

ISSN 1810-634X

REVISTA de la SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ

REVISTA TRIMESTRAL

VOLUMEN 83 N° 1
ENERO - MARZO - 2017



INSTITUCIÓN CIENTÍFICA FUNDADA EN 1933

LIMA, PERÚ

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

Comité Editor

Presidenta : Ana María Muñoz Jáuregui
Editor en Jefe : Ana Cecilia Valderrama Negrón
Miembros : Julio Santiago Contreras
Lisveth Flores Del Pino
Julio Reynaldo Ruiz Quiroz

Comité Consultivo

Caramantin Soriano, María Universidad de Talca, Chile	Univ. Nac. de Ingeniería, Perú Picasso Escobar, Gino
Dávalos Prado, Juan Consejo Superior de Investigaciones Científicas de España	Univ. Nac. de Ingeniería, Perú Rueda Sánchez, Juan Carlos
Calvo Buendía, Eduardo Univ. Nac. Mayor de San Marcos – Perú	Pontificia Universidad Católica del Perú Rabinovich Jaitin, Daniel
Guija Poma, Emilio Universidad Científica del Sur – Perú	University of North Carolina – USA Sun Kou, María del Rosario
Muñoz Jáuregui, Ana Universidad San Ignacio de Loyola	Dpto. Ciencias, Sec. Química PUCP Gutiérrez Correa, Marcel
Lock Sing, Olga Pontificia Universidad Católica del Perú	Univ. Nac. Agraria La Molina – Perú La Rosa-Toro Gómez, Adolfo
Santiago Contreras, Julio Univ. Nac. Mayor de San Marcos – Perú	Univ. Nac. de Ingeniería, Perú Alarcón Cavero, Hugo
Valderrama Negrón, Ana Univ. Nac. de Ingeniería, Perú	Univ. Nac. de Ingeniería - Perú Maza Mejía, Ily
De La Cruz Azabache, Mario	Univ. Nac. de Ingeniería, Perú Gamboa Fuentes, Nadia
	Pontificia Universidad Católica del Perú

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

Portal web: www.sqperu.org.pe

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

Certificado N° 95-1567

Vol 83

ENERO - MARZO 2017

N° 1

En el Perú: N° suelto S/.15

Suscripción anual: S/. 60.00

En el extranjero: Suscripción anual: \$50.00

CONTENIDO
(Vol. 83 – N° 1 – 2017)

Editorial	1
------------------------	---

Trabajos Originales

- Síntesis de partículas de <i>MgO</i> y su incorporación en celdas solares sensibilizadas a base de <i>TiO₂</i> , por O. Rojas, C. Giannini, D. Siliqi, D. Altamura, F. Paraguay-Delgado, J.L. Solís, M.M. Gómez.	3
- Compuestos bioactivos y actividad antioxidante de semillas de quinua peruana (<i>Chenopodium quinoa</i> W.), por Zanhly Valencia, Fernando Cámara, Karina Ccapa, Policarpo Catacora, Fredy Quispe.	16
- Asociación de mieloperoxidasa sérica con variables cardiometabólicas en dos poblaciones: Carhuamayo (4100 m – Junín) y Mala (30 m – Lima), por María R. Carreño, Elena R. Benavides, Carmen G. Peña, Alejandro Florentini, Yadira Fernández, Cynthia G. Esquerre, Luz K. Hernández, Elizabeth Carranza.	30
- Capacidad antioxidante <i>in vitro</i> y efecto hipoglucemiante de la maca negra (<i>Lepidium meyenii</i>) preparada tradicionalmente, por Jhon Troya-Santos, Neptalí Ale Borja, Silvia Suárez-Cunza.	40
- Transferencia de arsénico en el sistema agua-suelo-maíz de <i>Zea mays</i> L. cultivados en la quebrada de Camiña, norte de Chile, por Venecia Herrera Apablaza, Cristian Carrasco Farías, Patricia Sandoval Cárcamo, Claudia Cortés Carvajal.	52
- Síntesis de nanocompuestos poliméricos con grafeno y su caracterización mecánica, por Mercedes Puca Pacheco, Enrique Tacuri Calanchi, Agérico Pantoja Cadillo, María Guadalupe Neira Velázquez, Gonzalo Canché Escamilla.	65
- Elaboración de nanopartículas de oro en hidrogeles termosensitivos, por Jesús Tito Gutarra, Juan Carlos Rueda, Alberto Corzo.	78
- Caracterización, mediante espectrometría de masas de alta resolución maldi/FT-ICR, de taninos hidrolizables de la tara (<i>Caesalpinia spinosa</i>), por Juan Z. Dávalos, Violeta L. Romero, Juan I. Sánchez, Julissa Chávez, Ana Valderrama-Negrón.	91
- Catalizadores basados en $NiFe_{1-x}O_4$ para la deshidrogenación oxidativa del etano a etileno, por Mario Hurtado Cotillo, Gino Picasso, Rosario Sun Kou.	106
- Release of anthocyanins from chitosan films cross-linked with sodium tripolyphosphate, por Max J. Carlos-Salazar, Ana C. Valderrama-Negrón.	115

Informaciones

Revista Arbitrada

Derechos reservados: Prohibido el uso total o parcial del material de esta revista sin indicar la fuente de origen.
Nota: Las referencias comerciales que aparecen en los trabajos no constituyen una recomendación de la Sociedad Química del Perú.

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Los autores enviarán sus artículos impresos y en formato electrónico (disco compacto o al correo electrónico sqperu@gmail.com) a la Comisión de Publicaciones, junto con una carta dirigida al editor y abonarán 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

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

XXVIII CONGRESO PERUANO DE QUÍMICA “DR. GASTON PONS MUZZO”

Hace 84 años un grupo de maestros y hombres de ciencia, en la Asamblea del 17 de octubre de 1933, forman la “Asociación de Químicos del Perú”, siendo su primera Directiva presidida por el Ing. José Rafael de la Puente. El 28 de noviembre toma el nombre de Sociedad Química del Perú.

La Sociedad Química del Perú difunde, desde su revista, estudios químicos en sus diversas temáticas, comunicaciones, revisiones y actividades de nuestra institución. Organiza congresos, conferencias, cursos, jornadas y simposios, donde se tratan los diferentes problemas de mayor significancia por su importancia nacional e internacional.

En el XXVIII CONGRESO PERUANO DE QUIMICA, realizado del 29 al 31 de marzo del presente año, se dictaron cinco cursos, con la participación destacada de la Dra. María Elena Ibáñez, de la Universidad Autónoma de Madrid y del Dr. Alejandro Cifuentes Gallego, del Institute of Food Science Research (CIAL) de España en el curso de “Análisis de alimentos en la era postgenómica: Técnicas avanzadas de análisis y alimentómica”. El Dr. Andrés Hurtado Benavides, de la Universidad de Nariño, dictó el curso “Aprovechamiento de residuos agroindustriales de frutas para la obtención de aceites con potencialidad en la industria cosmética utilizando la tecnología de fluidos supercríticos”. El Dr. Ángel Gutiérrez Ravelo, de la Universidad de la Laguna, Tenerife, dictó el curso “Anticoagulantes orales no antagonistas de la vitamina K”. También se desarrollaron otros cursos relacionados a la industria cosmética, cromatografía de gases y sus aplicaciones.

Dentro del programa se realizaron 43 conferencias y seis plenarias. Las conferencias fueron en las áreas de síntesis química, química de los materiales y nanotecnología, química orgánica, síntesis química, química biológica y biotecnología, química farmacológica, química inorgánica, química analítica, fisicoquímica, química ambiental, polímeros, química de los alimentos, productos naturales, química médica, computacional y bioquímica. En las plenarias contamos con la participación de la Dra. María Elena Ibáñez de la Universidad Autónoma de Madrid, Dr. Ángel Gutiérrez Ravelo de la Universidad de la Laguna de Tenerife, Dr. Alejandro Cifuentes Gallego del Institute of Food Science Research (CIAL), Dr. Valdir Cechinel Fihlo de Brasil, Dr. Andrés Hurtado Benavides de la Universidad de Nariño de Colombia y el Dr. Eduardo Calvo Buendía galardonado premio Nobel de la UNMSM. Dentro del programa se realizaron cinco mesas redondas con 24 intervenciones que versaron en la problemática de la contaminación, corrosión, industria farmacéutica y cosmética, docencia e investigación y avances en alimentos funcionales y nutraceuticos.

Se realizaron durante el evento tres simposios. El Simposio de Nuevas Tendencias en Alimentos, el día jueves 29 de marzo, bajo la coordinación de la profesora Marta Bravo y contó la participación de ocho expositores, donde destaca el Dr. Andrés Hurtado de Colombia. Alejandro Cifuentes y la Dra. Elena Ibáñez de España, la Dra. Ritva Repo, Dra. Betit Salvá y

el Mg. Jorge Chávez de la UNALM, Dra. Rosalía Anaya del CETOX, entre otros destacados expositores. El Simposio de Productos Naturales se llevó a cabo el día 30 de marzo, coordinado por la Dra. Olga Lock Sing, donde destacó la participación de la Dra. Susana Zacchino de la Universidad del Rosario de Argentina, el Dr. Ángel Gutiérrez Ravelo de la Universidad de la Laguna Tenerife, Dr. Alberto Giménez Turba de la Universidad Mayor de San Andrés de Bolivia, Dra. Joaquina Albán Castillo de la UNMSM, Dr. Alfonso Zavaleta Martínez de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, entre otros destacados expositores nacionales. El Simposio de Nanotecnología se llevó a cabo el 31 de marzo bajo la coordinación de la Magister Ana María Osorio Anaya con la participación de nueve expositores presenciales y un vídeo conferencia dictado por el Dr. José Vega Baudrit, Director del Laboratorio de Nanotecnología de Costa Rica y la destacada participación de la Dra. Catalina Ruiz Pérez de la Universidad de la Laguna de España.

Estamos convencidos que estos tres días han sido llenos de experiencias inolvidables, donde las oportunidades de intercambio de conocimiento a nivel profesional, docente, de investigación e innovación, serán ejes para el futuro de nuestros jóvenes y la perspectiva de la química que debe entenderse como eje transversal del conocimiento científico, base de desarrollo de un país como el nuestro que a pesar de las adversidades climáticas se motive a emprender nuevos retos y genere nuevas temáticas de investigación multidisciplinaria que solucione problemas actuales de transcendencia nacional.

Ana María Muñoz Jáuregui

SÍNTESIS DE PARTÍCULAS DE MgO Y SU INCORPORACIÓN EN CELDAS SOLARES SENSIBILIZADAS A BASE DE TiO_2

O. Rojas^a, C. Giannini^b, D. Siliqi^b, D. Altamura^b, F. Paraguay-Delgado^c, J.L. Solís^a,
M.M. Gómez^{*a}

RESUMEN

Se ensamblaron y se caracterizaron celdas solares basadas en TiO_2 nanoestructurado modificado con MgO (TiO_2 - MgO); las cuales fueron sensibilizadas con el colorante N719. La modificación de las películas de TiO_2 con MgO se realizó empleando suspensiones de diferentes concentraciones de $Mg(OH)_2$ preparado a partir de una solución acuosa de nitrato de magnesio. Una gota de la suspensión se colocó sobre el recubrimiento del TiO_2 , y luego todo el sistema se sinterizó a 530 °C durante 30 min. Se obtuvieron celdas sin sellar y celdas selladas, estas últimas alcanzaron una eficiencia de 4,4%, lo que representó un incremento del 69% con relación a la celda sellada sin modificar, que mostró una eficiencia de 2,6%. Además, se realizaron medidas de la eficiencia solar de una celda sellada bajo iluminación y en oscuridad, y se encontró que la eficiencia disminuyó 19% luego de 22 días en oscuridad, y 76% después de 2 días bajo iluminación.

Palabras clave: TiO_2 , MgO , nanopartículas, celdas solares sensibilizadas.

SYNTHESIS OF MgO NANOPARTICLES AND THEIR INCORPORATION INTO TiO_2 SENSIBILIZED SOLAR CELLS

ABSTRACT

Nanostructured TiO_2 solar cells modified with MgO (TiO_2 - MgO) were assembled and characterized; they were sensitized with N791 dye. The MgO modification of the TiO_2 films was performed using suspensions with different concentrations of $Mg(OH)_2$ prepared from magnesium nitrate in aqueous solution. One drop of the suspension was placed on top of the film and then was sintered at 530 °C during 30 min. Unsealed cells and sealed cells were obtained, the latter achieved an efficiency of 4.4%, representing an increase of 69% compared to the unmodified sealed cells, which showed an efficiency of 2.6%.

^a Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Ingeniería, Av. Túpac Amaru 210, Lima25, Perú, mgomez@uni.edu.pe

^b Institute of Crystallography, Italian National Research Council, Via Amendola 122/O, Bari, Italia

^c Centro de Investigación en Materiales Avanzados S. C., CIMAV, Miguel de Cervantes 120, Chihuahua, Chih. México.

Solar efficiency measurements were also performed in darkness and under illumination. It was found that the efficiency diminished 19% in darkness after 22 days, but under illumination diminished 76 % in two days.

Key words: TiO_2 , MgO, nanoparticles, sensitized solar cells.

INTRODUCCIÓN

Las celdas fotovoltaicas son la unidad básica de los paneles fotovoltaicos, ellas convierten la energía solar directamente en energía eléctrica. En la actualidad, las celdas de silicio son las más utilizadas, pero ellas aún siguen siendo costosas en su proceso de fabricación. También se han desarrollado otras tecnologías de celdas solares como las celdas a base de películas delgadas constituidas por telurio de cadmio, diseleniuro de cobre indio y galio, pero ellas contienen elementos de alta toxicidad¹.

En el año 1991 se presentaron las celdas sensibilizadas a base de TiO_2 nanoestructurado sensibilizado con colorante². Estas celdas presentan muchas ventajas, entre las que destacan el bajo costo de su producción así como su no toxicidad. Sin embargo, estas celdas difieren notoriamente de las celdas de silicio, porque el mecanismo de obtención de electricidad pasa por un mecanismo distinto, dado que el proceso de colección de los fotones provenientes del sol son capturados por el colorante y luego son inyectados en el semiconductor³, así los procesos de recombinación disminuyen con relación a las celdas de silicio. Actualmente, este tipo de celdas vienen siendo muy estudiadas, y cada uno de sus componentes son motivo de amplios estudios. Específicamente, una de las opciones que se han estudiado es la posibilidad de modificar el electrodo de trabajo de TiO_2 con otro óxido como $NiO^{4,5}$, ZnO^6 y MgO^7 , entre otros.

En el presente trabajo se procedió a modificar el recubrimiento de TiO_2 con MgO y se estudió la dependencia de la eficiencia de las celdas para diferentes concentraciones del modificante. También se realizaron análisis estructurales y morfológicos de las partículas del MgO por diferentes técnicas, como difracción de rayos X y microscopía electrónica.

PARTE EXPERIMENTAL

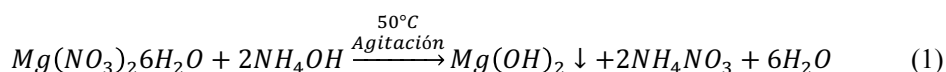
La síntesis de MgO fue a partir de $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$. La selección de esta sal hidratada facilitó la solubilidad en un medio acuoso y favoreció una mejor homogeneización de la solución a obtener. Se prepararon soluciones de 100 ml de concentración 0,02 M, de $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$. Para obtener el hidróxido de magnesio $Mg(OH)_2$, se agregó gota a gota amoníaco NH_4OH concentrado. Durante la síntesis se empleó agitación constante, se mantuvo la temperatura a 50 °C y se controló el pH a 10.

El precipitado obtenido se lavó tres veces con centrifugación, empleando agua desionizada

y se secó a 100 °C por 2 h. El polvo de Mg(OH)₂ una vez seco fue llevado a suspensión nuevamente para preparar diferentes concentraciones, y otra cantidad se llevó a un tratamiento térmico de 530 °C durante 40 min para obtener las partículas de MgO.

Las reacciones que se postulan durante la síntesis son las siguientes:

Formación del Mg(OH)₂:



Descomposición térmica del Mg(OH)₂ a MgO:



Para obtener los electrodos de trabajo nanoestructurados de TiO₂ se elaboró una pasta empleando 1g de P25 y 4 ml de etanol, la cual se depositó sobre un sustrato conductor por medio de la técnica del doctor blade⁸. Los sustratos conductores empleados fueron películas delgadas de óxido de flúor dopado con estaño (FTO). Estos sustratos conductores se lavaron utilizando detergente, agua destilada y etanol en sonicación por más de 6 min. Luego fueron secados a 450 °C durante 15 min. Luego el recubrimiento de TiO₂ se sinterizó a 530 °C por un tiempo de 30 min. Por lo general, el área depositada de óxido de titanio fue entre 0,25 y 1 cm². Seguidamente, se enfrió el sistema hasta 80 °C y el recubrimiento de TiO₂ se colocó en una solución de 0,05 mM del colorante N719 durante 14 h. El enjuague del colorante no anclado en la superficie del TiO₂ se removió con lavados sucesivos de etanol. Este último procedimiento constituyó el proceso de sensibilización por medio del cual la molécula del colorante quedó anclada al TiO₂. Este procedimiento se realizó para obtener las celdas no modificadas.

Las películas nanoestructuradas de TiO₂, modificada con MgO (TiO₂-MgO), se prepararon al aplicar una gota de la suspensión de Mg(OH)₂. La modificación se llevó a cabo con suspensiones de diferentes concentraciones, luego estas películas fueron sinterizadas y sensibilizadas análogamente al caso en el que no fueron modificadas.

Para la preparación de los contraelectrodos se emplearon también sustratos conductores de FTO, en que se realizaron dos orificios y luego estos contraelectrodos fueron lavados como en el proceso seguido para la preparación de los electrodos de trabajo. Luego se depositó una pasta de platino por la técnica del doctor blade y se sinterizó a 390 °C durante 20 min. En este trabajo se usó el electrolito líquido yoduro/triyoduro adquirido de la empresa Dyesol, el cual se caracteriza por su baja viscosidad y alta conductividad iónica.

El sellado de las celdas es un aspecto importante en su fabricación, ya que mediante el sellado se previene la fuga del electrolito y la evaporación del solvente. Como sellante se empleó el material comercial Surlyn MS004610 de la empresa Dyesol, el cual se caracteriza por ser una película transparente y flexible con un espesor uniforme, estable químicamente y con buenas propiedades mecánicas.

Luego del sellado del electrodo de trabajo y el contraelectrodo se introdujo el electrolito por uno de los orificios, posteriormente estos orificios son sellados, también con otra lámina del sellante. El sellado se realizó con una pistola de aire caliente a una temperatura de aproximadamente 120 °C. Se evaluó la dependencia de la eficiencia de una celda solar sellada a base de (TiO_2 - MgO) con el tiempo. Este estudio se realizó en una cámara oscura que contó con una lámpara Ultra-Vitalux OSRAM (220V y 300W)⁹. La celda fue expuesta a iluminación y se mantuvo en oscuridad en diferentes lapsos durante 27 días. Durante las horas de iluminación, la irradiancia sobre la celda fue de 1000 W/m², la cual fue medida con un radiómetro Kipp & Zonen CMP¹¹.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En esta sección se presentarán primero los datos correspondientes a las partículas de MgO y su estudio estructural por difracción de rayos X y microscopía electrónica, seguidamente se mostrarán los datos fotoelectroquímicos de los electrodos modificados TiO_2 - MgO , y finalmente se abordará la eficiencia como celda solar de las celdas modificadas, constituidas por los electrodos de trabajo modificados TiO_2 - MgO para diferentes concentraciones de MgO .

Análisis de las partículas de MgO

Para la preparación de los electrodos modificados se emplearon muy pequeñas cantidades de MgO . La determinación de la presencia del Mg en la superficie de ellos se realizó mediante fluorescencia de rayos X, para lo cual se empleó un espectrómetro FRX que contó con: un tubo de rayos X cuyo ánodo fue de Gadolinio Modelo Epsilon 5, un blanco secundario de Al_2O_3 y un detector semiconductor de Si(Li) de 140 eV de resolución para 5,89 keV de energía. El electrodo modificado sin sensibilización fue colocado directamente en el portamuestra del espectrofotómetro. Se encontró una concentración de 149 ppm de Mg en la superficie analizada. Sin embargo, esta técnica no brinda información de la estructura cristalina en la que se encuentra. Por ello para aproximarse a la estructura y morfología del MgO en la superficie de los electrodos de TiO_2 , se preparó polvo de MgO y se sintetizó a 530 °C, que fue la misma temperatura que se usó para la sinterización de los electrodos. Luego se hicieron estudios por diversas técnicas. Para las medidas de difracción de rayos X se usó un difractómetro Rigaku Miniflex Desktop, con una fuente de radiación $CuK\alpha_1$ ($\lambda = 0,15405$ nm) a 30 kV, 20 mA y con una velocidad de barrido de 3°/min. La figura 1 muestra el difractograma obtenido, los picos observados a los ángulos 2θ iguales a 36,80°, 42,85°, 62,23°, 74,56° y 78,52° fueron asignados a las reflexiones (111), (200), (220), (311) y (222) de la fase periclase correspondiente a la tarjeta N°00-045-0946 de la JCPDS.

El tamaño promedio de los dominios cristalinos se calculó usando el programa TOPAS, el cual emplea el Método de Rietveld¹⁰. Mediante este procedimiento se ajustó el difractograma usando la función Voigt y se empleó el ancho integral de los picos desarrollada por Stokes y Wilson¹¹ en un tratamiento más generalizado del ensanchamiento del pico que es independiente de la forma del cristalito. El resultado del ajuste determinó un tamaño de cristalito de 16 nm.

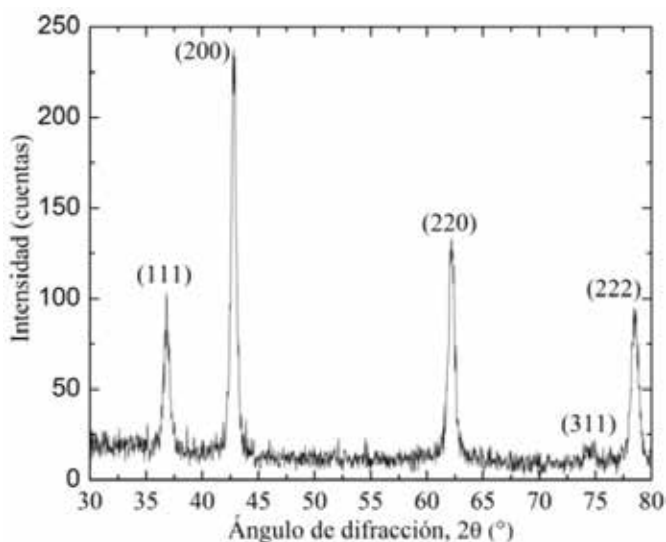


Figura 1. Difractograma de rayos X de MgO en polvo.

El estudio estructural de las nanopartículas también se abordó con el análisis de microscopía electrónica realizado con el microscopio electrónico de transmisión Jeol modelo JEM 220FS operado a 200 kV. Las micrografías STEM (de los términos en inglés *Scanning Transmission Electron Microscope*) de la figura 2 muestran las características morfológicas de las partículas de MgO, la figura 2a muestra la imagen de campo claro y la figura 2b muestra la imagen en contraste Z ($Z = \text{número atómico}$) de la misma zona. Se observan en las imágenes conglomerados cristalinos con tamaños del orden de 250 nm. Los dominios cristalinos que constituyen a estos conglomerados no se resuelven claramente, pero se observa que existen cristales muy pequeños, menores a 50 nm.

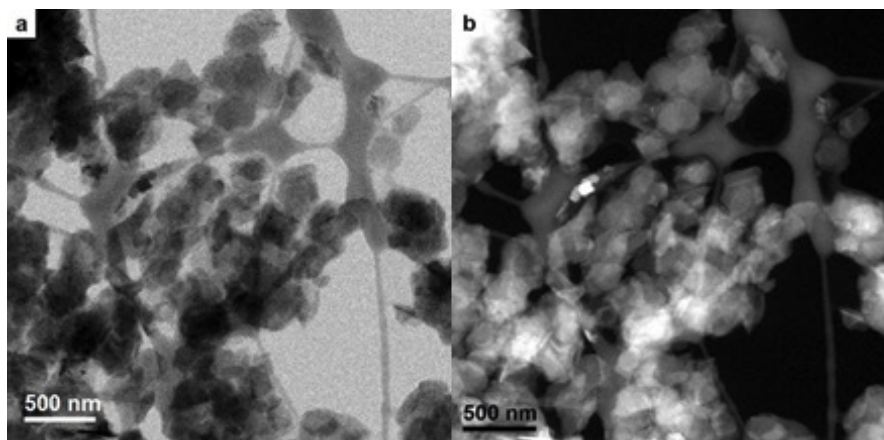


Figura 2. Micrografías STEM de las partículas de MgO para una magnificación de 40kX: (a) campo claro y (b) contraste Z.

El estudio de los conglomerados cristalinos del MgO a mayores magnificaciones muestra que ellos se presentan como láminas apiladas. Las imágenes se muestran en la figura 3 en las que se observan dos enfoques de los apilamientos: frontal y lateral.

Los dominios cristalinos vistos frontalmente se muestran muy apilados unos sobre otros, como lo corroboran las imágenes de la vista lateral, donde se puede identificar que el espesor de las láminas es del orden de 60 nm y el tamaño de los cristales que las conforman es de tamaño menor a 20 nm, lo que está en concordancia con la información obtenida por DRX. Los patrones de difracción de electrones muestran la conformación de los conglomerados por nanocristales, las intensidades de las reflexiones en la dirección (200) no son las mismas para la vista frontal y lateral. Así, también, la forma de las intensidades muestra un cierto grado de texturización, la cual está en concordancia con los aglomerados de forma laminar.

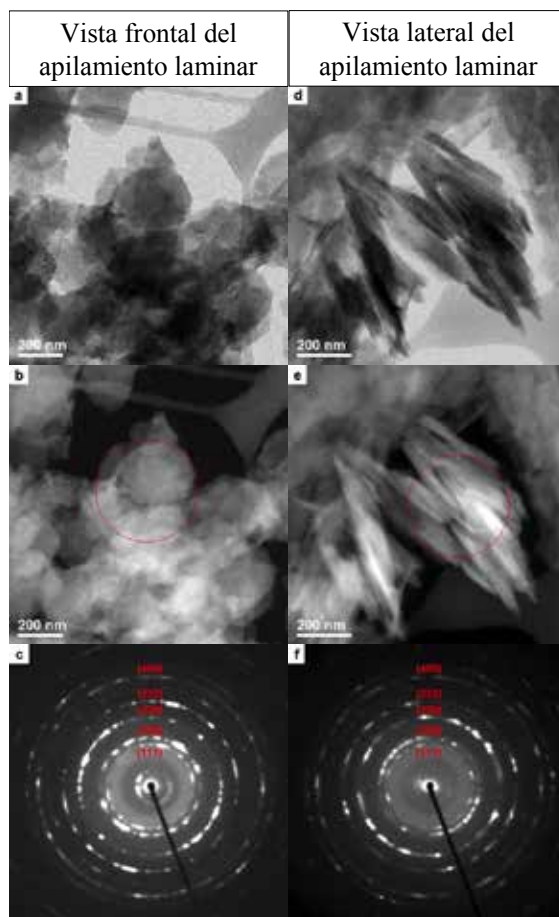


Figura 3. Micrografías STEM de las partículas de MgO apiladas: (a,b y c) vista frontal y (d,e y f) vista lateral. Las imágenes (a) y (d) corresponden a campo claro; (b) y (e) al contraste Z, y luego en (c) y (f) difracción de electrones las zonas indicadas en los círculos de las imágenes en (b) y (e) respectivamente.

Otra técnica empleada para el análisis de las partículas de MgO fue incidencia de ángulo rasante para dispersión de rayos X para ángulos grandes, denominada GIWAXS de los términos en inglés *grazing incidence wide angle X ray scattering*. El equipo GIWAXS empleado fue un XMI LAB equipado con un ánodo rotante Rigaku con una fuente altamente brillante de Fr-E+ operada a 2,5W, acoplado a un sistema CMF 15-105 (K α) de enfoque para altos flujos y una cámara SAXS/WAXS modelo SMAX3000.

Para la preparación de las muestras, se dejó caer una gota de la suspensión de Mg(OH)₂ sobre un vidrio portaobjeto, de manera análoga el proceso de modificación de los electrodos de TiO₂, luego se procedió a la sinterización a 530°C. Los análisis se desarrollaron a 0,04° de incidencia para obtener de la señal la máxima contribución del MgO depositado sobre el sustrato. La figura 4 presenta los patrones GIWAXS 2D y 1D, este último obtenido a través de la integración acimutal del primero. Se puede reconocer en la figura 4a un patrón difuso para valores de x e y = 2,5 Å⁻¹, pero a x e y = 3,0 Å⁻¹ claramente se presenta un anillo, este patrón típicamente corresponde a material conformado por islas. En la figura 4b en el rango de q entre 1,5 y 2,8 se presenta una banda ancha correspondiente a la señal procedente del sustrato, mientras que a q = 3Å se distingue claramente un pico asignado al MgO, característico de la reflexión (200) correspondiente a su estructura FCC.

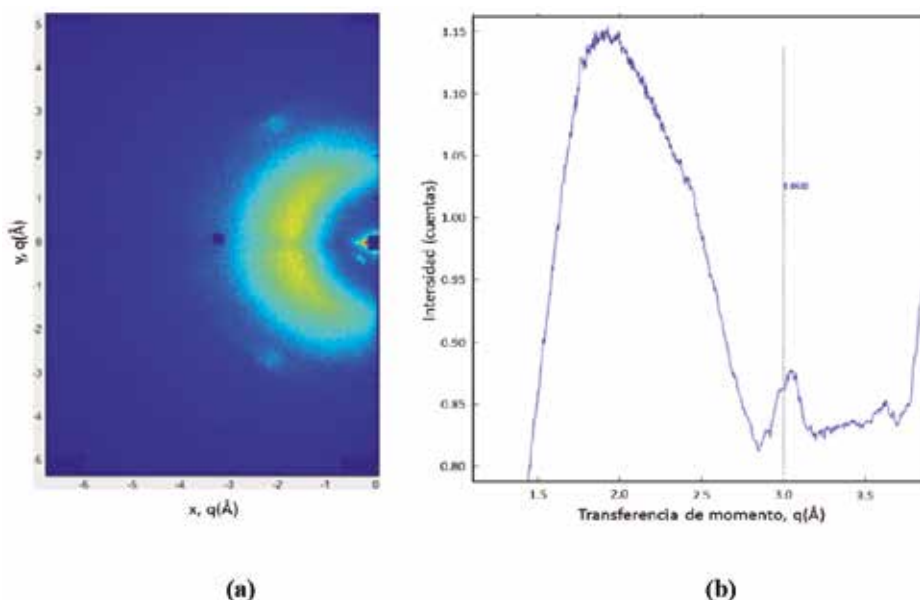


Figura 4. Patrones GIWAXS 2D (a) y 1D (b) para muestras de MgO depositadas sobre un sustrato de vidrio.

Eficiencia solar de las celdas construidas con electrodos de TiO_2 y TiO_2 - MgO

Las evaluaciones como celda solar para electrodos de trabajo modificados se realizó trabajando con suspensiones de $MgOH$ de diferentes concentraciones. La eficiencia de las celdas se midió en un montaje detallado anteriormente⁵, el cual estaba constituido por una fuente de iluminación de 250 W, un arreglo óptico y un sistema de adquisición de datos. Las medidas se llevaron a cabo a 1000 W/m^2 . La figura 5 muestra las curvas corriente-voltaje para las celdas fabricadas, no selladas, con suspensiones acuosas de $MgOH$ para concentraciones entre 0 y 10×10^{-6} M. Se observa claramente que el máximo de densidad de corriente en corto circuito (J_{sc}), aproximadamente 8 mA/cm^2 , se alcanzó para la celda fabricada con la suspensión $2,5 \times 10^{-6}$ M de $MgOH$. Para mayores concentraciones se observa una disminución de la corriente. Los valores de voltaje de circuito abierto (V_{oc}) para todas las celdas se encuentra en el rango entre 0,80 y 0,85 V.

Los valores de J_{sc} , V_{oc} , FF y eficiencia (η), se presentan en la tabla 1.

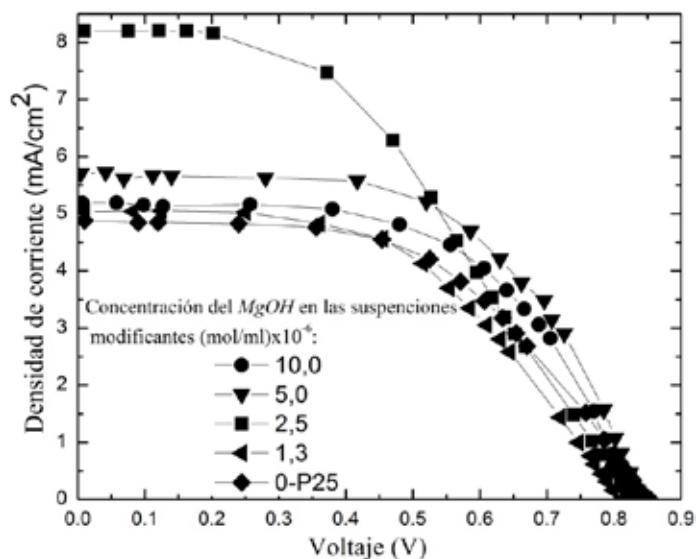


Figura 5. Curvas corriente-voltaje para celdas construidas con electrodos de trabajo TiO_2 - MgO para diferentes concentraciones de $MgOH$.

Tabla 1. Parámetros de funcionamiento de las celdas solares sensibilizadas modificadas y no modificadas para diferentes concentraciones de MgO .

Concentración de $MgOH$ (mol/ml) $\times 10^{-6}$	J_{sc} (mA/cm ²)	V_{oc} (V)	FF	η (%)
0 (P25)	4,8	0,9	0,5	2,2
1,3	5,0	0,8	0,5	2,1
2,5	8,2	0,8	0,4	3,0
5,0	5,7	0,8	0,6	2,8
10,0	5,2	0,8	0,6	2,5

Como se mencionó, un aspecto importante de este trabajo lo constituyó el proceso de sellado de las celdas, para ello se trabajó con el electrodo de trabajo fabricado a la concentración óptima de $2,5 \times 10^{-6}$ M de MgOH. La figura 6 muestra las curvas obtenidas para las celdas selladas, donde se observa que la celda con el electrodo óptimo modificado alcanza una corriente de corto circuito de $\sim 8,5$ mA/cm², este valor se mantiene casi constante hasta 400 V. La eficiencia para las celdas no modificadas fue de 2,6% mientras que para las celdas modificadas fue de 4,4%, valor que representó un incremento del 69%. Así, las celdas selladas permitieron alcanzar mayores valores de eficiencias y de tiempos de vida

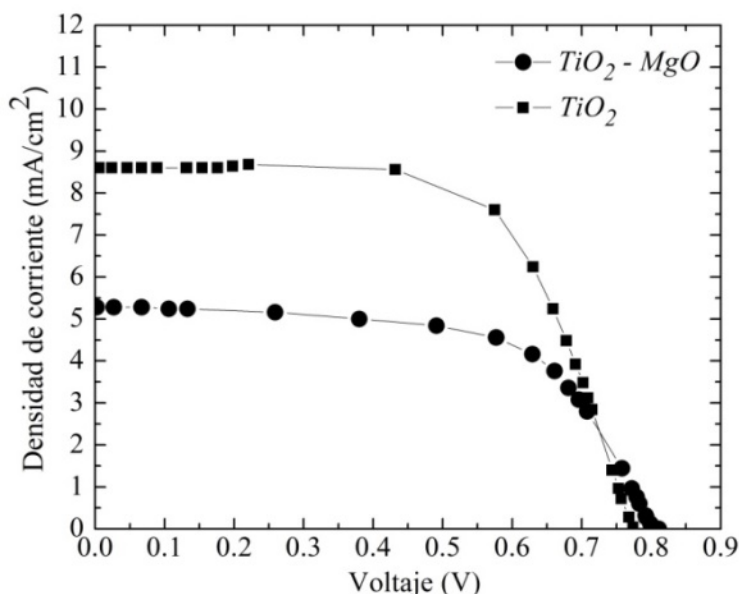


Figura 7. Eficiencia fotón incidente-electrón generado para electrodos de trabajo TiO_2 y TiO_2 -MgO óptimo.

Claramente, se observa que en todo el espectro analizado, la respuesta del electrodo modificado óptimo se incrementa hasta en 10% respecto de la respuesta del electrodo sin modificar.

Otro estudio ejecutado para los electrodos sin modificar y óptimo modificado fue el de voltametría cíclica desarrollado en un sistema redox acuoso de ferricianuro de potasio a una concentración de 0,01 M. Se usó como contraelectrodo un cable de Pt y como electrodo de referencia un electrodo $Ag/AgCl$ saturado. Las medidas se realizaron bajo iluminación empleando una lámpara Ultra-Vitalux Osram (220 V y 300 W) para un barrido de potencial de 50 mV/s en un rango de -300 a 800 mV. La figura 8 muestra los voltagramas obtenidos para los electrodos de TiO_2 y TiO_2 -MgO óptimo.

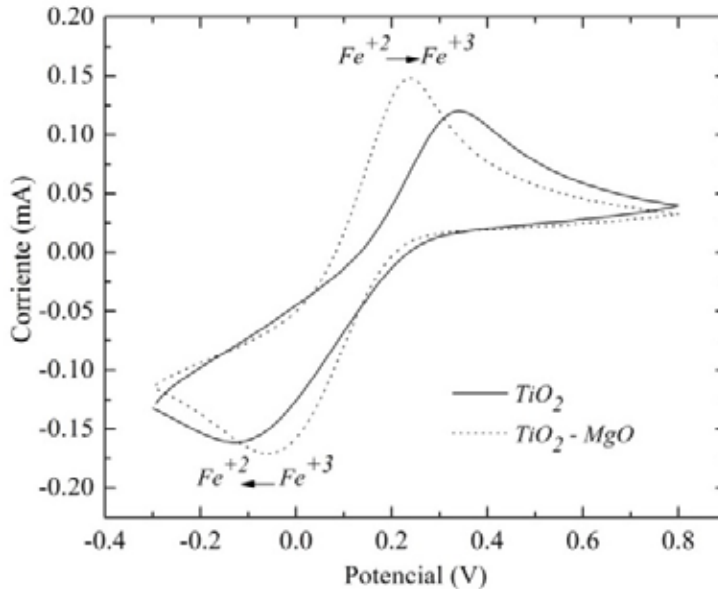


Figura 8. Voltametría cíclica para electrodos de trabajo TiO_2 y TiO_2-MgO óptimo.

Se observa que para el recubrimiento modificado óptimo el pico de oxidación del Fe^{+2} se desplaza a menores potenciales, mientras que el pico de reducción del Fe^{+3} lo hace a mayores valores de voltaje, lo que podría estar asociado a que la presencia del MgO facilitaría la transferencia de electrones en los procesos redox.

Dependencia de la eficiencia de una celda sellada de TiO_2-MgO con el tiempo

Los resultados de exponer una celda sellada a una irradiancia de 1000 W/m^2 se muestran en la figura 9. La celda recién sellada presentó una eficiencia de 5,7%; luego se mantuvo en oscuridad y se midió su eficiencia luego de dos días y fue de 4,9%. Después de 20 días mantenida en oscuridad, la eficiencia de la celda tuvo un valor de 4,7%. Lo que representó una disminución de la eficiencia del 19%. A partir del día 23 la celda se expuso a iluminación de forma ininterrumpida durante dos días y luego de ese lapso la eficiencia disminuyó hasta 1,1%, que correspondió a una disminución del 75% de la eficiencia. Para el día 26 nuevamente se apagó la iluminación y se mantuvo la celda en oscuridad durante dos días donde finalmente la eficiencia llegó a 0,8%.

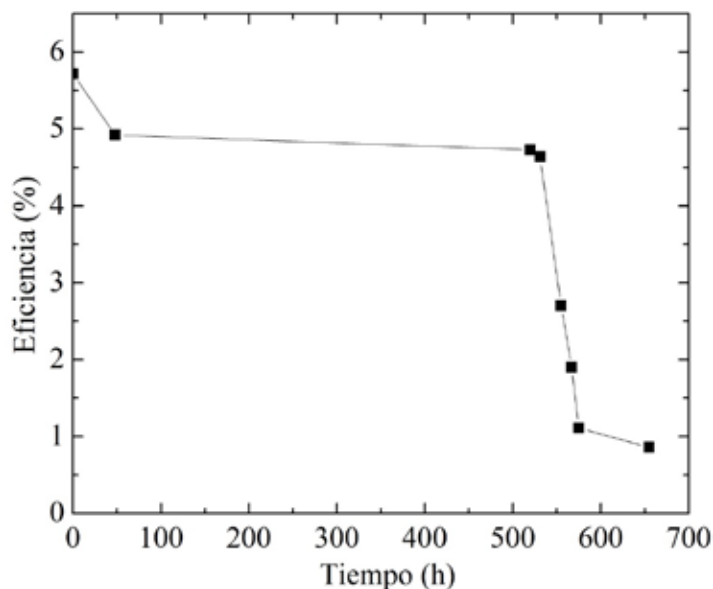


Figura 9. Eficiencia de la celda sellada modificada de TiO_2 - MgO en función del tiempo.

Estos resultados están en concordancia con la degradación observada en celdas similares¹². La disminución de la eficiencia está asociada básicamente a dos efectos: la descomposición del colorante y la evaporación del electrolito.

Dado que la banda prohibida del MgO corresponde a valores que aproximadamente se encuentran en $7eV$ ¹³, se postula que la transferencia de electrones desde el colorante al MgO se realiza por medio de efecto túnel, mecanismo planteado para otros óxidos⁴ con bandas prohibidas mayores al TiO_2 . No se espera que se presente mayor modificación del mecanismo de difusión de los electrones hasta el contacto posterior, una vez que alcanzan el TiO_2 . Estudios adicionales son necesarios para comprobar lo postulado, pero estos estudios no son objetivo del presente artículo.

CONCLUSIONES

Se fabricaron celdas solares empleando como electrodos de trabajo recubrimientos de TiO_2 y TiO_2 - MgO . La modificación superficial del TiO_2 se realizó usando suspensiones acuosas de MgO de diferentes concentraciones y se determinó que la mejor eficiencia para celdas no selladas se obtuvo para una concentración de la suspensión de $Mg(OH)_2$ igual a $2,5 \times 10^{-6}$ M, que dio un valor de eficiencia de 3% mayor al valor obtenido para una no modificada que fue de aproximadamente 2,2%, incrementándose en aproximadamente 36%. Las celdas selladas

presentaron mejores valores de eficiencia. La celda sellada y modificada alcanzó 4,4%, lo que representó un incremento del 69% con relación a la celda sellada no modificada.

Se identificó la presencia de Mg en el electrodo modificado en una cantidad de 149 ppm, sin embargo para aproximarse a la estructura y morfología que el MgO podría presentar en la celda, se determinaron las propiedades de este material en polvo, así como del material obtenido al depositar la suspensión de $Mg(OH)_2$ sobre un sustrato de vidrio. Ambos materiales fueron obtenidos empleando las mismas condiciones de sinterización que los electrodos modificados. Para el caso del estudio del polvo de MgO se halló un tamaño de dominio cristalino de ~ 16 nm con conglomerados cristalinos de ~ 200 nm de morfología laminar. Mientras que para el MgO depositado sobre vidrio se confirmó que presentó una texturización con orientación preferencial en la dirección (200), corroborando los datos obtenidos por DRX y TEM.

Dado que la aplicación del $Mg(OH)_2$ es superficial se espera que las partículas de MgO , formadas durante el proceso de sinterización, se ubiquen predominantemente en la superficie del electrodo, lo que disminuiría procesos de recombinación en la interface electrodo de trabajo-electrolito.

AGRADECIMIENTO

M.M.G. agradece al Instituto General de Investigación de la Universidad Nacional de Ingeniería (IGI-UNI) por la financiación individual recibida. Se agradece a NANOTECH (CIMAV-Chihuahua) por las facilidades brindadas en microscopía electrónica. Se agradece al Dr. Alcides López por el análisis de FRX. Este trabajo ha sido desarrollado gracias al auspicio recibido por CONCYTEC (Contratos 239-2011, 406-2012, 040-2013), y The World Academy of Sciences (TWAS).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lokhande AC, Chalapathy RBV, He M, Jo E, Gang M, Pawar SA, et al. Development of Cu_2SnS_3 (CTS) thin film solar cells by physical techniques: A status review. *Sol Energy Mat Sol Cells*. 2016; 153:84-107.
2. O'Regan BC, Grätzel M. A low-cost, high-efficiency solar cell based on dye-sensitized colloidal TiO_2 films. *Nature*. 1991; 353: 737-740.
3. Grätzel M. Dye-sensitized solar cells. *J Photochem Photobiol C: Photochem Rev*. 2003; 4(2):145-53.
4. Chou C-S, Lin Y-J, Yang R-Y, Liu K-H. Preparation of TiO_2/NiO composite particles and their applications in dye-sensitized solar cells. *Adv Powder Technol*. 2011; 22(1):31-42.
5. Galicia M, Solís JL, Gómez MM. Fabricación y caracterización de celdas solares sensibilizadas de TiO_2 modificado con nanopartículas de NiO. *Rev Soc Quim Perú*. 2016. 81(1): p. 87-99.

6. Chou C-S, Chou F-C, Kang J-Y. Preparation of ZnO-coated TiO₂ electrodes using dip coating and their applications in dye-sensitized solar cells. *Powder Tech.* 2012;215–216:38-45.
7. Senevirathna MKI, Pitigala PKDDP, Premalal EVA, Tennakone K, Kumara GRA, Konno A. Stability of the SnO₂/MgO dye-sensitized photoelectrochemical solar cell. *Sol Energ Mat Sol Cells.* 2007; 91(6):544-7.
8. Habibi MH, Parhizkar J. Cobalt ferrite nano-composite coated on glass by Doctor Blade method for photo-catalytic degradation of an azo textile dye Reactive Red 4: XRD, FESEM and DRS investigations. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2015; 150:879-85.
9. Martinez VC, Matejova L, López A, Cruz G, Solís J, Gómez M. Obtención de Partículas de TiO₂ por Sol-Gel, Asistido con Ultrasonido para Aplicaciones Fotocatalíticas. *Rev Soc Quím Perú.* 2015; 81(3): 201-211.
10. Young RA. *The Rietveld Method.* Oxford, New York: Oxford University Press; 1995. 312 p.
11. Stokes AR, Wilson AJC. A method of calculating the integral breadths of Debye-Scherrer lines. *Math Proc Camb Philos Soc.* 1942;38(3):313-22.
12. Nour-Mohhamadi F, Nguyen SD, Boschloo G, Hagfeldt A, Lund T. Determination of the light-induced degradation rate of the solar cell sensitizer N719 on TiO₂ nanocrystalline particles. *J Phys Chem B.* 1 de diciembre de 2005;109(47):22413-9.
13. Taurian OE, Springborg M, Christensen NE. Self-consistent electronic structures of MgO and SrO. *Solid State Commun.* 1985;55(4):351-5.

COMPUESTOS BIOACTIVOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE SEMILLAS DE QUINUA PERUANA (*Chenopodium quinoa* W.)

Zanhy Valencia^a, Fernando Cámara^a, Karina Ccapa^b, Policarpo Catacora^b, Fredy Quispe^b

RESUMEN

Se investigaron azúcares reductores, compuestos bioactivos y actividad antioxidante de 24 accesiones de quinua de la colección nacional del INIA Perú. Las semillas mostraron fenólicos totales entre 0,783 a 3,437 mg GAE/g, flavonoides totales entre 0,199 y 1,029 mg CE/g muestra, betacianinas y betaxantinas en cantidades no significativas, y azúcares reductores entre 30,973 y 88,278 equivalentes mg de glucosa/g muestra. La actividad antioxidante según DPPH y ABTS mostraron diferencias significativas entre las diferentes semillas de quinua estudiadas.

Palabras clave: Compuestos bioactivos, capacidad antioxidante, betalaínas, flavonoides.

BIOACTIVE COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY FROM PERUVIAN QUINOA SEEDS (*Chenopodium quinoa* W.)

ABSTRACT

We investigated reducing sugars, bioactive compounds and antioxidant activity of 24 accessions of quinoa of the national collection of INIA Peru. The seeds showed total phenolic between 0,783 to 3,437 mg GAE/g, total flavonoids between 0,199 and 1,029 mg CE/g sample, betacyanins and betaxanthins in amounts not significant and reducing sugars between 30,973 and 88,278 mg of glucose equivalent/g sample. The antioxidant activity by DPPH and ABTS showed significant differences between different quinoa seeds studied.

Key words: Bioactive compounds, antioxidant activity, betalains, flavonoids.

INTRODUCCIÓN

La región de los Andes, cuna de las grandes civilizaciones como la Tiahuanacota y la Incaica es considerada centro de origen de muchas especies nativas como la quinua (*Chenopodium*

^a Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos Universidad de Córdoba, Carretera N-IV, Km 396, 14014 Córdoba, España email: zanhyvr@hotmail.com

^b Instituto Nacional de Innovación Agraria – INIA, Av. La Molina 1981 Lima, Perú

quinoa W.), se cultivó durante miles de años y fue el principal alimento de las culturas antiguas de los Andes, por lo que está distribuido en diferentes zonas agroecológicas de la región, en la actualidad la quinua se encuentra en franco proceso de expansión porque representa un gran potencial para mejorar las condiciones de vida de la población de los Andes y del mundo moderno¹. La composición nutricional de la quinua y sus compuestos bioactivos como los fenólicos y betalainas pueden diferir según los ecotipos (grupos de cultivares definidos de acuerdo a su distribución, ecológica, agronómica y morfológica)². Los polifenoles, incluyendo los ácidos fenólicos, flavonoides y taninos, son compuestos bioactivos que hacen que los metabolitos secundarios de la planta contribuyan a diversas actividades fisiológicas antimicrobianas, antiinflamatorias, antitumorales y efectos anticancerígenos. Este beneficio fitoquímico, muy significativo, difiere en los diferentes cultivares de la misma planta³. Aparte de los macronutrientes, los estudios en quinua están enfocados en sus compuestos bioactivos de naturaleza hidrofílica como los ácidos fenólicos, flavonoides, actividad antioxidante y su potencial beneficio para la salud³. Por tal motivo el presente estudio tiene por objetivos determinar las diferencias entre compuestos bioactivos y actividad antioxidante de las semillas estudiadas e identificar accesiones con buenas características, para que así sean explotadas para el mejoramiento de la quinua.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales y reactivos

Semillas correspondientes a 24 accesiones de la Colección Nacional de Quinua del Instituto Nacional de Innovación Agraria Perú (B381, A114, A121, A122, A123, A124, A134, A142, A163, A174, A182, A221, A222, A231, A232, A243, A262, A263, A264, A282, A291, A131, A322, A331) se evaluaron en la investigación. Todos los reactivos y solventes fueron de grado analítico de las marcas Merck y Sigma Chemical Co.

Métodos

Humedad

Muestras molidas ($\varnothing < 0,5$ mm) de las diferentes accesiones de quinua se evaluaron en el equipo Mettler Toledo (USA)⁴.

Azúcares reductores

Los azúcares reductores se determinaron según el método del ácido dinitrosalísílico (DNS) según Najmus⁵, con algunas modificaciones: 0,2 mL del extracto acuoso de las muestras se mezclaron con 0,8 mL del reactivo DNS y la solución resultante se calentó en baño María a 100 °C por 15 min, después del tiempo señalado la solución se enfrió y se agregaron 5 mL de agua destilada para su evaluación, finalmente se midió la absorbancia en el espectrofotómetro UV-Vis (SPEKOL 1500, Alemania) a una longitud de onda a 540 nm, y los azúcares reductores se obtuvieron a partir de una curva de calibración de glucosa entre los 100 y 1000 mg/L ($r^2=0,9933$, $y=0,0002x - 0,0288$).

Preparación de los extractos

Los extractos de EtOH-H₂O (1:1) para el análisis de compuestos fenólicos totales, actividad AA, flavonoides y betalainas se prepararon de la siguiente manera: alrededor de 100 mg de muestra molida ($\varnothing < 0,5$ mm) se extrajeron con 10 mL de solución hidroalcohólica durante 12 horas a 4 °C por maceración, posteriormente los extractos se filtraron a través de un filtro de membrana de 0,45 μ m para su análisis. Adicionalmente, 100 mg de muestra molida se extrajeron con 5 mL de solución MeOH:H₂O (2:1) durante 60 minutos a 50 °C, los extractos se filtraron a través de un filtro de membrana de 0,45 μ m y se enrazaron a un volumen de 10 mL con la misma solución, para su análisis. Para azúcares reductores, se utilizaron las mismas condiciones de extracción utilizando agua como solvente y una centrifugación adicional a 13000 rpm durante 30 min a 5 °C, el sobrenadante se almacenó a 4 °C hasta su evaluación.

Fenólicos totales

Los compuestos fenólicos totales se determinaron según Dini⁶ y Quispe⁷: 0,1 mL del extracto se mezcló con 7,9 mL H₂O destilada y 0,5 mL del reactivo de Folin Ciocalteu, se agitó y después se agregó 1,5 mL de Na₂CO₃ al 20%, la solución se dejó en reposo 2 horas y al finalizar el tiempo se midió la absorbancia a 765 nm en el espectrofotómetro UV-Vis (SPEKOL 1500, Alemania). Los fenólicos totales se expresaron como equivalentes mg de ácido gálico GAE/g, a partir de una curva de calibración ($r^2=0,9999$, $y=0,0011x$).

Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante de las diferentes muestras se evaluaron según 1,1-difenilo-2-picril-hidrazilo (DPPH) y 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico) (ABTS). Para DPPH en resumen: 0,3 mL de extracto hidroalcohólico (1:1) se mezcló con 2,7 mL de solución EtOH de DPPH, se agitó y dejó en reposo por 30 min, al término de los cuales se midió la absorbancia a 517 nm en el espectrofotómetro UV-Vis (SPEKOL 1500, Alemania), la capacidad antioxidante se reportó como equivalentes mg de ácido gálico (GAE)/g muestra, a partir de una curva de calibración del % de inhibición vs ácido gálico, ($r^2=0,999$, $y=4,6937x$)⁸; en el caso de expresar la capacidad antioxidante como equivalentes Trolox, los extractos EtOH-H₂O (1:1) y MeOH-H₂O (2:1), se hizo reaccionar con la solución EtOH de Trolox preparado entre 5 y 47 mg/L, los que se graficaron con la diferencia de absorbancia obtenida para el DPPH, ($r^2=0,9997$, $y=0,009x$ para los extractos EtOH-H₂O; $r^2=0,9981$, $y=0,0111x$ para los extractos MeOH-H₂O (2:1)), y los resultados de actividad antioxidante se expresó como μ mol Trolox/100 g muestra. En el caso del ABTS, el reactivo se disolvió en agua a una concentración de 7 mM y el radical se produce por la adición de persulfato de potasio 2,45 mM, después de tiempos de reposo bajo oscuridad entre 12 a 16 horas, la solución se diluyó hasta una absorbancia de 0,7 (+ 0,02) a 734 nm antes de su uso; para la evaluación de la actividad antioxidante 300 μ L de cada extracto se mezclaron con 3 mL de solución de ABTS, la mezcla se dejó en reposo por 7 min en la oscuridad, al término de los cuales se midió la absorbancia a 734 nm en el espectrofotómetro UV-Vis (SPEKOL 1500, Alemania) y la capacidad antioxidante se reportó como equivalentes μ mol Trolox/100 g muestra (TEAC) a partir de curvas de calibración para los extractos EtOH-H₂O (1:1) ($r^2=0,9993$, $y=0,012x$) y MeOH-H₂O (2:1), ($r^2=0,9991$, $y=0,0113x$)⁹.

Flavonoides totales

Los flavonoides totales se midieron según Dini⁶, para lo cual 0,5 mL del extracto EtOH-H₂O (1:1) de la muestra se mezclaron con 2 mL H₂O destilada y 0,15 mL de NaNO₂ (5 g/100 mL), después de 5 min se agregó 0,15 mL de solución acuosa de AlCl₃ (10 g/100 mL), y luego de 6 minutos se mezcló con 1 mL de NaOH (1 N), finalmente la solución se enrasó con 1,2 mL de H₂O destilada a 5 mL, se agitó la solución. La concentración de flavonoides totales se determinó a partir de la absorbancia de la solución a 510 nm en el espectrofotómetro UV-Vis (SPEKOL 1500, Alemania) se expresó como mg equivalente de catequina/g de muestra, a partir de una curva de calibración utilizando catequina como estándar entre 20 y 100 mg/L ($r^2=0,9995$, $y=0,0032x$).

Betalainas

Las betalainas se determinaron según von Elbe¹⁰, con algunas modificaciones: 0,2 g de la muestra se extrajo con 10 mL de buffer fosfato a pH 6,5, la mezcla se agitó 2 horas a temperatura ambiente y oscuridad, al finalizar el tiempo señalado, las muestras se centrifugaron a 13000 rpm a la temperatura de 5 °C por 30 minutos, finalmente se midieron las absorbancias de las muestras a 538, 476 y 600 nm en el espectrofotómetro UV-Vis (SPEKOL 1500, Alemania) y la determinación de betacianinas y betaxantinas resulta de reemplazar los valores de absorbancia en las expresiones: $x = 1,095(a-c)$, $y = b-z-x/3$, 1 y $z = a-x$; donde: a = absorbancia a 538 nm, b = absorbancia a 476 nm, c = absorbancia a 600 nm, x = absorbancia debido a betacianina, y = absorbancia debido a betaxantinas, y z = absorbancia debido a impurezas.

Análisis estadístico

Los datos se reportaron como media \pm desviación estándar. El software estadístico Infostat Versión 2015 se utilizó para el análisis estadístico de los datos experimentales. El análisis de varianza de un factor de variabilidad y prueba de significancia de Tukey ($p \leq 0,05$) se utilizó dentro del análisis estadístico¹¹.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de las 24 accesiones de quinua, se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Humedad, azúcares reductores, compuestos fenólicos, flavonoides, betacianinas y betaxantinas de las muestras de quinua.

Código Accesión	Humedad (%) **	Azúcares reductores (mg/g) ***	Compuestos fenólicos (GAE mg/g) **	Flavonoides totales (mg/g) **	Betacianinas (mg/100g) **	Betaxantinas (mg/100g) **
B381	8,81 ± 0,13	30,973 ± 0,570	2,739 ± 0,052	0,336 ± 0,188	0,278 ± 0,025	1,139 ± 0,060
A114	8,75 ± 0,06	75,848 ± 2,402	2,873 ± 0,138	0,321 ± 0,229	0,628 ± 0,003	7,552 ± 0,133
A121	8,54 ± 0,18	47,393 ± 0,143	2,537 ± 0,145	0,645 ± 0,076	0,449 ± 0,029	5,009 ± 0,015
A122	8,40 ± 0,11	38,205 ± 1,211	2,229 ± 0,000	0,664 ± 0,075	0,470 ± 0,021	4,983 ± 0,064
A123	8,27 ± 0,17	69,198 ± 0,885	0,783 ± 0,052	0,554 ± 0,152	0,500 ± 0,028	4,677 ± 0,097
A124	8,52 ± 0,13	66,614 ± 0,742	3,327 ± 0,181	1,029 ± 0,172	0,883 ± 0,028	13,760 ± 0,339
A134	9,05 ± 0,02	58,895 ± 1,779	2,537 ± 0,114	0,931 ± 0,164	0,738 ± 0,029	8,426 ± 0,114
A142	8,91 ± 0,19	61,996 ± 3,162	2,712 ± 0,091	0,922 ± 0,154	0,584 ± 0,023	6,105 ± 0,039
A163	8,89 ± 0,21	64,614 ± 0,943	1,414 ± 1,245	0,393 ± 0,103	0,359 ± 0,028	1,732 ± 0,139
A174	9,51 ± 0,24	71,461 ± 2,413	2,183 ± 0,069	0,295 ± 0,086	0,592 ± 0,029	7,138 ± 0,124
A182	8,97 ± 0,12	55,268 ± 1,112	2,300 ± 0,024	0,241 ± 0,045	0,545 ± 0,018	6,814 ± 0,286
A221	8,66 ± 0,108	55,951 ± 1,756	2,678 ± 0,227	0,305 ± 0,029	0,618 ± 0,023	7,505 ± 0,188
A222	8,26 ± 0,17	65,898 ± 0,515	2,591 ± 0,093	0,378 ± 0,026	0,377 ± 0,126	3,181 ± 0,280
A231	8,47 ± 0,08	85,755 ± 1,377	3,437 ± 0,267	0,330 ± 0,028	0,597 ± 0,028	5,428 ± 0,059
A232	8,83 ± 0,11	88,278 ± 2,401	3,013 ± 0,137	0,354 ± 0,049	0,582 ± 0,023	6,871 ± 0,023
A243	8,68 ± 0,28	83,671 ± 3,553	2,657 ± 0,169	0,368 ± 0,070	0,585 ± 0,002	8,364 ± 0,134
A262	8,73 ± 0,19	59,607 ± 0,719	2,649 ± 0,062	0,229 ± 0,052	0,308 ± 0,028	2,997 ± 0,028
A263	8,29 ± 0,35	54,773 ± 1,328	2,910 ± 0,219	0,275 ± 0,000	0,381 ± 0,037	3,604 ± 0,116
A264	8,65 ± 0,33	54,860 ± 0,130	2,332 ± 0,100	0,244 ± 0,055	0,388 ± 0,002	4,201 ± 0,015
A282	8,72 ± 0,08	56,569 ± 2,202	2,577 ± 0,164	0,199 ± 0,119	0,293 ± 0,023	2,340 ± 0,162
A291	8,24 ± 0,16	39,496 ± 28,054	2,320 ± 0,284	0,308 ± 0,081	0,445 ± 0,048	5,224 ± 0,324
A313	8,38 ± 0,17	70,474 ± 1,472	2,728 ± 0,249	0,296 ± 0,047	0,361 ± 0,028	2,513 ± 0,067
A322	8,42 ± 0,18	61,990 ± 2,312	2,187 ± 0,157	0,298 ± 0,065	0,339 ± 0,000	2,718 ± 0,073
A331	8,41 ± 0,21	52,758 ± 2,488	2,488 ± 0,068	0,353 ± 0,098	0,301 ± 0,025	1,239 ± 0,042

** : Indican significancia a $p < 0,01$ valores promedio de 3 repeticiones \pm desviación estándar.

*** Los valores de azúcares reductores se expresan como equivalentes de glucosa. Los valores de compuestos fenólicos como equivalentes de ácido gálico, GAE. Los valores de flavonoides totales se expresan como equivalentes mg de catequina.

Humedad

Los valores de humedad de las muestras de quinua se encontraron entre 8,24 y 9,51%, el análisis de varianza muestra diferencias altamente significativas con $p < 0,01$ para las 24 muestras. Stikic¹² en la investigación sobre aspectos agronómicos y nutricionales de semillas de quinua reportó valores similares para las muestras utilizadas en la preparación de formulaciones de pan. Por su parte, Repo-Carrasco¹³ en la investigación de granos andinos reportaron valores entre 8,26 y 11,51% para las semillas de quinua, similares a los encontrados en la investigación para las accesiones.

Azúcares reductores

Los azúcares son los responsables del dulzor en los alimentos y para la quinua su presencia afecta sensorialmente su aceptación entre los consumidores, así como asegura en las semillas un suministro importante de energía para los procesos de germinación¹⁴. En la investigación, los resultados en las 24 accesiones revelaron diferencias altamente significativas con $p < 0,01$ encontrándose sus valores entre los 30,973 y 88,278 mg/g de muestra, sobresaliendo la accesión A232. Miranda¹⁵, en la investigación sobre el impacto del secado en las propiedades nutricionales, compuestos fenólicos y actividad antioxidante de las semillas de quinua de Chile, reveló valores cercanos a 15 mg/g para sacarosa y alrededor de 12 mg/g para la glucosa y valores cercanos a 5 mg/g para fructosa en los experimentos de secado entre 20 y 60 °C, siendo en todos los casos inferiores a los encontrados en la investigación. Por su parte, Ranhotra¹⁶, en la investigación sobre la composición nutricional, proteínas, minerales, almidón y otros nutrientes en granos perlados del cultivar D407 del Valle de Colorado en Estados Unidos, reportó valores de 27 mg/g para los azúcares, siendo este ligeramente inferior a los encontrados en la investigación, que identifica semillas con dulzores en equivalentes de glucosa que sobrepasan los 80 mg/g, y cuyas diferencias se deben a las condiciones medioambientales de las zonas de producción, que para el caso de las accesiones corresponden al Altiplano peruano.

Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos representan un numeroso grupo de moléculas ampliamente distribuidas en la naturaleza, son componentes importantes de la dieta, y numerosas investigaciones, hoy en día, describen su importancia para la prevención de varias enfermedades y desórdenes fisiológicos, derivados de su estructura química. Su evaluación dentro de las accesiones de quinua se encontraron entre 0,783 y 3,437 mg GAE/g de muestra, sobresaliendo la accesión A231, el análisis de varianza y prueba de significancia de Tukey, muestra diferencias altamente significativas con $p < 0,01$ para las diferentes accesiones conservadas bajo condiciones del Altiplano peruano. Abderrahim², en la investigación sobre compuestos fenólicos, betalainas y capacidad antioxidante para quinuas de color del Altiplano peruano, reportó contenidos de fenólicos libres entre 1,23 y 3,41 mg GAE/g de muestra, inferiores a los encontrados en la investigación y contenidos de 1,89 y 4,52 mg GAE/g de muestra para los fenólicos enlazados, cuyos valores para varias muestras fueron superiores a los hallados en la investigación; diferencia que se explica por la metodología de extracción que contempló medio ácido para los fenólicos libres y enlazados y los tiempos utilizados para su extracción. Por su parte, Dinió reportó, para las quinuas dulces del Ecuador y amargas del

Perú, valores de 8,64 mg GAE/g en quinuas amargas y 7,72 mg GAE/g en quinuas dulces, superiores a los presentados en la investigación. Miranda¹⁷, en la investigación de seis ecotipos de quinua en tres zonas de Chile, reportó valores entre 0,142 y 0,655 mg GAE/g; mientras que Tang³, en la investigación de ecotipos de quinua de color blanco, rojo y negro en Ontario, Canadá, presentó contenidos entre 2 y 3 mg GAE/g para el ecotipo blanco en las fracciones FP (fenólicos libres) y BHP (fenólicos hidrolizables en medio básico); sin embargo, para los ecotipos rojo y negro, los contenidos de fenólicos fueron superiores a los encontrados en la investigación para las accesiones evaluadas.

Flavonoides

Los flavonoides se describen como compuestos de naturaleza fenólica de bajo peso molecular, que incluyen dentro de su estructura el esqueleto C₆-C₃-C₆, dos anillos aromáticos unidos por un anillo heterocíclico pirano, presentan diferentes actividades biológicas debido a la diversidad de patrones de sustitución y variaciones de sus anillos, se clasifican como: 2-fenilbezopiranos, isoflavonoides, neoflavonoides, y flavonoides menores como las chalconas y auronas¹⁸. La evaluación de estos componentes activos, dentro las accesiones de quinua, revela contenidos que van desde los 0,119 equivalentes mg de catequina/g hasta los 1,029 equivalentes mg de catequina/g, sobresaliendo la accesión A124. El análisis de varianza y prueba de significancia de Tukey muestran diferencias altamente significativas con $p < 0.01$ para las diferentes accesiones conservadas bajo condiciones del Altiplano peruano, indicando diferentes capacidades a nivel genético para expresar estos componentes activos. Tang³, en la investigación de los ecotipos blanco, rojo y negro de quinuas del Canadá, reportó valores cercanos a los 0,5 equivalentes miligramo de catequina/g para las fracciones de FP y BHP, indicando los investigadores que estos componentes activos constituyen una pequeña cantidad de los compuestos fenólicos presentes en las semillas, y cuyos contenidos se encuentran dentro de los presentados en la investigación para las 24 accesiones de color blanco, en cuanto a los ecotipos rojo y negro, estos presentaron contenidos superiores a los presentados en la investigación para las fracciones FP y BHP (cerca de 1,5 equivalentes mg de catequina/g muestra). Por su parte, Repo-Carrasco¹³, en la investigación de flavonoides y otros compuestos fenólicos en variedades de granos andinos peruanos de quinua, cañihua y kiwicha, reportó valores entre 0,362 y 1,443 mg/g, para los materiales estudiados y donde los flavonoides quercetina, kaempferol, miricetina e isorhamnetina estuvieron presentes.

Betalainas

Las betalainas son compuestos nitrogenados solubles en medio acuoso de acuerdo a su estructura química, estos pigmentos pueden subdividirse como betacianinas de color rojo-violeta con máximos de absorción visible en 540 nm, o como betaxantinas de color amarillo con máximos de absorción visible en 480 nm.

Químicamente, las betalainas son alcaloides derivados de la tirosina que pueden ser de dos tipos: las betacianinas (b) que son de color rojo-violáceo y las betaxantinas (c) anaranjadas amarillentas, ambas con el núcleo fundamental del ácido betalámico (a).

El ácido betalámico (a) es el cromóforo común a todos los pigmentos betalámicos; las betacianinas tienen un residuo ciclo-DOPA mientras que las betaxantinas tienen aminoácidos

o aminas adicionadas en dicha posición. Las betacianinas son glicósidos mayormente de la betanidina. Tal como se muestra en la figura 1.

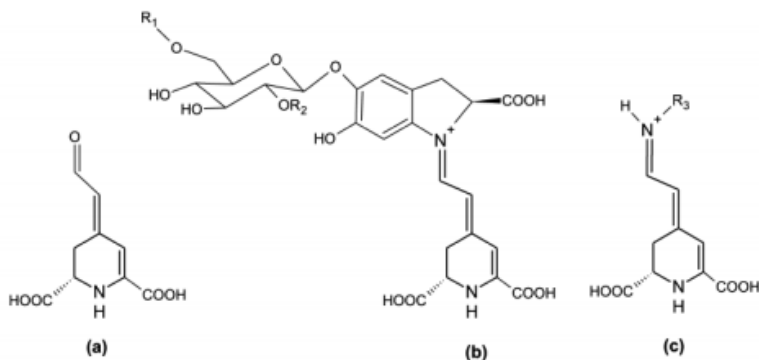


Figura 1. Estructuras químicas del ácido betalámico (a), betacianinas (b) y betaxantinas (c)

Su evaluación en las accesiones de quinua reveló valores de betacianinas entre 0,278 y 0,883 mg/100 g, y para las betaxantinas entre 1,139 y 13,760 mg/100 g, sobresaliendo en ambos casos la accesión A124. El análisis de varianza y prueba de significancia de Tukey para los resultados de betalainas en las diferentes muestras reveló diferencias altamente significativas con $p < 0.01$ para las diferentes accesiones, lo que significa una alta diversidad de estos componentes activos dentro del material conservado bajo condiciones del Altiplano peruano. Abderrahim², en el estudio de 13 ecotipos rojos y rosados de quinua del Altiplano peruano, encontró valores superiores de betacianinas (0,15 – 5,23 mg/100 g) a los presentados en la investigación, mientras que los valores de betaxantinas fueron inferiores a los encontrados en la investigación (0,00 – 1,63 mg/100 g), confirmando los valores experimentales de la investigación para los ecotipos de color blanco.

Capacidad antioxidante

Actualmente diferentes métodos se han introducido para medir la capacidad antioxidante de alimentos y muestras de origen natural. El concepto que originalmente se definió en química posteriormente se adoptó por la biología, la medicina, la epidemiología, la nutrición, entre otras ciencias; y este describe la habilidad de moléculas de origen natural o sintético para intervenir en procesos redox que estabilicen radicales libres, en ese sentido, beneficios saludables se observan por su consumo¹⁹.

En alimentos, ensayos del (Acido2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico) (ABTS), (1,1-difenil-2-picril hidrazilo) (DPPH), Capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC), o de la Capacidad férrica de reducción del plasma (FRAP), se utilizan extensivamente y la habilidad de los antioxidantes se monitorean espectrofotométricamente cuando se expresa la capacidad antioxidante en equivalentes Trolox (TEAC), equivalentes de vitamina C (VCEAC), o como equivalentes de ácido gálico (GAE)²⁰. En la investigación, la

capacidad antioxidante de las 24 accesiones de quinua según DPPH y ABTS, utilizando los extractos EtOH-H₂O (1:1) y MeOH-H₂O (2:1), expresados según equivalentes de ácido gálico (GAE) o equivalentes Trolox (TEAC), la tabla 2 muestra diferencias altamente significativas con $p < 0.01$ entre las diferentes muestras.

Tabla 2. Actividad antioxidante de las 24 accesiones de quinua según DPPH y ABTS

Código Accesión	Actividad Antioxidante según DPPH			Actividad Antioxidante según ABTS	
	(mg equivalente de ácido gálico GAE/ 100 g) **	MeOH-H ₂ O (2:1) (Trolox μmol/100 g) **	EtOH-H ₂ O (1:1) (Trolox μmol/100 g) **	MeOH-H ₂ O (2:1) (Trolox μmol/100 g) **	EtOH-H ₂ O (1:1) (Trolox μmol/100 g) **
B381	66,312 ± 0,021	511,888 ± 39,588	637,369 ± 18,265	1083,420 ± 58,148	916,496 ± 7,988
A114	55,683 ± 0,022	550,616 ± 3,277	709,056 ± 4,280	1456,852 ± 36,777	1312,244 ± 8,601
A121	67,739 ± 0,018	668,945 ± 19,797	807,484 ± 51,878	1374,606 ± 28,258	1217,648 ± 7,271
A122	55,402 ± 0,020	533,261 ± 48,465	760,554 ± 21,462	1067,399 ± 143,945	978,679 ± 16,763
A123	15,960 ± 0,013	972,875 ± 53,896	1195,746 ± 18,086	1699,126 ± 48,175	1481,363 ± 13,146
A124	81,851 ± 0,001	611,383 ± 19,803	711,659 ± 17,619	1835,784 ± 69,060	1507,938 ± 30,316
A134	48,037 ± 0,047	621,963 ± 39,678	767,740 ± 13,681	1550,885 ± 39,614	1229,184 ± 17,745
A142	53,366 ± 0,023	584,205 ± 96,839	683,597 ± 13,654	1535,630 ± 206,336	1261,218 ± 27,701
A163	58,813 ± 0,015	482,883 ± 55,048	621,956 ± 9,908	1154,960 ± 92,205	884,050 ± 8,400
A174	40,772 ± 0,071	566,291 ± 119,200	679,626 ± 7,430	1440,688 ± 288,625	1193,602 ± 9,088
A182	46,774 ± 0,015	520,557 ± 47,117	623,491 ± 11,598	1477,112 ± 30,229	1123,443 ± 12,214
A221	53,671 ± 0,012	570,711 ± 10,680	709,780 ± 10,197	1660,205 ± 90,000	1243,487 ± 6,834
A222	55,850 ± 0,095	532,143 ± 37,748	729,441 ± 14,148	1036,549 ± 137,924	986,307 ± 7,255
A231	49,310 ± 0,024	474,215 ± 17,545	657,858 ± 6,161	1312,406 ± 21,746	1212,242 ± 6,562
A232	52,272 ± 0,041	475,493 ± 28,102	696,585 ± 7,719	1245,006 ± 215,591	1194,501 ± 14,985
A243	46,563 ± 0,025	483,368 ± 9,813	643,041 ± 11,249	1224,858 ± 65,419	1077,280 ± 8,450
A262	56,409 ± 0,006	558,233 ± 27,308	697,989 ± 3,363	1122,087 ± 101,242	895,788 ± 16,729
A263	54,935 ± 0,031	538,184 ± 22,224	735,060 ± 15,316	1083,805 ± 18,133	928,507 ± 17,371
A264	70,233 ± 0,020	683,746 ± 14,450	791,403 ± 10,770	1368,399 ± 48,262	1065,087 ± 6,395
A282	49,670 ± 0,055	570,269 ± 16,073	486,080 ± 3,572	1212,965 ± 30,197	878,444 ± 23,482
A291	56,054 ± 0,013	528,280 ± 37,219	525,398 ± 8,364	1330,621 ± 57,013	1056,143 ± 34,274
A313	44,953 ± 0,009	550,316 ± 19,198	521,644 ± 5,462	1412,472 ± 54,852	1017,935 ± 12,551
A322	54,072 ± 0,019	611,525 ± 97,303	586,178 ± 4,012	1376,976 ± 132,593	1071,643 ± 14,699
A331	52,195 ± 0,030	579,909 ± 30,177	602,531 ± 8,448	1373,555 ± 41,764	966,700 ± 11,671

** : Indican significancia a $p < 0,01$., valores promedio de 4 repeticiones ± desviación estándar.

En el caso de capacidad antioxidante según DPPH en GAE de los extractos EtOH-H₂O (1:1) se observaron valores entre 40,772 y 81,851 mg GAE/100 g; mientras que como TEAC los valores estuvieron entre los 486,080 y 1195,746 equivalentes de Trolox $\mu\text{mol}/100\text{ g}$, sobresaliendo la accesión A123, y cuya capacidad coincidió con la capacidad antioxidante del extracto MeOH-H₂O (2:1) según DPPH y expresado como TEAC, Fischer⁸ en la investigación sobre la capacidad antioxidante de variedades chilenas de quinua sometidas a diferentes condiciones de estrés hídrico encontraron valores entre 320 y 510 mg GAE/100 g para el genotipo AG 2010, superiores a los genotipos Regalona y B080; estos resultados muestran un efecto positivo del estrés hídrico sobre la expresión de metabolitos responsables de la capacidad antioxidante, los que fueron significativamente superiores a los encontrados en la investigación. Por su parte Tang³, en la investigación de quinuas blanca, roja y negra en diferentes fracciones de extracción de fenólicos libres, (FP), fenólicos libres en medio básico (BHP) y fenólicos hidrolizables de naturaleza ácida (AHP) según DPPH en TEAC, reportó valores entre los 600 y 1100 $\mu\text{mol Trolox}/100\text{ g}$, para los FP, BHP y AHP en los ecotipos estudiados y los que concuerdan con los valores hallados en la investigación para las 24 accesiones de quinua blanca; sin embargo, para los ecotipos de colores, como el negro, los valores alcanzaron los 1400 $\mu\text{mol Trolox}/100\text{ g}$ en la fracción AHP, donde las condiciones de extracción fueron en medio ácido. Por su parte, Hirose²¹, en la investigación de las propiedades antioxidantes de las semillas de quinua cultivadas en Japón, reporta valores entre 502 y 950 $\mu\text{mol Trolox}/100\text{ g}$, que se encontraron dentro de los valores presentados en la investigación para los extractos MeOH-H₂O (2:1) y EtOH-H₂O (1:1). Dini⁶, al evaluar el efecto de la cocción sobre los ecotipos dulces y amargos de semillas de quinua, determinó el efecto negativo de la cocción sobre las semillas, los valores encontrados por los investigadores estuvieron según DPPH entre 287 y 670 $\mu\text{mol Trolox}/100\text{ g}$, los que fueron inferiores a los presentados en las 24 accesiones del INIA. Para el caso de la actividad antioxidante, según ABTS, se prepararon extractos MeOH-H₂O (2:1) y EtOH-H₂O (1:1) y evaluó la capacidad antioxidante en TEAC, tabla 2, los resultados muestran valores entre los 1036,549 y 1835,784 $\mu\text{mol Trolox}/100\text{ g}$ para MeOH-H₂O (2:1), y 878,444 y 1507,938 $\mu\text{mol Trolox}/100\text{ g}$ para el extracto EtOH-H₂O (1:1), sobresaliendo en ambos extractos la accesión A124.

Con respecto a las relaciones que existen entre las evaluaciones de capacidad antioxidante, según DPPH y ABTS, de los diferentes extractos de las accesiones y la forma como estos se expresan en GAE o TEAC, así como con los fenólicos y flavonoides, en la tabla 3 se presentan análisis de correlación según Pearson.

Tabla 3. Coeficientes de correlación de Pearson entre las mediciones de capacidad antioxidante según DPPH y ABTS, compuestos fenólicos y flavonoides.

	DPPH (1:1 GAE)	DPPH (1:1 TEAC)	ABTS (1:1 TEAC)	DPPH (2:1 TEAC)	ABTS (2:1 TEAC)	Fenólicos	Flavonoides
DPPH (1:1 GAE)	1,00	-0,35	-0,14	-0,39	-0,12	0,54	0,20
DPPH (1:1 TEAC)	-0,35	1,00	0,55	0,79	0,31	-0,46	0,35
ABTS (1:1 TEAC)	-0,14	0,55	1,00	0,51	0,85	0,02	0,57
DPPH (2:1 TEAC)	-0,39	0,79	0,51	1,00	0,53	-0,59	0,28
ABTS(2:1 TEAC)	-0,12	0,31	0,85	0,53	1,00	-0,06	0,48
Fenólicos	0,54	-0,46	0,02	-0,59	-0,06	1,00	0,06
Flavonoides	0,20	0,35	0,57	0,28	0,48	0,06	1,00

DPPH (1:1 GAE): representa actividad antioxidante de extractos EtOH-H₂O (1:1) según DPPH expresado como equivalentes de ácido gálico (GAE). DPPH (1:1 TEAC): representa la actividad antioxidante de extractos EtOH-H₂O (1:1) según DPPH en equivalentes Trolox. ABTS (1:1 TEAC): representa la actividad antioxidante de extractos EtOH-H₂O (1:1) según ABTS en equivalentes Trolox. DPPH (2:1 TEAC): representa la actividad antioxidante de extractos MeOH-H₂O (2:1) según DPPH en equivalentes Trolox. ABTS (2:1 TEAC): representa la actividad antioxidante de extractos MeOH-H₂O (2:1) según ABTS en equivalentes Trolox. Fenólicos: representa compuestos fenólicos expresado como equivalentes mg de ácido gálico (GAE). Flavonoides: representa los flavonoides totales expresado como equivalentes mg de catequina.

El análisis de correlación indica correlaciones muy altamente significativas $p \leq 0,001$ para los valores de capacidad antioxidante según DPPH en TEAC de los extractos EtOH-H₂O (1:1) y MeOH-H₂O (2:1), así como para los valores de capacidad antioxidante según ABTS en TEAC de los extractos EtOH-H₂O (1:1) y MeOH-H₂O (2:1). Correlaciones altamente significativas con $p \leq 0,01$ se observaron para la capacidad antioxidante según DPPH de los extractos EtOH-H₂O (1:1) y capacidad antioxidante según ABTS de los extractos MeOH-H₂O (2:1), ambos en TEAC, que está de acuerdo con lo que estableció Floegel¹⁹ en la comparación de capacidades antioxidantes, según DPPH y ABTS, en equivalentes de ácido ascórbico de frutos, vegetales y bebidas del mercado de Estados Unidos, donde establecieron correlaciones significativas de acuerdo a Spearman para los valores encontrados en las diferentes fuentes.

En el caso de correlaciones entre capacidad antioxidante y compuestos fenólicos, esta fue altamente significativa con $p \leq 0,01$ para las capacidades antioxidantes de los extractos EtOH-H₂O (1:1) según DPPH en GAE y los compuestos fenólicos, en ese sentido Floegel¹⁹ llegó a las mismas conclusiones; mientras que para la capacidad antioxidante de los extractos MeOH-H₂O (2:1) en TEAC y los compuestos fenólicos la correlación fue altamente significativa de modo negativo. En el caso de las correlaciones entre capacidad antioxidante y los flavonoides, se observó una correlación altamente significativa $p \leq 0,01$ para la capacidad antioxidante de los extractos EtOH-H₂O (1:1) según ABTS en TEAC y los flavonoides; así como una correlación significativa $p \leq 0,05$ de la capacidad antioxidante según ABTS de los extractos MeOH-H₂O (2:1) en TEAC y los flavonoides; para este caso, Floegel¹⁹, de acuerdo a los coeficientes de correlación según Spearman, reporta valores de 0,718 para flavonoides con ABTS y 0,708 para flavonoides y DPPH, recordando que los investigadores expresaron sus resultados como VCEAC. Para las betalaínas y betaxantinas evaluados en la investigación, se observaron correlaciones altamente significativas $p \leq 0,001$ para los valores de capacidad antioxidante de los extractos EtOH-H₂O (1:1) y MeOH-H₂O (2:1) según ABTS en TEAC con los extractos obtenidos en medio buffer pH 6,5 para las betalaínas y betaxantinas, información que no se presenta en la tabla 3, que para la investigación son de importancia debido a que no existen antecedentes al respecto en semillas de quinua. Para el análisis de correlación entre las betalaínas y las betaxantinas los resultados de las evaluaciones presentan una correlación altamente significativa $p \leq 0,001$, en relación con los flavonoides se observaron correlaciones significativas (betacianinas, $p \leq 0,001$; betaxantinas, $p \leq 0,01$).

Las variaciones obtenidas de las actividades antioxidantes en nuestro estudio podría ser el resultado de las distintas polaridades de los disolventes empleados, ya que condujo a la

extracción de un grupo seleccionado de compuestos antioxidantes en función de su estructura química, polaridad y solubilidad, afectando la capacidad antioxidante entre los extractos, como lo reportado por Zhi-feng Fu²² en su estudio de actividad antioxidante en hojas de camote (*Ipomoea batatas* L.) extraídas con solventes de varias polaridades, ellos estudiaron diez solventes diferentes, incluyendo agua, metanol acuoso, etanol acuoso y acetona acuosa, y el efecto de los solventes sobre la recuperación de las actividades antioxidantes en hojas de camote. El rendimiento de las actividades antioxidantes de los extractos se vio afectado significativamente por la polaridad del disolvente de extracción.

CONCLUSIONES

- Los azúcares reductores en las semillas de quinua se encontraron entre los 30,973 y 88,278 mg glucosa/g, sobresaliendo la accesión A232. En compuestos fenólicos los resultados alcanzaron los 3,437 mg GAE/g, mientras que para los flavonoides los 1,029 equivalentes mg de catequina/g. A nivel de compuestos nitrogenados, las betacianinas se encontraron entre los 0.278 y 0.883 mg/100 g, mientras que las betaxantinas entre 1,139 y 13,760 mg/100 g, sobresaliendo en ambos casos la accesión A124.
- La capacidad antioxidante según DPPH y ABTS de los extractos EtOH-H₂O (1:1) y MeOH-H₂O (2:1), expresada como GAE o TEAC en las diferentes accesiones, reporta valores significativos para la accesión A123 en TEAC tanto para DPPH y ABTS, en el caso de GAE sobresalió la A124.
- La correlación de Pearson reveló correlaciones muy altamente significativas ($p \leq 0,001$) entre los valores de capacidad antioxidante según DPPH y ABTS de los extractos (EtOH-H₂O (1:1) y MeOH-H₂O (2:1)) en TEAC, la capacidad antioxidante según DPPH en GAE se correlacionó de manera significativa con los compuestos fenólicos, y la capacidad antioxidante de los extractos EtOH-H₂O (1:1) según ABTS en TEAC se correlacionó significativamente con los flavonoides. Las betalaínas y betaxantinas presentaron correlaciones muy altamente significativas ($p \leq 0,001$), mientras que estos compuestos nitrogenados se correlacionaron de manera significativa con los flavonoides (betacianinas, $p \leq 0,001$; betaxantinas, $p \leq 0,01$).

AGRADECIMIENTO

Al Instituto Nacional de Innovación Agraria INIA, en especial al Ing. Fredy Quispe por su apoyo y confianza en este proyecto durante estos años de investigación, del mismo modo a la Ing. Karina Ccapa por su apoyo y amistad.

A la Asociación Universitaria Iberoamericana de Postgrado AUIP por la beca concedida para la realización de la Tesis Doctoral en la Universidad de Córdoba de España.

Al Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Córdoba de España, en especial a los Doctores Fernando Cámara y Rafael Moreno.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Dueñas D. Vigilancia competitiva de la quinua: potencialidad para el departamento de Boyacá. *Suma de Negocios*. 2014; 12: 85-95.
2. Abderrahim F, Huanatico E, Segura R, Arribas S, Gonzales M, Condezo-Hoyos L. Physical features, phenolic compounds, betalains and total antioxidant capacity of coloured quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.) from Peruvian Altiplano. *Food Chem*. 2015; 183: 83-90.
3. Tang Y, Li X, Zhang B, Chen P, Liu R, Tsao T. Characterisation of phenolics, betanins and antioxidant activities in seeds of three *Chenopodium quinoa* Willd. Genotypes. *Food Chem*. 2015; 166: 380–388.
4. Normas Mexicanas. NMX-F-428-1982. Alimentos. Determinación de humedad (método rápido de la termobalanza). Normas mexicanas. Dirección general de normas. 1982.
5. Najmus A, Whitney P. Differential behaviour of the dinitrosalicylic acid (DNS) reagent towards mono-and di-saccharide sugars. *Biomass Bioenergy*. 2011; 35: 4748-4750.
6. Dini I, Tenore G, Dini A. Antioxidant compound contents and antioxidant activity before and after cooking in sweet and bitter *Chenopodium quinoa* seeds. *LWT - Food Sci Technol*. 2010; 43: 447–451.
7. Quispe F, Arroyo K, Gorriti G. Características morfológicas y químicas de 3 cultivares de maíz morado (*Zea mays* L.) en Arequipa – Perú. *Rev Soc Quím Perú*. 2011; 77 (3):205-217.
8. Fisher S, Wilckens R, Jara J, Aranda M. Variation in antioxidant capacity of quinoa (*Chenopodium quinoa* Will) subjected to drought stress. *Ind Crops Prod*. 2013; 46, 341-349.
9. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*. 1999; 26(9-10): 1231-7.
10. Von Elbe JH. Betalains. CPFAC. 2001; Unit F3.1.3-F3.1.7. DOI: 10.1002/0471142913.faf0301s00.
11. Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. InfoStat versión 2015. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina; 2015.
12. Stikic R, Glamoclija D, Demin M, Vucelic-Radovic B, Jovanovic Z, Milojkovic-Opsenica D, Jacobsen S, Milovanovic M. Agronomical and nutritional evaluation of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.) as an ingredient in bread formulations. *J Cereal Sci*. 2012; 55: 132-138.
13. Repo-Carrasco-Valencia R, Hellström JK, Pihlava J, Mattila P. Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Food Chem*. 2010; 120, 128–133.
14. Weber H, Borisjuk L, Wobus U. Sugar import and metabolism during seed development. *Trends Plant Sci*. 1997; 2(5): 169-174.
15. Miranda M, Vega-Gálvez A, López J, Parada G, Sanders M, Aranda M, et al. Impact of air-drying temperature on nutritional properties, total phenolic content and antioxidant

- capacity of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd). Ind Crops Prod. 2010; 32: 258–263.
16. Ranhotra GS, Gelroth JA, Glaser BK, Lorenz KJ, Johnson DL. Composition and Protein Nutritional Quality of Quinoa. Cereal Chem. 1993; 70(3): 303-305.
 17. Miranda M, Vega-Gálvez A, Uribe E, López J, Martínez E, Rodríguez M, Quispe I, Di Scala, K. Physico-chemical analysis, antioxidant capacity and vitamins of six ecotypes of Chilean quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). Procedia Food Sci. 2011. 1:1439 – 1446.
 18. Marais JPJ, Deavours B, Dixon RA, Ferreira D. The stereochemistry of flavonoids In Grotewold E, editor. The Science of Flavonoids. New York: Springer Press; 2007. p. 1-35.
 19. Floegel A, Kim D, Chung S, Koo S, Chun O. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. J Food Comp Anal. 2011; 24: 1043-1048.
 20. Rodriguez-Amaya DB. Quantitative analysis, in vitro assesment of bio-availability and antioxidant activity of food carotenoids-A review. J Food Comp Anal. 2010; 23: 764-740.
 21. Hirose Y, Fujita T, Ishii T, Ueno N. Antioxidative properties and flavonoid composition of *Chenopodium quinoa* seeds cultivated in Japan. Food Chem. 2010; 119: 1300-1306.
 22. Zhi-feng F, Zong-cai T, Lu Z, Hui W, Qing-hui W, Tao H. Antioxidant activities and polyphenols of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves extracted with solvents of various polarities. Food Biosci. 2016; 15: 11-18

ASOCIACIÓN DE MIELOPEROXIDASA SÉRICA CON VARIABLES CARDIOMETABÓLICAS EN DOS POBLACIONES: CARHUAMAYO (4100 m - JUNÍN) Y MALA (30 m - LIMA)

María R Carreño¹, Elena R. Benavides¹, Carmen G. Peña¹, Alejandro Florentini²,
Yadira Fernández¹, Cynthia G. Esquerre¹, Luz K. Hernández¹ y Elizabeth Carranza³

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue determinar las concentraciones séricas de la mieloperoxidasa (MPO), una enzima considerada como indicadora de inflamación, en una población de las grandes alturas y en otra del nivel del mar y establecer la asociación de esta enzima con los factores de riesgo tendientes a desarrollar una enfermedad cardiometabólica. Se recolectó muestras de sangre de 65 personas oriundas de la ciudad de Carhuamayo (4100 m - Junín) y de 42 personas de Mala (30 m - Lima). Se midió peso, talla y presión arterial. Se determinó hemoglobina (Hb) en sangre total; glucosa, colesterol total, colesterol de lipoproteínas de alta densidad, triglicéridos y MPO se determinaron en suero. Los resultados muestran que a excepción del peso, talla y Hb no hay diferencia significativa por género entre los promedios de las demás variables de ambos grupos. Al comparar ambas poblaciones, se encontró diferencia significativa en peso ($< 0,001$), IMC ($p < 0,001$), Hb ($p < 0,001$), glucosa ($< 0,001$) y MPO ($< 0,01$). Los niveles de Hb fueron mayores en la población de Carhuamayo, mientras que el peso, IMC, nivel de glucosa y MPO fueron significativamente menores que los del nivel del mar. Se observó correlación significativa directa entre MPO y peso, cintura, IMC y glucosa. Se concluye que la mieloperoxidasa (MPO) no sería un factor de riesgo de enfermedades cardiometabólicas en poblaciones andinas.

Palabras clave: Mieloperoxidasa, factor de riesgo cardiometabólico, altitud.

SERIC MYELOPEROXIDASE ASSOCIATION WITH CARDIOMETABOLIC VARIABLES IN TWO POPULATIONS: CARHUAMAYO (4100 M - JUNIN) AND MALA (30 M - LIMA)

SUMMARY

The aim of this study was to determine serum myeloperoxidase (MPO) level, an enzyme considered as an inflammation indicator, in a high altitude population and in another at sea level, and establish the association of this enzyme with risk factors apt to develop a

¹ Facultad de Farmacia y Bioquímica, UNMSM,

² Facultad de Ciencias Biológicas, UNMSM,

³ Instituto Nacional de Biología Andina, Facultad de Medicina, UNMSM e-mail: mcarrenoq@unmsm.edu.pe

cardiometabolic disease. Blood samples were collected from 42 subjects in Mala (30 m - Lima) and from 65 people native to Carhuamayo (Junin 4100 m). Weight, height and blood pressure were measured. Hemoglobin (Hb) was determined in whole blood; glucose, total cholesterol, high density lipoproteins, triglycerides and MPO were determined in serum. The results show that with the exception of weight, height and Hb, no significant gender differences between the averages of other variables in both groups were observed. When comparing both populations, highly significant differences in weight ($< 0,001$), BMI ($< 0,001$), Hb ($< 0,001$), glucose ($< 0,001$) and MPO ($< 0,01$) were found. Hb levels were higher in the population of Carhuamayo, while the weight, BMI, glucose and MPO were significantly lower than the sea level means. Positive significant correlation between MPO and weight, waist, BMI and glucose was observed. It was concluded that the myeloperoxidase (MPO) would not be a risk factor for cardiometabolic disease in Andean populations.

Key words: Myeloperoxidase, cardiometabolic risk factor, high altitude.

INTRODUCCIÓN

La mieloperoxidasa (MPO, EC 1.11.1.7) es una hemoproteína que se encuentra almacenada en los neutrófilos activados, monocitos y macrófagos. Es una enzima ligada a la inflamación y al estrés oxidativo; en presencia de iones de cloruro y peróxido de hidrógeno cataliza la formación de ácido hipocloroso, que es un agente microbicida potente; por lo tanto desempeña un papel importante en la defensa del huésped contra los microorganismos¹.

La MPO también utiliza al H_2O_2 y diferentes sustratos endógenos como aminoácidos, nitritos, estradiol, etc., como co-sustratos para generar una amplia gama de especies oxidantes, así se tiene las cloraminas, radical hidroxilo, oxígeno singlete, ozono, radical tirosilo, dióxido de nitrógeno².

Diversos estudios epidemiológicos y clínicos han demostrado que concentraciones altas de MPO se asocian con un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares (ECV), independientemente de los factores de riesgo de ECV clásica³.

Se ha demostrado que la MPO es responsable de la conversión de la LDL-nativa a su forma oxidada (LDL-ox), que son reconocidas por los receptores scavengero 'basureros' de los macrófagos, que los internalizan y transforman en células espumosas que conducen a la formación de la placa de ateroma⁴. La MPO puede oxidar la Apo AI de las HDL y alterar su metabolismo, y la consecuencia es que las HDL pierden sus propiedades anti-oxidantes y anti-inflamatorias, y también bloquea la capacidad de la lipoproteína para eliminar el exceso de colesterol de las células⁴.

Por otro lado, se conoce que la MPO puede utilizar al óxido nítrico (NO) como uno de sus sustratos, reduciendo su biodisponibilidad y disminuyendo sus propiedades vasodilatadoras y antiinflamatorias, de esta manera contribuye a la disfunción endotelial, primera etapa del proceso aterosclerótico³.

Estudios recientes han demostrado que niveles altos de mieloperoxidasa en individuos aparentemente sanos pueden predecir un riesgo futuro de ECV y que la actividad inflamatoria precede por lo menos casi una década a la aparición de ECV⁵.

Diversos estudios fisiológicos, clínicos y epidemiológicos realizados muestran que existe menor incidencia de enfermedades coronarias en los residentes de altura a diferencia de aquellos de nivel del mar⁶. De los factores de riesgo relacionados es conocido que en los habitantes de las grandes alturas (GA), los niveles de colesterol es menor y los niveles de HDL-colesterol (HDL-col) son mayores que a nivel del mar; es menor la prevalencia de hipertensión arterial, y que el diabético de altura presenta menor riesgo de presentar enfermedad cerebro-vascular que el diabético de nivel del mar, debido a las menores alteraciones lipídicas que presenta⁶.

En el presente estudio se propone determinar la concentración de mieloperoxidasa sérica, su distribución y asociación con varios factores de riesgo relacionados con enfermedades cardiometabólicas en una población de nivel del mar y otra de la altura.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sujetos de experiencia

Esta investigación es un estudio transversal en el que se incluyeron a 107 personas adultas, 65 (11 H/54 M) procedentes de la ciudad de Carhuamayo (Región Junín, 4100 msnm) y 42 (12 H/30 M), naturales de la ciudad de Mala (30 m). Ninguno de los voluntarios presentaba diabetes mellitus ni enfermedad cardiovascular.

Para la toma de muestras, los voluntarios se presentaron en condiciones de ayuno absoluto (12 horas previas) y sin haber realizado actividad física.

Recolección de las muestras

Las muestras de sangre, 8 mL fueron obtenidas por punción venosa del antebrazo y recibidas en tubos de ensayo limpios y esterilizados. La sangre extraída se dejó en reposo por 30 minutos hasta coagulación y luego se centrifugó a 4000 rpm, por 5 minutos se separaron los sueros. Se colocaron los sueros entre 2 y 5°C en un recipiente hermético, para ser transportados al Laboratorio de Bioquímica del Instituto y almacenados a -20°C para los análisis posteriores.

Mediciones

La medición de la presión arterial fue realizada por un profesional de la salud en el brazo izquierdo, con la persona sentada; además se pesaron y tallaron a los individuos sin calzado y con ropa ligera; asimismo, se midieron los perímetros de cintura y cadera.

Determinaciones

Se utilizaron kits comerciales para las determinaciones del nivel de hemoglobina (Hb) en sangre total (Kit de Hemoglobina de VALTEK S.A., Santiago-Chile) y los niveles séricos

de glucosa (Kit Glucosa – LS (GOD –PAP) de VALTEK S.A., Santiago-Chile), colesterol total (Kit Colesterol CHOD-PAP de VALTEK S.A., Santiago-Chile), HDL-col (Kit HDL (Fosfotungstato/Mg⁺⁺) de VALTEK S.A., Santiago-Chile) y triglicéridos (Kit Triglicéridos de VALTEK S.A., Santiago-Chile). La concentración de LDL-colesterol (LDL-col) se determinó aplicando la fórmula de Friedewald⁷. El nivel sérico de mieloperoxidasa se determinó por el método de ELISA utilizando un kit comercial marca MyBioSource, INC. (USA). De acuerdo a normas internacionales, el índice de masa corporal (IMC, peso en kg, dividido entre el cuadrado de la estatura, en metros) entre $25 \leq \text{IMC} < 30 \text{ kg/m}^2$ fue considerado como criterio de sobrepeso y el $\text{IMC} > 30 \text{ kg/m}^2$, como criterio de obesidad⁷.

Análisis estadístico

Los resultados fueron expresados en valores medios y desviación estándar. Se compararon las medias según la prueba *t* de Student para dos muestras independientes, y se evaluó el grado de asociación mediante el coeficiente de correlación de Pearson. Se consideró significativo todo resultado cuyo valor asociado de *p* sea $< 0,05$.

RESULTADOS

La tabla 1 muestra las características de la población participante. La media de edad de la población de Carhuamayo fue $44,1 \pm 13,0$ años y de la población de Mala fue $44,2 \pm 13,6$ años, sin diferencia significativa ($p > 0,05$). No se encontraron diferencias significativas en cintura, presión sistólica y presión diastólica; se encontró diferencia estadísticamente significativa en cadera ($p < 0,05$) entre ambos grupos. Los promedios de los pesos de ambas poblaciones, $60,9 \pm 8,9 \text{ kg}$ en Carhuamayo y $72,1 \pm 13,9 \text{ kg}$ en la población de Mala, presentan diferencia estadística ($p < 0,001$).

El IMC sigue el mismo patrón por lo que se presenta diferencia estadística ($p < 0,001$) entre ambas poblaciones.

Tabla 1. Características de la población de estudio altitud

	Carhuamayo (Media ± DE)	Mala (Media ± DE)	P
n	65	42	
Edad, años	44,1 ± 13,0	44,2 ± 13,6	> 0,05
Peso, kg	60,9 ± 8,9	72,1 ± 13,9	< 0,001*
Talla, m	1,54 ± 0,1	1,56 ± 0,1	> 0,05
IMC, kg/m ²	25,6 ± 3,3	29,2 ± 4,6	< 0,001*
Cintura, cm	92,7 ± 7,0	92,5 ± 10,4	> 0,05
Cadera, cm	98,2 ± 5,0	101,4 ± 9,3	< 0,05*
Presión sistólica, mmHg	11,9 ± 1,7	12,2 ± 3,0	> 0,05
Presión diastólica, mmHg	7,9 ± 0,9	7,5 ± 1,6	> 0,05

*Estadísticamente significativo (t de Student para medias)

Los resultados de hemoglobina y demás parámetros bioquímicos se presentan en la tabla 2. Los niveles de hemoglobina en la población de Carhuamayo ($16,6 \pm 0,6$ g/dL) y en la población de Mala ($13,4 \pm 1,2$ g/dL) difieren estadísticamente, ($p < 0,001$), igual diferencia significativa se encontró entre los niveles de glucosa sérica de ambas poblaciones ($74,7 \pm 12,9$ mg/dL vs $101,6 \pm 26,5$, $p < 0,001$) No se encontraron diferencias significativas en cuanto a niveles séricos de los parámetros lipídicos estudiados.

Tabla 2. Variables bioquímicas de la población de estudio

	Carhuamayo (Media ± DE)	Mala (Media ± DE)	P
n	65	42	
Hemoglobina, g/dL	16,6 ± 0,6	13,4 ± 1,2	< 0,001*
Glucosa, mg/dL	74,7 ± 12,9	101,6 ± 26,5	< 0,001*
Colesterol, mg/dL	209,2 ± 48,7	211,6 ± 34,3	> 0,05
HDL-colesterol, mg/dL	57,1 ± 19,5	54,2 ± 14,3	> 0,05
LDL-colesterol, mg/dL	116,1 ± 44,1	118,5 ± 30,8	> 0,05
Triglicéridos, mg/dL	167,7 ± 89,3	194,7 ± 91,0	> 0,05

*Estadísticamente significativo (t de Student para medias)

La comparación de los valores medios de mieloperoxidasa: $12,9 \pm 9,4$ $\eta\text{g/mL}$ para la población de Carhuamayo, y $19,1 \pm 7,5$ $\eta\text{g/mL}$ para la población de Mala, dio como resultado una diferencia significativa entre ambos grupos, ($p < 0,001$), (figura 1).

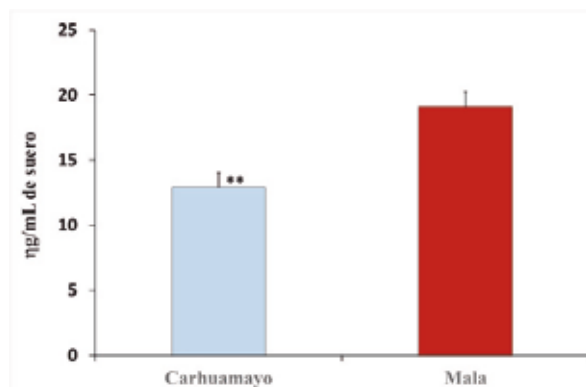


Figura 1. Media \pm Error Estándar de la Media de mieloperoxidasa ($\eta\text{g/mL}$ de suero),
** $p < 0,001$ con respecto a la media del grupo del NM

Cuando se analizaron los resultados de la mieloperoxidasa según género, se encontró que el promedio sérico en la totalidad de la mujeres ($n = 84$) y de los hombres ($n = 23$) no presentaban diferencia estadística: $14,6 \pm 9,6$ vs $16,5 \pm 8,3$ ($p > 0,05$), en cambio las diferencias según altitud son significativas en ambos sexos (tabla 3)

Tabla 3. Niveles séricos de mieloperoxidasa según altitud

	Carhuamayo		Mala		
	n	(Media \pm DE)	n	(Media \pm DE)	p
Hombres	11	12,6 \pm 6,9	12	20,2 \pm 8,1	$< 0,05^*$
Mujeres	54	13,0 \pm 9,8	30	19,0 \pm 7,43	$< 0,05^*$

*Estadísticamente significativo (t de Student para medias)

Cuando se evaluó el grado de asociación entre el nivel de mieloperoxidasa sérica y las demás variables observadas (tabla 4) se encontró una estrecha relación directa entre niveles séricos de MPO y las variables peso ($p < 0,001$); cintura ($p < 0,05$), IMC ($p < 0,001$) y glucosa ($p < 0,05$). No se encontró asociación significativa entre el nivel de MPO sérica con los demás parámetros evaluados.

Tabla 4. Correlación entre nivel de mieloperoxidasa sérica y variables de riesgo cardiometabólico en la muestra total (Carhuamayo y Mala, n = 107)

Variable	r	p
Edad, años	0,143	> 0,05
Peso, kg	0,481	< 0,001*
Talla, m	0,180	> 0,05
IMC, kg/m ²	0,376	< 0,001*
Cintura, cm	0,3867	< 0,05*
Cadera, cm	0,307	> 0,05
Presión sistólica, mmHg	0,152	> 0,05
Presión diastólica, mmHg	0,046	> 0,05
Glucosa, mg/dL	0,268	< 0,05*
Colesterol, mg/dL	0,156	> 0,05
HDL-colesterol, mg/dL	-0,041	> 0,05
LDL-colesterol, mg/dL	0,116	> 0,05
Triglicéridos, mg/dL	0,115	> 0,05

* Estadísticamente significativo (r de Pearson)

DISCUSIÓN

Diversos estudios han demostrado que el nivel sérico de MPO está incrementado en la diabetes⁸, hipertensión⁹, obesidad¹⁰, aterosclerosis¹¹, etc. Se ha demostrado que los niveles séricos de mieloperoxidasa se asocian con el riesgo de enfermedad cardiovascular en individuos aparentemente sanos⁵.

En nuestro país, el presente estudio es el primero en presentar niveles séricos de MPO en individuos aparentemente sanos de dos poblaciones, una a nivel del mar y otra en la altura con el fin de establecer si hay diferencias entre ambas.

Se realizó un estudio transversal en una muestra de sujetos oriundos de las grandes alturas (Carhuamayo, 4161 m) y otra de la ciudad de Mala (30 m) para determinar la relación entre los niveles de mieloperoxidasa sérica y algunas variables consideradas como factores de riesgo de enfermedades cardiometabólicas. Así, se encontró que la población de Mala, en promedio, presentó mayor peso e IMC que el grupo de altura; en cambio, la presión arterial y la circunferencia de cintura y de cadera fueron similares en ambos grupos y están dentro de los parámetros establecidos como normales⁷.

Los niveles de Hb fueron mayores en el grupo de altura que en el grupo del nivel del mar; el incremento de Hb en residentes de la grandes alturas es uno de los principales mecanismos de adaptación a la hipoxia de estas altitudes, junto con el incremento en el número de hematíes, y en el hematocrito¹².

Los niveles de glucemia del grupo de altura fueron significativamente menores que del grupo del nivel del mar, este resultado es similar a lo encontrado por numerosos estudios que han demostrado que en los residentes en la altura, los valores medios de glucosa sérica normalmente son menores que sus similares del nivel mar¹².

Los resultados de perfil lipídico, obtenidos en este estudio, indican que los valores séricos de colesterol total, LDL-col y HDL-col estaban dentro del rango considerado deseable⁷ para ambas poblaciones y eran similares a los encontrados por otros investigadores^{13,14}. Los niveles séricos de triglicéridos (TG) de ambas poblaciones están dentro de límites considerados como “riesgo moderado”; sin embargo difieren de los referidos por otros autores, quienes encontraron valores altos de TG en otras poblaciones andinas¹⁵.

Los resultados del presente trabajo demuestran que los valores medios de mieloperoxidasa en el grupo de Mala son significativamente más altos ($p < 0,001$) que los correspondientes de Carhuamayo; vale decir que la población de la altura estaría mejor protegida frente a la inflamación, lo que significaría una menor producción de la enzima y, por ende, un menor efecto adverso de la MPO, pues se conoce que la generación excesiva de oxidantes por MPO está relacionada con el daño tisular en muchas enfermedades, especialmente las caracterizadas por inflamación aguda o crónica¹⁶. No se encontraron diferencias significativas entre hombres y mujeres.

Los mecanismos por los cuales en la altura hay un menor nivel sérico de esta enzima, no se conocen; es necesario más estudios en otros grupos etarios, tanto de nivel del mar como de altura, para poder comprender el papel de la MPO en la prevención de las enfermedades cardiovasculares en poblaciones que viven en las grandes alturas⁶.

La relación directa y significativa entre nivel de MPO y peso y cintura y glucosa, confirma lo hallado por otros autores, es decir que el nivel sérico de MPO está incrementado en casos de obesidad¹⁰ y de diabetes⁸. Se ha demostrado una relación entre obesidad e inflamación¹⁷ y se ha encontrado también que niveles altos de glucosa puede promover una reacción inflamatoria, lo que lleva a un aumento de los niveles de MPO en plasma¹⁸.

CONCLUSIONES

Los resultados del presente trabajo sugieren que la mieloperoxidasa (MPO) no sería un factor de riesgo de enfermedades cardiometabólicas en habitantes de las grandes alturas y que los niveles menores encontrados de esta enzima estarían relacionados con los menores promedios de peso y nivel de glucosa hallados en este grupo.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo fue financiado por el Proyecto del VRI N.º 140403051.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase: friend and foe. *J Leukoc Biol* 2005;77:598–625.
2. Davies MJ, Hawkins CL, Pattison DI, Rees MD. Mammalian heme peroxidases: from molecular mechanisms to health implications. *Antioxid Redox Signal*. 2008; 10:1199–1234.
3. Brennan ML, Hazen SL. Myeloperoxidase: A Mechanistically Linked Biomarker for Cardiovascular Disease. *Curr Cardiovasc Risk Rep*. 2007; 1:58–65
4. Nicholls SJ, Hazen SL. Myeloperoxidase, modified lipoproteins and atherogenesis. *J Lipid Res*. 2009; 50 (suppl): S346-51.
5. Meuwese MC, Stroes ES, Hazen SL, van Miert JN, Kuivenhoven JA, Schaub, *et al*. Serum myeloperoxidase levels are associated with the future risk of coronary artery disease in apparently healthy individuals: the EPIC-Norfolk Prospective Population Study. *J Am Coll Cardiol*. 2007; 50(2): 159–65.
6. Gonzales G. Metabolismo en las grandes alturas. *Acta Andina*. 2001; 9: 31-42
7. National Cholesterol Education Program (NCEP). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*. 2002; 106:3143-3421.
8. Wiersma JJ, Meuwese MC, van Miert JN, Kastelein A, Tijssen JG, Piek JJ, *et al*. Diabetes mellitus type 2 is associated with higher levels of myeloperoxidase. *Med Sci Monit*. 2008; 14: 406-10.
9. Van der Zwan LP, Scheffer PG, Dekker JM, Stehouwer CD, Heine RJ, Teerlink T. Hyperglycemia and oxidative stress strengthen the association between myeloperoxidase and blood pressure. *Hypertension*. 2010;55: 1366–1372.
10. Olza J, Aguilera CM, Gil-Campos M, Leis R, Bueno G, Martínez-Jimenez MD, *et al*. Myeloperoxidase is an early biomarker of inflammation and cardiovascular risk in prepubertal obese children. *Diabetes Care*. 2012; 35:2373-2376.
11. Baldus S, Heeschen C, Meinertz T, Zehner AM, Eiserich JP, Munzel T, *et al*. Myeloperoxidase serum levels predict risk in patients with acute coronary syndromes. *Circulation*. 2003;108: 1440–5.
12. West JB, Schoene RB, Milledge JS. High altitude medicine and physiology. 4th ed. London: Hodder Arnold a Member of the Hodder Headline Group; 2007.
13. Pajuelo J, Sánchez-Abanto J, Torres H, Miranda M. Prevalencia del síndrome metabólico en pobladores peruanos por debajo de 1 000 y por encima de los 3 000 msnm. *An Fac Med*. 2012; 73(2):101-106.
14. Mohanna S, Baracco R, Seclen S. Lipid profile, waist circumference, and body mass index in a high altitude population. *High Alt Med Biol*. 2006; 7:245-55.
15. González GF, Tapía V. Asociación de los diferentes niveles de hipoxemia en la altura

- con el perfil lipídico y la glucemia en varones y mujeres a 4,100 m de altitud en los Andes Centrales del Perú. *Endocrinol Nutr.* 2012; 60:79-86.
16. Van der Veen BS, de Winther MP, Heeringa P. Myeloperoxidase: molecular mechanisms of action and their relevance to human health and disease. *Antioxid Redox Signal.* 2009; 11:2899–2937
 17. Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Ann Rev Immunol.* 2011; 29:415–45.
 18. Zhang X, Dong L, Wang Q, Xie X. The relationship between fasting plasma glucose and MPO in patients with acute coronary syndrome. *BMC Cardiovasc Disord.* 2015; 15:1-7.

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE *in vitro* Y EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DE LA MACA NEGRA (*Lepidium meyenii*) PREPARADA TRADICIONALMENTE

Jhon Troya-Santos^{1*}, Neptalí Ale-Borja², Silvia Suárez-Cunza¹

RESUMEN

La maca (*Lepidium meyenii*) es una planta peruana nativa de los Andes centrales a la que se le atribuyen diversas propiedades, como mejorar la función sexual y la espermatogénesis, mejorar el aprendizaje, y la reducción del estrés; las mismas que podrían estar relacionadas con la variedad de este hipocótilo. Sin embargo, estas propiedades no sólo están basadas en el ecotipo o el color sino también en el tipo de prácticas del procesamiento de la maca. Tradicionalmente, la maca es preparada haciéndose hervir en agua. El objetivo del estudio fue medir la capacidad antioxidante *in vitro* de la maca negra de acuerdo a la forma de preparación tradicional y su efecto hipoglucemiante *in vivo*. Se hicieron tres preparados de la misma muestra sometidos a diferentes tiempos de cocción: 30, 45 y 60 minutos. A cada uno de los preparados se les determinó la capacidad antioxidante *in vitro* mediante las técnicas con 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) y ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS). Para el estudio *in vivo*, se realizó la inducción de diabetes experimental con estreptozotocina y se les suplementó con maca diariamente, se evaluó la evolución glucémica en un periodo de 14 días. La maca a 60 minutos de cocción presentó mayor capacidad antioxidante (6,8 µg/mL y 203,0 µg/mL) mediante los reactivos DPPH y ABTS, respetivamente. La misma que mostró mantener los niveles glucémicos reducidos. La preparación de la maca de forma tradicional con 60 minutos de cocción obtiene un incremento de la capacidad antioxidante *in vitro* respecto a 30 y 45 minutos de cocción, además este tiene un efecto hipoglucemiante en un modelo de diabetes inducida con estreptozotocina.

Palabras clave: Maca, antioxidante, ensayos antioxidantes, hipoglucemiante.

In vitro ANTIOXIDANT CAPACITY OF TRADITIONAL PREPARED BLACK MACA (*Lepidium meyenii*)

ABSTRACT

Maca is a Peruvian plant native to the central Andes attributed with sexual function, spermatogenesis, improve learning, memory and stress properties, which are reflective of the different colored types. However, the properties of maca are not only related to the

¹ Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición, Facultad de Medicina. UNMSM. Av. Grau 755. Lima 1, Perú
* jktroya@gmail.com

² Facultad de Química e Ingeniería Química. UNMSM.

ecotype or color, but also to its processing practices. Traditionally, maca is prepared by boiling. The objective of this study is to measure the *in vitro* antioxidant capacity of the black maca compared to the traditional preparation method and the maca hypoglycemic effect. The maca was divided in three groups based on the boiling time (30, 45 and 60 minutes). DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and ABTS [2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid] assays were performed in each of the maca sample in order to determine the total antioxidant capacity. A group of rats induced with diabetes via a streptozotocin shot and dairy were supplemented with maca, and the glycemic evolution was measured throughout a 14-day period. The maca boiled for 60 minutes presented the highest *in vitro* antioxidant capacity (6,8 µg/mL y 203,0 µg/mL) using the DPPH and ABTS assay, respectively. Streptozotocin induced diabetic rats supplemented with maca showed reduced glycemic level as well. Maca traditionally prepared for 60 minutes indicated higher *in vitro* antioxidant capacity compared to 30 and 45 minutes and had *in vivo* hypoglycemic capacity in a diabetes model induced by streptozotocin.

Key words: Maca, antioxidant, antioxidant essays, hypoglycemic.

INTRODUCCIÓN

La maca (*Lepidium meyenii* Walpers o *Lepidium peruvianum* Chacón) forma parte de la familia *Brassicaceae*, es una planta nativa de los Andes Centrales que crece dentro de los 4000-4500 msnm. Se le atribuyen varios beneficios como de mejorar la función sexual, la espermatogénesis, mejorar el aprendizaje, la memoria, el estrés y ser una efectiva solución a la fatiga incrementando la resistencia física e incluso tienen efectos como la de mejorar la fertilidad femenina y masculina^{1,2}.

Se han descrito hasta trece variedades de maca de acuerdo al color del hipocótilo, que van del color blanco al negro³, la diferencia del color está asociada a las diversas concentraciones de los metabolitos bioactivos aun cuando estas variedades de maca contienen los mismos metabolitos secundarios. Por ejemplo, la variedad de maca negra presenta mayor concentración de glucosinolatos comparado a las variedades roja y amarilla⁴. Sin embargo, esta diferencia de las concentraciones de los metabolitos no sólo es producto del ecotipo de maca, sino también del tipo de prácticas del procesamiento de la misma posteriormente a la cosecha. Esparza *et al.*⁵, en el 2015, reportaron que existe un metabolismo endógeno de los isotiocianatos generados de la hidrólisis de los glucosinolatos durante el secado de la maca.

La maca está constituida por metabolitos primarios que corresponden a los componentes nutricionales. Sin embargo, también se han identificado metabolitos secundarios como compuestos fenólicos, a los cuales se les atribuye las propiedades biológicas y medicinales de la maca; entre estos, los macaenos, macamidias, glucosinalatos y alcaloides de maca que sólo se encuentran en la maca (lepidilina A, lepidilina B y el derivado de dehidropiridina llamado macaridina)^{6,7}.

La diabetes es una enfermedad compleja, de condición heterogénea que tiene como principal causa la disfunción de las células beta del páncreas, esencial para el mantenimiento de la homeostasis de la glucosa. Muchos factores influyen en la función de las células beta, entre ellos la hiperglicemia, la glucotoxicidad, la lipotoxicidad, la autoinmunidad, la inflamación, las adipoquinas, las incretinas, la resistencia a la insulina, e incluso el estrés oxidativo; estos pueden conllevar a un alto riesgo de complicaciones⁸. Se cree que el estrés oxidativo juega un papel muy importante en el desarrollo de complicaciones vasculares, las variaciones en los niveles de enzimas hacen a los tejidos susceptibles al estrés oxidativo; de acuerdo a estudios epidemiológicos, la mortalidad diabética puede explicarse notablemente por un incremento en las enfermedades vasculares derivados de la hiperglucemia⁹.

En los tratamientos de la diabetes se incluyen fármacos hipoglucemiantes orales e insulina, así como la modificación de los estilos de vida. Sin embargo, actualmente también se ha incluido terapias alternativas y complementarias, como el uso de diversas plantas medicinales mediadas por sus metabolitos secundarios^{10,11,12}. Por ello, la maca, podría constituir potencialmente en un recurso de utilidad terapéutica, para contribuir a la calidad de vida de estos pacientes, sea por su propiedad antioxidante o por su propiedad hipoglucemiante.

El objetivo del presente estudio fue medir la capacidad antioxidante *in vitro* de la maca negra de acuerdo al tiempo de cocción en la forma tradicional de preparación y su acción hipoglucemiante *in vivo* en un modelo de diabetes experimental en ratas macho.

PARTE EXPERIMENTAL

El estudio se desarrolló en los laboratorios del Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina de la UNMSM. Se usó los hipocótilos de la maca negra peruana cultivados en Carhuamayo, Junín a 4000 msnm. El extracto acuoso fue preparado de acuerdo al método usado tradicionalmente. Los hipocótilos de maca fueron cortados y secados en estufa a 37 °C para luego ser pulverizado con molino manual. Se colocó 40 gramos de maca pulverizada en un matraz con 200 mL de agua dejándose a hervir por tres tiempos diferentes. Así, se le denominó Maca A al hervido por 30 minutos, Maca B al de 45 minutos y Maca C al de 60 minutos. Los preparados fueron enfriados, filtrados y luego centrifugados a 2500 r.p.m por 5 minutos a 4 °C en una centrífuga Sorvall, rotor SS-34. Se recuperó el sobrenadante en tubos de vidrio y se almacenó a una temperatura de 8 °C para los análisis respectivos.

Se determinó la masa soluble de maca en cada preparado de las soluciones acuosas mediante gravimetría. Se pesó un mililitro de cada extracto de maca de cada tiempo de cocción, en un recipiente de peso conocido, y se dejó secar por un lapso de cinco días en la estufa a 37°C, hasta peso constante, posteriormente se volvió a pesar los recipientes obteniendo el peso seco de la maca.

Reactivos

Ácido 2,2'-azinobis (3 -etilbenzotiazolín) - 6- sulfónico (ABTS), 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH*) y compuesto ácido 6- hidroxil-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-carboxílico (trolox) fueron adquiridos de Sigma - Aldrich.

Capacidad antioxidante total

Para esta evaluación de la maca se utilizaron dos metodologías: el ensayo con el radical libre catiónico 2,2'-azinobis (3 -etilbenzotiazolín) - 6- sulfónico (ABTS.⁺) y el ensayo con el radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH).

Ensayo con el radical libre ABTS⁺

Según la metodología desarrollada por Re *et al.*¹³ (1999) y modificada por Kuskoski *et al.*¹⁴ (2004), el radical ABTS⁺ se obtuvo tras la reacción del compuesto ABTS (7 mM) con persulfato de potasio (2,45 mM, concentración final) incubados a temperatura ambiente (25°C) y en oscuridad durante 16 h. Una vez formado el radical ABTS⁺ se diluyó en agua bidestilada hasta obtener un valor de absorbancia de 0,70 ($\pm 0,02$) a 754 nm, esta es la absorbancia inicial. El tubo de reacción de 1 mL con 980 μ L del radical libre, contenía 20 μ L de la muestra de maca diluida con agua capaz de producir la disminución de la absorbancia del radical ABTS⁺ en el rango del 20 al 80% de su absorbancia inicial después de siete minutos de incubación a temperatura ambiente alejado de la luz. El antioxidante sintético de referencia, trolox, se ensayó a una concentración de 0-15 μ M (concentración final). Los resultados se expresaron como capacidad antioxidante equivalente al trolox (TEAC-ABTS en μ mol de Trolox/ g de muestra) y en la concentración inhibitoria del 50% (IC₅₀). Se analizaron cada uno de los extractos a distintas concentraciones.

Ensayo con el radical libre DPPH

Se realizó según el método desarrollado por Brand-Williams *et al.*¹⁵ (1995), con modificaciones descritas por Kim *et al.*¹⁶ (2002). Se midió la absorbancia del radical DPPH 100 μ M (0,8 mL) disuelto en metanol al 80%. Se añade 0,4 mL de la muestra o patrón, se mezcla, y se mantiene en la oscuridad durante 30 minutos a temperatura ambiente. Las medidas se leen a 517 nm. Los resultados se expresaron en la actividad equivalente a trolox (TEAC-DPPH en μ mol/g de muestra) previa preparación de una curva de calibración a concentraciones de 0,08-1,28 mM en disolución de metanol al 80%. Esta evaluación se realizó para cada tiempo de hervor de la maca y luego se determinó la concentración inhibitoria del 50% (IC₅₀).

Actividad hipoglucemiante

Se empleó ocho ratas macho de 4 meses de edad (202,4 + 31,6 g), de la raza Holtzman obtenidas del Instituto Nacional de Salud (Lima, Perú). Para el tratamiento de los animales se respetó las normas éticas para el tratamiento de animales de laboratorio, según la guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio del Instituto Nacional de Salud (INS). Todos los grupos recibieron el concentrado comercial para animales de laboratorio Rodentina Purina® con 10% de la composición en grasa. Después del periodo de aclimatación de siete días, los animales se separaron al azar en dos grupos: STZ+Agua (Diabéticas y no alimentadas con maca) y STZ+Maca (Diabéticas y alimentadas con maca). Los animales se mantuvieron a

una temperatura ambiente (aproximadamente $23^{\circ}\text{C} + 2$) con un ciclo luz/oscuridad 12:12 horas en el bioterio de la Facultad de Medicina de la UNMSM.

Para la inducción a diabetes se les suministró vía intraperitoneal una sola inyección de estreptozotocina 35mg/kg peso en tampon citrato 10 mM a pH 7,4. Después de cinco días de haber sido inducidas a la diabetes, se les administró el preparado de maca con mayor actividad antioxidante durante un periodo de 14 días en el grupo correspondiente, para ello se usó una sonda nasogástrica N°18, suministrándole un volumen de 2 mL de solución diaria. La dosis de maca administrada diariamente a cada rata fue de 2g kg^{-1} de peso del animal, el cual es equiparable con el consumo humano en los Andes del Perú¹⁷. Se realizó mediciones periódicas de las concentraciones de glucosa basal postprandial en las muestras de sangre de la vena de la cola de cada uno de los animales mediante el método conductivimétrico empleando el glucómetro Assure II.

Para el análisis estadístico se usó *Shapiro Wilk* para el análisis de la normalidad de las variables y los grupos dentro de las variables, y se evaluó la varianza aplicando el test de *Levene*. La prueba paramétrica por el análisis ANOVA de comparaciones múltiples con post Hoc de Bonferroni. Se asumió un grado de significancia ($\alpha = 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Peso seco de extractos de maca

Los tres tiempos de cocción para la maca presentan pesos secos (masa soluble) similares, sólo en el caso del grupo B se encontró un valor ligeramente por encima de 1 g/mL, (1,022 g/mL).

Tabla 1. Peso seco de maca en cada tiempo de cocción en g/mL

MACA	Media (g/mL) \pm DS
A	0,868 \pm 0,03
B	1,022 \pm 0,16
C	0,899 \pm 0,01

Medida por triplicado. DS = Desviación estándar.

Capacidad antioxidante total

Los resultados de la capacidad antioxidante total de los tres extractos acuosos expresados como IC50 mostraron que la Maca C, que corresponde a una cocción de 60 minutos, tuvo el mejor comportamiento con ambas técnicas. En la tabla 2 los valores del IC50 empleando el radical libre ABTS^{•+} varían entre 347,2 $\mu\text{g/mL}$ y 203,0 $\mu\text{g/mL}$; el menor valor significa una mayor capacidad antioxidante y corresponde a la Maca C, con 203,0 $\mu\text{g/mL}$. Con esta técnica la duplicación del tiempo mejora en un 41,5% el valor del IC₅₀. La literatura refiere que

la maca contiene además de glucosinolatos otros metabolitos secundarios tipo polifenoles especialmente catequinas que podrían estar explicando esta actividad antioxidante¹⁸. Los polifenoles por ser excelentes dadores de electrones o hidrógenos con la formación de radicales intermedios relativamente estables es encontrado en los compuestos que contienen capacidad antioxidante; además de estar relacionado con la capacidad de quelar metales. Sin embargo, los alcaloides, especialmente macamidas y macaenas, que son los principales constituyentes funcionales de la maca, también podrían estar relacionados con esta propiedad ya que se les ha relacionado con el tratamiento o prevención de la osteoporosis, cáncer de próstata y enfermedades del riñón, o su función potencial en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares¹⁹.

Tabla 2. IC₅₀ por el ensayo ABTS^{•+} para cada tiempo de cocción del extracto acuoso de maca.

IC ₅₀ (µg/mL)			
MACA	Media	DS	CV %
A	347,2	28,1	8,09
B	266,0	14,2	5,35
C	203,0	17,2	8,46
Trolox	154,8	4,1	2,63

Medida por triplicado. (Media ± Desviación estándar), CV: coeficiente de variación

En los ensayos de los tres grupos frente al DPPH (tabla 3) también la Maca C exhibió el mejor comportamiento antioxidante.

Tabla 3. IC₅₀ por el ensayo DPPH para cada tiempo de cocción del extracto acuoso de maca.

IC ₅₀ (µg/mL)			
MACA	Media	DS	CV %
A	8,40	0,65	7,7
B	8,50 ^c	0,58	6,9
C	6,80 ^{a,b}	0,34	4,9
Trolox	4,70	0,04	0,8

Medida por triplicado, (Media ± Desviación estándar) ANOVA de comparaciones múltiples con post Hoc de Bonferroni, $\alpha = 0,05$. a= Diferencia estadística entre el grupo de 60 minutos y 30 minutos ($p=0,029$), b= Diferencia estadística entre el grupo 60 minutos y 45 minutos ($P=0,029$), c= Diferencia estadística entre el grupo 30 minutos y 45 minutos ($p=1,00$).

Los IC_{50} varían entre 6,80 $\mu\text{g/mL}$ y 8,50 $\mu\text{g/mL}$, la maca del grupo C presenta menor IC_{50} entre todos los tiempos de cocción (6,8 $\mu\text{g/mL}$) ($p= 0,0029$), correspondiendo a una disminución de 19% al duplicar el tiempo de cocción. Estos resultados muestran que la Maca C, la que corresponde a una cocción de 60 minutos, es la que exhibe mejor capacidad antioxidante mediante las dos técnicas con los radicales libres $ABTS^{•+}$ y DPPH. El tiempo de cocción influye en la capacidad antioxidante de la maca probablemente porque favorece mecanismos endógenos que permiten la liberación de metabolitos secundarios solubles tipo polifenoles que pudieran estar confinados dentro de macromoléculas (proteínas o carbohidratos), esto en base a que trabajos previos en la literatura han demostrado que una serie de reacciones sólo toman lugar a través de acciones endógenas, procesos enzimáticos o no enzimáticos⁵.

Determinación de equivalentes trolox (TEAC)

Las curvas de calibración con los dos radicales libres para el estándar trolox produjeron gráficas lineales, en el ensayo con $ABTS^{•+}$ con un coeficiente de correlación R^2 : 0,97221 y para el ensayo con DPPH un coeficiente de correlación de R^2 : 0,99982. A partir de las cuales fue posible expresar la actividad antioxidante de los extractos acuosos de la maca evaluadas en $\mu\text{g trolox/g}$ de extracto. En la tabla 4 se muestra la actividad antioxidante de los extractos acuosos de maca, obtenidos mediante los ensayos de DPPH y $ABTS^{•+}$ expresada en equivalentes trolox. Igualmente se identifica que el tiempo de cocción de 60 minutos de la Maca C es la que presentó mejor capacidad antioxidante.

Tabla 4. Equivalente Trolox para los ensayos $ABTS^{•+}$ y DPPH[•]. De los extractos acuosos de maca

MACA	TEAC ($\mu\text{g trolox / g}$ de extracto)	
	$ABTS^{•+}$	DPPH
A	445,73	541,81
B	581,81	537,35
C	762,47	672,09

Se han reportado criterios de selección para extractos vegetales con base en el IC_{50} evaluado frente a DPPH; considerando de alto potencial antioxidante aquellos con valores menores a 30 $\mu\text{g/mL}$, con moderado potencial ubicados en un rango entre 30 $\mu\text{g/mL}$ y 100 $\mu\text{g/mL}$ y de bajo potencial antioxidante aquellos con un IC_{50} por encima de 100 $\mu\text{g/mL}$ ²⁰. En nuestro trabajo la capacidad antioxidante de los extractos acuosos frente al radical DPPH medida en IC_{50} , es mayor en la maca de 60 minutos de cocción, con 6,80 $\mu\text{g/mL}$. Considerando nuestros resultados, la maca en los tres tiempos de cocción presenta un alto potencial antioxidante, sin embargo, la cocción por 60 minutos favorece en obtener el mayor potencial antioxidante. Los valores obtenidos de IC_{50} de la maca negra son menores a los reportados por Sandoval *et al.*²¹ (2002), donde encontraron un IC_{50} de 610 $\mu\text{g/mL}$. Incluso es menor a otros ecotipos evaluados posteriormente por Carrión *et al.*²² (2009) con IC_{50} de DPPH para maca amarilla, blanca, morado: 367,7; 317,5; 313,4 ($\mu\text{g/mL}$), respectivamente. El valor obtenido es también

menor a lo recientemente reportado por Doroteo *et al.*²³ (2013) obteniendo resultados de IC_{50} mayor a 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en maca. Esta diferencia podría explicarse por la diferencia metodológica en la preparación del extracto de maca, además que existe una diferencia entre los trabajos respecto a la determinación del valor real de la concentración de la maca en los extractos evaluados. En el presente trabajo se consideró como la concentración de la maca al peso seco de la solución suministrada y no a la maca pulverizada utilizada para preparar la solución acuosa. Otra diferencia es el tiempo de cocción de 10 minutos empleados en los trabajos de Sandoval *et al.*²¹ y de Carrión *et al.*²²

La mayor capacidad antioxidante en la maca C, cocción por 60 minutos expresado como IC_{50} en ambos ensayos $ABTS^{\bullet+}$ y DPPH, demuestra que hay una alta correlación entre ambos ensayos (DPPH y $ABTS^{\bullet+}$) para la maca, tal como lo observado en otras investigaciones^{24,25}. Tanto para el ensayo $ABTS^{\bullet+}$ al igual que para el ensayo DPPH, el tiempo de cocción de maca por 60 minutos también presentó la mejor capacidad antioxidante equivalente al trolox. En otros trabajos, como el de Becerra *et al.*²⁶, 2011, se ha visto una subestimación del valor de equivalente trolox en DPPH comparado al método con $ABTS^+$, en el presente trabajo no se ha podido encontrar este tipo de subestimaciones. Lo cual nos indica que ambos métodos son comparables y pueden ser usados. A pesar que se ha encontrado una alta correlación entre ambos ensayos (DPPH y $ABTS^{\bullet+}$), tal como se ha observado en otras investigaciones el ABTS presenta importantes ventajas, como de tener amplia solubilidad^{24,25}, permitiendo ensayos con extractos o moléculas tanto de naturaleza lipofílica como hidrofílica, además del menor tiempo para la evaluación.

Glucemia en ratas diabéticas

En los grupos diabéticos, con suplemento y sin suplemento de maca de 60 minutos de cocción (maca C), se observó que el primer día que se indujo a diabetes ambos grupos presentaron una similar concentración de glucosa. En el quinto día el grupo STZ+Agua incrementó en 136,1% la glucemia mientras que el grupo STZ+Maca se incrementó en 75,1% la glucemia. El pico de glicemia en el grupo STZ+Agua se alcanzó en el día 9 mientras que el pico de glicemia en el grupo STZ+Maca se alcanzó en el día 14, es decir que el tratamiento retrasó el pico de glicemia. Las ratas diabéticas que recibieron maca mantuvieron un grado de glucemia por debajo de los 300 mg/mL en el pico más alto, es decir alcanzó un incremento máximo de 107,0% con respecto al día de inicio con estreptozotocina, no se halló diferencia significativa durante todo el tiempo de tratamiento (tabla 5). Sin embargo, en aquellas ratas diabéticas sin suplemento de maca se apreció que la glucemia promedio alcanzó un incremento de 272,4%, mayor al doble del grupo que recibió dieta con maca, encontrándose diferencia significativa ($p=0,04$), entre todas las medias del tiempo de evaluación (tabla 5).

Tabla 5. Evolución de la glucemia en las ratas diabéticas tratadas con extracto de Maca C

TRATAMIENTO	DÍA (Glucosa mg/mL)				
	1	5	9	14	19
STZ+Agua 1(n=4) ^a	115,8	273,3	431,0	306,5	225,0
STZ+Maca C (n=4) ^b	117,3	205,3	232,8	242,8	186,8

Prueba no paramétrica de Friedman, a= Hay diferencia entre las medidas repetidas en el grupo STZ+Agua ($p=0,027$) $\chi^2= 11.0$, b= No hay diferencia entre las medidas repetidas entre los grupos STZ+Maca ($p= 0,92$) $\chi^2=8$. $\alpha = 0,05$ para ambos grupos evaluados.

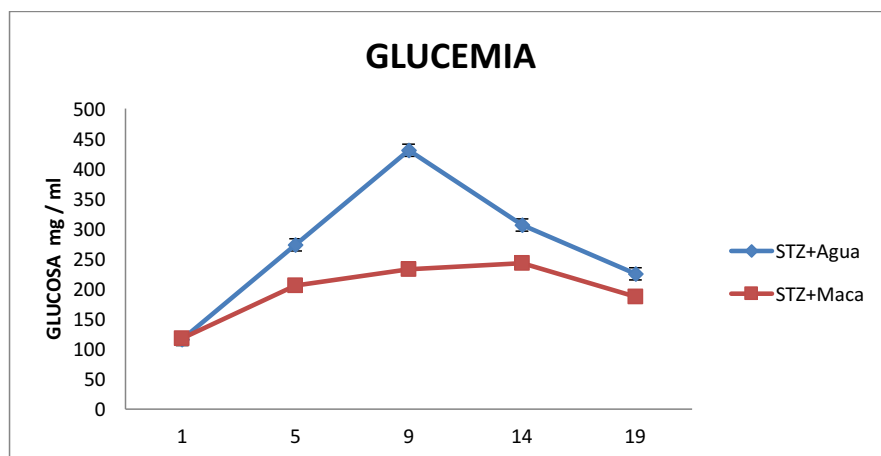


Figura 1. Evolución glucémica de los tratamientos con y sin maca. Se realizó el suplemento de maca desde el primer día de evaluación y determinación de diabetes.

Del resultado de la evaluación de la glucemia de los grupos tratados con maca se observó que la maca permitió mantener grados moderados de glucemia (figura 1). Rodrigo *et al.*¹⁰, en el 2010, también llegaron a la conclusión que la maca amarilla tiene la capacidad de mejorar el metabolismo de la glucosa reduciendo en 50% la glucemia, es decir tiene un efecto hipoglucemiante. En los resultados obtenidos desde el pico más alto de glucemia, la maca sólo pudo lograr una reducción en 23% de la glucemia, esto se explica por la diferencia de tiempo de tratamiento en ambos trabajos, 46 días en el trabajo de Rodrigo *et al.*¹⁰, 26 días más de tratamiento que en este trabajo; esta reducción de la glucemia podría estar explicada debido a que la maca incrementó la producción de la insulina en un 22% por mecanismos todavía desconocidos¹⁰. En el 2013, Gonzales *et al.*²⁷ también reportaron un efecto hipoglucemiante de la maca negra en un modelo de diabetes experimental con

estreptozotocina en ratones. Esta propiedad podría estar explicada en el trabajo reciente de Yin *et al.*¹⁹ en el 2016, donde encontraron que algunos componentes de la maca, alcaloides y macaínas, tienen una actividad inhibitoria de enzima convertidora de angiotensina I, pudiendo funcionar potenciando la reducción del azúcar en la sangre como los antidiabéticos orales e insulina, aunque sus mecanismos aún se desconocen.

CONCLUSIONES

La preparación de la maca de forma tradicional con un tiempo de cocción de 60 minutos produce un incremento de la capacidad antioxidante *in vitro* de 41,5% y 19% en los valores de IC50 empleando ABTS^{•+} y DPPH, respectivamente, frente al tiempo de cocción de 30 minutos. Evaluado *in vivo*, en ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina y tratadas con maca negra se observa que la hiperglicemia alcanza un incremento de 107% frente al 272% en el grupo de ratas diabéticas sin tratamiento con maca negra, lo que refleja su potencial hipoglucemiante.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo tuvo el apoyo económico parcial de la Facultad de Medicina de la UNMSM. Un agradecimiento especial a la Mg. Inés Arnao por su apoyo en el laboratorio “Marino Villavicencio” del CIBN y a Rudy López por su apoyo técnico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gonzales GF, Gasco M, Cordova A, Chung A, Rubio J, Villegas L. Effect of *Lepidium meyenii* (Maca) on spermatogenesis in male rats acutely exposed to high altitude (4340 m). *J Endocrinol.* 2004; 180:87–95.
2. Sandoval M, Okuhamaa NN, Angelesa FM, Melchora V V, Condezob L A, Laob J, Millera M JS. Antioxidant activity of the cruciferous vegetable Maca (*Lepidium meyenii*). *Food Chem.* 2002; 79: 207–213.
3. Tello J, Hermann M, Calderón A. La maca (*Lepidium meyenii* Walp.) cultivo alimenticio potencial para las zonas altoandinas. *Bol Lima.* 1992; 14:59-66.
4. Meissner H O, Mscisz A, Mrozikiewicz M, Baraniak M, Mielcarek S, Kedzia B, Piatkowska E, Jólkowska J, Pisulewski P. Peruvian Maca (*Lepidium peruvianum*): (I) Phytochemical and Genetic Differences in three Maca Phenotypes. *Int J Biomed Sci.* 2015; 2(3): 131-145.
5. Esparza E, Hadzich A, Kofer W, Mithöfer A, Cosio EG. Bioactive maca (*Lepidium meyenii*) alkaloids are a result of traditional Andean postharvest drying practices. *Phytochem.* 2015;116: 138–148
6. Castaño MP. Maca (*Lepidium peruvianum* Chacon): composición química y propiedades farmacológicas. *Rev Fitoterapia.* 2008; 8(1):23-30.

7. Dini I, Tenore G.C, Dini A. Glucosilates from Maca (*Lepidium Meyenni*). *Biochem System Ecol.* 2002; 30: 1087-1090.
8. Cernea S y Dobrea M. Diabetes and beta cell function: from mechanisms to evaluation and clinical implications. *Biochem Med (Zagreb).* 2013; 23(3): 266–280.
9. Turan B. Role of antioxidants in redox regulation of diabetic cardiovascular complications. *Curr Pharm Biotechnol.* 2010 ;11(8):819-36.
10. Rodrigo ME, Valdivieso R, Suárez S, Oriondo R, Oré R I. Disminución del daño oxidativo y efecto hipoglicemiante de la maca (*Lepidium meyenii Walp*) en ratas con diabetes inducida por streptozotocina. *An Fac Med.* 2010; 71 Supl 1.
11. Oré S. Efectos hipolipémico y antioxidante de *Lepidium meyenii Walp* en ratas. [Tesis Doctoral en Ciencias Biológicas]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2008.
12. Giovannini P, Howes MJ R and Edwards SE. Medicinal plants used in the traditional management of diabetes and its sequelae in Central America: A review. *J Ethnopharmacol.* 2016; 26 (184):58-71.
13. Re R, Pellegrini Ni, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med.* 1999; 26: 1231–1237.
14. Kuskoski E M, Asueroro A G, Troncoso A M, Garcia-Parilla M C, Fett R. Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. *Rev Bras Ciênc Tecnol Alim.* 2004; 24 (4): 691-693.
15. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT Food Sci Technol.* 1995; 28, 25–30.
16. Kim D-O, Lee KW, Lee H J, Lee C Y. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *J Agric Food Chem.* 2002; 50: 3713-3717.
17. Valerio LG, Jr, Gonzales GF (2005). Toxicological aspects of the South American herbs cat's claw (*Uncaria tomentosa*) and Maca (*Lepidium meyenii*): a critical synopsis. *Toxicol Rev.* 2005; 24:11–35
18. Gonzales GF, Villaorduña L, Gasco M, Rubio J, Gonzales C. Maca (*Lepidium meyenii Walp*), una revisión sobre sus propiedades biológicas. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2014; 31(1):100-10.
19. Yi F, Tan XL, Yan X y Liu HB. In silico profiling for secondary metabolites from *Lepidium meyenii* (maca) by the pharmacophore and ligand-shape-based joint approach. *Chin Med.* 2016; 11: 42.
20. Ramos A, Vizoso A, Piloto J, García A, Rodríguez CA, Rivero R. Screening and antimutagenicity via antioxidant activity in Cuban medicinal plants. *J Ethnopharmacol.* 2003; 87: 241-246.
21. Sandoval M, Okuhamaa NN, Angelesa FM, Melchora V V, Condezob L A, Laob J, Millera M JS. Antioxidant activity of the cruciferous vegetable Maca (*Lepidium meyenii*). *Food Chem.* 2002; 79: 207–213.
22. Carrión J, León K, Santiago J. Actividad antioxidante de tres ecotipos de maca (*Lepidium Mayenii Walp*) tratada con radiación gamma. *Rev Per Quím Ing Quím.* 2009. 12 (2), 72-77.
23. Doroteo VH, Diaz C, Terry C, Rojas R. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante

- in vitro* de 6 plantas peruanas. Rev Soc Quím Perú. 2013; 79 (1): 13-20.
24. Babbar N, Oberoi HS, Uppal DS, Patil RT. Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. Food Res Int. 2011; 44: 391–396.
 25. Floegel A, Kim D, Chung S, Koo S I, Chun O K. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. J Food Comp Anal. 2011; 24: 1043–1048.
 26. Becerra M, Machado P, Campos A, Do Prado G, Carvalho C, Arraes G, Gomes T. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. Food Res Int. 2011; 44: 2155-2159
 27. Gonzales GF, Gonzales-Castañeda C y Gasco M. A mixture of extracts from Peruvian plants (black maca and yacon) improves sperm count and reduced glycemia in mice with streptozotocin-induced diabetes. Toxicol Mech Methods. 2013; 23(7): 509-518.

TRANSFERENCIA DE ARSÉNICO EN EL SISTEMA AGUA-SUELO-MAÍZ DE *Zea mays* L. CULTIVADOS EN LA QUEBRADA DE CAMIÑA, NORTE DE CHILE

Venecia Herrera Apablaza^{1,2,3*}, Cristian Carrasco Farías^{1,2}, Patricia Sandoval Cárcamo², Claudia Cortés Carvajal²

RESUMEN

En la quebrada de Camiña, norte de Chile, las aguas naturales usadas para cultivar maíz (*Zea mays* L.), sobrepasan la concentración de arsénico en cinco veces la legislación chilena NCh1333. Se determinó su capacidad de fitoextracción del elemento, por el factor de bioconcentración (FBC) y si hay riesgo en el consumo de granos y hojas, mediante el cálculo del porcentaje del factor de translocación (PFT) en plantas adultas, obtenidas de seis predios del valle de Camiña, integrando la caracterización de aguas y suelos. Las concentraciones en agua alcanzaron $0,41 \pm 0,09$ mg/L; los suelos contaminados presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los sitios, precisando tres niveles: 30, 100 y 300 mg/kg. Los valores en hojas y granos fue variable $3,9 \pm 2,0$ y $0,10 \pm 0,14$ mg/kg, respectivamente. No existe relación lineal entre suelo y raíz, ni con las partes aéreas. Las raíces absorben y acumulan arsénico, obteniendo FB de $2,36 \pm 1,10$ ($n=30$), sin embargo, no ocurre la transferencia de la raíz a la parte aérea, dado que los PFT obtenidos fueron bastante bajos (entre 1,57 a 5,90 % en hojas y 0,02 a 0,11 % en granos), en consecuencia, no hay riesgo en su consumo.

Palabras clave: Arsénico, maíz, factor de biocentración (FB), factor de translocación (FT), quebrada de Camiña

TRANSFER OF ARSENIC IN THE WATER-SOIL-MAIZE SYSTEM OF *Zea mays* L. OF CULTIVATED IN THE QUEBRADA DE CAMIÑA, NORTHERN CHILE

ABSTRACT

In the Quebrada de Camiña, northern Chile, the natural waters used to grow maize (*Zea mays* L.), exceed the arsenic concentration five times the NCh1333. In this work, the capacity of phytoextraction by bioconcentration factor (CBF) and the risk of grain and leaf consumption were determined by calculating percentages translocation factor (PFT) of leaf and grain in adult plants obtained from six sites of the valley of Camiña, integrating the characterization of waters and soils. The concentration in the water was 0.41 ± 0.09 mg/L. The contaminated

¹ Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Arturo Prat, Casilla 121, Iquique, Chile.

² Centro de Investigación en Medio Ambiente CENIMA, Universidad Arturo Prat, Casilla 121, Iquique, Chile.

³ Centro de Investigación y Desarrollo en Recursos Hídricos CIDERH. Universidad Arturo Prat. Vivar 493, 3er Piso. Casilla 121, Iquique. Chile. vherrera@unap.cl

soils presented significant differences ($p < 0.05$) between the sites, defining three levels: 30, 100 and 300 mg/kg. The values in leaves and grains were variable 3.9 ± 2.0 and 0.10 ± 0.14 mg/kg, respectively. There is no linear relationship between soil and root and aerial parts. The roots absorb and accumulate arsenic, obtaining CBF of 2.36 ± 1.10 ($n = 30$), however, the transfer of the root to the aerial part does not occur, since the PFT obtained were quite low (between 1.57 to 5.90% in leaves and 0.02 to 0.11% in grains), consequently, there is no risk in consumption.

Key words: Arsenic, maize, biocontraction factor (FB), translocation factor (FT), quebrada de Camiña

INTRODUCCIÓN

Arsénico y sus especies químicas son considerados como agentes cancerígenos para humanos y nocivos para animales y plantas. La mayor amenaza para la salud pública reside en el consumo de agua para beber, preparar alimentos y regar cultivos alimentarios por la transferencia en el sistema agua-suelo-cultivo. Las plantas tienen una enorme capacidad de acumular contaminantes desde el entorno y llevar a cabo su desintoxicación por diversos mecanismos, tales como la absorción por las raíces, su translocación y acumulación en tallos y hojas. La planta de maíz (*Zea mays* L.) posee gran valor nutritivo en almidón, proteínas, lípidos y otras biomoléculas, es el cereal de mayor cultivo en el planeta y posee características y habilidades de un fitorremediador^{1,2}. Investigaciones en cultivos de maíz en Tanzania reportaron acumulación de arsénico en su raíz y muy bajos valores de porcentaje de factor de translocación en grano³. Baig *et al.* (2010)¹, demostraron que el orden en la capacidad de translocación de arsénico en planta de maíz fue mayor para la raíz que en tallo y en grano. En cultivos de la misma especie, cercanos a una área minera en México, se ha demostrado que depende de las características del suelo si ocurre la acumulación en la raíz y que prácticamente no ocurre translocación desde la raíz hacia diferentes partes de la planta, señalando que los contenidos en grano son siempre inferiores a aquellos obtenidos en hojas, tallo y raíz⁴. Existe un diagnóstico y se compararon, de la literatura disponible, las concentraciones y fitodisponibilidad de arsénico en diversos suelos agrícolas para cultivo de maíz, la transferencia desde el suelo hacia raíz-tallo y los porcentajes de factor de translocación desde la raíz hacia las partes aéreas (tallo-hojas-grano)⁵.

Es reconocido que en el medio ambiente del norte de Chile existen elevadas concentraciones de arsénico^{6,7}. En suelos contaminados naturalmente con el elemento, de la precordillera de la región de Antofagasta se reportan valores de concentración para granos de maíz entre 0,02 a 0,40 mg/kg⁷. Por su parte, la región de Tarapacá posee un sistema hidrológico particular, las precipitaciones son escasas y ocurren en época estival sobre los 3500 metros sobre el nivel del mar (msnm). La única vertiente que desagua en el océano Pacífico es la quebrada de Camiña, cuyas aguas con 0,40 a 0,60 mg/L en arsénico están bajo incumplimiento de la legislación chilena, según NCh 1333⁸. Estas aguas del río y manantiales que se encuentran en las laderas de la quebrada son captadas para uso de riego en cultivos de maíz (*Zea mays* L.)

en diversos predios y parcelas. Los choclos que se cultivan, llamados localmente choclos camiaños, pertenecen a la variedad llamada Maíz Capio Chileno Chico o Maíz Blanco, de sabor dulce. En el norte grande de Chile, según el Instituto de Investigaciones Agropecuarias, se distribuye entre los 2600 a 3700 msnm y es resistente al frío y las sequías. Las hojas de las plantas son usadas como fertilizantes y alimento para ganado familiar. Recientemente, la red de SERNAGEOMIN ha realizado un mapa de metales y metaloides en los suelos y sedimentos de la región de Tarapacá, donde se determinó la existencia de una rareza geoquímica de arsénico, denominada Anomalía Regional Putre – Camiña⁹. Aunando a esto, en esta zona, no existe información científica disponible relacionada con la transferencia de arsénico en los cultivos.

En este trabajo se determinó para arsénico total, la capacidad de fitoextracción de *Zea mays* L., mediante el factor de bioconcentración (FBC) en la raíz y el riesgo del consumo de grano y hojas, según valores del cálculo del porcentaje de factor de translocación (PFT) de plantas adultas obtenidas de seis predios del valle de Camiña, integrando la caracterización fisicoquímica de las matrices abióticas aguas de riego y suelos cultivados. También se consideró un sector agrícola lejano a la quebrada (Estación Experimental Canchones en la comuna de Pozo Almonte), como testigo.

PARTE EXPERIMENTAL

El área de estudio se sitúa al noreste de la ciudad de Iquique, en la Precordillera (valle) de la quebrada de Camiña ($19^{\circ}12' - 19^{\circ}32'S$ y $69^{\circ}45' - 69^{\circ}12'W$), norte de Chile. La quebrada es una unidad hidrológica superficial del tipo cuenca exorreica que desemboca en la localidad de Pisagua. Posee longitud de 140 km aproximadamente, desde su inicio en los alrededores del cerro Pumiri ubicado a una altura de 5484 msnm. La comuna de Camiña posee 19 localidades con aproximadamente 1100 habitantes que viven en caseríos ubicados en terrazas aluviales. La principal actividad económica es la agricultura destinada a la producción de hortalizas y verduras y en menor proporción la ganadería a nivel familiar. Considerando las características agroclimáticas de la comuna, existe una suerte de especialización de las zonas de cultivo para la producción de cierto tipo de especies, en la parte intermedia de la quebrada (localidades de Apamilca, Chapiquilta y Camiña) los cultivos que mejor se desarrollan son ajo blanco, cebolla, alfalfa y maíz.

Las campañas de terreno en el valle de Camiña se realizaron en octubre del año 2015. Se seleccionaron tres predios ubicados en la ladera sur del río y tres en la ladera norte. Se colectaron muestras de agua de riego (AR1-AR6) y a la vez, de suelo cultivado (S1- S6) los cuales presentaban cultivos de maíz, excepto del sector 2. De cada uno de estos sitios, se tomaron cuatro plantas de maíz (*Zea mays* L.), y se obtuvieron las muestras compuestas de las raíces (R1-R6), de las hojas (H1-H6) y de los granos (G1-G6). Muestras similares (testigos) fueron colectadas en suelos agrícolas lejanos a la quebrada y corresponden a la Estación Experimental de Canchones (EEC) de la Universidad Arturo Prat de Iquique, en la comuna de Pozo Almonte. En cada sitio se colectaron tres réplicas de las muestras de agua de riego, suelo y planta.

En las muestras de agua se midieron la conductividad eléctrica (CE), el pH, el potencial redox y la concentración de oxígeno disuelto (OD) con equipo multiparamétrico WTW. Las muestras fueron filtradas a 0,45 μm para analizar los sólidos totales disueltos (STD) mediante gravimetría a $105 \pm 5^\circ\text{C}$; nitrato, N-NO_3^- , por espectroscopía UV a 220 nm; fosfato, P-PO_4^{3-} , por espectroscopía visible; boro, B por el método de la azometina a 420 nm, usando el equipo espectrofotómetro Arquimed Optizen UV/ Vis; y arsénico total, As, mediante espectroscopía de absorción atómica acoplado a generación de hidruro (EAA-GH)¹⁰.

Las muestras de suelo fueron secadas y tamizadas a 2 mm para determinar la humedad por gravimetría a $105 \pm 5^\circ\text{C}$ por 48 h y se conservaron en desecadora. Se midieron el pH y la CE en extractos acuosos 1:2 (suelo:agua de calidad HPLC); se determinó la concentración de carbono orgánico fácilmente oxidable (COFO) por valoración por retroceso con sulfato ferroso PA y la concentración de boro por azometina a 420nm¹¹. Para análisis de arsénico, se trabajó en la fracción inferior a 63 μm de la muestra de suelo.

Las muestras compuestas de raíces, hojas y granos de choclo provenientes de las cuatro plantas de *Zea mays* L. se dejaron secar al aire por tres días en bandejas plásticas, teniendo precauciones para un ambiente libre de contaminantes. Los choclos blancos se desgranaron y los granos fueron lavados cuidadosamente con agua destilada, al igual que las hojas. Para liofilizar las muestras biológicas se congelaron por tres días a -80°C en un congelador Gene Press Glacier -86°C Ultralow Temperatura Freezer; luego fueron liofilizadas por 72 h, en un equipo CHRIST modelo Alpha 1-4 LD plus y posteriormente pulverizadas con mortero de ágata, se guardaron en bolsas herméticas y se conservaron en desecadora, previa cuantificación de humedad.

La digestión del suelo se realizó con la mezcla de ácidos concentrados de calidad supra pure (sp) $\text{HCl}/\text{HNO}_3/\text{HF}/\text{H}_3\text{BO}_3$ en bombas de teflón a alta presión a $170 \pm 5^\circ\text{C}$ por 3h¹². Se realizaron siete pruebas para seleccionar la mejor digestión de las matrices bióticas seleccionando para hojas y grano, la mezcla de ácidos concentrados de calidad supra pure (sp) HNO_3/HCl 1:1 en sistema de reflujo a 50°C por 24 h; para la raíz se utilizó la mezcla de ácidos concentrados de calidad supra pure (sp) $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$ 1:1 en sistema de reflujo a 80°C por 24h. Los extractos se mantuvieron en envases de polietileno y refrigerados a 4°C . La determinación de arsénico total se llevó a cabo por EAA-GH, en un equipo Perkin Elmer modelo PinAAcle 900H con un generador de hidruros FIAS 100, previa pre-reducción de arsénico, desde As (V) a As (III), con KI en medio de ácido ascórbico y HCl concentrado. Para la curva de calibración entre 2,00 a 20,0 $\mu\text{g/L}$, se preparó desde una solución Tritrisol 1000 mg/L Merck. Se midió a 193,87 nm, en celda T de cuarzo a 900°C , con llama de aire-acetileno (20 y entre 70-80 psi, respectivamente) y argón (50 -100 psi). El reactivo reductor usado fue 0,2% NaBH_4 en 0,3% NaOH a 6mL/min y HCl 10 % a flujo de 10 mL/min. Los análisis se hicieron en duplicado y la calidad de los resultados y validación de protocolos se evaluó mediante el análisis de material de referencia certificado “San Joaquín soil SRM 2709” y “Virginia Tobacco Leaves CTA-VTL-2” por duplicado, obteniéndose un 88 a 100% de recuperación. Todas las concentraciones son expresadas en base a peso seco de la muestra. Se determinó el FBC por la proporción entre la concentración de arsénico en la raíz y en el suelo. Por su parte, se calculó el PFT para hojas y granos en relación al contenido en la raíz^{1,2,5}.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La caracterización de los estadísticos básicos de parámetros de la calidad del agua de riego en el área de estudio y datos obtenidos del sector de la EEC, son resumidos en la tabla 1. Las mediciones de pH clasifican a las aguas como levemente alcalinas, sin mayores variaciones. La alcalinidad es producida por el equilibrio entre carbonatos y bicarbonatos, aunque en ocasiones contribuyen boratos y silicatos. El pH observado se encuentra en el intervalo de pH de las aguas naturales que se conserva entre 6,5 y 8,5 y es de relevancia en varios fenómenos fisicoquímicos y biológicos tales como reacciones redox, procesos de sorción y reacciones de solubilización-precipitación de iones en disolución^{10,14}. Los valores de la concentración de OD establecen que son aguas oxigenadas, principalmente, por efecto de escorrentías, sin embargo, las mediciones del potencial redox indican un sistema acuático reductor. Los valores de CE y STD, relativamente altos para ríos, permiten establecer que son aguas dulces. Las concentraciones de nitrato y fosfato obtenidas son consideradas normales para aguas naturales, y la relación N/P proporcionó como resultado un amplio intervalo entre valores de 73 a 343, observándose que se encuentra muy por sobre la proporción para aguas continentales de N/P=15, que considera en el equilibrio, los procesos dinámicos de la fotosíntesis y reparación en el sistema acuático. El contenido de boro sobrepasa la máxima concentración admisible declarada en la legislación chilena, a través de la NCh 1333 para agua de riego que es 0,75 mg/L de B.

Tabla 1. Estadísticos básicos de los parámetros físico-químicos de las muestras de agua de riego (N = 24) de Camiña y valores para ECC (en unidades de mg/L).

	T	CE	Redox	pH	OD	STD	N-NO ₃ ⁻	P-PO ₄ ⁻³	B
Estadístico	(°C)	(µS/cm)	(mV)						
Min.	13,8	933	-86	8,16	5,29	529	9,9	0,02	7,8
Max.	15,8	1143	-70	8,47	7,22	676	10,8	0,11	8,86
Prom.	15,3	1041	-78	8,33	6,5	602	10,3	0,07	8,21
DE	0,7	78	5	0,09	0,65	44	0,2	0,03	0,34
ECC	21,1	1290	-15	8,07	5,49	936	10,03	0,07	4,91

La figura 1 muestra, en diagrama de caja y bigote, la distribución de arsénico total en las aguas de riego usadas en los predios seleccionados del valle de Camiña y del sector de la EEC, observando que están bajo incumplimiento de la legislación chilena en Camiña, pero no aquellas del sector Canchones. Si se considera que la concentración máxima de arsénico permitida para el agua de riego según NCh.1333 es de 100 µg/L, el valor promedio obtenido en este trabajo supera en cuatro a cinco veces la legislación (0,41 ± 0,09 mg/L). Las aguas

del sector 1 alcanzan el máximo valor. De manera similar las aguas usadas para el riego, en la cuenca del río Camarones, aledaña hacia el norte de la quebrada de Camiña, poseen elevadas concentraciones de arsénico^{6,9}.

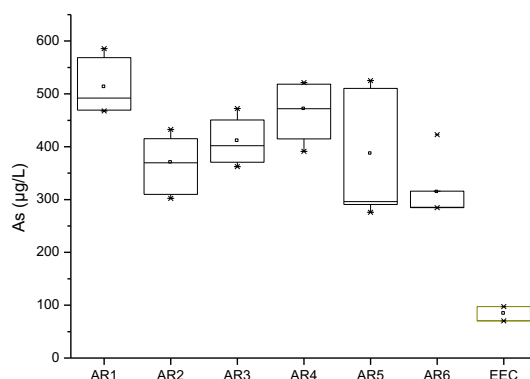


Figura 1. Distribución de arsénico en aguas de riego para los predios de Camiña y de la Estación Experimental Canchones (EEC).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha sugerido una concentración máxima admisible en aguas de consumo humano de 10 µg/L y en Latinoamérica incluyendo Chile desde el año 2007 adoptó el nivel de 10 µg/L, según la NCh 409, habiendo una excepción para la región de Arica y Parinacota y Tarapacá del 30 µg/L hasta el año 2017, en consecuencia, existe riesgo para la población rural expuesta, agricultores radicados y turistas que podrían llegar a consumir aguas naturales de la quebrada de Camiña.

Los resultados de la caracterización fisicoquímica de los suelos cultivados del valle de Camiña y del sector EEC se resumen en la tabla 2.

Tabla 2. Estadísticos básicos de los parámetros fisicoquímicos de las muestras de suelos cultivados del valle de Camiña y valores del sector Canchones, EEC.

Estadístico	CE (µS/cm)	pH	COFO (%)	B (mg/kg)	As (mg/kg)
Mín.	220	7,03	0,33	12,71	24,3
Máx.	911	8,22	3,73	33,74	375
Prom.	433	7,48	2,12	22,39	116
DE	217	0,34	1,21	5,23	94
EEC	2394 ± 35	7,76± 0,06	0,45± 0,05	5,17± 0,09	50,1± 2

La salinidad en los suelos, expresada por la CE, presenta un amplio intervalo siendo clasificados como suelos no salinos, por lo tanto no afecta a ningún cultivo, sin embargo, los suelos de la EEC son levemente salinos. La amplia variabilidad de los valores de CE, puede atribuirse a las condiciones climáticas propias de la zona, como: vientos que favorecen el transporte y decantación de sales desde la Pampa del Tamarugal, y los aluviones que ocurren en la quebrada durante la época estival de lluvias intensas en el Altiplano⁸. Además, el manejo de los suelos cultivados y el regadío por inundación, ya que parte de las aguas se infiltran en los suelos, mientras que el resto se evapora.

La medición del pH en un extracto acuoso del suelo permitió clasificarlos como suelos neutros a levemente alcalinos. Existen varios mecanismos que tamponan el pH de los suelos en los que participan, principalmente, hidróxido de aluminio, hidróxido de hierro, silicatos, dióxido de carbono, carbonatos y boratos entre otros. También influyen las reacciones de intercambio catiónico y los contenidos de sales en la superficie horizontal^{3,4}. Los suelos en general presentan valores entre 4 y 8,5 unidades de pH. Para suelos de zonas húmedas se considera normal entre 5 y 7 unidades de pH, pero para suelos de regiones áridas los valores oscilan entre 7 y 9 unidades de pH^{6,12}.

Las concentraciones de COFO clasifican a todos los suelos del tipo arenosos (COFO inferior al 5%). Este tipo de suelo es habitual encontrarlos en zonas de clima árido y semiáridos^{7,12}. La variabilidad se puede deber al manejo del suelo cultivado y/o la adición de fertilizantes de origen animal y vegetal. En general en el sector de S3, las muestras presentaron muy bajos valores de COFO, en cambio en los sectores S2, S5 y S6, los contenidos fueron mayores. Como era de esperar, existe una correlación negativa entre el pH y el porcentaje de COFO presente en los suelos en estudio ($r^2 = 0,7083$; $y = 2,9635x + 24,289$).

El contenido total de boro en los suelos fue variable y elevado, en su mayoría no es asimilable por las plantas, el valor asimilable es por lo general del 5%. En suelo arenoso, la concentración crítica con síntomas de carencia es de 0,3 mg/kg y el límite de concentración tóxica es de 5 mg/kg¹⁵. Los rangos de concentración de boro en la solución del suelo que causa deficiencia o toxicidad en las plantas, son más pequeños que para cualquier otro elemento, sin embargo, dichos rangos son específicos para cada especie de planta, en consecuencia, es probable que los cultivos en la zona posean tolerancia a boro.

Los suelos cultivados del valle de Camiña presentaron elevados niveles de arsénico y diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los sitios y del sector Canchones, como se muestra en los diagrama de caja de la figura 3. Niveles normales son entre 5 - 10 mg/kg, siendo el promedio mundial de 7,2 mg/kg; mientras que en los suelos del continente americano es de 7,4 mg/kg y en suelos pantanosos de 13 mg/kg^{6,15}. En la precordillera de la zona norte de Chile, los suelos están contaminados naturalmente; reportándose en suelos no cultivados entre 20-27 mg/kg y para suelos cultivados entre 64 y 448 mg/kg^{6,8}. En Bangladesh la concentración de arsénico reportada está en un rango de 9 a 28 mg/kg, en Alemania entre 2,5 a 4,1 mg/kg, en México de 2 a 40 mg/kg y en Argentina entre 0,8 a 22 mg/kg⁶.

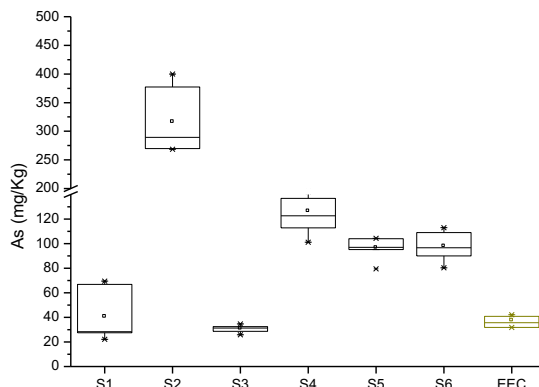


Figura 2. Distribución de arsénico en suelos cultivados del valle de Camiña y en el sector Canchones, ECC (testigo).

Los suelos del sector S2 presentaron el contenido más alto en arsénico, 304 ± 51 mg/kg. Les siguen los suelos de S4, S5 y S6 alcanzando un nivel similar de 101 ± 7 mg/kg. Esta concentración es análoga a la reportada en los suelos del área de la anomalía Putre - Camiña con 105 ± 10 mg/kg⁹. La propagación en el diagrama de caja para el predio S1 se debe a que una de las réplicas presentó valores bajos de arsénico con un promedio de 26 ± 2 mg/kg, y dos de estas presentaron el doble de esa concentración. Las muestras de la parcela S3 presentaron un promedio de $30,1 \pm 0,7$ mg/kg y en sector de Canchones 50 mg/kg, lo que se puede considerar como un intervalo normal en suelos del norte de Chile. La variabilidad observada puede deberse a varios factores tales como: manejo de los suelos agrícolas, el método de fertilización utilizado, además de la frecuencia y abundancia del riego. El origen natural del arsénico en el suelo es el material parental del cual deriva y la adición, por las aguas de la cuenca^{6,8}.

Para establecer relaciones entre la concentración de arsénico y los parámetros físico-químicos del suelo se omitió el sector S2. Existe una correlación negativa entre la concentración de arsénico y pH del suelo, cuyo coeficiente de correlación de Pearson ($r^2=0,7339$) confirma esta tendencia ya descrita por Rosas *et al.*, (2014a)⁴. También se encontró una correlación lineal positiva entre arsénico y COFO ($r^2=0,7449$). El contenido de materia orgánica del suelo es un factor importante que puede influir en la disponibilidad y movilidad de arsénico^{6,12}. Debido a la elevada variabilidad del arsénico en suelos, no existe correlación entre esta y las aguas usadas en el riego, lo que indica que la diferencia de arsénico y la adición del mismo en las aguas está asociada a un factor hidrogeológico y/o antropogénico de actividades agrícolas.

La concentración de arsénico en las raíces de la planta alcanzó un nivel bastante elevado con promedio de 146 ± 45 mg/kg e importante variabilidad. La figura 3 muestra la distribución del metaloide en las raíces de las plantas, obtenidos de los seis predios y en el sector de Canchones, ECC.

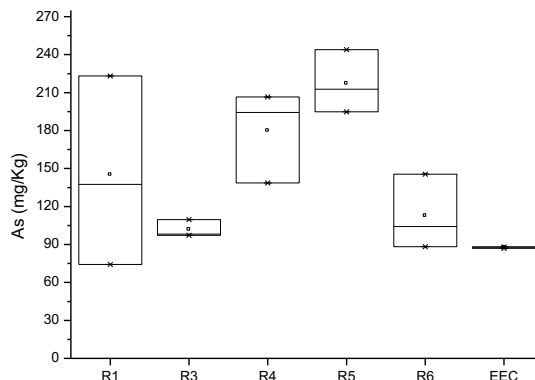


Figura 3. Distribución de arsénico en la raíz del maíz cultivado en los predios de Camiña y en el sector Canchones, ECC (testigo).

La mayor propagación de la serie de datos para las muestras compuestas del predio 1 (R1), se debe a que la raíz de la planta de una contramuestra presenta un valor elevado de 223 mg/kg y en el mismo sector en otras contramuestras alcanzó un valor de 74 mg/kg. Sin embargo, en el sector 3 y en sector EEC, las muestras presentan valores de arsénico en raíces con menos variabilidad y promedios similares. Dado que la mayoría de los suelos han sido catalogados como contaminados por arsénico, era de esperar que las raíces de estas plantas absorbieran y acumularan al elemento. Generalmente las plantas absorben las especies de arsénico que están disueltas en el suelo de cualquier forma iónica quelada o complejada, por los canales de fósforo, bioacumulándose en la raíz^{4,5,13}. No se encontró correlación lineal entre la concentración de arsénico en el suelo y la raíz y, en consecuencia, los valores calculados de los FBC para los sitios seleccionados, la EEC y sus réplicas fueron variables (tabla 3). El valor promedio para el FBC en el área de estudio fue de $2,36 \pm 1,10$ estableciendo la importante acumulación de arsénico en la raíz en todos los sectores estudiados, excepto en la parcela 4 en donde el FBC fue muy cercano a 1. Si se considera el sitio de referencia o testigo, EEC, su FBC cercano a 2 confirma la acumulación de arsénico en su raíz. Los resultados de FBC son comparables a los valores reportados en la literatura⁶ y aquellos valores determinados en los estudios reportados por Rosas *et al.* (2014a)⁵ con valores entre 0,04 a 8,0. El maíz cultivado en la zona posee habilidad para la fitorremediación de arsénico presente en el suelo.

Las concentraciones de arsénico obtenidas en las hojas de las plantas en estudio se muestran en los diagramas de caja de la figura 4. El valor promedio para Camiña fue de $3,9 \pm 2,0$ mg/kg, la amplia variabilidad en los resultados se ve reflejado en la muestra compuesta R3, la cual reportó la concentración más baja de arsénico de 1,3 mg/kg y la muestra R1 la cual registró la mayor concentración de 8,9 mg/kg. Según Kabata-Pendias, (2011)¹⁵, la concentración suficiente o normal aproximada de arsénico en la hoja de tejido maduro para varias especies vegetales es de 1 a 1,7 mg/kg y el nivel crítico o tóxico se establece entre 5 a 20 mg/kg. El 83% de las muestras superan la concentración normal de arsénico en hojas y el 25% posee una concentración de arsénico crítico en sus hojas, por lo tanto, el consumo de hojas en ganado familiar puede resultar inadecuado

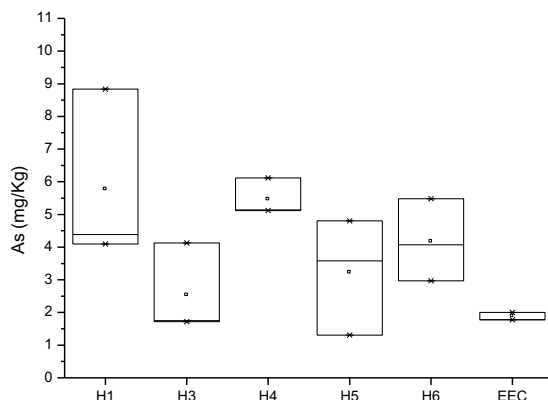


Figura 4. Distribución de arsénico en hojas de plantas de maíz, obtenidas de los seis predios del valle de Camiña.

Los resultados obtenidos en los granos del maíz muestran valores a nivel de ultratrazas de la concentración de arsénico, tal como se muestra la distribución espacial en el área de estudio y el testigo en la figura 5.

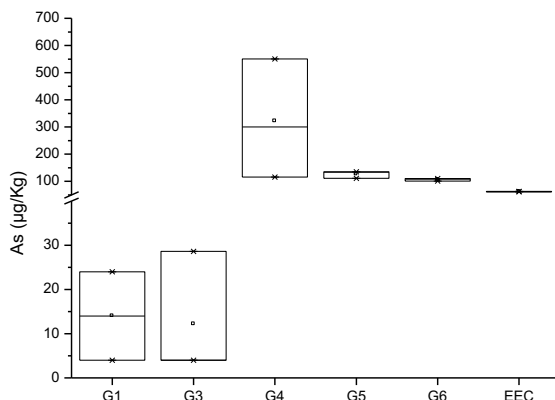


Figura 5. Distribución de arsénico total en granos de maíz obtenidos de las plantas de Camiña y de EEC

Algunos sectores presentaron concentraciones de arsénico inferiores al límite de detección (6 µg/kg), mientras que otros sectores se observó un amplio intervalo entre 30 µg/kg y el valor máximo en el sector 4, con 550 µg/kg. El valor promedio de arsénico en grano de Camiña fue de 140 ± 100 µg/kg, mientras que en la EEC se encontró un valor de 250 ± 40 µg/kg.

En Chile la normativa vigente del Decreto Supremo DS977-1996, Reglamento Sanitario de los Alimentos, (Diario Oficial de la República de Chile, Santiago, Chile, 13 de mayo de 1997), fija el nivel máximo de la concentración de arsénico en grano de 200 µg/kg. En base a lo anterior,

los granos de choclo de las plantas de maíz de la quebrada de Camiña se encuentran dentro de los valores permitidos por esta normativa, excepto la contramuestra G4B y la muestra del sector ECC que es levemente superior a la concentración sugerida por legislación. Además, se presentan concentraciones de arsénico normales al compararlos con los valores señalados para granos de maíz reportados en diversos estudios⁵. Las bajas concentraciones de arsénico, son debido a los procesos biológicos de la planta de bioacumulación y translocación, donde el fruto corresponde a la última sección de transporte de sustancias dentro de la morfología de las plantas⁵.

La tabla 3 muestra los PFT calculados desde la raíz hacia las hojas y desde la raíz hacia los granos, expresado en porcentaje. En este estudio, el valor medio de translocación de raíz a hojas fue de 3,17%, con un intervalo entre 0,54 y 6,36%, teniendo una amplia desviación estándar de 1,82; en otros trabajos se han reportado valores muy similares de 2,89% entre 0,9 y 6% y con una variación de 1,965. El PFT de la raíz hacia los granos de maíz no se logró determinar en el 37% de las muestras, debido a que el contenido de arsénico en las muestras de maíz en muchos fue inferior a LD. Una investigación similar en suelo, agua de riego y muestras de plantas de maíz, recolectadas de campos de maíz cerca de la zona minera de San Luis Potosí, México reporta de igual manera que la concentración de arsénico en los granos fue bajo el límite de detección⁴. En el caso del sector 3 se observaron PFT muy bajos en todas las muestras, esto concuerda con una translocación no significativa en las plantas de maíz a partir de raíces a los granos⁵.

Tabla 3. Valores de los FBC y PFT para los sectores en estudio

	FBC	PFT hoja (%)	PFT grano (%)
S1A	3,27	3,96	0,00
S1B	4,77	2,98	0,02
S1C	2,99	5,90	0,02
S3A	3,45	1,57	0,00
S3B	3,18	4,24	0,03
S3C	3,24	1,78	0,00
S4A	1,29	3,69	0,00
S4B	1,32	2,64	0,28
S4C	1,65	2,96	0,06
S5A	2,39	0,54	0,05
S5B	2,13	1,68	0,05
S5C	2,21	2,47	0,07
S6A	1,05	3,91	0,10
S6B	0,90	3,37	0,11
S6C	1,51	3,76	0,08
EECA	1,75	2,02	0,07
EECB	1,75	2,01	0,07
EECC	1,62	2,01	0,07

CONCLUSIONES

Las aguas naturales usadas para el riego de *Zea mays* L. cultivados en el valle de Camiña son dulces, levemente alcalinas, enriquecidas con nitrato y contaminadas con elevadas concentraciones de arsénico que superan en aproximadamente 40 veces la norma chilena para agua potable y cinco veces la norma de riego. Las aguas para riego del sector EEC cumplen con la norma nacional de riego. Los suelos cultivados de Camiña son arenosos, no salinos, de pH neutro-levemente alcalino, poseen escasa materia orgánica y están contaminados con boro y arsénico. Se tipificaron tres niveles, dos niveles elevados de arsénico 100 y 300 mg/kg y un nivel normal de 32 mg/kg, que correlacionó positivo con COFO. Los suelos arenosos y levemente alcalinos y salinos del sector Canchones poseen una concentración del metaloide levemente más elevada de 50 mg/kg.

Las plantas de maíz *Zea mays* L. bioconcentra arsénico con un factor de bioconcentración mayor que 1, lo que indica un mecanismo de translocación del suelo a la raíz, resultando ser un excelente fitorremediador. El arsénico acumulado en planta tiende a almacenarse en la raíz, impidiendo concentraciones elevadas de arsénico en partes aéreas, a pesar de los altos niveles de arsénico en suelos. Las concentraciones de arsénico en las diferentes partes de la planta de maíz presentaron el siguiente orden: raíz > hoja > grano. El consumo de granos de choclo provenientes de Camiña no presenta riesgo, ya que presentaron concentraciones de arsénico relativamente bajas.

No existe una clara correlación entre la concentración de arsénico en agua y suelos. No se encontró relación entre el arsénico del suelo y en las matrices biológicas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el financiamiento a CONICYT-GORE Tarapacá -Universidad Arturo Prat, proyecto CONICYT REGIONAL/CIDERH R09I1001, CENIMA-UNAP y a las comunidades del valle de Camiña.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Baig JA, Kazi TG, Shah AQ, Arain MB, Afridi HJ, Khan S, Khan S, Kandhro GA, Naeemullah, Soomro As. Evaluating the accumulation of arsenic in maize (*Zea mays* L.) plants from its growing media by cloud point extraction. *Food Chem Toxicol.* 2010; 48(11): 3051-3057.
- 2 Ali H, Khan E, Sajad MA. Phytoremediation of heavy metals-Concepts and applications. *Chemosphere.* 2013; 91: 869–881.
3. Marwa E, Meharg A, Rice CM. Risk assessment of potentially toxic elements in agricultural soils and maize tissues from selected districts in Tanzania. *Sci Total Environ.* 2012; 416: 180-186.

4. Rosas JM, Guzmán JL, Alfaro JM, Hernández A, Perez LN, Hinojosa L. Evaluation of the transfer of soil arsenic to maize crops in suburban areas of San Luis Potosi, Mexico. *Sci Total Environ.* 2014; 497–498: 153–162.
5. Rosas JM, Guzmán JL, Hernández A, Garza MT, Hinojosa L. Arsenic accumulation in maize crop (*Zea mays*): A review. *Sci Total Environ.* 2014; 488–489: 176–187.
6. Bundschuh J, Litter M, Parvez F, Román-Ross G, Nicolli HB, Jean JS, et al. One century of arsenic exposure in Latin America: A review of history and occurrence from 14 countries. *Sci Total Environ.* 2012; 429:2 -35.
7. Muñoz O, Díaz OP, Leyton I, Núñez N, Devesa V, Súñer MA, Vélez D, Montoro R. Vegetables collected in the cultivated Andean area of northern Chile: total and inorganic arsenic contents in raw vegetables. *J Agric Food Chem.* 2002; 50(3):642-7.
8. Lictevout E, Mass C, Córdoba D, Herrera V, Payano R. Recursos Hídricos Región de Tarapacá: Diagnóstico y sistematización de la información. Chile: Centro de Investigación y Desarrollo en Recursos Hídricos (CIDERH). Iquique: Universidad Arturo Prat; 2013.
9. Astudillo F, Lacassie JP, Baeza L, Barrera J, Carrasco F, Castillo P, et al. Principales Características Geoquímicas de sedimentos de la Hoja Pisagua, Regiones de Tarapacá y de Arica y Parinacota, Chile. XVI Congreso Geológico Chileno; 4-8 Oct 2015; La Serena, Chile. Santiago de Chile: Sociedad Geológica de Chile; 2015. P 272-276.
10. APHA, AWWA & WPCF. Métodos normalizados para el análisis del agua potable y residual. Madrid: Ediciones Díaz de Santos S.A.; 1992.
11. Sadzawka R, Carrasco M, Grez R, Mora M, Flores H, Neaman, A. Métodos de análisis recomendados para los suelos de Chile. Chile: Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Serie actas INIA N°34, Santiago de Chile; 2006.
12. Herrera V. De Gregori I, Pinochet H. Assessment of trace elements and mobility of arsenic and manganese in lagoon sediments of the salars of Huasco and Coposa, Chilean Altiplano. *J Chil Chem Soc.* 2009; 54 (3): 281-288.

SÍNTESIS DE NANOCOMPUESTOS POLIMÉRICOS CON GRAFENO Y SU CARACTERIZACIÓN MECÁNICA

Mercedes Puca Pacheco^{a*}, Enrique Tacuri Calanchi^a, Agérico Pantoja Cadillo^a,
María Guadalupe Neira Velázquez^b, Gonzalo Canché Escamilla^c.

RESUMEN

Los nanocompuestos poliméricos con grafeno se obtuvieron por polimerización heterogénea en semicontinuo *in situ*. Sus propiedades mecánicas se determinaron en las películas formadas con diferentes concentraciones de grafeno. El proceso de obtención de los nanocompuestos consistió en dos etapas: En la primera etapa el grafeno fue sintetizado por el método de Hummer modificado. En la segunda etapa consistió en la dosificación de estireno (St), acrilato de butilo (AB) y metacrilato de alilo (ALMA); a un caudal de 0,5 mL/min, sobre la dispersión de grafeno obtenida en la primera etapa. Se realizó la caracterización de las películas poliméricas por medio de ensayos mecánicos, diámetros promedios de partícula mediante la técnica de dispersión dinámica de luz (DLS) y el análisis cualitativo de grupos funcionales por espectroscopia infrarroja.

De acuerdo con los resultados obtenidos, los látexes sintetizados tuvieron una conversión final superior al 87,2%, y con un diámetro promedio de partícula comprendida entre 48,5 y 92,0 nm, cuyos diámetros aumentaron a medida que aumentaba la concentración de grafeno. Se obtuvo un aumento en su módulo de Young y una disminución en el porcentaje de deformación a rotura a medida que aumentaba el contenido de grafeno en el nanocompuesto polimérico. El mayor módulo elástico fue 5,28 MPa para un contenido másico de grafeno de 2%.

Palabras claves: Grafeno, nanocompuestos, propiedades mecánicas, películas poliméricas.

SYNTHESIS OF POLYMERIC NANOCOMPOSITES WITH GRAPHENE AND ITS MECHANICAL CHARACTERIZATION

ABSTRACT

Polymeric nanocomposites with graphene were obtained by semicontinuous heterogeneous polymerization *in situ*. Its mechanical properties were determined in the films formed with

^a Facultad de Química e Ingeniería Química, Universidad Nacional Mayor de San Marcos UNMSM. Av. Venezuela Cdra. 34, Lima 14, Perú. email: mpucap@hotmail.com

^b Departamento de Síntesis de Polímeros, Centro de Investigación en Química Aplicada Blvd, Enrique Reyna Hermosillo, No. 140, col San José de los Cerritos, CP 25294, Saltillo, Coahuila, México CIQA. Saltillo - México.

^c Unidad de Materiales, Centro de Investigación Científica de Yucatán A.C., Calle 43, No. 130, CP 97200, Mérida, Yucatán, México.

different concentrations of graphene. The process of obtaining the nanocomposites consisted of two stages: In the first stage the graphene was synthesized by the modified Hummer method. The second stage consisted of the dosing of styrene (St), butyl acrylate (AB) and allyl methacrylate (ALMA); at a flow rate of 0.5 mL / min, on the graphene dispersion obtained in the first stage. The characterization of the polymer films were done by means of mechanical tests, average particle diameter by dynamic Light Scattering (DLS) technique, and the qualitative analysis of functional groups was carried out by infrared spectroscopy.

According to the results obtained, the latexes synthesized had a final conversion greater than 87.2%, and with a particle average diameter between 48.5 and 92.0 nm, whose diameters increased as the graphene concentration increased. An increase in its Young's modulus and decrease in the percentage of the deformation at break were obtained as the graphene content in the polymer nanocomposite was increased. The largest elastic modulus of 5.28 MPa for the nanocomposite containing 2% of graphene.

Key words: Graphene, nanocomposites, mechanical properties, polymer films.

INTRODUCCIÓN

Actualmente los nanocompuestos poliméricos están presentando un alto interés debido a que pueden mejorar las propiedades de los polímeros. Los copolímeros de estireno y acrilato de butilo generalmente son empleados en películas poliméricas, recubrimientos, mejoradores de impacto, entre otros. Al combinarse un material rígido como el poliestireno con un material ahulado como es el poliacrilato de butilo, es posible su empleo en películas poliméricas, pero generalmente estos materiales tienden a degradarse por cambios térmicos, y como consecuencia disminuir sus propiedades mecánicas.

Los nanocompuestos poliméricos son materiales que se caracterizan por la dispersión homogénea de partículas de dimensiones nanométricas (menores de 100 nm) dentro de una matriz polimérica. En los materiales compuestos convencionales y, por tanto, con un componente, habitualmente inorgánico no nanoestructurado, existe una separación clara a nivel macroscópico entre las fases orgánica e inorgánica y donde el alto contenido de la carga conduce a una alta densidad, todo ello en detrimento de las propiedades y de la mejora del compuesto final. Por el contrario, los nanocompuestos poliméricos presentan un importante aumento de las características mecánicas y térmicas de las matrices que como acabamos de decir no se pueden conseguir a partir de los macrocompuestos. Un trabajo pionero sobre la preparación de nanocompuestos poliméricos fue llevado a cabo por Usuki y col. (1993), utilizando el sistema polímero-arcilla donde las cadenas del polímero (poliamida-6) se intercalaron entre los estratos de los silicatos¹. Estos sistemas han tenido, posteriormente, gran aceptación debido a las sorprendentes propiedades mecánicas y térmicas respecto a los polímeros puros y a otros compuestos con cargas convencionales. Igualmente, otras nanopartículas están siendo muy utilizadas para obtener nanocompuestos poliméricos: nanocerámicas, nanopartículas metálicas, distintos materiales carbonosos (fullerenos,

nanotubos de carbono, diferentes tipos de grafeno, nanodiamante), etc. De todos ellos, el grafeno ocupa un lugar destacado y está permitiendo abrir nuevas vías al desarrollo de materiales funcionales. Precisamente, sus propiedades excelentes y su obtención a partir de un material barato como es el grafito, es lo que explica el interés por este material y las altas prestaciones que se consiguen en distintos nanocompuestos poliméricos. Recientes estudios demuestran la alta conductividad térmica del grafeno², la resistencia mecánica comparable a los nanotubos de carbono³, las buenas propiedades de transporte⁴, y su considerable efecto termoeléctrico⁵. Con el fin de explotar estas propiedades, el grafeno se viene incorporando a matrices poliméricas, aunque es esencial disponer de una determinada organización morfológica, control estricto de la interfase, dispersión adecuada y fácil procesabilidad para alcanzar las mejores prestaciones del nanocompuesto. Estos requisitos se pueden conseguir gracias a la versatilidad de las propiedades superficiales del grafeno y que a su vez se pueden modificar según los fines específicos. Mediante el uso de moléculas orgánicas como isocianato de fenilo⁶ y porfirina⁷ unidas a la superficie de grafeno se mejoran las dispersiones en polímeros no polares como el poliestireno (PS). En general, la dispersión de grafeno se mejora mediante su modificación estructural⁸.

Por lo que el propósito del presente trabajo fue de obtener nanocompuestos poliméricos con grafeno para evaluar sus propiedades mecánicas, térmicas, estructurales y morfológicas.

PARTE EXPERIMENTAL

Reactivo y materiales

Los reactivos utilizados en este trabajo fueron: dodecilsulfato de sodio (SDS), persulfato de amonio (APS), acrilato de butilo (AB), estireno (St), metacrilato de alilo (ALMA), con purezas $\geq 98,5\%$, $99,99\%$, $\geq 99,0\%$ y $99,0\%$, respectivamente y suministrados por Merck Peruana. Los monómeros fueron destilados a presión reducida y almacenados a 4°C. Para la síntesis del grafeno se empleó grafito de Sigma- Aldrich. Se emplearon ácido sulfúrico, ácido clorhídrico concentrados y ácido ascórbico de Merck Peruana. Se empleó agua tridestilada, desionizada y filtrada. El nitrógeno fue grado UAP de Infra, purificado adicionalmente al pasarlo por una columna Oxiclear.

Síntesis del grafeno por el método de Hummer modificado y reducción con ácido ascórbico. Para ello se pesó 0,5 g de grafito y vertió en un matraz erlenmeyer de 250 mL, colocado dentro de un baño con hielo, luego se añadió lentamente 23 mL de ácido sulfúrico concentrado, manteniendo a una temperatura menor de 20 °C y en agitación por 4 hrs. Después, se agregó lentamente 3 g de KMnO_4 y se mantuvo en agitación durante 1 hr. y en baño con hielo para evitar explosión. Luego se elevó la temperatura hasta 35 °C, retirándolo del baño con hielo, para que pueda oxidar el KMnO_4 , y se mantuvo en agitación por 1 hr.

Luego se adiciona 45 ml de agua destilada y se calentó hasta 95°C; manteniéndolo en agitación durante 2 hrs., evitando que ebulle durante la reacción. Después se calentó y agregó 100 ml de agua destilada y se mantuvo en agitación durante 1 hr. Finalmente, se adicionó 10

ml de solución de peróxido de hidrógeno al 30%, y se agitó durante 1 hr. Una vez formado el óxido de grafeno, se procedió a lavarlo con solución de HCl al 5% y luego con agua destilada hasta que el pH del líquido del filtrado sea de 7.

El óxido de grafeno separado se vertió en un vaso de precipitado de 250 ml y se agregó 200 ml de una solución de ácido ascórbico al 5% para lograr la reducción y se mantuvo en agitación durante 2 hrs. Para la etapa de reducción se empleó el ácido ascórbico, ya que no es tóxico en comparación con la hidracina que es empleada de manera convencional. En esta etapa puede crearse defectos topológicos y vacantes producidas durante la eliminación de los grupos funcionales⁹. Luego se procedió a filtrarlo y lavarlo con agua destilada hasta lograr un pH de 7 en el líquido de filtrado (figura 1)

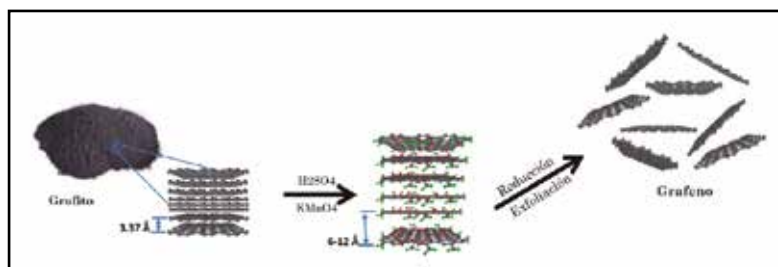


Figura 1. Síntesis de grafeno por el método de Hummer modificado

Síntesis del nanocompuesto polimérico reforzado con grafeno mediante polimerización heterogénea en semicontinuo (polimerización *in situ*).

Se vierte en un balón de tres bocas de 500 ml 0,2 g de grafeno (ver tabla 1), 2 g SDS y una cantidad de 177,4 g de agua y es agitado con ultrasonido durante 3 horas en ambiente inerte, mediante la desgasificación con nitrógeno y mantenido a 60°C durante 1 hr. Luego se añade 0,2 g de persulfato de amonio (APS). Luego de 5 minutos se da inicio a la dosificación de 20 g de una mezcla de monómeros compuestos por estireno y acrilato de butilo en una relación másica de 40 y 60, respectivamente, mezclado con 0,2 g de metacrilato de alilo (agente entrecruzante). Para la dosificación se empleó un flujo de 0,5 mL/min usando una bomba de jeringa “NE-300 Just Infusion”.

Durante la polimerización se mantuvo la agitación por ultrasonido y el suministro de nitrógeno para mantener un ambiente inerte. Una vez terminada la dosificación de monómeros se le dio dos horas más para completar la reacción (figura 2). Al finalizar la reacción se extrajo dos muestras de 1,5 mL para determinar la conversión por el método gravimétrico y de 1 mL para determinar tamaño de partícula mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) y dispersión cuasielástica de luz (DLS). Los viales en los que se vierten las muestras contienen aproximadamente 0,01 g de una solución de hidroquinona al 0,4% p.

Se prepararon látexes de nanocompuestos poliméricos con grafeno a diferentes concentraciones de grafeno mostradas en la tabla 1

Tabla 1. Muestras con diferentes contenidos de grafeno (%m/m)

	(%m/m)
SG	0,000
G1	0,075
G2	0,150
G3	0,224
G4	0,500
G5	1,000
G6	2,000
G7	4,000



Figura 2. Sistema de obtención del nanocompuesto polimérico (polimerización *in situ*).

Preparación de películas poliméricas a partir del látex de nanocompuesto polímero-grafeno.

Los látex obtenidos fueron depositados en placas de vidrio y secados en una estufa a una temperatura de secado de 75°C. Se obtuvieron películas poliméricas de 150 micras aproximadamente.

Caracterización

Para el análisis mediante espectroscopia de infrarrojo (FTIR) se empleó un equipo Thermoscientific modelo Nicolet 8700, haciendo 16 barridos de 4000-650 cm⁻¹ y 4 cm⁻¹ de resolución en modo de ATR observando tres zonas aleatorias de la superficie de la muestra.

El análisis termogravimétrico (TGA) para evaluar la estabilidad térmica y la temperatura de descomposición del nanocompuesto polimérico se empleó analizador termogravimétrico TA

Instruments modelo Q500. Las muestras se analizaron desde 0 °C a 800 °C a una velocidad de calentamiento de 10 °C/min bajo atmósfera inerte de gas nitrógeno. El equipo fue previamente calibrado con níquel y se corrieron estándares de oxalato de calcio.

Para la determinación de la temperatura de transición vítrea se empleó un Calorímetro Diferencial de Barrido TA Instruments modelo Q200. Para el análisis se pesaron 10 mg de muestra en charolas de aluminio, se sellaron y se colocaron en el equipo. Las condiciones de análisis se establecieron de - 70 °C a 150 °C con una velocidad de calentamiento de 10 °C/min bajo un flujo de gas nitrógeno de 50 mL/min para mantener una atmósfera inerte.

Para la medición del diámetro de partícula se utilizó un dispersor de luz NanoBrook 90 Plus Particle Size Analyzer.

Para las pruebas mecánicas se empleó una máquina universal Shimadzu AGS-X con celda de carga de 100 N, siguiendo la norma ASTM D-882. Los especímenes se cortaron en dimensiones rectangulares de 30 x 10 mm y espesor de la película original (150 micras). La velocidad de separación de las mordazas fue 300 mm/min.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Conversión final en las polimerizaciones

Las conversiones al final de la polimerización, en todos los casos, fueron mayores del 80%, se observó una disminución ligera de la conversión al incrementar el contenido de grafeno en el nanocompuesto, y esto es debido a que al aumentar la cantidad de grafeno retarda la movilidad de las cadenas poliméricas, haciendo que estas difícilmente reaccionen entre sí (tabla 2).

Se tiene reportado que al polimerizar *in situ* el ácido acrílico y acrilamida con el óxido de grafeno, usando persulfato de amonio como iniciador, se genera polímero con grafeno injertado el cual se forma por reacción de acoplamiento de radicales y exhiben una alta calidad de dispersión en agua¹⁰.

Tabla 2. Conversión final de los látex de nanocompuestos poliméricos.

Muestras	Conversión final (%)
SG	94,0
G1	93,5
G2	90,7
G3	88,8
G4	88,1
G5	87,5
G6	87,1
G7	87,2

Diámetro de partícula (Dz)

El diámetro promedio de partícula (Dz) es mostrado en la tabla 3, en la cual se muestra un incremento del diámetro de partícula conforme incrementa la cantidad de grafeno.

Tabla 3. Diámetros de partículas de los nanocompuestos poliméricos con grafeno.

Muestra	Grafeno (%m/m)	Diámetro promedio de partícula (Dz) (nm)
SG	0,000	48,5
G1	0,075	53,3
G2	0,150	46,2
G3	0,224	50,5
G4	0,500	69,8
G5	1,000	70,5
G6	2,000	86,8
G7	4,000	92,0

Análisis espectroscópico (FTIR)

En la figura 3 se muestra el espectro de infrarrojo de las nanoláminas de grafeno, sintetizados mediante el método de Hummer modificado y reducidos con ácido ascórbico, en la cual se muestran las bandas características de su estructura, una banda alrededor de 1600 cm^{-1} , la cual corresponde a la vibración de estiramiento del enlace C=C, otra banda debido al óxido de grafito alrededor de 1100 cm^{-1} debido a la vibración del grupo éter, y también las bandas asociadas a la vibración del estiramiento y de flexión del enlace O-H alrededor de $3000\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ y a 1400 cm^{-1} , respectivamente. Asimismo, se observan dos bandas a 1260 y 800 cm^{-1} debido a las vibraciones del grupo epoxi.

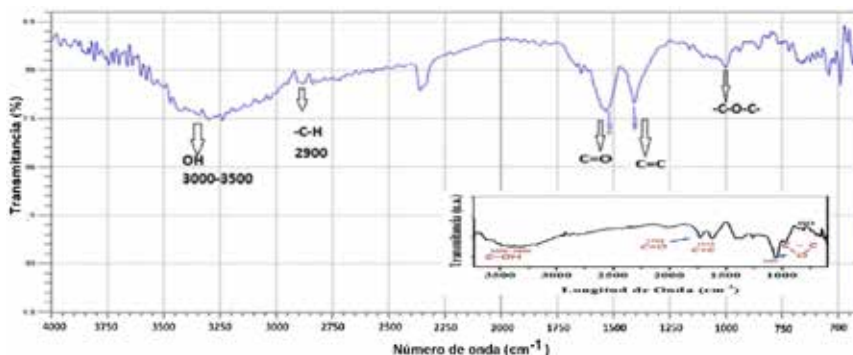


Figura 3. Espectro de infrarrojo del grafeno obtenido por el método de Hummer modificado.

En la figura 4 se muestra el espectro de infrarrojo para el copolímero de estireno y acrilato de butilo sintetizado por polimerización heterogénea en semicontinuo, la cual se caracteriza por presentar las bandas del poliacrilato de butilo que corresponden a las bandas de estiramiento de los enlaces C-H localizadas entre los 2960 -2850 cm^{-1} , y son de intensidad media, así también presentan las bandas de flexión de C-H en 1480- 1440 cm^{-1} . La banda intensa alrededor de la región 1780- 1640 cm^{-1} se debe a la presencia de los grupos carbonilo (C=O). Mientras que la presencia del poliestireno se asocia a la banda de estiramiento de C-H aromáticos arriba de los 3000 cm^{-1} . También se muestran los grupos metilenos del poliestireno por las bandas de estiramiento de los enlaces C-H entre los 2960 – 2850 cm^{-1} , y además, presentan bandas de flexión C-H en 1480- 1440 cm^{-1} y finalmente las bandas de absorciones entre 1600 y 1500 cm^{-1} se debe a la vibración del enlace C=C aromático. Mientras que el metacrilato de alilo presenta los mismos grupos característicos que el poliacrilato de butilo, por lo que la detección de los metileno CH_2 y C-O para el ALMA corresponden a las bandas 2960- 2850 cm^{-1} y para el el PAB 1300-1100 cm^{-1} , lo que hace que las bandas sean un poco anchas e intensas.

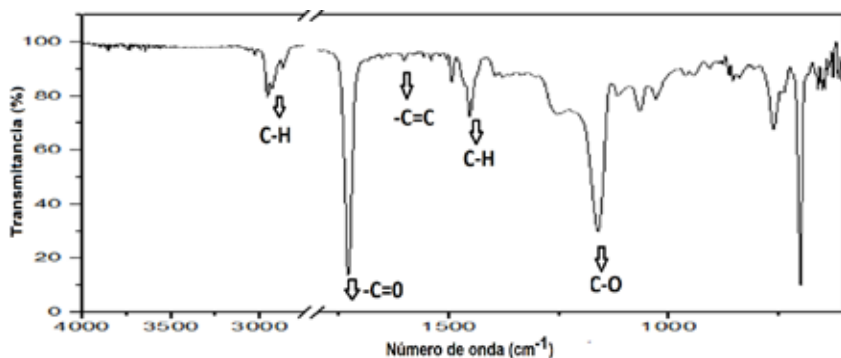


Figura 4. Espectro de infrarrojo del copolímero de estireno y acrilato de butilo.

La figura 5 muestra el espectro de infrarrojo para nanocompuestos poliméricos con una concentración de 0,224% de grafeno y se aprecia en todos que la naturaleza estructural del copolímero de estireno y acrilato de butilo se mantienen.

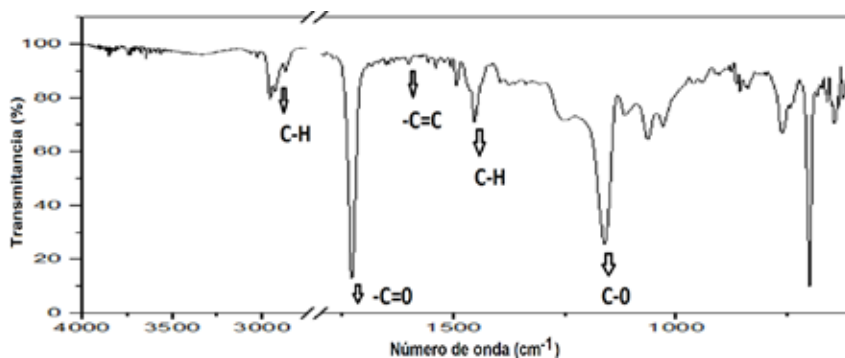


Figura 5. Espectro de infrarrojo del nanocompuesto polimérico con grafeno 0,224% (G3)

Análisis termogravimétrico (TGA)

En este análisis se registra continuamente la masa de la muestra, colocada en atmósfera controlada, en función de la temperatura o del tiempo al ir incrementando la temperatura de la muestra. Mediante las curvas de pérdida de peso con la temperatura mostrada en la figura 6, se determina la temperatura de degradación, o la temperatura a la cual se desorben los distintos grupos funcionales.

En la figura 6 se aprecia la pérdida de masa producida alrededor de la temperatura de 227 °C, se debe a la descomposición de los grupos funcionales oxigenados más termolábiles como son los ácidos carboxílicos entre otros ubicados en el plano basal del grafeno¹¹.

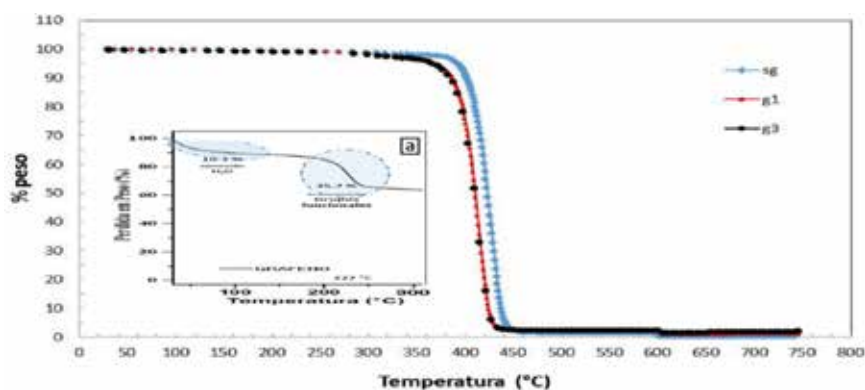


Figura 6. Comparación del análisis termogravimétrico del grafeno, copolímero y nanocompuestos poliméricos.

De acuerdo a los resultados mostrados en la tabla 4, los nanocompuestos poliméricos presentaron una disminución de la temperatura de degradación, y esto se debe a la degradación del polímero con el grafeno, siendo la temperatura de degradación del copolímero de estireno y acrilato de butilo de 425,89 °C. Se atribuye, además, que dicha disminución de la temperatura de descomposición se debe a la movilidad restringida de la cadena de copolímero cerca de la superficie del grafeno¹².

Tabla 4. Temperatura de degradación del copolímero y nanocompuesto polimérico reforzado con grafeno.

Muestra	Temperatura de degradación (°C)
SG	425,89
G1	413,21
G2	412,15
G3	411,09

Análisis por Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

En los materiales poliméricos, las transiciones térmicas más importantes en DSC son la temperatura de transición vítrea (T_g) y la temperatura de fusión (T_m). En los polímeros amorfos la T_g es la única transición que se registra y aparece como un cambio abrupto de la línea base. Por otra parte, en los polímeros muy cristalinos la T_g es difícil de observar debido a la baja proporción de la parte amorfa en el polímero¹³.

El incremento de la T_g en el copolímero con grafeno sintetizado por el método de Hummer modificado se atribuye a que la morfología y la funcionalización del grafeno con el polímero mejoran la interacción (tabla 5)

Tabla 5. Temperaturas de transición vítrea (T_g 's) de los nanocompuestos poliméricos.

Muestra	T_g (°C)
SG	3,049
G1	4,309
G2	4,513
G3	6,372

Caracterización mecánica de las películas del nanocompuesto polimérico

De acuerdo a los resultados obtenidos se encontró que al agregar pequeñas cantidades de grafeno hasta 2% m/m, permite mejorar las propiedades mecánicas del copolímero, aumentando el módulo elástico desde 1,15 MPa hasta 5,28 MPa mientras que disminuye su deformación porcentual a rotura desde 1062 hasta 766%. Sin embargo, por encima de 2% se observó que el módulo elástico del nanocompuesto disminuye debido posiblemente a que las nanopartículas de grafeno se intercalan entre las cadenas del copolímero (efecto plastificante). Por tanto, quiere decir que pequeñas cantidades de grafeno en el nanocompuesto es posible mejorar sus propiedades mecánicas; sin embargo, si se agrega mayor cantidad también es posible que haya ocurrido una disminución en su funcionalización no covalente o se haya provocado la introducción de sitios con defecto sp^3 sobre la superficie del grafeno. Por tanto, al disminuir los enlaces sp^2 , sus propiedades mecánicas disminuyen debido a que la hibridación sp^2 , le da dureza, rigidez y flexibilidad al material¹⁴.

Para la estabilidad y dispersión homogénea de nanoláminas de grafeno, dentro de la matriz polimérica, se requiere la funcionalización del polímero, ya que ello reduce no sólo la interacción cohesiva debido a su tamaño sino también incrementa la interacción interfacial entre el grafeno (agente reforzante) y la matriz, debido al gran número de grupos funcionales presentes en la cadena polimérica. En este caso, se empleó el metacrilato de alilo como agente funcionalizante que cumple la función de entrecruzar y facilitar la unión química entre los polímeros, poliestireno, poliacrilato de butilo y grafeno.

Gran parte de la investigación de nanocompuestos con nanotubos de carbono (CNT) se ha centrado en encontrar métodos para dispersar nanotubos en polímeros. Kim *et al.* (2010) mostraron mediante una tabla las propiedades mecánicas obtenidas por diferentes nanocompuestos poliméricos y no reportan las propiedades mecánicas de nanocompuestos poliméricos con grafeno empleando polímeros de poliestireno (material rígido) y poliacrilato de butilo (material ahulado), siendo el más cercano nanocompuesto de poliestireno con butadieno, en la cual se encontró que con una concentración de 0,8% de grafeno en el nanocompuesto se obtuvo 10 MPa de módulo elástico y se obtuvo un incremento de su módulo en un 390%¹⁵.

A continuación, se muestra los resultados de las pruebas mecánicas en la tabla 6, que corresponden a las muestras de películas poliméricas de copolímero de estireno y acrilato de butilo, así como de los nanocompuestos poliméricos con grafeno obtenido por el método de Hummer modificado. A partir de estos resultados se puede observar que se mejoraron las propiedades mecánicas con el incremento del módulo elástico en un 359% respecto al copolímero de estireno y acrilato de butilo. Asimismo, se obtuvo un módulo de Young máximo de 5,28 MPa y un % de deformación a la rotura de 1021% a una concentración de grafeno de 2%/m.

Tabla 6. Caracterización mecánica de los nanocompuestos poliméricos empleando grafeno obtenido por el Método de Hummer modificado.

Muestra	Copolímero St/AB	Grafeno (%p/p)	Módulo (MPa)	Resistencia (MPa)	Deformación a rotura (%)
SG	40/60	0,000	1,15 ± 0,16	3,60 ± 0,58	1062 ± 52
G1	40/60	0,075	1,23 ± 0,15	4,15 ± 0,91	675 ± 45
G2	40/60	0,150	1,53 ± 0,36	2,40 ± 0,58	709 ± 77
G3	40/60	0,224	2,42 ± 0,44	1,23 ± 0,22	781 ± 90
G4	40/60	0,500	3,13 ± 0,44	1,73 ± 0,63	698 ± 179
G5	40/60	1,000	3,12 ± 1,02	1,78 ± 0,76	769 ± 203
G6	40/60	2,000	5,28 ± 0,49	3,22 ± 0,59	1021 ± 33
G7	40/60	4,000	2,73 ± 0,89	1,69 ± 0,38	766 ± 97

CONCLUSIONES

- Se obtuvo un incremento en su módulo de Young y disminución del % de deformación conforme se incrementó la concentración de grafeno en el nanocompuesto polimérico. Asimismo, se logró obtener nanocompuesto de copolímero de estireno y acrilato de butilo (40:60) con grafeno de diámetro promedio de partícula de 86,8 nm, con un módulo máximo de 5,28% y a una concentración de grafeno del 2%.
- Los espectros de absorción infrarrojo muestran bandas asociadas a los grupos funcionales

epoxy, hidroxilo y carbonilo sobre la superficie del grafeno y muestran que debido a los grupos funcionales que presenta el grafeno sintetizado por el método de Hummer mejoraron las propiedades mecánicas en los nanocompuestos, ya que permitieron la unión química, que favorecen la dispersión y su estabilidad.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la financiación otorgada por el Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y a la colaboración del Centro de Investigación de Química Aplicada (CIQA)-Saltillo-México, así como del Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY) - Mérida-México.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Usuki A, Kojima Y, Kawasumi M, Okada A, Fukushima Y, Kurauchi T, Kamigaito O. Synthesis of nylon 6-clay hybrid. *J Mater Res.* 1993; 8: 1179- 1184.
2. Balandin AA, Ghosh S, Bao W, Calizo D, Teweldebrhan D, Miao F, *et al.* Superior thermal conductivity of single-layer graphene. *Nano Lett.* 2008; 8: 902-907.
3. Geim AK. Graphene: Status and Prospects. *Science* 2009; 324: 1530-1534.
4. Novoselov K, Geim A, Morozov S, Jiang D, Zhang Y, Dubonos S, *et al.* Electric field effect in atomically thin carbon films. *Science.* 2004; 306(5696): 666-669.
5. Dragoman D, Dragoman M. Giant thermoelectric effect in graphene. *Appl Phys Lett.* 2007; 91: 203116.
6. Stankovich S, Piner R, Chen X, Wu N, Nguyen S, Ruoff R. Stable Aqueous Dispersions of Graphitic Nanoplatelets via the Reduction of Exfoliated Graphite Oxide in the Presence of Poly(sodium 4-styrenesulfonate). *J Mater Chem.* 2006;16: 155-158.
7. Xu Y, Liu Z, Zhang X, Wang Y, Tian J, Huang Y, Ma Y, Zhang X, Chen Y. A graphene hybrid material covalently functionalized with porphyrin: synthesis and optical limiting property. *Adv Mater.* 2009; 21: 1275 -1279.
8. Niyogi S, Bekyarova E, Itkis ME, McWilliams JL, Hamon MA, Haddon RCJ. Solution properties of graphite and graphene. *Am Chem Soc.* 2006; 128: 7720-7721.
9. Ramanathan T, Abdala AA, Stankovich S, Dikin DA, Herrera-Alonso M, Piner RD, *et al.* Functionalized graphene sheets for polymer nanocomposites. *Nat Nanotechnol.* 2008; 3(6):327-31.
10. Shen J, Hu Y, Li C, Qin C, Shi M, Ye M. Layer-by-Layer Self-Assembly of Graphene Nanoplatelets. *Lagmuir* 2009; 25: 6122-6128.
11. Becerril HA, Mao J, Liu Z, Stoltenberg RM, Bao Z, Yongsheng Chen Y. Evaluation of Solution-Processed Reduced Graphene Oxide Films as Transparent Conductors *ACS Nano.* 2008; 2(3): 463-470.
12. Liu N, Luo F, Wu H, Liu Y, Zhang C, Chen J. One step ionic-liquid assisted electrochemical synthesis of ionic-liquid-functionalized graphene sheets directly from grapheme. *Adv Funct Mater.* 2008; 18: 1518 – 1525

13. Li Y, Fan Y, Ma J. Thermal, physical and chemical stability of porous polystyrene-type beads with different degrees of crosslinking. *Polym Degrad Stab.* 2001; 73: 163-167.
14. Lee C, Wei X, Kysar J, Hone J. Measurement of the elastic properties and intrinsic strength of monolayer graphene. *Science.* 2008; 321: 385-388
15. Kim H, Abdala AA, Macosko CW. Graphene/polymer nanocomposites. *Macromolecules.* 2010; 43(16): 6515-6530.

ELABORACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO EN HIDROGELES TERMOSENSITIVOS

Jesús Tito Gutarra^a, Juan Carlos Rueda^a, Alberto Corzo^b

RESUMEN

En esta investigación se estudió la factibilidad de elaborar nanopartículas de oro (NP-Au) dentro de hidrogeles termosensitivos hechos a partir de N-isopropilacrilamida (NiPAAm) y macromonómeros (MMH) de 2-oxazolininas. Los hidrogeles (HG) contuvieron grupos ácidos carboxílicos, que fueron transformados en grupos tioles, los cuales posteriormente fueron acomplejados con iones áuricos. Los iones áuricos fueron reducidos *in situ* y se obtuvieron nanopartículas de oro. En los hidrogeles, con y sin NP-Au, se determinó que la capacidad de absorción de agua del hidrogel se incrementa con el aumento del contenido del macromonómero en su estructura. Asimismo, ambos tipos de hidrogeles mostraron sensibilidad a la temperatura, contrayéndose su volumen al aumentar la misma. Conforme aumenta el contenido de macromonómero en el hidrogel esta contracción se obtuvo a más altas temperaturas y en mayor intensidad. La caracterización por espectroscopia UV-Visible de los HG con NP-Au mostró una absorción a 520 nm, que es característica del plasmón de las nanopartículas de oro. La microscopia de barrido electrónico SEM mostró la presencia de nanopartículas de oro dentro de los hidrogeles en un rango de tamaños de 5 a 200 nm.

Palabras clave: N-isopropilacrilamida, macromonómeros, 2-oxazolininas, nanopartículas de oro, sensibilidad térmica.

ELABORATION OF GOLD NANOPARTICLES IN THERMOSENSITIVES HYDROGELS

ABSTRACT

In this research was studied the feasibility of making gold nanoparticles within thermosensitive hydrogels which were made from N-isopropylacrylamide and macromonomers of 2-oxazolines. The hydrogels contained carboxylic acid groups, which were transformed into thiol groups which were later complexed with auric ions. The auric ions were reduced and gold nanoparticles (NP-Au) were obtained. In hydrogels, with and without NP-Au, was determined that the water-absorbing capacity of the hydrogel increases with the increase of macromonomer content in its structure. Likewise, both hydrogels showed sensitivity to temperature, contracting its volume as it increased. As the macromonomer content in the hydrogel increases this contraction is obtained at higher temperatures and at higher intensity. The UV/Visible spectroscopy characterization of the Hydrogels with NP-Au showed a

^a Pontificia Universidad Católica del Perú, Av. Universitaria 1801, Lima 32, jrueda@pucp.edu.pe

^b Universidad Nacional de Ingeniería.

absorption at 520 nm, which is characteristic of the plasmon of gold nanoparticles. The SEM electron microscopy scanning showed the presence of gold nanoparticles within the hydrogels in a range of sizes from 5 to 200 nm .

Key words: N-isopropylacrylamide, macromonomers, 2-oxazolines, gold nanoparticles, thermoresponsive hydrogel.

INTRODUCCIÓN

Los hidrogeles son estructuras macromoleculares tridimensionales, de características hidrofílicas obtenidas a partir de polímeros sintéticos o naturales. Los hidrogeles absorben grandes cantidades de agua debido a los grupos polares que contienen en su estructura como, por ejemplo, grupos ácido carboxílicos, aminos, sulfónicos, etc.^{1,2}. Los hidrogeles de N-isopropilacrilamida (NiPAAm) tienen la propiedad de tener sensibilidad térmica, esto significa que, estando en un medio acuoso, se contraen cuando la temperatura del medio alcanza un determinado valor (temperatura de transición, T_u)^{2,5}. En esta transición, la naturaleza del polímero cambia de hidrofílica a hidrofóbica. La temperatura de transición de del hidrogel de PoliNiPAAm es de aproximadamente 32°C, la cual puede variar al copolimerizarse en NiPAAm con otros monómeros.

Las 2-oxazolinas son monómeros que pueden ser polimerizados mediante una polimerización “viva” ideal, sin reacciones secundarias, y entonces se puede controlar el peso molecular y funcionalidad de las polioxazolinas^{1,2,5-7}.

Los materiales que consisten de nanopartículas metálicas embebidas en hidrogeles tienen potenciales aplicaciones en el campo de la catálisis, electrónica, óptica y biomedicina, entre otros. Langer y colaboradores investigaron la introducción de nanopartículas de oro en hidrogeles termosensitivos^{8,9}. En estos hidrogeles, debido a la contracción y expansión de los mismos por el aumento o disminución de la temperatura, las nanopartículas de oro, embebidas en estos, se pueden acercar o alejar entre sí cambiando sus propiedades ópticas y electrónicas. Este cambio de propiedades los hace atractivos para determinadas aplicaciones en estos campos

El objetivo de esta investigación fue elaborar nanopartículas de oro dentro de un material sensible a la temperatura.

PARTE EXPERIMENTAL

Todas las sustancias utilizadas en esta investigación fueron adquiridas de Aldrich y purificadas según métodos estándar descritos en la literatura^{1,2,5,7}.

*Síntesis e hidrólisis del macromonómero (MM)*²: Procedimiento: en un reactor de vidrio, bajo

atmósfera de nitrógeno, se colocaron aproximadamente 26 mL de acetonitrilo, y se adicionaron 1,45 g de ioduro de sodio, 6,24 mL del monómero 2-metil-2-oxazolina (MeOXA), 3,64 mL de 2-carboxietil-2-oxazolina (EsterOXA) y 0,68 mL de clorometilestireno (CMS). El reactor fue cerrado, calentado a 78°C y agitado por 7 horas. Finalizado este tiempo, el reactor fue enfriado a temperatura ambiente y se le adicionó 0,285 g de KOH en MeOH. El polímero fue purificado por el método de precipitación en éter dietílico. Se obtuvo aproximadamente 10,0 g de macromonómero (rendimiento del 99%).

El macromonómero fue caracterizado por resonancia magnética nuclear protónica (^1H -RMN) y de carbono-13 (^{13}C -RMN), usando el equipo Bruker Avance III 500 NMR. Los desplazamientos químicos para el espectro ^1H -RMN, usando TMS como referente, y usando CD_3OD como solvente son: δ : 2,11 (CH_3); 2,5-2,8 ($\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{COO}^-$); 3,53 (NCH_2CH_2); 3,67-3,71 (COOCH_3); 4,66 (Ar-CH_2); 5,21-5,3 y 5,7-5,9 ($\text{CH}_2=$); 6,6-6,8 ($\text{CH}=\$); 7,1-7,5 ($\text{H}_{\text{AROMÁTICOS}}$).

Los desplazamientos químicos para el espectro ^{13}C -RMN (en CD_3OD) son: δ : 21,3-21,8 (CH_3); 28,5 ($-\text{COCH}_2$); 30 (CH_2COCH_3); 44-48 (NCH_2CH_2); 52,2 (COOCH_3); 54,1 (Ar-CH_2); 61 (CH_2OH); 115 ($\text{CH}_2=$); 125-131 ($\text{C}_{\text{AROMÁTICOS}}$), 137-140 ($\text{C}_{\text{AROMÁTICOS}}$); 137,5 ($-\text{CH}=\$); 173,6 ($\text{COCH}_3+\text{COCH}_2-$); 175,1 (COOCH_3).

El macromonómero fue hidrolizado con una solución de hidróxido de sodio. A un balón de 250 mL, se agregó 6,0 g de macromonómero MM con 160 mL de NaOH 0,1 N, este sistema se dejó bajo agitación y calentamiento, a 45°C por 7 horas. Terminado este tiempo, el sistema fue enfriado y luego, el sistema fue neutralizado con HCl diluido, hasta llegar a un pH de 5,6².

El macromonómero se purificó por diálisis (membranas Zellu Trans Carl Roth GmbH, MWCO: 1000), para lo cual, el macromonómero, disuelto en agua, fue colocado dentro de las membranas, y estas fueron sumergidas en agua destilada durante 48 horas, tiempo durante el cual se cambió 4 veces el agua en la que estaba sumergida la membrana. Finalmente se extrajo la membrana y el agua de la solución del macromonómero fue eliminada por liofilización.

El macromonómero hidrolizado (MMH) fue caracterizado estructuralmente por sus espectros de resonancia magnética nuclear protónica y de carbono -13. La diferencia con el espectro del macromonómero original fue que desaparecieron las señales a 3,6 ppm y 52 ppm en los espectros ^1H -RMN y ^{13}C -RMN, respectivamente que corresponden al grupo metilo del éster.

*Síntesis de los hidrogeles y su posterior modificación*²: Procedimiento típico (Hidrogel HG-1): En un vaso de 50 mL, se mezclaron 0,5 g de N-isopropilacrilamida (NiPAAm), 0,08 g de macromonómero hidrolizado (MMH), 0,030 g de N,N'-metilenbisacrilamida (MBIS), 0,030 g de tetrametilendiamina (TEMED) y 5 mL de agua hasta disolución total. A esta mezcla se le burbujeó nitrógeno durante 5 minutos. El sistema fue cerrado y colocado en un baño a 5°C durante 10 minutos. En forma paralela, en otro vaso de 25 mL se disolvió 0,010 g de persulfato de amonio (APS) en 1 mL de agua y se enfrió a 5°C y se burbujeó

nitrógeno. A continuación, a la primera mezcla se le agregó la solución de APS y se mantuvo la temperatura de la mezcla a 5°C. En 15 minutos ocurrió la formación del hidrogel.

El hidrogel se purificó de la siguiente manera: en un litro de agua destilada se colocó una porción del hidrogel por 48 horas para eliminar restos de monómeros y de iniciador que no hubieran reaccionado, durante este período el agua fue cambiada cuatro veces. Finalizada la purificación, el hidrogel fue secado a 32°C hasta alcanzar un peso constante, luego fue guardado en un desecador. Este hidrogel fue denominado HG1, y se obtuvo 0,61 g (rendimiento de 98,70%). Para la síntesis y purificación de los hidrogeles HG2 y HG3, se usó el mismo procedimiento.

Modificación de los hidrogeles con grupos tioles: 0,40 g del hidrogel HG1 hidrolizado se colocó en 10 mL de agua destilada a 10 °C. A esta mezcla se le agregó 0,079 g de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDAC) y 0,088 g de sal sódica de N-hidroxisulfosuccinimida (NHS-Na). Se dejó en reposo esta mezcla durante seis horas. Luego, se agregó a la mezcla anterior 0,050 g de hidrocloreto de cisteamina (en exceso estequiométrico). Se dejó reaccionar esta mezcla por cuatro días en oscuridad y a 5 °C. Luego, el hidrogel fue lavado con agua destilada hasta pH neutro. El hidrogel se secó y guardó en un desecador hasta su utilización.

Elaboración de nanopartículas de oro dentro del hidrogel modificado: El hidrogel (0,25 g) se colocó en 30 mL de una solución de ácido tetracloroáurico (0,0188 gramos de $H[AuCl_4]$ en 200 mL de agua destilada) por dos días, al cabo de los cuales el hidrogel estaba embebido de esta solución y había tomado una fuerte coloración amarilla. Los iones áuricos fueron reducidos con 25 ml de una solución que contenía 0,25 g de citrato de trisódico en 50 mL de agua¹⁰. Como producto de la aplicación de este procedimiento se obtuvieron nanopartículas de oro dentro de los hidrogeles y visualmente se pudo notar como el hidrogel inicialmente de color amarillo adquirió un color violeta oscuro.

Prueba de absorción de agua: Se colocó en un vaso una porción de hidrogel hidrolizado seco (peso inicial= W_s) en 80 mL de agua de destilada a temperatura ambiente durante 24 horas. Pasado este tiempo, se obtuvo el peso del hidrogel hinchado en agua (W_h). El grado de absorción de agua del hidrogel fue calculado mediante la ecuación:

$$Q = (W_h - W_s) / W_s \dots\dots\dots (1)$$

donde Q es el grado de absorción de agua (g H₂O/g de HG seco).

Prueba de sensibilidad a la temperatura: Se determinó la contracción del volumen de los hidrogeles en función de su pérdida de peso y se asumió que el peso es proporcional al volumen. La masa a 25°C fue relacionado con el volumen inicial del hidrogel. El porcentaje de contracción, en respuesta al aumento de temperatura, se determinó mediante la ecuación:

$$\text{Porcentaje de contracción} = 100 * (W_{\text{inicial}} - W_{\text{final}}) / W_{\text{inicial}} \dots\dots\dots (2)$$

Procedimiento: En un vaso se colocó una porción del hidrogel en 80 mL de agua a temperatura ambiente por 24 horas. Pasado este tiempo, se sacó el hidrogel del agua y se determinó su peso (W_{inicial}). Seguidamente, la misma porción de hidrogel se sumergió nuevamente en agua y fue colocado en la estufa a una temperatura determinada durante 40 minutos; luego, el hidrogel nuevamente se sacó del agua y se pesó (W_{final}). Se determinó el peso remanente del hidrogel a esta temperatura mediante la ecuación:

$$\text{Porcentaje de peso remanente} = 100 * (\text{Peso}_{\text{final}} / \text{Peso}_{\text{inicial}}) \dots\dots\dots (3)$$

La contracción es la diferencia entre la masa inicial y la masa remanente. Para cada temperatura, se obtuvo un porcentaje de peso remanente y estos valores fueron graficados versus la temperatura ($^{\circ}\text{C}$).

Análisis espectroscópico UV/Visible de los hidrogeles: Se colocó una muestra de hidrogel (0,5 g) en una celda dentro del espectrofotómetro Ultravioleta/Visible, marca Thermo Electron Corporation, Helios Gamma. Se usó un baño termostatzado con agua destilada para calentar la muestra mediante una chaqueta de calentamiento; las mediciones se iniciaron a 25°C , con incrementos de 4°C cada 20 minutos.

Análisis por microscopía de barrido electrónico (SEM): Las muestras fueron analizadas por la Ing. Kristina Schelestow en la Universidad Tecnológica de Ilmenau en Alemania, aplicando el procedimiento estándar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

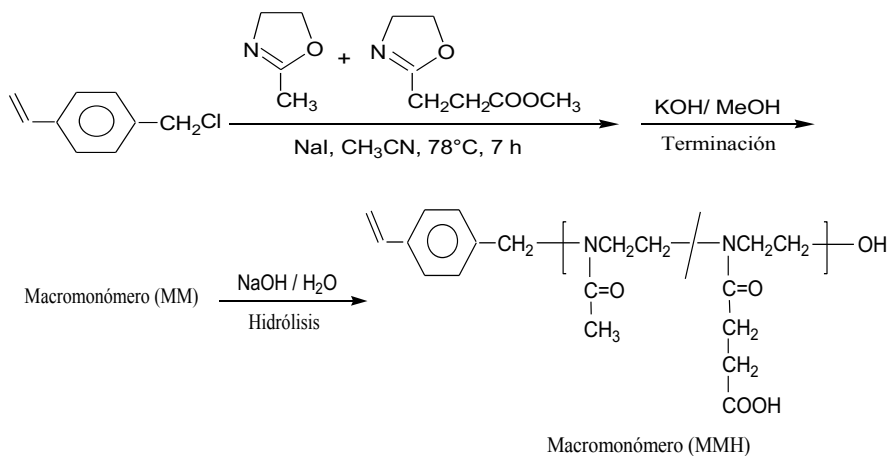
La estrategia seguida fue la siguiente: se elaboró un hidrogel de poliNiPAAm que es sensible a la temperatura y el cual contenía grupos ácido carboxílicos (provenientes del macromonomero hidrolizado de las 2-oxazolininas) que podrían ser modificados en grupos tioles, los cuales acomplejarían los iones áuricos y por posterior reducción se formarían las NP-Au dentro del hidrogel.

Este nuevo material mantendría a las nanopartículas de oro distribuidas por todo el hidrogel, el cual al contraerse, por un aumento de la temperatura, acercaría a las nanopartículas de oro confiriéndoles a estas nuevas propiedades físicas.

En una publicación anterior ya hemos descrito con todo detalle la síntesis y caracterización del macromonomero y del hidrogel que han sido usados en esta investigación². Por lo que mencionaremos este aspecto brevemente y nos centraremos más en la elaboración de las nanopartículas de oro en los hidrogeles.

Síntesis del macromonomero: La síntesis fue realizada mediante la polimerización catiónica por apertura de anillo de la 2-metil-2-oxazolina (MeOXA) y la 2-carboxietil-2-oxazolina (EsterOXA) iniciada por el clorometilestireno (CMS) en presencia del catalizador ioduro

de sodio (esquema 1). La reacción se realizó a una temperatura relativamente baja, de 78°C, durante un tiempo también relativamente breve (7 horas) y con una baja concentración del iniciador ($[CMS] = 0,13 \text{ M}$) en el medio de reacción para evitar así una polimerización prematura del grupo vinilo del CMS. Sin embargo, estas condiciones de reacción sí fueron suficientes para conseguir la polimerización cuantitativa de las 2-oxazolininas. Se obtuvo un macromonómero de grado de polimerización de 20 unidades (peso molecular de 2220 g/mol, obtenido por RMN) y con un contenido de Esteroxa del 25% molar. El macromonómero fue hidrolizado con una solución de hidróxido de sodio y luego neutralizado con ácido clorhídrico. Tanto el macromonómero original como el hidrolizado fueron caracterizados por RMN. Se pudo observar que las señales a 3,67 ppm ($^1\text{H-RMN}$) y 52,2 ppm ($^{13}\text{C-RMN}$) del grupo metilo del éster desaparecieron después de la hidrólisis, demostrando que ocurrió una hidrólisis completa de todos los grupos éster del copolímero. Sólo se produjo la hidrólisis de los grupos éster sin afectar a los grupos amida ni a los grupos vinilos debido a las condiciones “suaves” del procedimiento de hidrólisis.



Esquema 1. Síntesis del macromonómero

Síntesis de los hidrogeles: Los hidrogeles fueron obtenidos mediante la copolimerización por radicales libres de la N-isopropilacrilamida (NiPAAm), y el macromonómero hidrolizado de 2-oxazolinina en presencia de N,N'-metilenbisacrilamida (MBIS). La polimerización se realizó en medio acuoso y fue iniciada por un sistema de iniciación redox basado en persulfato de amonio (APS) y catalizador N,N,N',N'-tetrametilendiamina (TEMED) (esquema 2). Los detalles experimentales y resultados obtenidos en la síntesis de los hidrogeles se resumen en la tabla 1.

Tabla 1. Síntesis de hidrogeles (datos experimentales y resultados).

Hidrogel	NiPAAm ^a (g)	NiPAAm (mmol)	MMH ^b (g)	MMH (mmol)	$\frac{\text{NiPAAm}^c}{\text{MMH}}$	Masa HG obtenido (g)	R ^d (%)
HG0	0,50	4,42	0	0	-	0,53	99,1
HG1	0,50	4,42	0,080	0,199	22	0,61	98,7
HG2	0,50	4,42	0,040	0,099	45	0,57	97,6
HG3	0,50	4,42	0,015	0,037	119	0,54	98,5

Donde:

a: N-isopropilacrilamida (NiPAAm).

b: Macromonómero (MMH) de MeOXA (75% molar) y EsterOXA (25% molar).

c: Relación molar de monómeros de NiPAAm/MM.

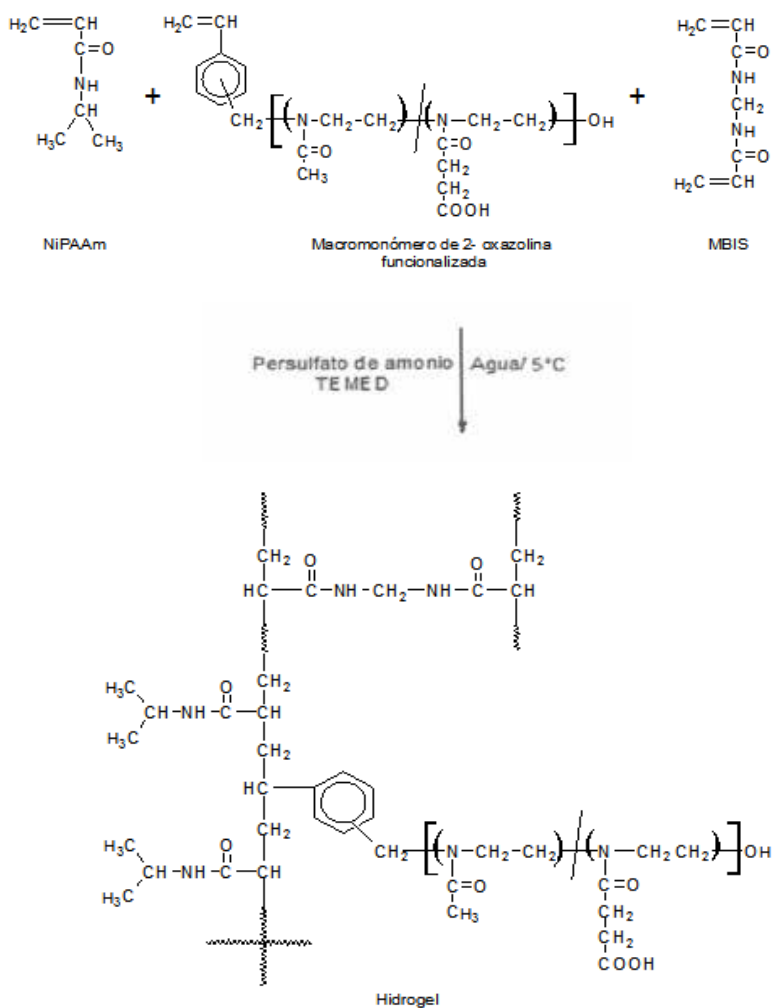
d: Rendimiento (%) = $100 \cdot (\text{Peso HG obtenido} / \text{Suma de pesos de reactivos (NiPAAm, macromonómero y N,N'-metilénbissacrilamida (MBIS))})$.

Se elaboraron cuatro hidrogeles denominados HG0, HG1, HG2, y HG3. El HG0 no contuvo macromonómero y los hidrogeles HG-1, 2 y 3 tuvieron cantidades decrecientes de macromonómero en su estructura.

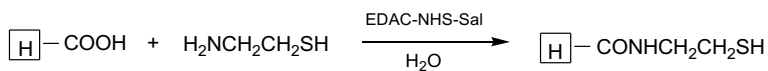
Modificación del hidrogel y obtención de nanopartículas de oro en su estructura

Los hidrogeles fueron parcialmente modificados en su estructura química mediante la introducción de grupos tioles en la misma. Esto se logró mediante la reacción de los grupos ácido carboxílicos del hidrogel con el hidrocloreto de cisteamina, reacción que fue promovida mediante el uso del EDAC y la sal sódica de la hidroxisuccinimida (NHS-Na) (esquema 3). Los grupos tioles introducidos al hidrogel sirvieron para acomplejar los iones áuricos, que posteriormente fueron reducidos in situ con citrato trisódico para obtener nanopartículas de oro (NP-Au).

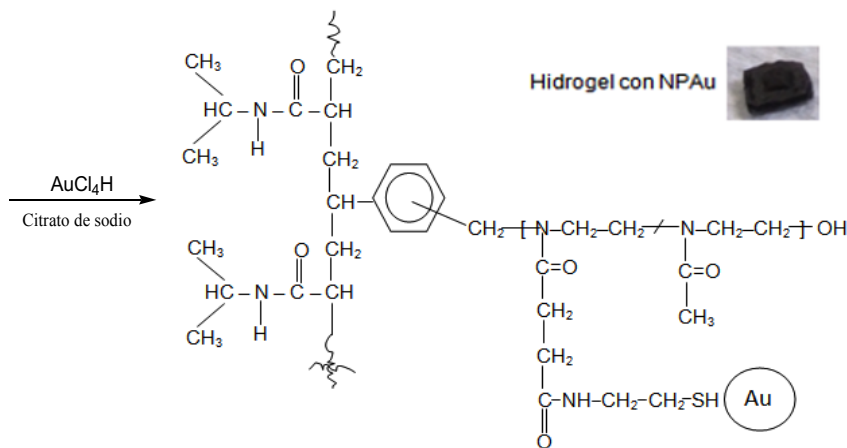
Prueba de absorción de agua: La capacidad de absorción de agua para los hidrogeles sintetizados fue de 9,17; 12,8; 11,3; y 10,7 (g de agua/ g de hidrogel seco) para los hidrogeles HG0, HG1, HG2 y HG3, respectivamente. Se observa que esta absorción aumenta al incrementarse el contenido de macromonómero en el hidrogel. Probablemente esto se debe al aumento del contenido de grupos polares (ácidos carboxílicos del macromonómero) lo que incrementa la polaridad del hidrogel.



Esquema 2. Síntesis de hidrogeles.



(continúa la reacción)...



Esquema 3. Elaboración de nanopartículas de oro en los hidrogeles

Prueba de sensibilidad a la temperatura de los hidrogeles: tanto los hidrogeles originales como los modificados con nanopartículas de oro presentaron sensibilidad a la temperatura. Esta sensibilidad se expresó como una contracción del volumen del hidrogel, saturado en agua, al aumentar la temperatura. Debido a la forma irregular del hidrogel no fue posible medir su volumen, pero se midió el peso de dicho hidrogel (W_{inicial}) y se asumió que este peso es proporcional al volumen del mismo. Así, la disminución de peso que sufre el hidrogel, por la pérdida de una fracción del agua absorbida, al aumentar la temperatura del medio, se tomó como el equivalente a una contracción del volumen del mismo. El porcentaje de peso remanente se calculó mediante la ecuación (3), mencionada anteriormente.

Las figuras 1 y 2 muestran los gráficos de la temperatura versus porcentaje de peso remanente para todos los hidrogeles sin NP-Au y con NP-Au.

En todos los experimentos realizados, los hidrogeles (HG) tuvieron una misma cantidad de NiPAAm y MBIS, y solo la cantidad de macromonomero hidrolizado (MMH) fue variada. De la figura 1 se observa a mayor cantidad de macromonomero dentro del hidrogel la contracción es mayor (p. ej. comparar HG1 vs HG2). Inclusive se observa que el HG sin contenido de macromonomero se contrae menos en comparación a los otros. Este hecho se debe posiblemente que a mayor cantidad de macromonomero (MMH) contenido en el hidrogel (HG) hay una mayor cantidad de grupos COOH y COONa , lo cual aumenta su polaridad y se forma una mayor cantidad de enlaces tipo puente de hidrógeno entre estos y los grupos polares amida de los segmentos de poliNiPAAm. Así, al ocurrir la transición conformacional el mayor número de interacciones puente de hidrógeno hará colapsar, en mayor medida, el hidrogel. Se observa también que la T_{tr} aumenta al incrementarse el contenido de macromonomero en el hidrogel por la mayor polaridad de la estructura.

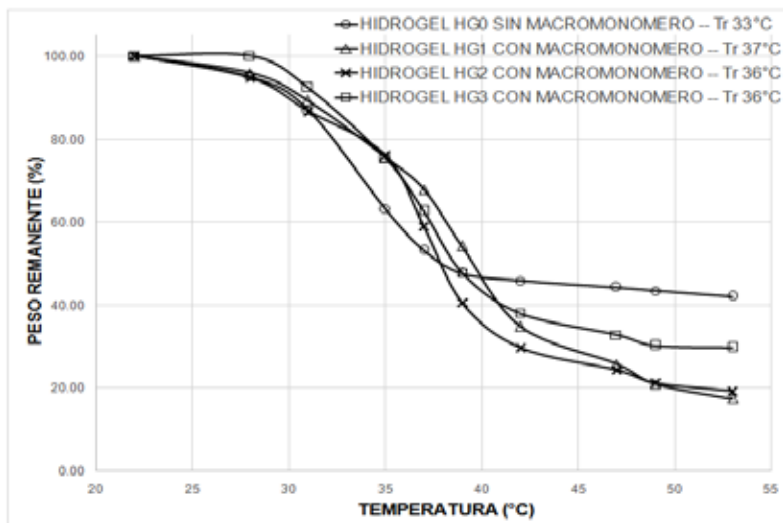


Figura 1. Temperatura (°C) versus Peso remanente (%) de los hidrogeles sin NP-Au.

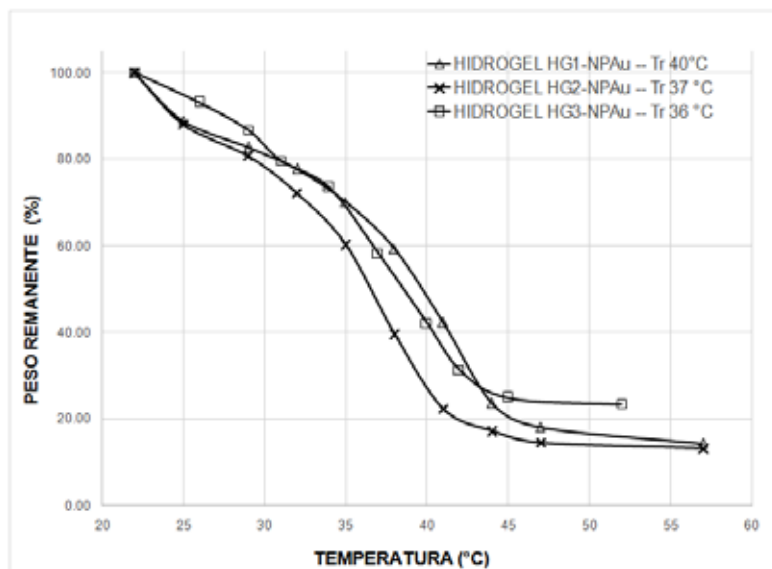


Figura 2. Temperatura (°C) versus Peso remanente (%) de los hidrogeles con NP-Au.

En el caso de los HG conteniendo NP-Au se observa (Fig. 2) que su contracción es mayor que sus homólogos con NP-Au. Además que su temperatura de transición aumenta ligeramente. Esto podría explicarse debido a que las NP-Au actuarían como puntos de unión o de encuentro de las cadenas del poliNiPAAm cuando ocurre la transición térmica. Las cadenas polares de poliNiPAAm y de macromonomero estarían absorbidas en la superficie de la NP-Au que es relativamente más grande que las cadenas de poliNiPAAm y al colapsarse la estructura esto conduciría a una mayor compactación de la misma por la mayor cercanía de las cadenas de poliNiPAAm que colapsan.

Análisis espectroscópico UV/Visible: Se realizó el análisis por espectroscopia UV/Visible de los hidrogeles HG1, HG2, HG3 con y sin nanopartículas de oro a diferentes temperaturas. En la figura 3 se puede observar que el hidrogel HG1-Au presenta un pico cerca de 520 nm el cual no cambia conforme se eleva la temperatura del medio, la presencia del plasmón típico de las nanopartículas de oro cerca de 520 nm es un claro indicador de la presencia de estas en el hidrogel. El mismo plasmón fue observado en los hidrogeles HG2 y HG3.

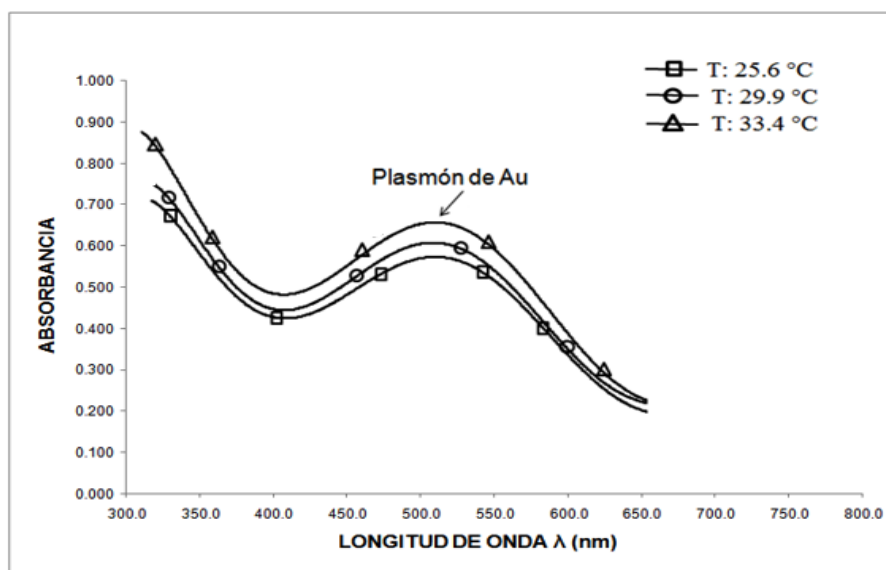


Figura 3. Absorbancia vs longitud de onda λ (nm) del hidrogel HG1-Au: el espectro UV/Vis de los hidrogeles que no contenían NP-Au no mostró el plasmón característico a 520 nm y también su absorbancia fue menor.

Obtención y análisis de las imágenes por microscopía de barrido electrónico (SEM):

Se hizo un análisis por SEM a los hidrogeles que contenían NP-Au. A modo de ejemplo, en la figura 4 se muestra la microfotografía electrónica CEM del hidrogel HG1 con NP-Au. Los tamaños de las mismas oscilaron, en todos los casos, entre 5 y 200 nm.

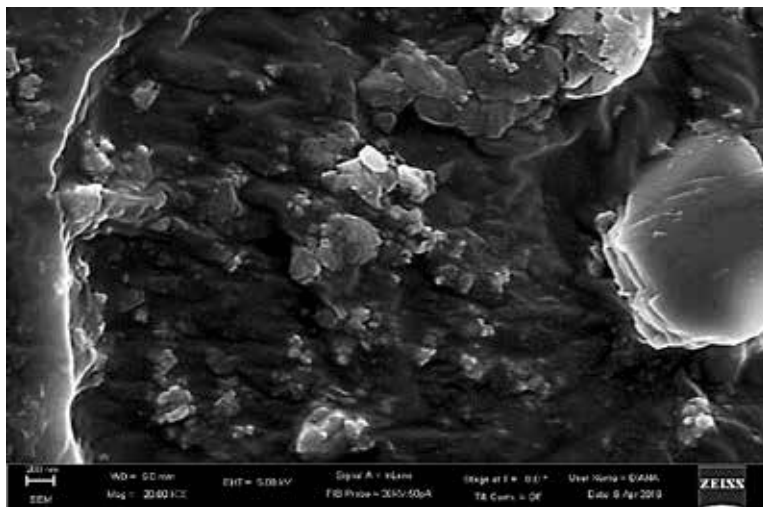


Figura 4. Imagen SEM del Hidrogel HG1 con NP-Au

El estudio de las propiedades ópticas y electrónicas de las NP-Au en los hidrogeles se realizará en un estudio posterior.

CONCLUSIONES

Fue posible la obtención de nanopartículas de oro (NPAu) *in situ* en hidrogeles de NiPAAm y macromonómero de 2-oxazolona, mediante el acomplejamiento de los iones áuricos con los grupos tioles del hidrogel y su posterior reducción. Se demostró la obtención de las NP-Au mediante la espectrometría UV-Visible (plasmón a 520 nm) y la microscopía de barrido electrónico (SEM), los tamaños de las NP-Au oscilaron entre 5 y 200 nm.

Al aumentar el contenido de macromonómero en el hidrogel aumenta la absorción de agua y también la temperatura de transición conformacional del hidrogel. Además, el hidrogel sufre una mayor contracción al incrementarse el contenido de macromonómero. Esto podría deberse al carácter fuertemente polar del macromonómero, lo que incrementa fuertemente la hidrofiliidad del hidrogel y se formarían más interacciones puentes de hidrógeno entre los grupos ácido carboxílicos del macromonómero y los grupos amida del poliNiPAAm.

Con la presencia de NP-Au en los hidrogeles, aumenta ligeramente la temperatura de transición conformacional y los hidrogeles se contraen aún más en comparación con sus homólogos sin NP-Au. Este fenómeno puede deberse a que las NP-Au podrían actuar como elementos de unión o de acercamiento entre los segmentos de poliNiPAAm que colapsarían en mayor grado al ocurrir la transición conformacional.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rueda J, Komber H, Voit B, Cedrón J, Shevtsova G. Synthesis of New Hydrogels by Copolymerization of Poly(2-methyloxazoline) bis (macromonomers) and N-vinylpyrrolidone. *Macromol Chem Phys.* 2003; 204: 947-953.
2. Rueda J, Campos E, Komber H, Zschoche S, Voit B. Synthesis and Characterization of New pH and Thermoresponsive Hydrogels Based on N-Isopropylacrylamide and 2-oxazolines. *Des Monomers Polym.* 2014; 17: 208-216.
3. Schild H. Poly(N-isopropylacrylamide): Experiment, Theory and Application. *Prog Polym Sci.* 1992; 17: 163-240.
4. Di mitrov I, Trzebicka B, Müller AHE, Dworak A, Tsvetanov C. Thermosensitive Water-Soluble Copolymers with Doubly Responsive Reversibly Interacting Entities. *Prog Polym Sci.* 2007; 32: 1278-1317.
5. Zschoche S, Rueda J, Binner M, Komber H, Janke A, Voit B. Reversibly Switchable pH and Thermoresponsible Core-Shell Nanogels based on Poly (NiPAAm)-graft-poly(2-carboxyethyl-2-oxazoline)s. *Macromol Chem Phys.* 2012; 213: 215-216.
6. Aoi K, Okada M. Polymerization of Oxazolines. *Prog Polym Sci.* 1996; 21: 151-208.
7. Rueda J, Asmad M, Ruiz V, Komber H, Zschoche S, Voit B. Synthesis and characterization of new bi-sensitive copoly (2-oxazolines). *Des Monomers Polym.* 2015; 18: 761-768.
8. Wang Ch, Flynn NT, Langer R. Controlled Structure and Properties of Thermoresponsive Nanoparticle-Hydrogel Composites. *Adv Mater.* 2004; 16: 1074-1079.
9. Pong FY, Lee M, Bell JR, Flynn NT. Thermoresponsive Behavior of Poly(N-Isopropylacrylamide) Hydrogels Containing Gold Nanostructures. 2006; 22 (8): 3851–3857
10. Corzo A. Síntesis de nanopartículas de oro obtenidas por reducción de [HAuCl₄]. *Rev Soc Quím Perú.* 2012; 78(2): 79-90.

CATALIZADORES BASADOS EN $\text{Ni}_x\text{Fe}_{1-x}\text{O}_4$ PARA LA DESHIDROGENACIÓN OXIDATIVA DEL ETANO A ETILENO

Mario Hurtado Cotillo^a, Gino Picasso^{a*}, Rosario Sun-Kou^b

RESUMEN

Se prepararon catalizadores basados en óxidos mixtos de $\text{Ni}_x\text{Fe}_{1-x}\text{O}_4$ ($x=0,5$ a $0,9$) por coprecipitación para la deshidrogenación oxidativa (ODH) del etano y se caracterizaron por difracción de rayos X (XRD), sorción de N_2 (método BET), reducción a temperatura programada (TPR) y espectroscopia láser Raman (LRS). La reacción deshidrogenación oxidativa (ODH) del etano se realizó en un reactor de lecho fijo para una relación constante W/F de $0,48$ g.s/mL. La sustitución parcial del Ni^{+2} por Fe^{+3} en la red produjo la formación de espinelas, como se observó por el análisis XRD y que condujo a un aumento apreciable de la superficie específica, menor tamaño de poro y de la cristalita, respecto a las muestras simples (NiO y Fe_2O_3). La selectividad a etileno mejoró sustancialmente en el rango de temperaturas de 250 a 400°C , considerando que etileno y CO_2 fueron los productos finales. La máxima selectividad a etileno fue de 84% que se obtuvo con la muestra $\text{Ni}_{0,8}\text{Fe}_{0,2}\text{O}_4$ a 300°C como consecuencia de una acción conjunta de la mayor superficie respecto a la correspondiente a los óxidos simples, la tendencia de disminuir su temperatura de reducción al aumentar la composición de Ni en las muestras mixtas y la presencia de especies espinelas en las estructuras cristalinas, cuya detección fue confirmada por los espectros Raman.

Palabras clave: Catalizadores $\text{Ni}_x\text{Fe}_{1-x}\text{O}_4$, ODH del etano, selectividad a etileno.

CATALYSTS BASED ON $\text{Ni}_x\text{Fe}_{1-x}\text{O}_4$ FOR THE OXIDATIVE DEHYDROGENATION OF ETHANE TO ETHYLENE

ABSTRACT

Catalysts based on mixed oxide of type $\text{Ni}_x\text{Fe}_{1-x}\text{O}_4$ ($x=0,5$ a $0,9$) were prepared by coprecipitation for oxidative dehydrogenation (ODH) of ethane and were characterized by X-ray diffraction (XRD), sorption of N_2 (BET's method), temperature programmed reduction (TPR) and laser Raman spectroscopy (LRS). The ODH of ethane has been performed in a fixed bed reactor for a constant W/F ratio of 0.48 g.s/mL. The substitution of introduction of Ni^{+2} by Fe^{+3} into NiO framework allowed the formation of spinels detected by XRD

^a Laboratorio de Investigación de Físicoquímica (LABINFIS-UNI), Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Ingeniería, Av. Túpac Amaru 210, Rímac, Lima, Perú, *gpicasso@uni.edu.pe

^b Departamento de Ciencias - Sección Química. Pontificia Universidad Católica del Perú. Avenida Universitaria 1801 - Lima 32.

analysis, dealing to a substantial increasing of specific surface, lesser pore and cristallite size compared with the values corresponding to simples samples (NiO y Fe_2O_3). The selectivity improved drastically at temperatures ranging from 250 to 400°C, taking into count that CO_2 and ethylene were the final products. The maximum selectivity to ethylene was 84% which was obtained with samples $\text{Ni}_{0,8}\text{Fe}_{0,2}\text{O}_4$ at 300 °C as a consequence of multifactor contribution of higher surface area in relation to simple samples, major tendency to decrease the reduction temperature with the enrichment of Ni in the mixed composition and the presence of spinel species in crystal structures which were detected by Raman spectra.

Key words: Catalysts $\text{Ni}_x\text{Fe}_{1-x}\text{O}_4$, ODH of ethane, selectivity to ethylene.

INTRODUCCIÓN

El gas de Camisea es una de las reservas de gas natural más importantes de Latinoamérica desde su comercialización en el año 2004. Esta reserva de gas natural tiene el 10% de etano, además el volumen de la reserva del gas natural es aproximadamente de 4,20 trillones de pies cúbicos¹. Por otro lado, el etileno es una fuente importante de materia prima para la industria petroquímica², y de otros numerosos procesos químicos y productos de alto valor económico, a esto se suma que tiene un mayor precio relativo respecto al etano. Entre los productos que se obtienen a partir del etileno podemos mencionar a los polímeros sintéticos, estireno, óxido de etileno, monómeros de acetato de cloruro de vinil y acetato de vinil, dicloroetano, etilbenceno, acetaldehído, etano y otros productos³.

A diferencia del craqueo del etano que presenta una serie de desventajas por limitaciones termodinámicas y formación de coque³⁻⁴, la reacción de deshidrogenación oxidativa (ODH) del etano, es una buena alternativa para la producción de etileno, sobre todo a partir del gas de Camisea¹.

Los trabajos realizados sobre la reacción ODH del etano usando diferentes catalizadores basados en óxidos mixtos de Ni-Me (Me=Li, Mg, Al, Ga, Ti, Nb y Ta) han mostrado que se obtienen conversiones en el rango de 2% (óxidos de Ni-Ti-O) hasta 66% (óxidos de Ni-Nb-O) a 400°C, así como selectividades a etileno hasta del 90% con catalizadores a base de Ni-Nb-O⁵. Por otro lado, los catalizadores basados en hierro soportados sobre alúmina preparados por deposición en fase vapor han presentado una buena eficiencia para la deshidrogenación oxidativa del etano⁶. Los sistemas mixtos de Ni-Me, respecto a las muestras simples, mostraron mejores actividades debido a la presencia de mayor área superficial y la selectividad a etileno se atribuyó a la formación de especies de espinela y sitios ácidos superficiales⁵⁻⁶.

En este trabajo se muestran los primeros resultados, obtenidos por nuestro grupo, en la reacción ODH del etano utilizando catalizadores basados en óxidos de $\text{Ni}_x\text{Fe}_{1-x}\text{O}_4$ ($x=0,5$ a 0,9), preparados por el método de coprecipitación y usando un reactor de lecho fijo. La actividad y selectividad a etileno se evaluó en el rango de temperaturas de 250 hasta 400°C

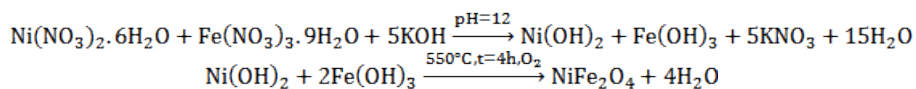
con una relación constante de peso-flujo $W/F = 0,48\text{g.s/mL}$, con el objetivo de explorar los mecanismos de activación de los catalizadores en diferentes condiciones⁷. Además, se estudió la selectividad a etileno como una función de la conversión para una relación variable W/F de 0,12 a 1,2 g.s/mL a una temperatura constante de 350°C, con el objetivo de encontrar la máxima relación conversión-selectividad para cada catalizador.

PARTE EXPERIMENTAL

Preparación de catalizadores basados en óxidos mixtos de $\text{Ni}_x\text{Fe}_{1-x}\text{O}_4$

Los materiales de partida fueron nitrato de níquel hexahidratado ($\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 99% EMSURE MERCK), nitrato de hierro nonahidratado ($\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, 99% EMSURE MERCK) e hidróxido de potasio puro (MERCK), usando como solvente el agua desionizada (MiliQ).

Se prepararon soluciones de nitrato de níquel y nitrato de hierro con diferentes relaciones molares de $x = \text{Ni}/(\text{Ni} + \text{Fe})$ (tabla 1), con un volumen total de 100 mL. Luego se utilizó KOH 1M como agente precipitante, para formar los hidróxidos correspondientes. La solución se mantuvo en agitación durante la adición del agente precipitante hasta alcanzar un $\text{pH} = 12$. La muestra resultante se secó en la estufa a 100°C durante 12 h. Al cabo de ese tiempo, se calcinó a 550°C durante 4 h con una rampa de calentamiento de 2°C/min⁷. Las reacciones correspondientes al proceso son las siguientes⁷⁻⁹:



Se graficaron los valores de pH en función del volumen añadido del agente precipitante KOH 1M para la formación de los hidróxidos metálicos (figura 1); las curvas obtenidas presentaron dos puntos de inflexión a: $\text{pH} = 4$ y $\text{pH} = 10$ que se asoció con la precipitación de los hidróxidos $\text{Fe}(\text{OH})_3$ y $\text{Ni}(\text{OH})_2$, respectivamente. Como se observa de la figura 1, a un $\text{pH} = 12$ todos los hidróxidos metálicos precipitaron.

Tabla 1. Preparación de los óxidos mixtos de $\text{Ni}_x\text{Fe}_{1-x}\text{O}_4$

x	Ni (0,25M)-Fe (0,25M) 100 mL		Masa de la sal		Agente precipitante
	Ni (moles)	Fe (moles)	Ni (g)	Fe (g)	KOH 1M (mL)
0	0	0,025	---	10,0962	75
0,9	0,003	0,023	0,7268	9,0866	73
0,8	0,005	0,020	1,4536	8,0769	70
0,5	0,025	0,025	7,2681	10,0962	125
1,0	0,025	0	7,2681	---	50

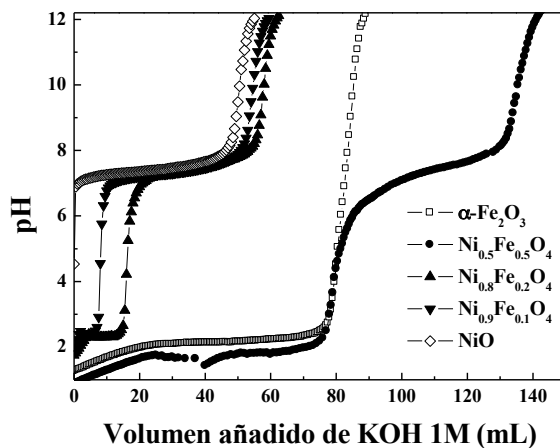


Figura 1. Curvas de precipitación, pH vs volumen añadido de KOH 1M.

RESULTADOS y DISCUSIÓN

A.- Caracterización de los catalizadores.

1.- Análisis por difracción de rayos X (XRD).

Para la identificación cristalográfica de las fases cristalinas presentes en las muestras se utilizó la técnica de difracción de rayos X (XRD). El equipo utilizado fue un difractómetro RIGAKU Modelo Miniflex, con tubo de cobre y filtro de níquel, con 30 kV y 15 mA, ubicado en el Laboratorio de rayos X de INGEMMET. El equipo está provisto de un ánodo rotatorio. Se usó un monocromador de grafito con el objetivo de seleccionar la radiación $\text{CuK}\alpha$ del ánodo de cobre y se trabajó con ángulos de barrido (2θ) entre 10° y 120° a una velocidad de $0,02^\circ/\text{s}$.

Los difractogramas de rayos X de la figura 2 mostraron los picos bien definidos en los siguientes ángulos (2θ): $37,3$; $43,4$; $63,0$; $75,5$; $79,5$, los cuales se corresponden con el óxido de níquel (NiO) con una estructura cristalina cúbica centrada en las caras (JCPDS 4-835)¹⁰ y al óxido de hierro ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$), correspondiente a la estructura cristalina hexagonal compacta, cuyos picos aparecen a valores 2θ de: $24,2$; $33,3$; $35,7$; $41,1$; $49,5$; $54,2$; $57,6$; $62,6$; $64,2$; $72,2$; $75,6$ (JCPDS 33-0664)¹¹.

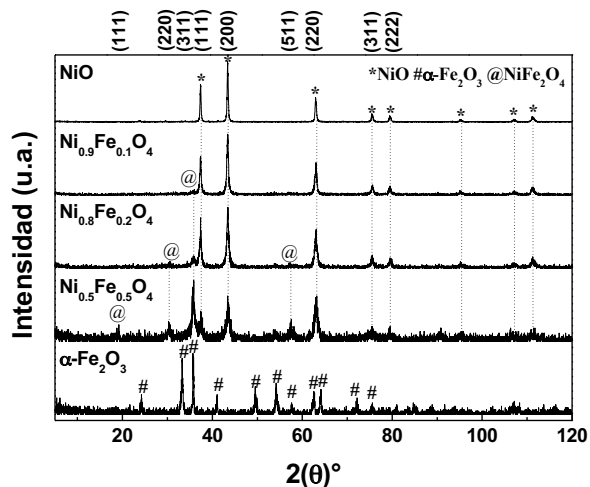


Figura 2. XRD de los catalizadores $\text{Ni}_x\text{Fe}_{1-x}\text{O}_4$ y de los óxidos puros NiO y $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$.

Los difractogramas correspondientes a los óxidos mixtos ($\text{Ni}_x\text{Fe}_{1-x}\text{O}_4$) presentaron picos correspondientes al óxido de níquel, con formación de pequeños picos asignados a la espinela de NiFe_2O_4 en posiciones angulares 2θ de: 19,2; 30,5; 35,7; 57,5¹². Para determinar el tamaño de cristalita se aplicó la ecuación de Scherrer:

$$\beta_s(2\theta)_{hkl} = \frac{K\lambda}{T \cos(\theta_{hkl})} \quad (1)$$

Donde, β_s es el tamaño de la cristalita, K es una magnitud adimensional cercana a 0,9 (factor de forma del cristal), T es el ancho medio del pico en radianes y λ es la longitud de onda de los rayos X¹³. Para determinar el tamaño de cristalita se ha seleccionado el pico más intenso de cada difractograma, que para NiO y las muestras mixtas correspondió al plano (200). Los cambios observados en el tamaño del parámetro de red en las muestras mixtas respecto al NiO indican la sustitución parcial del Ni^{2+} por Fe^{3+} en la red. La contracción del parámetro de red, observada en las muestras mixtas respecto al cristal NiO sostiene esta hipótesis (tabla 2).

2.- Caracterización por sorción de N₂ (Método BET).

Para la medición de la superficie específica se utilizó el equipo Micromeritics GEMINI-VII serie t, ubicado en el Laboratorio de Investigación de Físicoquímica de la Facultad de Ciencias (LABINFIS-UNI). Se utilizó N₂ como gas de análisis (gas N₂, 99% LINDE) y nitrógeno líquido (TECNOGAS), con punto de ebullición a -195,79 °C como refrigerante para la condensación del N₂.

El área BET se calculó en el rango de presiones P/P₀ entre 0,05 a 0,33 que se corresponde a la adsorción de una monocapa. Los puntos de equilibrio se midieron siguiendo el programa GAS MICROMERITICS, con un total de 50 puntos en el rango: $0,09 \leq P/P_0 \leq 0,98$ y con

un tiempo de equilibrio en cada punto de 7 s. Previo a la adsorción, las muestras fueron desgasificadas al vacío durante 2 h a 250 °C.

El método utilizado para calcular el área superficial de las muestras es el método de Brunauer-Emmett-Teller (BET) según la ecuación (2).

$$\frac{p/p_0}{V_a(1-p/p_0)} = \frac{1}{V_m c} + \frac{(c-1)p/p_0}{V_m c} \quad (2)$$

Donde v_a es el volumen adsorbido a una presión p ; v_m es el volumen adsorbido en la monocapa; p_0 es la presión de saturación del N_2 ; c es una constante relacionada con el calor de adsorción¹⁴.

El tratamiento desarrollado por BET, desde el punto de vista cinético, se centra en el proceso de intercambio entre las moléculas en la fase gaseosa y las moléculas adsorbidas. El cálculo de la superficie microporosa se realizó mediante el método t-plot, a partir de la dependencia lineal del volumen adsorbido de N_2 en función del espesor correspondiente a una monocapa, calculada por la ecuación de Harkins y Jura¹⁴. La superficie mesoporosa se calculó por la diferencia del área total con la correspondiente a la superficie microporosa. El tamaño de poro se evaluó por el método de Barrett, Joyner y Halenda (BJH). En la tabla 2 se presentan los resultados texturales y estructurales: SBET, área micro y mesoporosa, tamaño de poro y de la cristalita de los catalizadores $Ni_xFe_{1-x}O_4$. Todas las isotermas son del tipo IV correspondiente a materiales micro-mesoporosos, y los bucles de histéresis son de tipo H1 correspondiente a poros cilíndricos abiertos, con excepción de la muestra con $x=0,5$, que presentó poros con forma de cuello de botella (figura 3a). Se observa que las áreas superficiales totales y las correspondientes a la micro y mesoporosidad tienden a aumentar con el contenido de hierro (tabla 2). Además, se observa que en las muestras mixtas, el tamaño de poro y cristalita presentan valores similares que no varían sustancialmente con la composición Ni/Fe, debido posiblemente a que la estructura cristalina en los óxidos mixtos no se ha modificado respecto al NiO. El valor del tamaño de la cristalita ha presentado buena correlación con la correspondiente superficie específica (figura 3b).

Tabla 2. Parámetros texturales y estructurales de los catalizadores a base de óxidos puros y mixtos $Ni_xFe_{1-x}O_4$.

Muestras	Composición $x=Ni/(Ni+Fe)$ por EDS*	S_{BET} (m^2/g)	S_{micro} (m^2/g)	S_{meso} (m^2/g)	Tamaño poro (nm)	Tamaño cristalita (nm)	a (Å) parámetro de red
NiO	Óxido puro	15	0	15	30	33	4,1685
$Ni_{0,9}Fe_{0,1}O_4$	0.91	34	3	31	18	19	4,1666
$Ni_{0,8}Fe_{0,2}O_4$	0.82	47	7	40	15	15	4,1648
$Ni_{0,5}Fe_{0,5}O_4$	0.52	54	8	46	80	19	4,1666
$\alpha-Fe_2O_3$	Óxido puro	27	7	20	22	26	---

*Determinado por espectroscopía de energía dispersiva

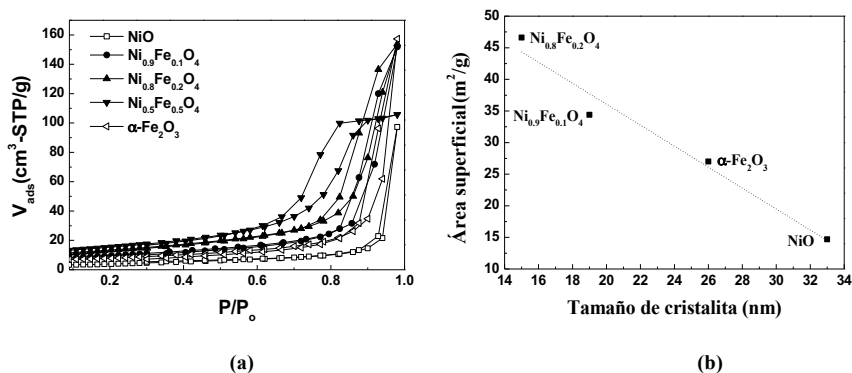


Figura 3. Isothermas de sorción de N_2 de los catalizadores $\text{Ni}_x\text{Fe}_{1-x}\text{O}_4$ y de los óxidos puros NiO y $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (a) y dependencia del tamaño de cristalita con el área superficial (b).

3.- Análisis por reducción a temperatura programada (TPR).

La técnica consiste esencialmente en la reducción de una especie metálica (M) mediante una corriente gaseosa reductora durante un calentamiento programado. En general, el gas reductor es el hidrógeno diluido en nitrógeno (10% H_2/N_2). La información química se obtiene analizando la variación de concentración del H_2 , como consecuencia del proceso de reducción. El equipo utilizado fue un Micromeritics ChemiSorb 2720, ubicado en LABINFIS-UNI, con un programador de temperatura que alcanza hasta un valor límite de 1100°C.

Para lograr reducir los catalizadores con la mezcla gaseosa reductora (10% H_2/N_2), se realizó un cálculo previo para garantizar que en los termogramas TPR se obtuvieran los picos bien definidos. Cinéticamente, los procesos de reducción se pueden considerar como una reacción de primer orden con respecto al hidrógeno. Si p es el factor de conversión térmica¹⁵, entonces:

$$P = \frac{\beta S_o}{FC_o} \quad (3)$$

Donde, S_o es el número de moles de las especies reducibles (μmol), C_o es la concentración del gas reductor H_2 ($\mu\text{mol}\cdot\text{cm}^{-3}$), F es el flujo de la mezcla reductora 10% H_2/N_2 (cm^3/min) y β denota la rampa de calentamiento ($^\circ\text{C}/\text{min}$)¹⁵. Los ensayos de calibración se realizaron a fin de establecer con exactitud las etapas térmicas de reducción (picos de reducción), usando para ello óxido de Ag como agente reductor; de esta manera, se determinó el factor térmico óptimo p que permitió maximizar los picos con una buena resolución.

Los ensayos de reducción a temperatura programada se realizaron en un rango de temperatura de 25°C hasta 800°C, con una rampa de calentamiento de 10°C/min y con un flujo de 10% H_2/N_2 de 25 mL/min. En la figura 4 se presentan los termogramas TPR y en la tabla 3 se muestran las temperaturas máximas de reducción y los correspondientes volúmenes consumidos de H_2 , para la reducción de los catalizadores $\text{Ni}_x\text{Fe}_{1-x}\text{O}_4$ y de los óxidos simples puros NiO y $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$.

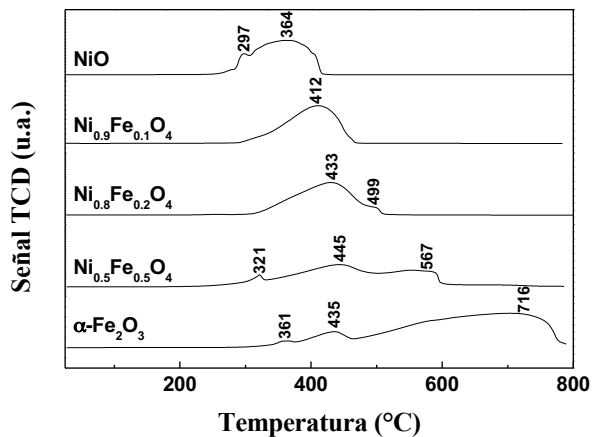


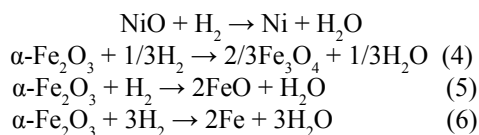
Figura 4. Termogramas TPR de los catalizadores $\text{Ni}_x\text{Fe}_{1-x}\text{O}_4$ y de los óxidos simples puros.

Tabla 3. Propiedades reductoras de los catalizadores $\text{Ni}_x\text{Fe}_{1-x}\text{O}_4$ y de los óxidos simples puros.

Muestras	Composición $x=\text{Ni}/(\text{Ni}+\text{Fe})$ por EDS*	Masa de muestra (mg)	Temperatura (°C)	Volumen de H_2 -exp. (mL-STP/g)	Volumen de H_2 -teo. (mL-STP/g)
NiO	Óxido puro	74,2	364	282,9	299,8
$\text{Ni}_{0,9}\text{Fe}_{0,1}\text{O}_4$	0,91	51,7	412	311,6	-
$\text{Ni}_{0,8}\text{Fe}_{0,2}\text{O}_4$	0,82	51,1	433	308,1	-
$\text{Ni}_{0,5}\text{Fe}_{0,5}\text{O}_4$	0,52	63,2	445	224,6	-
$\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$	Óxido puro	51,0	716	302,5	46,7 (Fe_3O_4) 140,3 (FeO) 420,8 (Fe)

*Determinado por espectroscopia de energía dispersiva

La reducción de NiO y Fe_2O_3 se produce de acuerdo con las siguientes reacciones:



En el caso del NiO , se presenta una reducción con dos picos de reducción, a 297°C y a 364°C, que es consistente con la reducción del Ni^{2+} (o Ni^{3+}) a Ni metálico¹⁶. En el caso del Fe_2O_3 , se presentan tres picos de reducción atribuidos a la reducción del $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ hasta la espinela Fe_3O_4 a 361°C, FeO a 435°C y Fe a 716°C, que se confirma por la relación de consumo de hidrógeno igual a 1/3 : 1 : 3 para los 3 óxidos mencionados. La sustitución del Ni^{2+} por Fe^{3+} en la estructura del NiO ocasiona el desplazamiento de los picos de reducción hacia mayores temperaturas, que es un indicativo que los óxidos mixtos de Fe-Ni no constituyen una

segregación física sino más bien un sistema mixto, confirmando los resultados del análisis XRD de la figura 1. Adicionalmente, los cálculos cuantitativos realizados del volumen de H_2 en condiciones normales y por gramo de muestra, para la reducción de los óxidos mixtos (no mostrado), no corresponden a la formación de óxidos simples de Ni o Fe en un estado de oxidación en particular, sino más bien a la formación de una fase mixta, verificando la hipótesis de la formación de un óxido mixto de Ni-Fe.

4.- Espectroscopia Láser Raman (LRS)

Para los análisis, el equipo LRS utilizado fue Horiba-Jobin Yvon modelo LabRam, acoplado a un microscopio con focal marca Olympus, con 100X de aumento máximo, detector: dispositivo de carga acoplada (CCD) enfriado a -70°C (200K) por efecto Peltier y Láser: verde, de estado sólido marca Spectra Physics longitud de onda 532,13 nm. El equipo usado se encuentra ubicado en la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina. Los espectros se registraron en la zona desde 100 hasta 2000 cm^{-1} . El aumento utilizado en el microscopio óptico para la adquisición de datos fue de 50 a 100 X. La potencia del láser se fijó en 30 mW. Los espectros Raman de los óxidos mixtos de $\text{Ni}_x\text{Fe}_{1-x}\text{O}_4$ se muestran en la figura 5.

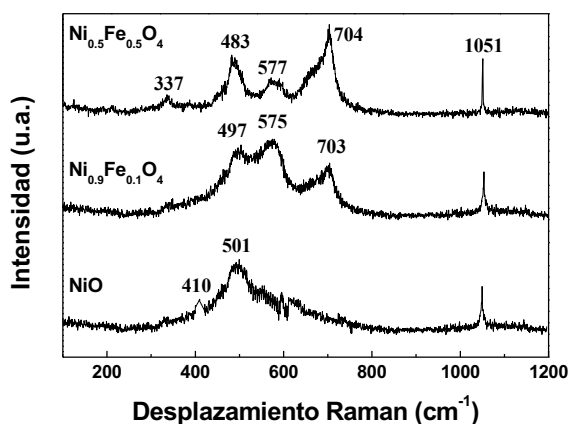


Figura 5. Espectros Raman de los catalizadores mixtos de $\text{Ni}_{0.5}\text{Fe}_{0.5}\text{O}_4$ y $\text{Ni}_{0.9}\text{Fe}_{0.1}\text{O}_4$ en comparación con correspondiente al NiO.

El óxido de níquel (NiO) puro presentó una banda intensa a 500 cm^{-1} con un hombro a 410 cm^{-1} debido a la vibración de tensión en NiO^9 . En las muestras mixtas $\text{Ni}_{0.5}\text{Fe}_{0.5}\text{O}_4$ y $\text{Ni}_{0.9}\text{Fe}_{0.1}\text{O}_4$, la sustitución del Ni^{2+} por el Fe^{3+} motivó que el pico de tensión del NiO se desplace hasta 575 cm^{-1} con un hombro a 497 cm^{-1} , que también confirma la presencia de especies mixtas en los catalizadores. El pico bien definido a 1051 cm^{-1} , que se presenta en los espectros de todas las muestras, es atribuido al carbonato de potasio (K_2CO_3)¹⁰.

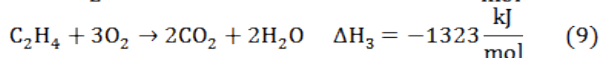
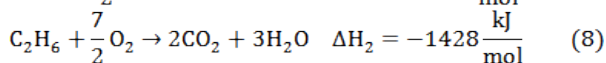
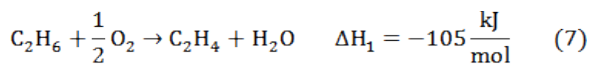
B.- Evaluación catalítica del sistema de reacción para la deshidrogenación oxidativa del etano de los óxidos simples puros y mixtos.

Sistema de reacción para la deshidrogenación oxidativa del etano

En la figura 6 se muestra el equipo utilizado para la producción de etileno a partir de etano donde: A, B y C son los gases de alimentación: nitrógeno (99% N₂ UHP), oxígeno (0,5% O₂/N₂) y etano (0,5% C₂H₆/N₂), respectivamente; D y E son las válvulas de 2 y 4 vías, respectivamente. En una de las salidas de la válvula D, se mide el caudal de la alimentación, y la válvula E permite ingresar la alimentación hacia el reactor o hacia el cromatógrafo; F y G corresponden al programador de temperatura y el horno, respectivamente; H es el termopar que permite medir la temperatura en la muestra; I es el reactor de cuarzo; J es el cromatógrafo de gases y K es la computadora que almacena los datos obtenidos en el análisis.

La actividad catalítica de la deshidrogenación oxidativa del etano fue estudiada en un reactor de lecho fijo de cuarzo tubular con diámetro interno de 13 mm y 40 cm de longitud. Todos los catalizadores de Ni_xFe_{1-x}O₄ se tamizaron hasta obtener el mismo tamaño de las partículas del cuarzo (150 μm), el cual se usó como diluyente térmico con una relación en peso 2:1. El flujo total de la alimentación de los gases fue 50 mL/min con una relación W/F = 0,48 g.s/mL (W: masa del catalizador y F: flujo total del sistema). La masa utilizada de catalizador fue 400 mg y 800 mg de cuarzo. El rango de temperaturas fue de 250°C hasta 400°C en el reactor.

En el sistema de reacción para la deshidrogenación oxidativa del etano hay tres reacciones que consiste en la oxidación total del etano¹⁷:



Los productos obtenidos fueron analizados en un cromatógrafo de gases VARIAN-450 dotado con una columna empacada Carbopack B y con dos detectores FID (para la detección de etano y etileno) y TCD (para la detección de CO₂). Para evitar la formación de CO y coque se trabajó con exceso de O₂ en la reacción 7, con una relación etano: O₂=1.

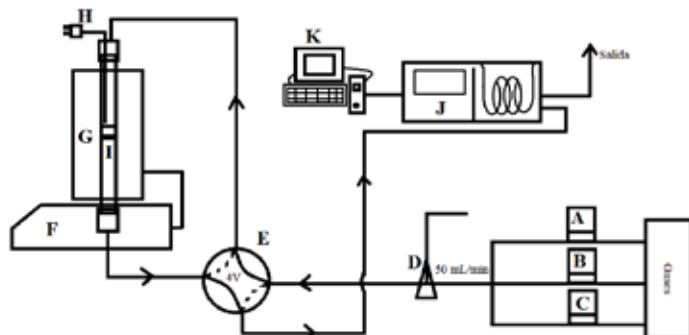


Figura 6. Sistema de reacción utilizado para la deshidrogenación oxidativa (ODH) del etano.

Cálculos de conversión y selectividad a etileno en la reacción de deshidrogenación oxidativa del etano.

Teniendo como referencia las ecuaciones 7, 8 y 9, la conversión y selectividad a etileno¹⁸ fueron calculadas de acuerdo a las ecuaciones 10 y 11.

$$\text{Conversión (\%)} = \frac{[\text{CO}] + [\text{CO}_2] + 2[\text{C}_2\text{H}_4]}{2[\text{C}_2\text{H}_6]_{\text{inicial}}} \times 100 \quad (10)$$

$$\text{Selectividad (\%)} = \frac{2[\text{C}_2\text{H}_4]}{2[\text{C}_2\text{H}_4] + [\text{CO}] + [\text{CO}_2]} \times 100 \quad (11)$$

Las ecuaciones 10 y 11 están relacionadas con el balance de carbono de la siguiente forma:

$$2[\text{C}_2\text{H}_6]_{\text{entrada}} = 2[\text{C}_2\text{H}_6]_{\text{no reaccionado}} + 2[\text{C}_2\text{H}_4] + [\text{CO}] + [\text{CO}_2]_{\text{salida}} \quad (12)$$

Actividad catalítica obtenida en la deshidrogenación oxidativa del etano (ODH).

La actividad de los catalizadores obtenida en la reacción de deshidrogenación oxidativa del etano fue estudiada en un rango de temperatura entre 250°C y 400°C con una relación de W/F constante (0,48 g.s/mL). Es importante mencionar que el etileno y el dióxido de carbono fueron los únicos productos detectados en todos los catalizadores. Las pérdidas de carbono observados en este trabajo, según la ecuación 12, no superaron el 5%.

En la figura 7 se presentan las conversiones de los catalizadores de $\text{Ni}_x\text{Fe}_{1-x}\text{O}_4$ en la deshidrogenación oxidativa del etano. Todos los catalizadores mixtos aumentaron su actividad con la temperatura. A 400°C se obtuvo la mejor actividad en el siguiente orden decreciente: $\text{Ni}_{0,8}\text{Fe}_{0,2}\text{O}_4 > \text{NiO} > \text{Ni}_{0,9}\text{Fe}_{0,1}\text{O}_4 = \text{Ni}_{0,5}\text{Fe}_{0,5}\text{O}_4 > \alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$. Esta tendencia en la actividad se puede explicar debido a un efecto combinado de la superficie específica, la facilidad en la reducibilidad de los catalizadores y la estructura cúbica distorsionada del óxido mixto que ha permitido la formación de sitios activos superficiales¹⁷.

El requerimiento más importante para los mejores catalizadores en la deshidrogenación oxidativa del etano es la capacidad para convertir efectivamente el etano a etileno a bajas temperaturas con una alta selectividad. La selectividad está generalmente relacionada con la conversión, por eso se realizó una segunda serie de experimentos a temperatura constante (350°C) y variando la relación W/F de 0,12 a 1,20 gs/m, a fin de obtener la mejor relación actividad - selectividad. En la figura 8 se puede observar que la selectividad a etileno varía con la conversión.

En la tabla 4 se observa que el catalizador $\text{Ni}_{0,8}\text{Fe}_{0,2}\text{O}_4$ obtuvo a 300°C una selectividad a etileno de 84,2%, con una conversión de 7,6% y a 350 °C, la conversión aumentó a 28% pero con la selectividad se redujo a 68,7%. A 350°C, el catalizador $\text{Ni}_{0,9}\text{Fe}_{0,1}\text{O}_4$ presentó también una alta selectividad a etileno (64%) y conversión (26,4%). Las altas selectividades a etileno observadas en los catalizadores mixtos (con un contenido de Ni de 0,8 y 0,9), en comparación con los óxidos puros, se debió probablemente a la mejor superficie específica y más bajas magnitudes del tamaño de cristalita que modificó la distribución de las especies

de Ni superficiales, favoreciendo una menor reducibilidad respecto al del NiO puro y posiblemente a una baja presencia de especies de oxígeno electrofílico, como lo sugieren también algunos autores¹⁶.

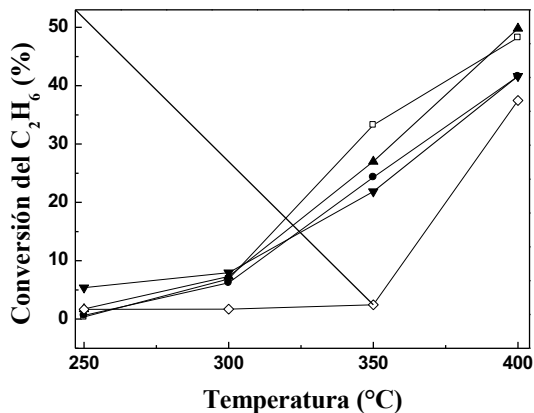


Figura 7. Conversión del etano en función de la temperatura de (□) NiO (●) Ni_{0.9}Fe_{0.1}O₄ (▲) Ni_{0.8}Fe_{0.2}O₄ (▼) Ni_{0.5}Fe_{0.5}O₄ y (◇) α-Fe₂O₃.

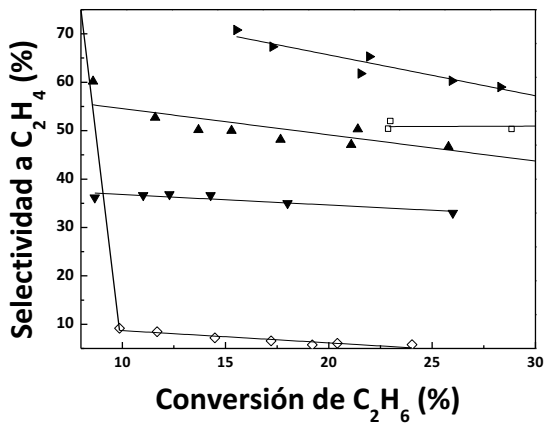


Figura 8. Selectividad a etileno como una función de la conversión del etano de (□) NiO (▲) Ni_{0.9}Fe_{0.1}O₄ (►) Ni_{0.8}Fe_{0.2}O₄ (▼) Ni_{0.5}Fe_{0.5}O₄ y (◇) α-Fe₂O₃ (condiciones de reacción: T = 350°C, C₂H₆/O₂ = 1/1), Condiciones de reacción: T = 350°C, relación etano:oxígeno: C₂H₆/O₂ = 1/1).

Tabla 4. Comportamiento catalítico de los catalizadores en función de la temperatura. Condiciones de reacción: T = variable, W/F = 0,48 g.s/mL, relación $\text{C}_2\text{H}_6/\text{O}_2 = 1/1$.

Catalizadores	300°C		350°C	
	Conversión (%)	Selectividad a etileno (%)	Conversión (%)	Selectividad a etileno (%)
NiO	7,2	41,5	33,0	33,8
$\text{Ni}_{0,9}\text{Fe}_{0,1}\text{O}_4$	6,7	74,9	26,4	64,0
$\text{Ni}_{0,8}\text{Fe}_{0,2}\text{O}_4$	7,6	84,2	28,0	68,7
$\text{Ni}_{0,5}\text{Fe}_{0,5}\text{O}_4$	7,3	33,5	21,2	52,7
$\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$	1,8	5,5	3,5	32,1

CONCLUSIONES

Los catalizadores $\text{Ni}_x\text{Fe}_{1-x}\text{O}_4$ (con contenidos de Ni de 0,8 y 0,9) preparados por el método de coprecipitación, utilizando como agente precipitante hidróxido de potasio KOH 1M a un pH=12, mostraron buena actividad y selectividad en la reacción de deshidrogenación oxidativa del etano para producir etileno como producto preferente. Se obtuvo un rango amplio de conversión ~50% para $\text{Ni}_{0,80}\text{Fe}_{0,2}\text{O}_4$ a 300°C y ~48% para $\text{Ni}_{0,9}\text{Fe}_{0,1}\text{O}_4$ a 400°C con un W/F constante (0,48 g.s/mL). La selectividad en función de la conversión de etano se obtuvo variando la relación W/F desde 0,2 hasta 1,35 g.s/mL, produciendo un rango de conversión de etano desde 8% hasta 30% a 350°C.

Los catalizadores $\text{Ni}_x\text{Fe}_{1-x}\text{O}_4$ presentaron según el análisis XRD estructuras cristalinas del tipo espinela (NiFe_2O_4) en los óxidos mixtos. La sustitución parcial del Ni^{2+} por el Fe^{3+} en la estructura del NiO disminuyó el parámetro de red, modificando la distribución de las especies de Ni superficiales que se verificó por la menor reducibilidad de los óxidos mixtos respecto a la del NiO y en la distorsión de la vibración tensional del NiO en los espectros Raman. Las isotermas de adsorción de los catalizadores mixtos fueron de tipo IV, correspondiente a superficies micromesoporosas con superficies y texturas comparables con la muestra de NiO, pero con menores tamaños de poro en promedio, que favoreció la concentración de sitios activos superficiales.

La mayor conversión obtenida en las muestras mixtas se puede explicar por la formación de espinelas con poro pequeño que favoreció el contacto gas-sólido en los sitios octaédricos del Fe^{3+} bajo la influencia del Ni^{2+} , mientras que la selectividad a etileno se puede atribuir a la presencia de sitios ácidos superficiales que se formaron posiblemente por el desplazamiento de las vibraciones tensionales asociadas al NiO confirmada por el análisis Raman.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Fondo de Innovación de Ciencia y Tecnología (Proyecto n° 229-FINCYT), al Instituto General de Investigación (IGI-UNI) y a la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería, por el apoyo económico concedido para la realización

de este trabajo durante el año 2014. Además, una mención especial a la Dra. Alicia Ulla del Instituto de Investigaciones en Catálisis y Petroquímica (INCAPE), Facultad de Ingeniería Química - UNL Santa Fe, Argentina, por la estancia de investigación concedida a Mario Hurtado Cotillo. Los autores también agradecen al Dr. José Carlos Díaz Rosado por las facilidades del microscopio electrónico SEM de la Facultad de Ciencias.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Leung L, Jenkis GP. An economic evaluation of Peru's liquefied natural gas export policy. *Energy Policy*. 2014; 74: 643-645.
2. Solsona B, Concepción P, Hernández S. Oxidative dehydrogenation of ethane over NiO-CeO₂ mixed oxides catalysts. *Catal Today*. 2012; 180: 51-58.
3. Gärtner CA, Van Veen AC, Lercher JA. Oxidative Dehydrogenation of Ethane: Common Principles and Mechanistic Aspects. *ChemCatChem*. 2013; 5: 1-23.
4. Bortolozzi JP, Weiss T, Gutierrez LB, Ulla MA. Comparison of Ni and Ni-Ce/Al₂O₃ catalysts in granulated and structured forms: Their possible use in the oxidative dehydrogenation of ethane reaction. *Chem Eng J*. 2014; 246: 343-352.
5. Heracleous E, Lemonidou AA. Ni-Me-O mixed metal oxides for the effective oxidative dehydrogenation of ethane to ethylene – Effect of promoting metal Me. *J Catal*. 2010; 270: 67-75.
6. Xu L, Lin X, Xi Y, Lu X, Wang C, Liu C. Alumina-supported Fe catalyst prepared by vapour deposition and its catalytic performance for oxidative dehydrogenation of ethane. *Mater Res Bull*. 2014; 59: 254-260.
7. Landon J, Demeter E. Spectroscopic Characterization of Mixed Fe–Ni Oxide Electrocatalysts for the Oxygen Evolution Reaction in Alkaline Electrolytes. *ACS Catalysis*. 2012; 2: 1793–1801.
8. Beverskog B, Puigdomenech I. Revised Pourbaix diagrams for nickel at 25-300°C. *Corros Sci*. 1997; 39: 969-980.
9. Lin X, Hoel CA, Sachtler WMH, Poepelmeier KR, Weitz E. Oxidative dehydrogenation (ODH) of ethane with O₂ as oxidant on selected transition metal-loaded zeolites. *J Catal*. 2009; 265:54-62.
10. Khalil A, Hashaikh R. Electrospun nickel oxide nanofibers: Microstructure and surface evolution. *Appl Surf Sci*. 2015; 357: 1333-1342.
11. Shahpari M, Behjat A, Khajaminian M. The influence of morphology of hematite (□-Fe₂O₃) counter electrodes on the efficiency of dye-sensitized solar cells. *Sol Energy*. 2015; 119: 45-53.
12. Vivekanandhan S, Venkateswarlu M, Carnahan D. Sol-gel mediated surface modification of nanocrystalline NiFe₂O₄ spinel powders with amorphous SiO₂. *Ceram Inter*. 2013; 39: 4105-4111.
13. Burton AW, Ong K, Rea T. On the estimation of average crystallite size of zeolites from the Scherrer equation: A critical evaluation of its application to zeolites with one-dimensional pore systems. *Micropor Mesopor Mater*. 2009; 117: 75-90.
14. Webb PA, Orr C, Camp RW, Olivier JP, Yunes S. Analytical methods in fine particle

- technology. Norcross: Micromeritics; 1997.
15. Malet P, Caballero A. The selection of experimental conditions in temperature-programmed reduction experiments. *J Chem Soc Faraday Trans.* 1988; 84 (7): 2369-2375.
 16. Solsona B, Concepción P, Demicol B, Hernández S, Delgado JJ, Calvino JJ, *et al.* Selective oxidative dehydrogenation of ethane over SnO₂-promoted NiO catalysts. *J Catal.* 2012; 295: 104-114.
 17. Rodriguez ML, Ardisson DE, López E. Reactor designs for ethylene production via ethane oxidative dehydrogenation: Comparison of performance. *Ind Eng Chem Res.* 2011; 50: 2690-2697.
 18. Bortolozzi JP, Gutierrez LB, Ulla MA. Synthesis of Ni/Al₂O₃ and Ni-Co/Al₂O₃ coatings onto AISI 314 foams and their catalytic application for the oxidative dehydrogenation of ethane. *Appl Catal A Gen.* 2013; 452: 179-188.

CARACTERIZACIÓN, MEDIANTE ESPECTROMETRÍA DE MASAS DE ALTA RESOLUCIÓN MALDI/FT-ICR, DE TANINOS HIDROLIZABLES DE LA TARA (*Caesalpinia spinosa*)

Juan Z. Dávalos^a, Violeta L. Romero^b, Juan I. Sánchez^c, Julissa Chávez^d,
Ana Valderrama-Negrón^d

RESUMEN

Estudiamos y caracterizamos la estructura de taninos hidrolizables de tara comercial en polvo, mediante espectrometría de masas de ultra-alta resolución (MALDI/FT-ICR) sin empleo de técnicas de separación. Nuestros resultados experimentales, fundamentados por cálculos computacionales al nivel DFT/M05-2X, muestran que las especies identificadas son básicamente estructuras oligoméricas de ácidos poligaloquínicos del tipo $(C_7H_4O_4)_n(C_7H_{12}O_6)$ formados por una cadena de residuos de ésteres gálicos (dépsido) unida, vía enlace de éster, a un ácido quínico.

Palabras clave: *Caesalpinia spinosa*, tara comercial en polvo, taninos hidrolizables, MALDI/FT-ICR, teoría DFT/M05-2X, ácidos poligaloquínicos, dépsidos gálicos.

CHARACTERIZATION, BY HIGH RESOLUTION MALDI/FT-ICR MASS SPECTROMETRY, OF TARA (*Caesalpinia Spinosa*) HYDROLYSABLE TANNINS

ABSTRACT

We have studied and characterized the structure of hydrolysable tannins of commercial powder tara, performed by means ultra-high-resolution mass spectrometry (MALDI/FT-ICR) without using separation techniques. Our experimental results, supported by computational calculations at DFT/ M05-2X level of theory, show that the identified species are basically oligomeric structures of polygalloyquinic acids, of the $(C_7H_4O_4)_n(C_7H_{12}O_6)$ type, composed by a chain of polygallic esters (depside) linked, via ester bond, to one quinic acid.

^a Instituto de Química-Física "Rocafolano", CSIC, Serrano 119, 28006, Madrid, España. jdavalos@iqfr.csic.es

^b Facultad de Ingeniería Industrial y de Sistemas, Universidad Nacional Federico Villarreal, Av. Colonial 450, Lima 01, Perú.

^c Facultad de Ing. Química, Universidad Nacional de Ingeniería, Av. Túpac Amaru s/n, Lima 01, Perú.

^d Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Ingeniería, Av. Túpac Amaru s/n, Lima 01, Perú.

Key words: *Caesalpinia spinosa*, commercial tara powder, hydrolysable tannins, MALDI/FT-ICR, DFT/M05-2X theory, polygalloyquinic acids, gallic depsides.

INTRODUCCIÓN

La tara (*Caesalpinia spinosa*) es un árbol oriundo del Perú, país con mayor área de bosques naturales y mayor productor (aprox. 80%) de tara en el mundo. La tara está distribuida, básicamente, en zonas semiáridas de los departamentos de Ayacucho, Cajamarca, La Libertad, Huancavelica, Apurímac, Ancash y Huánuco.

La tara, como fuente natural integral (tallos, hojas y frutos) es utilizada desde la época precolombina en la medicina popular como astringente, cicatrizante, antidisentérico y también como mordiente en tejidos. Sus propiedades benéficas se atribuyen a la gran capacidad antioxidante de sus taninos (compuestos polifenólicos). Estos pueden ser “condensados” o “hidrolizables”^{1,2}. La tara en polvo contiene gran cantidad de estos últimos. La transformación de los taninos de la tara en compuestos fenólicos antioxidantes de bajo peso molecular constituye una excelente alternativa para la obtención de extractos de alto valor agregado, cuya demanda es creciente por su i/ amplia actividad farmacológica (incluso en el tratamiento del SIDA³) y antibacteriana⁴, ii/ clarificadores del vino y sustitutos de la malta en la elaboración de la cerveza, iii/ utilidad en la industria alimentaria, como suplemento alimenticio y/o sustituto de antioxidantes sintéticos⁵, algunos de los cuales podrían ser cancerígenos^{6,7}. Frente a estas sospechas, la búsqueda de antioxidantes, como los taninos y polifenoles u otros productos con propiedades interesantes, provenientes de productos naturales, se ha convertido en un campo de investigación en auge⁸⁻¹².

PARTE EXPERIMENTAL

Extracción de taninos hidrolizables de la tara en polvo

Los taninos hidrolizables estudiados fueron directamente extraídos de vainas de tara seca, sin semilla y previamente pulverizada, provenientes del paraje Uchuyhuaycco - Tambillos del departamento de Ayacucho-Perú. La extracción se hizo mediante una disolución del 80% (v/v) de acetona/agua, mantenida 24 h en un baño a 40 °C y finalmente centrifugada a 1500 rpm durante cinco minutos.

Espectrometría de masas de ultra alta resolución FT-ICR con fuente de ionización por MALDI

Los experimentos se llevaron a cabo utilizando el módulo MALDI (“Matrix-Assisted Laser Desorption/ Ionization”) del espectrómetro de masas de ultra-alta resolución FT-ICR (“Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry”)¹³ 930-Varian/Agilent, dotado con campo magnético permanente de 7.0 T, generado por una bobina superconductora inmersa en He-líquido. La fuente ionización por MALDI incluye un láser ORION Nd:YAG (longitud de onda = 355 nm).

La espectrometría FT-ICR, está basada en el movimiento ciclotrónico de partículas cargadas en una celda de confinamiento iónico y es, dentro de las espectrometrías de masas, una de las de mayor resolución ($R \approx 10^6$) y sensibilidad. El rango de masas detectado por nuestro espectrómetro está entre 300 y 10 000 Da; opera bajo ultra-alto vacío ($\sim 10^{-10}$ mBar) tanto en los modos catiónico como aniónico. Para este trabajo operamos en el modo catiónico. Las muestras ($\sim 0.5 \mu\text{L}$) fueron depositadas sobre una matriz cristalizada de ácido 2,6-dihidroxibenzoico.

La separación e identificación de las especies detectadas se realizaron sin necesidad de utilizar técnicas cromatográficas o de separación previas utilizadas habitualmente con espectrómetros de masas convencionales, y esto debido a que FT-ICR es un espectrómetro de ultra alta precisión ($< 2\text{ppm}$). Utilizamos picos conocidos de malto-oligosacáridos de cerveza comercial para calibrar los registros de masas¹⁴.

DETALLES COMPUTACIONALES

La geometría de los conformeros más significativos tanto de los ácidos quínico y gálico como de sus derivados galo-quínicos (identificados experimentalmente) fueron optimizadas usando el método del Funcional de Densidad (DFT) de Truhlar, M05-2X¹⁴ con bases 6-311++G(d,p) para las especies sencillas y 6-31G(d) para las más complejas. Todos los cálculos se realizaron utilizando el paquete Gaussian 09¹⁶. El nivel de la teoría empleado ha mostrado ser una de las más adecuadas para el estudio estructural y energético de especies fenólicas y polifenólicas^{17,18}. Los cálculos computacionales realizados sirvieron para dar soporte a los argumentos que sostenemos en la discusión de los resultados obtenidos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los parámetros MALDI/FT-ICR de detección fueron optimizados para registrar señales intensas y bien resueltas en el rango de 500 a 2000 Da (Fig. 1). Estas señales corresponden a series de picos, igualmente espaciados en 152 Da. Hay una serie principal con picos en $m/z = 671, 839, 991, 1143, 1295, 1447$ y 1599 Da y otra secundaria (de picos menos intensos) desplazada en 16 Da respecto de la anterior. Cada pico de la serie en realidad incluye una distribución isotópica de picos de una misma especie, tal como se muestra en los recuadros de ampliación de la figura 1.

El análisis riguroso de cada una de las distribuciones antes descritas nos permite la identificación molecular inequívoca de la especie detectada. Tanto la serie principal como la secundaria corresponden a estructuras oligoméricas del tipo $(\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_6)(\text{C}_7\text{H}_4\text{O}_4)_n$ con $n = 3, 4, \dots, 9$ asociados a cationes de potasio y de sodio, respectivamente. La unidad másica que se repite es un residuo de ácido gálico ($\text{C}_7\text{H}_4\text{O}_4$; $M = 152$ Da), el que llegaría a formar ésteres arílicos o dépsidos de polifenoles gálicos (unidos entre sí por un enlace de éster) enlazados, igualmente a través de un enlace de éster, al ácido quínico.

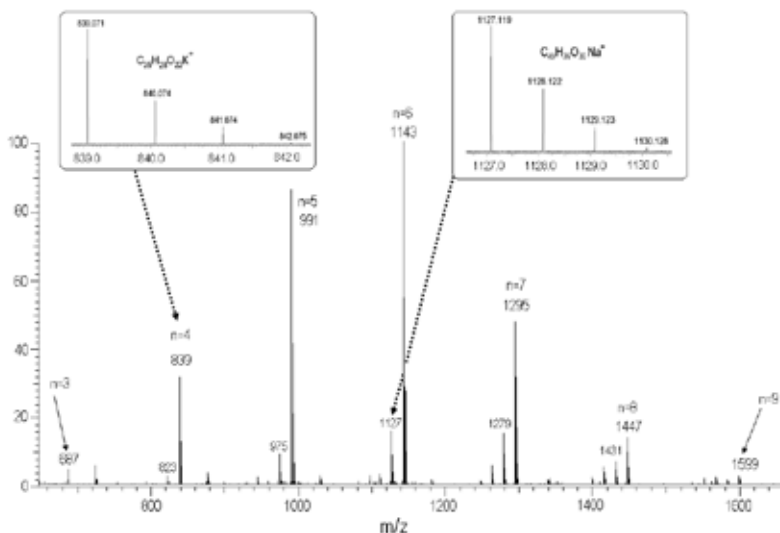


Figura 1. Espectro MALDI/FT-ICR, en modo positivo, de taninos hidrolizables extraídos de polvo de tara. Los cuadros superiores encierran señales ampliadas mostrando la distribución isotópica del pico m/z identificado.

Pizzi *et al.*¹⁹ identificaron oligómeros similares a los que identificamos (entre $n=1$ y 8) en tara hidrolizable comercial utilizando MALDI/TOF y HPLC. Sin embargo la estructura de los oligómeros que proponen (dépsidos gálicos unidos a un quínico) pese a ser sencilla y la más viable creemos que no está suficientemente fundamentada. Clifford *et al.*²⁰ también identificaron estos oligómeros (entre $n=1$ e incluso 9) extraídos de tara comercial metanolizada, utilizando LC-MS/ESI (cromatografía líquida y espectrometría de masas con fuente de electrospray o ESI). Las técnicas de fragmentación que utilizan para las especies detectadas les permiten proponer estructuras tentativas mejor elaboradas que las de Pizzi *et al.*¹⁹ dado que incluyen la presencia de varios isómeros de cada especie detectada a los que identifican convenientemente como ácidos galo-quínicos. Estas estructuras son corroboradas por los resultados de Aouf *et al.*¹⁰ quienes identificaron, mediante UPLC (Ultraperformance Liquid Chromatography)-MS/ESI oligómeros entre $n=1$ y 6. Las estructuras propuestas por Clifford y Aouf se basan en aquellas reportadas por Haslam *et al.*^{21,22} y Horler-Nursten²³ quienes, mediante técnicas de análisis cromatográfico, proponen que los oligómeros de ácidos galo-quínicos estarían constituidos no sólo por ácidos gálicos unidos, vía enlaces de éster, a los distintos sitios OH del ácido quínico, sino también por cadenas de dépsidos gálicos enlazados en sus posiciones *meta* y *para*.

En este contexto nosotros proponemos un análisis mecano-cuántico, usando la Teoría del Funcional de Densidad o DFT, para dilucidar la naturaleza de las especies identificadas partiendo de estructuras básicas como son los ácidos gálico ($G, C_7H_6O_5$) y quínico ($Q, C_7H_{12}O_6$)

(figura 2). Estos son ácidos carboxílicos polifenólicos con sitios activos localizados en sus grupos OH y COOH, capaces de formar enlaces de hidrógeno, enlaces de éster o desprotonarse con facilidad.

En **G**, que es una molécula plana, el OH situado en la posición *para* (o C4) es el sitio más activo; mientras en **Q** es el grupo ácido COOH. La orientación que adoptan los grupos OH define la naturaleza de sus correspondientes conforméros (rotámeros). En la Fig. 2, se muestran los conforméros **G** y **Q** más estables.

La reactividad de los centros activos los podemos cuantificar introduciendo el concepto energético de acidez intrínseca (GA) de la especie considerada AH en fase gas, definido como el cambio de la energía de Gibbs de la siguiente reacción de transferencia protónica²⁴:



donde AH es el ácido neutro y A^- su anión producto de la desprotonación en un determinado sitio activo. Cuanto más bajos sean los valores de GA cuanto más ácidos serán los correspondientes centros activos, de manera similar al significado del pH o del pK_a de un ácido en disolución. Utilizando este concepto, determinamos que **Q** es más ácido en su grupo COOH ($GA = 1324$ kJ/mol) que en el resto de sus grupos OH; mientras que **G** lo es en su grupo *p*-OH ($GA = 1312$ kJ/mol).

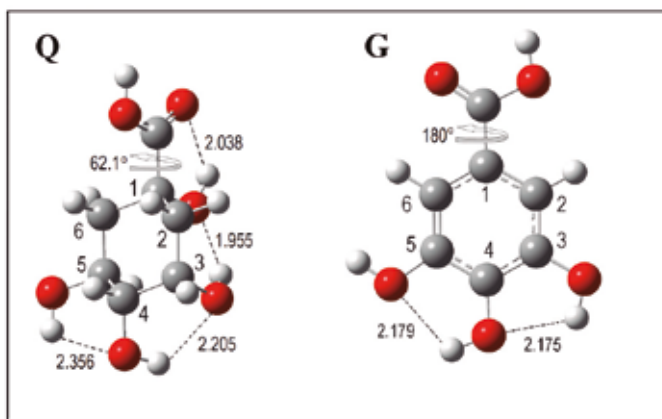


Figura 2. Estructura de los conforméros más estables de los ácidos quínico (**Q**, izquierda) y gálico (**G**, derecha), ambas optimizadas al nivel M05-2X/6-311++G(d,p). Las distancias interatómicas están dadas en Å.

La estructura más sencilla del ácido gálico unido, vía enlace de éster, al ácido quínico (estructura galo-quínica **G-Q**, identificado por espectrometría de masas MS^{19,20} con $M=344$ uma y $n=1$) admite un considerable número de isómeros y confórmeros. Encontramos que la especie más estable incluye un enlace éster que une las posiciones *meta* C(5) de **G** y C(4) de **Q** (Fig. 3) y donde podemos apreciar también la presencia de un puente de H intermolecular entre el oxígeno más activo O(C4) de **G** y el O(C3) de **Q**. Los isómeros **G-Q** con enlaces de éster entre las posiciones C1 de **Q** y otros sitios activos de **G** son considerablemente menos estables que el resto de combinaciones posibles, lo cual indica que la presencia de este tipo de isómeros (identificados por Clifford²⁰ como 1-O-galloyquinnic acid) son más bien irrelevantes.

Por otra parte, encontramos también computacionalmente que dépsidos de dos ácidos gálicos (**G-G**, éster di-gálico) se forman preferentemente uniendo, a través de un enlace éster, las posiciones *meta* (C3) de un **G** con el grupo carboxílico del otro **G**. Podemos apreciar en esta estructura la significativa presencia de un puente de H intermolecular entre el OH *para* y el oxígeno del carbonilo (Fig. 3-derecha).

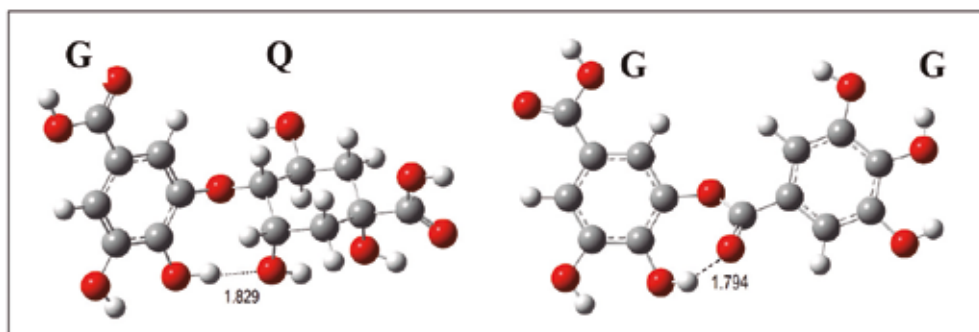


Figura 3. Estructura más estable de especies sencillas de ácido galo-quínico, **G-Q**, (izquierda) y del dépsido gálico **G-G**, (derecha). Ambas estructuras fueron optimizadas al nivel M05-2X/6-31G(d). Las distancias interatómicas están dadas en Å.

La estructura del oligómero galo-quínico **Q-G-G** identificado por MS^{19,20} con $M= 496$ uma y $n=2$, tiene mayor número de combinaciones para formar isómeros y confórmeros que en el caso anterior. Encontramos que la estructura más estable está formada por un dépsido di-gálico **G-G** unida a un **Q** mediante un enlace éster que une las posiciones *meta* C(3) de **G** y C(5) de **Q**. En esta estructura se puede apreciar la presencia de varios puentes de H (Fig. 4). Las otras combinaciones, particularmente aquellas que enlazan distintos sitios activos de **Q** son significativamente menos estables, por lo que deducimos que la presencia de estructuras identificados por Clifford²⁰ como “1,X-di-O-digalloyquinnic acids” ($X = 3, 4, 5$) serían prácticamente irrelevantes.

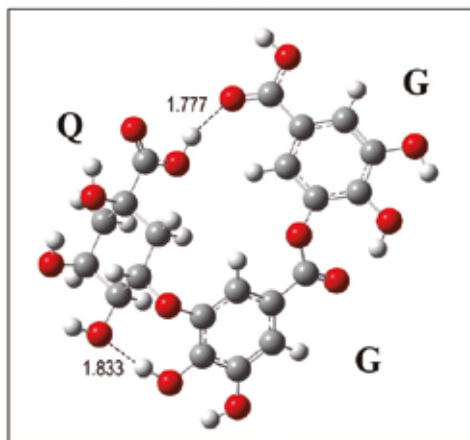


Figura 4. Estructura más estable del oligómero galo-quinico **Q-G-G**, formado por un dépsido di-gálico **G-G** enlazado a **Q**. Estructura optimizada al nivel M05-2X/6-31G(d). Las distancias interatómicas están dadas en Å.

Teniendo en cuenta nuestro análisis computacional podemos deducir que los taninos hidrolizables de tara seca, identificados experimentalmente tanto por nosotros como por otros investigadores, tienen estructuras oligoméricas formadas principalmente por un dépsido gálico [cadena de **G**s unidos entre sí por enlaces de éster entre las posiciones *meta* C(3) y C(OOH)] enlazado también por un enlace éster al sitio *meta* (C5) del ácido quínico, tal como se muestra en la figura 5.

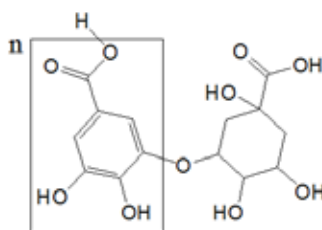


Figura 5. Estructura de taninos hidrolizables, de polvo de tara, formada por una cadena de dépsido *n*-gálico (recuadro) unido, vía enlace éster, al ácido quínico en su posición *meta* C(5).

CONCLUSIONES

El extracto de tara seca y pulverizada, obtenida por disolución agua/acetona, fue analizado mediante el espectrómetro de masas MALDI/FT-ICR de ultra-alta resolución (sin dispositivos de separación). Los resultados obtenidos, racionalizados por cálculos computacionales al nivel DFT/M05-2X, muestran que las especies identificadas son básicamente estructuras oligoméricas galo-quinicas, del tipo $(C_7H_4O_4)_n(C_7H_{12}O_6)$, formadas por una cadena de residuos de ésteres gálicos (dépsido) unida al ácido quínico.

AGRADECIMIENTO

JZDP agradece al Programa PNICP (INNÓVATE PERÚ, ECIP-1-P-030-14) “Estancias cortas de investigadores peruanos residentes en el extranjero”.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chambi F, Chirinos R, Pedreschi R, Betalleluz-Pallardel I, Debaste F, Campos D. Antioxidant potential of hydrolyzed polyphenolic extracts from *C. spinosa* (*Caesalpinia spinosa*) pods. *Ind Crops Prod.* 2013; 47: 168-175.
2. Grasel Fdos S, Ferrão MF, Wolf CR. Development of methodology for identification the nature of the polyphenolic extracts by FTIR associated with multivariate analysis. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2016;153:94-101.
3. Nishizawa M, Yamagishi T, Dutschman GE, Parker WB, Bodner AJ, Kilkuskie RE, *et al.* Anti-AIDS agents, 1. Isolation and characterization of four new tetragalloylquinic acids as a new class of HIV reverse transcriptase inhibitors from tannic acid. *J Nat Prod.* 1989;52(4):762-768.
4. Aguilar-Galvez A, Noratto G, Chambi F, Debaste F, Campos D. Potential of tara (*Caesalpinia spinosa*) gallotannins and hydrolysates as natural antibacterial compounds. *Food Chem.* 2014;156:301-304.
5. Skowrya M, Falguera V, Gallego G, Peiró S, Almajano MP. Antioxidant properties of aqueous and ethanolic extracts of tara (*Caesalpinia spinosa*) pods *in vitro* and in model food emulsions. *J Sci Food Agric.* 2014;94(5):911-918.
6. Hou DX. Potential mechanisms of cancer chemoprevention by anthocyanins. *Curr Mol Med.* 2003;3(2):149-159.
7. R. Prior. Absorption and metabolism of anthocyanins: potential health effects. En Meskin M, Bidlack W, Davies A, Lewis D, Randolph R. editores. *Phytochemicals: mechanisms of action.* Boca Raton, FL: CRC Press; 2004. p. 1-19.
8. Romero N, Fernández A, Robert P. A polyphenol extract of tara pods (*Caesalpinia spinosa*) as a potential antioxidant in oils. *Eur J Lipid Sci Technol.* 2012;114:951-957.
9. Urueña C, Mancipe J, Hernández J, Castañeda D, Pombo L, Gómez A, *et al.* Gallotannin-rich *Caesalpinia spinosa* fraction decreases the primary tumor and factors associated with poor prognosis in a murine breast cancer model. *BMC Complement Altern Med.* 2013;13:74.
10. Aouf A, Benyahya S, Esnouf A, Caillol S, Boutevin B, Fulcrand H. Tara tannins as phenolic precursors of thermosetting epoxy resins. *Eur Polym J.* 2014; 55: 186-198.
11. He DY, Li YP, Tang HB, Luo L, Ma RJ, Wang JH, Wang LQ. Phenolic compounds from the twigs and leaves of Tara (*Caesalpinia spinosa*). *J Asian Nat Prod Res.* 2016;18(4):334-338.
12. Skowrya M, Janiewicz U, Salejda AM, Krasnowska G, Almajano MP. Effect of Tara (*Caesalpinia spinosa*) Pod Powder on the Oxidation and Colour Stability of Pork Meat Batter During Chilled Storage. *Food Technol Biotechnol.* 2015;53(4):419-427.

13. Dávalos JZ, Guerrero A, Herrero R, Jiménez P, Abboud JLM. Espectrometría de Resonancia Ciclotrónica de Iones (FT-ICR): Una poderosa herramienta para el análisis estructural y el estudio de reacciones ión-molécula de una amplia variedad de especies. *REVCUNI*. 2008; 12: 25.
14. Clowers BH, Dodds ED, Seipert RR, Lebrilla CB. Dual polarity accurate mass calibration for electrospray ionization and matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry using maltooligosaccharides. *Anal Biochem*. 2008;381(2):205-13.
15. Zhao JY, Schultz NE, Truhlar DG. Design of Density Functionals by Combining the Method of Constraint Satisfaction with Parametrization for Thermochemistry, Thermochemical Kinetics, and Noncovalent Interactions. *J Chem Theory Comput*. 2006; 2: 364-382.
16. Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, *et al*. Gaussian 09, revision A.02. Wallingford, CT: Gaussian, Inc.; 2009.
17. Dávalos JZ, Herrero R, Costa JCS, Santos LMNBF, Liebman JF. Energetic and structural study of bisphenols. *J Phys Chem A*. 2014; 118: 3705-3709.
18. Dávalos JZ, Guerrero A, Valderrama-Negrón AC, Romero V, Lago AF. Energetics and structural properties of neutral and deprotonated phenyl carbinols. *J Chem Thermodyn*. 2016; 97: 315-321.
19. Giovando S, Pizzi A, Pasch H, Pretorius N. Structure and oligomers distribution of comercial tara (*Caesalpinia spinosa*) hydrosable tannin. *PRO LIGNO*. 2013; 9: 22-31.
20. Clifford MN, Stoupi S, Kuhnert N. Profiling and characterization by LC-MSn of the galloylquinic acids of green tea, tara tannin, and tannic acid. *J Agric Food Chem*. 2007;55(8):2797-807.
21. Haslam E, Armitage R, Bayliss GS, Gramshaw JW, Haworth RD, Rogers HJ, *et al*. Gallotannins. Part III. The constitution of Chinese, Turkish, sumach, and tara tannins. *J Chem Soc*. 1961, 1842-1853.
22. Haslam E, Haworth RD, Keen PC. Gallotannins. Part VII. Tara gallotannin. *J Chem Soc*. 1962; 3814-3818.
23. Horler DF, Nursten HE. The tannins of tara, *Caesalpinia spinosa* (mol.) kuntze. *J Chem Soc*. 1961, 3786-3792.
24. Guerrero A, Baer T, Chana A, González J, Dávalos JZ. Gas Phase Acidity Measurement of Local Acidic Groups in Multifunctional Species: Controlling the Binding Sites in Hydroxycinnamic Acids. *J Am Chem Soc*. 2013; 135: 9681-9690.

RELEASE OF ANTHOCYANINS FROM CHITOSAN FILMS CROSS-LINKED WITH SODIUM TRIPOLYPHOSPHATE

Max J. Carlos-Salazar*¹, Ana C. Valderrama-Negrón¹

ABSTRACT

Chitosan and depolymerized chitosan films cross-linked with sodium tripolyphosphate were prepared and loaded with anthocyanin extracted from purple corn. The effect of sodium tripolyphosphate concentration, cross-linking time, thickness and molar mass of chitosan on the delivery of anthocyanin were studied. The results showed a lower percentage of available anthocyanin (from 29 % to 10 %) in the films more cross-linked, it staying the remaining anthocyanin in the film. This percentage was influenced by the other factors mentioned above. The release kinetics has been studied to elucidate the drug release mechanism. All films was controlled by Fick's law when fitted to the Higuchi model. For the determination of the diffusion exponent, the results were fitted to the Korsmeyer-Peppas model. The films showed different mechanisms of release, including a Fickian and a non-Fickian diffusion process.

Key words: Chitosan, sodium tripolyphosphate, films, drug release.

LIBERACIÓN DE ANTOCIANINAS A PARTIR DE PELÍCULAS DE QUITOSANO ENTRECruzADAS CON TRIPOLIFOSFATO DE SODIO

RESUMEN

Fueron preparadas películas de quitosano y quitosano despolimerizado entrecruzados con tripolifosfato de sodio y cargados con antocianinas extraídas de maíz morado. Fue estudiado el efecto de la concentración de tripolifosfato de sodio, tiempo de reticulación, espesor y masa molar de quitosano en la liberación de antocianinas. Los resultados mostraron un bajo porcentaje de antocianinas disponibles (de 29% a 10%) en las matrices más entrecruzadas, manteniendo el resto en las películas. Este porcentaje fue influenciado por los otros factores anteriormente mencionados. La cinética de liberación ha sido estudiada para dilucidar el mecanismo de liberación de los fármacos. Todas las películas fueron controladas por la ley de Fick cuando se ajustaron al modelo de Higuchi. Para la determinación del exponente de difusión, los resultados fueron ajustados al modelo de Korsmeyer Peppas. Las películas mostraron diferentes mecanismos de liberación, incluyendo procesos de difusión Fickianos y no Fickianos.

Palabras clave: Quitosano, tripolifosfato de sodio, películas, liberación de fármacos.

¹ Laboratorio de Biopolímeros y Metalofármacos, LIBIPMET, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Ingeniería. Av. Túpac Amará 210, Rímac Lima 25 – 15333. Lima, Perú. mcarloss@uni.edu.pe

INTRODUCTION

In recent years, the formulation of drug delivery systems has been a topic of great interest to the pharmaceutical industry. Several new systems are being investigated to develop improved devices in comparison with the conventional forms of drug dosage¹. This could be done by modifying the velocity, the time and the location of drug release. This would eventually make it possible to achieve the desired therapeutic drug level at the site of interest and maintain it for a long time.

Currently, a large amount of polymers are used for the manufacture of release systems. These systems use synthetic or natural polymers as drugs carriers, while implantable biomaterials mainly serve as physical support devices. For many applications, biomaterials have to comply with an extensive set of requirements to ensure their safety. In this regard, natural polymers are of particular interest due to their nontoxic, biocompatible, biodegradable and hydrophilic nature. Among the natural polymers used for drug release, chitosan (CS) has been widely studied due to its ease of chemical modification and its favorable biological properties². Chitosan is one of the most important of those polymers and is manufactured from the chitin obtained from many marine crustaceans, such as shrimps and crabs³.

Chitin (2-acetamide-2-deoxy- β -D-glucose) undertakes deacetylation through β (1 \rightarrow 4) linkage, so as to obtain chitosan, a copolymer of 2-amine-2-deoxy- β -D-glucose and 2-acetamide-2-deoxy- β -D-glucose⁴. Chitosan is used for the preparation of hydrogels, microcapsules, microspheres, nanoparticles, fibers and films; most of these products are for biomedical applications where biocompatibility is essential. Chitosan may be cross-linked with different reagents such as polyethylenimine, polyvinyl alcohol, polyethylene glycol, glutaraldehyde, etc. Many chitosan matrices are obtained by treatment with multivalent anions, such as glycerophosphate, oxalic acid, as well as tripolyphosphate. The formation of a chitosan/tripolyphosphate complex has gathered a lot of interest since it is a very simple process, and the polyanion can form hydrogels with chitosan through ionic interaction. Furthermore, sodium tripolyphosphate is a compound classified as Generally Recognized As Safe (GRAS) by the Foods and Drugs Administration⁵.

Anthocyanins are natural dyes which have raised a growing interest due to their wide range of colors. So far, more than 635 natural anthocyanins have been identified; this versatile group is responsible for the intense blue, purple and red colors of many fruits, vegetable and flowers. It has been suggested that anthocyanins possess anti-inflammatory, anti-carcinogenic and diabetes alleviation properties, and that they can be used for the prevention of cardiovascular disease and obesity control, all these characteristics being more or less associated with their powerful antioxidant properties⁶. Purple corn is an important source of anthocyanin and has been cultivated for centuries in the Andean Region of Latin America⁷. The anthocyanins identified in purple corn cobs and seeds include cyanidin-3-glucoside, pelargonidin-3-glucoside, peonidin-3-glucoside and their respective malonated counterparts.

These compounds are shown in Figure 1.

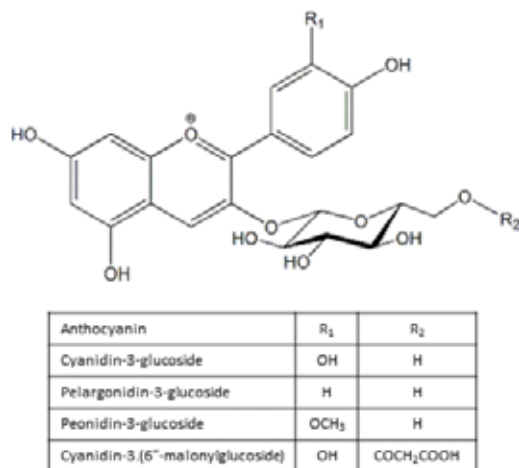


Figure 1. The Principal anthocyanins found in purple corn.

This work shows the release of purple corn anthocyanins from chitosan films cross-linked with tripolyphosphate, as well as the determination of the delivery mechanism and its compliance with Fick's law.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Chitosan (CS) was purchased from Sigma-Aldrich (Ireland) (deacetylation degree 80.16 %, Mw = 554.22 kDa). It was depolymerized and characterized (deacetylation degree 81.78%, Mw = 133.37 kDa), so as to obtain depolymerized chitosan (CSD)⁸. The deacetylation degree was determined by conductimetric titration and the molar mass was obtained by viscosimetry⁹. Purple corn (*Zea mays* L.) anthocyanins under the form of a powder extract, was donated by Globenatural International S. A. (Peru). Sodium tripolyphosphate (TPP) was purchased from Sigma-Aldrich (USA); all other reagents were of analytical grade.

The depolymerization of Chitosan

The depolymerized chitosan was obtained for oxidative degradation using sodium nitrite. It was prepared chitosan solution 1% (w/v) in acetic acid 1% (w/v) and NaNO₂ 0.1M was added such the molar relation in chitosan and sodium nitrite was 0.01. The solution was stirring for 3 h and added NaOH until pH 8. Subsequently was washed with water, centrifugated and dried at 45 °C to constant weight⁸.

Film preparation

The chitosan/TPP films loaded with anthocyanin were obtained by the solvent evaporation technique. The anthocyanin powder (0,1 or 0,2 g) was mixed with a chitosan solution (1%, w/v) in acetic acid (1%, w/v) and was stirred for 4h. The solution was then poured on an acrylic surface (10 x 10 cm) and dried at 45°C for 24h. The resulting films were immersed in 100mL of TPP aqueous solutions of varying concentrations. The cross-linked films were then washed with distilled water and dried at 60°C for 30 min. The variables studied were: volume of chitosan solution (25 or 50 mL); concentration of TPP (0 to 5% w/v); cross-linking time (0 to 2h). Therefore was proposed a nomenclature for each film, "A" for films prepared with chitosan and "B" for films prepared with depolymerized chitosan + a number according to the first column of the table 1. The films was prepared with nomenclature A1, A2, A3, A4, A5, A6, B1, B2, B3, B4, B5 and B6. The amount of anthocyanin lost during the cross-linking process was measured by UV-VIS absorption at 515,2nm^{9,10}.

Tabla 1. Preparation conditions of chitosan films and depolymerized chitosan films

Formulation	Anthocyanin mass (g)	TPP (% w/v)	Volume (mL)	Cross-linked Time (h)
1	0,1	0	25	0
2	0,1	1	25	1
3	0,1	2	25	1
4	0,1	5	25	1
5	0,1	1	25	2
6	0,2	1	50	1

Anthocyanin *in vitro* release

The chitosan/TPP films loaded with anthocyanin were immersed in 50 mL of a phosphate buffered saline solution at pH 6,5, 37°C and stirred at 100rpm. For measurement purpose, 2mL of release medium were extracted at predetermined times and replaced with the same volume of fresh medium. The anthocyanin concentration was measured at 515,2nm using a UV-VIS Shimadzu UV-1800 spectrophotometer.

Anthocyanin release kinetics

The results were analyzed to evaluate the fit of the drug release results with the Higuchi and Korsmeyer-Peppas models^{11,12}. The Higuchi model is based on Fick's law, using the equation:

$$Q=K_H t^{1/2} \quad (1)$$

where Q is the quantity of anthocyanin released and KH is the Higuchi diffusion constant. The Korsmeyer-Peppas model is described by:

$$\text{Log}(M_t/M_\infty) = \text{Log}K + n \text{Log}t \quad (2)$$

where M_t is the quantity of anthocyanin released after time t , M_∞ is the quantity released after an infinite time, K is the system constant and n is the diffusion exponent. The value of n has a range of 0,5 to 1,0, with $n = 0,5$ corresponding to Fick's diffusion process.

RESULTS AND DISCUSSIONS

Before undertaking the present work, a test of anthocyanin degradation was carried out in the same conditions as the drug release experiment. Results are not presented here, but it was found that the effect of time, temperature, light and conditions of delivery on the degradation of anthocyanin was insignificant.

Effect of tripolyphosphate concentration

In Figure 2 is shown the percentage of anthocyanin released from chitosan films "A" and "B" cross-linked with various concentrations of TPP, for up to 180 minutes of delivery. It can be seen that an increase in the TPP cross-linking concentration produces a decrease in the amount of released anthocyanin. The release percentages obtained for CS/TPP films cross-linked with 0%, 1%, 2% and 5% TPP at infinite time were 28%, 15%, 10% and 6% respectively. In the case of CSD/TPP films cross-linked under the same conditions, the release percentages after 180 minutes were 29%, 24%, 16% and 10% respectively. In both cases, the effect was similar. An increase in the tripolyphosphate concentration provoked an increase in the cross-linking of the film, due to an increased interaction between the oxygen of the polyanion and the hydrogen of the protonated amine in the chitosan through hydrogen bonding. The resulting cross-linking slows down the anthocyanin release process.

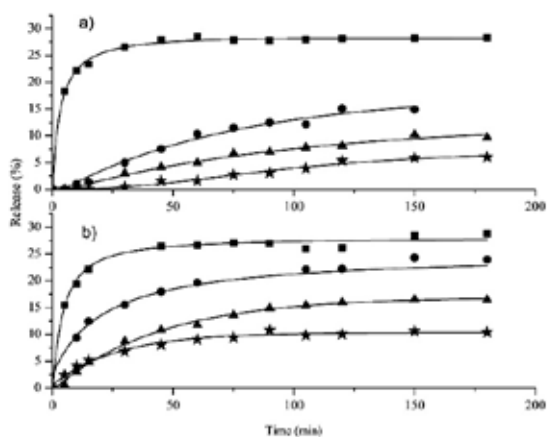


Figure 2. *In vitro* release profile of anthocyanin from films of chitosan (a) CS and (b) CSD cross-linked for 1 hour with different TPP concentrations (■ 0%, ● 1%, ▲ 2% and ★ 5%).

Effect of cross-linking time

In Figure 3 is shown the delivery of anthocyanin from chitosan films cross-linked with 1% (w/v) TPP for different times. It can be observed that the smallest amount of release anthocyanin corresponds to the longest crosslinking time (2 h). After 180 minutes of delivery, the release percentages for chitosan films cross-linked with 1% TPP during 0, 1 and 2 h were 28%, 15% and 13% respectively, while for depolymerized chitosan films in the same condition, the release percentages were 29%, 24% and 18%. For chitosan films, the effect of cross-linking time is not significant, as the percentages of anthocyanin released from films cross-linked for 1h and 2h were similar.

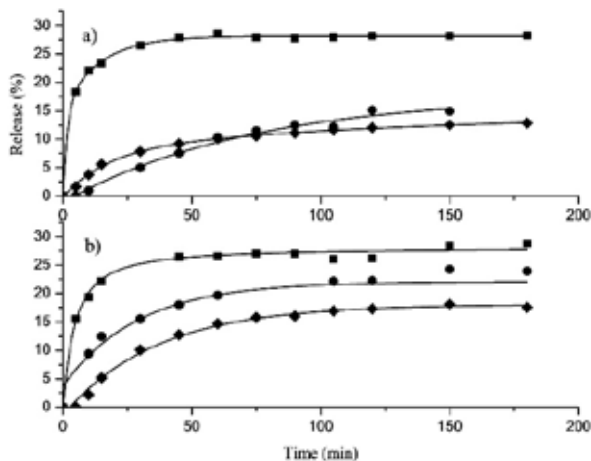


Figure 3. *In vitro* release profile of anthocyanin from films of chitosan (a) CS and (b) CSD cross-linked for different times (■ 0h, ● 1h and ◆2h).

Effect of thickness

Films were prepared with two different volumes of solution (25 and 50 mL) in order to obtain different thicknesses, approximately 50 and 100 μm respectively. As can be observed in Figure 4, the thicker films released anthocyanin more slowly. After 180 minutes, the chitosan films of 50 and 100 μm had released 15% and 12% of the anthocyanin, respectively. The depolymerized chitosan films of 50 and 100 μm released 24% and 14% of the anthocyanin, respectively. This is due to the fact that the anthocyanin has to travel a greater distance to cross the polymer matrix.

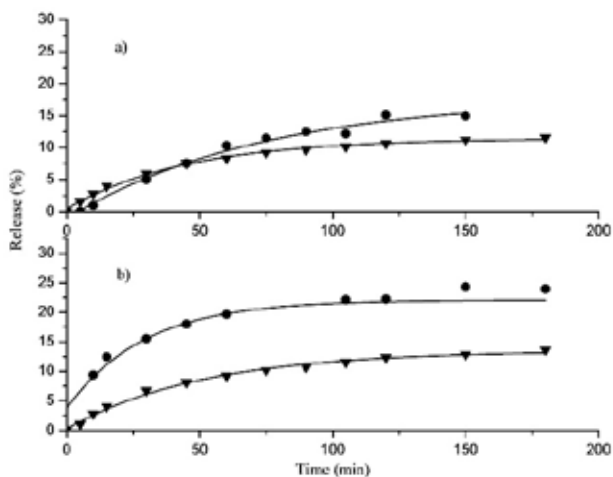


Figure 4. *In vitro* release profile of anthocyanin from films of chitosan (a) CS and (b) CSD cross-linked with TPP 1% for 1 h in different thickness (● 50 μm and ▼ 100 μm).

Effect of molar mass

In Figures 2, 3 and 4 allow a comparison of the anthocyanin released by films with the same preparation, but differing in molar mass: 554.22kDa for chitosan films (CS) and 133,37kDa for depolymerized chitosan films (CSD). Table 2 shows that the percentage of anthocyanin released by the chitosan film is smaller than that released by the depolymerized chitosan film. This phenomenon is due to the reduced mobility of the high-weight chitosan molecules, which impedes the movement of the anthocyanin molecules, and therefore diminishes their release, as compared to the low-weight chitosan molecules.

Figure 2. Anthocyanin release of chitosan films and depolymerized chitosan films.

Formulation	Anthocyanin Release in 180 minutes (%)	
	Chitosan (A)	Chitosan Depolymerized (B)
1	28	29
2	15	24
3	10	16
4	6	10
5	13	18
6	12	14

Another important observation related to the delivery of anthocyanin is that the final percentage of release is low; the maximum reached was 29% for chitosan film B1. Most of the anthocyanin is retained because of its packaging in the film. Due to the presence of hydroxyl groups in the anthocyanin structure (see Figure 1) and the Hydroxyl and amine groups in the chitosan, exists the possibility of the formation of the hydrogen bonds and electrostatic interaction. In previous research, it has been reported that chitosan can be used to extract anthocyanins from radish, the dominant effect in this absorption phenomena being electrostatic attraction, including hydrogen bonding and charge neutralization^{13,14}.

A similar result has also been obtained in the case of riboflavin released from chitosan films cross-linked with tripolyphosphate and pyrophosphate, where the increase in electrostatic interaction between anions and chitosan influences film properties and drug release significantly¹⁰. In another study, the pH dependence of the development of chitosan-tripolyphosphate fibers by ionotropic gelation highlighted the interaction of chitosan and tripolyphosphate in this matrix¹⁵.

Kinetic behavior of anthocyanin release

The results obtained for the release kinetics were compared to the Higuchi model. In the Figure 5 is shown the percentage of release Q vs $t^{1/2}$, where the results for all the films can be fitted to straight lines with high correlation coefficients (R^2 larger than 0.91). The delivery of anthocyanin can be described by a diffusion process based on Fick's law. In order to determine the delivery mechanism, the data was also compared to the Korsmeyer-Peppas model (2). In Figure 6 is shown the $\text{Log}(M_t/M_\infty)$ vs $\text{Log}(t)$ plot obtained for chitosan and depolymerized chitosan films.

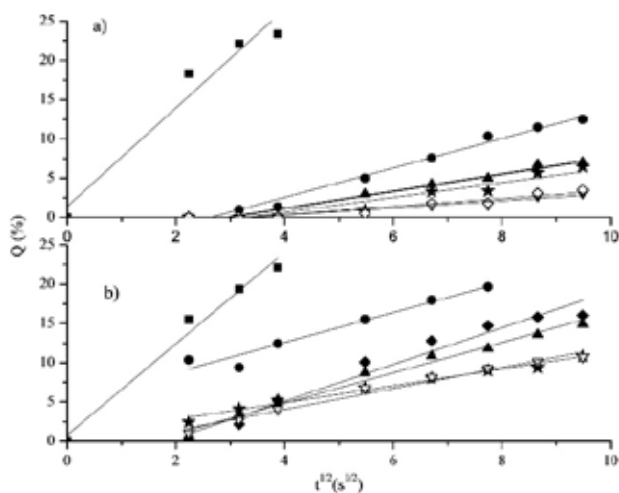


Figure 5. Profile of chitosan films a) ■A1, ●A2, ▲A3, ★A4, ◇A5, ▼A6 and depolymerized chitosan films b) ■B1, ●B2, ▲B3, ★B4, ◆B5, ▽B6 adjusted to the Higuchi model.

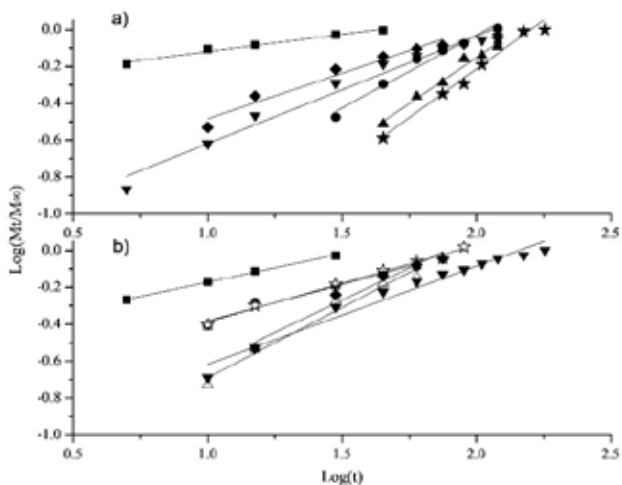


Figure 6. Profile of chitosan films a) ■A1, ●A2, ▲A3, ▼A4, ◆A5, ★A6 and depolymerized chitosan films b) ■B1, ●B2, ▲B3, ▼B4, ◆B5, ★B6 adjusted to the Korsmeyer-Peppas model.

Table 3 shows the calculated parameters for both models. The films show different diffusion exponents: for A1, B1, B2 and B4 films, $n < 0,5$, corresponding to the slab release mechanism (non swellable matrix)¹⁶; for A5, $n \approx 0,5$, the system in this case is controlled by Fick's law. The A2, A3, A6, B3, B5 and B6 films show $0,5 < n < 1$, presenting a case of anomalous diffusion (non-Fickian), controlled by processes of diffusion and relaxation of polymer chain. For the A4 film, $n \approx 1$ and the process has been called transport case II¹².

Similar results have been obtained previously for the release of potassium sorbate from chitosan films, where the release mechanism (Fickian or non-Fickian diffusion) depends upon the concentration of potassium sorbate with various behaviors and release mechanisms¹⁷. In the case of other polymer matrices, such as propranolol hydrochloride released from chitosan/genipin/poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) films, the diffusion exponent is different for each film prepared, indicating cases of non-Fickian diffusion and transport super-case II¹⁸.

Tabla 3. Kinetics parameters obtained from chitosan films fitted to the models of Higuchi and Korsmeyer-Peppas

Film	K_H	R²	n	R²
A1	6,281	0,952	0,1880	0,980
A2	1,875	0,986	0,7901	0,971
A3	1,096	0,966	0,9972	0,979
A4	0,450	0,915	1,0557	0,961
A5	0,942	0,915	0,4931	0,960
A6	0,510	0,915	0,5843	0,975
B1	5,817	0,983	0,3099	0,998
B2	1,906	0,954	0,3947	0,977
B3	1,933	0,985	0,7621	0,973
B4	1,072	0,983	0,4174	0,992
B5	2,339	0,962	0,6979	0,965
B6	1,334	0,983	0,5323	0,967

CONCLUSIONS

Different chitosan-tripolyphosphate and depolymerized chitosan-tripolyphosphate films were prepared and loaded with anthocyanins. Variations in tripolyphosphate concentration, cross-linking time and thickness show that ionic cross-linking influences the release mechanisms of anthocyanin. Variations in the molar mass of chitosan show that more anthocyanin is released when the polymeric chain is smaller. The release mechanism controlling delivery was Fickian and non-Fickian diffusion. The percentage of anthocyanin released by the polymer matrix was less than 29% in all cases.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors gratefully acknowledge financial help from LIBIPMET and Universidad Nacional de Ingeniería.

REFERENCES

1. Chowdary KP, Chaitanya ChK. Recent research on floating drug delivery systems-a review. *JGTPS*. 2014; 5(1): 1361-1373.
2. Sonia TA, Sharma CP. An overview of natural polymers for oral insulin delivery. *Drug Discov Today*. 2012; 17(13/14): 784-792.
3. Abreu FO, Cavalcante LG, Doudement PV, Castro AM, Nascimento AP. Propriedades e Características da Quitosana Obtida a Partir do Exoesqueleto de Caranquejo-Uçá Utilizando Radiação de Microondas. *Polímeros*. 2013; 23(5): 630-635.
4. Rianudo M. Chitin and chitosan: Properties and applications. *Prog Polym Sci*. 2006; 31(7): 603-632.
5. CFR, Code of Federal Regulations. Title 21, Volume 3 – Food and Drugs. Sodium Tripolyphosphate. Washington DC. [access on February 10 of 2017]. Available in: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=182.1810>.
6. He J, Giusti MM. Anthocyanins: Natural colorants with health-promoting properties. *Annu Rev Food Sci Technol*. 2010; 1(1): 163-186.
7. Yang Z, Zhai W. Identification and antioxidant activity of anthocyanins extracted from the seed and cob of purple corn. *Innov Food Sci Emerg Technol*. 2010; 11(1): 169-176.
8. Mao S, Shuai X, Unger F, Simon M, Bi D, Kissel T. The depolymerization of chitosan: effects on physicochemical and biological properties. *Int J Pharm*. 2004; 281: 45-54.
9. Carlos-Salazar M, Valderrama-Negrón A. Preparación y caracterización de películas de quitosano despolimerizado y reticulado con tripolifosfato de sódio. *Rev Soc Quím Perú*. 2013; 79(3): 195-208.
10. Shu XZ, Zhu KJ. The influence of multivalent phosphate structure on the properties of ionically cross-linked chitosan films for controlled drug release. *Eur J Pharm Biopharm*. 2002; 54(2): 235-243.
11. Higuchi T. Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *J Pharm Sci*. 1963; 52(12): 1145-1149.
12. Korsmeyer RW, Gurny R, Doelker EM, Buri P, Peppas NA. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *Int J Pharm*. 1983; 15(1): 25-35.
13. Jing P, Ruan S, Dong Y, Zhang X, Yue J, Kan J. et al. Optimization of purification conditions of radish (*Raphanus sativus* L.) anthocyanin-rich extracts using chitosan. *LWT – Food Sci Technol*. 2011; 44(10): 2097-2103.
14. Gao R, Jing P, Ruan S, Zhang Y, Zhao S, Cai Z. et al. Removal of off-flavours from radish (*Raphanus sativus* L.) anthocyanin-rich pigments using chitosan and its mechanism(s). *Food Chem*. 2014; 146 (1): 423-428.
15. Pati F, Adhikari B, Dhara S. Development of chitosan–tripolyphosphate fibers through pH dependent ionotropic gelation. *Carbohydr Res*. 2011; 346(16): 2582-2588.
16. Salome CA, Godswill O, Ikechukwu OI. Kinetics and Mechanisms of Drug Release from Swellable and Non Swellable Matrices: A Review. *RJPBCS*. 2013; 4(2): 97-103.
17. Yoshida CM, Bastos CE, Franco TT. Modeling of potassium sorbate diffusion through chitosan films. *LWT - Food Sci Technol*. 2010; 43(4): 584-589.
18. Aldana AA, González A, Strumia MC, Martinelli M. Preparation and characterization of chitosan/genipin/poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) films for controlled release drugs. *Mater Chem Phys*. 2012; 134(1): 317-324.

INFORMACIONES

XXVIII CONGRESO PERUANO DE QUÍMICA

“Dr. Gastón Pons Muzzo”

Del 29 al 31 de Marzo

La Sociedad Química del Perú, cuyo objetivo principal es promover el conocimiento y el desarrollo de la Química en el Perú, realizó con gran éxito el XXVIII Congreso Peruano de Química “Dr. Gastón Pons Muzzo” en la ciudad de Lima del 29 al 31 de Marzo del 2017.

Este evento logró congregiar la participación de más de 300 personas, entre profesionales, docentes y estudiantes de diversas instituciones no sólo de Lima sino de diversas ciudades de nuestro país, como Ica, Arequipa, Cusco, Puno, Moquegua, Apurímac, Iquitos, Tacna, Ayacucho, así como del extranjero, tal es el caso de Chile, Colombia, Uruguay.

Se presentaron más de 100 trabajos de investigación de docentes y alumnos en la modalidad de poster, repartidos entre las secciones: Agroquímica y Química de los alimentos, Bioquímica, Fisicoquímica, Química ambiental, Química analítica, Química biológica y biotecnología, Química de los materiales y nanotecnología, Química de los polímeros, Química farmacéutica y cosméticos, Química industrial, Química inorgánica, Química médica, Química orgánica y productos naturales, Química teórica y computacional y Síntesis química.

Como es habitual, estuvo presente QUIMITEC 2017, donde se encontró la exhibición de la más moderna tecnología química, gracias a la participación de Analítica del Pacífico, Electromédica Peruana S.A., Grupo Tecnológico del Perú, ASG Vidrio Científico, OZ Group Perú, Reles, Kossodo, Soluciones Instrumentales, Cimatec, Dervatec y Analab.

Gracias a nuestros auspiciadores, Colegio de Químicos del Perú, Colegio Químico Farmacéutico Departamental de Lima, Universidad San Ignacio de Loyola, Concytec y la Pontificia Universidad Católica del Perú, así como a nuestros patrocinadores, Ajinomoto del Perú y Productos Gloria.

JURAMENTACIÓN E INSTALACIÓN DEL NUEVO CONSEJO DIRECTIVO DE LA SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ, PERÍODO 2017-2019

El día 20 de marzo de este año, en la Sala A del Colegio de Ingenieros del Perú, tuvo lugar la Ceremonia de Juramentación e instalación del nuevo Consejo Directivo de nuestra institución, el mismo que fuera elegido en Asamblea Eleccionaria el viernes 24 de febrero.

La ceremonia estuvo presidida por el Dr. José Juárez Eyzaguirre, quien en su discurso memoria hizo un breve resumen de lo acontecido durante su gestión. Luego se realizó la Juramentación del nuevo Consejo Directivo, período 2017-2019, seguidamente, la nueva

Presidenta de la Sociedad Química del Perú, M.Sc. Graciela Untiveros Bermúdez, agradeció a los asistentes y resaltó la importancia del trabajo en conjunto y el compromiso verdadero de todos los directivos, socios y amigos de nuestra querida institución para reactivar las actividades como las conferencias científicas, cursos, simposios y demás eventos, para difundir las ciencias químicas, que es la misión principal de la Sociedad Química del Perú; finalmente, agradeció al presidente y directivos salientes por confiarle esta institución tan prestigiosa.

El Comité Editor de la Revista, felicita al nuevo Consejo Directivo de la Sociedad Química del Perú, deseándole el mayor de los éxitos en su gestión.

ESERGRAF
mig5548@yahoo.com
998 513 545

