado en una bureta. A medida que se adicionaba el  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  este cambiaba de una tonalidad azul a verde oscuro. Se fue agitando constantemente la solución durante todo el proceso y se anotaba el cambio de pH en cada adición de sulfato de cobre de la bureta. Conforme aumentaba el pH, se observaba que la solución se volvía más oscura, hasta que al llegar a un pH de 12,3 se observó un precipitado rojizo. Finalizada la titulación, se procedió a calentar el vaso que contenía al precipitado en una plancha de calentamiento a  $60^\circ\text{C}$  durante 30 minutos. Luego se procedió a decantar para desechar la solución sobrenadante y luego se procede a lavar el precipitado cinco veces con agua destilada y una última lavada con alcohol. Finalmente, se procedió a secar el precipitado a menos de  $50^\circ\text{C}$ . Una vez seca la muestra se procedió a determinar el peso final que fue de 1,47g.

Las muestras finales fueron enviadas a los laboratorios externos para su análisis por Difracción de Rayos-X (DRX) y Microscopia Electrónica de Barrido (MEB).

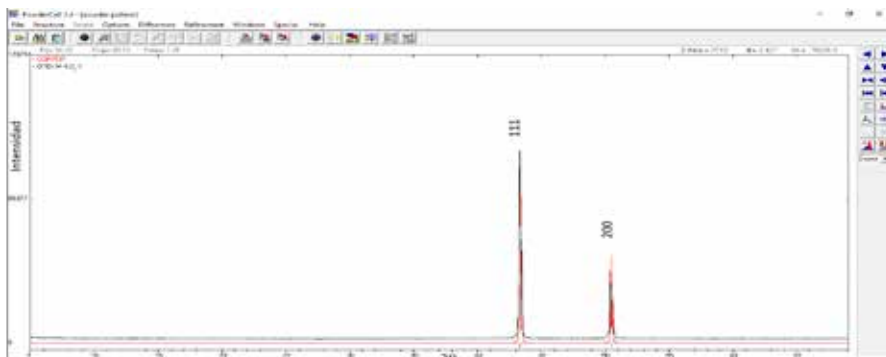
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### **Análisis de los difractogramas DRX de la muestra sintetizada empleando ácido ascórbico como reductor en medio ácido.**

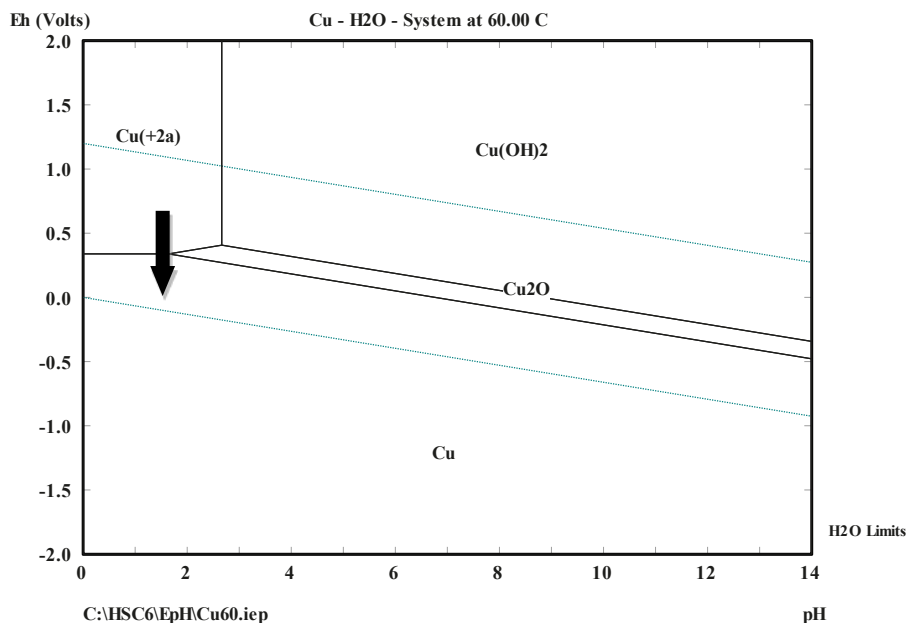
Realizando el análisis cualitativo se puede observar que los picos del difractograma de esta muestra coinciden con los picos correspondientes al cobre puro, tal como se puede observar en la figura 1. Por lo tanto se puede concluir que de la reducción del sulfato de cobre con ácido ascórbico a  $\text{pH} = 1,66$  se obtiene 100 % cobre puro, tal como fue establecido en el trabajo de Liu King Ming *et al* (2012), donde concluyen que a pH bien bajos se obtiene cobre puro de mayor tamaño (micrométricos) y a pH altos se obtiene cuprita de tamaños más pequeños (nanométricos), además establecen que el posible mecanismo de formación del cobre puro a pH mayores a 2,5 es a través de las siguientes etapas:  $\text{Cu}^{2+} \rightarrow \text{Cu}(\text{OH})_2 \rightarrow \text{Cu}_2\text{O} \rightarrow \text{Cu}$ , es decir los iones  $\text{Cu}^{2+}$  son transformados inicialmente a  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  y luego el  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  se reduce a  $\text{Cu}_2\text{O}$  por el ácido ascórbico. El  $\text{Cu}_2\text{O}$  finalmente se reduce a partículas de Cu, por lo tanto establecen al  $\text{Cu}_2\text{O}$  como producto intermedio y representan el proceso de reducción a través de las siguientes reacciones<sup>18</sup>:



Para poder observar las posibles rutas del proceso de reducción del sulfato de cobre en medio acuoso, podemos emplear el Software HSC 6, para construir el Diagrama de Pourbaix del Sistema Cu-O-H a  $60^\circ\text{C}$  y para la concentración de Cu en la solución, que es de 1.14 molal, tal como se muestra en la figura 2. Claramente, se puede observar que para el pH igual a 1,66, que fue el empleado en la síntesis con el ácido ascórbico como reductor, se puede sintetizar cobre puro en un solo paso.



**Figura 1.** Análisis comparativo del difractograma patrón del cobre y el difractograma de la muestra experimental obtenida de la reducción del sulfato de cobre con ácido ascórbico.

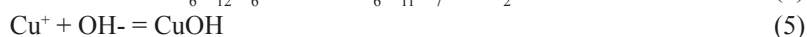
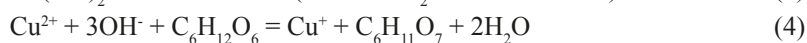


**Figura 2.** Diagrama de Pourbaix del Sistema Cu-O-H a 60°C y para una concentración de cobre 1.14 molal, levantados con el Software HSC 6.

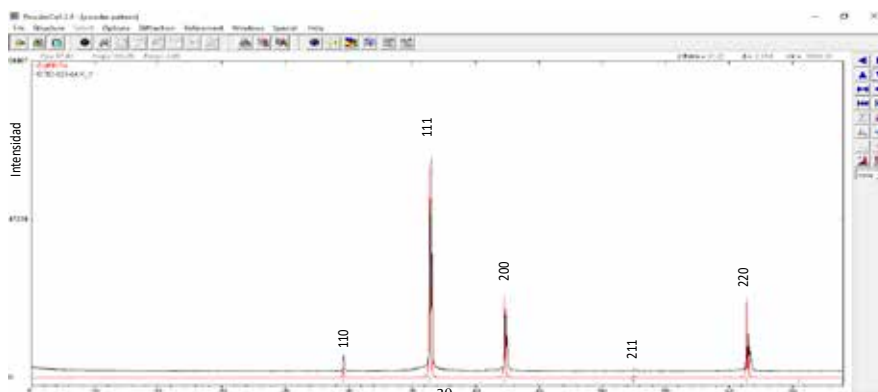
### **Análisis de los difractogramas DRX de la muestra sintetizada empleando glucosa como reductor en medio básico.**

En trabajos anteriores, empleando glucosa e hidracina como reductores, se encontró que, dependiendo del rango de pH empleado en la síntesis, es posible obtener una mezcla de metal/óxido, es decir Cu/Cu<sub>2</sub>O, tanto en el caso del uso de glucosa como reductor y también de la hidracina<sup>19</sup>. Al comparar los difractogramas de la muestra experimental con los patrones

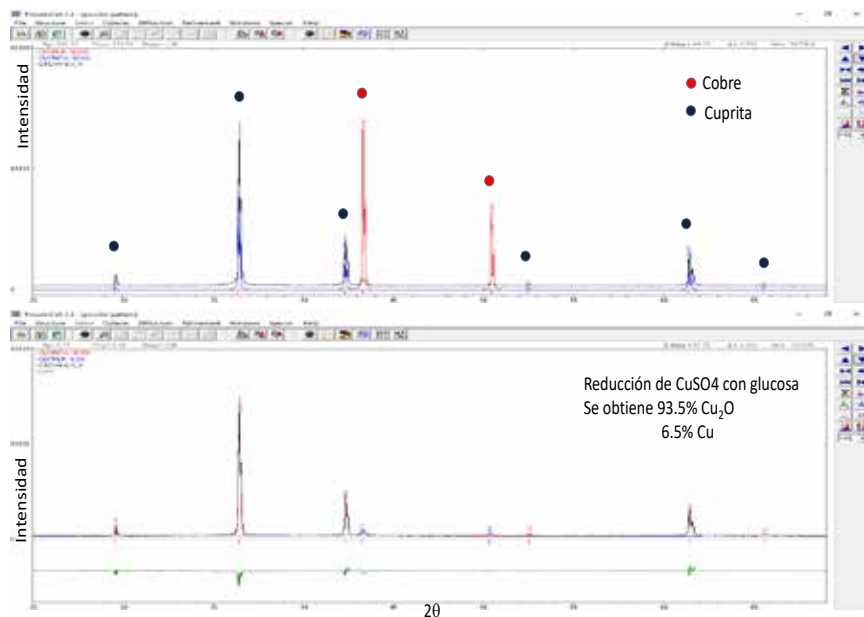
de difracción del cobre y de la cuprita, se puede observar que la muestra obtenida empleando glucosa como reductor a pH=12,3 presenta picos de cobre y cuprita, tal como se observa en la figura 3. Haciendo el análisis cuantitativo se determinó que la muestra final contenía 93,5 % de cuprita y 6,5 % de cobre, con un tamaño de cristalito de 83,23 nm. Algunos investigadores establecieron que los iones  $\text{Cu}^{2+}$  se reducen primero a  $\text{Cu}^+$  por la glucosa y luego el  $\text{Cu}^+$  reacciona con el  $\text{OH}^-$  para formar  $\text{Cu}_2\text{O}$ , de acuerdo a las siguientes ecuaciones<sup>7</sup>:



De acuerdo a los resultados anteriores, se pudo deducir que la síntesis empleando a la glucosa como reductor, podría conducirnos a obtener 100 % cuprita y por eso se llevó a cabo pruebas experimentales modificando el pH, es decir variando la cantidad de NaOH empleada durante el proceso de síntesis de la muestra. Al hacer el análisis comparativo de los difractogramas experimental y el de la cuprita se observa que en este caso solo aparecen los picos de la cuprita, por tanto se obtuvo 100 % cuprita, figura 4.

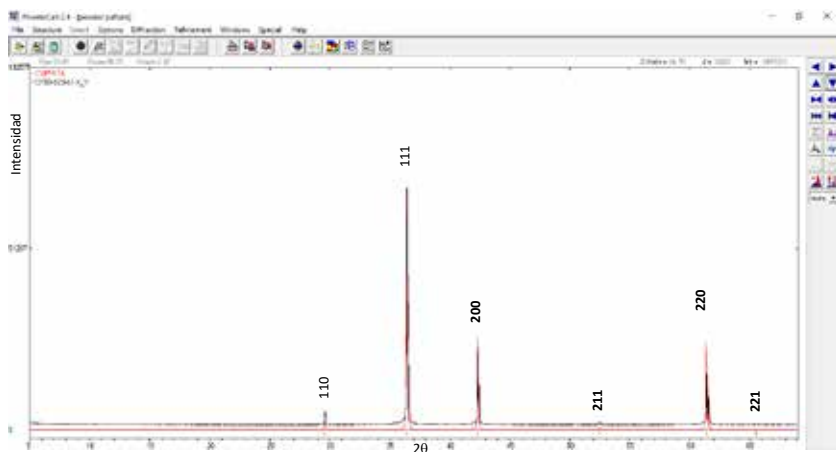


**Figura 3.** Análisis comparativo de los difractogramas patrón del cobre y cuprita con el difractograma de la muestra experimental obtenida de la reducción del sulfato de cobre con glucosa a pH=12,3



**Figura 4.** Análisis comparativo del difractograma patrón de la cuprita y el difractograma de la muestra experimental obtenida de la reducción del sulfato de cobre con glucosa a pH=12.

Otra modificación que se realizó durante el proceso de síntesis empleando la glucosa como reductor fue la de realizar la síntesis de la cuprita en frío, es decir sin calentamiento. Al realizar el análisis comparativo del difractograma experimental con el difractograma patrón de la cuprita, se puede observar que se obtuvo 100 % cuprita, tal como se puede observar en la figura 5.



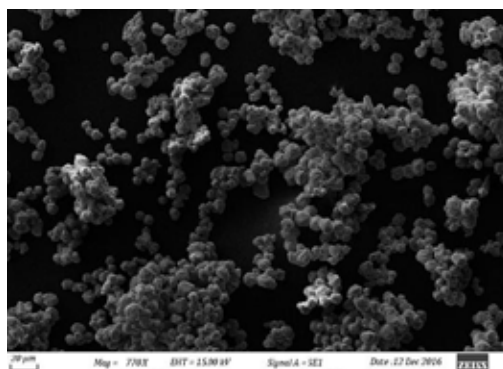
**Figura 5.** Análisis comparativo del difractograma patrón de la cuprita y el difractograma de la muestra experimental obtenida de la reducción del sulfato de cobre con glucosa a pH=12,3, síntesis en frío.

### Análisis de las micrografías MEB de la muestra de cobre obtenida empleando como reductor el ácido ascórbico en medio ácido.

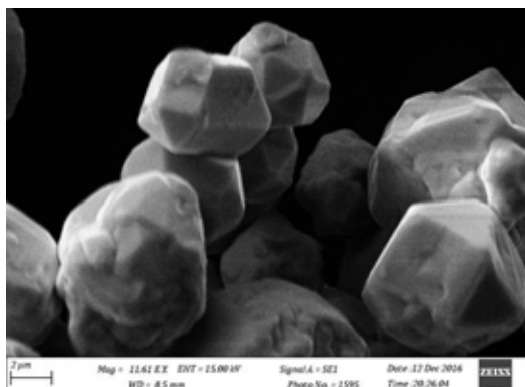
La muestra de cobre fue enviada al Laboratorio de Microscopia Electrónica de Barrido, de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería. Se puede observar en la figura 6 que las partículas están aglomeradas y que presentan una distribución de tamaños casi homogénea, mostrando cristales facetados.

En la figura 7, con una magnificación mayor, se puede observar claramente que los cristales de cobre puro son partículas poliédricas micrométricas de entre 3 - 6  $\mu\text{m}$  de tamaño promedio. Esto concuerda con lo encontrado en la literatura, donde establece que a medida que se aumenta el pH el tamaño de la partícula tiende a disminuir, en nuestro caso el pH experimental fue de 1,66, que es un valor muy bajo y por tanto se obtiene partículas de mayor tamaño.

Es decir, a partir de la reducción del sulfato de cobre empleando ácido ascórbico y a un pH de 1,66 se consiguen obtener partículas en forma de poliedros de tamaños micrométricos.



**Figura 6.** Micrografías MEB a una magnificación de 770X de la muestra obtenida empleando como reductor el ácido ascórbico en medio ácido (pH=1,66).



**Figura 7.** Micrografías MEB 11.61 KX de la muestra de cobre obtenida a partir del precursor sulfato de cobre y ácido ascórbico como reductor.

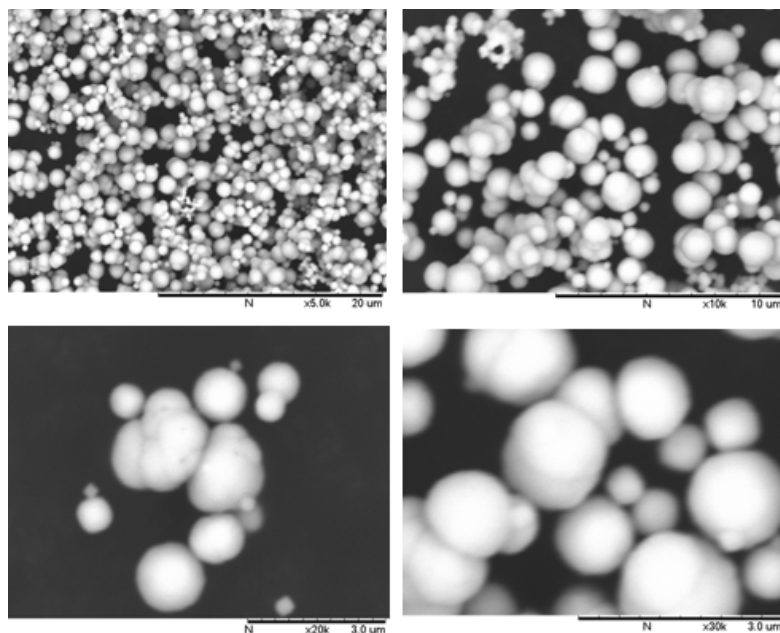
### **Análisis de las micrografías MEB de la cuprita sintetizada con glucosa a pH=12 y con calentamiento**

En la figura 8 se presenta la micrografía MEB de la muestra de cuprita sintetizada con glucosa a pH igual a 12 y con calentamiento. Se puede observar que la morfología de las partículas es esférica y con una distribución de tamaños heterogéneos. Estas micrografías MEB fueron obtenidas en el Microscopio Electrónico de Barrido tipo Tapletop de la PUC-Rio.

Esta misma muestra fue analizada en el Microscopio Electrónico de Barrido de la Facultad de Ciencias de la UNI con la finalidad de tener micrografías con mayor magnificación. En la figura 9 se puede observar que a una magnificación de 112.20 KX se logra observar que se logran sintetizar partículas de cuprita de tamaño nanométrico, es decir nanopartículas. Lamentablemente, no se tuvo acceso a un Microscopio Electrónico de Transmisión (MET) para lograr mayor magnificación y tener más detalle de las muestras.

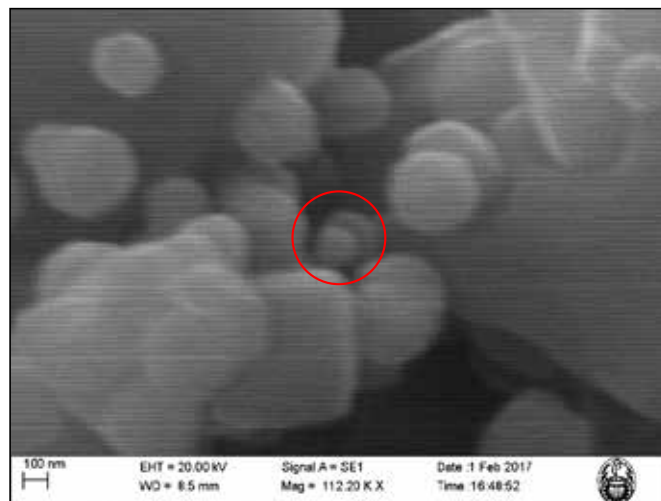
### **Análisis de las micrografías MEB de la cuprita sintetizada con glucosa a pH=12,3 y con calentamiento**

En la figura 10 se presenta las micrografías MEB a 5KX, 10KX, 20KX y 30KX de la muestra de cuprita sintetizada con glucosa a pH igual a 12,3 y con calentamiento. Se puede observar que la morfología de las partículas es una mistura de cuasi-esféricas, cúbicas y tetraédricas con una distribución de tamaños heterogéneos. Las partículas con morfología tetraédrica son las más pequeñas con tamaño menor a 1 $\mu$ m, las partículas cuasi-esféricas, cúbicas y algunas tetraédricas tiene un tamaño promedio de 3 $\mu$ m. Se puede observar en las partículas cúbicas de la micrografía a 30KX que la partícula está constituida de pequeños cristalitas. Además se puede observar que las partículas cúbicas migran a cuasi-esferas y luego estas a tetraedros.

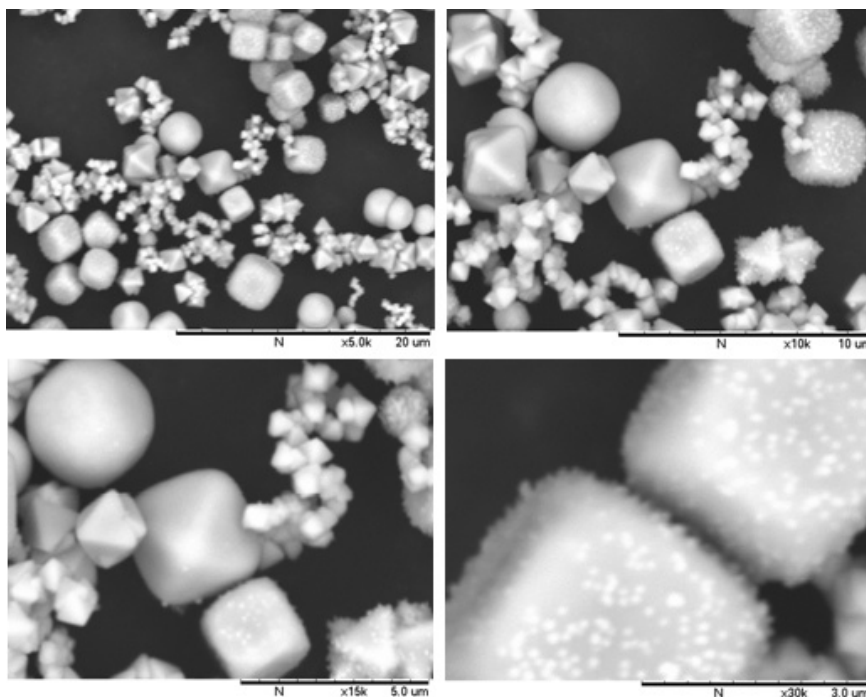


**Figura 8.** Micrografías MEB a 5KX, 10KX, 20KX y 30 KX de la muestra de cuprita sintetizada a pH=12 y con calentamiento.





**Figura 9.** Micrografía MEB a 112.20 KX de la muestra de cuprita sintetizada a pH=12 y con calentamiento.

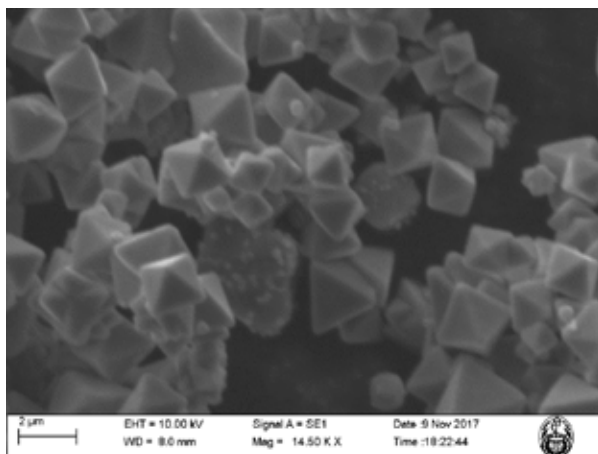


**Figura 10.** Micrografías MEB a 5KX, 10KX, 20KX y 30 KX de la muestra de cuprita sintetizada a pH=12,3 y con calentamiento.

### **Análisis de las micrografías MEB de la cuprita sintetizada con glucosa a pH=12,3 y sin calentamiento**

En la figura 11 se presenta la micrografía MEB a 14.50KX de la muestra de cuprita sintetizada con glucosa a pH igual a 12,3 y sin calentamiento, es decir sintetizada en frío. Se puede observar que la morfología de las partículas es tetraédrica con una distribución de tamaño bastante homogéneo.

De acuerdo a los resultados obtenidos podemos concluir que se pueden sintetizar cuprita de diferentes morfologías reduciendo Cu(II) con glucosa a 60°C o en frío y en medio alcalino. Se encontró que la forma de las partículas de Cu<sub>2</sub>O cambia con el cambio de concentración de NaOH, es decir con la variación del pH. Las diferentes formas de las partículas de Cu<sub>2</sub>O se deben a la absorción de iones OH<sup>-</sup> en las partículas de Cu<sub>2</sub>O, que surgen en la variedad del modo de crecimiento de Cu<sub>2</sub>O, y que luego influyen en la morfología final de las partículas de Cu<sub>2</sub>O.



**Figura 11.** Micrografías MEB a 14.50 KX de la muestra de cuprita sintetizada a pH=12,3 y sin calentamiento.

### **Análisis de los resultados del ensayo realizado para la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria, CIM**

En los ensayos de Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) se usó una cepa ATCC 43300 *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina. El medio de cultivo utilizado para el crecimiento de la cepa como para la realización de la CIM fue Muller Hinton. Las partículas de cuprita fueron disueltas en este medio y la lectura del CIM se realizó por medio de espectrofotometría a una longitud de onda de 600nm. La concentración inicial de la cepa siguió la equivalencia de 0,5 de Mac Farland.

#### **Ensayo con la muestra de cuprita (glucosa como reductor)**

En este ensayo se tomaron las concentraciones de 144, 48, 16, 5,3, 1,7 y 0,56 mg/mL de la muestra de cuprita. La tabla 1 muestra el volumen en µL usado en la preparación de las concentraciones de cuprita. El control negativo corresponde a la concentración de 16 mg/mL.

**Tabla 1.** Volumen en  $\mu\text{L}$  usado en la preparación de las concentraciones de cuprita en el rango de concentraciones 144-0,56mg/mL

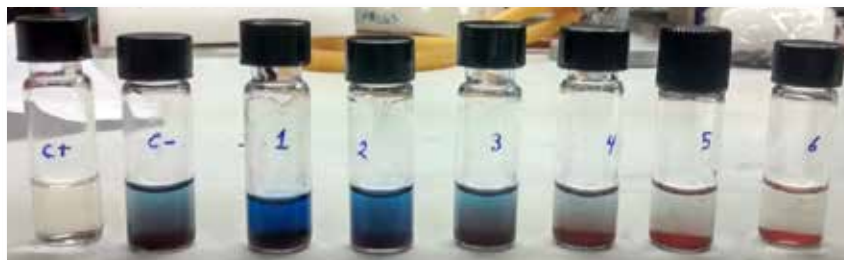
	B	C <sup>-</sup>	C <sup>+</sup>	Concentración de Cobre (mg/mL)					
				144	48	16	5.3	1.7	0.56
MH	1500	1365	1400	185	995	1265	1355	1385	1395
Cobre		135		1215	405	135	45	15	5
Cepa			100	100	100	100	100	100	100

Los resultados de la absorbancia luego de medir el OD se muestran en la tabla 2.

**Tabla 2.** Resultados de la absorbancia de la muestra de cuprita

C <sup>-</sup>	C <sup>+</sup>	144 mg/mL (1)	48 mg/mL (2)	16 mg/mL (3)	5.3 mg/mL (4)	1.7 mg/mL (5)	0.56 mg/mL (6)
1,182	0,65	2,478	2,154	1,025	0,521	0,569	0,554
1,163	0,716	2,318	2,001	1,003	0,524	0,6	0,593
1,082	0,727	2,272	2,021	0,978	0,526	0,654	0,576
1,142	0,698	2,356	2,059	1,002	0,524	0,608	0,574

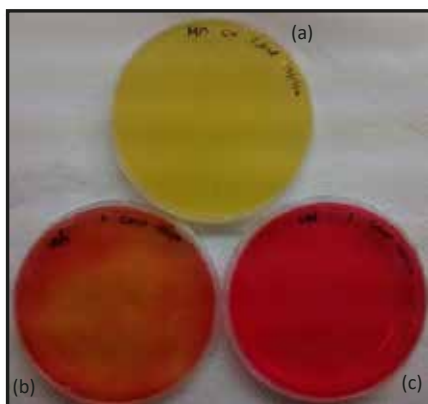
En las figuras 12 y 13 se muestran la coloración luego de preparar los viales con la cepa y las concentraciones de las partículas que se mantienen hasta terminar la MIC. En la figura 12 se observa la coloración luego de vortexear el medio y en la figura 13 se observa que las nanopartículas han sedimentado luego de 20 minutos. Como se observa en el control negativo, la coloración afecta el OD. La diferencia entre el control negativo con su contraparte (vial 3 = 16mg/mL) da un OD de 0,304, por lo cual la CIM de la muestra podría ser 16mg/mL.

**Figura 12.** Imagen que muestra la coloración de los viales luego de vortexear.**Figura 13.** Imagen que muestra la sedimentación de las partículas luego de 20 min del vortexeado

### Análisis de los resultados de las pruebas de crecimiento bacteriano.

En la figura 14 se observa en la placa Petri de la parte superior, crecimiento de la cepa control (*Staphylococcus aureus*) en medio Manitol salado. En la placa Petri de la parte inferior izquierda se observa el crecimiento de la cepa donde la concentración del vial 4 corresponde a 5,3 mg/mL, mientras que en la placa Petri de la parte inferior derecha no se observa crecimiento de la cepa a una concentración de 144mg/mL. Por tanto, la Concentración Inhibitoria Mínima, CIM corresponde a la concentración en la cual la placa que no muestra crecimiento seguida de la placa que sí mostró crecimiento y esto sería a una concentración de 16mg/mL.

Por tanto, este valor de 16 mg/mL sería la Concentración Inhibitoria Mínima, CIM, de la cuprita, necesaria para evitar el crecimiento de la bacteria *Staphylococcus aureus*, lográndose, finalmente, alcanzar el objetivo final del presente trabajo de investigación.



**Figura 14.** Imagen que muestra el crecimiento bacteriano. a) Crecimiento de la bacteria *Staphylococcus aureus* sin presencia de cuprita. b) Parcial crecimiento de la bacteria *Staphylococcus aureus* en presencia de 5,3mg/mL de cuprita. c) Total inhibición del crecimiento de la bacteria *Staphylococcus aureus* en presencia de 16mg/mL de cuprita.

### CONCLUSIONES

Lo que se obtiene a partir de la síntesis de sulfato de cobre pentahidratado empleando ácido ascórbico como reductor a un pH igual a 1,66 es 100 % Cu puro, con una morfología poliédrica y de tamaño micrométrico, mientras que de la síntesis de sulfato de cobre pentahidratado empleando glucosa como reductor y a un pH de 12,3 se obtiene 93,5 % de Cu<sub>2</sub>O y 6,5 % de Cu. Las partículas obtenidas en estas condiciones tienen formas de esferas, cubos y tetraedros, de tamaño heterogéneo.

Se puede obtener 100 % cuprita modificando la concentración del NaOH durante la síntesis que afecta tanto al pH, a la morfología y al tamaño de las partículas. A pH=12 se consiguen partículas de morfología esférica. Además es posible obtener 100 % cuprita haciendo la síntesis sin calentamiento obteniéndose partículas con morfología tetraédrica.

En relación a la actividad antimicrobiana de las partículas de cuprita sintetizadas por ruta química empleando la glucosa como reductor en medio básico, se puede concluir que el óxido de cobre, cuprita,  $\text{Cu}_2\text{O}$ , tiene efecto antimicrobiano sobre la bacteria *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina y que la Concentración Inhibitoria Mínima, CIM, corresponde a una concentración de 16 mg/mL.

## AGRADECIMIENTO

A la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería, a la Pontificia Universidade Católica do Rio de Janeiro, PUC-Rio, Brasil, al laboratorio BISALAB y al Laboratorio de Microbiología de la Universidad Cayetano Heredia por el apoyo en los análisis realizados y al Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional de Ingeniería por el apoyo económico para la realización del presente Proyecto de Investigación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Zendejas-Manzo GS, Avalos-Flores H, Soto-Padilla MY. Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Rev Biomed*. 2014; 25:129-143.
2. Copper Connects Life. Cobre, salud, medio ambiente y nuevas tecnologías. [Internet]. Chile [citado el 15 mayo 2018]. Disponible en: [http://www.umanda.cl/docs/Cobre\\_Salud\\_Medio\\_Ambiente\\_Nuevas\\_Tecnologias.pdf](http://www.umanda.cl/docs/Cobre_Salud_Medio_Ambiente_Nuevas_Tecnologias.pdf)
3. López-Fernández MJ, Llanos-Méndez A, Romero-Tabares A, Gómez RI. Eficacia, efectividad y seguridad de las superficies de cobre antimicrobiano en la prevención de las infecciones relacionadas con la asistencia sanitaria. [Internet]. Sevilla, España: Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias AETSA; 2016. [citado el 11 abril 2018]. Disponible en: [http://www.aetsa.org/download/publicaciones/07-A\\_AETSA\\_Superficies-de-Cobre\\_DEF\\_NIPO.pdf](http://www.aetsa.org/download/publicaciones/07-A_AETSA_Superficies-de-Cobre_DEF_NIPO.pdf)
4. Flórez Palacios LM. Estudio de la actividad de las nanopartículas de óxido cúprico suspendido en pbs en cepas bacterianas estándar. [Tesis de Titulación]. Lima-Perú: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2017 [citado el 25 de octubre del 2017]. Disponible en <http://repositorio.upch.edu.pe/handle/upch/462>
5. Saikova SV, Vorob'ev SA, Nikolaeva RB, and Mikhlina YL, Conditions for the Formation of Copper Nanoparticles by Reduction of Copper (II) Ions with Hydrazine Hydrate Solutions. *Russ J Gen Chem*. 2010; 80 (6):1122-1127.
6. Obraztsova II, Simenyuk GY, and Eremenko NK. Preparation of Nanosized Copper Powders with Controlled Dispersity. *Russ J Appl Chem*. 2010; 84 (6): 912-915.
7. Wang YJ, Zhou KG. Effect of OH<sup>-</sup> on morphology of  $\text{Cu}_2\text{O}$  particles prepared through reduction of  $\text{Cu(II)}$  by glucose. *J Cent South Univ*. 2012; 19: 2125-2129
8. Khan MA, Ullah M, Iqbal T, Mahmood H, Khan AA, Shafique M, et al. Surfactant Assisted Synthesis of Cuprous Oxide ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ) Nanoparticles via Solvothermal Process. *Nanosci Nanotechnol Res*. 2015; 3 (1):16-22.

9. Ismat Zerin L, Lutfun Naher H, Sarwaruddin Chowdhury AM, Gafur MA, Nuruzzaman K, Ruhul A. K. Preparation and Characterization of Copper Oxide Nanoparticles Synthesized via Chemical Precipitation Method. *OAlib*. 2015; 2: 1-8. doi: 10.4236/oalib.1101409
10. Téllez MC, Rodríguez G, Reguera E. Síntesis de nanoestructuras de Óxido de cobre I y II. [Internet] III Simposio de Tecnología Avanzada, 17 al 24 de junio de 2009; México DF, México. [Citado 22 enero 2018] Disponible en: [http://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/123456789/11513/1/libro3sta\\_34.pdf](http://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/123456789/11513/1/libro3sta_34.pdf)
11. Jadhav S, Gaikwad S, Nimse M, Rajbhoj A. Copper Oxide Nanoparticles: Synthesis, Characterization and Their Antibacterial Activity. *J Clust Sci*. 2011; 22 (2): 121-129.
12. Ahamed M, Alhadlaq HA, Khan MAM, Karuppiyah P, Al-Dhabi NA. Synthesis, Characterization, and Antimicrobial Activity of Copper Oxide Nanoparticles. *J Nanomater*. 2014. Article ID 637858, 4 pages. doi: 10.1155/2014/637858.
13. Yi-Huang Hsueh, Ping-Han Tsai and Kuen-Song Lin, pH-Dependent Antimicrobial Properties of Copper Oxide Nanoparticles in *Staphylococcus aureus*. *Int J Mol Sci*. 2017;18(4). pii: E793. doi: 10.3390/ijms18040793
14. Yadav L, Tripathi RV, Prasad R, Pudake RM, Mittal J. Antibacterial Activity of Cu Nanoparticles against *E. coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Nano Biomed Eng*. 2017; 9(1): 9-14. doi: 10.5101/nbe.v9i1.p9-14.
15. Cheng Ling S, Yuan Fang L, WenJing QI, Cheng Zhi W. Investigations of the interaction between cuprous oxide nanoparticles and *Staphylococcus aureus*. *Sci China Ser B: Chem*. 2009; 52(7): 1028-1032.
16. Ahmed MA, Mahmoud MH, Ashraf MES, Marwa RH. Antibacterial activity of cupric oxide nanoparticles against pathogenic bacteria. *J Basic Environ Sci*. 2016; 3:90-93.
17. Du BD, Phu DV, Quoc LA, Hien NQ. Synthesis and Investigation of Antimicrobial Activity of Cu<sub>2</sub>O Nanoparticles/Zeolite. *J Nanopart*. 2017. Article ID 7056864, 6 pages. doi: 10.1155/2017/7056864
18. Liu KM, Takehiro Y, Kensuke K, Masazumi O. Preparation of Cu nanoparticles with ascorbic acid by aqueous solution reduction method. *Trans Nonferrous Met Soc China*. 2012: 2198-2203
19. Granata G, Yamaoka T, Pagnanelli F y Fuwa A. Study of the synthesis of copper nanoparticles: the role of capping and kinetic towards control of particle size and stability. *J Nanoparticle Res*. 2016;18:133. doi: 10.1007/s11051-016-3438-6.

## **APLICACIÓN DE TECNOLOGÍA ANALÍTICA DE PROCESO (PAT) PARA CONTROLAR ATRIBUTOS DE CALIDAD CRÍTICOS UTILIZANDO LA ESPECTROSCOPIA NIR EN UN PROCESO DE FABRICACIÓN DE UN POLVO PARA SUSPENSIÓN**

Ruben Cueva Mestanza<sup>\*a</sup>

### **RESUMEN**

El trabajo define los pasos a seguir para determinar los atributos de calidad críticos en un proceso de fabricación de un producto farmacéutico. Analizándose el impacto y la criticidad de cada una de las operaciones de fabricación en la calidad del producto y definiendo los atributos críticos a controlar. De acuerdo con los resultados obtenidos, se decidió aplicar la espectroscopia NIR como alternativa a los métodos convencionales para controlar, de forma rápida, los atributos críticos durante el proceso de fabricación de un polvo para suspensión. El objetivo es construir la calidad del producto final, controlando atributos críticos de calidad de los productos intermedios en el mismo proceso aplicando la Tecnología Analítica de Procesos (PAT).

**Palabras clave:** control de calidad, atributos críticos de calidad, espectroscopia NIR, Tecnología Analítica de Procesos (PAT).

## **APPLICATION OF PROCESS ANALYTICAL TECHNOLOGY (PAT) TO CONTROL CRITICAL QUALITY ATTRIBUTES USING NIR SPECTROSCOPY IN A POWDER MANUFACTURING PROCESS FOR SUSPENSION**

### **ABSTRACT**

In the present work are defined the steps to follow in order to determine the critical quality attributes in a manufacturing process of a pharmaceutical product. Analyzing the impact and criticality of each of the manufacturing operations in the quality of the product and defining the critical attributes to control. According to the results obtained, it was decided to apply NIR spectroscopy as an alternative to conventional methods to quickly control the critical attributes during the manufacturing process of a powder for suspension. The objective is to build the quality of the final product, controlling critical quality attributes of intermediate products in the same process by applying Process Analytical Technology (PAT).

**Key words:** Quality control, critical quality attributes, NIR spectroscopy, Process Analytical Technology (PAT).

<sup>\*a</sup> Universidad María Auxiliadora. eduardo5121@hotmail.com

## INTRODUCCIÓN

La industria farmacéutica es reconocida como una de las más exigentes en cuanto al cumplimiento de estándares de calidad, considerando la criticidad de los productos que elabora. Sin embargo, a pesar de ello, frecuentemente se reportan eventos que comprometen la calidad de los medicamentos<sup>1</sup>, los que principalmente se encuentran asociados a la baja compresión del proceso y a la inadecuada estandarización de los procesos que obliga a la permanente actualización de la información reportada ante los organismos reguladores para lograr la autorización de comercialización del producto, lo que se traduce en costosas inversiones de recursos, tiempo y esfuerzo tanto para las empresas como para los organismos de control<sup>2</sup>. Por tal razón, durante los últimos años se han enfocado los esfuerzos hacia la búsqueda e implementación de estrategias basadas en la gestión del conocimiento y en la gestión del riesgo en calidad, teniendo en cuenta el aporte que significa su implementación.

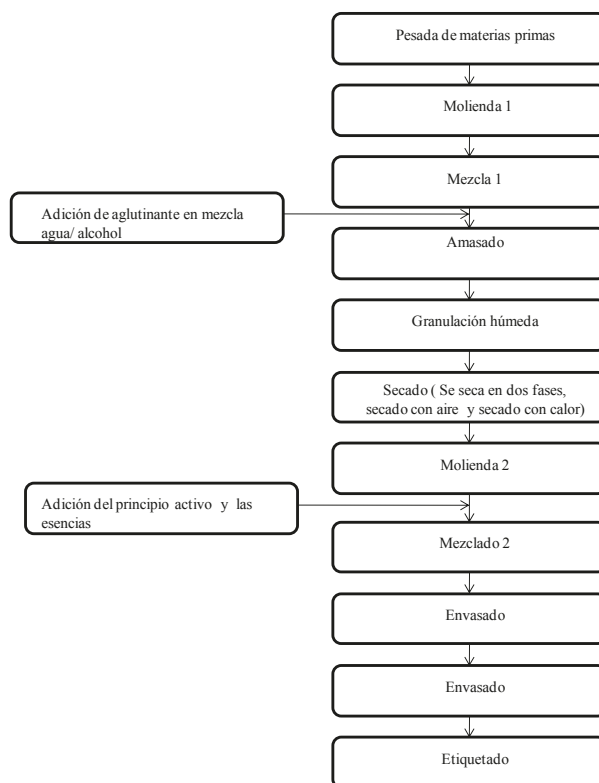
Por otro lado, las nuevas normativas incluyen el concepto de Tecnología Analítica de Procesos (*cGMP for the 21<sup>st</sup> century* publicada por la FDA 2002<sup>3</sup> y EMA en el 2003<sup>4</sup>) como un sistema para el diseño, análisis y control de la producción farmacéutica a través de medidas de atributos críticos de calidad. Las medidas realizadas en las materias primas y durante el proceso o en parámetros del proceso con la finalidad de mejorar la calidad del producto final<sup>5</sup>. La aplicación de PAT es una necesidad debido a que las compañías farmacéuticas se enfrentan cada día a la creciente demanda de una mayor productividad y con menores costos de fabricación, además de cumplir con las necesidades de la evolución de los estándares de calidad, los cuales son cada vez más altos. El objetivo del PAT es mejorar el conocimiento y la comprensión del proceso para que los procedimientos se puedan realizar de manera diferente y sobre todo más eficiente, controlando durante el proceso atributos críticos. La aplicación de PAT nos permite (i) reducir el ciclo de producción a través de prueba de liberación rápida, (ii) mejorar consistentemente el proceso, (iii) reducir la pérdida de lotes o su reprocesamiento, a través de un aumento en el muestreo en tiempo real y promover la liberación de lotes en tiempo real. El objetivo de este trabajo es definir los atributos críticos en un proceso de fabricación y la aplicación de la espectroscopia NIR para evaluar la calidad del producto a partir de los atributos críticos: Secado y molienda (humedad), en la molienda y en la mezcla final (tamaño de partícula medio) y en el mezclado (homogeneidad), atributos que afectan directamente la calidad del producto final y de este modo alcanzar un mejor conocimiento del proceso y controlar cualquier desviación. Este trabajo se divide en dos partes. La primera consiste en examinar las etapas del proceso de fabricación y establecer los atributos críticos durante el proceso de fabricación de polvo para suspensión, la segunda corresponde a la aplicación de la espectroscopia NIR para controlar los atributos críticos de calidad: predecir humedad en el secado y la molienda, determinar el tamaño de partícula medio en la molienda y en la mezcla final, así como el punto final del mezclado, donde la mezcla se considera homogénea en la mezcla final en un polvo para suspensión. Estas metodologías son desarrolladas con el fin de ser aplicadas para entender y controlar el proceso. Aplicándose en el control de atributos críticos durante el proceso de fabricación de una forma farmacéutica sólida que se presenta como polvo para suspensión.



## PARTE EXPERIMENTAL

### Materiales y métodos

**1.- Revisión del proceso.** El proceso de estudio involucra las etapas de dispensado o pesaje de las materias primas, molienda 1 (molienda de los componentes de la fórmula, excepto el principio activo y las esencias), mezcla, amasado, granulación, secado (secado con aire y secado con calor), molienda 2 (molienda de los componentes de la fórmula, excepto el principio activo y las esencias) y mezclado 2 (se adiciona el principio activo con las esencias), envasado y etiquetado, tal cual se muestra en la figura 1



**Figura 1.** Etapas de la fabricación del producto polvo para suspensión.

### Definición de los atributos de calidad y los atributos críticos de calidad del producto

Teniendo en cuenta que el producto polvo para suspensión ya se encuentra en el mercado, la definición de los atributos de calidad se realizó considerando la experiencia misma del laboratorio farmacéutico sobre el producto. Sobre esta base, fue realizado el análisis de cuáles de todos los atributos de calidad revestía particular criticidad, con el objeto de focalizar los esfuerzos de control de estos para garantizar su estricto cumplimiento. Los atributos críticos

de calidad permiten focalizar los esfuerzos en el mejoramiento del producto y su proceso productivo. La tabla 1 muestra los resultados consensuados para evaluar la criticidad de los atributos críticos definidos a partir de los requerimientos técnicos del producto.

De otro lado, a cada atributo de calidad se le asignó una puntuación de 1, 3 ó 9, teniendo en cuenta el análisis previamente realizado acerca de la importancia de cada uno de ellos y, fundamentalmente, su incidencia en el desempeño del producto y su aceptabilidad por parte de los consumidores. Como se observa, los mayores puntajes han sido otorgados al peso, humedad, potencia y a la uniformidad de contenido.

**Tabla 1.** Atributos críticos de calidad para el producto polvo para suspensión.

1	9	3	3	3	9	9	9	9
pH	Peso	Propiedades organolépticas			Volumen de entrega	Potencia	Humedad	Uniformidad de contenido
		Color	Salor	Olor				

Se realizó un análisis para identificar las etapas del proceso productivo que resultan críticas para el cumplimiento de las especificaciones de calidad del producto (tabla 2). De acuerdo con los resultados obtenidos, se identifican tres etapas del proceso de producción que resultan críticas para la calidad del producto: Secado, molienda 2, y mezcla 2 (valores superiores a 150 de ponderación).

**Tabla 1.** Matriz de ponderación de la criticidad de cada una de las etapas del proceso de fabricación del producto polvo para suspensión, en el cumplimiento de sus especificaciones.

	1	9	3	3	3	9	9	9	9	
Proceso	pH	Peso del frasco con contenido	Propiedades organolépticas			Volumen de entrega	Potencia	Humedad	Uniformidad de contenido	Ponderación
			Color	Salor	Olor					
Pesada de materias primas	3	3	3	3	1	1	3	1	3	123
Molienda 1	1	1	1	3	1	1	1	1	3	79
Mezcla 1	9	1	3	3	1	1	1	1	1	75
Amasado	1	1	1	1	1	1	1	3	1	73
Granulación	1	9	1	1	1	1	1	1	3	145
Secado	1	1	1	1	1	1	3	9	3	163
Molienda 2	1	9	1	1	1	1	9	1	9	271
Mezcla 2	1	1	1	1	1	1	9	1	9	200
Envasado	1	9	1	1	1	1	1	3	1	145

En estas tres etapas del proceso de fabricación de polvo para suspensión se determina, a partir de un análisis de riesgo, que los errores en los procesos afectan directamente la humedad, el tamaño de partícula y la homogeneidad (atributos críticos de calidad en los productos intermedios). Por tal razón, se seleccionaron estos atributos para ser analizados y controlados por una técnica rápida, como la espectroscopia NIR, durante el proceso de fabricación de polvo para suspensión.

**Hardware y Software.** Los espectros de reflectancia fueron adquiridos con un espectrofotómetro Analizador NIR de mano PHazir TM. (Polychromix, inc) controlado a través del PolychromixPhazirTM MG; cada espectro fue el resultado de 5 scans. Los espectros se registraron en un rango de longitudes de onda de 1600-2400 nm con una resolución de 12 nm. El software Unscrambler V. 9.8 de CamoProcess (Trondheim, Norway) fue utilizado para el tratamiento matemático.

Registro de los espectros. Los espectros se registraron a través de la bolsa de plástico donde se recogió la muestra del proceso de mezclado, molienda y secado, en el un rango de 1600-2400 nm, usando como referencia una placa de cerámica presente en la tapa de referencia del equipo.

**Pre-tratamientos de los espectros NIR.** Con el objetivo de reducir la variabilidad asociada a las características físicas y/o ruido de los espectros obtenidos de la fase de mezclado y secado, los espectros fueron sometidos a diferentes pre-tratamientos espectrales, como: Estándar Normal Variate (SNV), 1<sup>era</sup> y 2<sup>da</sup> derivada utilizando en estas últimas el algoritmo de SavitzkyGolay con una ventana móvil de tres puntos y ajustados a un polinomio de 2<sup>do</sup> grado.

## **Aplicación de la espectroscopia NIR para el control de atributos críticos de calidad**

### **a) Determinación de la humedad**

**Método de referencia.** El método de referencia es el análisis por pérdida por secado en un analizador de Humedad Mettler Toledo Modelo HB43-S, se pesó alrededor de un gramo de muestra a una temperatura de 60° C.

### **Método NIR**

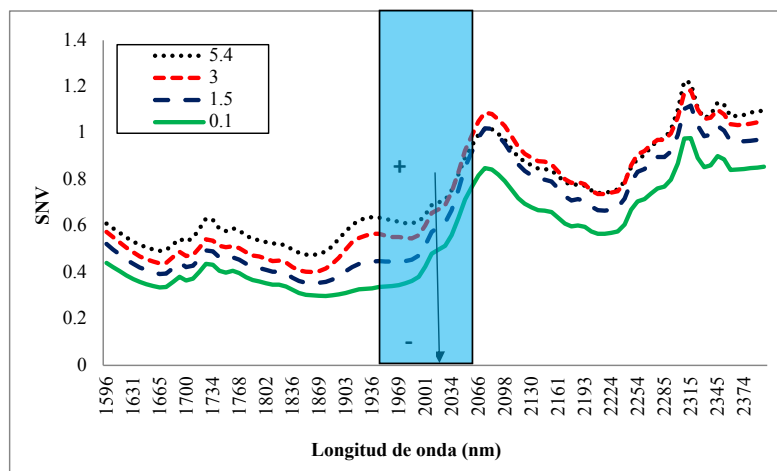
#### **Muestras para crear el método para cuantificar la humedad**

La ecuación de calibración PLS1 para cuantificar la humedad se estableció con muestras de producción (muestras de producción recogidas durante el proceso de secado). Se comprobó la humedad por el método tradicional/referencia (balanza de humedad). El conjunto de muestras se dividió en dos grupos. El primer grupo, conjunto de calibración, se empleó para construir el modelo de calibración. El segundo grupo, conjunto de validación, se utilizó para validar la ecuación de calibración PLS1 y determinar su capacidad predictiva.

### **Modelo PLS**

El rango espectral empleado para construir el modelo de cuantificación seleccionado es entre 1869-1985 nm, ya que en este rango tiene mayor absorbancia el agua (figura 3).

El pre-tratamiento matemático de los espectros seleccionados permite la corrección de la derivada de la línea base como consecuencia de la variabilidad habitual en las propiedades físicas de las diferentes muestras. El espectro NIR depende tanto de las propiedades químicas de la muestra como de algunas de sus propiedades físicas como son la forma, el tamaño de partícula o el grado de compactación de la muestra. El conjunto de muestras de calibración debe recoger todas las fuentes de variabilidad posibles, por ello son necesarias muestras de producción para incorporar al modelo la variabilidad debida al proceso de fabricación. Las muestras fueron recogidas durante el proceso de fabricación. El modelo ha sido validado, en primer lugar, internamente para asegurar su consistencia, usando espectros de muestras de producción. En este paso, se verifican y definen las longitudes de onda a emplear, el número de componentes PLS necesarios y otros parámetros del modelo PLS1. En segundo lugar, se ha efectuado la validación externa del modelo PLS1 empleando muestras de producción diferentes a las muestras empleadas para la validación interna.



**Figura 2.** Espectros de muestras con distinto porcentaje de humedad.

El criterio para establecer el número de factores es seleccionar aquel que proporcione un menor error en predicción: RMSE (Root Mean Square Error) ha sido utilizado para evaluar los errores de calibración y predicción, definidos como RMSEC y RMSEP, respectivamente, seleccionando el número de factores en función del error de predicción.

$n$  es el número de muestras,  $Y_{iNIR}$  corresponde a los valores predichos por el modelo y  $Y_{iREF}$  los valores de referencia. El RMSE puede ser considerado como el error medio obtenido en el proceso de modelado y está expresado en las mismas unidades que los datos de referencia.

La tabla 3 muestra los parámetros más significativos del modelo PLS construido. Aunque el primer factor PLS describe un 98,1 % de la varianza total, fue necesario tres factores (98,5 %) para ajustar correctamente el modelo y conseguir una buena capacidad predictiva. Los parámetros más relevantes del modelo se recogen en la tabla 3.

**Tabla 3.** Parámetros relevantes de los modelos de calibración construidos para la determinación de la humedad en polvo para suspensión.

Muestras	Humedad	
	Calibración	Predicción
	Producción	Producción
Pre-tratamiento	SNV	SNV
Rango (nm)	1869-1985	
Rango de humedad %	5.4-0.16	0.17-2.3
Factores	3	
Varianza explicada Y (%)	98.5	
Nº muestras	23	35
RMSEC/P (%)	0.21	1.37

## b) Determinación del tamaño de partícula medio

### Método de referencia

Se determinó el tamaño de partícula medio de los granulados de producción, tomando una muestra de alrededor de 20 g de cada granulado y tamizándolo en cuatro fracciones de diferentes tamaños de partícula. Se seleccionaron tres tamices de 425, 250, 180 µm, además se recogió la fracción de granulado < 180 µm que atravesó todos los tamices. Cada una de las fracciones se pesó en una balanza analítica, obteniéndose así el porcentaje de muestra en cada tamiz. Los datos fueron utilizados para obtener el tamaño de partícula medio según la fórmula siguiente [17].

$$\text{Tamaño de partícula medio} = \frac{\text{Peso de la fracción } Xn^{\circ} \text{ tamaño de la partícula de la fracción}}{\text{Peso total}}$$

### Método NIR

#### Muestras para crear el método para cuantificar el tamaño de partícula medio

La ecuación de calibración PLS1, para cuantificar el tamaño de partícula medio, se establece con muestras de producción (muestras de producción recogidas después de la molienda). Se comprobó el tamaño de partícula medio por el método tradicional/referencia (tamizado).

El conjunto de muestras fueron divididos en dos grupos. El primer grupo, conjunto de calibración, fue empleado para construir el modelo de calibración. El segundo grupo, conjunto de validación, se utilizó para validar la ecuación de calibración PLS1 y determinar su capacidad predictiva.

### Modelo PLS

El rango espectral empleado, para construir el modelo de cuantificación, se ha seleccionado entre 1595-1877, 1993-2284 nm, ya que en este rango el agua no influye en el espectro.

El espectro NIR depende tanto de las propiedades químicas de la muestra como de algunas de sus propiedades físicas, como son la forma, el tamaño de partícula o el grado de compactación de la muestra. El conjunto de muestras de calibración debe recoger todas las fuentes de variabilidad posibles, por ello son necesarias muestras de producción para incorporar al modelo la variabilidad debido al proceso de fabricación. Las muestras fueron recogidas durante el proceso de molienda 2 y mezcla 2.

El modelo ha sido validado, en primer lugar, internamente para asegurar su consistencia, usando espectros de muestras de producción. En este paso, se verifican y definen las longitudes de onda a emplear, el número de componentes PLS necesarios y otros parámetros del modelo PLS1. En segundo lugar, se efectuó la validación externa del modelo PLS1 empleando gránulos de la etapa de molienda 2 y mezcla 2 del producto polvo para suspensión.

El criterio para establecer el número de factores fue el mismo que se utilizó en el método para determinar la humedad.

La tabla 4 muestra los parámetros más significativos del modelo PLS construido. Fueron necesarios cinco factores (90,2 %) para ajustar correctamente el modelo y conseguir una buena capacidad predictiva. Los parámetros más relevantes del modelo se recogen en la tabla 4.

**Tabla 4.** Parámetros relevantes de los modelos de calibración construidos para la determinación del tamaño de partícula medio de polvo para suspensión.

Muestras Pre-tratamiento	Humedad	
	Calibración	Predicción
	Producción	Producción
Rango (nm)	1869-1985	
Rango de humedad %	5.4-0.16	0.17-2.3
Factores	3	
Varianza explicada Y (%)	98.5	
Nº muestras	23	35
RMSEC/P (%)	0.21	1.37

Toma de muestra. Se tomaron cuatro muestras a diferentes tiempos durante el proceso de mezclado con intervalo de 10 minutos, a los 10, 20 y 30 minutos, del inicio, a la mitad y al final de la descarga del mezclador en V. La figura 5 muestra los puntos donde se ha hecho el muestreo en el mezclador en V.

### Método NIR

Desviación estándar de espectros. Consiste en el cálculo de la desviación estándar de la absorbancia, DS, a cada longitud de onda de los espectros obtenidos a un determinado tiempo en el proceso de mezclado (Ec. 1), donde n es el número de espectros (n=4),  $\bar{A}$  es el promedio de la absorbancia a cada longitud de onda de n espectros consecutivos y  $A_j$  es la absorbancia a cada longitud de onda de cada espectro j.

$$DS = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (\bar{A} - A_j)^2}{n - 1}} \quad (\text{Ec. 1})$$

Después se calculó el promedio de DS para todas las longitudes de onda, según (Ec. 2), donde m es el número de longitudes de onda i.

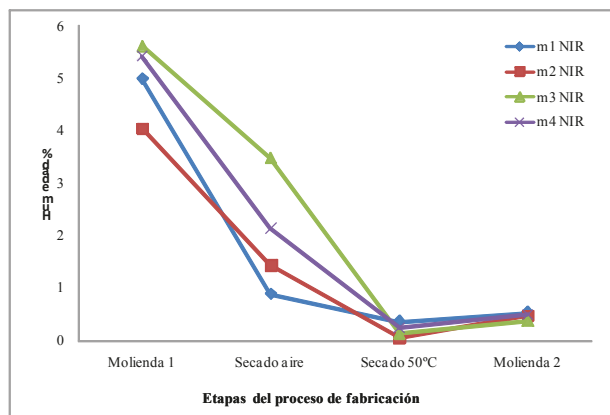
$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^m S}{m} \quad (\text{Ec. 2})$$

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**1.- Determinación de la humedad.** Se analizaron muestras después del secado, por el método NIR y por el método de referencia (balanza de humedad). Las muestras analizadas corresponden a 9 lotes. Por cada lote se tomaron cuatro muestras correspondientes a las cuatro fracciones en las que se dividió el lote para la etapa de secado. La aplicación de una prueba t (paired test significance) al 95 % de confianza, sobre las diferencias entre los espectros NIR y los valores de referencia reveló que los resultados de los dos métodos no muestran diferencias significativas entre ellos.

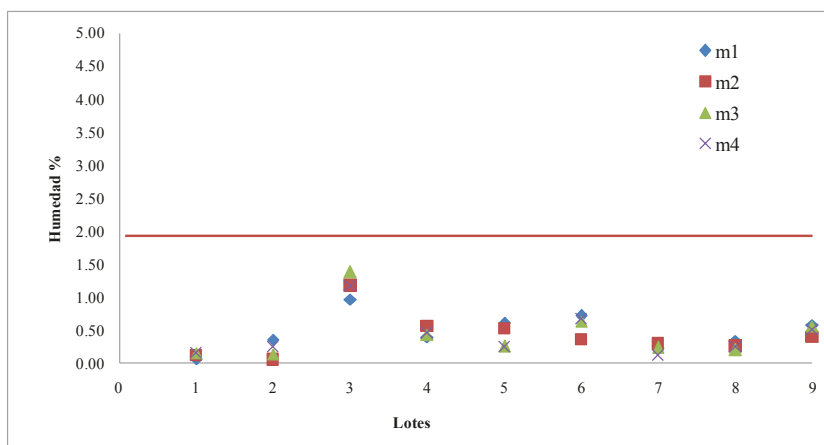
Al no presentar diferencias entre el método NIR y el de referencia se decidió aplicar el método NIR para determinar la humedad en muestras correspondientes a tres etapas críticas, donde la humedad es un atributo crítico, las etapas son: molienda 1, secado y molienda 2 (4 muestras por etapa). La figura 4 muestra los resultados obtenidos por el método NIR para cada una de las etapas. Observándose en la etapa de molienda 1 (etapa después de la adición del aglutínate) la humedad se encuentra entre 4 y 6 %. Determinar la humedad en esta etapa nos permite controlar nuestro proceso, ya que valores superiores indicarían que se ha adicionado demasiado diluyente o aglutinante y valores inferiores nos puede indicar lo contrario. La etapa del secado se dividió en dos, una con aire para eliminar el alcohol y otra con calor para eliminar el agua. Se observa que en el secado con aire los valores tienen mayor desviación que en el secado con calor, donde todas las muestras tienen valores inferiores a 0,5 % de humedad. Por otro lado, en la etapa de molienda 2, existe un ligero incremento de la humedad de las muestras. Esta observación de incremento de humedad en la molienda

2, nos puede orientar a pensar que el producto capta humedad en el proceso. Por lo cual es importante el correcto almacenamiento de producto para evitar un aumento en el porcentaje de humedad, el cual puede afectar las características del producto final.



**Figura 3.** Evolución de los valores del contenido de humedad en tres etapas del proceso de fabricación de polvo para suspensión.

El método NIR, para determinar la humedad, se aplicó en la monitorización de 9 lotes, por cada lote se tomaron 4 muestras correspondientes a las cuatro fracciones en las que se dividió el lote para secarlo en el secador de lecho fluido. La figura 5 muestra los resultados obtenido por el método NIR para determinar la humedad. Probándose la aplicabilidad de este método para la monitorización de la humedad en procesos. Los resultados para los 9 lotes muestran que la etapa de secado está bajo control con resultados inferiores al límite (2 % de humedad establecido para este producto).



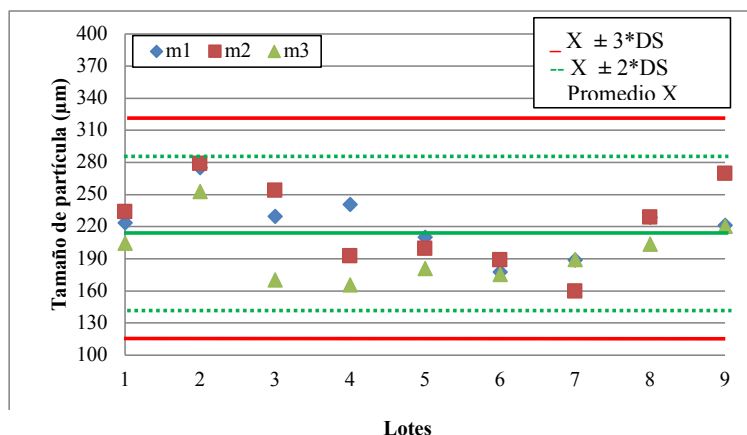
**Figura 4.** Evolución de los valores del contenido de humedad en la etapa de secado de 9 lotes consecutivos en un polvo para suspensión (2 % de humedad máximo aceptable para el producto según las especificaciones).



**2.- Determinación del tamaño de partícula medio.** Se analizaron muestras después de la molienda 2 y de la mezcla 2 por el método NIR y por el método de referencia (tamizado) estas muestras corresponden a 2 lotes, por cada lote se tomaron 4 muestras. La aplicación de una prueba t (paired test significance) al 95 % de confianza, sobre las diferencias entre los espectros NIR y los valores de referencia revelaron que los resultados de los dos métodos no muestran diferencias significativas entre ellos. El modelo construido se ha utilizado en la predicción del tamaño de partícula medio de 9 lotes en la etapa de la molienda 2, por cada lote se tomaron tres muestras correspondientes, al inicio, medio y final de la molienda: se ha obtenido una media de 214  $\mu\text{m}$ .

La figura 6 muestra el gráfico de control de los tamaños de partícula medio predichos, donde observamos las fluctuaciones de tamaño de partícula medio de las muestras. Los valores se distribuyen aleatoriamente alrededor de un valor central (el promedio de los datos) y ninguno de los valores tiene un tamaño de partícula medio fuera del límite definido por el valor medio  $\pm 2\text{DS}$  (DS = desviación estándar).

El diagrama de control de los valores individuales es efectivo para controlar desviaciones y tendencias a partir de valores individuales y se puede deducir que el proceso de molienda 2 está bajo control.

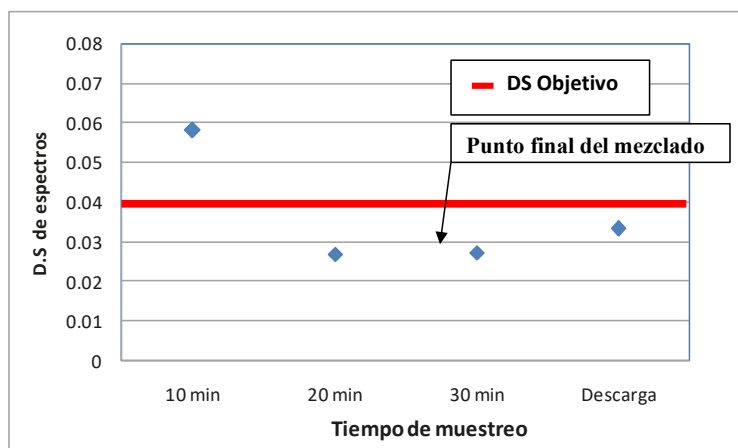


**Figura 5.** Gráfico de control de tamaño de partícula medio para muestras de la etapa de molienda 2 de polvo para suspensión.

### 3.- Método cualitativo para determinar el punto final en el mezclado

**Determinación del pre-tratamiento.** Para determinar los pre-tratamientos más idóneos se aplicaron varios tratamientos a cada uno de los espectros obtenidos con el espectrofotómetro NIR del proceso de mezclado, obteniéndose que el pre-tratamiento que reduce más la variabilidad física de la muestra y la producida por el sistema de registro, así como el ruido instrumental, fue Estándar Normal Variate (SNV).

**Determinación cualitativa de la homogeneidad de la mezcla.** Previo a la aplicación de la metodología de desviación estándar de los espectros para la determinación cualitativa de la homogeneidad, se ha comprobado experimentalmente la desviación estándar de una mezcla que se considera homogénea, donde las variaciones son debidas a las variaciones producidas por el registro de los espectro y por el equipo NIR, registrando los espectros de una muestra representativa de la mezcla (mezcla de la parte inicial, media y final de la descarga) que ha sido homogenizada manualmente. Se registró cuatro veces, colocando la bolsa de plástico en diferentes posiciones cada vez, obteniéndose un valor de desviación estándar de 0,040 para los espectros obtenidos. Este valor se toma como valor objetivo para determinar cuándo la mezcla es homogénea. La figura 7 muestra la representación gráfica de desviación estándar frente al tiempo de muestreo, nos permite determinar a qué tiempo se considera la mezcla homogénea, considerándose que a los 10 minutos la mezcla no ha logrado la homogeneidad, debido a que la desviación estándar de los espectros es superior de lo que se espera para una mezcla homogénea; por otro lado, la mezcla a los 20, 30 minutos y en la descarga se pueden considerar homogéneas ya que sus valores están por debajo del valor objetivo (muestras en las que las diferencias de sus valores solo se deben al registros de los espectros).



**Figura 6.** Aplicación de la metodología de la desviación estándar de los espectros a un proceso de mezclado de polvo para suspensión.

## **CONCLUSIONES**

A raíz de un estudio de análisis de riesgo se ha determinado los atributos que se tienen que controlar en la fabricación, los cuales son la humedad, el tamaño de partícula y la homogeneidad, para obtener un producto de calidad. Para poder controlar estos atributos críticos en el proceso, se ha aplicado NIR en el contexto de PAT. Desarrollándose nuevas metodologías para el seguimiento y control espectroscópico de un proceso de fabricación, los espectros obtenidos han permitido realizar un estudio cuantitativo de la humedad. El modelo de calibración PLS construido permite realizar la determinación correcta del contenido de humedad en el proceso de fabricación de polvo para suspensión. Se recomienda aplicar esta metodología en los procesos en que la humedad sea un factor crítico: productos higroscópicos, con principios activos inestables o que la humedad afecte la fluidez del granulado o la compactación. El modelo NIR aplicado permite determinar el tamaño de partícula medio en el proceso, el cual es un atributo crítico en el proceso de granulación, ya que de él depende la buena fluidez del polvo.

Este estudio demuestra la aplicación efectiva de NIRS para la determinación de la homogeneidad durante el proceso de mezclado, determinándose el tiempo final del mezclado a los 20 minutos. Se recomienda aplicar este método en fármacos, donde el mezclado es crítico en el proceso, por ejemplo, baja concentración del principio activo, componentes que se adhieren a las paredes, mezclas susceptible a desmezclado o segregación etc.

La espectroscopia NIR es una herramienta útil para determinar atributos críticos en el proceso de una forma farmacéutica.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Laboratorios Medifarma S.A y al D.T Q.F. Luis Kanashiro, por brindarnos todas las facilidades para la elaboración de esta investigación, cuyos resultados serán aplicados en la empresa. Por otro lado, quisiéramos brindar un agradecimiento especial al área de validaciones de procesos, representada por el Q.F. David Panta y Q.F. Erik Cotera, por su apoyo científico y técnico para entender mejor los procesos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FDA. Warning Letters and Notice of Violation Letters to Pharmaceutical Companies [Internet]. Food and Drug Administration [citado 6 de febrero de 2018]. Disponible en: <https://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/EnforcementActivitiesbyFDA/WarningLettersandNoticeofViolationLetterstoPharmaceuticalCompanies/default.htm>
2. Yu LX. Pharmaceutical quality by design: Product and process development, understanding, and control. *Pharm Res.* 2008; 25(4): 781-791.
3. Watts DC. PAT. Paper presentado en: Heidelberg PAT Conference, 2006; Heidelberg, Alemania.
4. [http://www.ema.europa.eu/ema/idex.jsp?curl=pages/regulation/document\\_listing/document\\_listing\\_000162.jsp&mid=WC0B01ac0580027089#section1](http://www.ema.europa.eu/ema/idex.jsp?curl=pages/regulation/document_listing/document_listing_000162.jsp&mid=WC0B01ac0580027089#section1) (NO EXISTE LINK, ACTUALIZAR Y PONER LA INFORMACIÓN EN FORMATO INTERNET, VER EJEMPLO REFERENCIA 5)
5. FDA. Guidance for Industry PAT — A Framework for Innovative Pharmaceutical Development, Manufacturing, and Quality Assurance. [Internet]. Food and Drug Administration; 2004. [citado 20 noviembre de 2017]. Disponible en: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm070305.pdf>

## **EVALUACIÓN DE DOS ATRIBUTOS DE CALIDAD CRÍTICOS EN LA PRODUCCIÓN DE FORMAS FARMACÉUTICAS SÓLIDAS UTILIZANDO LA ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO CERCANO**

Ruben Cueva Mestanza<sup>\*a</sup>

### **RESUMEN**

La determinación mediante espectroscopia de infrarrojo cercano de atributos críticos de calidad, de interés en la fabricación industrial de sólidos farmacéuticos, es estudiada con el objetivo de aplicar esta nueva metodología más rápida y eficazmente como una alternativa a los métodos convencionales. Se estudia el proceso de mezclado de los componentes de una fórmula efervescente con el fin de determinar el tiempo final del mezclado de una forma rápida y confiable, así como la humedad en los granulados intermedios de tabletas masticables. El objetivo es construir la calidad del producto final, controlando atributos críticos de calidad de los productos intermedios en el mismo proceso aplicando la Tecnología Analítica de Procesos (PAT).

**Palabras claves:** espectroscopia de infrarrojo cercano, atributos críticos, comprimidos farmacéuticos, Tecnología Analítica de Procesos (PAT).

## **EVALUATION OF TWO CRITICAL QUALITY ATTRIBUTES IN THE PRODUCTION OF SOLID DOSAGE FORMS USING NEAR INFRARED SPECTROSCOPY**

### **ABSTRACT**

The determination by means of near infrared spectroscopy of critical quality attributes, of interest for the industrial manufacture of pharmaceutical solids, is studied here in order to apply this new methodology more quickly and efficiently as an alternative to conventional methods. The mixing process of the components of an effervescent formula is studied in order to determine the final mixing time in a fast and reliable way, as well as the humidity in intermediate granules of chewable tablets. The objective is to build the quality of the final product, controlling critical quality attributes of intermediate products during the same process by applying Process Analytical Technology (PAT).

**Key words:** near infrared spectroscopy, critical attributes, pharmaceutical solids, Process Analytical Technology (PAT).

---

<sup>\*a</sup> Universidad María Auxiliadora. eduardo5121@hotmail.com

## INTRODUCCIÓN

Las formas de dosificación sólidas son las formulaciones farmacéuticas mayormente prescritas. Estas consisten en una mezcla homogénea de ingredientes que proveen las características deseadas a la forma farmacéutica sólida. La mezcla es una etapa crucial en el proceso de fabricación de medicamentos en forma sólida. La mezcla es también un proceso complejo e influenciado por muchas variables. Por ejemplo, las características de los sólidos o del recipiente donde se ha de colocar la mezcla y las condiciones de funcionamiento del mezclador<sup>1,2</sup>. La uniformidad de la dosificación de las formas farmacéuticas se controla normalmente con la toma de muestras en diferentes etapas del mezclado. El principio activo contenido de estas muestras se determina por métodos laboriosos y costosos. De hecho, la mayor parte del tiempo que se consume en el proceso de mezcla no es la operación de mezcla en sí, sino los análisis para confirmar el punto final de la mezcla. Por lo tanto, la espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS) se presenta como una alternativa a los métodos anteriores debido a que no requieren ningún tratamiento previo y la información se puede obtener durante el proceso. A diferencia de los métodos convencionales de análisis, la espectroscopia NIR es rápida, no invasiva y proporciona información acerca de las propiedades físicas y químicas de la muestra<sup>2</sup>.

Otra etapa crítica es el proceso de granulación, el cual es utilizado para el incremento del tamaño de partícula que permite obtener una alimentación uniforme de las máquinas de compresión y un llenado reproducible de la matriz de los comprimidos, lo que se traduce en una compactación uniforme de las partículas, asegurando así la uniformidad del peso de los comprimidos y unas propiedades fisico-mecánicas constantes (dureza, friabilidad, etc.). Las características que afectan a la fluidez de un polvo o granulado son: el tamaño de partícula medio, la distribución del tamaño de partícula, la forma de las partículas, la rugosidad de la superficie y el contenido de humedad. La humedad de una muestra influye notablemente en la fluidez de los polvos de la misma forma que en el proceso de compactación. El agua tiende a formar aglomerados no fluentes y si es excesiva se tiende a pegar en las paredes y reducir la fluidez del granulado. En la compactación, las tabletas con porcentajes de humedad altos tenderán a adherirse a la matriz, forzando la eyección, produciendo tabletas rotas y/o laminadas. Por otro lado, si se tiene granulados demasiado secos, esto afectará tanto al aspecto de la tableta y a la disolución de esta<sup>3,4</sup>.

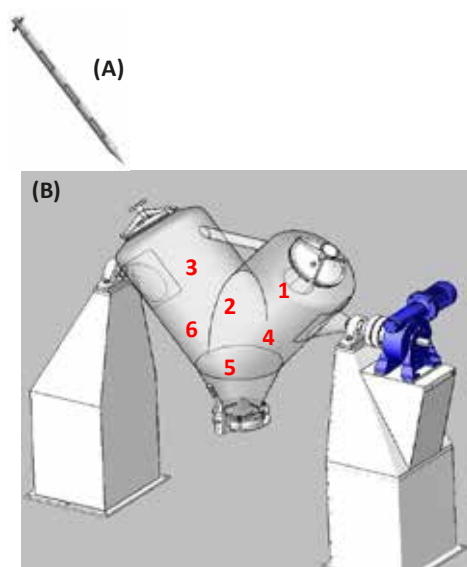
Los métodos para determinar el punto final en el mezclado y humedad puede afectar el tiempo de producción al detener el proceso productivo por el traslado de la muestra y la obtención de resultados. Por tal motivo, métodos rápidos en el mismo proceso reducirán el ciclo productivo del proceso, aumentando la productividad y a su vez asegurando la calidad de producto. El objetivo general de este trabajo es investigar la aplicación de la espectroscopia NIR para evaluar la calidad del producto a partir de dos atributos críticos de calidad en dos etapas: el mezclado (homogeneidad) y la granulación (humedad), que tienen un gran impacto en el producto final y de este modo alcanzar un mejor conocimiento del proceso y de los puntos críticos que pueden afectarlos. Este estudio se divide en dos partes. La primera examina la aplicación de la espectroscopia NIR para determinar el punto final del mezclado, donde la

mezcla se considera homogénea en un polvo efervescente, y la segunda examina el uso de la espectroscopia NIR para predecir humedad en los granulados. Estas metodologías son desarrolladas con el fin de ser aplicadas para entender y controlar el proceso de mezclado y granulación de formas farmacéuticas sólidas sin afectar los tiempos de fabricación.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Materiales y métodos

**Proceso de mezclado y toma de muestra.** El proceso de mezclado de los componentes del polvo efervescente se realiza en un mezclador en V con un tiempo de mezclado de 30 minutos. Se tomaron seis muestras a diferentes tiempos durante el proceso, a los 10, 20 y 30 minutos (figura 1) y al inicio, mitad y al final de la descarga del mezclador.



**Figura 1.** (A) Muestreador utilizado para la toma de muestras (B) Mezclador en V donde se remarca los seis puntos para el muestreo durante el mezclado.

**Proceso de secado y toma de muestra.** El secado de los granulados intermedio de las tabletas masticables se ha realizado en un secador de lecho fluido. A continuación se muestra las etapas del proceso y las muestras que se toman en cada una de ellas:

- Granulación húmeda (se toma muestras de los granulados húmedos antes del proceso de secado)
- Secado (se toma muestra a los 15, 30, 45 minutos y al final del secado)
- Granulación seca (se tomaron muestras de los granulados obtenidos a partir de la molienda y tamizado por malla de 300  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro, de los granulados obtenidos en la fase de secado)

**Hardware y software.** Los espectros de reflectancia fueron adquiridos con un espectrofotómetro NIR con analizador de mano PHazir TM. (Polychromix, Inc.) controlado a través del software Polychromix Phazir TM MG; cada espectro fue el resultado de 5 scans. En la figura 2 se muestra el equipo utilizado. Los espectros se registraron en un rango de longitudes de onda de 1600-2400 nm con una resolución de 12 nm. El software Unscrambler V. 9.8 de Camo Process (Trondheim, Noruega) fue utilizado para el tratamiento matemático.



**Figura 2.** Analizador NIR de mano PHazir TM (foto)

**Registro de los espectros.** Los espectros se registraron a través de la bolsa de plástico donde se recogieron las muestras del proceso de mezclado y secado, en el un rango de 1600-2400 nm, usando como referencia una placa de cerámica presente en la tapa de referencia del equipo.

**Pre-tratamientos de los espectros NIR.** Con el objetivo de reducir la variabilidad asociada a las características físicas o ruido de los espectros obtenidos de la fase de mezclado y secado, los espectros fueron sometidos a diferentes pre-tratamientos espectrales, como son: Estándar Normal Variate (SNV), 1era y 2da derivada utilizando en estas últimas el algoritmo de Savitzky-Golay con una ventana móvil de tres puntos y ajustados a un polinomio de 2<sup>do</sup> grado.

### Metodología cualitativa para determinar la homogeneidad

- **Desviación estándar de espectros.** Consiste en el cálculo de la desviación estándar de la absorbancia, DS, a cada longitud de onda de los espectros obtenidos a un determinado tiempo en el proceso de mezclado (Ec. 1). Donde n es el número de espectros (n=6),  $\bar{A}$  es el promedio de las absorbancia a cada longitud de onda de n espectros consecutivos y  $A_j$  es la absorbancia a cada longitud de onda de cada espectro j.

$$S.D. = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (\bar{A} - A_j)^2}{n-1}} \quad (\text{Ec. 1})$$

Después se calcula el promedio de S.D. para todas las longitudes de onda, según (Ec. 2). Donde m es el número de longitudes de onda i.



$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^m S}{m} \quad (\text{Ec. 2})$$

## **Metodología cuantitativa para determinar humedad en el secado**

### **1.-Método de referencia**

El método de referencia es el análisis por pérdida por secado en un analizador de Humedad Mettler Toledo Modelo HB43-S.

### **2.-Muestras para crear el método para cuantificar la humedad**

La ecuación de calibración PLS1, para cuantificar la humedad, se establece con muestras de producción y muestras de laboratorio (muestras de producción a la cuales se las ha adicionado agua para incrementar su porcentaje de humedad).

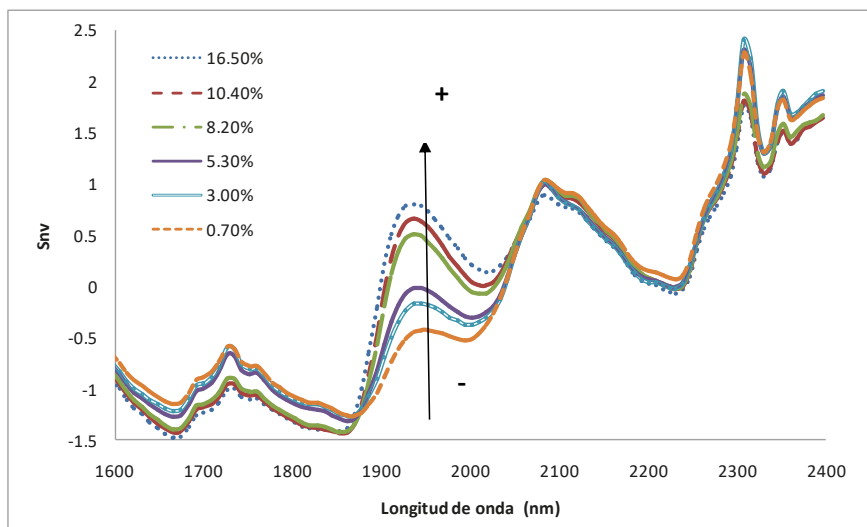
Las muestras de laboratorio se prepararon adicionándole agua a granulados de producción con alrededor 2 % de humedad para obtener muestras con aproximadamente 10, 8, 5 y 3 % de humedad. Se comprobó la humedad por el método tradicional/referencia (balanza de humedad)<sup>6</sup>.

El conjunto de muestras (muestras de laboratorio y muestras de producción) se dividen en dos grupos. El primer grupo, conjunto de calibración, se emplea para construir el modelo de calibración. El segundo grupo, conjunto de validación, se utiliza para validar la ecuación de calibración PLS1 y determinar su capacidad predictiva.

### **3.- Modelo PLS**

El rango espectral empleado para construir el modelo PLS1, para la cuantificación de humedad en granulados de una fórmula para tabletas masticables, fue entre 1844-2009 nm, ya que en este rango tiene mayor absorbancia el agua (figura 3).

El pre-tratamiento matemático de los espectros seleccionados permite la corrección de la derivada de la línea base como consecuencia de la variabilidad habitual en las propiedades físicas de las diferentes muestras, ya que el espectro NIR depende tanto de las propiedades químicas de la muestra como de algunas de sus propiedades físicas, como son la forma, el tamaño de partícula o densidad del polvo. El conjunto de muestras de calibración debe recoger todas las fuentes de variabilidad posibles, por ello es necesario incorporar muestras de laboratorio y granulados de producción para incorporar al modelo la variabilidad debida al proceso de fabricación. El modelo ha sido validado para asegurar su consistencia, usando espectros de muestras de laboratorio y muestras de producción ajenas a las utilizadas para crear el modelo. En este paso se verifican y definen las longitudes de onda a emplear, el número de componentes PLS necesarios y la semejanza de los resultados con los resultados obtenidos por el método de referencia y otros parámetros del modelo PLS1.



**Figura 3.** Espectros de muestras con distinto porcentaje de humedad.

El número de factores para el modelo se seleccionó a partir del error estándar relativo (*Relative Standard Error*, RSE) seleccionando el modelo con menor valor de RSE para el conjunto de predicción.

$$RSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m (Y_i^{NIR} - Y_i^{REF})^2}{\sum_{i=1}^m Y_i^{REF^2}}} \quad (Ec.3)$$

La tabla 1 muestra los parámetros más significativos del modelo PLS construido. Aunque el primer factor PLS describe un 97 % de la varianza total, fue necesario dos factores (99%) para ajustar correctamente el modelo y conseguir una buena capacidad predictiva.

**Tabla 1.** Parámetros relevantes de los modelos de calibración construidos para la determinación de la humedad en granulados intermedios para tabletas masticables.

<b>Humedad</b>		
<b>Muestras</b>	<b>Calibración</b>	<b>Predicción</b>
<b>Pre-tratamiento</b>	<b>Laboratorio + Producción</b>	<b>Laboratorio + Producción</b>
<b>Rango (nm)</b>	<b>1844 – 2009</b>	
<b>Rango de humedad</b>	<b>16.8-0.7 %</b>	<b>16.5-0.8 %</b>
<b>Factores</b>	<b>2</b>	—
<b>Varianza explicada Y (%)</b>	<b>99.0</b>	—
<b>Nº muestras</b>	<b>19</b>	<b>33</b>
<b>RSEC/P</b>	<b>0.44</b>	<b>1.18</b>

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

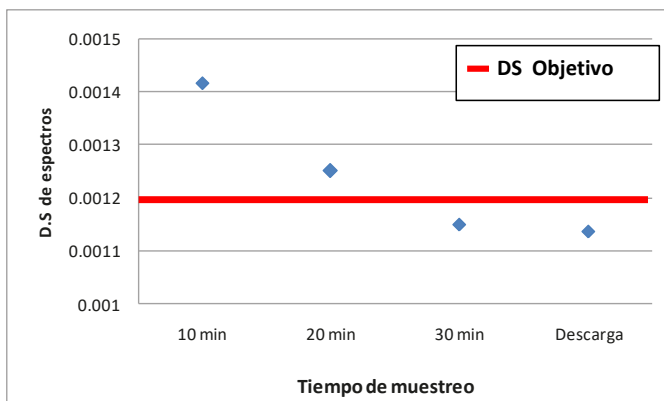
### Método cualitativo para determinar el punto final en el mezclado

#### 1.- Determinación del pre-tratamiento

Para determinar los pre-tratamientos más idóneos se aplicaron varios tratamientos a cada uno de los espectros obtenidos con el espectrofotómetro NIR del proceso de mezclado, obteniéndose que el pre-tratamiento que reduce más la variabilidad física de la muestra y la producida por el sistema de registro, así como el ruido instrumental, fue el de la 2<sup>da</sup> derivada.

#### 2.- Determinación cualitativa de la homogeneidad de la mezcla

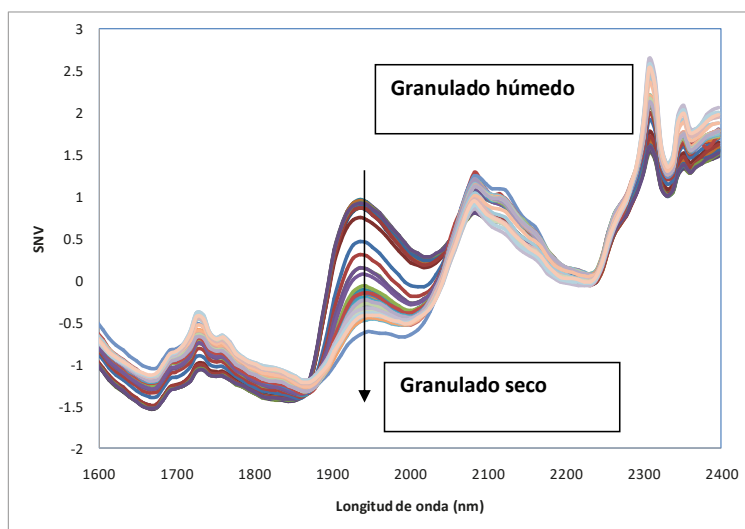
Previo a la aplicación de la metodología de desviación estándar de los espectros para la determinación cualitativa de la homogeneidad, se ha comprobado experimentalmente la desviación estándar (DS) de una mezcla que se considera homogénea, donde las variaciones se deben a las variaciones producidas por el registro de los espectros y por el equipo NIR, registrando los espectros de una muestra representativa de la mezcla (mezcla de la parte inicial, media y final de la descarga) la cual ha sido homogenizada manualmente. Se registró seis veces colocando la bolsa de plástico que contiene la mezcla en diferentes posiciones cada vez que se registraba el espectro de la mezcla, obteniéndose un valor de desviación estándar de 0,0012 para los espectros obtenidos. Este valor se toma como valor objetivo para determinar cuando la mezcla es homogénea. La representación gráfica de desviación estándar versus tiempo de muestreo nos permite determinar a qué tiempo se considera la mezcla homogénea, observándose que a los 10 y 20 minutos la mezcla no ha logrado la homogeneidad debido a que la desviación de los espectros es superior de lo que se espera para una mezcla homogénea. Por otro lado, la mezcla a los 30 minutos y en la etapa de la descarga sí se puede considerar homogénea ya que sus valores de DS se encuentran por debajo del valor objetivo.



**Figura 4.** Aplicación de la metodología de la DS en espectro a un proceso de mezclado.

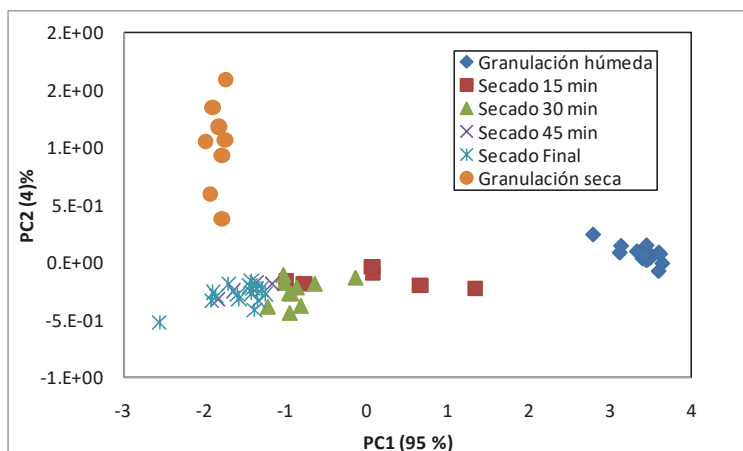
### Determinación de la humedad en el proceso de secado

Los resultados que se presentan corresponden al estudio de secado de granulado intermedio de tabletas masticables. La figura 5 muestra los espectros recogidos durante el proceso de secado, donde se observa la variación en las bandas de absorción durante las etapas del proceso de secado. Se destaca la mayor altura de la banda en la región alrededor de 1950 nm., debido al alto porcentaje de agua antes del secado (granulado húmedo) y su posterior disminución durante el secado del granulado. La importante señal de absorción en la región de las longitudes entre 2250-3260 nm. es debido, principalmente, a la absorción del plástico de la bolsa de muestreo.



**Figura 5.** Espectros NIR en un proceso de secado (Pre-tratamiento SNV)

Un PCA de la matriz de los espectros de un proceso de secado en modo SVN muestra que los dos primeros factores PC recogen el 99 % de la varianza de todo el proceso.



**Figura 6.** Gráfico de dispersión de una PCA de los espectros de un proceso de secado en modo SNV. Los scores están representados en función de la etapa correspondiente.

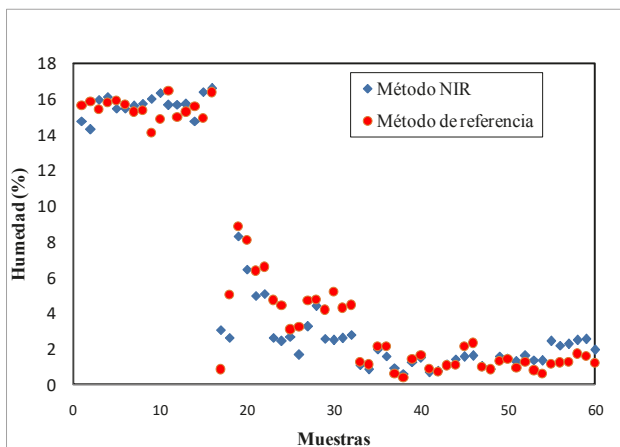
En la figura 6 se ha representado el gráfico de dispersión de los scores PC1 vs PC2 de un proceso en el que se muestra los scores en función de la etapa de proceso. En la parte inferior derecha de esta figura aparecen los scores que corresponden a la etapa de granulación húmeda que están agrupados sin mostrar ninguna evolución. Por otro lado, los scores de las muestras recogidas a los minutos 15 y 30 del secado se presentan dispersos en el eje del PC1. Esto puede deberse a que el secado no es uniforme. Sin embargo, a los 45 minutos y al final del secado se encuentran agrupadas, ya que en estos puntos del secado la humedad es semejante entre las muestras.

En las muestras de la granulación húmeda y secados se observa un desplazamiento en el PC1. Este desplazamiento está relacionado con el porcentaje de humedad de la muestra, ya que es la única variable que afecta el proceso. Mientras que en los scores, las muestras de granulación seca tienen un desplazamiento en el PC2. Estas muestras se diferencian de las anteriores en el tamaño de partícula, ya que se han tamizado con un tamiz de 300  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro. Por lo tanto, se puede decir que la variable relacionada con el PC2 es el tamaño de partícula. En el gráfico se pueden distinguir las tres etapas del proceso: granulación húmeda, secado y granulación seca.

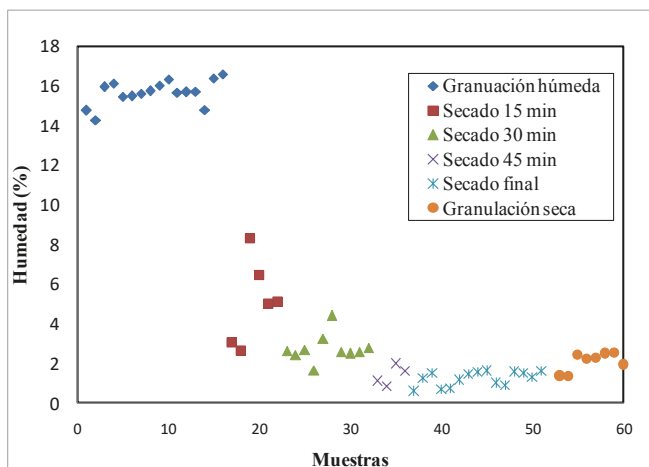
## 2.-Información cuantitativa

### Seguimiento de la evolución de la humedad

En el estudio cualitativo se demostró la asociación entre el PC1 y el contenido de humedad de la muestra, y se decidió la construcción de un modelo PLS1 para cuantificar el contenido de humedad durante el proceso.



**Figura 7.** Evolución de los valores del contenido de humedad en un proceso.



**Figura 8.** Evolución de los valores del contenido de humedad en un proceso de secado (Método NIR)

La figura 7 muestra la predicción de la evolución del contenido en humedad calculada, con el modelo desarrollado aplicado a un proceso, así como los valores de referencia obtenidos por el método de referencia, como puede apreciarse los resultados obtenidos por los dos métodos son muy semejantes. La figura 8 muestra los resultados obtenidos por el método NIR para las muestras de cada una de las etapas. Las muestras del granulado húmedo se encuentran entre 14 y 17 % de humedad. Por otro lado, se puede observar que a los 15 y 30 minutos del secado se produce la mayor reducción de la humedad, además que los valores de humedad obtenidos en este punto del secado varían, mostrando que el secado no es uniforme. Por otro

lado, a partir de los 45 minutos la mezcla tiene porcentajes menores a 3 %. Sin embargo, se tiene que seguir secando para obtener valores con una desviación reducida y disminuir la humedad del granulado.

## **CONCLUSIONES**

Este estudio demuestra la aplicación efectiva de NIRS para la determinación de la homogeneidad durante el proceso de mezclado, determinándose el tiempo final del mezclado a los 30 minutos. Se recomienda aplicar este método en fármacos donde el mezclado es crítico en procesos donde, por ejemplo, hay baja concentración del principio activo, los componentes se adhieren a las paredes, o donde las mezclas son susceptibles a su segregación, etc.

Se ha desarrollado una nueva metodología para el seguimiento espectroscópico de un proceso de secado de un granulado en una granuladora de lecho fluido. Los espectros obtenidos han permitido realizar un estudio tanto cualitativo como cuantitativo de la humedad en la fase de secado.

Un análisis multivariante de los espectros NIR mediante un análisis por componentes principales, permite diferenciar las tres etapas del proceso de secado. Los dos primeros componentes principales recogen casi toda la variabilidad de las muestras del proceso y se han identificado las tres etapas del proceso mediante el gráfico de score vs muestras. La interpretación de los loading espectrales permite asociar las fuentes de variabilidad: el primer componente principal explica la variación del contenido de agua, mientras que el segundo componente principal explica la evolución del tamaño de partícula a lo largo del proceso.

El modelo de calibración PLS construido permite realizar la determinación correcta del contenido de humedad.

Se recomienda aplicar esta metodología en casos en que la humedad sea un factor crítico en el proceso, por presencia de productos higroscópicos, por principios activos inestables o porque la humedad afecte la fluidez del granulado o de la compactación.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Laboratorios Medifarma S.A y al D.T. Q.F. Luis Kanashiro, por brindarnos todas las facilidades para la elaboración de esta investigación, cuyos resultados serán aplicados en la empresa. Por otro lado, quisiéramos brindar un agradecimiento especial al área de validaciones de procesos, representada por el Q.F. David Panta y Q.F. Erik Cotera por su apoyo científico y técnico para entender mejor los procesos.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Venables HJ, Wells JI. Powder mixing. *Drug Dev Ind Pharm.* 2001; 27: 599–612.
2. Ciurczak EW. Pharmaceutical mixing studies using near infrared spectroscopy. *Pharm Technol.* 1991; 15: 140–145.
3. Liua LX, Marziano I, Bentham AC, Litster JD, White ET, Howes T. Effect of particle properties on the flow ability of ibuprofen powders. *Int J Pharm.* 2008; 362:109–117.
4. Närvänen T, Lipsanen T, Antikainen O, Räikkönen H, Yliruusi J. Controlling granule size by granulation liquid feed pulsing. *Int J Pharm.* 2008; 357: 132–138.
5. Rantanen J, Räsänen E, Tenhunen J, Käsäkoski M, Mannermaa J, Yliruusi J. In-line moisture measurement during granulation with a four-wavelength near infrared sensor: an evaluation of particle size and binder effects. *Eur J Pharm Biopharm.* 2000; 50(2):271-276.
6. Kirk RS, Sawyer R, Egan H. *Composición y análisis de alimentos de Pearson*. Segunda edición. México DF: Compañía editorial continental SA; 1996.



## EVALUACIÓN DE OCHRATOXINA A EN *Theobroma cacao* L. “cacao trinitario”, POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC) Y ANÁLISIS MICOTOXIGÉNICO DURANTE EL PROCESO DE COSECHA, FERMENTADO, SECADO Y ALMACENADO

Norma Ramos<sup>\*a</sup>, Américo Castro<sup>a</sup>, Miguel Félix<sup>a</sup>, Félix Milla<sup>a</sup>, Raúl Soria<sup>a</sup>,  
Mario Alcarraz<sup>a</sup>, Donald Ramos<sup>b</sup>, Fritz Choquesillo<sup>a</sup>, Otilia Acha de la Cruz<sup>c</sup>,  
Jesús Blancas<sup>c</sup>, Nadia Rodríguez<sup>c</sup>, Diego Valdivieso<sup>a</sup>

### RESUMEN

Se analizó la presencia de ocratoxina A (OTA), una micotoxina con propiedades carcinogénicas, en los granos de *Theobroma cacao* L. “cacao trinitario” procedente del centro de acopio de Pisana-Tingo María, de la Región San Martín, Perú. Las muestras fueron colectadas en cuatro etapas de producción: cosecha, fermentado, secado y almacenado. La OTA se extrajo utilizando acetonitrilo al 60 % y purificándose mediante columnas de inmunoafinidad y posterior cuantificación por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC). El porcentaje de recuperación del método utilizado se evaluó mediante el uso de muestras fortificadas con OTA evidenciando un porcentaje de recuperación mayor al 95 %. Los granos evaluados en las diferentes etapas de producción no manifestaron presencia de ocratoxina A y en el análisis micotoxigénico se evidenció la presencia de hongos del género *Fusarium*, *Penicillium* y levaduras.

**Palabras clave:** Ocratoxina A (OTA), cacao trinitario, columnas de inmunoafinidad, cromatografía líquida de alto rendimiento.

### EVALUATION OF OCHRATOXIN A IN *Theobroma cacao* L. "trinitario cacao", BY HIGH-EFFICIENCY LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC) AND MICOTOXYGENIC ANALYSIS DURING THE PROCESS OF HARVESTING, FERMENTATION, DRYING AND STORAGE

### ABSTRACT

The presence of ochratoxin A (OTA), a mycotoxin with carcinogenic properties, was analyzed in the beans of *Theobroma cacao* L. "trinitario cacao" from the collection center of Pisana-

<sup>\*a</sup> Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Jr. Puno 1002. Jardín Botánico.  
Lima-Perú. nozjuli@gmail.com

<sup>b</sup> Facultad de Odontología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Av. Germán Amézaga 375, Cercado de Lima.  
Lima-Perú.

<sup>c</sup> Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Ingeniería, Av. Túpac Amaru 210, Lima 25, Perú.

Tingo Maria, of the San Martin Region, Peru. The samples were collected in four stages of production: harvesting, fermentation, drying and storage. The OTA was extracted using 60 % acetonitrile and purified by immunoaffinity columns and subsequent quantification by high performance liquid chromatography (HPLC). The recovery percentage of the method used was evaluated by using samples fortified with OTA, showing a recovery percentage greater than 95 %. The beans evaluated in the different stages of production did not show the presence of ochratoxin A and in the mycotoxigenic analysis the presence of fungi of the genus *Fusarium*, *Penicillium* and yeasts was evidenced.

**Key words:** Ochratoxin A (OTA), trinitarian cocoa, immunoaffinity columns, high performance liquid chromatography.

## INTRODUCCIÓN

La ocratoxina A (OTA) es una toxina producida principalmente por hongos del género *Aspergillus* y *Penicillium*, la cual posee propiedades nefrotóxicas, inmunotóxicas, teratogénicas y carcinogénicas; y ataca diversos cultivos, entre ellos el cacao<sup>1</sup>.

El método de referencia para la cuantificación de micotoxinas es la Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC) con el sistema de detección de fluorescencia, debido a la sensibilidad para detectar concentraciones inferiores a 1 ppb (partes por billón) la cual ha demostrado ser eficiente en diversas muestras de estudio. Antes de cuantificar las muestras por HPLC, el contenido de OTA debe aislarse y extraerse. Si bien distintos métodos han sido utilizados para este fin, la extracción por cromatografía de inmunoafinidad es el método más difundido, ya que ha demostrado mayor eficacia y seguridad. El método se basa en la capacidad que tienen algunos anticuerpos para unirse de forma específica a las moléculas de OTA mediante una reacción antígeno-anticuerpo. De esta forma, los anticuerpos presentes en la fase estacionaria de las columnas utilizadas pueden retener el contenido de OTA, mientras dejan pasar los demás componentes de la muestra. Los hongos atacan diversos cultivos, existiendo variabilidad en las muestras de análisis, las cuales se comportan de manera diferentes frente a los solventes de extracción. Se debe evaluar el porcentaje de extracción del método a diferentes niveles. Esto se logra mediante el uso de muestras fortificadas, es decir; muestras que han sido contaminadas con una cantidad conocida del estándar analítico<sup>2,3</sup>.

Trabajos acerca de la presencia de OTA en cacao se han realizado en Nigeria, Costa de Marfil, Guinea, Camerún, Italia, Brasil, entre otros, concluyendo que los organismos generadores de toxina están presentes desde la cosecha, siendo la etapa de fermentación del cacao donde proliferan en mayor cantidad. De igual modo se ha demostrado que el secado del cacao y su almacenamiento en lugares secos con el cumplimiento de normas técnicas y la implementación de buenas prácticas agrícolas-postcosecha, disminuyen en gran magnitud la presencia de OTA y otras micotoxinas<sup>4</sup>. En lo que respecta a la evaluación de los métodos, diversos autores han analizado los solventes de extracción utilizados, sus porcentajes de recuperación y demostrando que dichos porcentajes varían tanto por la matriz analizada

como por el nivel de OTA evaluado. Entre los solventes evaluados para muestras de cacao se encuentran solución de bicarbonato de sodio, mezclas de metanol-agua, y mezclas de acetonitrilo-agua a diferentes concentraciones; obteniéndose diferentes porcentajes de recuperación dependiendo de la proporción de las mezclas<sup>2,5,6</sup>.

En el Perú, los estudios acerca de la presencia de ocratoxina A en cacao son escasos, destacando el realizado por Ramos *et al.*<sup>7</sup>, quien estudió su presencia en cacao piurano. Actualmente, el Perú presenta la necesidad de fijar un límite máximo permisible para OTA. Asimismo, no se cuenta con una norma de los niveles permitidos para el cacao y sus derivados; por ello, en este trabajo se realizó el análisis de la presencia de esta micotoxina en granos del cacao trinitario de la Región San Martín, la cual es una de las más importantes en volumen productivo de cacao<sup>8</sup>.

En el presente trabajo se evaluó la presencia de ocratoxina A en muestras de granos de cacao y el análisis micotoxigénico durante las etapas de cosecha, fermentado, secado y almacenado del proceso de la producción del cacao. Este trabajo contribuye al estudio de la incidencia de ocratoxina A y la presencia de hongos generadores de micotoxinas en el cacao peruano, así como de los métodos utilizados para su determinación.

## PARTE EXPERIMENTAL

El estudio se realizó en el Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara" de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y en el Laboratorio de Investigación y Certificaciones (LABICER) de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería.

### Reactivos

Acetonitrilo de grado HPLC (J.T Baker), estándar de ocratoxina A (OTA) 99,18 % (Merck), metanol (MeOH) grado HPLC (Merck), ácido acético (CH<sub>3</sub>COOH) grado analítico 100 % (Merck), Buffer fosfato salino en tabletas pH=7,40 (Merck). Tween 20 para síntesis (Merck). El agua utilizada fue purificada en un equipo Elga Purelab CLASSIC UV.

### Equipos

Cromatógrafo Líquido de Alto Rendimiento-SHIMADZU: desgasificador DGU-20A5R, automuestreador SIL-30AC, bomba cuaternaria LC-30AD, horno de columna: CTO-20AC, detector de fluorescencia RF-20AXs, control de sistema SBM-20A. Columna cromatográfica RP C18 de 250 mm x 4,6 mm ID x 5 μm partícula (Restek). Molino de cuchillas, agitadores magnéticos de las marcas Thermo Scientific Cimarec y IKA C-MAG HS7. Balanza analítica digital SARTORIUS CPA225D, equipo ultrasonido WISD Laboratory Instruments, equipo de agua ultrapura ELGA PURELAB CLASSIC UV, columnas de inmunoafinidad para ocratoxina NEOCOLUMN.

### **Colecta de las muestras**

Los granos de *Theobroma cacao* L. “trinitario” fueron colectados del centro de acopio de Pisana-Tingo María, de la Región San Martín, Perú. Las actividades de muestreo se realizaron a una temperatura de 38 °C y 85 % de humedad atmosférica durante el mes de junio del año 2017. Las muestras se colectaron en distintas etapas del proceso de la producción del cacao, las cuales consisten en: cosecha y apertura del fruto de cacao, fermentado en cajas durante seis días, secado al sol por seis días y, finalmente, almacenamiento para su posterior venta. Se seleccionaron cuatro tipos de muestra: cacao recién cosechado (M1), granos de cacao fermentados (M2), granos de cacao secados (M3) y granos de cacao almacenados en sacos (M4).

Las muestras M1 se colectaron de los frutos recién cosechados. Las demás muestras se colectaron en forma de granos.

### **Pre-tratamiento de las muestras**

De las muestras M1, se extrajeron los granos y se secaron en estufa a 40 °C durante una semana; de igual forma se secaron las muestras M2 que habían sido colectadas húmedas. Las muestras M3 y M4 se secaron por un día en estufa a 40 °C para eliminar la humedad durante su almacenamiento. Las muestras se trataron en un mortero y luego en un molino de cuchillas. Una vez trituradas se homogenizaron y se conservaron a baja temperatura para su posterior análisis.

### **Preparación de los estándares de ocratoxina A**

La solución madre del estándar de OTA se preparó mediante la disolución de 1 mg de estándar puro en 50 mL de Metanol (20 ppm). A partir de la solución madre se preparó la solución de trabajo (200 ppb) y a partir de esta solución se prepararon los diferentes estándares utilizados para la construcción de la curva de calibración, cuyas concentraciones variaron de 0,05 a 10 ppb. De la solución madre también se prepararon las soluciones utilizadas en las pruebas de recuperación del método utilizado.

### **Extracción y purificación de la ocratoxina A en las muestras**

Este proceso se realizó por triplicado en cada uno de los cuatro tipos de muestra a analizar. De acuerdo al método descrito por Tafuri *et al.*<sup>5</sup> para cacao, 25 g de muestra a analizar se re-suspendieron en 400 mL de acetonitrilo, se homogenizaron por 10 minutos con ayuda de un agitador magnético y se filtró con papel filtro Whatman N° 42; a 4 mL del filtrado se adhirieron a 44 mL de buffer PBS a pH: 7,4; los 48 mL de esta solución se purificaron en la columna de inmunoafinidad y se eluyeron a velocidad de 1-2 gotas por segundo con ayuda de una jeringa de 50 mL. Las columnas se lavaron con 20 mL de buffer PBS pH=7.4-tween 20 al 0.01%; y se eluyó el contenido de OTA con los siguientes solventes: 0,75 mL de metanol (Ac. Acético 2%), 0,75 mL de metanol y 1,5 mL de agua ultrapura.

### **Cuantificación por cromatografía líquida de alto rendimiento**

Los análisis se realizaron mediante cromatografía líquida de alto rendimiento con detección por fluorescencia siguiendo los parámetros recomendados por Tafuri *et al.*<sup>5</sup>.

La longitud de onda de excitación fue de 333 nm y la de emisión fue de 460 nm. La temperatura del horno de la columna fue de 25 °C. La elución fue a un flujo constante de 1 mL/min y  $\text{CH}_3\text{CN}_{(\text{ácido acético } 1\%)} - \text{H}_2\text{O}_{(\text{ácido acético } 1\%)} (50:50 \text{ v/v})$  como el sistema de eluyentes inicial. El sistema inicial fue linealmente modificado a un  $\text{CH}_3\text{CN } 100\%$  en 20 minutos. Después de 3 minutos de permanecer constante, el sistema fue restablecido linealmente a su condición inicial 10 minutos, sumando un tiempo total de 33 minutos por análisis. Los eluyentes fueron preparados en el momento y filtrados (0,45  $\mu\text{m}$ ) antes de su uso.

Para la lectura de los estándares se realizaron tres inyecciones y dos para el análisis de las muestras. Todas las muestras se filtraron a través de filtro de jeringa (0,45  $\mu\text{m}$ ) antes de la inyección (25  $\mu\text{L}$ ) a la columna cromatográfica.

La identificación de OTA se realizó utilizando el tiempo promedio de retención de las diluciones de trabajo. Este tiempo se obtuvo midiendo diez veces el estándar de trabajo a una concentración de 0,05 ppb, procedimiento que también fue útil para obtener el límite de detección (LDD). El tiempo de retención promedio fue de 8,245 minutos (RSD=0,055 %) y el LDD fue de 0,100 ppb. En la figura 1 se muestra el cromatograma de una de las corridas del stock de trabajo de 0,05 ppb.

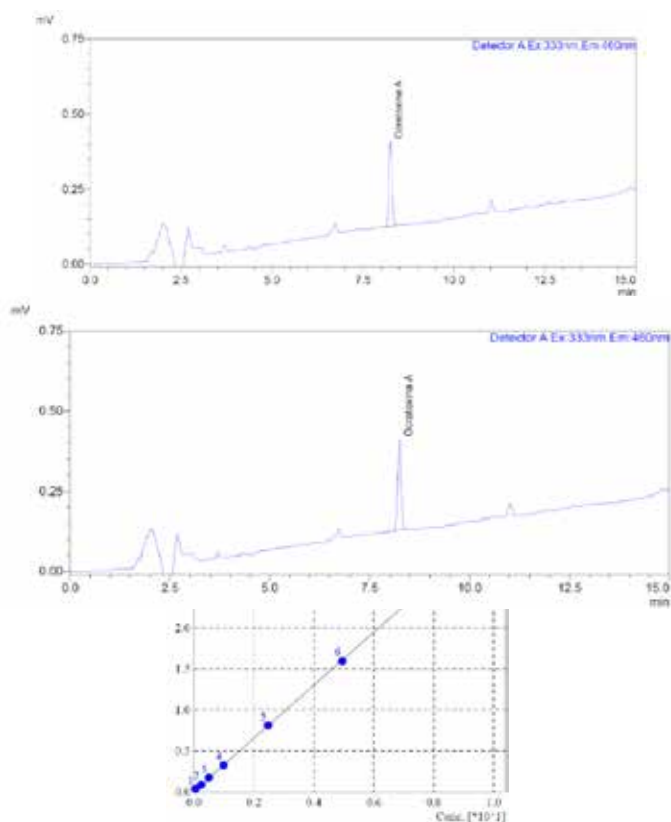


Figura 1. Curva de calibración utilizada para la cuantificación de la OTA.

### Pruebas de recuperación del método utilizado

El método utilizado fue evaluado para determinar su eficacia de recuperación; para esto, un blanco de granos frescos y secos, fue contaminado a tres niveles (0,5; 7,5 y 15  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) con estándar de OTA. Las muestras contaminadas se trataron de igual manera que las demás.

### Análisis micotoxigénico

Las semillas del cacao correspondientes a cada una de las etapas de procesamiento fueron sometidas a dos tipos de tratamiento para lograr aislar los posibles hongos asociados, el primer tratamiento consistió en colocar directamente las semillas sobre el agar APD y se procedió a incubar a 28°C durante 7-10 días. En el segundo tratamiento, las semillas se sometieron a un proceso de lavado con solución salina estéril y tween 80 en agitación a 150 rpm a temperatura ambiente durante 15 minutos, las soluciones obtenidas se diluyeron y se sembraron en agar de papa y dextrosa (APD) y se incubó a 28°C durante 7-10 días. La identificación de los hongos se realizó mediante las estructuras reproductivas mostradas luego del microcultivo<sup>14, 15</sup>.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

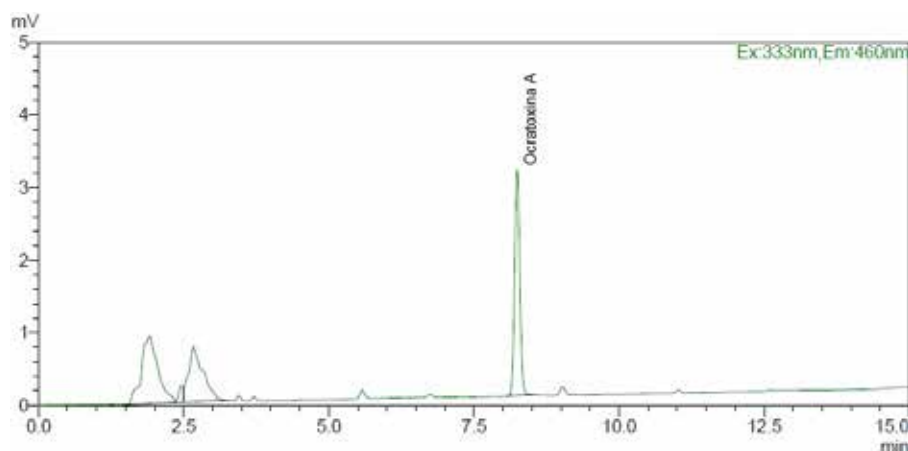
El método utilizado para el análisis de OTA fue evaluado en tres niveles de concentración (0,5; 7,5 y 15  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). El nivel más bajo (0,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) fue elegido ya que es el límite máximo permitido sugerido por el gobierno de Italia (0,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), el cual es el único país europeo que actualmente establece un límite máximo para la OTA en cacao.

En la tabla 1 se muestran los resultados de las pruebas de recuperación con sus respectivas desviaciones estándar tal cual fueron calculadas utilizando el Excel Office 2016.

**Tabla 1.** Resultados de las pruebas de recuperación.

Nivel de contaminación ( $\mu\text{g}/\text{Kg}$ )	Porcentaje de recuperación (%)
0,5	95,57 $\pm$ 0,51
7,5	98,21 $\pm$ 0,48
15	98,73 $\pm$ 0,33

El cromatograma de la prueba de recuperación a un nivel de contaminación de 7,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  se presenta en la figura 3.



**Figura 2.** Cromatograma de la prueba de recuperación a un nivel de 7,5 ug/kg.

Los resultados demuestran que el método utilizado es eficaz para el análisis de OTA en muestras de granos de cacao. La eficacia de un método de extracción depende principalmente del solvente de extracción, el tipo de muestra a analizar, la recuperación de OTA de la columna de inmunoafinidad y la concentración de OTA en la muestra<sup>6</sup>. Debido a esto, los fabricantes de columnas de inmunoafinidad recomiendan diferentes métodos de extracción para diferentes tipos de muestras. El fabricante de las columnas utilizadas (Neogen - Neocolumn) no posee un método en especial para muestras de cacao, sin embargo, otros fabricantes tienen métodos especializados para este tipo de muestras. De ellos, resalta el fabricante R-Biophram - Ochraprep quien posee un método para cacao en polvo y otro para cascarilla de cacao. El primero utiliza bicarbonato de sodio 1 % y el segundo acetonitrilo 60 %. Se decidió utilizar el segundo método ya que en el caso de granos de cacao la OTA suele encontrarse en la cáscara y muy rara vez la atraviesa. El uso de acetonitrilo 60 % es también recomendado para el análisis de cereales, los cuales son matrices muy similares a los de la cascarilla de cacao<sup>9</sup>. Adicionalmente, el acetonitrilo 60 % es un método recomendado para diversos tipos de matrices ya que permite la precipitación de proteínas y posee una polaridad intermedia, adecuada para solubilizar las moléculas de OTA (molécula de polaridad media)<sup>10</sup>.

El hecho de que el método utilizado haya mostrado un porcentaje de recuperación mayor al 95 % para las tres muestras analizadas, corrobora su eficacia para este tipo de muestra. Los métodos de recuperación suelen aumentar su eficacia conforme la concentración de OTA aumenta, tal cual se muestra en el presente trabajo. Esta eficacia se mantiene hasta una concentración máxima en la cual la columna de inmunoafinidad se sature de OTA. Entre los factores que disminuyen la eficacia de un método de extracción se encuentran: pérdida de muestra durante la ejecución del método, alta velocidad de goteo del solvente de recuperación a la hora de recuperar la OTA de la columna de inmunoafinidad y la eficacia del solvente de recuperación<sup>5</sup>. En este caso, el uso de metanol acidificado demostró ser un excelente solvente de recuperación, y la velocidad de dos gotas por segundo demostró ser adecuada.

El metanol acidificado es bastante adecuado para este fin, desnaturalizando los anticuerpos (estructuras proteicas) de las columnas de inmunoafinidad, además rompe los enlaces entre la OTA y dichos anticuerpos.

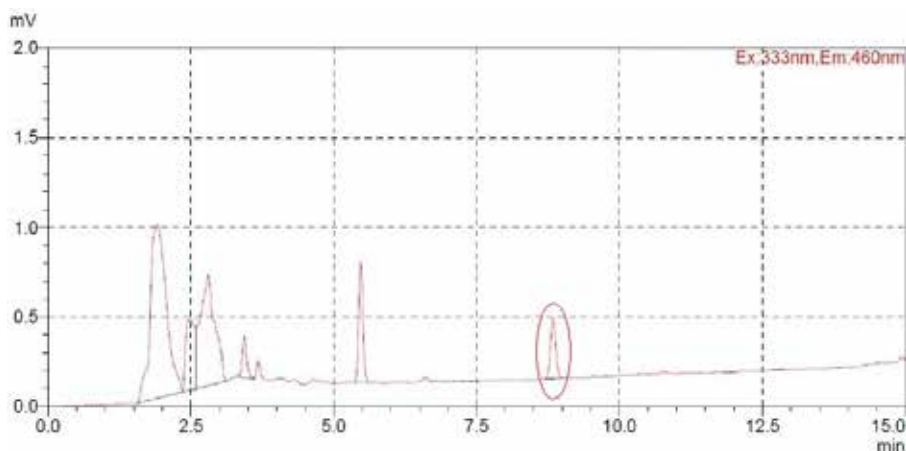
En el presente estudio se analizó el contenido de OTA de muestras de granos de cacao en cuatro etapas de la producción: cosecha, fermentado, secado y almacenado. Los resultados de los análisis se muestran en la tabla 2.

**Tabla 2.** Contenido de OTA en las cuatro etapas analizadas.

Etapa	Contenido de OTA ( $\mu\text{g}/\text{Kg}$ )
Cosecha	<N. D
Fermentado	<N. D
Secado	<N. D
Almacenado	<N. D

N. D= No detectable

Todas las muestras estudiadas muestran niveles de OTA menores al límite de detección. Estos resultados contrastan con los encontrados previamente por Ramos et al.<sup>7</sup>, los cuales mostraron presencia de OTA en la etapa de fermentado. El cromatograma de una de las muestras se presenta en la figura 4.



**Figura 3.** Cromatograma de una de las muestras analizadas

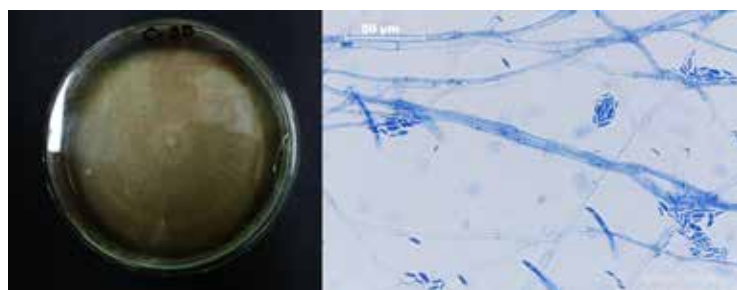
En la figura 4 se puede apreciar un pico (encerrado en círculo) muy cercano al de la OTA. Este pico puede ser un compuesto similar a la OTA, como por ejemplo la ocratoxina B (OTB), ocratoxina C (OTC) o algún otro compuesto producto del metabolismo de la OTA. Di Stefano *et al.*<sup>11</sup> encontraron que diversas especies de hongos del tipo *Aspergillus* producen OTA y OTB de forma paralela, donde la proporción de las toxinas presentes dependían de las



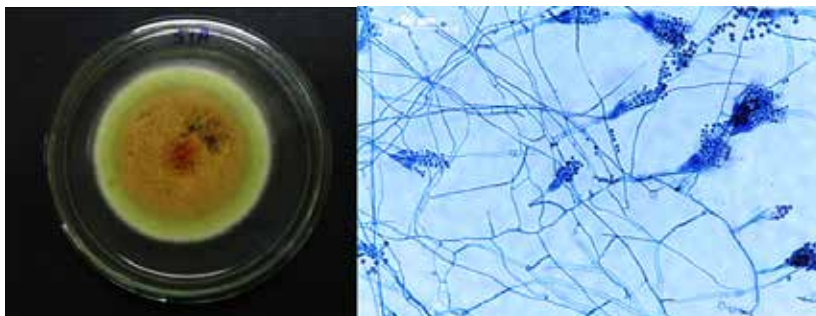
condiciones del cultivo, aunque el contenido de OTA mostró ser generalmente mayor. Se ha demostrado también que la OTA puede convertirse en OTB y viceversa. De forma similar, se ha demostrado que la ocratoxina C puede convertirse en OTA en condiciones naturales<sup>12</sup>.

La contaminación por OTA puede ocurrir en diversas etapas del proceso productivo de cacao y derivados, siendo la etapa más proclive la del fermentado, aumentando la proliferación de hongos productores de OTA debido al aumento de temperatura y humedad, suficientes para la aparición de dichos microorganismos; de igual forma, durante la fermentación los granos de cacao se hinchan de líquido, de tal manera que dentro de los granos se crea el ambiente proclive para la generación de estos organismos. La presencia de los hongos productores de OTA se ve disminuida durante la etapa de secado, siempre cuando esta se realice bajo las condiciones adecuadas. Un secado es adecuado cuando disminuye la humedad hasta un 7 % y se realiza bajo sol, ya que la radiación directa elimina buena parte de hongos. Sin embargo, la presencia de hongos productores de OTA puede volver a incrementar durante el almacenado; por ejemplo, cuando la humedad y la temperatura de la zona de almacenamiento no se controlan, esta proliferación se ve aumentada por el hecho de que los granos suelen almacenarse en sacos de yute, lo que genera el ambiente cerrado y oscuro necesario para la formación de los hongos productores de OTA<sup>8, 13</sup>.

A través del análisis micotoxigénico se evidencio que las semillas del cacao, sometidas a esta investigación, presentan hongos miceliales de los géneros *Penicillium* sp y *Fusarium* sp, así como la presencia de levaduras en las etapas de secado y fermentado, existiendo una mayor presencia de levaduras en la etapa fermentado ( $4,6 \times 10^4$  ufc/mL) por las condiciones mismas del proceso que demanda mayor humedad. En la etapa de almacenado no se evidenciaron presencia de hongos miceliales ni de levaduras, lo cual es un indicador de las buenas condiciones de almacenamiento.



**Figura 4.** *Fusarium* sp. en medio APD y microcultivo a los seis días a 400x, respectivamente.



**Figura 5.** *Penicillium* sp. en medio APD y microcultivo a los tres días a 400x, respectivamente.

El hecho que las muestras no hayan presentado presencia de OTA demuestra que las prácticas de almacenado, llevadas en el centro de acopio de Pisana-Tingomaría, son efectivas para proteger el cacao de la contaminación por OTA, pero no de la presencia de hongos potenciales productores de micotoxinas, corroborado en el estudio.

Con el fin de profundizar más en los estudios de análisis y detección de OTA en cacao, se recomienda evaluar una mayor cantidad de solventes de extracción y las condiciones en las cuales se realiza dicho proceso, de igual forma se deben evaluar otras columnas de inmunoafinidad con el fin de compararlas con la ya estudiada, además; enfatizar el desarrollo del análisis micotoxigénico que evidencia la carga fúngica de las muestras. En lo que respecta al estudio de la presencia de OTA en granos de cacao peruano, se debe aumentar el número de zonas evaluadas, así como las temporadas de cosecha.

## CONCLUSIONES

El método de extracción de OTA utilizado demostró ser altamente eficaz en la extracción de OTA en granos de cacao para los tres niveles evaluados (0,5; 7,5 y 15  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). La concentración de ocratoxina A, en las muestras estudiadas de granos de cacao, fueron menores al límite de detección, y menores al límite máximo permitido (0,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). En el análisis micotoxigénico se evidenció la presencia de hongos del género *Fusarium*, *Penicillium*, levaduras y la no correspondencia entre ausencia de OTA y la presencia de hongos.

## AGRADECIMIENTOS

Al Vicerrectorado de Investigación y Posgrado de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por el financiamiento del estudio Código: A17040321-2017.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Malir F, Ostry V, Pfohl-Leszkwicz A, Novotna E. Ochratoxin A: Developmental and Reproductive Toxicity-An Overview. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* 2013; 98(6): 493-502.
2. Sugitakonishi Y, Tanaka T, Nakajima M, Fujita K, Norizuki H, Mochizuki N et.al. The comparison of two clean-up procedures, multifunctional column and immunoaffinity column, for HPLC determination of ochratoxin A in cereals, raisins and green coffee beans. *Talanta.* 2006; 69(3): 650-655.
3. Afsah-Hejri L, Jinap S, Mirhosseini H. Ochratoxin A quantification: Newly developed HPLC conditions. *Food Control.* 2012; 23(1): 113-119.
4. Copetti MV, Iamanaka BT, Pitt JI, Taniwaki MH. Fungi and mycotoxins in cocoa: From farm to chocolate. *Int J Food Microbiol.* 2014; 178: 13-20.
5. Tafuri A, Ferracane R, Ritieni A. Ochratoxin A in Italian marketed cocoa products. *Food Chem.* 2014; 88(4): 487-494.
6. Mishra RK, Catanante G, Hayat A, Marty JL. Evaluation of extraction methods for ochratoxin A detection in cocoa beans employing HPLC. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.* 2016; 33(3): 500-508. doi: 10.1080/19440049.2015.1133933
7. Ramos N, Castro A, Juárez J, Acha O, Rodríguez N, Blancas J et al. Evaluación de ocratoxina A en *Theobroma cacao* L. "cacao blanco" durante el proceso de cosecha, fermentado, secado y almacenado. *Rev Soc Quím Perú.* 2017; 82(4): 431-439.
8. Chire G, Valdivia R, Ureña M. Ocratoxina A en cacao y derivados. *Medidas preventivas. Ciencia e Investigación.* 2014; 17(1): 9-15.
9. Neogen. Neocolumn for Ochratoxin WB quantitative test. [Internet] 2014. [citado 12 enero 2018]. Disponible en: <https://foodsafety.neogen.com/en/neocolumn-ochratoxin>
10. Hackbart H, Prietto L, Primel E, Garda-Buffon J, Badiale-Furlong E. Simultaneous extraction and detection of ochratoxin A and citrinin in rice. *J Braz Chem Soc.* 2012; 23(1): 103-109.
11. Di Stefano V, Avellone G, Pitonzo R, Capocchiano V, Mazza A, Cicero N, et al. Natural co-occurrence of ochratoxin A, ochratoxin B and aflatoxins in Sicilian red wines. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.* 2015; 32(8): 1343-1351.
12. Heussner A, Bingle L. Comparative Ochratoxin Toxicity: A Review of the Available Data. *Toxins.* 2015; 7(10): 4253-4282.
13. Copetti M, Iamanaka B, Mororó R, Pereira J, Frisvad J, Taniwaki M, The effect of cocoa fermentation and weak organic acids on growth and ochratoxin A production by *Aspergillus* species. *Int J Food Microbiol.* 2012; 155(3): 158-164.
14. Rodríguez G. Caracterización morfológica de hongos endófitos asociados a cacao nativo y su capacidad antagónica para el control de *Moniliophthora perniciosa*. [tesis para optar al título profesional de ingeniero agrónomo]. Lima: Universidad Nacional de San Martín, Facultad de Ciencias Agrarias; 2011.
15. Arbelaez G. Algunos aspectos de los hongos del género *Fusarium* y de la especie *Fusarium oxysporum*. *Rev Agron Colomb.* 2000; 17: 11-22.

## **COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE LA ALGA ROJA *Rodhymenia howeana* DE LA BAHÍA DE ANCÓN, PERÚ**

Naddia Carolina RojasVega<sup>a</sup>, Rubén Valdivieso Izquierdo<sup>b</sup>, Inés Arnao Salas<sup>b</sup>

### **RESUMEN**

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la composición nutricional del alga roja *Rodhymenia howeana*. Ensayos realizados: análisis proximal determinado según la AOAC, contenido de minerales por espectroscopia de absorción atómica, el cómputo aminoácido mediante cromatografía de intercambio catiónico usando un analizador de aminoácidos, el contenido de vitamina C y fenoles totales por espectrofotometría. Los resultados más resaltantes del análisis proximal fueron 28,56 % de proteína; 21,08 % de cenizas y trazas de extracto etéreo (lípidos) en muestra seca. Del contenido de minerales: hierro 502 mg/kg y zinc 18,54 mg/kg de muestra seca de alga. Los aminoácidos esenciales más abundantes (mg/100 g de muestra seca) fueron: valina 95, leucina 116 y lisina 116,2 y entre los no esenciales resaltaron: alanina 139, ácido aspártico 244 y ácido glutámico 313. De los componentes antioxidantes el contenido de vitamina C fue de 1,12 mg en 100 g de muestra seca y de fenoles totales fue de 980,2 mg EAG /100 g de muestra seca. Conclusiones: el alga roja *Rodhymenia howeana* es un alimento nutritivo y contiene compuestos antioxidantes.

**Palabras clave:** composición nutricional, *Rodhymenials*, algas rojas, minerales, aminoácidos.

## **NUTRITIONAL COMPOSITION OF RED SEAWEED *Rodhymenia howeana* FROM ANCON BAY, PERU**

### **ABSTRACT**

The objective of this study was to evaluate the nutritional composition of the red alga *Rodhymenia howeana*. Tests performed: proximal analysis determined according to AOAC, mineral content by atomic absorption spectroscopy, amino acid count by cation exchange chromatography using an amino acid analyzer, vitamin C content and total phenols by spectrophotometry. The most important results of the proximal analysis were 28.56% of protein; 21.08% ash and traces of ethereal extract (lipids) in dry sample. Of the mineral content: iron 502 mg / kg and zinc 18.54 mg / kg of dry sample of algae. The most abundant essential amino acids (mg / 100 g of dry sample) were: valine 95, leucine 116 and lysine

<sup>a</sup> Nutricionista. Unidad de Posgrado de la Facultad de Medicina. Universidad Mayor de San Marcos.

<sup>b</sup> Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición "Alberto Guzmán Barrón". Universidad Mayor de San Marcos.

116.2 and among the non-essential ones relevant: alanine 139, aspartic acid 244 and glutamic acid 313. Of the antioxidant components the content of vitamin C was 1.12 mg in 100 g of dry sample and of total phenols was 980.2 mg EAG / 100 g of dry sample. Conclusions: the red seaweed *Rodhymenia howeana* is a nutritious food and contains antioxidant compounds.

**Key words:** Nutrition facts, *Rodhymenials*, red seaweeds, minerals, amino acids

## INTRODUCCIÓN

Las algas marinas han sido utilizadas como alimento en humanos, y en menor proporción como fertilizantes y aditivos para alimentos de animales. Las algas como alimento tienen un alto consumo en países asiáticos como China, Japón y Corea, y su demanda ha aumentado en países de Norte América, Sudamérica y Europa, principalmente por la gran migración de asiáticos a otros países del mundo<sup>1</sup>. Estos alimentos son importantes reservorios de nutrientes, pues presentan un bajo contenido de calorías y lípidos lo cual beneficiarán a las personas con patologías como sobrepeso, obesidad, diabetes y dislipidemias. Su elevada concentración de minerales, vitaminas antioxidantes y moléculas bioactivas como polifenoles con amplias potencialidades terapéuticas ayudarán a la prevención de enfermedades relacionadas con estrés oxidativo<sup>2,3</sup>.

Nuestro país posee vastos recursos ya que existen 228 especies de macroalgas de las cuales 160 son rojas, 31 pardas y 37 verdes. Las especies de macroalgas marinas con importancia económica son *Chondracanthus chamissoi*, *Gracilariopsis lemaneiformis*, *Porphyra* spp, *Lessonia nigrescens*, *Lessonia trabeculata*, *Macrocystis integrifolia*, *Macrocystis pyrifera* y *Ulva* spp<sup>1</sup>. En tanto no se desarrollen investigaciones en este campo, no serán tomadas en cuenta las más de 100 especies de macroalgas en el mar peruano y la Antártica.

Dentro de este grupo de macroalgas no estudiadas está la especie *Rodhymenia howeana* que en el pasado fue empleada como parte de la alimentación de la población local. Es una especie distribuida en costas de Perú y Chile. En nuestro país se encuentra en: Bahía de Chimbote, Bahía de Ancón, Islas Chincha y La Punta, Callao. Existe poca investigación en el país sobre las algas marinas en general, a pesar de ser un recurso abundante, económico y con muchos potenciales; por este motivo se considera prioritario conocer su composición nutricional y capacidad antioxidante para revalorizar este alimento marino ya que beneficiará a nuestra población en general.

El objetivo del presente estudio es determinar la composición nutricional mediante el análisis proximal, contenido de aminoácidos, mineral, vitamina C y de fenoles totales del alga *Rodhymenia howeana*.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Muestra y colecta de la materia prima

Diseño: enfoque cuantitativo, descriptivo, observacional y transversal. Se recolectaron 10 kg de alga marina roja *Rodhymenia howeana*, durante el periodo de octubre - noviembre 2017 en la Bahía de Ancón en la ciudad de Lima, Perú (11° 45.9 S 77° 11.7 W). Las algas seleccionadas fueron lavadas para remover la materia extraña y enjuagada repetidamente con agua destilada. Las algas frescas fueron colocadas en un conservador portátil de alimentos con hielo seco. Los especímenes fueron identificados y autenticados en el Museo de Historia Natural de la Universidad Mayor de San Marcos.

Los reactivos: ácido ascórbico y DPPH fueron de la casa Sigma-Aldrich y alcohol etílico, Folin Ciocalteu, ácido gálico, carbonato de sodio y ácido tricloroacético de la casa Merck.

### Composición proximal

El análisis proximal se realizó en el Laboratorio de Bioquímica, Nutrición y Alimentación Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, donde emplearon la metodología analítica de AOAC 930.15 para humedad, AOAC 984.13 para proteína cruda, ISO 6865 AOAC 978.10 para fibra cruda, AOAC 942.05 para cenizas y AOAC 2003.05 para grasa. El extracto no nitrogenado se obtuvo por diferencia de los componentes<sup>4</sup>. Los resultados se expresan en base húmeda % y base seca %.

### Composición mineral

Las determinaciones mediante el método espectroscopia de absorción atómica (EAA) de los minerales manganeso, zinc, hierro, magnesio, cobre y selenio obtenidos se realizó en la Unidad de Servicios de Análisis Químicos de la Facultad de Química e Ingeniería Química de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Los resultados fueron expresados en mg/kg de muestra seca.

### Composición aminoacídico

El análisis aminoacídico se realizó en el Instituto de Investigación de Ciencias de la Alimentación (CIAL) en Madrid y la metodología usó una columna cromatográfica de intercambio catiónico en un analizador de aminoácidos Biochrom serie 30 (Biochrom, Cambridge, EE.UU.) Las muestras fueron previamente hidrolizadas con HCl 6 N durante 21 horas a 110 ° C y los aminoácidos fueron derivatizados con o-ftalaldehído (OPA) en una pre-columna. La detección fue realizada por absorbancia a 440 nm. El contenido de aminoácidos se expresa en mg/g de proteína  $\pm$ desviación estándar.

### Contenido de vitamina c

La metodología empleada fue la descrita por Jagota y Dani<sup>5</sup>. Para este ensayo se añadió 120  $\mu$ l de ácido tricloroacético (TCA) al 10 % al extracto acuoso y luego fue centrifugado. Posteriormente, se utilizó 600  $\mu$ l de reactivo de Folin-Ciocalteu al 10 % con 480  $\mu$ l del sobrenadante. Se realizó la lectura a 760 nm en el espectrofotómetro (S-20, Marca Boeco) posterior a su agitación y reposo de 10 minutos. Los resultados se expresaron en mg de ácido ascórbico en 100 g de muestra seca.

### Contenido de fenoles totales

El ensayo se realizó según Singleton, Orthofer y Lamuela-Raventos<sup>6</sup>. Para este ensayo se colocó 1250 µl de reactivo de Folin-Ciocalteu, 500 µl del extracto acuoso, 1000 µl de solución de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 7,5 % w/v. Después de 45 minutos de incubación en baño de María a 50° C se leyó a 760 nm en el espectrofotómetro (S-20, Marca Boeco). Los resultados fueron expresados en equivalentes de ácido gálico en 100 g de alga seca. La concentración de polifenoles fue derivada de una curva de ácido gálico en el rango de 10 a 50 µg/mL.

### Análisis estadístico

Todos los datos fueron analizados en tres experimentos independientes y se utiliza la estadística descriptiva presentando los resultados como promedio y desviación estándar.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los carbohidratos, proteínas, lípidos y vitaminas se proporcionan al cuerpo humano a través de diferentes fuentes de alimentos entre los cuales deben ser considerados las algas marinas, abundantes en nuestras costas peruanas.

El análisis proximal nos permite conocer el contenido de estos nutrientes, y los resultados para el alga *Rodhymenia howeana* se presentan en la tabla 1.

**Tabla 1.** Composición proximal del alga *Rodhymenia howeana*

Componente	Base húmeda %	Base seca %
Humedad	79,03	20,77
Proteína	5,99	28,56
Extracto etéreo	trazas	trazas
Fibra cruda	2,32	11,04
Cenizas	4,42	21,08
Extracto nitrogenado	no 8,24	39,32

Tal como en las plantas terrestres, las algas marinas también son una fuente rica de elementos nutricionales, pues presentan altos niveles de fibra, minerales, ácidos grasos omega 3 y concentraciones moderadas de lípidos y proteínas, disponibles en la mayoría de las algas comestibles, son aportes que deben ser considerados como una importante fuente de alimentos para la nutrición humana.

Un componente valorado en todo alimento es su contenido proteico, tal es así que para la especie *Rodhymenia howeana* su contenido proteico fue de 28,56 % en base seca. En comparación con otros autores, los valores más bajos (7,8 % y 8,9 % en muestra seca) son presentados por Xiren y Aminah<sup>7</sup> en especies rodofita, *Kappaphycus alvarezii* de Malasia. Este resultado es diferente a lo reportado por Frikha<sup>3</sup> en algas tunecinas, donde el mayor contenido de proteínas fue de 14 % en muestra seca para el alga roja *Ceramium diaphanum*, valor que coincide con el de Nehal Osman *et al*<sup>8</sup> para el alga verde *Caulerpa serrulata*. Otros autores como Alvarez y Sierra<sup>9</sup> obtienen valores de 20 % de contenido de proteínas en muestra seca para la especie roja *Gracilariopsis tenuifrons*, los que se asemejan a las especies brasileras *Hypnea musciformis* y *Solieria filiformis*, ambas rodofitas, con 17 % y 20 %, respectivamente. Sin embargo, la especie coreana *Porphyra tenera* y *Porphyra haitanesis* con 32 % y 36 %, reportada por Hwang *et al*<sup>10</sup>, es la que supera en contenido de proteína cruda a todas las anteriores. Debemos señalar que los países asiáticos emplean algas que se cultivan de manera comercial para mejorar su calidad, lo que les permite concentrar todos sus componentes, de allí los elevados valores en proteínas obtenidos.

La cantidad de lípido, respecto a otras algas rojas, se mantiene con un valor similar, siempre menores a 3 %, como en el reino vegetal y en relación al porcentaje de fibra este es menor que otras especies. Las diferencias en la composición proximal son atribuibles a factores como el clima, la temperatura, el pH, diferencias geográficas, la especie y la estacionalidad.

El contenido mineral de manganeso, magnesio, zinc y hierro se presentan en la tabla 2, siendo el elemento más destacable el hierro; no fueron detectados, selenio ni cobre teniendo en consideración el límite de detección para estos elementos según la técnica empleada de 10 mg/kg y 0,5mg/kg, respectivamente.

**Tabla 2.** Contenido mineral del alga *Rodhymenia howeana*

Mineral	mg/kg de muestra seca
Cobre	No Detectable
Selenio	No Detectable
Manganeso	7,1
Zinc	11,8
Hierro	502
Magnesio	1,8



Es indispensable la incorporación al organismo de ciertos oligoelementos ya que forman parte del núcleo activo de las ciertas macromoléculas, algunos funcionan como cofactores de enzimas con capacidad antioxidante como la superóxido dismutasa, que contiene zinc, cobre y manganeso.

El elemento traza más destacable de los analizados en *R. howeana*, es el hierro y Osman *et al*<sup>8</sup>, quienes evaluaron la especie clorofita *Caulerpa serrulata*, obtuvieron una concentración de hierro de 70 mg/kg. En las especies *Kappaphycus alvarezii* y *Gracilariopsis tenuifrons*, ambas algas rojas evaluadas por Alvarez<sup>9</sup>, el contenido de hierro también es menor, con 56,27 y 204,83 y mg/kg, respectivamente, al igual que en *Porphyra* spp, *Chondrus crispus*, *Palmaria palmata* y *Laminaria* spp con concentraciones medias de hierro de 106 mg/kg según reporte de Ruíz *et al*<sup>11</sup>. De todos los estudios considerados en el presente artículo, la especie *Porphyra haitanensis*, estudiada por Hwang<sup>10</sup>, presentó valores de hierro de 700 mg/kg, que son mayores a los de la alga roja peruana.

Más del 40 % de los niños y niñas menores de 5 años y cerca del 21 % en mujeres de edad fértil son diagnosticados de anemia en nuestro país, según el Plan Nacional de Reducción y Control de la Anemia del año 2017. El hierro es un nutriente esencial para el ser humano ya que participa en el transporte de oxígeno en la sangre y lo almacena en el músculo. Las necesidades de hierro diarias varían con la edad y son más importantes en niños, mujeres en edad fértil y durante el embarazo<sup>12</sup>. Siendo este mineral el más abundante de nuestra alga estudiada, podría ser empleado como suplemento útil en la prevención y/o tratamiento de la anemia.

El zinc es un mineral extraordinariamente versátil que forma parte de más de 100 enzimas, está relacionado con el crecimiento y desarrollo durante la pubertad y la adolescencia, la actividad de la vitamina A, la síntesis de enzimas pancreáticos, es esencial para mantener el sentido del gusto y, por tanto, el apetito, para facilitar la cicatrización de las heridas y para el normal desarrollo del feto, entre otras importantes funciones<sup>12, 13</sup>.

Este mineral fue evaluado por Osman *et al*<sup>8</sup> en la especie clorofita *Caulerpa serrulata* con resultados de 13,1 mg/kg de zinc y en la especie coreana *Porphyra columbina*, con valores similares a lo encontrado en el presente estudio. Para las algas rojas *Gracilariopsis tenuifrons* y *Kappaphycus alvarezii*, evaluadas por Álvarez y Sierra<sup>9</sup>, con un contenido de zinc fue 16,32 y 19,40 mg/kg, respectivamente, que son mayores a lo encontrado en nuestra alga peruana.

El contenido mineral en algas es mayor que el de las plantas terrestres, por lo tanto, las algas marinas pueden ser una fuente importante de minerales porque algunos de estos elementos trazas, están ausentes en hortalizas de tierra o sólo se encuentran en concentraciones muy pequeñas.

Un factor determinante en la calidad de las fuentes proteicas es la composición en aminoácidos, tal como se presenta en la tabla 3 para nuestra alga en estudio, en la cual se observa la presencia de 19 aminoácidos diferentes expresados en mg/g de proteína. El triptófano no fue determinado debido a que se destruye por hidrólisis ácida.

**Tabla 3.** Composición aminoacídico del alga *Rodhymenia howeana* (mg/g proteína en muestra seca)

Aminoácido	Aminoácido
Ácido aspártico + Asparagina	8,55 ± 0,27
Treonina	3,30 ± 0,16
Serina	4,10 ± 0,13
Ácido glutámico + Glutamina	10,97 ± 0,47
Glicina	3,14 ± 0,11
Alanina	4,90 ± 0,17
Cisteína	1,74 ± 0,01
Valina	3,32 ± 0,09
Metionina	2,38 ± 0,20
Isoleucina	2,58 ± 0,18
Leucina	4,07 ± 0,29
Tirosina	1,86 ± 0,05
Fenilalanina	3,13 ± 0,12
Histidina	1,02 ± 0,04
Lisina	4,06 ± 0,15
Arginina	2,81 ± 0,13
Prolina	3,00 ± 0,18

Una mejor apreciación de este contenido es clasificarlos en aminoácidos esenciales y no esenciales, lo cual nos va a facilitar la discusión de los resultados, tal como se observa en la tabla 4, en donde los valores se expresan en mg/ 100 g de muestra seca.

**Tabla 4.** Contenido de aminoácidos esenciales y no esenciales del alga *Rodhymenia howeana* en muestra seca

Aminoácidos esenciales	mg/100 g	%	Aminoácidos no esenciales	mg/100 g	%
Histidina	29,1	1,6	Ácido aspártico + asparagina	244,2	13,2
Treonina	94,2	5,1	Ácido glutámico + glutamina	313,3	16,9
Arginina	80,3	4,3	Serina	117,1	6,3
Lisina	116	6,3	Glicina	89,7	4,8
Metionina	68	3,7	Prolina	85,7	4,6
Fenilalanina	89,4	4,8	Tirosina	53,1	2,9
Valina	94,8	5,1	Cisteína	49,7	2,7
Isoleucina	73,7	4,0	Alanina	139,9	7,5
Leucina	116,2	6,3			
Total AAE	761,7	41,1	Total AANE	1 092,7	58,9

Total: 1 854,4 mg

De los aminoácidos esenciales destacan la treonina y valina con 5,1 % y lisina y leucina con 6,3 %, siendo la histidina la que presentó el valor más bajo. En comparación con la investigación de Xiren y Aminah<sup>7</sup> quienes emplean la alga roja *Kappaphycus alvarezii* de Lawakii (Malasia) los aminoácidos resaltantes fueron leucina con 0,32 mg/100 g, valina y fenilalanina con resultados de 0,24 mg/100 g y en caso de la misma especie pero de la localidad de Sabah destaca la leucina, siendo el valor más elevado de 0,56 mg/100 g de muestra seca. Estos aminoácidos esenciales tienen valores menores al ser comparados con los de nuestro estudio, donde el contenido de leucina y de valina fue de 116,2 y de 94,8 mg en 100 g de muestra seca. Con respecto a lo reportado por Hwang *et al*<sup>10</sup> que evaluaron la especie coreana *Porphyra tenera* y la especie china *Porphyra haitanensis* destacan isoleucina con 46,67 mg/100 g y valina con 33,48 mg/100 g de muestra seca y en nuestro estudio dichas concentraciones son mayores (74 y 94 mg/100 g de muestra seca de los aminoácidos ya mencionados), mientras que en la especie china *P. haitanensis* predomina el contenido de treonina con 86,43 mg/100 g que es similar con lo encontrado en el alga peruana (94 mg/100 g), ambas en base seca. Sin embargo, las diferencias son notables con el alga roja chilena *Chondracantus chamissoi* investigada por Ortiz<sup>2</sup> ya que sus resultados para histidina, leucina y lisina, con valores de 879, 706 y 593 mg/100 g de muestra seca, respectivamente, son significativamente más elevados que en *R. howeana*. Sin embargo, la concentración de aminoácidos ramificados (leucina, valina e isoleucina) en nuestro estudio es el doble que lo analizado en la especie coreana *P. tenera*, que tiene un contenido de 108 mg de los aminoácidos mencionados. Si tomamos en cuenta los valores porcentuales de los aminoácidos ramificados observamos que los porcentajes de isoleucina para la especie *R. howeana* es de 4 %, *C. chamissoi* de 4,5 % y *K. alvarezii* de Lawakii con 5,5 % que son proporcionalmente similares. Algo parecido ocurre con el aminoácido valina donde los valores son de 5 %, 6 % y 6,3 % en el mismo orden de las tres especies mencionadas. No obstante, con leucina las concentraciones en las especies *C. chamissoi* y *K. alvarezii* son de 8 % y 9,6 % ambos resultados son mayores a los presentados en el alga de estudio con 6 %.

La especie *Rodhymenia howeana* es rica en ácido glutámico (16,9 %), ácido aspártico (13 %), alanina (7,5 %) y serina (6,3 %). Realizando una comparación de los aminoácidos no esenciales con otras especies observamos que el ácido glutámico varía del 12 %, al 14 % y el aspártico del 10 % al 13,8 % en las especies *K. alvarezii*, y *C. chamissoi*, siendo estos aminoácidos ácidos los más abundantes, al igual que en nuestro caso.

Debemos destacar el contenido de cisteína en *R. howeana*, ya que es precursor en la síntesis de glutatión, un potente antioxidante de nuestro organismo. Este aminoácido no ha sido determinado en las especies estudiadas por Xiren y Aminah<sup>7</sup> y su valor es mínimo en *C. chamissoi*.

Debido a las diferentes metodologías empleadas en la determinación del contenido de aminoácidos, las unidades en que se expresan los resultados, la composición de los hidrolizados, entre otros, no siempre resulta fácil una comparación. Si expresamos estos datos en porcentaje, encontramos que cien gramos de *R. howeana* aporta 761,7 mg de aminoácidos esenciales, lo que representa el 41 %, esto es equivalente a una relación de aminoácidos esenciales (AAE) y

no esenciales (AANE) de 0,71. Este valor es muy cercano a los de *K. alvarezzi* obtenidos de dos localidades de Malasia con valores de 0,74 y 0,79 pero diferente a *Ch. chamissoi* (Chile) en donde esta relación alcanza 1,47.

Finalmente, podemos expresar que existe una gran variabilidad en el contenido de los aminoácidos de las muestras de alga ya que es conocida que esta composición es altamente influenciada por la localización geográfica y las condiciones ambientales locales, además de la sensibilidad de la técnica empleada en la cuantificación de los aminoácidos.

El ácido ascórbico es un agente antioxidante y reductor poderoso y puede, por lo tanto, reducir la acción perjudicial de los radicales libres, sus principales funciones son neutralizar el oxígeno singlete (O<sub>2</sub>), capturar radicales hidroxilos, aniones superóxidos y regenerar la forma oxidada de la vitamina E. Es también importante para mejorar la absorción del hierro no-hemínico en alimentos de origen vegetal. Es necesario para la formación y mantenimiento adecuado del material intercelular, sobre todo del colágeno. No se sintetiza en el organismo, por lo que debe ser aportada por la dieta<sup>12, 13</sup>.

El contenido de vitamina C del alga roja *Rhodymenia howeana* fue de  $1,12 \pm 0,04$  mg en 100 g de muestra seca. El valor más bajo lo presentó la especie rodoftita *Corallina officinalis* evaluada por Ismail<sup>14</sup> con resultados de 0,67 mg/100 g. El valor más elevado fue de 21,6 mg/ 100 g de muestra seca reportado por Yildiz *et al*<sup>15</sup> en la especie roja *Gracilaria bursa-pastoris*. Estos resultados de vitamina C, tan variados, podrían deberse al origen de donde son extraídas las algas.

Los polifenoles son un conjunto heterogéneo de moléculas que comparten la característica de poseer en su estructura varios grupos fenólicos y de tener potente actividad antioxidante para modular la actividad de diferentes enzimas, y en los mecanismos de señalización y procesos celulares<sup>13</sup>. Los compuestos fenólicos son el grupo más extenso de sustancias no energéticas presentes en alimentos de origen vegetal y que están también presentes en las algas. El contenido de fenoles totales del alga roja *Rhodymenia howeana* fue de  $980,2 \pm 0,07$  mg EAG /100 g de muestra seca; valores de estos metabolitos de 489 mg EAG/100 g en *Corallina officinalis* evaluada por Ismail<sup>14</sup> que representan cerca de la mitad del resultado del alga de estudio. Sin embargo, en *Ceramium diaphanum*, un alga roja, se encontró un valor de 1000 mg EAG/100 g según la investigación de Frikha *et al*<sup>3</sup>, lo que concuerda con nuestro estudio.

## CONCLUSIONES

El alga marina roja *Rhodymenia howeana* es un alimento nutritivo por su alto valor proteico y bajo contenido calórico además de compuestos antioxidantes como polifenoles y niveles elevados de hierro y zinc, por lo que podría ser usado como suplemento de dietas para humanos y animales.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece enormemente a todos los docentes de la Maestría de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNMSM por su labor académica y humana en el desarrollo de futuros investigadores, por su guía y paciencia para desarrollarse como maestrandos en este campo donde poseen vital experiencia.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acleto O. Algas Marinas del Perú de importancia económica. 2ª ed. Lima: UNMSM - Museo de Historia Natural; 1986.
2. Ortiz J. Composición nutricional y funcional de las algas rodofíceas chilenas [Internet]. Santiago, Chile: Universidad de Chile; 2011. [Citado 14 diciembre 2017]. Disponible en: <http://www.repositorio.uchile.cl/handle/2250/121460>
3. Frikha F, Kammoun M, Hammami N, Mchirgui R, Belbahri L, Gargouri L *et al.* Chemical composition and some biological activities of marine algae collected in Tunisia. *Ciencias Marinas*. 2011; 37(2): 113-124.
4. AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International (OMA). Gaithersburg, Maryland: AOAC International; 2005.
5. Jagota S, Dani H. A new colorimetric technique for estimation of vitamin c using Folin phenol reagent. *Anal Biochem*. 1982; 127 (1): 178-182.
6. Singleton V, Orthofer R, Lamuela R. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in enzymol*. 1999; 299 (1): 152-178.
7. Xiren G, Aminah A. Proximate composition and total amino acid composition of *Kappaphycus alvarezii* found in the waters of Langkawi and Sabah, Malaysia. *Int Food Res J*. 2017; 24 (3): 1255-1260
8. Osman N, El-Manawy I, Amin A. Nutritional composition and mineral content of five macroalgae from red sea. *Egyptian J Phycol*. 2011; 12(1): 89-102.
9. Álvarez R, Sierra L. Comparación bromatológica de las algas nativas (*Gracilariopsis teunifrons*, *Sargassum filipéndula*) y exóticas (*Kappaphycus alvarezii*) del Caribe Colombiano. *Bol Cient Ms Hist Nat*. 2009; 13(2): 17-25.
10. Hwang E, Ki K, Chung H. Proximate composition, amino acid, mineral, and heavy metal content of dried laver. *Prev Nutr Food Sci*. 2013; 18(2):139-144.
11. Ruíz M, Rubio C, Luis G, Ojeda I, González D, Gutiérrez A *et al.* Metales en algas comestibles: Evaluación y estudio comparativo. *Rev Toxicol*. 2013; 30 (1): 182-192.
12. Carbajal A. Manual de Nutrición y Dietética. [Internet] Universidad Complutense de Madrid; 2013. [citado 12 de mayo del 2018]. Disponible en: <https://www.ucm.es/nutricioncarbajal/>
13. Criado C, Moya M. Vitaminas y antioxidante. [Internet] Madrid: Sanidad y ediciones SL; 2009. [citado 12 de mayo del 2018]. Disponible en: [http://2011.elmedicointeractivo.com/Documentos/doc/VITAMINAS\\_Y\\_ANTIOX\\_EL\\_MEDICO.pdf](http://2011.elmedicointeractivo.com/Documentos/doc/VITAMINAS_Y_ANTIOX_EL_MEDICO.pdf)

14. Ismail G. Biochemical composition of some Egytian seaweeds with potent nutritive and antioxidant properties. *Food Sci Technol.* 2017; 37(2):294-302
15. Yildiz G, Vatan O, Celikler S, Dere S. Determination of the phenolic compounds and antioxidative capacity in red algae *Gracilaria bursa-pastoris*. *Int J Food Prop.* 2011; 14(3):496-502.

## **APLICACIÓN DEL NANOCOMPOSITO ARCILLA – CARBOXIMETILQUITOSANO - NANOPARTÍCULAS DE PLATA EN FILTROS PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS DE CONSUMO DE ZONAS RURALES DE CAMANÁ, AREQUIPA**

María Elena Talavera Núñez<sup>a</sup>, Irene Zea Apaza<sup>a</sup>, Corina Vera Gonzales<sup>a</sup>,  
Julia Zea Álvarez<sup>a</sup>, Luis Rodrigo Benavente Talavera<sup>a</sup>

### **RESUMEN**

Se formuló un filtro con un nanocompósito de arcilla-carboximetilquitosano-nanopartículas de plata, que se usó para eliminar bacterias y aniones en aguas de consumo humano.

Las nanopartículas de plata se obtuvieron por reducción del nitrato de plata 1mM, con carboximetilquitosano al 0,01 % y borohidruro de sodio 2mM como iniciador de la reducción. Posteriormente, se obtuvo los filtros como recipientes con arcilla y aserrín de madera como formador de poros, en la proporción de 2:1; se moldeó, secó y sinterizó a 800°C por tres horas. Seguidamente, los filtros se impregnaron con la dispersión coloidal de carboximetilquitosano-nanopartículas de plata, por inmersión durante 12 horas.

Se definieron cuatro puntos de muestreo del agua: Huacapuy, La Punta, Plaza de Quilca, Caleta de Quilca. Al evaluar la capacidad filtrante de los filtros, se encontró que se remueven: conductividad 84,03 % en La Plaza de Quilca, sulfatos 85,48 % en La Plaza de Quilca; cloruros 93,93 % en La Plaza de Quilca. Por otro lado, las bacterias coliformes fecales y coliformes totales se removieron en un 100 % en La Punta y en la Plaza de Quilca. No se encontraron bacterias coliformes en Huacapuy ni en la Caleta de Quilca. Por lo que se puede confirmar que los resultados tienen un porcentaje de remoción significativo en la eliminación de aniones, en cuanto a bacterias coliformes totales y coliformes fecales se removieron en su totalidad.

**Palabras clave:** arcilla, filtro, carboximetilquitosano, nanopartículas de plata, nanocompósito.

---

<sup>a</sup> Universidad Nacional San Agustín de Arequipa. Facultad de Ciencias Naturales y Formales, Departamento Académico de Química. mtalaveran@unsa.edu.pe

## APPLICATION OF NANOCOMPOSITOS CLAY -CARBOXIMETHYLQUITOSAN - NANOPARTICLES OF SILVER IN FILTERS FOR THE TREATMENT OF WATER OF RURAL AREAS OF CAMANA, AREQUIPA

### ABSTRACT

A filter made of a nanocomposite of clay – carboximethylchitosan – silver nanoparticles was created to eliminate bacteria and anions in water for human consumption.

The silver nanoparticles were obtained by reduction of silver nitrate 1mM, with carboximethyl chitosan at 0.01% and sodium borohydrido 2mM as starter of the reduction. Then the clay filters were made with wood sawdust as the pore maker in a 2:1 proportion; it was molded, dried and sinterized at 800°C for 3 hours. Quickly the filters were impregnated with the colloidal dispersion of carboximethyl chitosan – silver nanoparticles by immersion for 12 hours.

Four water sampling points were defined: Huacapuy, La Punta, Plaza de Quilca, Caleta de Quilca. When evaluating the filtering capacity of the filters, it was found that the following were removed: conductivity 84.03% in La Plaza de Quilca, sulfates 85.48% in La Plaza de Quilca; 93.93% chlorides in La Plaza de Quilca. On the other hand, fecal coliform bacteria and total coliforms were removed 100% at La Punta and Plaza de Quilca. No coliform bacteria were found in Huacapuy or in the Caleta de Quilca. So it can be confirmed that the results have a significant removal percentage in the elimination of anions, in terms of total coliform bacteria and fecal coliforms were removed in its entirety.

**Key words:** clay, filter, carboximethyl chitosan, silver nanoparticles, nanocomposite.

### INTRODUCCIÓN

La nanotecnología es el estudio, diseño, creación, síntesis, manipulación y aplicación de materiales, aparatos y sistemas funcionales a través del control de la materia a nanoescala, y la explotación de fenómenos y propiedades de la materia a nanoescala, a esta escala los átomos y moléculas, muestran fenómenos y propiedades totalmente nuevas. Por lo tanto, científicos utilizan la nanotecnología para diseñar materiales novedosos y poco costosos con propiedades únicas<sup>1</sup>.

Estos fenómenos se rigen bajo las leyes de la termodinámica coloidal y sus propiedades están entre los fenómenos mecánico cuánticos y los mecánico clásicos, estas nuevas propiedades son las que los científicos aprovechan para sintetizar nuevos materiales (nanomateriales) o dispositivos nanotecnológicos, de esta forma la Nanotecnología promete soluciones a múltiples problemas que enfrenta actualmente la humanidad como: ambientales, energéticos, de salud (nano medicina), y muchos otros; sin embargo, estas nuevas tecnologías pueden conllevar a riesgos y peligros si son mal utilizadas<sup>2</sup>.



Los nanomateriales son una nueva clase de materiales, ya sean cerámicos, metales, semiconductores, polímeros o una combinación de estos o nanocompuestos, en los cuales, por lo menos uno de sus componentes, tiene una de sus dimensiones entre 1 y 100 nm; representan una transición entre moléculas, átomos y un material con dimensiones de sólido volumétrico. Debido a su tamaño reducido a nanómetros, las propiedades fisicoquímicas difieren del mismo material, de las moléculas y los átomos<sup>3</sup>.

El tratamiento de agua para consumo es una opción viable para mejorar y asegurar la calidad del agua, principalmente en lugares que no cuentan con sistemas de tratamiento, o los sistemas existentes operan de manera deficiente o existen condiciones de sequía, en el estudio comparativo de dos sistemas de filtración para agua de consumo casero<sup>4</sup>, se evaluaron dos sistemas: un filtro de 1 vela (1VC) y otro de 2 velas cerámicas (2VC) durante seis meses. Se evaluó la eficiencia de reducción de turbiedad y *E. coli*. Se empleó un sustrato sintético cuyo valor promedio de turbiedad fue de  $32,7 \pm 2,81$  UNT y  $3,9 \times 10^5$  UFC/100mL de *E. coli*. Los resultados mostraron que ambos sistemas de filtración lograron reducir la turbiedad a valores promedio de 0,28 UNT (99 % de eficiencia) y eliminar *E. coli* entre 99,99 y 100 %. No se encontraron diferencias estadísticas significativas en términos de la calidad de agua filtrada por ambos sistemas.

Se aplica un método convencional para producir cerámicos porosos, por adición y pirolisis de un material orgánico: el almidón, que actúa como formador de poros. Las suspensiones acuosas de (52-55 V%) de la mezcla zirconio, se estabilizaron con una solución de poliácrlato de amonio comercial como dispersante y se consolidaron en moldes de plástico a 90°C por 30 minutos. Luego se sinterizaron entre 1000 - 1500°C por 2 h. Las características del producto se evaluaron por medidas de densidad, contracción volumétrica, intrusión de mercurio y la evolución de las fases cristalinas por difracción de rayos X (DRX) y microscopía electrónica de barrido (SEM). Se encontró que las propiedades microestructurales del cerámico (volumen de poros, relación entre porosidad abierta y cerrada, distribución de tamaño, morfología de los poros) dependen de la cantidad de almidón adicionado y de la temperatura de sinterización<sup>5</sup>.

## **PARTE EXPERIMENTAL**

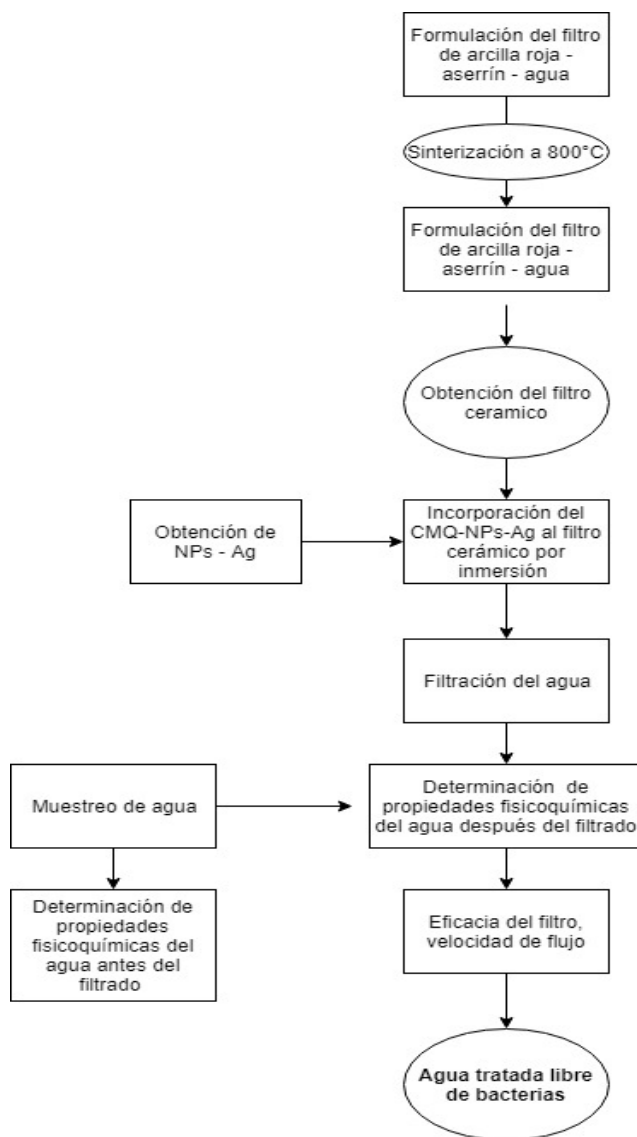
El desarrollo experimental se realizó en los Laboratorios del Departamento Académico de Química de la Universidad Nacional San Agustín de Arequipa.

Las muestras de arcilla, usadas como matriz del nanocompuesto, fueron muestreadas en el distrito de Yarabamba, que se encuentra situado al suroeste de la ciudad de Arequipa, cuyas coordenadas son: Latitud: -16.5481, Longitud: -71.4775; 16° 32' 53" Sur, 71° 28' 39" Oeste, se dispusieron en bolsas de plástico herméticas y fueron transportadas al laboratorio para su caracterización. En cuanto a la estructura y composición de la arcilla, se realizó por técnicas de microscopía electrónica de barrido (SEM - EDX), en la caracterización fisicoquímica se determinaron los siguientes parámetros: pH, sales solubles, bases intercambiables, capacidad de intercambio de cationes (CIC) y densidad absoluta<sup>6</sup>.

La obtención de nanopartículas de plata fue por reducción química de nitrato de plata con carboximetilquitosano utilizando borohidruro de sodio 2mM como iniciador de la reducción; la evaluación del plasmón de las nanopartículas de plata se realizó por espectroscopia UV-visible y dispersión de luz dinámica (DLS)<sup>7</sup>.

Los filtros se obtuvieron haciendo una mezcla de arcilla-aserrín (como formador de poros, en la proporción de 2:1) y agua para formar una pasta, se moldeó, se secó y se llevó a sinterización a 800°C por tres horas. Posteriormente, los filtros se trataron por el método de inmersión en la dispersión coloidal de nanopartículas de plata-carboximetilquitosano por 12 horas, se secaron y con estos filtros se realizaron las pruebas del agua en estudio<sup>10</sup>.

En el agua de consumo humano, se midieron las siguientes variables: pH, conductividad, turbiedad, cloruros, sulfatos, fluoruros, nitratos, nitritos, fosfatos y recuento de microorganismos; numeración de coliformes totales, numeración de coliformes fecales (NMP), por los métodos de la AWWA, antes y después del filtrado<sup>8</sup> y de esta forma se determinó la eficacia del filtro. Los puntos de muestreo del agua fueron: Huacapuy, La Punta, Plaza de Quilca, Caleta de Quilca, situados en Camaná ubicada en la parte sur occidental de Arequipa, cuyas coordenadas son: Latitud: -16.6238, Longitud: -72.7105; 16° 37' 26" Sur, 72° 42' 38" Oeste. Las pruebas se realizaron con el agua antes de filtrar, con el agua pasada por el filtro impregnado con la dispersión coloidal del nanocompuesto: carboximetilquitosano-nanopartículas de plata. En la figura N°1 se observa el diagrama de bloques de proceso de obtención y funcionamiento de los filtros con el nanocomposito arcilla- carboximetilquitosano-nanopartículas de plata.



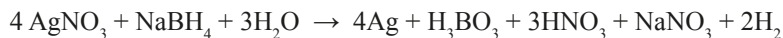
Fuente: Elaboración propia

**Figura 1.** Diagrama de bloques de la obtención y funcionamiento del filtro con el nanocomposito arcilla- carboximetilquitosano-nanopartículas de plata.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 1. Síntesis de nanopartículas de plata:

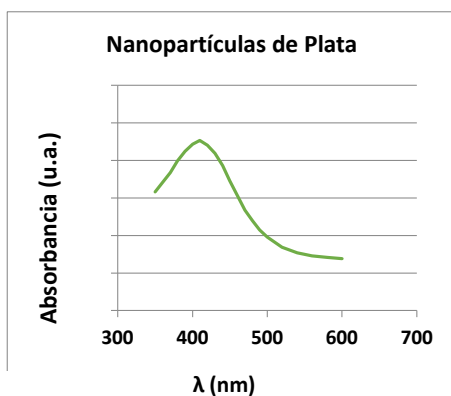
La síntesis se hizo por reducción química del nitrato de plata 1 mM con carboximetilquitosano y borohidruro de sodio 2mM como precursor de la reacción, de acuerdo a la siguiente ecuación:



Al realizar la síntesis se observó una solución de color amarillo por la resonancia del plasmón de las nanopartículas de plata, lo que indica su presencia.

### 2. Evaluación de las nanopartículas de plata por espectroscopia UV-visible

Al caracterizar las nanopartículas por UV-visible, se encontró que el máximo de absorbancia se encuentra entre 410 nm y 420 nm, lo que es una característica de la presencia de nanopartículas esféricas de plata. Metales como la plata, que posee electrones libres, muestra un plasmón de resonancia en el espectro visible, dando lugar a colores no observados en los mismos materiales a escala macrométrica<sup>11</sup>. Por ejemplo, las nanopartículas de plata muestran una intensa SPR (resonancia de plasmones superficiales) principalmente en los intervalos de longitud de onda de 410-420 nm, como se observa en la figura 2:



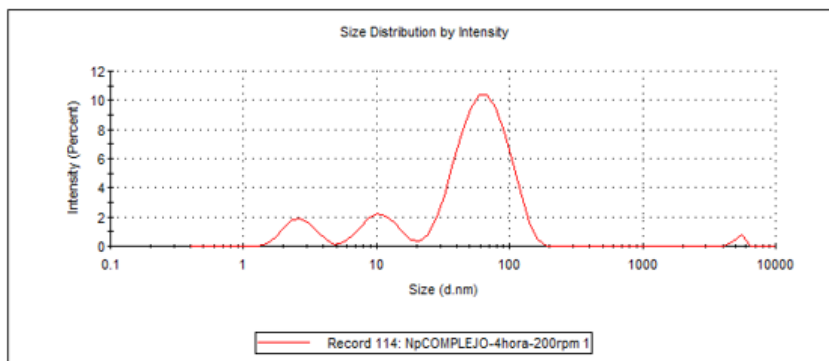
Fuente: Elaboración propia

**Figura 2.** Espectro UV-visible de las nanopartículas de plata

Se observa un máximo de absorbancia entre 410 nm y 420 nm, lo que es una característica de la presencia de nanopartículas de plata, por la resonancia de plasmones superficiales.

### 3. Evaluación del tamaño las nanopartículas de plata por dispersión de luz dinámica (DLS)

En la evaluación por dispersión de luz dinámica (DLS), se determinó el diámetro hidrodinámico de las nanopartículas de plata, en los histogramas de distribución, se encuentran tamaños de 2,716 nm, 11,05 y 67,63nm; lo que se observa en la figura 3:



Fuente: Elaboración propia

**Figura 3.** Gráfica del histograma de los diámetros hidrodinámicos de las nanopartículas de plata por dispersión de luz dinámica (DLS)

En el histograma de los diámetros hidrodinámicos de las nanopartículas de plata, se observa una distribución polidispersa con tamaños de diámetro hidrodinámico alcanzado de 2,716 nm en un 8,7 %; 11,05nm en un 11,8 % y 67,63nm en un 78,4 %; tamaño menor a 100 nm, lo que ratifica la presencia de nanopartículas.

#### 4. Caracterización fisicoquímica de la arcilla

A continuación, en la tabla 1, están los resultados de las propiedades fisicoquímicas de la arcilla:

**Tabla 1.** Caracterización fisicoquímica de la arcilla

Muestra	pH	Sales solubles g/%	Bases intercambiables %	CIC (Capacidad de intercambio de cationes) meq/100g	Densidad g/cm <sup>3</sup>	Humedad %	Carbonatos %
Arcilla	5,6	0,06	27,84	16,60	1,595	3,608	0,00

Fuente: Elaboración propia

Al caracterizar la arcilla, se encuentra que tiene un alto valor de bases intercambiables: 27,84 %, así como alto valor de capacidad de intercambio iónico (CIC) de 16,60 meq/100g, por lo que sería fácil que salgan estas bases o cationes, creando espacios libres.

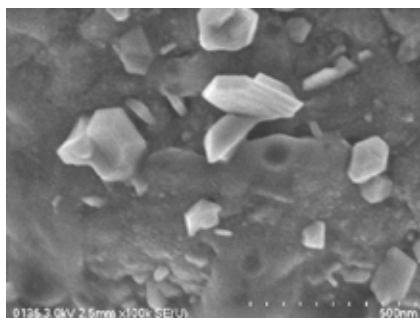
#### 5. Obtención del filtro de arcilla-aserrín

Los filtros arcilla-aserrín se obtuvieron mezclando arcilla pulverizada a malla 100 y aserrín de madera pulverizado a malla 100, en una proporción 2:1 con agua, se moldearon, se secaron y se llevaron a la temperatura de 800°C, obteniéndose un cerámico duro de color rojizo. La

porosidad es una propiedad importante que posee un filtro cerámico, ya que de esta depende el flujo de filtración de agua, esta porosidad se obtiene por el aserrín presente en la mezcla y se produce cuando el filtro es sometido a temperaturas superiores a los 800 °C.

### 6. Caracterización morfológica por SEM-EDX de la cerámica obtenida

A continuación se observa la microfotografía de la cerámica obtenida (figura 4):

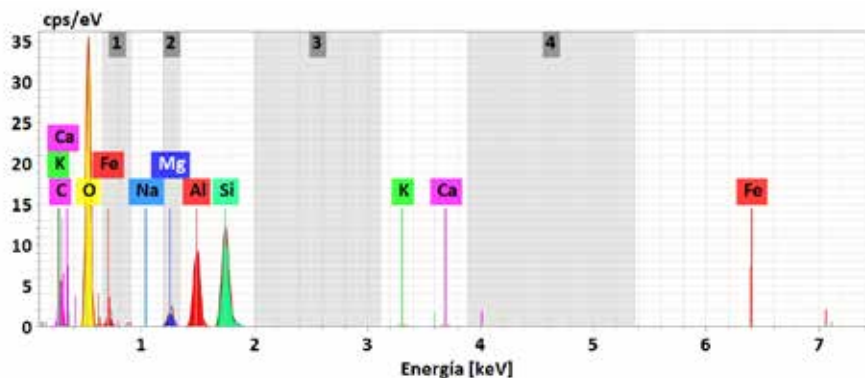


Fuente: Elaboración propia

**Figura 4.** Microfotografía de la cerámica

La microfotografía tomada por SEM presenta una magnificación de las superficies de 100 mil veces, se observa la estructura de la cerámica con cristalizaciones correspondientes a la morfología típica de la arcilla en tamaños de 50 nm a 200 nm. Asimismo, se observa una fase no homogénea con depresiones pequeñas. La fase más dominante son superficies homogéneas.

Podemos observar también el espectro de los resultados del microanálisis elemental de la cerámica obtenida por EDX (figura 5):



Fuente: Elaboración propia

**Figura 5.** Microanálisis elemental de la cerámica obtenida por EDX

En este espectro se puede observar diferentes señales que muestran mayor proporción de oxígeno, silicio, seguida por el aluminio, carbono y hierro y en menor proporción como minoritarios: potasio, calcio, magnesio y sodio.

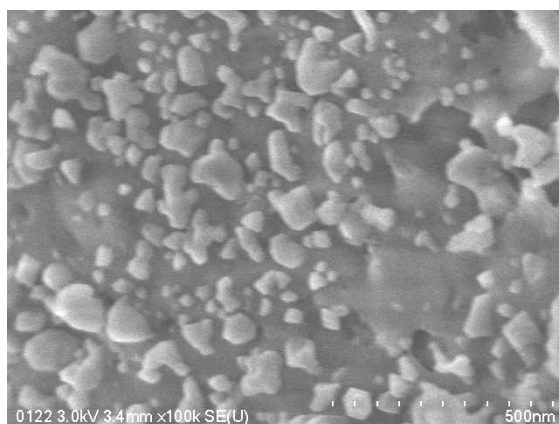
La composición general indica que existe una elevada cantidad de silicio y oxígeno (silicatos), cantidades menores de carbonato de calcio (calcita) y, probablemente, pequeñas fracciones de silicatos de aluminio y magnesio en forma de micas o feldespato y óxidos de hierro.

### **7. Proceso de inmersión del filtro en la dispersión coloidal de carboximetilqui-tosano-nanopartículas de plata**

Se incorporaron las nanopartículas al filtro por el método de inmersión in situ, que consiste en sumergir el filtro en la solución de nanopartículas de plata-carboximetilquitosano durante 12 horas, se secaron a temperatura ambiente y con estos filtros se realizaron las pruebas.

### **8. Caracterización morfológica por SEM-EDX del nanocomposito: cerámica - carboximetilquitosano-nanopartículas de plata**

A continuación se observa una microfotografía del nanocomposito: cerámica carboximetilquitosano-nanopartículas de plata (figura6):

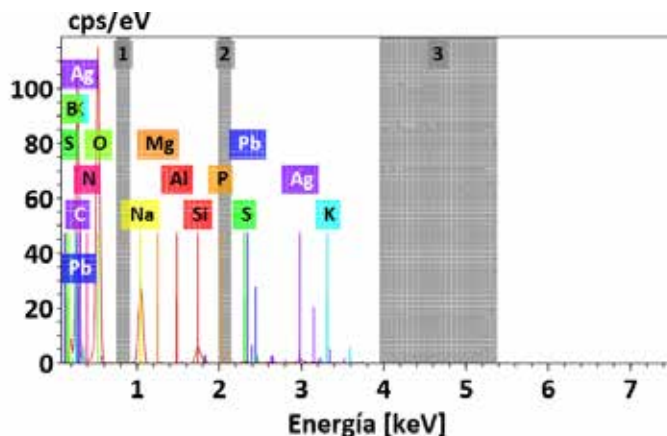


Fuente: Elaboración propia

**Figura 6.** Microfotografía del nanocomposito

La microfotografía tomada por SEM presenta una magnificación de las superficies de 100 mil veces, se observan cristalizaciones correspondientes a la morfología típica de la arcilla, con tamaños entre 20 nm y 100 nm y una capa que cubre las cristalizaciones, que correspondería al carboximetilquitosano con nanopartículas de plata.

Podemos observar también el espectro de los resultados del microanálisis elemental de la cerámica obtenida por EDX (figura 7):



Fuente: Elaboración propia

**Figura 7.** Análisis EDX de la cerámica obtenida

En este espectro se puede observar diferentes señales que muestran mayor proporción de oxígeno, sodio, silicio, azufre seguida por el carbono, boro, nitrógeno, aluminio y en menor proporción, como minoritarios: potasio, magnesio y es notoria la presencia de plata por las nanopartículas de plata.

### **9. Propiedades fisicoquímicas y bacteriológicas de las aguas en estudio antes y después del filtrado.**

Para realizar este paso, se filtraron las aguas en estudio con el filtro cerámico obtenido y se realizaron las siguientes pruebas de las fisicoquímicas: pH, conductividad, turbiedad, aniones<sup>12</sup>; asimismo, de las propiedades bactericidas del nanocompósito, determinando el recuento de microorganismos: Numeración de coliformes totales, numeración de coliformes fecales, usando métodos estándar de la AWWA<sup>13</sup>. Las pruebas se realizaron con las muestras de agua antes y después del filtrado. A continuación se muestra la tabla 2 con los resultados obtenidos.



**Tabla 2.** Calidad del agua versus los valores fisicoquímicos y bacteriológicos antes y después de filtrar.

Variables	Normativid ad (SUNASS)	Huacapuy			La Punta			Plaza de Quilca			Caleta de Quilca		
		Ant Filt	Desp Filt	% Remoc.	Ant Filt	Desp Filt	% Remoc.	Ant. Filt.	Desp. Filt.	% Remoc.	Ant. Filt.	Desp. Filt.	% Remoc.
pH (0 a 14)	6,5 a 8,5	7,8	7,7	0,1	7,8	7,6	0,2	7,9	7,9	0	7,8	7,7	0,1
Conductiv (µS)	1500	1180	520	55,93	1590	570	64,15	5260	840	84,03	5050	872	82,73
Turbiedad (NTU)	5	0,72	0,43	40,28	0,7	0,36	48,87	0,8	0,29	63,65	0,64	0,3	53,12
Cl <sup>-</sup> mg/L	250	112	96,4	13,93	146,3	102,56	29,75	1344,6	81,57	93,93	1356,67	87,05	93,58
(SO <sub>4</sub> ) <sup>2-</sup> (mg/L)	250	236,32	156,45	33,80	345,2	205,2	40,56	1611,6	234,9	85,42	1621,4	249,6	84,60
F <sup>-</sup> (mg/L)	1,0	0,43	0,41	4,65	0,46	0,44	4,35	0,48	0,47	2,08	0,48	0,46	4,17
(NO <sub>3</sub> ) <sup>-</sup> (mg/L)	50	4,83	4,81	0,41	10,95	10,91	0,37	38,29	15,72	58,94	37,27	13,86	62,81
(NO <sub>2</sub> ) <sup>-</sup> (mg/L)	0,2	< 0,002	< 0,002	—	< 0,002	< 0,002	—	< 0,002	< 0,002	—	< 0,002	< 0,002	—
(PO <sub>4</sub> ) <sup>3-</sup> (mg/L)	0,4	0,21	0,19	9,52	0,16	0,13	18,75	0,07	< 0,002	100	0,17	< 0,002	100
C.F.(UFC/100ml)	0 (ausencia)	< 1,1	< 1,1	—	11	< 1,1	100	92	< 1,1	100	< 1,1	< 1,1	—
C.T.(UFC/100ml)	0 (ausencia)	< 1,1	< 1,1	—	1,6	< 1,1	100	2,2	< 1,1	100	< 1,1	< 1,1	—

Fuente: Elaboración propia

Para hacer el análisis de los resultados se hizo la tabla 3, donde se aprecian los valores antes de filtrar, los cuales sobrepasaron los valores permitidos por la Superintendencia Nacional de Servicios de Saneamiento (SUNASS) y que luego del filtrado disminuyeron hasta valores normales:

**Tabla 3.** Tabla Resumen de los valores fisicoquímicos y bacteriológicos que sobrepasaron los valores establecidos antes y después de filtrar.

Variables	Normatividad (SUNASS)	Huacapuy		La Punta		Plaza de Quilca		Caleta de Quilca	
		Ant. Filt.	Desp. Filt.	Ant. Filt.	Desp. Filt.	Ant. Filt.	Desp. Filt.	Ant. Filt.	Desp. Filt.
Conductiv. (μS)	1500	1180	520	1 590	570	5260	840	5050	872
Cl- mg/L	250	112	96,4	146,3	102,56	1 344,6	81,57	1 356,67	87,05
(SO <sub>4</sub> ) <sup>2-</sup> (mg/L)	250	236,32	156,45	345,2	205,2	1 611,6	234,9	1 621,4	246,6
C.F.(UFC/100ml)	0 (ausencia)	< 1,1	< 1,1	11	< 1,1	92	< 1,1	< 1,1	< 1,1
C.T.(UFC/100ml)	0 (ausencia)	< 1,1	< 1,1	1,6	< 1,1	2,2	< 1,1	< 1,1	< 1,1

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 3 se observa que, comparando los valores establecidos según (SUNASS) con los valores encontrados en los diferentes puntos de muestreo, se tiene que: las aguas después del filtrado aplicando el nanocompósito, se encontró que remueven en mayor proporción los siguientes valores: conductividad: 84,03 % en La Plaza de Quilca, sulfatos 85,42 % en La Plaza de Quilca, cloruros 93,93 % en La Plaza de Quilca. Por otro lado, las bacterias coliformes fecales y coliformes totales se removieron en 100 % en La Punta y en la Plaza de Quilca. No se encontraron bacterias coliformes en Huacapuy ni en la Caleta de Quilca. Por lo que se puede confirmar que los resultados tienen un porcentaje de remoción significativo en la eliminación de aniones y en cuanto a las bacterias coliformes totales y coliformes fecales en su totalidad.

### 10. Funcionamiento del filtro

El procedimiento se basa en la microfiltración a través de un material poroso, donde los poros de los filtros tienen un tamaño entre 0,6 y 0,3 μm, determinado aproximadamente por SEM. Según Van Der L.H.<sup>15</sup> si el tamaño de poro sería de 0,1 μm el filtro no necesitaría desinfectante para la eliminación de *Escherichia coli* que tiene un tamaño entre 0,5 a 1 μm.

Por otro lado, según Ludeña J.14, la presencia de nanopartículas de plata, cerca de un virus, hongo, bacteria o cualquier otro microbio patógeno unicelular, incapacita la enzima del metabolismo del oxígeno y en pocos minutos el microbio patógeno se sofoca, muere y es eliminado del cuerpo por los sistemas inmunológico y linfático.

Vidal S.<sup>10</sup> indica que si la plata se une a la membrana celular de las bacterias, estas incrementan su tamaño y contenido citoplasmático y presentan anomalías que resultan en lisis celulares y muerte.

Según los resultados obtenidos de Lantagne, los filtros a base de arcilla y aserrín forman poros de 0,6 a 3  $\mu\text{m}$  lo cual se determinó por SEM y se eliminan microorganismos como parásitos entre ellos Giardia y Cryptosporidium que oscilan en 5 - 7  $\mu\text{m}$  y 5  $\mu\text{m}$ , respectivamente, en un 99,99 % pero no un 100 % por lo que es necesario la impregnación de la plata coloidal ya que remueve totalmente a las bacterias.

## CONCLUSIONES

Al aplicar a las muestras de aguas en estudio, el sistema filtrante a base del nanocompósito arcilla - carboximetilquitosano - nanopartículas de plata, se mejoró la calidad de las aguas contaminadas con bacterias y sustancias químicas, produciendo agua apta para el consumo humano, por lo que se desarrolla un sistema filtrante de bajo costo, tecnología simple, ecológicamente aceptable y económicamente accesible a las poblaciones rurales de bajos recursos.

Después del filtrado de las aguas usando el nanocompósito, se encontró que remueven en mayor proporción los siguientes valores: conductividad: 84,03 % en La Plaza de Quilca, sulfatos 85,42 % en La Plaza de Quilca, cloruros 93,93 % en La Plaza de Quilca. Por otro lado, las bacterias coliformes fecales y coliformes totales se removieron en 100 % en La Punta y en la Plaza de Quilca. No se encontraron bacterias coliformes en Huacapuy ni en la Caleta de Quilca. Por lo que se puede confirmar que los resultados tienen un porcentaje de remoción significativo en la eliminación de aniones y en cuanto a las bacterias coliformes totales y coliformes fecales en su totalidad.

## AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, UNSA, por el financiamiento del proyecto de investigación según Contrato de Subvención N° 06-2017-UNSA.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Díaz del Castillo F. Introducción a los Nanomateriales. [Internet]. México: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (UNAM); 2012. [Citado 11 abril 2018]. Disponible en: [http://olimpia.cuautitlan2.unam.mx/pagina\\_ingenieria/mecanica/mat/mat\\_mec/m6/Introduccion%20a%20los%20nanomateriales.pdf](http://olimpia.cuautitlan2.unam.mx/pagina_ingenieria/mecanica/mat/mat_mec/m6/Introduccion%20a%20los%20nanomateriales.pdf)
2. Almansi F. Mejorando la provisión de servicios de agua, saneamiento e higiene para las comunidades urbanas de bajos recursos en América Latina: Caso Guayaquil. Medellín: Programa de Agua y Saneamiento para América Latina – Banco Mundial (WSP-BM); 2006.
3. Zhang Y, Peng H, Huang W, Zhou Y, Yan D. Facile preparation and characterization of highly antimicrobial colloid Ag or Au nanoparticles. *J Colloid Interface Sci.* 2008; 325(2):371-376.

4. Pérez A, Díaz J, González G. Estudio comparativo de dos sistemas de filtración casera para el tratamiento de agua para consumo humano. *Ingenium*. 2014; 8(22):1-20
5. Garrido L, Albano M. Procesamiento de cerámicos porosos de zirconia por consolidación directa con almidón. CONAMET-SAM, 2008: Santiago de Chile, Chile.
6. Weepiu J. Evaluación de los Filtros Cerámicos para Mejorar la calidad del Agua para consumo humano del Sector San Mateo, Moyobamba. [Tesis para obtener el título de Ingeniero Sanitario]. Moyobamba: Universidad Nacional de San Martín, Perú. 2016.
7. Balu A. Nanopartículas soportadas sobre materiales porosos para la síntesis de productos de alto valor añadido. [Tesis doctoral] Córdoba: Universidad de Córdoba, Argentina; 2012.
8. Juárez H, Contreras J, García V, Herrera C. Sistematización del proceso de filtros potabilizadores. Guatemala; 2011.
9. Monge M. Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. *An Quím*. 2009; 105(1): 33-41
10. Vidal S. Evaluación de la efectividad de la efectividad del filtro a base de arcilla y plata coloidal en la potabilización del agua, medidas por pruebas fisicoquímicas y microbiológicas. [Tesis] Pereira, Colombia: Universidad Tecnológica de Pereira; 2010.
11. Tarazona A, Peña D. Estudio de la remoción de coliformes en aguas naturales utilizando un filtro tipo cartucho empacado con nanocompósitos de fibras de fique con nanopartículas de plata. [Tesis]. Bucaramanga, Colombia; Universidad Industrial de Santander; 2011.
12. APHA-AWWA-WEF (2005) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 2120 B: Visual comparison method. 21th Edition. Washington DC: American Public Health Association; 2005.
13. Balcázar C. Agua y saneamiento para las zonas Programa de Agua y Saneamiento marginales urbanas de América Latina. Memoria del taller internacional. Medellín, Colombia; 2008.
14. Ludeña J, Tinoco F. Formulación de Pasta Roja para la elaboración de un filtro cerámico purificador de agua y verificación de su efectividad filtrante. [Tesis]. Loja, Ecuador: Universidad Técnica Particular de Loja; 2010.
15. Van Der LH, Van Halem D, Smeets PW, Soppe AI, Kroesbergen J, Wubbels FG. Bacteria and virus removal effectiveness of ceramic pot filters with different silver applications in a long term experiment. *Water Res*. 2014; 51: 47-54.

## ESTEROLES PRESENTES EN EL EXTRACTO APOLAR DE LAS RAÍCES DE AJO SACHA *Mansoa alliacea*

Jenny E. Grovas Llamocca<sup>a</sup>, Elena A. Córdor Cuyubamba<sup>a</sup>,  
Ingrit E. Collantes Díaz<sup>b</sup>, Víctor M. Reyna Pinedo<sup>\*</sup>

### RESUMEN

A partir del extracto apolar de las raíces de Ajo sachá *Mansoa alliacea* colectadas en el Jardín Botánico del Centro de Rehabilitación de Adicciones y de Investigación de Medicinas Tradicionales - Takiwasi (Tarapoto, región San Martín, en la Amazonía peruana) se identificaron el estigmasterol (90,36 %) y el  $\gamma$ - sitosterol (8,76 %) como sus principales esterole, los cuales fueron analizados mediante cromatografía de gases e identificados mediante sus espectros de masas. Adicionalmente, se realizó el análisis cualitativo de sus metabolitos secundarios.

**Palabras clave:** ajo sachá, *Mansoa alliacea*, estigmasterol,  $\gamma$ - sitosterol, esterole.

## STEROLS PRESENT IN THE APOLAR EXTRACT OF GARLIC ROOTS OF GARLIC SACHA *Mansoa alliacea*

### ABSTRACT

From the apolar extract of the roots of garlic Sachá *Mansoa alliacea* collected in the Botanical garden of Center of Rehabilitation of addictions and research of traditional medicines – Takiwasi (Tarapoto, San Martin region, in the Peruvian Amazon) identified stigmasterol (90,36 %) and  $\gamma$ -sitosterol (8,76 %) as their main sterols, wich were analyzed by gas chromatography and identified by their mass spectra. In addition, was the qualitative analisys of the secondary metabolites.

**Key words:** Garlic sachá, *Mansoa alliacea*, stigmasterol,  $\gamma$ - sitosterol, sterols.

---

<sup>a</sup> Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Ingeniería, Av. Túpac Amaru 210, Lima 25 - Perú,

<sup>\*</sup> vrey26@yahoo.es

<sup>b</sup> Facultad de Ingeniería Química y Textil, Universidad Nacional de Ingeniería.

## INTRODUCCIÓN

El Perú es uno de los doce países con mayor diversidad biológica del mundo, conocidos como países megadiversos, tanto por el número de especies y de recursos genéticos como por la variedad de ecosistemas. Se calcula que posee 25 mil especies de plantas conocidas, de las cuales 5354 son endémicas de nuestro país<sup>1</sup>.

Esta riqueza vegetal permitió el desarrollo de la medicina tradicional y el uso de plantas medicinales en la práctica médica de las diversas culturas prehispánicas de nuestro país, en sus tres regiones, Costa, Sierra y Amazonía, uso tradicional que continúa hasta nuestros días.

El “ajo sachá”, *Mansoa alliacea* (sinónimos: *Adenocalymma alliaceum* y *Pseudocalymma alliaceum*)<sup>1</sup> es una especie que se encuentra, sobre todo, en los bosques primarios de zonas tropicales. Comparte su hábitat con especies como el aguaje, algodón, chuchuwasi, uña de gato, uvilla. En el Perú se encuentra, principalmente, en zonas de la selva alta y baja en las regiones de Amazonas, Huánuco, Loreto y San Martín<sup>2</sup>.

Es una planta muy utilizada con fines medicinales por los grupos étnicos de la Amazonía peruana. Sus hojas, raíces y cortezas son utilizadas en diferentes preparaciones para tratar una variedad de dolencias. Su principal uso es como antirreumático, para tratar dolores e inflamaciones articulares y musculares en general. También se la utiliza para bajar la fiebre y para los dolores de cabeza<sup>2</sup>.

Las raíces y cortezas son preparadas en maceración alcohólica para tratar internamente el reumatismo y la artritis. Las hojas son empleadas en infusión como analgésico general o en emplastos para tratar externamente dolores en general (muscular, articular, de cabeza). Como planta maestra y tónico reconstituyente, se prepara la maceración acuosa de la raíz<sup>2</sup>.

En el Centro Takiwasi preparan la tintura de ajo sachá por un proceso de maceración de los tallos molidos en una mezcla de alcohol y agua (producto que es comercializado en todo el Perú).

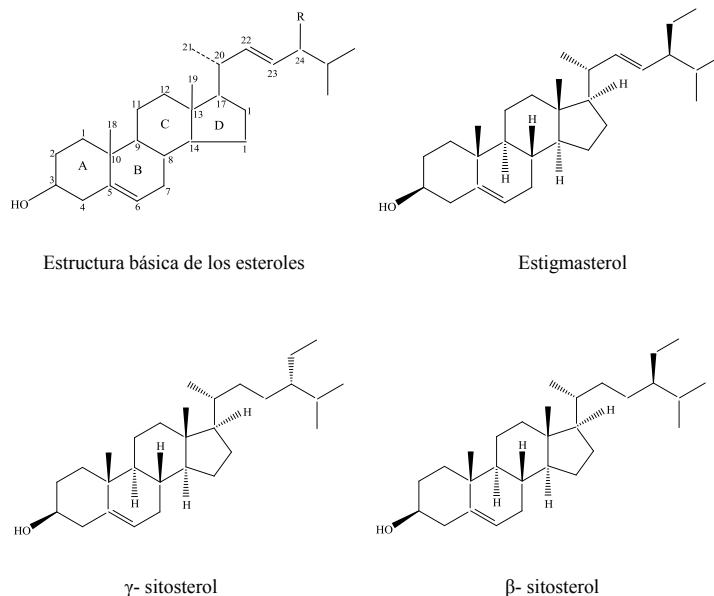
En la bibliografía hemos encontrado un estudio fitoquímico relativo a las raíces de ajo sachá (*M. alliacea*)<sup>3</sup>. Las otras publicaciones están referidas a los constituyentes presentes en las partes aéreas de esta planta (hojas y tallos)<sup>4-13</sup> (tabla 1).

**Tabla 1.** Estudios químicos publicados acerca de ajo sacha (*Mansoa alliacea*)

Nº	Parte vegetal	Procedencia de la planta	Constituyentes químicos	Referencia
1	Raíces y Hojas	India	Análisis cualitativo; análisis cuantitativo (fenoles)	Patel <i>et al.</i> (2013) <sup>3</sup>
2	Hojas	Brasil	Compuestos fenólicos (luteolina, Ac. p- cumarina, Ac.fenólico, etc.)	Faccin <i>et al.</i> (2017) <sup>4</sup>
3	Hojas	Brasil	Compuestos fenólicos (Ac. p- Cumarina, Ac. fenólico)	Da Silveira <i>et al.</i> (2015) <sup>5</sup>
4	Hojas	Brasil	Triterpenoides (ácido betulínico)	Gobo <i>et al.</i> (2016) <sup>6</sup>
5	Tallos	Perú-Iquitos	Naftoquinonas	Itokawaq <i>et al.</i> (1992) <sup>7</sup>
6	Hojas	Brasil	Triterpenos (Ac. ursólico y Ac. Oleanólico)	Trindade <i>et al.</i> (2007) <sup>8</sup>
7	Hojas	Perú-Madre de Dios	Compuestos organosulfurados (alil trisulfito, dialil disulfito)	Olivera <i>et al.</i> (2013) <sup>9</sup>
8	Tallos y corteza	Perú	Quinonas ( $\alpha$ -lapachonas)	Lock (2016) <sup>10</sup> Alvarez <i>et al.</i> (1993) <sup>11</sup>
9	Hojas	India	Triterpenos pentacíclicos	Misra <i>et al.</i> (1995) <sup>12</sup>
10	Hojas	India	Compuesto órgano sulfurado (alliina)	Apparao <i>et al.</i> (1981) <sup>13</sup>

Al respecto, es pertinente tener presente que la composición química de una planta puede variar mucho según la parte de la planta que estamos tratando: las flores tienen diferentes constituyentes que las hojas, y estas pueden ser muy diferentes que las presentes en las raíces o tallos. Asimismo, la composición química de la planta varía mucho en función de varios factores, tales como las condiciones de siembra de la planta (tipo de suelo, altitud, humedad y temperatura ambiental), la edad de la planta, la época y hora de colecta, etc.<sup>14-15</sup>. Igualmente, según el lugar geográfico, una especie vegetal cultivada en la India puede tener una composición muy diferente a la misma planta (especie) cultivada en la Amazonía peruana.

Los esteroides (fitosteroides) son alcoholes esteroideos constituidos por un anillo tetracíclico del ciclopentano [ $\alpha$ ] fenantreno con una larga cadena lateral flexible, enlazada al átomo de carbono 17 (figura 1). Los cuatro anillos, denominados A, B, C y D, de izquierda a derecha, tienen enlaces de anillo trans, formando un sistema plano  $\alpha$ . Los más representativos son el  $\beta$ -sitosterol, el estigmasterol y el campesterol. El  $\gamma$ -sitosterol es un 24 $\beta$ -epímero del  $\beta$ -sitosterol. Los sitosteroides se diferencian del estigmasterol solo en que la cadena lateral del sitosterol es saturada<sup>16</sup>. El  $\beta$ -sitosterol es el principal esteroide presente en las plantas, mientras que muy poco se ha publicado acerca del  $\gamma$ -sitosterol<sup>16</sup>.



**Figura 1.** Estructura de los principales fitosteroides

### Propiedades farmacológicas de los esteroides

Debido a su mayor presencia en las plantas, se han estudiado más las actividades farmacológicas del β-sitosterol y del estigmasterol<sup>17</sup>, pero poco se ha reportado acerca del γ-sitosterol<sup>16</sup>. El estigmasterol inhibe marcadamente los tumores en carcinogénesis en ratas y presenta efecto inhibitorio sobre la transcriptasa reversa del VIH17; además, se ha verificado que posee potenciales propiedades antiinflamatorias<sup>18</sup>. Extractos vegetales que contienen de 10-20 % de γ-sitosterol exhiben un amplio rango de actividad citotóxica frente a células cancerosas<sup>19</sup>.

A continuación se describe el estudio químico cualitativo y el análisis mediante cromatografía de gases acoplada con espectrómetro de masas (CG-EM) que permitió la identificación de dos esteroides presentes en las raíces de “ajo sachá” (*Mansoa alliacea*), estigmasterol y γ-sitosterol.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Materiales y equipos

Para las cromatografías en capa fina (CCF) se utilizaron placas de sílica Kieselgel 60 F254, 0,2 mm (Riedel de Haën) y las cromatografías en columna (CC\*) se realizaron sobre sílica gel.

\* CC: Sigma-Aldrich, tamaño de poro 60 Å, tamaño de partícula 35-75 μm.

Una muestra botánica de esta planta fue colectada en dicho Centro en el mes de febrero de 2014 e identificada por la Dra. Haydeé Montoya T., Jefa del Herbario San Marcos del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (05.May.2014).



El análisis e identificación de esteroides se realizó en un cromatógrafo de gases acoplado a masas (CG-EM), cromatógrafo SHIMADZU, GC-2010 Plus, con automuestreador: AOC-6000, y detector de espectrometría de masas SHIMADZU, GCMS-QP210 Ultra. Columna GC: RESTEK. RTX-5MS, 30m x 0.25 mm ID x 0.25  $\mu$ m df. Serial: 1346249.

### Material vegetal

Las raíces de ajo sacha (*Mansoa alliacea*) se colectaron en el Jardín Botánico del Centro de Rehabilitación de Adicciones y de Investigación de Medicinas Tradicionales – Takiwasi, en el mes de febrero de 2017 por el Dr. Fernando Mendive, Director Científico.

La muestra fue cortada en trozos pequeños y se secó a 400C por 70 días. Se pulverizó a grano semifino en un molino doméstico.

### Análisis cualitativo

El análisis cualitativo (marcha fitoquímica) se realizó por duplicado según el método descrito por Rondina & Coussio<sup>20</sup>.

### Extracción, separación e identificación de esteroides

#### Extracción

Las raíces secas y molidas (196,15 g) se maceraron en éter de petróleo (1,3 L), a temperatura ambiente durante 24 horas. El extracto orgánico (aprox. 500mL) se retiró con ayuda de una pipeta volumétrica de 50 mL. Esta extracción por maceración a temperatura ambiente se repitió tres veces adicionales, durante ocho, dos y cinco días, respectivamente. Se juntaron los extractos orgánicos (aprox. 2,8 L) y el solvente se eliminó a 400C y presión reducida (rotavapor), obteniéndose 643 mg de extracto bruto orgánico (EBO), sólido de color pardo claro.

#### Separación por cromatografía en columna (CC)

El EBO (643 mg) fue fraccionado mediante cromatografía en columna sobre sílica Gel\*, utilizando como eluyente, primero, una mezcla de acetato de etilo-EtOAc en éter de petróleo (10 % y 20 %, respectivamente), luego, acetato de etilo en cloroformo-CHCl<sub>3</sub> (50 %) y finalmente metanol-MeOH, obteniéndose en total 52 fracciones (de 10 mL c/u), las cuales, luego de ser analizadas mediante cromatografía en capa fina (CCF)\*\*, fueron reunidas en ocho grupos (extractos G1 a G8).

Al evaporar el solvente del extracto G4 (70 mL), mediante destilación a vacío (rotavapor), se observó la formación de cristales blancos impuros (55,5 mg), los cuales fueron parcialmente purificados mediante recristalización con éter de petróleo, obteniéndose 23,4 mg de un sólido blanco amarillento (al que continuamos denominando extracto G4).

\* Sílica gel de alta pureza, de tamaño de poro 60 Å de 220-440 mesh.

\*\* CCF: Placas de Kieselgel 60 F254, 0,2 mm (Riedel de Haën), eluyente: éter: acetato de etilo (9:1), revelador: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 50 %.

### **Análisis del extracto G4 por CG-EM**

La inyección de la muestra se realizó por el modo “Split” con una relación 1:10, siendo la temperatura del inyector, la interfase y el detector, 280 0C, 250 0C, y 200 0C, respectivamente. El volumen de inyección empleado fue 0,5 µl de la muestra preparada (1,2 mg/mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

La separación cromatográfica se realizó en una columna Rtx-5MS (Crossbond 5 %, difenil 95 %, dimetil polisilano) (30m x 0,25 mmx0,25µ m) y como gas portador se utilizó He 99,99 % de pureza, con un flujo de 0,8 mL/ml. La temperatura del horno se programó a 240 0C, con aumento de temperatura de una velocidad de 10 0C/min. hasta 265 0C, temperatura que permaneció durante 40 minutos. El detector operó el modo de ionización por impacto electrónico (IE) (70 eV) a 2000C. La detección se realizó en el modo de barrido desde 35 a 500 m/z.

### **Identificación de esteroides por EM**

La identificación de los compuestos analizados mediante CG pudo realizarse comparando sus espectros de masas (patrones de fragmentación) con aquellos presentes en la base de espectros de masas NIST-2014, incorporado en el equipo CG-EM.

Además, se compararon los espectros de masas obtenidos con aquellos publicados en la bibliografía.

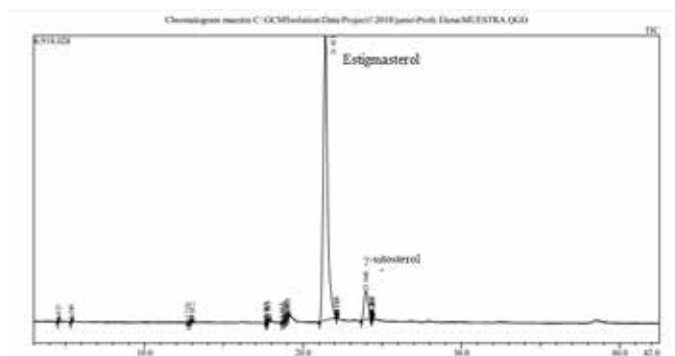
## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Análisis cualitativo**

El análisis cualitativo mostró que las raíces de ajo sacha (*Mansoa alliacea*) contiene aminogrupos primarios o secundarios, grupos fenólicos libres, triterpenos y esteroides, quinonas, antronas o antranoles, alcaloides y catequinas.

### **Análisis e identificación de esteroides por CG-EM**

La figura 2 muestra el cromatograma obtenido mediante cromatografía de gases del extracto G4.



**Figura 2.** Cromatograma de iones totales obtenido a partir del extracto G4 de las raíces de ajo sacha (*Mansoa alliacea*)

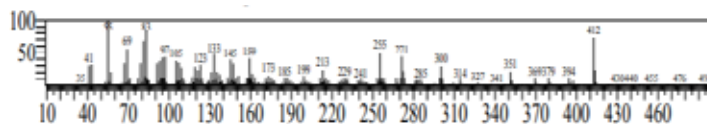
En la tabla 2 se presentan solo los dos compuestos mayoritarios del extracto apolar de las raíces del ajo sacha, los esteroides: estigmasterol (90,36 %) y  $\gamma$ -sitosterol (8,76 %). Los otros 16 constituyentes reportados por el equipo tienen concentraciones inferiores a 0,23 % (uno de ellos) y el resto porcentajes inferiores a 0,09 %.

**Tabla 2.** Compuestos identificados con el empleo de la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

Compuesto	T <sub>R</sub> (min)	Area de Pico (%)
Estigmasterol	21,423	90,36
$\gamma$ -sitosterol	23,968	8,76

El equipo CG-EM proporciona los espectros de masas que corresponde a cada compuesto analizado (según su tiempo de retención) y proporciona los espectros de masas de las sustancias de referencia que están registrados en la base de espectros del equipo, resultando positiva la identificación de ambos esteroides.

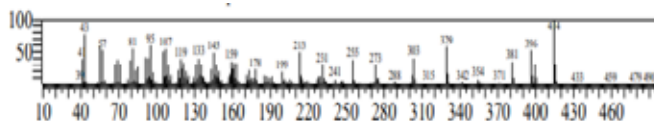
El espectro de masas del compuesto mayoritario (90,36 %, figura 3) resulto similar al espectro del estigmasterol (registrado en la base de espectros del equipo), ambos con el pico ion molecular de 412 m/z.



**Figura 3.** Espectro de masas del estigmasterol presente en el extracto apolar de las raíces del ajo sacha (*Mansoa alliacea*).

Además, este espectro de masas (figura 3) es similar al publicado por Mangas R. et al. (2008), en el análisis por CG-EM del extracto apolar de *Clusia minor* L.<sup>17</sup>, e identificado como estigmasterol.

El espectro de masas del compuesto secundario (8,76 %, figura 4) resulto similar al espectro del  $\gamma$ -sitosterol (registrado en la base de espectros del equipo), ambos con el pico ion molecular de 414 m/z.



**Figura 4.** Espectro de masas del  $\gamma$ -sitosterol presente en las raíces del ajo sacha (*Mansoa alliacea*).

Además, este espectro de masas (figura 4) es similar al publicado por Sheng & Chen (2009)<sup>16</sup>, e identificado como  $\gamma$ -sitosterol.

## CONCLUSIONES

A partir del extracto apolar de las raíces de ajo sacha, colectadas en el Jardín Botánico del Centro Takiwasi (Tarapoto, región San Martín, Amazonía peruana), se identificaron el estigmasterol (90,36 %) y el  $\gamma$ -sitosterol (8,76 %) como sus principales esteroides.

## AGRADECIMIENTO

Se agradece al Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional de Ingeniería, por el apoyo económico brindado para la realización de este trabajo de investigación, al Dr. Fernando Mendive, Director Científico del Centro de Rehabilitación de Adicciones y de Investigación de Medicinas Tradicionales - Takiwasi por la muestra proporcionada. Al Mag. Pedro Baldera Aguayo por la información bibliográfica y la revisión del presente artículo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brack A. Diccionario enciclopédico de plantas útiles de Perú. Cusco: Centro de Estudios Regionales Andinos "Bartolome de las Casas"; 1999.
2. Ajo sacha. [Internet] Laboratorio de Productos Naturales, Centro Takiwasi; 2013 [citado 13 abril 2018]. Disponible en: <http://www.newlab.takiwasi.com/productos/AjoSachaEC.pdf>
3. Patel I, Sipai S, Rathod D, Shrimali G, Patel A, Rami E. Phytochemical studies on *Mansoa alliacea* (Lam.). IJAPR. 2013; 4(6): 1823-1828.
4. Faccin H, Loose RF, Viana C, Lameira OA, Machado de Carvalho L. Determination of phenolic compounds in extracts of Amazonian medicinal plants by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. Anal Methods. 2017; 9: 1141-1151.
5. Da Silveira GD, Jung Motta M, Sabo Muller L, Lameira O, Athayde ML, Piana M. et. al. Determination of Phenolic Antioxidants in Amazonian Medicinal Plants by HPLC with Pulse Amperometric Detection. J Liq Chromatogr Relat Technol. 2015; 38: 1259-1266.
6. Gobo LA, Viana C, Lameira OA, Machado de Carvalho L. A liquid chromatography-atmospheric pressure photoionization tandem mass spectrometric (LC-APPI-MS/MS) method for the determination of triterpenoids in medicinal plant extracts. J Mass Spectrom. 2016; 51: 558-565.
7. Itokawa H, Matsumoto K, Morita H, Takeya K. Cytotoxic naphthoquinones from *Mansoa alliacea*. Phytochem. 1992; 31(3): 1061-1062.

8. Trindade NS, Almeida ES, Arruda AC, Arruda MSP, da Silva MN, Santos LS, et al. Triterpenos Isolados das Folhas de *Mansoa alliacea* (Bignoniaceae). En: 30° Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 31 mayo – 03 junio 2007; Águas de Lindóia, São Paulo, Brasil.
9. Olivera-Condori M, Flores-Arizaca J, Vasquez Zavaleta T, Ocsa-Borda E. Propiedades Físicoquímicas y Bioactivas in Vitro del aceite esencial de *Mansoa alliacea* (LAM.) A. GENTRY. *El CEPROSIMAD*. 2013; 2(1): 96-102.
10. Lock O. Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de Productos Naturales. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú; 2016.
11. Alvarez C, Hubiecki P, Lock O, Elin E. Quinonas de *Pseudocalymma alliaceum*. En: II Congreso Italo-Peruano de Etnomedicina, 1993; Lima, Perú.
12. Misra TN, Singh RS, Pandey HS, Prasad C. A novel pentacyclic triterpene acid from *Adenocalymma Alliaceum* leaves. *J Nat Prod*. 1995; 58(7): 1056-1058.
13. Apparao M, Kjer A, Olsen O, Venkata E, Rasmussen K, Sorensen H. Alliin in the garlicky taxon *Adenocalymma alliaceum* (Bignoniaceae). *Phytochem*. 1981; 20(4): 822-823.
14. Garg V, Dhar VJ, Sharma A, Dutt R. Facts about standardization of herbal medicine: a review. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao*. 2012;10(10):1077-83.
15. Calixto J. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). *Braz J Med Biol Res*. 2000; 33(2): 177-189.
16. Sheng Y, Chen X-B. Isolation and identification of an isomer of  $\beta$ -sitosterol by HPLC and GC-MS. *HEALTH*. 2009; 1: 203-206.
17. Mangas Marin R, Montes de Oca Porto R, Bello Alarcon A, Nival Vasquez A. Caracterización por Cromatografía de gases/Espectrometría de Masas del Extracto Apolar de las Hojas de *Clusia minor* L. *Lat Am J Pharm*; 2008; 27(5): 747-751.
18. Gabay O, Sanchez C, Salvat C, Chevy F, Breton M, Nourissat G. et al. Stigmasterol: a phytosterol with potential anti-osteoarthritic properties. *Osteoarthritis Cartilage*. 2010; 18: 106-116.
19. Luo H, Cai Y, Peng Z, Liu T, Yangt S. Chemical composition and in vitro evaluation of the cytotoxic and antioxidant activities of supercritical carbon dioxide extracts of pitaya (dragon fruit) peel. *Chem Cent J*. 2014; 8: 1-7.
20. Rondina R, Coussio J. Estudio Fitoquímico de Plantas Medicinales. *Rev Investig. Agropecu*. 1969; 6 (33): 351-366.

## SÍNTESIS DE CATALIZADORES Ru-Ni SOPORTADOS EN $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> PARA LA HIDROGENACIÓN DE PALMITATO DE METILO DERIVADO DEL ACEITE DE PALMA Y CONVERSIÓN A ALCOHOL CETÍLICO

Miguel Rojas<sup>a</sup>, Harlich Castañeda<sup>a</sup>, José Luis Cconislla<sup>a</sup>, Enrique Neira<sup>a</sup>,  
Rosario Sun Kou<sup>b</sup>, Gino Picasso<sup>a\*</sup>

### RESUMEN

Se prepararon catalizadores basados en Ru-Ni soportados sobre  $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> por el método de impregnación húmeda con ajuste de pH. El área superficial de los catalizadores soportados fue mayor que el correspondiente al soporte con isotermas de adsorción correspondientes a sólidos micro-mesoporosos. Los difractogramas de las catalizadores reducidos Ru-Ni fueron similares al del soporte  $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, sugiriendo la formación de fases altamente dispersas. El análisis TGA reveló la pérdida de masa menor al 20 %, que corroboraría el paso de los hidróxidos de rutenio y níquel hacia sus respectivos óxidos. Los perfiles de reducción de los catalizadores mixtos Ru-Ni/ $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> mostraron menores consumos de H<sub>2</sub> que los correspondientes al Ru/ $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, revelando posibles interacciones entre la fase metálica con el soporte. En la hidrogenación del palmitato de metilo, realizada en condiciones de operación de un reactor batch, se obtuvo mayor actividad relativa con el catalizador de Ru/ $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> con menores tiempos de reacción, en comparación Ru-Ni/ $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Sin embargo, la selectividad a la formación de alcohol cetílico aumentó del 2,8 obtenido con el catalizador basado en Ru/ $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> hasta un valor de 12,5 %, con el catalizador mixto Ru-Ni/ $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, indicando la importante influencia del Ni en la formación de sitios ácidos selectivos para la hidrogenación del palmitato de metilo en posición carbonílica.

**Palabras clave:** Ru-Ni,  $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, alcohol cetílico, hidrogenación, palmitato de metilo.

---

<sup>a</sup> Laboratorio de Investigación de Físicoquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Ingeniería, Av. Túpac Amaru 210, Rímac, Lima, Perú, \*gpicasso@uni.edu.pe

<sup>b</sup> Departamento de Ciencias-Sección Química, Pontificia Universidad Católica del Perú, Av. Universitaria 1801-Lima 32

## **SYNTHESIS OF CATALYSTS BASED ON Ru-Ni SUPPORTED ON $\gamma$ - $Al_2O_3$ FOR THE HYDROGENATION OF METHYL PALMITATE DERIVED FROM PALM OIL AND CONVERSION TO CETYL ALCOHOL**

### **ABSTRACT**

Catalysts based on Ru-Ni supported on  $\gamma$ - $Al_2O_3$  were prepared by the wet impregnation method with pH adjustment. The surface area of the supported catalysts was greater than that corresponding to the support with the adsorption isotherms corresponding to micromesoporous solids. The diffractograms of the reduced Ru-Ni catalysts were similar to that of the  $\gamma$ - $Al_2O_3$  support, suggesting the formation of highly dispersed phases. The TGA analysis revealed the mass loss of less than 20 % that would corroborate the transition of ruthenium and nickel hydroxides to their respective oxides. The reduction profiles of the Ru-Ni/ $\gamma$ - $Al_2O_3$  showed lower H<sub>2</sub> consumption than those corresponding to Ru/ $\gamma$ - $Al_2O_3$ , revealing possible interactions between the metal phase and the support. In the hydrogenation of methyl palmitate, carried out under the operating conditions of a batch reactor, the activity was higher with the Ru/ $\gamma$ - $Al_2O_3$  catalyst with shorter reaction times, in comparison with Ru-Ni/ $\gamma$ - $Al_2O_3$ . However, the selectivity to the formation of cetyl alcohol increased from 2.8 obtained with the Ru/ $\gamma$ - $Al_2O_3$  only up to 12.5%, with the mixed catalyst Ru-Ni/ $\gamma$ - $Al_2O_3$  indicating the important influence of Ni on the formation of selective acidic sites in the hydrogenation of methyl palmitate in carbonyl position.

**Key words:** Ru-Ni,  $\gamma$ - $Al_2O_3$ , cetyl alcohol, hydrogenation, methyl palmitate.

### **INTRODUCCIÓN**

Hace más de 30 años, en la Amazonia peruana se introdujo el cultivo de la palma aceitera como fuente de material oleaginoso para alimentos, básicamente para el consumo local. En la actualidad las plantaciones superan las 30 000 hectáreas, cuyo volumen de producción en aceite supera a la demanda en alimentos. Una alternativa para uso está orientada en su aplicación como biocombustible, transformándolo en biodiesel, el cual ha presentado ciertos problemas. El problema radica en la fracción saturada que se convierte en un residuo, para ello se ha planteado reducir el palmitato de metilo para convertirlo en alcohol cetílico, producto de alto valor agregado por el alto consumo local en la industria cosmética. En la actualidad, todo el alcohol cetílico que se emplea en el Perú es importado<sup>1</sup>.

La transformación del palmitato de metilo a alcohol cetílico, mediante la reacción de hidrogenación de metil ésteres requiere la utilización de catalizadores eficientes para la hidrogenación en posición carbonílica. En partículas, catalizadores metálicos basados en un metal noble del grupo VIII (Pt, Rh, Ru, etc.) para la activación de moléculas de hidrógeno y de un promotor catalítico como Ni, Co, Sn, Ge, Fe, entre otros<sup>2,3</sup>, para activar el grupo

carbonilo de la molécula reaccionante. Por otro lado, el rendimiento de estos metales puede ser mejorado mediante el uso de un óxido reducible como soporte:  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{WO}_3$ ,  $\text{MoO}_3$ , entre otros, por ello es de interés científico encontrar un sistema catalítico más adecuado para obtener preferentemente alcohol cetílico. Sin embargo, algunos otros soportes como  $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{SiO}_2$  pueden jugar un rol importante en la dispersión de las partículas del catalizador que podría contribuir junto a su acidez a la hidrogenación selectiva en posición carbonílica<sup>4</sup>.

Sí bien existe información sobre la hidrogenación de metil ésteres para la obtención de alcoholes a partir de ácidos grasos con catalizadores de rutenio, la gran mayoría de publicaciones aborda sistemas catalíticos rutenio-estaño soportados para hidrogenación de metil oleato. Los catalizadores rutenio-níquel no han sido muy estudiados para la hidrogenación de palmitato de metilo, sin embargo, han sido estudiados en diferentes reacciones como hidrogenación de acetonitrilo<sup>5</sup> benceno<sup>6</sup>, ácido levulinico<sup>7</sup>, hidrogenólisis de guaiacol en fase acuosa<sup>8</sup> y de 3-hidroxipropanal<sup>9</sup>. De lo anterior, diversos autores mencionan que el sistema metálico Ru-Ni podría mostrar una actividad catalítica superior, además de selectividad y resistencia a la desactivación que los catalizadores monometálicos<sup>9</sup>. Por eso, la utilización del rutenio, en conjunto con un metal de transición como el níquel, permitiría hacer uso de un promotor de bajo costo y accesible en el mercado. A pesar del efecto positivo sobre la actividad hidrogenante e hidrogenolítica, la formación de subproductos no deseados es igualmente importante. En condiciones industriales, alcanos y ésteres son los principales entre dichos subproductos<sup>10</sup>.

Con esta premisa, en este proyecto se han explorado diferentes catalizadores y soportes. En esta primera etapa se preparó una serie de catalizadores basados en Ru-Ni soportados en  $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$  con diferentes composiciones: Ru/  $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ , Ru-Ni/  $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$  y Ni/  $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$  y caracterizados por análisis termogravimétrico difracción de rayos X, sorción de  $\text{N}_2$  y reducción a temperatura programada de  $\text{H}_2$  para conocer sus propiedades fisicoquímicas y relacionarlos con la actividad catalítica. Los ensayos catalíticos se realizaron en un reactor batch a 270 °C y 800 PSI de presión, con agitación magnética (800 rpm), los productos de reacción se centrifugaron y fueron cuantificados por cromatografía de gases.

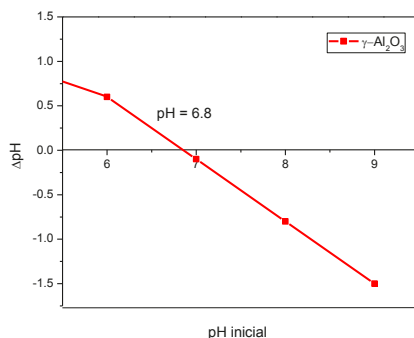
## PARTE EXPERIMENTAL

### Determinación del punto de carga cero (ZP0)

Previo a la preparación de los catalizadores soportados, se determinó el punto de carga cero del soporte, la  $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ , con el objetivo de encontrar el pH adecuado de la suspensión metálica, donde la solución precursora y el soporte estén en íntimo contacto, así como favorecer la atracción de las especies catiónicas de  $\text{Ru}^{3+}$  y  $\text{Ni}^{2+}$  sobre la superficie del soporte. El método experimental consiste en medir el cambio de pH al ponerse en contacto la alúmina con diversos patrones con un pH ácido y básico definido. Se registra los cambios de pH (obtenidos por titulación) en función del pH inicial del patrón, obteniendo la figura 1. Como se observa, el soporte presentó un valor de ZP0 de 6,8, mostrando un ligero carácter ácido. Este valor es cercano a los determinados por otros autores<sup>11</sup>.



De la curva de ZP0 se puede inferir que ajustando el pH de la suspensión a un valor de  $\text{pH}=8$ , se puede obtener una superficie de carga negativa para el soporte, de modo que haya una mayor atracción entre los cationes (componentes activos en la reacción de hidrogenación) y el soporte catalítico.



**Figura 1.** Determinación de punto de carga cero (ZP0) del soporte  $\gamma$ - $\text{Al}_2\text{O}_3$ .

### Síntesis de catalizadores

Se sintetizaron catalizadores metálicos de rutenio y níquel, soportados en  $\gamma$ - $\text{Al}_2\text{O}_3$  (Aldrich) por el método de co-impregnación húmeda, ajustando el pH de la solución precursora a un  $\text{pH}=8,0$  para asegurar la precipitación controlada de las especies metálicas catiónicas. Luego, se procedió a una reducción en flujo de  $\text{H}_2$ . Los precursores de rutenio y níquel fueron los siguientes: tricloruro de rutenio hidratado ( $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ , Aldrich) y nitrato de níquel hexahidratado ( $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , Aldrich). Las soluciones de los precursores catalíticos con las cantidades adecuadas de sal inorgánica fueron preparadas de tal manera de obtener una carga metálica nominal total de 4 % en peso, respecto al soporte para los catalizadores monometálicos y 5 % para los catalizadores bimetálicos. Estas cargas se definieron de esta manera con el objetivo de obtener una monocapa dispersa en la superficie del soporte. La cantidad de soporte empleado fue, en promedio, de 1 g. En la tabla 1 se presentan las formulaciones de los catalizadores preparados.

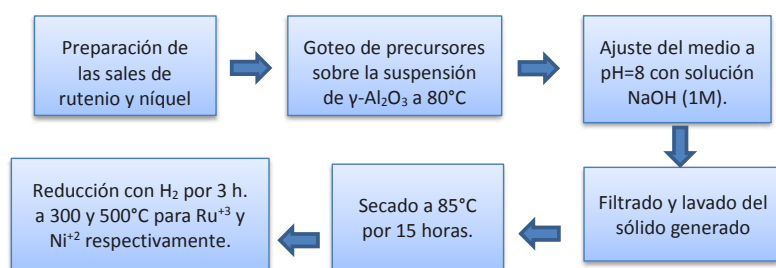
**Tabla 1.** Relaciones nominales de pesos de las sales metálicas empleados para la preparación de los catalizadores basados en Ni-Ru soportados en  $\gamma$ - $\text{Al}_2\text{O}_3$ .

Carga(%)	% Ru*	% Ni*	Peso Ru (g)	Peso Ni (g)	Peso sal Ru (g)	Peso sal Ni (g)
4	4	-	0,04	-	0,0963	-
5	4	1	0,04	0,01	0,0963	0,0495
4	-	4	-	0,04	-	0,1982

(\*) Calculado respecto al peso del soporte

La síntesis de los catalizadores consistió preliminarmente en la preparación de soluciones precursoras con las concentraciones en peso requeridas para cada carga metálica. Las soluciones precursoras fueron introducidas en una bureta para posterior goteo, por otro lado, el soporte catalítico fue vertido en un vaso junto con 60 mL de agua ultrapura a  $80^\circ\text{C}$  y en

agitación magnética. Las soluciones fueron puestas en contacto mediante goteo lento con el soporte agitado. El pH del medio fue ajustado a 8 (de acuerdo al punto de carga cero del soporte) con una solución de NaOH (1M), manteniéndolo por 15 minutos. Concluido el tiempo se filtró en caliente y se lavó el sólido varias veces con agua ultrapura para eliminar los restos de NaOH. Las muestras fueron secadas a 85°C por 15 h y reducidas en flujo de H<sub>2</sub> (50 mL/min) por 3 h a 300 y 500°C (10°C/min) para los catalizadores de Ru y Ni, respectivamente. El catalizador bimetalico fue reducido a 300°C, pues en estas condiciones se obtuvieron los componentes metálicos activos para la reacción<sup>11</sup>. Por último, los catalizadores reducidos en H<sub>2</sub> fueron almacenados en frascos de vidrio en atmósfera de helio. El procedimiento se resume en la figura 2.



**Figura 2.** Esquema de preparación de los catalizadores Ru-Ni soportados sobre  $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

### Actividad de los catalizadores

Los catalizadores fueron testeados en la hidrogenación del palmitato de metilo en medio líquido dentro de un reactor batch de acero inoxidable que se presenta en la figura 3, con agitación magnética. Las condiciones de reacción fueron 260 °C (controlada por un sistema de control de temperatura Autonics serie TZN4S) y 800 PSI de presión (controlada por un manómetro marca Stiko serie EN 837-1). El reactor se cargó con 6 mL de palmitato de metilo (Aldrich) disuelto en 80 mL de n-dodecano y 200 mg del catalizador. El reactor batch cuenta con válvulas de ingreso de gases (nitrógeno e hidrógeno), válvula de retiro de muestra y válvula de seguridad.

Los experimentos catalíticos se realizaron introduciendo el catalizador junto con el palmitato de metilo en estado líquido y el n-dodecano, luego se realizó dos purgas, inyectando N<sub>2</sub> para eliminar el oxígeno del sistema de reacción, para ello se abrió la válvula del gas y se presionó con N<sub>2</sub> el reactor, dejando escapar el gas después de unos segundos con la apertura de la válvula de alivio. Luego, se cargó el reactor con el mismo gas y se aumentó la temperatura hasta 260 °C. Establecida la temperatura de trabajo y la presión dentro del reactor con N<sub>2</sub> (5.51 MPa), se realizó el cambio de gas del medio con H<sub>2</sub>, (pureza 99 %) y fijando en este momento el tiempo de inicio de la reacción (muestra 0). Las condiciones de reacción se resumen en la tabla 2. El tiempo de reacción fue de aproximadamente 15 h y durante el transcurso del mismo se realizaron diversas tomas de muestra en un intervalo de tiempo determinado (en promedio cada 3 h).



Figura 3. Reactor batch para la hidrogenación de palmitato de metilo.

Tabla 2. Condiciones de reacción de la hidrogenación de palmitato de metilo.

Volumen de palmitato de metilo	6 mL
Volumen de n-dodecano	80 mL
Masa del catalizador	200 mg
Presión de $\text{H}_2$	800 PSI (54 atm)
Temperatura de reacción	260°C

### Caracterización de los catalizadores y productos de reacción

Los catalizadores fueron caracterizados por las siguientes técnicas:

**Titulación potenciométrica:** Técnica empleada para determinar el punto de carga cero del soporte. Se utilizó un potenciómetro (marca Inolab, modelo pH7310). Previamente se preparó soluciones (50 mL) ajustadas a pH 5, 6, 7, 8 y 9 con HCl (0,1M) o NaOH (0,1 M) según sea el caso. Posteriormente, a cada vaso con solución, se le agregó 50 mg de soporte y se sometió a agitación magnética por 24 horas. Finalmente, se filtró las soluciones y se midió el pH final de la solución filtrada, realizando una gráfica de  $\Delta$  pH vs pH inicial cuya intersección con el pH inicial fue el pH de carga cero.

**Difracción de rayos X:** Empleado para la determinación de las fases cristalinas de los catalizadores y soporte. Se utilizó un difractómetro de rayos X Bruker, D2 PHASER equipado con una fuente de radiación  $K\alpha$  de Cu ( $\lambda=1.5418 \text{ \AA}$ ) con un potencial de 30 kV y una intensidad de 10 mA. Los datos generados fueron colectados bajo un rango de escaneo que comprende desde 10 a 90° con un tamaño de paso  $2\theta$  de 0,02°/s y fueron procesados con el software HighScore Plus.v.3.0 utilizando la base de datos de referencia COD (Crystallography Open Database).

**Sorción de  $\text{N}_2$  (método BET):** Para la medición de la superficie específica de los catalizadores y soporte, se usó un equipo Gemini VII 2390 de Micromeritics a -196°C en nitrógeno líquido, previamente se desgasificó 50 mg del catalizador en Helio (99 %) a 200°C por 1,5 horas en un sistema desgasificador Flow Prep 060 de Micromeritics.

**Reducción a temperatura programada (TPR-H<sub>2</sub>):** Se utilizó para la determinación de las especies reducibles. Los perfiles fueron medidos en un equipo ChemiSoft TPx de Micromeritics, equipado con un detector TCD desde 25 a 800 °C a razón de 10°C/min con un flujo de 10% H<sub>2</sub> – 90 % N<sub>2</sub>, para ello, previamente, se desgasificó 50 mg de muestra en un flujo de N<sub>2</sub> (25mL min<sup>-1</sup>) a 200°C por 40 minutos. El consumo de H<sub>2</sub> se registró en un detector de conductividad térmica (TCD).

**Análisis termogravimétrico (TGA):** Utilizado para medir la variación de peso de una muestra, frente a la temperatura. Los perfiles fueron realizados usando un equipo modelo STA 6000 de Perkin-Elmer, para lo cual se utilizó 5 mg de muestra, llevando hasta una temperatura máxima de 600°C con una rampa de temperatura (10°C/min) bajo un flujo de N<sub>2</sub> (20 ml/min).

**Cromatografía de gases (GC):** El seguimiento de productos de reacción fue realizado en un cromatógrafo de gases GC-VARIAN-450, equipado con un detector de ionización de flama (FID) y una columna capilar Superlcowax 10, (30 m x 0,53 mm x 0,25 μm).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

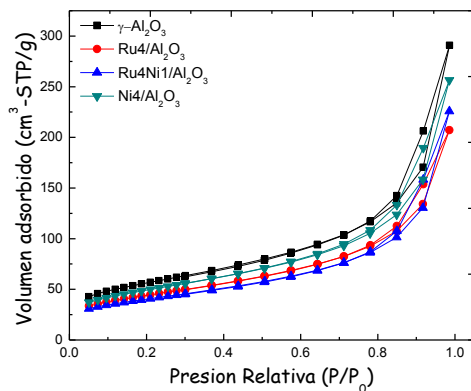
### A. Caracterización de catalizadores

#### 1. Sorción de N<sub>2</sub> (método BET)

Las isothermas de sorción de N<sub>2</sub> mostraron información sobre el área superficial y la dimensión del poro medio. La tabla 3 muestra que los catalizadores Ru4/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> y Ni4/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> presentaron valores de área superficial (155 y 174 m<sup>2</sup>/g) superiores al soporte (153 m<sup>2</sup>/g). Este incremento del área superficial podría estar relacionado con la formación de hidróxidos metálicos dispersos en la superficie del soporte<sup>13</sup>. Por otro lado, el catalizador Ni4/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> presentó menor área superficial (142 m<sup>2</sup>/g) respecto al soporte, probablemente debido a que las fases formadas se depositaron en la zona mesoporosa. La figura 4 muestra que las isothermas de las muestras son del tipo IV, de acuerdo a la clasificación IUPAC, característicos de materiales micro-mesoporos, con preponderancia de la mesoporosidad. Todas las muestras presentaron poros cilíndricos, con bucles de histéresis tipo H1. El diámetro medio de los poros se determinó por el método BJH (Barret-Joyner-Halenda).

**Tabla 3.** Propiedades texturales de los catalizadores Ru-Ni soportados en γ-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

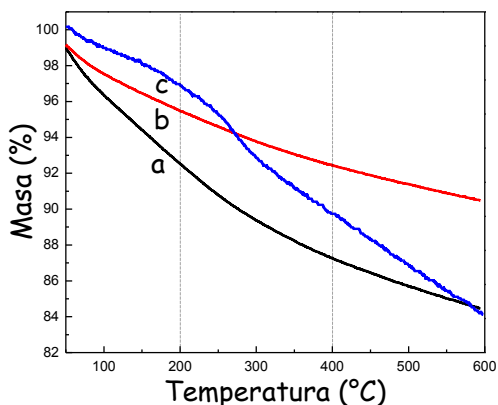
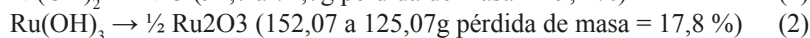
Catalizador	S <sub>BET</sub> (m <sup>2</sup> /g)	S <sub>micro</sub> (m <sup>2</sup> /g)	S <sub>meso</sub> (m <sup>2</sup> /g)	D <sub>p</sub> (nm)	V <sub>p</sub> (cm <sup>3</sup> /g)
γ-Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	153	11	142	18,4	0,9
Ru4/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	155	14	141	10,2	0,3
Ru4Ni1/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	142	13	161	11,6	0,4
Ni4/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	174	15	127	10,8	0,3



**Figura 4.** Isotermas de sorción de  $\text{N}_2$  de los catalizadores reducidos (a)  $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ , (b)  $\text{Ru4/Al}_2\text{O}_3$ , (c)  $\text{Ru4Ni1/Al}_2\text{O}_3$ , (d)  $\text{Ni4/Al}_2\text{O}_3$ .

## 2. Análisis termogravimétrico

El termograma de la serie de precursores Ru-Ni, soportados en  $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ , presenta porcentajes de pérdida de masa menores al 20 %. En la figura 5 se puede apreciar que la muestra  $\text{Ni4/Al}_2\text{O}_3$  presenta pasos de descomposición más definidos respecto a  $\text{Ru4/Al}_2\text{O}_3$  y  $\text{Ru4Ni1/Al}_2\text{O}_3$ . El primer paso de pérdida de masa se encuentra entre 30-200°C que puede ser atribuido a la eliminación de agua fisisorbida en la superficie del precursor, el segundo paso de pérdida de masa se encuentra entre 200-400°C, asociado a la descomposición de especies precursoras como iones hidroxilo, que son generados en la etapa de preparación de los catalizadores a la formación de los óxidos, como se aprecia de manera aproximada en los cálculos mostrados para las muestras basadas en óxido de Ni puro (ec.1) y óxido de Ru puro (ec.2).



**Figura 5.** Perfiles de TGA de las muestras: (a)  $\text{Ru4/Al}_2\text{O}_3$ , (b)  $\text{Ru4Ni1/Al}_2\text{O}_3$ , (c)  $\text{Ni4/Al}_2\text{O}_3$ .

### 3. Análisis por difracción de rayos X (XRD)

Los difractogramas de los catalizadores de Ru-Ni, soportados en  $\gamma$ - $\text{Al}_2\text{O}_3$ , son mostrados en la figura 6; en ella se puede apreciar solo los picos correspondientes al soporte, localizados en las posiciones  $37,1^\circ$ ,  $39,6^\circ$ ,  $45,7^\circ$ ,  $67,0^\circ$ , adscritos a los planos (311), (222), (400), respectivamente, en concordancia con el patrón cristalográfico (ICDD PDF 10-0425), con ausencia de los picos de difracción asociados a especies de rutenio o níquel, debido posiblemente a una alta dispersión del catalizador hasta un nivel no detectable por la técnica XRD.

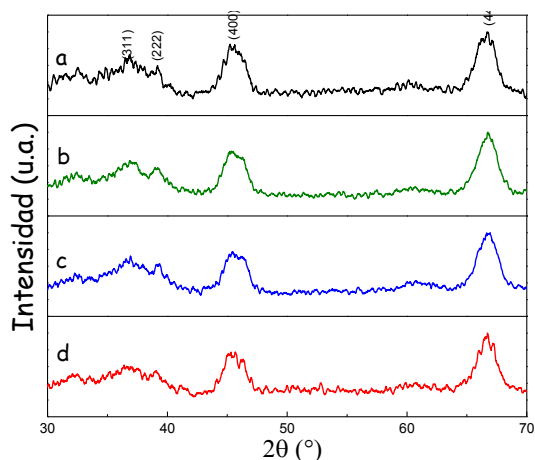


Figura 6. Difractogramas de los catalizadores: (a)  $\gamma$ - $\text{Al}_2\text{O}_3$ , (b)  $\text{Ru}_4/\text{Al}_2\text{O}_3$ , (c)  $\text{Ni}_4/\text{Al}_2\text{O}_3$ , (d)  $\text{Ru}_4\text{Ni}_1/\text{Al}_2\text{O}_3$

8

### 4. Reducción a temperatura programada (TPR)

La figura 7 muestra el catalizador  $\text{Ni}_4/\text{Al}_2\text{O}_3$  con dos picos de reducción comprendidos entre  $200$  y  $500^\circ\text{C}$ , con máximos en  $270^\circ\text{C}$  y  $365^\circ\text{C}$  asociados a especies de  $\text{NiO}$  con diferentes fuerzas de interacción con la  $\gamma$ - $\text{Al}_2\text{O}_3$ <sup>14</sup>. En contraste la muestra  $\text{Ru}_4/\text{Al}_2\text{O}_3$ , presentó cuatro picos de reducción. Los dos primeros con máximos de consumo de  $\text{H}_2$  en  $86$  y  $125^\circ\text{C}$  atribuidos posiblemente a la reducción de hidróxidos de rutenio interactuando en menor y mayor grado con el soporte, respectivamente; otro pico alrededor de  $220^\circ\text{C}$  asociado a la reducción de  $\text{Ru}_2\text{O}_3$ <sup>15</sup>. Finalmente, la presencia de un pico pequeño a  $408^\circ\text{C}$  se puede atribuir a la reducción de partículas de  $\text{Ru}_2\text{O}_3$ , interactuando con el soporte. La muestra bimetalica  $\text{Ru}_4\text{Ni}_1/\text{Al}_2\text{O}_3$  evidenció una disminución considerable del consumo de  $\text{H}_2$  por parte de las especies de rutenio al agregar  $1\%$  de níquel, lo que podría dar un indicio de una fuerte interacción entre las partículas de rutenio y níquel o de estas partículas con el soporte  $\gamma$ - $\text{Al}_2\text{O}_3$ .

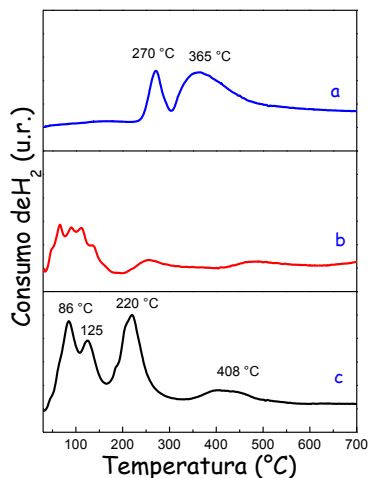
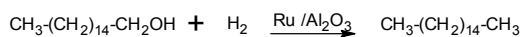
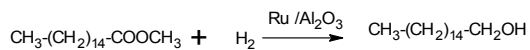


Figura 7. Perfiles TPR- $\text{H}_2$  de los precursores catalíticos (a)  $\text{Ni}/\text{Al}_2\text{O}_3$ , (b)  $\text{Ru}_4\text{Ni}/\text{Al}_2\text{O}_3$ , (c)  $\text{Ru}_4/\text{Al}_2\text{O}_3$ .

## B. Actividad catalítica

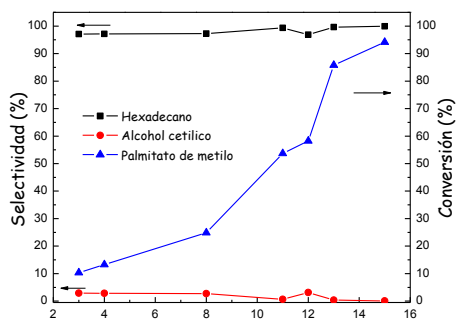
La tabla 4 presenta la conversión de palmitato de metilo (PM) y selectividad a alcohol cetílico (AC) del catalizador  $\text{Ru}/\text{Al}_2\text{O}_3$ , además de otros productos de reacción como posiblemente hexadecano; adicionalmente, hay otras reacciones como la fragmentación de enlace C-C (no mostrado). El catalizador de  $\text{Ru}/\text{Al}_2\text{O}_3$  presentó mayor conversión de palmitato de metilo, esto podría atribuirse a una mayor dispersión de componente activo sobre el soporte, ello se podría ver reflejado en el difractograma, donde la señal del rutenio metálico es débil. La figura 8 muestra que pasado las ocho horas de reacción la conversión se incrementa de 24,8 % a 53,6 %; sin embargo, la selectividad a hexadecano es posiblemente mucho mayor que la correspondiente a alcohol cetílico. Esta baja selectividad a alcohol cetílico podría deberse a la rápida hidrogenólisis de alcohol cetílico formado, según las reacciones mostradas. Posiblemente, primero ocurre la formación de alcohol cetílico y posterior, la reducción a hexadecano. Por esta razón, a mayor tiempo de reacción disminuye la selectividad a alcohol cetílico<sup>15</sup>.



**Tabla 4.** Conversión y selectividad del catalizador de Ru4/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> en la hidrogenación del palmitato de metilo.

Tiempo (h)	Conversión		Selectividad	
	Palmitato de metilo (%)	Alc. Cetílico (%)	Alc. Cetílico (%)	Hexadecano (%)
3	10,3	2,8	2,8	97,1
4	13,2	2,8	2,8	97,1
8	24,8	2,7	2,7	97,3
11	53,6	0,7	0,7	99,3
13	85,8	0,4	0,4	99,6
15	94,1	0,1	0,1	99,9

Condiciones de reacción: Masa de catalizador = 0,2g, volumen de PM = 6 mL, temperatura= 260°C, presión = 800 PSI de H<sub>2</sub>, agitación = 800 rpm, tiempo de reacción = 15 h.

**Figura 8.** Conversión y selectividad versus tiempo de reacción de Ru4/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> en hidrogenación del palmitato de metilo.

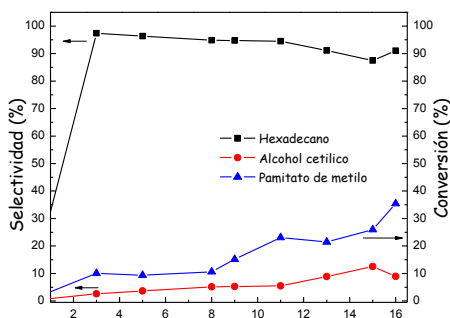
La tabla 5 y figura 9 presentan la conversión del palmitato de metilo y la selectividad a alcohol cetílico sobre el catalizador Ru4Ni1/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Como se observa, la selectividad a alcohol cetílico aumenta drásticamente a 12,5 % luego de 15 h de reacción, con una disminución de la conversión a 26 % respecto al Ru/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. El catalizador Ru4Ni1/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, se hace más selectivo al alcohol con sólo agregar 1 % en peso de níquel; sin embargo, hay mayor preponderancia del rutenio en el catalizador, lo que posiblemente genere mayor selectividad hacia el alcano (C16). Esta mayor selectividad a alcohol respecto al Ru/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> podría ser producto de la interacción entre el rutenio metálico y las especies de níquel, como muestra el TPR en la figura (8-b), cuyo consumo de H<sub>2</sub> disminuye considerablemente al agregar 1 % en peso de níquel. Esto corroboraría lo mencionado por Li y colaboradores<sup>9</sup>, respecto a que el rutenio se encargaría de activar las moléculas de H<sub>2</sub> y las especies de níquel funcionarían como ácidos de Lewis interactuando con el carbonilo del sustrato de reacción.



**Tabla 5.** Conversión y selectividad del catalizador de Ru4Ni1/Al2O3 en la hidrogenación del palmitato de metilo.

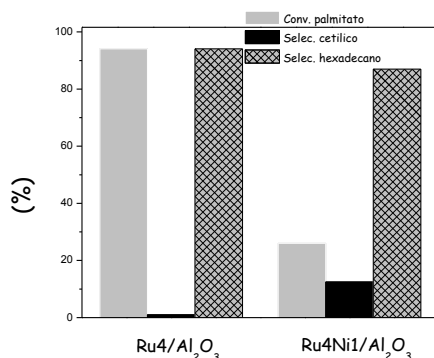
Tiempo (h)	Conversión		Selectividad	
	Palmitato de metilo (%)		Alcohol cetílico (%)	
3	10,0		2,6	97,4
5	9,3		3,6	96,3
8	10,6		5,1	94,8
9	15,1		5,3	94,7
11	23,0		5,5	94,5
13	21,4		8,9	91,1
15	26,0		12,5	87,5

Condiciones de reacción: Masa de catalizador = 0,2g, volumen de PM = 6 mL, temperatura= 260°C, presión = 800 PSI de H<sub>2</sub>, agitación = 800 rpm, tiempo de reacción = 15 h.



**Figura 9.** Conversión y selectividad versus tiempo de reacción de Ru4Ni1/Al2O3 en la hidrogenación del palmitato de metilo.

El catalizador de Ni/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> presentó inactividad catalítica en las mismas condiciones de reacción trabajadas, pues parece ser normalmente activo para la hidrogenación C=C. Finalmente, la figura 10 presenta una gráfica comparativa entre los catalizadores basados en Ru y Ni soportados con su contraparte, el catalizador mixto Ru-Ni soportado. Como se observa, la selectividad a alcohol cetílico obtenido por el catalizador mixto es bastante mayor que el catalizador simple basado en Ru, justificando el rol del Ni como agente promotor de la hidrogenación selectiva en posición carbonílica.



**Figura 10.** Comparación de las conversiones a palmitato de metilo, alcohol cetílico y hexadecano de los catalizadores Ru4/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> y Ru4Ni1/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> en la hidrogenación del palmitato de metilo.

## CONCLUSIONES

Los catalizadores preparados basados en Ru-Ni soportados sobre  $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> mostraron buena superficie mesoporosa (de 150 a 175 m<sup>2</sup>/g), menor cantidad en la formación de especies reducibles que las muestras basadas en Ru y Ni puras soportadas, indicando posiblemente una fuerte interacción de los componentes metálicos con el soporte. Además, los difractogramas mostraron que los componentes metálicos depositados en la superficie del soporte se encuentran altamente dispersos.

Los catalizadores preparados por impregnación con coprecipitación controlada basados en Ru-Ni soportados sobre  $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> presentaron una actividad para la hidrogenación del palmitato de metilo del orden del 40 %, con una selectividad máxima a alcohol cetílico de 12,5 %. Las selectividades a alcohol cetílico del sistema mixto, respecto a los catalizadores monometálicos, mejoraron drásticamente por influencia del Ni sobre el Ru que parece aparentemente bloquear la actividad a hexadecano, promoviendo la formación de sitios ácidos de Lewis, más selectivos a la hidrogenación en posición carbonílica. En trabajos futuros se espera definir mejor las proporciones de Ni en el catalizador, afectando el tamaño de partícula necesario para la hidrogenación selectiva.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer a: FONDECYT - Programa de Doctorado en Química (Proyecto N° 237) y FONDECYT-CONCYTEC (Proyecto N° 219) por el financiamiento de esta investigación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ninahuanca C. Perú tiene 600 mil hectáreas para cultivar palma aceitera [Internet]. Lima: La República; 27 enero 2014 [citado 12 octubre 2018]. Disponible en: <https://larepublica.pe/economia/767985-peru-tiene-600-mil-hectareas-para-cultivar-palma-aceitera>.
2. Pritchard J, Ciftci A, Verhoeven MWGM (Tiny), Hensen EJM, Pidko EA. Supported Pt-Re catalysts for the selective hydrogenation of methyl and ethyl esters to alcohols. *Catalysis Today*. 2017; 279:10-8.
3. Bouriazos A, Ikonomakou E, Papadogianakis G. Aqueous-phase catalytic hydrogenation of methyl esters of *Cynara cardunculus* alternative low-cost non-edible oil: A useful concept to resolve the food, fuel and environment issue of sustainable biodiesel. *Ind Crops Prod*. 2014; 52: 205-210.
4. Hu C, Creaser D, Fouladvand S, Grönbeck H, Skoglundh M. Methyl crotonate hydrogenation over Pt: Effects of support and metal dispersion. *Appl Catal A*. 2016; 511: 106-116.

5. Braos-García P, García-Sancho C, Infantes-Molina A, Rodríguez-Castellón E, Jiménez-López A. Bimetallic Ru/Ni supported catalysts for the gas phase hydrogenation of acetonitrile. *App Catal A*. 2010; 381: 132-144.
6. Zhu L, Zheng L, Du K, Fu H, Li Y, You G, et al. An efficient and stable Ru–Ni/C nanobimetallic catalyst with a comparatively low Ru loading for benzene hydrogenation under mild reaction conditions. *RSC Adv*. 2013; 3(3):713–719.
7. Yang Y, Gao G, Zhang X, Li F. Facile fabrication of composition-tuned Ru-Ni bimetallics in ordered mesoporous carbon for levulinic acid hydrogenation. *ACS Catal*. 2014; 4(5):1419–1425.
8. Luo Z, Zheng Z, Li L, Cui YT, Zhao C. Bimetallic Ru-Ni Catalyzed Aqueous-Phase Guaiacol Hydrogenolysis at Low H<sub>2</sub> Pressures. *ACS Catal*. 2017; 7(12):8304–13.
9. Li LJ, Yi WJ, Liu TW, Huang C, Chao ZS. Hydrogenation of 3-hydroxypropanal into 1,3-propanediol over bimetallic Ru–Ni catalyst. *RSC Adv*. 2017; 7(51):32027–37.
10. Suppino RS. Hidrogenação de compostos aromáticos em fase líquida com catalisadores à base de metais do grupo VIII suportados em alumina via impregnação úmida. [Tese de Doutorado] Campinas (SP): Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP; 2014.
11. Kosmulski M. Surface Charging and Points of Zero Charge. Boca Raton, Florida: CRC Press; 2009.
12. Suppino RS, Landers R, Cobo AJG. Influence of noble metals (Pd, Pt) on the performance of Ru/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> based catalysts for toluene hydrogenation in liquid phase. *Appl Catal A*. 2016; 525: 41-49.
13. Chen L, Li Y, Zhang X, Zhang Q, Wang T, Ma L. Mechanistic insights into the effects of support on the reaction pathway for aqueous-phase hydrogenation of carboxylic acid over the supported Ru catalysts. *Appl Catal A*. 2014; 478:117–128.
14. Zhicheng L, Zhaoxia Z, Lei L, Yi-Tao C, Chen Z. Bimetallic Ru–Ni Catalyzed Aqueous-Phase Guaiacol Hydrogenolysis at Low H<sub>2</sub> Pressures. *ACS Catalysis* 2017; 7 (12): 8304-8313.
15. Mazzieri V, Coloma-Pascual F, Arcoya A, L'Argentièrè PC, Figoli NS. XPS, FTIR and TPR characterization of Ru/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> catalysts. *Appl Surf Sci*. 2003; 210(3–4): 222–230.

## ÍNDICE DE AUTORES

Rev. Soc. Quím. Perú

Vol. 84 – Año 2018

Acha, Otilia	477	Cjuno H., Jesús A.	228
Alcarraz, Mario	477	Cjuro F., Ivette	415
Alcázar R., Hermann	91	Collantes D., Ingrit E.	513
Alcázar R., Leopoldo	91	Condemarin V., Rosalina	279
Almirón B., Jonathan	91	Cóndor C., Elena A.	197, 513
		Cueva M., Ruben	451, 465
Aquino G., Pablo	5, 279	Cuizano, Norma A.	183
Arenas Ch., Carlos	204	Cusihuamán N., Susana	204
Arnao S., Inés	488		
Aronés M., Edgar G.	41	De La Cruz A., Ronal A.	322
Avalo C., Orfelinda	436	Díaz R., José	119
		Dionisio F., Cecilia P.	157
Baena M., Angélica M.	247	Dolores, Claudia M.	107
Barriga S., Maritza	217	Dueñas M., Francisco	279
Bazán A., Daniel	247		
Benavente T., Luis R.	499	Escalante E., Nelver J.	322
Benavides, Elena R.	107		
		Félix, Miguel	471
Blanca, Jesús	499	Fim, Fabiana	91
Boluarte A., Geimy I.	157	Fuentes G., María C.	350
Bourdy, Geneviève	428		
Brel, Orianne	428	Gonzales M., Enrique	68
		Gonzales D., Mercedes	428
Carraz, Maelle	428	Grovas LL., Jenny E.	513
Castañeda, Harlich	522	Guerrero C., Agustín	27
Castro, Américo	477		
Castro D., Inés Y.	428	Guerrero V., Tania E.	336
Castro M., Olivio	119	Guevara P., Américo	350
		Gutiérrez M., Luis G.	386
Ccapa R., Karina	363	Guzmán L., Deysi	68
Cconislla, José L.	522		
Ceroni G., Mario	228	Huincho R., Rudecindo	41
Chamorro G., Ruth	363		
Chero O. Sheyla	279	Jullian, Valérie	428
Chiriboga C., Jazmín C.	57	Kitazono S., Ana A.	386
Choquesillo, Fritz	477	Komber, Hartmut	143
Churata A., Rossibel	91		
Churata H., Anna	217	La Rosa-Torro G., Adolfo	247
Cisneros, Fausto H.	157	Lagos, Lesly	143

Lezama, Hélmer	313	Ramírez R., Stamber	239
Llanos, Bertha P.	183	Ramos, Donald	477
		Ramos, Norma	477
Malásquez, María	143	Ramos Ch., Judith	197
Mansilla G., Sandy N.	386	Rengifo Z., Diana R.	175
Martínez A., David P.	436		
Mayor S., César R.	133, 303	Repo C., Ritva	363
Maza M., Ily M.	18	Rodríguez, Nadia	477
		Rodríguez B., Carmen	228
Medina P., Jeaneth	239	Rojas, Miguel	522
Merino U., Raquel	386	Rojas V., Naddia C.	488
Milla, Felix	471		
Morales C., Carlos	119	Romero B., Hugo I.	57
Morales M., Marlon M.	428	Rueda S., Juan C.	143, 376
Morante, Lizebel	183	Ruiz, Ronald	313
Moreno, Carlos J.	183	Reyna P., Víctor M.	513
Navarro, Abel E.	183	Salazar Á., Juan C.	336
Navarro H., Arturo A.	68	Sánchez V., Daniel A.	322
Neira, Enrique	522	Santillán E., Fátima A.	18
Ninán, Efraín	5	Siguenza B., Alisson P.	57
Obregón R., Yris	133, 303	Silva, Jesie C.	183
Osorio A., Ana M.	5, 279	Soria, Raúl	471
Osso, Óscar O.	107	Suárez G., Carlos R.	376
		Sun Kou, Rosario	522
Pacheco S., David G.	204		
Palomino A., Carmen C.	77	Talavera N., María E.	499, 204
Palomino M., Ybar G.	41	Tejada F., Gustavo	415
Pardo Figueroa D, Alexia	415	Tellez M., Lena	77
Paredes S., José L.	336	Torres, Fernando	5
		Tunqui Q., Clesez	415
Parreño T., Juan M.	27		
Páucar C., Karin	119	Valdivieso, Diego	477
Picasso, Gino	522	Valdivieso I., Rubén	488
Pilco, Alex	291	Vargas V., María	91
Pizarro S., Pedro	119	Veliz F., Raúl R.	41
Pumachagua, Rodolfo	313		
		Vera G., Corina	499, 204
Quevedo N., Luis G.	322	Vergara S., Abel	119
Quillos R., Serapio A.	322	Villanueva S., José	239
Quispe J., Fredy	363	Visitación F., Lizardo	77
		Voit, Brigitte	143

Zea A., Irene	499
Zea A., Julia	499
Zschoche, Stefan	143
Zuta, Levi	291

**INDICE DE MATERIAS**  
**Rev. Soc. Quím. Perú**  
**Vol. 84 – Año 2018**

- Aislamiento del ácido lecanórico y ácido úsnico del líquen *Umbilicaria calvescens* NyL., por Judith Ramos Chávez, Elena A. Córdor Cuyubamba 197
- Aplicación de Tecnología Analítica de Proceso (PAT) para controlar atributos de calidad críticos utilizando la espectroscopia NIR en un proceso de fabricación de un polvo para suspensión, por Ruben Cueva Mestanza. 451
- Aplicación del nanocomposito arcilla-carboximetilquitosano-nanopartículas de plata en filtros para el tratamiento de aguas de consumo de zonas rurales de Camaná - Arequipa, por María Elena Talavera Núñez, Irene Zea Apaza, Corina Vera Gonzales, Julia Zea Álvarez, Luis Rodrigo Benavente Talavera. 499
- Caracterización de nanopartículas de ZnO sintetizadas por el método de precipitación y su evaluación en la incorporación en pinturas esmalte, por Pablo Aquino, Ana María Osorio, Efraín Ninán, Fernando Torres. 5
- Caracterización e incorporación de nanopartículas industriales de SiO<sub>2</sub> en cemento Portland tipo 1, por Ana María Osorio Anaya, Francisco Dueñas Morales, Pablo Aquino Granados, Sheyla Chero Osorio y Rosalina Condemarín Vargas. 279
- Caracterización por técnicas espectroscópicas del O-carboximetilquitosano obtenido por Derivatización del quitosano, por Susana Cusihumán Noa, María Elena Talavera Núñez, Carlos Arenas Chávez, David G. Pacheco Salazar, Corina Vera Gonzales. 204
- Composición nutricional de la alga roja *Rodhymenia howeana* de la bahía de Ancón, Perú, por Naddia Carolina Rojas Vega, Rubén Valdivieso Izquierdo, Inés Arnao Salas. 488
- Composición química y compuestos bioactivos de treinta accesiones de kiwicha (*Amaranthus caudatus* L.), por Ruth Chamorro Gómez, Ritva Repo Carrasco, Karina Ccapa Ramírez y Fredy Quispe Jacobo. 363
- Comprobación de los efectos de bloqueadores solares comerciales usando ensayos basados en la sobrevivencia de células de levadura a irradiación UV, por Raquel Merino Urteaga, Sandy Nelly Mansilla García, Luis Gabriel Gutiérrez Mesías, Ana Akemi Kitazono Sugahara. 386
- Desarrollo de electrodos de bajo costo basado en óxidos metálicos para la generación de cloro, por Daniel Bazán Arista, Angélica María Baena Moncada, Adolfo La Rosa-Toro Gómez. 247
- Desinfección del efluente secundario de la planta de agua residual de Ayacucho con radiación ultravioleta para su reutilización en riego agrícola, por Raúl Ricardo Véliz Flores, Edgar Gregorio Aronés Medina, Ybar Gustavo Palomino Malpartida, Rudecindo Huincho Rodríguez. 41
- Determinación de las propiedades de transporte de iones cobre y níquel en una membrana de intercambio catiónico, por Levi Zuta y Alex Pilco. 291

- Determinación de los parámetros de procesamiento que maximicen el rendimiento y la estabilidad del néctar de Ungurahui (*Oenocarpus bataua*, *C. Martius*), por María Cecilia Fuentes Gómez y Américo Guevara Pérez. 350
- Determinación de micotoxinas por el método de elisa en soya para aves en producción en la provincia de Chíncha, año 2016, por Agustín Guerrero Canelo, Juan Parreño Tipian. 27
- Determinación de ultratrazas de cadmio (II) por técnicas voltamétricas con electrodo de carbón vítreo modificado con película de bismuto, por Hugo Ítalo Romero Bonilla, Jazmín Carolina Chiriboga Cabrera, Alisson Paola Siguenza Balladares. 57
- Efecto del consumo de una bebida a base de *Physalis peruviana*, *Passiflora edulis*, *Ananas comosus*, *Avena sativa*, *Linum usitatissimum* y *Stevia rebaudiana*, sobre el perfil lipídico y glicemia, de mujeres con sobrepeso y obesidad por Claudia M. Dolores, Elena R. Benavides, Óscar O. Osso. 107
- Efecto del tipo de agente de pelado, tiempo de cocción y contenido de humedad en la calidad de snacks fritos de maíz blanco gigante (*Zea mays*), por Geimy I. Boluarte Alarcón, Cecilia P. Dionisio Fernández, y Fausto H. Cisneros. 157
- Eficiencia de un sedimentador laminar y convencional para eliminar sólidos, por Tania E. Guerrero Vejarano, Juan C. Salazar Álvarez y José L. Paredes Salazar. 336
- Esteroles presentes en el extracto apolar de las raíces de ajo sacha *Mansoa alliacea*, por Jenny E. Grovas Llamocca, Elena A. Cándor Cuyubamba, Ingrit E. Collantes Díaz, Víctor M. Ryna Pinedo. 513
- Estudio de la actividad antimicrobiana de la cuprita sintetizada por ruta química, por Orfelinda Avalo Cortez, David Pedro Martínez Aguilar. 436
- Estudio de monocapas de bromuros alquílicos en superficies hidrogenadas de silicio (100), por Yris Del Pilar Obregón Rodríguez, César R. Mayor Sánchez. 133
- Estudio fitoquímico cualitativo preliminar y cuantificación de flavonoides y taninos del extracto etanólico de hojas de *Desmodium vargasianum* Schubert, por Diana R. Rengifo Zevallos. 175
- Estudio teórico de las propiedades electrónicas en 4-X-1,2-benzoquinonas sustituidas, por Ronald Ruiz, Hélder Lezama y Rodolfo Pumachagua. 313
- Evaluación de dos atributos de calidad críticos en la producción de formas farmacéuticas sólidas utilizando la espectroscopia de infrarrojo cercano, por Ruben Cueva Mestanza. 465
- Evaluación de la capacidad acumuladora de Cd(II), Pb(II) y Cr(VI) por colonias de *Nostoc commune* "Murmunta", por Stamber Ramírez Revilla, Jeaneth Medina Pérez, José Villanueva Salas. 239



- Evaluación de las características del destilado alcohólico de Anís Verde (*Pimpinella anisum* L.) obtenido por destilación simple, por Clesez Tunqui Quispe, Alexia Pardo Figueroa Dianderas, Gustavo Tejada Flores, Ivette del Rosario Cjuro Farfán. 415
- Evaluación de Ocratoxina A en *Theobroma cacao* L. “cacao trinitario”, por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) y análisis micotoxigénico durante el proceso de cosecha, fermentado, secado y almacenado, por Norma Ramos, Américo Castro, Miguel Felix, Felix Milla, Raúl Soria, Mario Alcarraz, Donald Ramos, Fritz Choquesillo, Otilia Acha de la Cruz, Jesús Blanca, Nadia Rodríguez, Diego Valdivieso. 471
- Identificación de los sitios de unión del plomo en la superficie del adsorbente de residuos de pelos de la industria curtiembre, por Carmen Carola Palomino Amorín, Lena Tellez Monzon, Lizardo Visitación Figueroa. 77
- Influencia de la concentración de Se(IV) en la viabilidad celular durante el crecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, por Carmen Rodríguez Best, Jesús Américo Cjuno Huanca, Mario Ceroni Galloso. 228
- Influencia de las zonas de crecimiento en la composición físico química del fruto de *Solanum betaceum* cav., por Arturo A. Navarro Huaynates, Deysi Guzmán Loayza, Enrique Gonzales Mora. 68
- Mejora de las propiedades adsorptivas de biomateriales mediante modificaciones químicas en la eliminación de antibióticos, por Jesie C. Silva, Lizebel Morante, Carlos J. Moreno, Norma A. Cuizano, Abel E. Navarro, Bertha P. Llanos. 183
- Monocapas auto-ensambladas de alquenos en superficies hidrogenadas de Silicio (100), por Yris Del Pilar Obregón Rodríguez y César R. Mayor Sánchez. 303
- Obtención de extractos de hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) inducidos por su efecto inhibitor de la corrosión, por Abel Vergara Sotomayor, Karín Páucar Cuba, Carlos Morales Comettant, Olivio Castro Mandujano, Pedro Pizarro Solís, José Díaz Rosado. 119
- Optimización del rendimiento de la extracción de aceite de semillas de *Vitis vinifera* con CO<sub>2</sub> supercrítico, por Maritza Barriga-Sánchez, Anna Churata Huanca, Óscar Tinoco Gómez. 217
- Remoción de colorantes azoicos rojo allura (rojo 40) mediante el uso de perlas de quitosano magnetizadas en medio acuoso, por Fátima Amanda Santillán Espinoza, Ily Marilú Maza Mejía. 18
- Residuos sólidos domiciliarios: caracterización y estimación energética para la ciudad de Chimbote, por Serapio A. Quillos Ruiz, Nelver J. Escalante Espinoza, Daniel A. Sánchez Vaca, Luis G. Quevedo Novoa y Ronal A. De La Cruz Araujo. 322
- Síntesis de catalizadores Ru-Ni soportados en  $\gamma$ - Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> para la hidrogenación de palmitato de metilo derivado del aceite de palma y conversión a alcohol cetílico, por Miguel Rojas, Harlich Castañeda, José Luis Cconislla, Enrique Neira, Rosario Sun Kou, Gino Picasso. 513

- Síntesis de hidrogeles conmutables a partir de N-isopropilacrilamida, macromonómeros de 2-Oxazolinas y laponita, por Juan Carlos Rueda, María Malásquez, Lesly Lagos, Hartmut Komber, Stefan Zschoche, Brigitte Voit. 143
- Síntesis y caracterización de un macromonómero de 2-ciclopropil-2-oxazolina, por Carlos Rubén Suárez Gavidia y Juan Carlos Rueda Sánchez. 376
- Synthesis of Ni-Cu catalysts by impregnation to obtain carbon nanofibers by catalytic decomposition of methane, por Jonathan Almirón Baca, Hermann Alcázar Rojas, Rossibel Churata Añasco, María Vargas Vilca, Leopoldo Alcázar Rojas, Fabiana Fim. 91
- Xanthones from *Hypericum laricifolium* Juss., and their antiproliferative activity against Hep3B cells, por Marlon Miguel Morales Moisele, Oriane Brel, Geneviève Bourdy, Mercedes Gonzales de La Cruz, Inés Yolanda Castro Dionicio, Maelle Carraz, Valérie Jullian. 428

**INFORMACIONES**  
**NOTA sobre el CONGRESO IBEROAMERICANO DE QUÍMICA Y XXIX**  
**CONGRESO PERUANO DE QUÍMICA:**

**LA SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ Y EL CONGRESO IBEROAMERICANO**  
**DE QUÍMICA: 85 AÑOS DE LA SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ Y XXIX**  
**CONGRESO PERUANO DE QUÍMICA**

La Sociedad Química del Perú es una institución científica sin fines de lucro, fundada el 17 de octubre del año 1933, que tiene como objetivo principal promover el conocimiento y el desarrollo de la Química en el Perú agrupando entre sus miembros a los químicos, ingenieros químicos, químicos farmacéuticos, biólogos entre otros profesionales.

Nuestro largo periodo al servicio del país, tanto extenso como fructífero, ha sido posible a través de los 43 Consejos Directivos, integrados por destacados profesionales que con ejemplar dedicación y desprendimiento prodigaron sus mejores esfuerzos para estructurar una institución fuerte, con sólido prestigio y con el reconocimiento de la sociedad peruana.

A lo largo de sus ochenta y cinco años de vida institucional al servicio de la química, la SQP ha organizado tres congresos iberoamericanos de química, cuatro congresos latinoamericanos de química, 28 congresos peruanos de química y diversos simposios en Educación Química, Química y Medio Ambiente, Nanotecnología, Fitoquímica, entre otros, así como numerosos cursos y conferencias científicas.

Su órgano oficial de difusión es la Revista de la Sociedad Química del Perú, que se publica trimestralmente y en forma ininterrumpida desde el mes de julio de 1934, siendo la revista científica más antigua de nuestro país; se encuentra indizada en el Chemical Abstracts, Scielo, Latindex y Licenciada en EBSCO, teniendo así una difusión mundial.

La solidez, como institución científica, de la Sociedad Química del Perú, solo ha sido posible a través de la incorporación continua de nuevos miembros, cuyo compromiso, creatividad, profesionalismo y entrega han permitido superar los retos en el intento constante de alcanzar los objetivos señalados en su creación y hacer realidad el sueño de la promoción y difusión del conocimiento científico y químico.

**CONGRESO IBEROAMERICANO DE QUÍMICA: 85 AÑOS SOCIEDAD QUÍMICA**  
**DEL PERÚ y XXIX CONGRESO PERUANO DE QUÍMICA**

Como su nombre lo indica, el Congreso Iberoamericano de Química se realiza con motivo de los 85 años de la SQP, siendo su cuarto Congreso Iberoamericano, y el XXIX Congreso Peruano de Química que sigue su periodicidad bianual, llamados de aquí en adelante CIBQ.

El CIBQ se llevó a cabo del 16 al 19 de octubre del año 2018 en la ciudad de Lima, Perú. La difusión se realizó a través de su página web [www.spperu.org.pe/congreso-2018/](http://www.spperu.org.pe/congreso-2018/),

de comunicados a través de boletines, afiches, volantes y anuncios impresos que fueron distribuidos y/o enviados por internet a diferentes universidades y otras instituciones relacionadas a la química; asimismo, difundidos también a través de las redes sociales y de las páginas web de otras instituciones como la web de IUPAC, de los colegios profesionales y centros universitarios así como de la Revista Colombiana Virtual Pro.

El CibQ estuvo enfocado en las Secciones Académicas de Educación, Historia y Filosofía de Química, Química como Ciencia Básica (Q. Analítica, Q. Inorgánica, Q. Orgánica, Físico Química, Q. Teórica y Computacional); Química para la Vida (Q. Médica, Q. de los Alimentos y Alimentos Funcionales; Bioquímica, Toxicología), Química Ambiental y Química Verde, Química de los Materiales, Química Productos Naturales, Ingeniería Química.

Participaron como conferencistas invitados (25) de países latinoamericanos de Brasil, Bolivia, Chile, México, Uruguay, así como de Estados Unidos, España, Francia, Suiza, igualmente 20 investigadores/académicos peruanos. También participaron como expositores invitados otros profesionales de la industria así como de la academia en los cuatro simposios (28), cuatro mesas redondas (16) y tres cursos (11). Anexos 1 y 2.

Los simposios estuvieron dirigidos a tratar temas de mucha actualidad como Biodiversidad: su estudio y uso sostenible; la Enseñanza de la Química: visión, práctica y logros; Química ambiental y química verde; y Aplicaciones de los nanomateriales.

Las mesas redondas estuvieron orientadas a conocer el estado del arte de las diferentes industrias que se desarrollan en el país como Avances tecnológicos en minería, hidrocarburos, y energía en el Perú; Innovaciones en la industria textil, cosmética, pintura y adhesivos; la Química en nuestra gastronomía; Biotoxinas marinas. En el Anexo 3 van las conclusiones y recomendaciones de los simposios y mesas redondas.

Los cursos estuvieron orientados a la capacitación en temas como: Investigación en plantas medicinales y su aplicación como fitoterápicos; Tópicos selectos en química teórica y computacional; y Técnicas analíticas instrumentales dictados por algunas de las empresas participantes en QUIMITEC 2018, en temas como Infrarrojo con transformada de Fourier, Microscopía electrónica, Cromatografía líquida acoplada a masas-masas; Resonancia magnética nuclear, entre otros.

En el CibQ participaron alrededor de 400 asistentes entre profesionales de la industria, investigadores, docentes universitarios así como estudiantes de pre y posgrado peruanos y de otros países; aproximadamente el 50% fueron de la ciudad de Lima, 30% de otras regiones del país y 20% de otros países.

Se recibieron 220 resúmenes de investigación en las diferentes áreas temáticas que se nombraron líneas arriba.

Se llevó a cabo QUIMITEC' 2018, la exhibición tecnológica, en la que participaron las empresas Sulabsa, Oz Group, Grupo Tecnológico del Perú, Científica Andina SAC, Electromédica Peruana SA, Osmo Service, Elicrom, Pesacon y Quantum Design International. Estas empresas muestran los avances logrados por sus representadas, fabricantes de equipos usuales en la investigación y desarrollo de la química.

Se organizó el concurso La Química y Yo, convocatoria que consiste en que cualquier persona relate sus impresiones, sentimientos, conocimientos o percepción sobre la química a través de un dibujo (categoría kids) o en un texto o poema de 150 palabras como máximo (categorías junior y senior); estos textos son evaluados por un jurado conformado por un químico, un artista y un lingüista en una primera etapa y, finalmente, sometidos a calificación pública por internet. Esta convocatoria estuvo abierta de junio a setiembre 2018. La relación de ganadores se indica en el Anexo 4.

El CibQ contó con los auspicios académicos de las universidades PUCP, UNMSM, UNI, UN Agraria La Molina, UNAP, UNSAAC, UTEC, de los colegios profesionales como el CIP, CQP, CPQF y de asociaciones e instituciones como CONCYTEC, FLAQ, IPPN, IUPAC, ACS, ANC.

Asimismo, contó con el patrocinio de CONCYTEC/FONDECYT, Laboratorios Hersil, HACSA, CLARIANT, y del Departamento de Ciencias de la PUCP. HACSA y Laboratorios Hersil patrocinaron con un apoyo monetario, y Clariant nos apoyó con 400 bolsas de tela que se entregaron a los participantes con sus materiales. Del Departamento de Ciencias de la PUCP se recibió como obsequio para la SQP 20 ejemplares del libro de Investigación Fitoquímica: Métodos en el Estudio de Productos Naturales, de mi autoría, los que fueron puestos a la venta durante el evento quedando el monto de la venta como donación para el CibQ/SQP.

Con relación a la subvención FONDECYT-CONCYTEC, ésta fue otorgada dentro de la Convocatoria de Organización de Eventos para lo cual llenamos un extenso formato y con el cual postulamos en fecha 14 de julio del presente. El 3 de setiembre se nos informó habernos hecho acreedores de la subvención; hicimos la firma del contrato el día 26 de setiembre, y el 5 de noviembre se recibió depósito de la subvención en la cuenta bancaria de la SQP. A la fecha se ha hecho el informe técnico y financiero a FONDECYT, en cuanto se tenga la aprobación del informe se remitirá a la presidencia una nota al respecto.

IUPAC colaboró otorgando seis subvenciones para jóvenes científicos y la ACS premiando a tres investigaciones presentadas al Premio Ernest E. Eliel, así como cubriendo la cuota de inscripción a 10 estudiantes de química de pre y posgrado. Todas las bases de estas convocatorias se publicitaron en la ya mencionada web del CibQ. La selección de los ganadores estuvo a cargo de la Comisión Científica y la relación de los subvencionados se encuentra en los Anexos 5, 6 y 7.

Con este documento se adjunta un registro impreso y visual de las actividades realizadas contenidos en los dos CDs con alrededor de 800 fotografías y en los 25 videos (en 16 estuches) que cubre la filmación de alrededor de 150 horas de actividades en los diversos ambientes del CQFP el cual fue alquilado para la realización de nuestro CbiQ. Igualmente, se adjunta un video de 5 minutos a manera de resumen así como de una entrevista post evento en el programa Encuentro con la Ciencia, por invitación del Dr. Modesto Montoya, transmitida en Ecco Radio el día 9 de noviembre (Anexos 8).

Finalmente, pero no menos importante es comentar que por más de 15 meses la Comisión Organizadora, constituida principalmente por docentes universitarios, trabajó bajo mi presidencia logrando realizar un evento que cubrió las expectativas de los participantes, mostrado a través de las encuestas de satisfacción (Anexo 9).

Y otro aspecto que queremos resaltar es que el Ministerio de la Producción a través de su Resolución Ministerial No 251.2018-PRODUCE del día 8 de junio oficializa el Congreso Iberoamericano de Química y XXIX Congreso Peruano de Química lo que es publicado en su portal web y en el Diario El Peruano de la fecha señalada. La Resolución Ministerial corresponde al Anexo 10.

Quedo a su disposición para cualquier información adicional

**Dra. Olga R. Lock Sing**

Presidenta del Comité Organizador CIbQ

**ANEXO N° 1**  
**CONFERENCISTAS EXTRANJEROS**

<b>N°</b>	<b>Nombre</b>	<b>LUGAR DE TRABAJO</b>	<b>CORREO</b>	<b>AREA</b>
1	Aguirre, J. Daphne	University of Connecticut, Connecticut, E.E.U.U.	jdaguirre@unconn.edu	Educación Química
2	Areche, Carlos	Universidad de Chile, Chile	areche@uchile.cl	Productos naturales
3	Benzo Moreira, Fabián	Universidad de la República, Uruguay	fbenzo@fq.edu.uy	Seguridad Química
4	Bussey, Tom	University of California, San Diego, E.E.U.U.	tbussey@uesd.edu	Educación Química
5	Cárdenas Jirón, Gloria	Universidad de Santiago de Chile, Chile	gloria.cardenas@usach.cl	Química Computacional
6	Cea Olivares, Raimundo	Universidad Autónoma de México, México	cea@unam.mx	Química Inorgánica
7	Cechinel Filho, Valdir	Universidad de Itajai, SC, Brasil	cechinel@univali.br	Productos Naturales
8	Cechinel Zanchett, Camile	Universidad de Itajai, SC, Brasil	camilecechinel@gmail.com	Productos Naturales
9	Chamorro, Eduardo	Universidad Andrés Bello, Santiago de Chile, Chile	echamorro@unab.cl	Química Computacional

10	Fratila, Raluca	Instituto de Ciencia de Materiales de Aragón, España	rfratila@unizar.es	Nanociencia
11	García Martínez, Javier	Universidad de Alicante, Spain IUPAC	j.garcia@ua.es	Educación Química, Nanotecnología
12	Hammond Swayne, Gerald Bruce	University of Louisville, Kentucky, EEUU	gghammond@louisville.edu	Síntesis Química Química verde
13	Kelly, Resa	San José State University, California EEUU	resa.kelly@sjsu.edu	Educación Química
14	Leidinger Ayllon, Walter	Laboratorios Bayer, Alemania	wleidinger@pucp.pe leidingerwalter@gmail.com	Química Industrial
15	Morallón Nuñez, Emilia	Universidad de Alicante – España	morallon@ua.es	Electrocatalisis y Electroquímica de Polímeros
16	Navarro Acosta, Maribel	Universidade Federal de Juiz de Fora Minas Gerais – Brasil	maribel.navarro@ufjf.edu.br	Metabofármaco
17	Nielson, Jennifer	Birham Young University, Utah EEUU	jnielson@chem.byu.edu	Educación Química
18	Rivas Quiróz, Bernabé	Universidad de Concepción, Chile	brivas@udec.cl	Química de Ambiental Química Verde
19	Sauvain, Michael	Instituto de Investigación para el Desarrollo, Francia. Universidad Peruana Cayetano Heredia, Perú (IRD-UPCH)	michel.sauvain@ird.fr	Productos Naturales



20	Tiznado Vásquez, William	Universidad Andrés Bello, Santiago de Chile, Chile	williamtiznado@gmail.com	Química Computacional
21	Toledo, Santiago	St. Edward's University, Austin, Texas EEUU	stoledo@stedwards.edu	Educación Química
22	Valdez Gauthier, Carmen	Florida Southern College, EEUU	cgauthier@flsouthern.edu	Educación Química
23	Visbal Silva, Gonzalo	Instituto Nacional de Metrología INMETRO, R.J. – Brasil	maribel.navarro@ufff.edu.br	Química Orgánica
24	Wolfender, Jean Luc	University of Geneva, Suiza	jean-luc.wolfender@unige.ch	Productos Naturales Metabolómica

**ANEXO N° 2**  
**CONFERENCISTAS NACIONALES**

<b>N°</b>	<b>Nombre</b>	<b>LUGAR DE TRABAJO</b>	<b>AREA</b>
1	Alarcón Cavero, Hugo	UNI	Nanocompuestos de óxidos mixtos-metálicos para ser utilizados como sensores electroquímicos y bactericidas (S1)
2	Alarcón Tarazona, María	PROMPERU	Comercio sostenible de los productos naturales (C26)
3	Alcántara Rubira, Alex	SANIPES	Biotoxinas lipofílicas marinas: química, detección y análisis (MR4)
4	Ardito Saénz, Fernando	Univ Peruana Cayetano Heredia	Impacto y visibilidad nacional e internacional de la producción científica (C10)
5	Bárcena Martínez, Víctor	SANIPES	Microalgas productoras de toxina (MR4) Se disculpó de asistir
6	Becerra Celis, Giuliana	Calidad ambiental, MINAM	Ecoeficiencia en el sector productivo (S4)
7	Benavides, Roque	Compañía de Minas Buenaventura	Avances tecnológicos en minería (MR1)
8	Carazo, Mercedes Inés	ITP, CITES (Consejos Directivos)	Avances tecnológicos en energía (MR1)
9	Casafranca Llanos, Miguel	UPCH	La gastronomía molecular (MR2)
10	Castro, María Luisa	INACAL, OPS	Contaminantes emergentes (S4)
11	Collado Domínguez, Emerson	UNI	Biocombustibles con producción limpia y sostenible (S4) Justificó su no asistencia, reemplazado por la Ing Magali Vivas
12	Córdova Huamán, Jacquelin	HACSA: Adhesivos y Auxiliares	Innovaciones en la industria de adhesivos (MR3)
13	Dávila Taboada, Ernesto	Asociación de Industria de Bebidas y Refrescos.	Bebidas y refrescos en el Perú (MR2) Justificó su inasistencia

14	Díaz Tang, María Isabel	PUCP	Durabilidad: retos actuales de la química desde una perspectiva interdisciplinaria.
15	Félix, Jairo	Restaurante El Comedor	La Química en nuestra Gastronomía (MR2) Justificó su no asistencia
16	Figueroa Ramos, Luis	PUCP; LAR Representaciones S.A.C.	Innovaciones en la Industria de pinturas (MR3)
17	Flores Chávez, Diana	Latin Pharma	Biocomercio y biodisponibilidad (S2)
18	Flores Salmón, Omar	SANIPES	Biotoxinas paralizantes y ácido dómico, aspectos químicos, mecanismos de acción y detección (MR4) Justificó su no asistencia
19	Gamboa Fuentes, Nadia	PUCP	Calidad de aguas en ambientes termales peruanos (C7)
20	Ganoza, Mayar	Univ. Nacional de Trujillo	Biomoléculas con potencial antibiótica de la diversidad bacterial marina del Perú (C25)
21	Gomero Osorio, Luis	RAAA Red de Acción en Agricultura Alternativa.	Balance del uso de las plantas biocidas en la regulación de las plagas (S2)
22	Gómez Valdez, Badhin	Univ. Católica de Santa María	Curso: Tópicos selectos de química teórica y computacional Evaluación del efecto del modelo de carga en los campos... (C17)
23	Guerra Carvallo, Claver	Colegio Químico del Perú	Profesionales Químicos en Perú (C21)
24	Guzmán Duxtan, Aldo Javier	UNMSM	Aplicación de los Nanomateriales (S1)
25	Herrera Elías, Luis Alfredo	Frutarom Perú S.A.	Fabricación y aplicaciones de colorantes naturales (C30)
26	Loayza Pérez, Jorge Eduardo	UNMSM	Manejo responsable de químicos para la prevención de enfermedades profesionales (C8) La Química verde como fundamento para el diseño de procesos industriales sostenibles (S4)
27	López, Alcides	IPEN	Síntesis por rocío prolítico y su caracterización por microscopía electrónica. Curso suspendido por no haber inscrito

28	Mucho, Rómulo	AGROMIN (Director Ejecutivo)	Explotación de Litio en el Perú (MR1)
29	Muñoz Jáuregui, Ana María	Universidad San Ignacio de Loyola	La alimentación saludable (MR2)
30	Nava Mazzoleni, Gianangelo	CERTINTEX S.A., Química Nava SAC	Innovaciones en la Industria Textil (MR3)
31	Ortega San Martín, Luis	PUCP	El análisis químico de monedas antiguas y el re-descubrimiento de hechos históricos del Perú (C11) Cromitas con estructura perovskita para ánodos de pilas SOFC (S1)
32	Pérez Ruiz, Margarita	MASTERCOL PERÚ	Impacto del plástico en el Perú (C5)
33	Ponce Alvarez, Silvia	Universidad de Lima	Remoción de arsénico en aguas procedentes de la industria minera utilizando un biocompuesto basado en goma de Tara (S1)
34	Porras Sosa Emilio	UNI – Repsol	Avances tecnológicos en hidrocarburos
35	Quintana Cáceda, María	UNI	Aplicaciones de los Nanomateriales en la industria química (S1)
36	Quiñones Manga, Marisa	FAO, Proyecto Rotterdam	Contaminación ambiental COP (S4)
37	Ramirez, Alejandro	MASTERCOL	Proceso de transformación de la resina plástica (C6) Sustituido por otro profesional de la misma Empresa
38	Rengifo Salgado, Elisa	IIAP, Instituto de Investigación de la Amazonia Peruana	Etnobotánica de las principales especies de la Amazonía Peruana y su uso tradicional (S2)
39	Rodríguez, Juan	UNI	Descontaminación fotocatalítica de agua en zonas rurales utilizando nanomateriales: avances y retos (S1)

40	Rodríguez Reyes, Juan Carlos	UTECH	Interacciones nanopartículas-biomoléculas y sus aplicaciones en salud (S1) Sostenibilidad en el procesamiento de minerales ..... (C12)
41	Rojas Duran, Rosario	Univ Peruana Cayetano Heredia	Avances en la investigación del cacao nativo peruano (C31)
42	Rueda Sánchez, Juan Carlos	PUCP	Elaboración de polímeros conmutables a partir de 2-oxazolininas y N-isopropilacrilamida (C24)
43	Sánchez, Luis	UNI	Síntesis y caracterización de composites nanorods de ZnO/(óxido de grafeno, óxido de grafeno reducido) y su aplicación en la degradación del agua (S1)
44	Santiago Contreras, Julio	UNMSM	Despolimerización de quitosano con carbón activado (C23)
45	Tapia Huanambal, Nelson	UNMSM	Presente y futuro de la química coloidal (C19)
46	Terry Chávez, Cecilia	3QP S.A.C.	Poniendo en valor la biodiversidad peruana para la industria cosmética global (S2)
47	Torres García, Carla	Mathiensen Perú SAC	Innovaciones en la industria cosmética (MR3)
48	Valladolid Cavero, Andrés	INDECOPI	Biopiratería y plantas medicinales (S2)
49	Villar López, Martha	EsSalud	Estudio clínico de plantas medicinales: un reto para la salud en el Perú (S2)
50	Vivas Cuellar, Magali	UNI	Producción sostenible de biodiesel a partir de aceites no comestible (C9)
51	Yañez, Jaime	Global Research, Development and Innovation Indetec Corp. Perú	Nutracéuticos F+D+I: Diseño de productos con valor agregado.... (C4)
52	Zavaleta Martínez, Alfonso	UPCH	Biotoxinas marinas y su impacto en la salud (MR4) Marihuana medicinal: mitos y realidades (S2)

**ANEXO N° 3**  
**CONCLUSIONES y RECOMENDACIONES**  
**CONGRESO IBEROAMERICANO DE QUÍMICA**

**MESAS REDONDAS**

**1. AVANCES TECNOLÓGICOS EN MINERÍA, HIDROCARBUROS Y ENERGÍA**

**Primera presentación**

- La minería es una actividad descentralizadora que requiere seguir reforzándose y promoviéndose para generar riqueza, pero para ello, es necesario hacer frente la corrupción, la informalidad y el centralismo, de forma tal que coadyuve al desarrollo nacional.
- Es posible hacer una gestión ambiental responsable que no se contraponen con el uso racional del agua, mejorando la calidad de vida de pobladores que habitan en zonas cercanas a los centros mineros, puesto que es posible aplicar tecnologías en procesos de remediación.
- El desarrollo tecnológico debe asumir retos para resolver los problemas que se puedan presentar en las actividades productivas.

**Segunda presentación**

- El mayor beneficio del elemento litio a futuro, sería su uso para almacenar energía, lo cual conllevaría a múltiples aplicaciones.
- El litio es un recurso adicional que agregará valor a nuestros minerales ya que en la actualidad se ha incrementado su precio, y con ello, la posibilidad de generación de recursos económicos que beneficie como canon a la población de Puno y generando a la vez, nuevas fuentes de trabajo.
- Resultaría de mucho interés el uso del litio en la fabricación de vehículos eléctricos, lo cual conllevaría a la reducción de emanación de dióxido de carbono, y por ende a contribuir a resolver el problema del cambio climático.

**Tercera presentación**

- Hay un desarrollo de tecnologías para obtener hidrocarburos más limpios lo cual conlleva a reducir el impacto ambiental.
- En la actualidad se busca reducir los costos de explotación y producción de hidrocarburos, siendo una de ellas el uso de catalizadores en los procesos de producción.
- Un avance tecnológico importante ha sido la reducción de volumen en productos de hidrocarburos buscando reducir en forma significativa los costos de transporte.

**Cuarta presentación**

- Resulta como necesidad, investigar en la reducción de costos de tecnologías renovables.
- Existen muchas posibilidades de investigación en remediación en el sector energía, por ejemplo en el uso de transporte eléctrico, ya que con ello se reduciría bastante el impacto ambiental del transporte.

- Un campo importante para la investigación es la de convertir la basura en energía, y que resulta ser un tema que debería ser de interés para la diferentes regiones del país.
- Se hace evidente la necesidad de trabajar en forma conjunta, la empresa, la academia y el Estado, para dar solución a problemas de interés nacional.

## **2. LA QUÍMICA EN NUESTRA GASTRONOMÍA**

- Fomentar la difusión del concepto y aplicaciones de la gastronomía molecular en los diferentes ámbitos (doméstico, académico, comercial, empresarial, etc.)
- Orientar los esfuerzos de investigación de la ciencia básica (química, física, biología) y aplicada hacia la gastronomía molecular

## **3. INNOVACIONES EN LA INDUSTRIA TEXTIL, COSMÉTICA, PINTURAS Y ADHESIVOS**

### **Innovaciones en la Industria Textil**

- El medio ambiente (reducción del consumo de agua, energía y reducción de contaminantes en los efluentes de las tintorerías textiles).
- La fibra textil y
- La calidad final de los productos textiles acabados.

### **Innovaciones en la Industria Cosmética**

En éste campo la innovación está dirigido en la mejora de la producción, con la materia prima adecuada que permite crear nuevos productos, tomando mucha importancia en la capacitación de su personal para lograr en sus productos:

- Bienestar personal.
- Funcionalidad.
- Optimizar tiempos.
- Experiencia.
- Protección y salud.
- Contacto con lo natural.
- Adecuada a un estado de vida.

### **Innovaciones en la Industria de Pintura**

En esta exposición del químico de profesión indicó que como innovación en el campo de las pinturas se busca:

- La reducción del uso de solventes en la fabricación de pinturas.
- Interrelacionar la investigación, el desarrollo y la innovación en busca de la protección del medio ambiente.
- Desarrollo de pinturas eco amigables.
- Uso de la nanotecnología.
- Obtención de pinturas con propiedades especiales como las magnéticas.

### **Innovaciones en la Industria de Adhesivo**

Se ha desarrollado trabajos en conjunto con el ministerio de la producción y la Universidad Nacional Federico Villarreal, mediante proyectos de innovación para obtener productos ecológicos con adhesivos en base agua y los adhesivos termoplásticos.

## **SIMPOSIOS**

### **1. APLICACIONES DE LOS NANOMATERIALES**

El Simposio contó con la presencia de 6 especialistas en el área de nanomateriales, que mostraron los trabajos que vienen desarrollando en sus respectivos grupos de investigación. El Dr. Ortega San Martín nos habló del desarrollo que ha realizado con las cromitas de estructura perovskita y su dopaje para su uso en acumuladores de energía, concluyendo que algunos dopajes no son convenientes para mejorar propiedades conductoras. Por otro lado, el Dr. Guzmán presentó de una manera global que nos depara el futuro con los nuevos nanomateriales aplicados en diferentes campos desde medicina, construcción, biología hasta el medio ambiente, variando las propiedades de acuerdo al tamaño, forma o composición química de éstos. En el caso del Dr. Alarcón, la síntesis de nanopartículas de plata para su aplicación como bactericida se relacionó con el trabajo del Dr. Rodríguez, quien también desarrolla materiales para desinfectar y/o descontaminar. Ambos aplican las nanopartículas de plata para descontaminación, pero usan métodos de síntesis completamente distintos y funcionalizan la plata, uno con polímeros y el otro con magnetita, teniendo propiedades adicionales que permite mejorar su eficiencia y una fácil recuperación.

El Dr. Sánchez compartió sus resultados de obtener nanorods de ZnO orientados, con técnicas simples de crecimiento. Asimismo, mostró la mejora de las propiedades fotocatalíticas usando grafeno y óxido de grafeno, para la descontaminación de aguas.

Por último, se dio un panorama de las posibilidades de producir nanopartículas en el país, donde hasta el momento no tenemos empresas que se dediquen a esta área.

### **Conclusiones**

- Se presentaron los trabajos de investigación de renombrados Científicos en el área de Nanomateriales, quienes compartieron sus conocimientos y resultados obtenidos. Se vio la coincidencia en que los trabajos realizados están principalmente orientados en descontaminación y desinfección para una mejor calidad de vida y bienestar de la población.
- Hace falta más promoción del potencial de los nanomateriales para fomentar su desarrollo industrial.



## 2. BIODIVERSIDAD, SU ESTUDIO MULTIDISCIPLINARIO Y SU USO SOSTENIBLE

El interés creciente de los países en la conservación de la naturaleza, el desarrollo sostenible, el proceso de armonización de las políticas de desarrollo y sustentabilidad fomentan un trato multidisciplinario del conocimiento. Los investigadores utilizan los recursos en desarrollo e innovación; los productores y empresarios deben tener políticas responsables ante la depredación de nuestra biodiversidad al mismo tiempo incentivar la lucha continua para la conservación los productos nativos relacionados a la diversidad biológica y al conocimiento ancestral.

Las nuevas tendencias del mercado, así como la desaceleración de la economía y los productos basados en la biodiversidad han cambiado nuestro enfoque en temas comunes a la alimentación saludable y la cosmética, que se apoyan en nuevas prácticas y valoran los *nutracéuticos*, *cosmecéuticos*, certificaciones verdes, biocidas naturales, como parte de las investigaciones y posibles innovaciones no solo en el campo de la química sino también en los servicios que recibe esta ciencia en tecnología.

### Recomendaciones y conclusiones

- El estudio multidisciplinario de las plantas con aplicación alimenticia, cosmética y medicinal desde su origen y posterior caracterización química y biológica incide en el estudio de los contaminantes ambientales y microbiológicos que podrían repercutir en el producto final, recomendándose la utilización de biocidas naturales para favorecer la economía del proceso y el impacto ambiental.
- La investigación y desarrollo de un producto con valor añadido de exportación continua a lo largo de la cadena de valor con la aplicación de nuevas metodologías para la caracterización del o los compuestos a utilizar, el procesamiento, empaque y el monitoreo del producto en el mercado de destino, así como el cumplimiento de la normatividad nacional e internacional.
- La Organización Mundial de la Salud (OMS) mencionó que encontrar el bienestar sería una de las principales prioridades de la próxima década, en este contexto las tendencias del mercado hacia lo natural y sostenible potencian la utilización de ingredientes naturales de la biodiversidad nativa muchos considerados *superalimentos* de aplicación alimenticia y cosmética en particular.
- La utilización de nuevos modelos de aplicación de plantas como cannabis deben considerarse dentro de un marco normado de investigación y de repercusión en la salud pública con un continuo monitoreo y evaluación.
- La investigación responsable en plantas medicinales implica la realización de ensayos pre-clínicos y clínicos, así como contar con un reglamento de plantas medicinales y comités de ética especializados.

### 3. ENSEÑANZA DE LA QUÍMICA: VISIÓN, PRÁCTICA Y LOGROS

Cinco químicos que actualmente enseñan en Estados Unidos presentaron trabajos de investigación en el simposio. Más de 40 personas participaron en el simposio. El objetivo del simposio fue de discutir temas relacionados a la investigación en el campo de la educación química, metodologías de la enseñanza y el fomento de investigación en el primer y segundo año de la carrera universitaria para incentivar a los estudiantes a permanecer en carreras de química.

El Dr. Thomas Bussey, profesor de química en la Universidad de California-San Diego, presento el trabajo que viene realizando en el área de realidad aumentada en la enseñanza de la bioquímica. La Dra. Resa Kelly, profesora de la universidad de California State-San José presento su trabajo en investigación que viene realizando en el uso de videos y animaciones moleculares para facilitar a los estudiantes a desarrollar una mejor conexión entre la evidencia experimental y previas experiencias en la comprensión de la química a nivel molecular. El Dr. Santiago Toledo de la Universidad de St. Andrews en Texas hablo de como desarrollar competencias en los cursos de química y como evaluar estudiantes para promover el aprendizaje. La Dra. Carmen Valdez Gauthier profesora y jefa del departamento de quimica de la universidad de Florida Southern en Florida, presento estrategias para involucrar a estudiantes a participar en investigación en el área de Sintesis de Materials Metalo-Organicos y como a través de este proceso estudiantes desarrollan habilidades de comunicación, trabajo de laboratorio, seguridad en el laboratorio y enlazan conceptos aprendidos en la clases teóricas en su trabajo de investigación. La Doctora Jennifer Nielson, profesora de química y vice-decana del departamento de física, ciencias y matemáticas de la universidad de Brigham Young en Utah, presento el proyecto que ella viene realizando en su universidad con el fin de ayudar a profesores a incorporar pedagogías de aprendizaje activo.

Esta reunión no solo sirvió para compartir nuestra investigación en Perú, pero si no también para establecer vínculos con universidades peruanas y de las américas. La Dra. Nielson y la Dra. Valdez Gauthier ambas son miembros del comité de educación de la Sociedad Americana de Quimica y sirven como jefa y sub-jefa del comité de educación del ACS. La Dra. Kelly es jefa del comité internacional de la división de química de la educación de la ACS. La conferencia fue muy estimulante con una amplia gama de tópicos desde química de la educación hasta nanotecnología. La participación de los estudiantes también fue muy enriquecedora. Finalmente queremos agradecerles por la oportunidad de participar el congreso. La organización y las atenciones que recibimos, permanecerán por siempre en nuestro corazón.

### 4. QUÍMICA AMBIENTAL Y QUÍMICA VERDE

- Existe una problemática seria y real de la presencia de COE en las aguas residuales, que pueden estar a las fuentes de agua postable y a los productos agrícolas.
- Es necesario incluir en los planes de seguridad del agua la identificación y monitoreo de indicadores de COE.

- Es necesario priorizar e identificar los indicadores de la presencia de COE, para ser incluidos en los programas de monitoreo y establecer sus tendencias.
- Implementar procedimientos analíticos validados para la medición de los indicadores.
- Buscar la cooperación en la comunidad científica, incluida la toxicología, medicina, biología molecular, biología, bioquímica y entre ciencia, administración y política.
- Los tratamientos de aguas residuales con métodos convencionales no son del todo satisfactorios. Promover métodos eficaces probados para la remoción de los COE. Además de los estudiados considerar el uso de humedales y procesos de bioabsorción avanzada.
- Es necesario revisar la legislación ambiental vigente con el propósito de incluir indicadores asociados a los COE.
- Promover la participación de las autoridades competentes, la comunidad científica, la industria y población en general.

**ANEXO N° 4**  
**CONCURSO LA QUIMICA Y YO: GANADORES 2018**

**CATEGORÍA KIDS**

**PRIMER PUESTO:** OSORIO REAÑO, Santiago Alexander, pseudónimo AVENGER

**SEGUNDO PUESTO:** PACHECO VARGAS, Maricruz Valezka, pseudónimo DULCE AMANECER

**TERCER PUESTO:** TUESTA FLORES, Camila Yamile, pseudónimo MOANA

**MENCION HONROSA:** CAYCHO LA ROSA, Daira Akemi, pseudónimo MARIE CURIE

**MENCION HONROSA:** VENTOCILLA ALOR, Clotty Maritha, pseudónimo LA CIENTÍFICA

**MENCION HONROSA:** VARGAS GUEVARA, Zoray Merly, pseudónimo LA SOÑADORA

**CATEGORÍA JUNIOR**

**PRIMER PUESTO:** PAZ MENDOZA, Mitzy Sharon, pseudónimo MIMI pm

**PRIMER PUESTO:** MANRIQUE MURILLO, Wendy Nayeli, pseudónimo VISIONARIA

**SEGUNDO PUESTO:** MONTOYA SANTIAGO, Jhazmin Almendra, pseudónimo CURIOSITA

**SEGUNDO PUESTO:** CÁRDENAS SALAZAR, Carmen Diana, pseudónimo DIAMANTE

**CATEGORÍA SENIOR A**

**PRIMER PUESTO:** ARANGO ALIAGA, Valeria Zahira, pseudónimo ZAI

**SEGUNDO PUESTO:** FLORES MORALES, Angel Daniel, pseudónimo ARGENTATO

**TERCER PUESTO:** ARANA CASTILLO, Armando Vicente, pseudónimo ZWITTERION

**CATEGORÍA SENIOR B**

**PRIMER PUESTO:** MARTEL HUAYANAY, Yuseth Vania, por su trabajo “La química de una gota de agua” presentado con el pseudónimo VANADIO

**SEGUNDO PUESTO:** MEJÍA ROJAS, Luz Elizabet, por su trabajo “Un amor imposible de dos compuestos” presentado con el pseudónimo DIAMANTE

**TERCER PUESTO:** APONTE ROJAS, Abdiel Enrique, por su trabajo “La química y Yo” presentado con el pseudónimo GIBBS

**MENCION HONROSA:** MELCHOR LEZAMA, Marina Susana, por su trabajo “Dulce tentación” presentado con el pseudónimo ORCHIDEA

**MENCIÓN HONROSA:** NAUPARI ALVAREZ, Rosmery, por su trabajo presentado “Mundo catalizado” con el pseudónimo TRIPOLINA

**ANEXO N° 5**  
**GANADORES SUBVENCIONES IUPAC PARA JÓVENES CIENTÍFICOS**

N°	NOMBRES	INSTITUCIÓN	CORREO ELECTRÓNICO	TÍTULO
1	SERGIO ALBERTO ACEVEDO CORREDOR	Universidad Nacional de Colombia. Bogota - Colombia	saacevedoc@unal.edu.co	CARACTERIZACIÓN CALORÍMETRICA Y TEXTURAL DE CARBONES ACTIVADOS PREPARADOS CON Ca(II) A 973 Y 1073 K PARA LA ADSORCIÓN DE CO <sub>2</sub>
2	GISELLE BERENSTEIN	Universidad Nacional de General Sarmiento Buenos Aires - Argentina	gberenst@ungs.edu.ar	EL IMPACTO POTENCIAL DEL USO DE CUBIERTAS PLÁSTICAS EN SISTEMAS PRODUCTIVOS FRUTIHORTÍCOLAS: EL CASO DE LOS ÉSTERES FTÁLICOS
3	CRISTIAN ANDRÉS CANO BENÍTEZ	Universidad Nacional de Colombia. Bogota - Colombia	cacanob@unal.edu.co	SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE MOFs ANCLADO SOBRE TELAS DE ALGODÓN CON POSIBLES APLICACIONES ANTIBACTERIALES
4	SHEYLA JULISSA FIGUEROA VALENCIA	Universidad Nacional de San Agustín Arequipa - Perú	sheylafv1@gmail.com	AISLAMIENTO Y ACTIVIDADES BIOLÓGICAS DE DITERPENOIDES TIPO AZULENO DEL ALGA PERUANA GLOSSOPHORA KUNTHII
5	CAMILE CECCONI CECHINEL-ZANCHETTA	Universidad do Vale do Itajaí - Brasil	camilecechinel@gmail.com	PERFIL FITOQUÍMICO Y EFECTOS PROTECTORES DE LA FRACCIÓN RICA EN FLAVONOIDEOS DE LAS HOJAS DE BAUHINIA FORFICATA LINK EN LOS EFECTOS TÓXICOS INTESTINALES DE LA QUIMIOTERAPIA CON IRINOTECÁN IN VITRO E IN VIVO
6	G. MAYELI ESTRADA-VILLEGAS	Centro de Investigación en Química - México	mayeli.estrada@ciqa.edu.mx	ELECTROHILADO MULTIAGUJA DE POLICAPROLACTONA-BIOVIDRIO/ QUITOSAN ZNO COMO MATERIAL PARA PROPOSITOS BIOMÉDICOS

**ANEXO N° 6**  
**PREMIO ELIEL (1- 300 dolar, 2- 200 dolar y 3- mención) mejor trabajo)**

PUESTO	NOMBRES	INSTITUCIÓN	CORREO ELECTRÓNICO	TÍTULO
1	MARIO SIMIRGIOTIS	Universidad de Chile Chile	areche@uchile.cl	CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL DE METABOLITOS SECUNDARIOS DEL LIQUEN CHILENO RAMALINA CELASTRI MEDIANTE EL USO DE UHPLC/ESI/MS/MS
2	ROSARIO LOPEZ	Universidad Nacional de Ingeniería Lima-Perú	rclopez@uni.edu.pe	SÍNTESIS NANOPARTÍCULAS SUPERPARAMAGNÉTICAS DE Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ESTABILIZADAS CON SiO <sub>2</sub> Y FUNCIONALIZADAS CON SILANOS PARA LA PREPARACIÓN DE MIP'S MAGNÉTICOS EN CORE@SHELL
3	NAHUN LANZA SORTO	Honduras	nahunlanza@gmail.com	DETERMINACIÓN DE QUINOLONAS EN MUSCULO DE POLLO MEDIANTE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA-DAD UTILIZANDO QUECHERS COMO TÉCNICA DE TRATAMIENTO

**ANEXO N° 7**  
**GANADORES SUBVENCIONES ACS (8 pregrado 200 soles y 5 posgrado 320 soles)**

N°	NOMBRES	INSTITUCIÓN	CORREO ELECTRÓNICO	TÍTULO	
1	ARTURO JIMMY MENDOZA RAMIREZ	Universidad Nacional Gonzales de Ica Ica - Perú	yimymr3@gmail.com	EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y TOXICIDAD DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE LA ESPECIE Cordia lutea LAM. "Changuaro"	PREGRADO
2	JUAN DIEGO, ALARCÓN ACUÑA ,	Universidad Nacional Gonzales de Ica Ica - Perú	juandiegoacuna1996@gmail.com	EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANALGÉSICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE LA ESPECIE Tristerix chodatianus (Patsch.) Kuijt "Pupa"	
3	NORY CARLOTA, NEIRA PALOMINO	Universidad Nacional Mayor de San Marcos Lima - Perú	11040047@unmsm.edu.pe	RELACIÓN ENTRE NIVELES DE PLOMO EN SANGRE Y ACTIVIDAD DE $\delta$ -ALAD EN TRABAJADORES DE IMPRENTA DEL CERCADO DE LIMA.	
4	ANICAMA LIZARABURO, CÉSAR LEONARDO	Universidad Nacional Gonzales de Ica Ica - Perú	leonardo.anicama10@gmail.com	EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANALGÉSICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE LA ESPECIE TRISTERIX CHODATIANUS (PATSC.) KUIJT "PUPA"	
5	GUINET PAOLA, FUQUENE BUSTOS	Universidad Distrital Francisco José de Caldas Colombia	gpao-2012@hotmail.com	CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO FITOQUÍMICO DE PARTES AÉREAS DE LA ESPECIE MOMORDICA CHARANTIA LINN (CUCURBITACEAE) Y EVALUACIÓN DE SU CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	
6	MARÍA CLAUDIA, MONTALVO REVELO	Colombia	klaudiamontalvo@gmail.com	CARACTERIZACIÓN, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ESTABILIDAD DE LAS BETALAÍNAS AISLADAS DEL FRUTO DE DOS ESPECIES DE CACTUS: OPUNTIA STRICTA HAW Y OPUNTIA ELATIOR MILL.	
7	LIZ KANDY, CAMAYO GUTIERREZ	Universidad Nacional de Ingeniería Lima - Perú	lkgutierrez@gmail.com	OPTIMIZACIÓN GLOBAL DEL CLÚSTER INTERMETÁLICO CATIONICO $[CuBi_6]^{3+}$ MEDIANTE EL ALGORITMO AUTOMATON	
8	ERIKA LIZET, CHAIÑA MAMANI	Universidad Nacional Mayor de San Marcos Lima - Perú	erika.lizet.chma@gmail.com	CONTENIDO DE POLIFENOLES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN LA ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA A BASE DE MALTA DE TRES TIPOS DE QUINUA: ROJA (INIA-415 PASANKALLA), NEGRA (INIA 420 - NEGRA COLLANA) Y BLANCA	



				(SALCEDO INIA) SABORIZADA CON JUGO DE ARÁNDANO (VACCINIUM CORYMBOSUM)	
9	FELIX DUPRAT	Universidad de la Frontera Chile	cristian.paz@ufrontera.cl	EXTRACTOS DE MAYTENUS DISTICHA INDUCEN EFECTOS CITOTÓXICOS A TRAVÉS DE LA PROMOCIÓN DE APOPTOSIS EN CÉLULAS HUMANAS DE CÁNCER DE PRÓSTATA, MAMA Y PULMÓN	
10	DIANA GUAYA	Universidad Técnica Particular de Loja Ecuador	deguaya@utpl.edu.ec	APROVECHAMIENTO DE ZEOLITAS NATURALES PARA EL TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUALES URBANAS Y LA GENERACIÓN DE FERTILIZANTES DE LIBERACIÓN LENTA	POSGRADO

**ANEXO N° 8**

Registro impreso y visual de las actividades realizadas contenidos en los dos CDs con alrededor de 800 fotografías y en los 25 videos (en 16 estuches) que cubre la filmación de alrededor de 150 horas de actividades en los diversos ambientes del CQFP el cual fue alquilado para la realización de nuestro CbIQ. Igualmente se adjunta un video de 5 minutos a manera de resumen así como de una entrevista post evento en el programa Encuentro con la Ciencia por invitación del Dr. Modesto Montoya transmitida en Ecco Radio el día 09 de noviembre

## ANEXO N° 9

**Congreso Iberoamericano de Química  
XXIX Congreso Peruano de Química**

Octubre 16-19, 2018, Lima, Perú  
“La química peruana rumbo al bicentenario”



## ENCUESTA DE SATISFACCIÓN

Estaremos muy agradecidos si nos ayuda con esta encuesta.  
Por favor marque con una X la opción más correcta según su opinión.  
5 indica mayor grado de satisfacción y 1 el menor.

**1. INFORMACIÓN GENERAL**

	1	2	3	4	5	No Opina
Difusión del congreso	1	6	27	39	22	1
Utilidad de la información del sitio web del congreso	0	1	20	41	36	2
Facilidad para la realización de la inscripción	0	1	20	41	36	2
Atención del personal organizador durante el evento	0	1	20	41	36	2

**2. FACILIDADES**

	1	2	3	4	5	No Opina
Calidad y comodidad de las instalaciones (equipamiento, mobiliario, iluminación, etc.)	0	2	11	37	48	2
Utilidad de los materiales entregados (libro del programa, CD, etc.)	3	5	9	38	44	1
Satisfacción del coffee break	5	16	26	30	23	0
Interés de las actividades paralelas al Congreso (QUIMITEC, cursos, taller, etc.)	0	5	18	37	39	1

**3. PROGRAMA DEL CONGRESO**

	1	2	3	4	5	No Opina
Interés en las conferencias plenarias	0	1	20	41	36	2
Calidad en la presentación de los pósteres	0	1	11	41	44	3
Nivel de presentación de las conferencias	0	1	18	42	36	3
Grado de interés en las mesas redondas	0	2	24	42	32	0
Novedades en los temas presentados	0	2	13	49	31	5
Moderación de las mesas (control de tiempos, turnos de palabra, etc.)	0	1	25	41	32	1
Cumplimiento de la programación establecida	0	5	14	37	41	3

**4. VALORACIÓN GENERAL**

	1	2	3	4	5	No Opina
Grado de satisfacción general del Congreso	0	3	8	52	34	3

# ANEXO N° 10



BOLETIN OFICIAL DEL GOBIERNO  
 Nº 31171  
 11 JUN 2018  
 LIMA  
 MINISTERIO DE LA PRODUCCION  
 Nº 17-0002017-PRODUCE/05

## Resolución Ministerial

### N° 251 -2018-PRODUCE

Lima, 08 JUN 2018

**VISTOS**, Las Cartas de registro N°s. 00167196-2017 y 00007091-2018 de la Sociedad Química del Perú, el Memorando N° 073-2018-PRODUCE/DVMYPE-IDGPAR de la Dirección General de Políticas y Análisis Regulatorio, el Informe N° 05-2018-PRODUCE/DVMYPE-IDGPAR-DOPIF-sperreira de la Dirección de Ordenamiento de Productos Industriales y Fiscalizados, el Memorando N° 619-2018-PRODUCE/DVMYPE-IDGPAR de la Dirección General de Políticas y Análisis Regulatorio, el Informe N° 024-2018-PRODUCE/DVMYPE-IDGPAR-DN-sperreira de la Dirección de Normatividad, el Memorando N° 00438-2018-PRODUCE/OGPPM de la Oficina General de Planeamiento Presupuesto y Modernización, el Informe N° 072-2018-PRODUCE/OGPPM-OPM de la Oficina de Planeamiento y Modernización; y,

#### CONSIDERANDO:

Que, el artículo 3 del Decreto Legislativo N° 1047, Decreto Legislativo que aprueba la Ley de Organización y Funciones del Ministerio de la Producción y modificatorias, establece que el Ministerio de la Producción es competente en pesquería, acuicultura, industria, micro y pequeña empresa, comercio interno, promoción y desarrollo de cooperativas; asimismo, es competente de manera exclusiva en materia de ordenamiento pesquero y acuícola, pesquería industrial, Acuicultura de Mediana y Gran Empresa (AMYGE), normalización industrial y ordenamiento de productos fiscalizados; y, es competente de manera compartida con los Gobiernos Regionales y Gobiernos Locales, según corresponda, en materia de pesquería artesanal, Acuicultura de Micro y Pequeña Empresa (AMYPE) y Acuicultura de Recursos Limitados (AREL), promoción de la industria y comercio interno en el ámbito de su jurisdicción;

Que, mediante Cartas de registro N°s. 00167196-2017 y 00007091-2018, la Presidenta de la Sociedad Química del Perú solicita oficializar el evento denominado "Congreso Iberoamericano de Química y XXIX Congreso Peruano de Química" a realizarse en la ciudad de Lima del 16 al 19 de octubre de 2018;

Que, con el Memorando N° 073-2018-PRODUCE/DVMYPE-IDGPAR el Director General (a) de la Dirección General de Políticas y Análisis Regulatorio remite el Informe N° 05-2018-PRODUCE/DVMYPE-IDGPAR-DOPIF-sperreira de la Dirección de Ordenamiento de Productos Industriales y Fiscalizados, el cual señala que el mencionado evento tiene relación directa con las competencias de promoción de la industria nacional del Ministerio de la Producción, al tratar en éste aspectos relacionados con el desarrollo y fomento de la innovación, lo que se relaciona con la función establecida en el numeral 3.2 del artículo 3 del Reglamento de Organización y Funciones del Ministerio de la Producción, aprobado mediante Decreto Supremo N° 002-2017-PRODUCE y modificatoria, el cual señala que el Ministerio de la Producción "Ejerce competencia de manera exclusiva en (...) normalización industrial y ordenamiento de productos fiscalizados. Asimismo, respecto de la innovación productiva y transferencia tecnológica en el ámbito de sus competencias".



Que, por el Memorando N° 619-2018-PRODUCE/DVMYPE-I/DGPAR el Director General (e) de la Dirección General de Políticas y Análisis Regulatorio remite y hace suyo el Informe N° 024-2018-PRODUCE/DVMYPE-I/DGPAR-DN-spereira de la Dirección de Normatividad, que ratifica la opinión técnica emitida por la Dirección de Ordenamiento de Productos Industriales y Fiscalizados, señalando que la mencionada solicitud tiene la calidad de petición graciable, debiendo ser evaluada al amparo de lo establecido en el artículo 121 del Texto Único Ordenado de la Ley N° 27444, Ley del Procedimiento Administrativo General, aprobado mediante Decreto Supremo N° 006-2017-JUS;

Que, por Memorando N° 00438-2018-PRODUCE/OGPPM la Directora General de la Oficina General de Planeamiento Presupuesto y Modernización remite el Informe N° 072-2018-PRODUCE/OGPPM-OPM de la Oficina de Planeamiento y Modernización, el cual concluye que los temas a tratar en el mencionado evento están alineados con el Objetivo Estratégico Institucional 01 del Plan Estratégico Institucional (PEI) 2018 – 2020 del Ministerio de la Producción, aprobado mediante Resolución Ministerial N° 636-2017-PRODUCE;

Que, en ese sentido, es procedente la oficialización del evento denominado "Congreso Iberoamericano de Química y XXIX Congreso Peruano de Química", organizado por la Sociedad Química del Perú a realizarse en la ciudad de Lima del 16 al 19 de octubre de 2018.

De conformidad con lo dispuesto en el Decreto Legislativo N° 1047, Decreto Legislativo que aprueba la Ley de Organización y Funciones del Ministerio de la Producción y modificatorias; y el Decreto Supremo N° 002-2017-PRODUCE, que aprueba el Reglamento de Organización y Funciones del Ministerio de la Producción y modificatoria;

**SE RESUELVE:**

**Artículo 1-** Oficializar el evento denominado Congreso Iberoamericano de Química y XXIX Congreso Peruano de Química" organizado por la Sociedad Química del Perú a realizarse en la ciudad de Lima del 16 al 19 de octubre de 2018.

**Artículo 2.-** Publicar la presente Resolución Ministerial en el Portal Institucional del Ministerio de la Producción ([www.produce.gob.pe](http://www.produce.gob.pe)), el mismo día de su publicación en el Diario Oficial El Peruano.

**Regístrese, comuníquese y publíquese**

  
 RAÚL PÉREZ-REYES ESPEJO  
 Ministro de la Producción

ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL  
 Registro N° 203  
 Fecha: 11 JUN 2018  
  
 JUANITA ROSA ANCE ALVAREZ  
 SECRETARÍA  
 N.S. N° 006-2017-PRODUCE/S

## **DRA. OLGA R. LOCK SING, EPÓNIMA DEL VI CONGRESO LATINOAMERICANO DE PLANTAS MEDICINALES, COLAPLAMED**

El CONGRESO LATINOAMERICANO de PLANTAS MEDICINALES (COLAPLAMED) es un evento académico de carácter internacional anual que se desarrolla a través de conferencias y plenarias dictadas por profesionales idóneos, con trayectoria científica y reconocimiento internacional en su campo de especialidad, con el fin de intercambiar experiencias, intercambiar ideas y conocer los avances científicos-tecnológicos en el área de las plantas medicinales y sus aplicaciones. Lo que motiva a los jóvenes científicos en formación (estudiantes de pregrado, maestría y doctorado) a continuar en el maravilloso campo de la investigación en plantas medicinales.

El COLAPLAMED se viene realizando desde el año 2013 bajo el patrocinio de la Sociedad Latinoamericana de Plantas Medicinales, SOLAPLAMED, y en esta oportunidad, en su sexta versión correspondiente al año 2018, el VI CONGRESO LATINOAMERICANO DE PLANTAS MEDICINALES, ha rendido un homenaje a la Dra. Olga R. Lock Sing, nuestra ex Presidenta de la Sociedad Química del Perú, al considerarla epónima de este importante evento llevado a cabo en la Universidad Nacional de Trujillo del 15 al 17 de agosto de 2018. Dentro de las áreas temáticas que se desarrollaron estuvieron la medicina tradicional, las plantas latinoamericanas promisorias, las plantas medicinales como materia prima de medicamentos, cosméticos y alimentos y su control de calidad, los metabolitos secundarios, la cadena productiva de las plantas medicinales y su articulación en los sectores productivo y científico-tecnológico, entre otros.

Participaron 25 conferencistas plenarios de diversos países latinoamericanos y se presentaron poco más de 220 resúmenes de trabajos de investigación los que fueron expuestos ya sea en forma oral o a través de pósteres.

La Dra. Lock ofreció una conferencia que bajo el título de “Lo esperado y lo inesperado de la investigación fitoquímica. Una experiencia de vida” narró sus experiencias en la investigación desde sus inicios como estudiante de la Maestría en Ciencias Químicas en el Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, Nuevo León, México, bajo la asesoría del reconocido y distinguido Maestro Doctor Xorge A. Domínguez en el año 1968 a la fecha, 50 años dedicada a la investigación de nuestras plantas especialmente de uso medicinal y tintórea que le ha permitido publicar sus resultados en revistas especializadas, además de la obra Investigación Fitoquímica: Métodos en el Estudio de Productos Naturales que en sus tres ediciones publicadas por la PUCP, la última en el año 2016, es utilizada ampliamente por quienes desarrollan sus investigaciones en este campo.

La Sociedad Química del Perú se suma a este merecido reconocimiento de SOLAPLAMED a la Dra. Lock.



**CONGRESO IBEROAMERICANO DE QUÍMICA  
XXIX CONGRESO PERUANO  
LIMA - PERÚ  
Del 16 al 19 de Octubre 2018**