

ISSN 1810-634X

REVISTA de la SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ

REVISTA TRIMESTRAL

VOLUMEN 83 N° 3
JULIO - SETIEMBRE - 2017



INSTITUCIÓN CIENTÍFICA FUNDADA EN 1933

LIMA, PERÚ

SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ
CONSEJO DIRECTIVO
(marzo 2017 – marzo 2019)

Presidente	: M.Sc. Graciela Silvia Untiveros Bermúdez
Vice-Presidente	: Dra. Ana María Muñoz Jáuregui
Secretario General	: Mg. Helmer Helí Lezama Vigo
Past Presidente	: Dr. José Roger Juárez Eyzaguirre
Tesorero	: Dr. Juan Manuel Parreño Tipián
Secretario del Consejo Directivo	: Mg. Christian Israel Simión Siu
Director de Biblioteca	: Mg. Julio Reynaldo Ruiz Quiroz
Director Administrativo	: Mg. Neptalí Ale Borja
Vocales	: Dra. Yadira Fernández Jerí
	: Ing. Richard Hernández Morán
	: M.Sc. Christian Jacinto Hernández
	: Mg. Lía Elis Concepción Gamarra
	: Lic. Norma Cuizano Vargas
	: Q. F. Mario Antonio Bolarte Arteaga
	: Ing. Quím. Hernán Zapata Gamarra
	: Ing. Quím. Raúl Martínez Ragas

Comisión de Economía y Finanzas

Presidenta: Ing. Quím. Flor de María Sosa Masgo

Comisión de Publicaciones

Presidenta: Dra. Ana María Muñoz Jáuregui

Comisión de Actuaciones Científicas

Presidenta: Ing. Quím. Luz Castañeda Pérez

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

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

REVISTA
de la
SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ

(Rev Soc Quím Perú)

ISSN 1810 - 634X

Revista Trimestral

Comité Editor

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
Dávalos Prado, Juan
**Consejo Superior de Investigaciones
Científicas de España**
Calvo Buendía, Eduardo
Univ. Nac. Mayor de San Marcos – Perú
Guija Poma, Emilio
Universidad Científica del Sur – Perú
Muñoz Jáuregui, Ana
Universidad San Ignacio de Loyola
Lock Sing, Olga
Pontificia Universidad Católica del Perú
Santiago Contreras, Julio
Univ. Nac. Mayor de San Marcos – Perú
Valderrama Negrón, Ana
Univ. Nac. de Ingeniería, Perú
De La Cruz Azabache, Mario

Univ. Nac. de Ingeniería, Perú
Picasso Escobar, Gino
Univ. Nac. de Ingeniería, Perú
Rueda Sánchez, Juan Carlos
Pontificia Universidad Católica del Perú
Rabinovich Jaitin, Daniel
University of North Carolina – USA
Sun Kou, María del Rosario
Dpto. Ciencias, Sec. Química PUCP
Gutiérrez Correa, Marcel
Univ. Nac. Agraria La Molina – Perú
La Rosa-Toro Gómez, Adolfo
Univ. Nac. de Ingeniería, Perú
Alarcón Cavero, Hugo
Univ. Nac. de Ingeniería - Perú
Maza Mejía, Ily
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

JULIO - SETIEMBRE 2017

N° 3

En el Perú: N° suelto S/.15

Suscripción anual: S/. 60.00

En el extranjero: Suscripción anual: \$50.00

CONTENIDO
(Vol. 83 – N° 3 – 2017)

Editorial	261
Trabajos Originales	
- Diseño y formulación de un champú a base de extracto alcohólico de <i>Urtica urens</i> L. Para su aplicación contra la caída del cabello, por Jhonnell Samaniego Joaquin, César Fuertes Ruitón.	265
- Obtención de una bebida nutritiva a partir de las semillas de sachá inchi <i>Plukenetia volubilis</i> L., por Silvia Valles Ramírez, Mari Medina-Vivanco, Abner Obregón-Lujerio.	273
- Evaluación de la estabilidad de carotenoides y actividad antioxidante de la flor de mastuerzo (<i>Tropeolum majus</i> L.) En la microencapsulación por spray-drying, por Luis Juscamaíta Fabián, Tiffany Pérez Salvatierra, Clara Espinoza Silva, Miguel Quispe Solano, Greta Hinostroza Quiñónez, Omar Flores Ramos, Galia Manyari Cervantes.	282
- Comparison of the photoprotective effects of sunscreens using spectrophotometric measurements or the survivability of yeast cells exposed to uv radiation, por Luis Gabriel Gutiérrez Mesías, Anthony Mijail Romero Qwisgaard, Giuliana Paola Chávez Untiveros, Luciano Augusto Palomino Kobayashi, Luis Enrique Moromisato Shimabukuro, Ana Akemi Kitazono Sugahara.	294
- Efecto del sistema de esterilización orgánica (OSS) en las propiedades nutricionales y funcionales del yacón (<i>Smallantus sonchifolius</i> Poepp. & Endl.), por Américo Guevara Pérez, Keidy Cancino Chávez, Gabriela Llontop.	308
- Variación del contenido de betalainas, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante durante el procesamiento de la quinua (<i>Chenopodium Quinoa</i> W.), por Julio Mauricio Vidaurre-Ruiz, Gleny Díaz-Rojas, Edy Mendoza-Llamo, Miguel Ángel Solano-Cornejo.	319
- Remoción de cromo y demanda química de oxígeno de aguas residuales de curtiembre por electrocoagulación, por Roddy Mayta , Jhony Mayta.	331
- Síntesis de sacarinatocobre(I), por Mario Ceroni Galloso, Jorge R. Angulo Cornejo, María N. Lino Pacheco, Claudia C. Villanueva Huerta, Augusto G. Huiza Rojas.	341
- Síntesis de 3-nitro-N-(1,1,3-trioxo-1,3-dihidro-2h-1λ ⁶ ,2-benzotiazol-2-carbotioil)benzamida, por Jorge R. Angulo-Cornejo, Mario Ceroni-Galloso, María N. Lino-Pacheco, Claudia C. Villanueva-Huerta, Carlo Felipe Tovar-Taboada	348
- Uso del diseño factorial en los ensayos de liberación controlada del ácido 1,3 indolacético cargado en matrices de quitosano, por Ana Valderrama Negrón, Christian Jacinto Hernández, Susana Ponce García, Luis Manrique Pollera.	354
Informaciones	366

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

EL ACEITE DE CANNABIS

El cannabis, también conocido como marihuana, entre otros muchos nombres, es una hierba (*Cannabis sativa*) originaria del Asia, durante más de 5000 años ha sido utilizada por distintas culturas del mundo con fines religiosos, alimenticios y medicinales. En el siglo XVI era parte habitual de cualquier botiquín médico, principalmente, por sus efectos analgésicos y antiinflamatorios. Las cualidades psicoactivas de la planta solo fueron conocidas por los europeos en el siglo XIX.

El producto psicoactivo obtenido de esta planta también se conoce como cannabis o marihuana y su consumo durante mucho tiempo puede producir adicción. Entre el 9% y el 30% de las personas que lo consumen pueden presentar síntomas de abstinencia al tratar de dejarla. Debido a la preocupación por sus riesgos potenciales, el uso del cannabis comenzó a penalizarse en varios países y, en 1937, EEUU prohibió la producción de cáñamo y marihuana. En 1942 se eliminó el cannabis de la Farmacopea estadounidense y en 1951 se la incluyó entre las drogas narcóticas. En la mayor parte del mundo, se empezó a considerar ilegal el uso, posesión y venta de sus preparados. La Asociación Médica estadounidense consideró que las pruebas usadas para demostrar sus efectos nocivos eran insuficientes y que la ley evitaría que se investigara más a fondo su valor medicinal.

Décadas después, nuevamente fue considerada una planta de valor terapéutico al encontrarle propiedades útiles para aliviar los síntomas de algunas dolencias (epilepsia, glaucoma, esclerosis múltiple, fibromialgia, cáncer, etc.) que no responden adecuadamente a los medicamentos convencionales. Así, en los últimos tiempos hemos visto cómo las creencias y actitudes hacia la marihuana han ido cambiando hacia su despenalización. Si bien el consumo de marihuana sigue siendo ilegal en gran parte del mundo, muchos gobiernos son cada vez más tolerantes con su uso. Varios países de Europa y América, Australia y varios Estados de EEUU han legalizado su uso medicinal y, en algunos casos, incluso su uso recreativo. La regulación legal es diferente en cada país y existen tanto detractores como defensores de su despenalización.

Los principios activos de la marihuana se denominan cannabinoides, se conocen unos 113 y están concentrados en las flores. Son compuestos terpeno-fenólicos de 21 átomos de carbono y que han sido encontrados únicamente en el cannabis. Los cannabinoides más conocidos y estudiados son el delta-9-tetrahidrocannabinol o tetrahidrocannabinol (THC), que es el más psicoactivo y a él se debe su clasificación como “droga”, el cannabidiol (CBD), que no tiene efectos psicoactivos, el cannabinol (CBN) y otros cuyos efectos no son muy conocidos aún. Mientras el THC se utiliza para tratar la falta de apetito y el glaucoma, el CBD tiene las mayores propiedades antitumorales, analgésicas y antiinflamatorias.

Existen variedades de planta cuyo contenido es alto en CBD y bajo en THC y son las más usadas con fines médicos. Las flores de la planta hembra de cannabis contienen una cantidad de THC diez veces mayor que las hojas, mientras que los tallos y semillas tienen niveles mucho más bajos. En su estado crudo y fresco la planta de cannabis contiene ácido tetrahidrocannabinólico (THCA), el cual luego se convierte en THC; por esta razón el consumo de la planta cruda no narcotiza a la persona.

El aceite de marihuana o cannabis es el producto más utilizado con fines medicinales por lo que, en los últimos años, se ha hecho muy popular en ciertos países debido al movimiento para legalizar la marihuana. Este aceite es el producto resinoso y pegajoso que se obtiene al eliminar el solvente de los extractos que contienen los cannabinoides de las flores (cogollos) de la planta y que se preparan con diferentes solventes (butano, alcohol isopropílico, etanol o hexano). Su contenido de THC y CBD puede variar según la variedad del vegetal y las condiciones de elaboración. La extracción con etanol es probablemente la técnica más antigua o tradicional. Hasta la década de los 50 estaba disponible en las farmacias con el nombre de tintura de cannabis.

En aquellos países donde el uso del cannabis es legal, se puede encontrar distintos tipos de aceite dependiendo del cannabinoide que está en mayor concentración. El aceite de CBD tiene principalmente cannabidiol, que no es psicoactivo y es muy útil en los casos de epilepsia. El aceite THC tiene mayor concentración de THC, que es psicoactivo pero es útil para aumentar el apetito, aliviar dolores y los malestares de la quimioterapia (náuseas, vómitos, etc.).

Otro producto de la marihuana es el aceite esencial de cannabis, que se obtiene por destilación con vapor de agua de las flores y hojas superiores de la planta. Su composición química es diferente y es producido y distribuido principalmente en Francia y otros países de Europa.

El aceite de cáñamo es obtenido por presión en frío de las semillas de cáñamo y también es diferente al aceite de cannabis. Aunque ambos aceites se obtienen de la misma planta, tienen diferente composición química y usos. El término cáñamo se usa para referirse a plantas de *Cannabis sativa* que contengan cantidades muy pequeñas de THC. Su aceite tiene poco valor medicinal y es posible encontrarlo aún en países donde la marihuana es ilegal. El cáñamo es una planta de crecimiento elevado que generalmente se cultiva para uso industrial, en productos como aceites y ungüentos, así como también fibra para ropa, construcciones y papel, entre otros.

En la elaboración del aceite de cannabis con fines medicinales debe tomarse en cuenta tanto la variedad y la parte de la planta como el método de extracción que garanticen la calidad y el contenido de principios activos del producto, de tal manera que se pueda conocer con precisión la dosis y el tipo de cannabinoide que está recibiendo el paciente según la dolencia a tratar. En la elaboración artesanal del aceite debe entrenarse previamente al personal para que se usen buenas prácticas de manufactura (BPM) y se evite: a) la contaminación

del producto; b) la pérdida de los principios activos por un calentamiento excesivo y c) los posibles accidentes que pueden ocurrir especialmente cuando se utilizan solventes muy inflamables (butano, hexano) o tóxicos (alcohol isopropílico).

Q.F. Juan José León Cam
Departamento de Química
Universidad Nacional Agraria La Molina

DISEÑO Y FORMULACIÓN DE UN CHAMPÚ A BASE DE EXTRACTO ALCOHÓLICO DE *Urtica urens* L. PARA SU APLICACIÓN CONTRA LA CAÍDA DEL CABELLO

Jhonne Samaniego Joaquin^a, César Fuertes Ruitón^a

RESUMEN

Se diseñó y formuló un champú conteniendo el extracto alcohólico de *Urtica urens* L. utilizando un método analítico, experimental y comparativo. Se utilizó las hojas de la planta (Formulación champú) y conejos blancos, raza neozelandesa machos (Ensayo irritación para evaluación biológica de productos sanitarios). Formaron parte del presente estudio personas diagnosticadas con caída del cabello de origen no patológico, en número de 10 personas que fueron evaluados por un profesional médico, por espacio de 21 días. Se sometieron a observación microscópica los cabellos caídos a diario para evaluar si existe aumento del diámetro del cabello comparándolos al inicio y al final del estudio. Se obtuvo el recuento de cabellos caídos por día durante todo el tratamiento. Utilizando el método de recuento de cabellos estandarizado por 60 segundos. Se obtuvieron como resultados que el porcentaje de reducción de caída del cabello fue de 56,8% para el grupo de personas que utilizaron el champú a una concentración al 2% y 32,1% para el grupo de personas que utilizaron el champú a una concentración al 5%. Se compararon los promedios de diámetro de cabellos caídos y evaluación de recuento de pelos caídos por día, utilizando el método de recuento de cabellos estandarizado por 60 segundos. Se pudo diseñar y formular un champú conteniendo extracto alcohólico de *Urtica urens* L.; demostrando su efectividad en el tratamiento contra la caída del cabello logrando una mejora mayor al 50% y además se determinó que no produce irritabilidad dérmica.

Palabras clave: Caída del cabello, champú, extracto alcohólico de *Urtica urens* L., recuento de cabellos estandarizado por 60 segundos.

DESIGN AND FORMULATION OF A SHAMPOO BASED ALCOHOLIC EXTRACT OF *Urtica urens* L. FOR APPLICATION AGAINST HAIR LOSS.

ABSTRACT

I designed and formulated a shampoo containing the alcoholic extract of *Urtica urens* L. using an analytical, experimental and comparative method. white rabbits, New Zealand breed

^a Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Jr. Puno 1002. Jardín Botánico. Lima. Perú. jhonne128@hotmail.com

males (irritation test for biological evaluation of medical devices) were used. They were part of this study diagnosed with hair loss non-pathological origin; numbering 10 people were evaluated by a medical professional, for 21 days. They were subjected to microscopic observation fallen hair daily to assess whether there is increased hair diameter compared to the beginning and end of the study. fallen hair count per day throughout the treatment was obtained. Using the method of standardized hair count by 60 seconds. They were obtained as results that the percentage of hair loss reduction was 56.8% for the group of people who used the shampoo at a concentration of 2% and 32.1% for the group of people using a shampoo 5% concentration. the average diameter of fallen hair count and evaluation of fallen hairs per day were compared, using the hair counting method standardized for 60 seconds. It was able to design and make a shampoo containing alcoholic extract of *Urtica urens* L.; showing its effectiveness in treating hair loss achieving greater than 50% improvement and determined not produce skin irritability.

Key words: Hair, shampoo, alcoholic extract of *Urtica urens* L., standardized hair count by 60 seconds.

INTRODUCCIÓN

Aunque la pérdida del cabello no es una enfermedad debilitante o que amenaza la vida, el mismo pensamiento de convertirse calvo puede conducir al estrés emocional y experiencia traumática para aquellos que sufren de excesiva pérdida de pelo. Muchos intentarán cualquier cosa y todo para evitar la caída de sus cabellos. Los que sufren de pérdida de cabello gastan miles de millones de dólares anualmente en remedios que van desde drogas, vitaminas a tónicos especiales y champús. Tratamientos convencionales de adelgazamiento del cabello incluye terapia de medicamentos y trasplante de cabello. Minoxidil y Propecia (Finasteride) son los únicos dos medicamentos aprobados por la FDA para el crecimiento del cabello en los hombres. Minoxidil es el única droga disponible para mujeres con alopecia androgenética. Se ha demostrado que estos fármacos muestran resultados cuando se presenta calvicie en el vertex del cuero cabelludo. Aunque estos fármacos son eficaces, muchos desconfían de sus efectos a largo plazo, aún desconocido y de sus posibles efectos secundarios. Esto ha llevado a incrementar el interés en remedios como la medicina herbaria¹.

Según Charlet², los elementos constitutivos del pelo son aminoácidos fisiológicos especialmente la cistina que se sintetiza en su raíz para formar cadenas de queratina. El enlace peptídico de los aminoácidos da origen a la estructura en espiral de las fibras de queratina; se realizó un estudio sobre los aminoácidos presentes en *Urtica urens* L. encontrándose la presencia de cisteína, la determinación fue realizada en diferentes estados de vegetación de la planta³.

El estudio tuvo como objetivo diseñar y formular el champú conteniendo el extracto alcohólico de *Urtica urens* L.

PARTE EXPERIMENTAL

Recolección y certificación taxonómica de la especie para el estudio: como material biológico se utilizaron hojas secas de *Urtica urens* L. procedentes de Huaraz, se recolectaron de la localidad de Mancos, distrito de Yungay, provincia de Yungay en el departamento de Ancash. Época de floración en julio del 2012. La clasificación taxonómica se realizó en el Museo de Historia Natural de la UNMSM. Constancia N°177-USM-2012.

Molienda, estabilización y desecación de la planta

Las hojas de la especie se lavaron con agua destilada y fueron secadas en un horno con circulación de aire a una temperatura aproximada de 37°C. Luego fueron trituradas en un molino de cuchillos hasta obtener un polvo fino y posteriormente se almacenaron en botellas de vidrio a temperatura ambiente⁴.

Preparación del extracto alcohólico

Las hojas en polvo (5 kg) fueron sometidas a extracciones continuas en maceración con etanol al 70%⁴, a temperatura de 25 °C en un recipiente de vidrio cerrado y de color ambar, por siete días; posteriormente se separó la solución alcohólica del marco utilizando papel de filtro Whatman N°1. Los filtrados se recolectaron en un solo recipiente y se concentraron hasta sequedad a presión reducida en un rotavapor, obteniéndose el extracto seco.

Análisis fitoquímico del extracto alcohólico de *Urtica urens* L.

Los reactivos usados fueron, ácido clorhídrico concentrado (37%), limadura de magnesio, reactivo de ninhidrina, reactivo de Dragendorff, alcohol etílico (70%) y agua destilada.

El extracto fue analizado utilizando reacciones químicas de coloración para determinar flavonoides, taninos y compuestos fenólicos⁵.

Se utilizó el extracto alcohólico de *Urtica urens* L. y analizado según reacción Shinoda; para identificar isoflavonas y corroborar el comportamiento fluorescente por cromatografía en placa de sílice, para observar una coloración púrpura sin cambios con vapores de amoníaco⁵.

Método de preparación del champú

El champú fue elaborado de acuerdo al método señalado en Simmons⁶.

Se incorporó la materia activa detergente con la mitad de agua destilada hasta completa disolución para luego agregar los conservantes con agitación moderada sin formar burbujas de aire; luego se adicionó el agente suavizante y aditivo especial y se agitó hasta homogeneizar, en otro recipiente se disolvió el extracto de ortiga con la otra mitad de agua y enseguida se agregó el colorante hasta completa homogeneización para luego adicionar esta mezcla al preparado anterior que contiene la materia activa detergente y una vez obtenida la mezcla total se agregó el espesante con agitación continua para obtener la viscosidad deseada. Se elaboró el champú a dos concentraciones de extracto de *Urtica urens* L. al 2% y al 5% (tabla 1); para su aplicación contra la caída del cabello, de agradable fragancia con una presentación en un envase de 300 mL, de fácil manipulación por su diseño.

Tabla 1. Composición del champú en sus dos concentraciones de extracto de *Urtica urens* L.

Materia prima	Champú al 2%	Champú al 5%
Materia activa detergente	25,000%	25,000%
Suavizantes	5,500%	5,500%
Colorante	0,002%	0,002%
Esencias	0,500%	0,500%
Conservantes	0,200%	0,200%
Extracto <i>Urtica urens</i> L.	2,000%	5,000%
Espesante	0,300%	0,300%
Agua destilada	66,498%	63,498%
Total	100.000%	100.000%

Seguridad: En el ensayo de irritabilidad dérmica se utilizaron animales de experimentación: 5 *Oryctolagus cuniculus* (conejos), raza neozelandesa, machos, de aproximadamente 2 kg de peso, correctamente alimentados. Los animales fueron adquiridos del cepario del Instituto Nacional de Salud – Chorrillos, 20 personas sanas con caída del cabello de origen cosmético no alopecico

a. Ensayo de irritación y sensibilización cutánea

Se realizó la evaluación del potencial del producto para producir irritación cutánea en un modelo animal (conejo). El material de ensayo fue el champú con el extracto de *Urtica urens* L. a dos concentraciones, 2 y 5%, y un control positivo con el champú sin extracto. Para la preparación de los animales de experimentación se utilizaron cinco conejos albinos adultos y sanos machos pertenecientes a una única cepa, con la piel intacta y sana; a los cuales se les rasuró el pelo 12 horas antes de comenzar el ensayo en los dorsos en un tamaño aproximadamente de 10 x 15 cm. La aplicación de la muestra se realizó con 0,5 g del champú sobre la piel y se cubrieron los lugares de aplicación con un apósito (parche de gasa) y luego se vendaron estos lugares por 4 horas. Al final del tiempo de contacto se levantaron los apósitos y se marcaron las posiciones de la zona y se evaluaron los resultados según la NT ISO 10993-10⁷. En la calificación de la irritación cutánea se empleó el sistema indicado en la tabla 2.

Tabla 2. Sistema de clasificación de reacciones cutáneas

Reacción dérmica	Puntuación
Formación de eritema y escara	
Ausencia de eritema	0
Eritema muy leve (apenas perceptible)	1
Eritema bien definido	2
Eritema moderado	3
Eritema grave a formación de escara que hace imposible la graduación del eritema	4
Formación de edema	
Ausencia de edema	0
Edema muy leve (apenas perceptible)	1
Edema bien definido (bordes de la zona bien delimitados por una pápula netamente perceptible)	2
Edema moderado (elevación de la pápula aproximadamente 1 mm)	3
Edema grave (elevación de la pápula mayor de 1 mm y rebasando la zona de exposición)	4
Puntuación máxima posible para la irritación	8

El índice de irritación primaria o acumulativa se caracteriza por el número (puntuación) y la descripción (categoría de respuesta) dados en la tabla 3.

Tabla 3. Categorías del índice de irritación primaria o acumulativa en un conejo

Puntuación media	Categoría de la respuesta
0 a 0,4	Insignificante
0,5 a 1,9	Leve
2,0 a 4,9	Moderado
5 a 8	Grave

b. Diseño Experimental para determinar la actividad del extracto alcohólico de *Urtica urens* L. en el cabello

Se solicitó la autorización del estudio al Instituto de Ética de la Unidad Académica de la Facultad de Medicina UNMSM.

Criterios de Inclusión

- Personas del sexo masculino a quienes se les ha diagnosticado caída del cabello de origen no patológico, evaluadas por un profesional médico dermatólogo.
- Criterios de Exclusión
- Personas que hayan recibido o reciban tratamiento capilar.
- Diagnosticadas con alopecia.
- Personas con alguna de estas enfermedades: diabetes, psoriasis, neurodermatitis o trastornos en la función tiroidea.
- Personas que hayan tomado o toman hormonas, antidepresivos o citostaticos.
- Personas que hayan usado o usan trenzas, tintes, permanente o se realicen el secado del cabello con aire caliente
- Personas mayores de 40 y menores de 20 años.

Estos criterios fueron evaluados mediante la realización de un examen médico previo y se determinó que los pacientes estaban sanos y no presentaron signos de tener alopecia; además de realizarles una entrevista y una encuesta con las preguntas necesarias para determinar que sean las óptimas para los fines del estudio.

- Se trabajó con dos grupos de trabajo: A con champú con extracto al 2% y B con champú con extracto al 5%, con 10 integrantes en cada uno de ellos y fueron tratados por espacio de 21 días.
- Se sometieron a observación microscópica los cabellos perdidos por los dos grupos, teniendo en cuenta su morfología al inicio y al final del estudio.

Determinación cuantitativa de pelos caídos

1. Se obtuvo el recuento de pelos caídos por día durante todo el tratamiento. Utilizando el método de recuento de cabellos estandarizado por 60 segundos; el cual se realizó peinándose hacia adelante en las mañanas por 60 segundos antes de lavarse el cabello y recogiendo los pelos caídos sobre una toalla de color contrastante para que los pelos puedan ser visualizadas adecuadamente. Los pelos rotos o fragmentados fueron descontados del estudio⁸.

2. El diámetro del pelo al inicio y al final del tratamiento (visto al microscopio óptico en un aumento de 10 X).
3. Luego se aplicó el champú una vez al día.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el análisis fitoquímico realizado al extracto alcohólico se comprobó la presencia de los compuestos indicados en la tabla 4.

Tabla 4. Ensayo fitoquímico del extracto alcohólico de las hojas de *Urtica urens* L.

Reacciones	Metabolitos secundarios	Estimación de componentes
Shinoda	Flavonoides (isoflavonas)	+++
Ninhidrina	Aminoácidos (cistina)	+++
Reacción de Dragendorff	Alcaloides	++

++ (Regular cantidad); +++ (Mayor cantidad)

En la tabla 5 se puede observar los resultados negativos obtenidos en el ensayo de irritación cutánea con el extracto seco

Tabla 5. Para el extracto seco

Conejo	Puntuación de la respuesta
Con extracto seco	0
Con vehículo del extracto	0
Total	0

En la tabla 6 se reportan los resultados sin respuesta obtenidos en el ensayo de irritación cutánea con el champú en sus dos concentraciones

Tabla 6. Para el champú con extracto de *Urtica urens* L. en sus dos concentraciones

Conejo	Puntuación de la respuesta
Con champú al 2% de extracto	0
Con champú al 5% del extracto	0
Con champú sin extracto	0
Total	0

En la tabla 7 se puede observar un resumen de todos los estudios realizados en el presente trabajo, los cuales presentan resultados favorables luego de la utilización del champú con extracto de *Urtica urens* L. y se comprobó su validez estadística utilizando las pruebas paramétricas como “t” de student y análisis de varianza (ANOVA) confirmando indicios sobre su uso tradicional¹.

Tabla 7. Cantidad promedio del número de cabellos caídos luego de utilizar el champú con el extracto de *Urtica urens* L. (2 y 5%) y porcentaje de reducción.

Tratamiento	Basal	Semana 1	Semana 2	Semana 3
Concentración 2%	17,1	15,4	10,3	7,4
Porcentaje de reducción (%)	---	10,2	39,9	56,8
Concentración 5%	17,2	15,7	13,7	11,7
Porcentaje de reducción (%)	---	8,8	20,6	32,1

CHAMPÚ C/EXTRACTO <i>Urtica urens</i> L.	Estadísticos	SEMANA DE EVALUACIÓN			
		Semana 0	Semana 1	Semana 2	Semana 3
Extracto al 2%	Promedio	17,1	15,4	10,3	7,4
	Tamaño de la muestra	10	70	70	70
	Intervalo de confianza al 95%	(14,6-19,6)	(13,7-17)	(8,4-12,1)	(6,4-8,4)
	Porcentaje de reducción (%)	---	10,2	39,9	56,8
Extracto al 5%	Promedio	17,2	15,4	13,7	11,7
	Tamaño de la muestra	10	70	70	70
	Intervalo de confianza al 95%	(16-18,4)	(14,5-16,8)	(12,7-14,6)	(10,6-12,8)
	Porcentaje de reducción (%)	---	8,8	20,6	32,1

La desviación estándar usada en el cálculo del intervalo de confianza corresponde a la estimada a partir de la variabilidad entre participantes. Caida promedio de participantes si nos sin tratamiento = 5,9 (5,5 - 6,3)

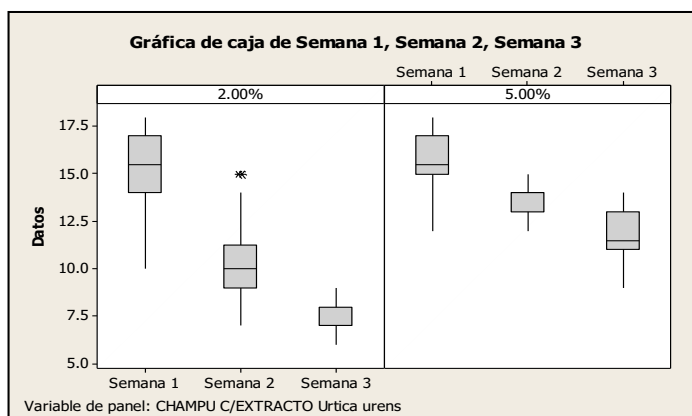


Figura 1. Gráficas de caja al 2 y al 5% por semanas

CONCLUSIONES

Se diseñó y formuló un champú a base de extracto alcohólico de las hojas de *Urtica urens* L., que según el resultado fitoquímico obtenido presentan isoflavonas, aminoácido como la cistina y alcaloides, encontrándose coincidencias al estudio realizado por Massara en la determinación de flavonoides al extracto de la misma planta.

Se determinó que el champú a base de extracto alcohólico de *Urtica urens* L. no produce irritación cutánea al evaluarse el potencial del producto en ninguna de sus dos concentraciones efectuado en animales de experimentación según lo estipula la evaluación biológica de productos sanitarios de la norma técnica ISO 10993-10 y así se evaluaron los posibles peligros de contacto con sustancias químicas liberadas de productos sanitarios.

Al evaluar los resultados de la medida de diámetros de cabellos caídos y conteo cantidad de promedio del número de cabellos caídos mediante pruebas estadísticas paramétricas como t de student y análisis de varianza se pudo observar un porcentaje de reducción de caída del cabello mayor en el champú con extracto de *Urtica urens* L. al 2% al finalizar las tres semanas de tratamiento.

Se probó la actividad del champú de *Urtica urens* L. en el tratamiento contra la caída del cabello logrando una mejora mayor de 50% a la concentración de extracto alcohólico de 2%.

BIBLIOGRAFÍA

1. Patil SM, Sapkale GN, Surwase US, Bhombe BT. Herbal medicines as an effective therapy in hair loss. Res J Pharm Biol Chem Sci. 2010; 1(2): 773-781
2. Charlet E. Cosmética para farmacéuticos. Zaragoza: Editorial Acribia. 1996.
3. Timofeev PV, Khuzin MT. Amino acid composition of some forage crops and wild grasses. Stud Nauch Rab Univ Druzhby Nar. 1967; 9:38-42.
4. Massara M, Sameh B, Sana B, Zouheir S, Tarek R. Chemical composition, phytochemical constituents, antioxidant and anti-inflammatory activities of *Urtica urens* L. leaves. Arch Physiol Biochem. 2016; 1-11
5. Lock U. Investigación Fitoquímica. 2ª ed. Lima: Univ. Católica. 1994
6. Simmons J. Cosméticos: Formulación, preparación y aplicación. Madrid: Ediciones A. Madrid Vicente. 2000.
7. Comité Europeo de Normalización, Norma Técnica ISO 10993-10, Evaluación Biológica de Productos Sanitarios. Parte 10: Ensayos de Irritación y Sensibilización cutánea. Madrid: Asociación Española de Normalización y Certificación. 2011.
8. Wasko CA, Mackley CL, Sperling LC, Mauger D, Miller JJ. Standardizing the 60-Second Hair Count. Arch Dermatol. 2008, 144(6):759-762.
9. *Urtica dioica*, *Urtica urens* (Nettle). Altern Med Rev. 2007; 12 (3):280-284.

OBTENCIÓN DE UNA BEBIDA NUTRITIVA A PARTIR DE LAS SEMILLAS DE SACHA INCHIC (*Plukenetia volubilis* L.)

Silvia Valles Ramírez*, Mari Medina-Vivanco¹, Abner Obregón-Lujerio¹

RESUMEN

Este trabajo tiene como objetivo elaborar una bebida nutritiva a partir de las semillas de sachá inchic (*Plukenetia volubilis* L.) como una alternativa a la leche de origen animal. Los parámetros evaluados fueron: i) la temperatura y el tiempo de pre tostado para eliminar la astringencia y ii) la relación (p/v) almendra: agua para la obtención de la bebida nutritiva. Fueron realizados un análisis proximal de las almendras (semillas descascaradas) y la bebida nutritiva, y un perfil de ácidos grasos de la bebida nutritiva. Los resultados se analizaron utilizando un diseño completamente al azar con tres repeticiones. El mejor tratamiento de pre-tostado de las semillas fue 60 °C durante 6 min. y la relación de almendra: agua más adecuada fue de 1:3. La bebida nutritiva de sachá inchic obtenida presentó 11,6 % de sólidos totales, 3,3 % de proteína, 7,13 % de grasa y altos niveles de ácidos grasos esenciales (30,9 % de ácido linoléico y 42,19 % de ácido linolénico).

Palabras clave: Sachá inchic, proteína vegetal, ácidos grasos esenciales, bebida nutritiva.

OBTAINING A NUTRITIOUS BEVERAGE FROM THE SEEDS OF INCA PEANUT (*Plukenetia volubilis* L.)

ABSTRACT

This work aims to elaborate a nutritious beverage from the seeds of inca peanut (*Plukenetia volubilis* L.) as an alternative to the consumption of animal milk. The evaluated parameters were: i) the temperature and the pre toasting time to eliminate the astringency and ii) the almond: water ratio (w/v) to obtain the nutritious beverage. Proximal analysis of the almonds (peeled seeds) and the nutritious beverage, and a fatty acids profile of the nutritious beverage were performed. The results were analyzed using a completely randomized design with three replicates. The best pre toasting treatment of the seeds was at 60 °C for 6 min. and the best almond: water ratio was of 1:3. The sachá inchic whole beverage obtained contains 11.6% total solids, 3.3 % protein, 7.13 % fat and high levels of essential fatty acid (30.9 % linoleic acid and 42.19 % linolenic acid).

Key words: Inka peanut, vegetable protein, essential fatty acids, nutritious beverage.

¹ Facultad de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Nacional de San Martín, Jr. Amorarca s/n – Morales, Perú, silviamarisol@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

El género *Plukenetia* Linneo está constituido por 19 especies. En el Perú, una de las especies más reconocidas y que tiene una amplia distribución en la Amazonía peruana (Loreto, Ucayali, San Martín, Cusco, Madre de Dios, Amazonas, Junín y Pasco) es la especie *Plukenetia volubilis* Linneo, que crece entre los 30 a 2110 msnm¹. Los nombres populares que se les atribuyen a estas especies son sacha inchic, maní del inca, sacha maní o maní del monte y es utilizada como producto alimenticio por la población rural nativa². En la actualidad la producción de sacha inchic continua en aumento por la demanda en los mercados internacionales; siendo el aceite extraído de las semillas, el principal producto por su alto contenido de ácidos grasos esenciales, además del snack y harina de la torta. Hay interés en desarrollar el componente proteína que contiene aminoácidos esenciales en cantidades adecuadas comparados con el patrón recomendado por la FAO/OMS para una persona adulta (el triptófano es usualmente alto, 44 mg/g de proteína)³.

Las semillas de sacha inchic crudas presentan un sabor astringente, por la presencia de taninos que son sintetizados para la protección de agentes externos tales como insectos; que al ser ingeridos producen resequedad en la mucosa bucal y un sabor amargo. El tratamiento térmico es uno de los métodos utilizados para eliminar la astringencia de las semillas de sacha inchic⁴. Chirinos *et al.*⁵ estudiaron el impacto del tostado como tratamiento térmico sobre los ácidos grasos, tocoferoles y compuestos fenólicos presentes en las semillas de *Plukenetia huallabambana* para la elaboración de snacks, recomendando una temperatura de 100 °C por 10 min para la obtención de snacks con altos niveles de compuestos bioactivos y de alta estabilidad oxidativa.

La bebida nutritiva de sacha inchic es un producto que todavía no ha sido estudiado en profundidad. Sin embargo, existen metodologías para la elaboración de bebidas de otras fuentes oleaginosas, como la metodología para la obtención de la bebida del extracto de soya, que consiste en la cocción por ebullición de granos descascarados durante 30 min. con adición de bicarbonato de sodio a 0,25 % y una relación de 1:3 (p/v); la finalidad es eliminar el sabor indeseable en la boca, también conocido como “chalkness”, que es ocasionado por partículas de fibra proveniente de la soya; luego, los granos de soya son triturados con agua en una relación 1:15 (p/v) y homogeneizado a 4000 psi⁶

El presente estudio propone la obtención de una bebida nutritiva a partir de las semillas de sacha inchic, que aporta ácidos grasos esenciales y proteínas, con buenas características sensoriales, y técnicamente podría suplir las carencias nutricionales de la población rural.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

Se emplearon semillas de sacha inchic del ecotipo Apangura, recolectadas en el distrito de Lamas, San Martín, Perú. Se caracterizó la almendra (semilla descascarada) mediante análisis proximal (humedad, proteína, grasa, fibra, ceniza y carbohidratos) según las recomendaciones de la AOAC⁷

Etapas para la obtención de la bebida nutritiva de sacha inchic

- **Acondicionamiento y pre-tostado de las semillas**

El acondicionamiento consistió en separar impurezas, polvo y arena provenientes de la zona de recolección. Seguidamente, se hizo un oreado por 24 h a temperatura ambiente. Durante el pre-tostado, 250 g de semillas de sacha inchic fueron colocadas en un perol de aluminio, a temperatura de 60 y 80 °C por tiempos de 4,5 y 6 min.

- **Descascarado**

Las almendras se separan de la cáscara en forma manual aplicando un golpe suave. Además, fueron retiradas las semillas con daño físico (con vanos, hongos o apollilladas).

- **Molienda húmeda**

Esta operación se llevó a cabo con la finalidad de desintegrar la almendra. Para ello se usó una licuadora semi-industrial. La almendra fue licuada con agua durante 15 min., formándose una suspensión lechosa y homogénea. Se evalúa la relación almendra: agua (p/v) (1:3; 1:4; 1:5) (g/mL), cuantificando las propiedades fisico-químicas (sólidos totales, densidad, viscosidad aparente y acidez titulable).

- **Tamizado y pasteurizado**

Se separó el residuo insoluble (torta) del extracto hidrosoluble (bebida nutritiva), usando tamiz malla N° 40 y luego se pasteuriza a 75 °C por 15 min.

- **Estabilizado y envasado**

Para la estabilización de la bebida nutritiva se usó 2% de goma xantana (Keltrol F), envasado en caliente en botellas de plástico limpias y esterilizadas. El sellado se realizó de forma manual utilizando coronador para tapas tipo rosca. Las botellas se llenaron con aproximadamente 1 L de la bebida nutritiva de sacha inchic.

Caracterización de las almendras y la bebida nutritiva

Fueron realizados un análisis proximal⁷ de las almendras (semillas descascaradas) y la bebida nutritiva de sacha inchic, y un perfil de ácidos grasos de la bebida nutritiva. Los esteres metílicos de los ácidos grasos presentes en la bebida nutritiva fueron obtenidos siguiendo la metodología de Hartman y Lago⁸. La cuantificación de los ésteres fue realizada utilizando un cromatógrafo de gases (VARIAN 450-GC) en el Laboratorio de Sustancias Naturales Bioactivas del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana. Una descripción detalla del equipo puede ser consultada en García *et al.*⁹.

Análisis de la actividad ureásica y sensorial de la almendra pre tostada

El sabor agradable fue determinado por análisis sensorial a través del método afectivo, utilizando una escala hedónica de 5 puntos (5: me gusta mucho; 3: ni me gusta ni me

disgusta; 1: me disgusta mucho) y la actividad ureásica⁶, como indicador de la efectividad del tratamiento térmico. Los datos fueron procesados mediante un diseño completamente al azar con un arreglo factorial de 2×3 con tres repeticiones, totalizando 18 ensayos. En este diseño la temperatura (60 y 80 °C) y el tiempo (4, 5 y 6 min.) fueron considerados como variables independientes y las variables dependientes fueron, sabor agradable (menor astringencia) y la actividad ureásica.

Análisis sensorial de las suspensiones de la bebida de sachá inchi

Las suspensiones de la bebida de sachá inchi obtenidas después de la etapa de estabilización fueron endulzadas para su evaluación sensorial a través del método afectivo. O atributo sabor (desagradable, amargo y astringente) fue evaluado mediante la aplicación de la prueba de preferencia por escala hedónica de 5 puntos (5: me gusta mucho; 3: ni me gusta ni me disgusta; 1: me disgusta mucho). Fue utilizado un diseño de bloques completamente al azar con comparaciones de medias de Tukey (5% de probabilidad).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición proximal de la almendra pre tostada

La tabla 1 muestra la composición proximal de la almendra de sachá inchi (b.h.). Se observa un alto contenido en proteína (35,01 %) y grasa (40,82 %). Ruiz, *et al*¹⁰ reportaron contenidos de proteína de 29,6 % y grasa 49,0 %, utilizando almendras de la misma especie; *Plukenetia volubilis* Linneo, procedentes de la provincia San Martín, Perú. Las diferencias observadas pueden deberse a factores de cultivo tales como, fertilización, tipo de riego, entre otros.

Tabla 1. Composición proximal de almendras de sachá inchi.

Análisis	% (b.h.)
Humedad	7,62
Proteína	35,01
Grasa	40,82
Fibra	3,08
Ceniza	2,74
Carbohidratos	10,73

Análisis de la actividad ureásica y sensorial de la almendra pre tostada

En la figura 1 se muestra el efecto de la temperatura y tiempo de pre-tostado en la sabor agradable (menor astringencia) de las almendras de sachá inchi. Es posible observar que a menor temperatura (60°C) y mayor tiempo (6 min.) el sabor agradable es mayor, disminuyendo la percepción de la astringencia al incrementarse el tiempo de pre tostado.

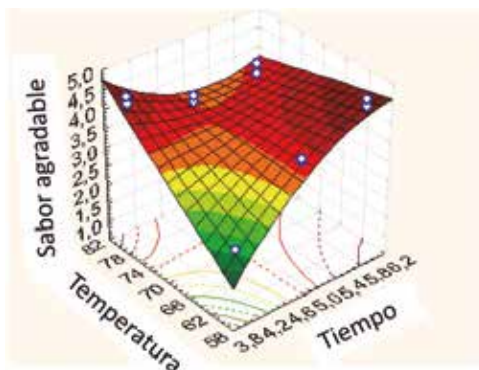


Figura 1. Superficie de respuesta de la influencia de la temperatura (°C) y tiempo de pre tostado (min.) en el sabor agradable (escala hedónica de 5 puntos) de las almendras pre tostadas de sachá inchic.

El comportamiento es similar para la temperatura de pre tostado de 80 °C, con la diferencia de mayor efectividad en la remoción de astringencia, que es confirmada con la prueba de actividad ureásica (tabla 2) concordando con lo reportado por Obregon⁴ y Salas⁶, que mencionan que la efectividad de tratamiento térmico para la eliminación del sabor astringente es cuando el valor de la actividad ureásica es igual o menor a 0,03 del incremento de unidades de pH; por consiguiente, la eliminación del sabor astringente en las semillas de sachá inchic se alcanza a partir de 60 °C y 6 minutos de pre tostado. Cisneros *et al.*¹¹ realizaron estudios de la estabilidad oxidativa y capacidad anti-oxidativa de los aceites extraídos de semillas tostadas de sachá inchic. Los niveles de tostado estudiados fueron: levemente tostado (75-81 °C / 9 min.), medianamente tostado (83-86 °C / 10 min.) y altamente tostado (99-102 °C / 10min.). En este estudio, se determinó que el efecto del tostado de las semillas favoreció sus características sensoriales de aprobación, eliminando el sabor astringente. Además, en el mismo estudio se concluyó que el proceso de tostado de las semillas de sachá inchic ocasiona un ligero incremento de los indicadores de oxidación en el aceite obtenido. El valor de peróxido, que originalmente en aceite de semillas sin tostar es de $0,57 \pm 0,01$ meq/kg de aceite, es incrementado hasta un valor de $3,35 \pm 0,04$ meq/kg de aceite, para semillas ligeramente tostadas.

Tabla 2. Índice de actividad ureásica como unidades de pH de almendras de sachá inchic en función de la temperatura y tiempo de pre tostado.

Índice de actividad ureásica (incremento de unidades de pH)		
Tiempo (min)	Temperatura (°C)	
	60	80
4	0,07	0,00
5	0,05	0,02
6	0,03	0,00

A partir de los resultados del análisis de la actividad ureásica y sensorial de la almendra pre tostada se concluye que la condición más adecuada del pre tostado de las semillas de sacha inchi es a una temperatura de 60 °C durante 6 min.

Análisis sensorial de las suspensiones de la bebida de sacha inchi

La figura 2 muestra el resultado del análisis sensorial (atributo sabor) de la bebida nutritiva a partir de las relaciones almendra: agua (p/v) (1:3, 1:4 y 1:5), donde sobresale la relación almendra: agua de 1:3 con 82,6 % de aceptación (promedio de la prueba de Tukey = 4,13).

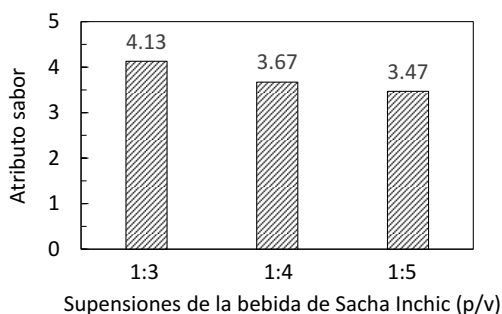


Figura 2. Promedios de la prueba de Tukey (5% de probabilidad) para el atributo sabor (escala hedónica de 5 puntos) vs. suspensiones (p/v) de la bebida nutritiva de sacha inchi.

Caracterización de la suspensión de la bebida nutritiva de sacha inchi

La relación almendra: agua (p/v), fue evaluada por la cuantificación de propiedades físicas químicas (sólidos totales, densidad, viscosidad aparente y acidez titulable) de la suspensión de la bebida nutritiva tal como se muestra en la tabla 3, donde se puede observar que la relación 1:3 (p/v) alcanza 11,6 % de sólidos totales. Este valor es similar a los sólidos totales de la leche soya reportados en otros estudios^{6,11}. (12% y 9,45%, respectivamente). Felberg *et al.*¹², en su estudio de caracterización fisicoquímica de bebidas de extracto de soya y extracto de castaña de Brasil, obtuvieron valores de 9,92 % y 13,6 % de sólidos totales, respectivamente. Cabe mencionar que los valores de sólidos totales del extracto de soya pueden estar influenciados por la composición de los granos, método de preparación, contenido inicial de humedad, grado de trituración y dilución. Siguiendo esta premisa, los valores de los sólidos totales de la bebida nutritiva de sacha inchi podrían también presentar estas variaciones. Respecto a la densidad, la bebida nutritiva de sacha inchi para todas las relaciones (tabla 3), es similar a la leche de soya¹³ (1,027 g/mL). Sin embargo, su viscosidad difiere de la leche de soya, que es igual a 21 cP a 20 °C¹³.

Tabla 3. Propiedades físico químicas de las suspensiones de la bebida nutritiva de sachá inchi.

Propiedades físico químicas	Suspensión de la bebida nutritiva de sachá inchi		
	1:3	1:4	1:5
Sólidos totales (%)	11,6	9,93	5,60
Densidad (g/mL)	1,095	1,012	1,007
Viscosidad aparente (cP) a 29 °C	12,6	11,9	11,7
Acidez titulable (ml de ácido sulfúrico)	0,07	0,049	0,032

La tabla 4 muestra la composición proximal de la bebida nutritiva de sachá inchi, donde se observa que el contenido de proteína es similar al extracto de soya reportado por Fulberg *et al.*¹²; en cuanto al contenido de grasa es superior al extracto de soya, sin embargo, similar al contenido de grasa del extracto de castaña de Brasil. Adicionalmente, la bebida nutritiva posee 79,69 kcal/100g de energía total.

Tabla 4. Composición proximal de bebida nutritiva de sachá inchi comparada con las composiciones de bebidas de extracto de soya y castaña de Brasil.

Análisis en base g/100g	Bebida nutritiva de sachá inchi	Bebida de soya integral ⁽¹²⁾	Bebida de castaña de Brasil integral ⁽¹²⁾
Humedad	88,70	--	--
Proteína	3,3	2,69	1,75
Grasa	7,13	1,96	7,20
Ceniza	0,29	0,48	0,52
Carbohidratos	0,58	4,79	4,13
Sólidos totales	11,6	9,92	13,6

La tabla 5 muestra los ácidos grasos presentes en la bebida nutritiva de sachá inchi. Merino¹⁴ reportó valores de 40,43 % de ácido linolénico, 41,09 % de ácido linoleico y 10,06% de ácido oleico, para el aceite proveniente de la almendra sin ningún tratamiento térmico. En otro estudio, Arana y Paredes¹⁵ reportaron análisis en aceites de almendra que recibieron tratamiento térmico a 77 °C, 85,2 °C y 101,2 °C, concluyendo que la temperatura no influye significativamente en la composición de ácidos grasos en el aceite de sachá inchi.

Tabla 5. Ácidos grasos presentes en la bebida nutritiva de sachá inchic.

Ácidos graso	%
Ácido palmítico (C16:0)	3,83 ± 0,17
Ácido palmitoleico (C16:1)	2,31 ± 0,14
Ácido oleico (C18:1)	8,16 ± 0,02
Ácido linoleico (C18:2)	30,93 ± 0,11
Ácido linolénico (C18:3)	42,19 ± 0,18
Total de ácidos grasos insaturados	81,28

CONCLUSIONES

Técnicamente, es factible obtener una bebida nutritiva de sachá inchic, pre tostado las semillas a 60 °C por 6 min y considerando una relación almendra: agua de 1:3. En este procedimiento, la temperatura y tiempo de pre tostado utilizados fueron parámetros relevantes para la eliminación del sabor astringente en las almendras de sachá inchic. La determinación de la actividad ureásica confirmó la importancia del manejo adecuados de estos parámetros. La bebida nutritiva obtenida aporta 3,3 % proteína, 7,13 % de grasa, 11,6 % de sólidos totales y altos niveles de ácidos grasos esenciales (30,9 % de ácido linoléico y 42,19 % de ácido linolénico). Este perfil nutricional asociado a los resultados positivos del análisis sensorial muestran que el consumo de la bebida nutritiva de sachá inchic podría considerarse como una alternativa al consumo de la leche de vaca.

BIBLIOGRAFÍA

1. Rodríguez A, Corazón-Guivin M, Cachique D, Mejía K, Del Castillo D, Renno JF, et al. Diferenciación morfológica y por ISSR (Inter simple sequence repeats) de especies del género *Plukenetia* (Euphorbiaceae) de la Amazonia Peruana: propuesta de una nueva especie. *Rev Per Biol.* 2010; 17(3): 325-330.
2. Valles CR. Potencial Agro Alimentario Industrial de Sachá Inchic para la Selva alta. Tarapoto: Universidad de San Martín; 1991.
3. Sathe SK, Kshirsagar HH, Sharma GM. Solubilization, fractionation, and electrophoretic characterization of Inca peanut (*Plukenetia volubilis* L.) proteins. *Plant Foods Hum Nutr* 2012; 67(3): 247-255.
4. Obregón A. Obtención de Sachá Inchic (*Plukenetia volubilis*) en polvo secado por atomización. [Tesis Maestría]. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina – Perú; 1996.

5. Chirinos R, Zorrilla D, Aguilar-Galvez A, Pedreschi R, Campos D. Impact of Roasting on Fatty Acids, Tocopherols, Phytosterols, and Phenolic Compounds Present in *Plukenetia huayllabambana* Seed [Internet]. J Chem. 2016 [citado 4 de octubre de 2017]. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/jchem/2016/6570935/>
6. Salas F. Obtención de bebida de Soya en polvo a partir del frejol de soya integral. [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima- Perú; 1981.
7. Firestone D, Perez M. Oils and fat. En: Official Methods and Analysis. 19th ed. Gaithersburg, MD: AOAC International; 2012.
8. Hartman L, Lago RC. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. Lab Pract. 1973;22(6):475-476
9. García D, Seclen A, Rengifo D, Saldaña R, Dávila E, Merino C, et al. Obtención de lípidos estructurados a partir de mezclas binarias de aceites de castaña (*Bertholletia excelsa*) y sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.). Rev Soc Quím Perú. 2013; 79(4):359-366.
10. Ruiz C, Díaz C, Anaya J, Rojas R. Análisis proximal, antinutrientes, perfil de ácidos grasos y de aminoácidos de semillas y tortas de 2 especies de Sachá Inchi (*Plukenetia volubilis* y *Plukenetia huayllabambana*). Rev Soc Quím Perú. 2013; 79(1): 29-36.
11. Cisneros FH, Paredes D, Arana A, Cisneros-Zevallos L. Chemical Composition, Oxidative Stability and Antioxidant Capacity of Oil Extracted from Roasted Seeds of Sachá-Inchi (*Plukenetia volubilis* L.). J Agric Food Chem. 2014; 62, 5191–5197.
12. Felberg I, Deliza R, Gonçalves EB, Antoniassi R, Freitas SD, Cabral LC. Bebida mista de extrato de soja integral e castanha-do-brasil: caracterização físico-química, nutricional e aceitabilidade do consumidor. Alim Nutr. 2004; 15(2): 163-174.
13. Wang S, Cabral L; Araujo F; Maia L. Características Sensoriais de Leites de Soja Reconstituídos. Pesq Agropec Bras. 1999; 34(3): 467-472.
14. Merino C. Caracterización de ácidos grasos y aminoácidos de diez ecotipos de *Plukenetia volubilis* L. (Sachá Inchi) de la Amazonia Peruana. [Tesis]. Iquitos: Universidad Nacional de la AMAZONÍA peruana; 2009.
15. Arana A, Paredes D. Estabilidad oxidativa y capacidad antioxidante del aceite de Sachá Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) extraído de semillas tostadas a diferentes condiciones. [Tesis]. Lima: Universidad San Ignacio de Loyola; 2008.

EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE CAROTENOIDES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA FLOR DE MASTUERZO (*Tropaeolum majus* L.) EN LA MICROENCAPSULACIÓN POR SPRAY-DRYING

Luis Juscamaita Fabián^a, Tiffany Pérez Salvatierra^a, Clara Espinoza Silva^a, Miguel Quispe Solano^b, Greta Hinojosa Quiñónez^a, Omar Flores Ramos^c, Galia Manyari Cervantes^d

RESUMEN

Se realizó la extracción de carotenoides de los pétalos de flores amarillas de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) con hexano, cloroformo y éter de petróleo a 12, 24 y 48 horas; el mayor rendimiento se obtuvo con cloroformo a 24 horas, el que se purificó para ser solubilizado con aceite de oliva. Luego se microencapsuló con maltodextrina y goma arábica. La dispersión se llevó a un Mini Spray Dried B-290 a temperaturas de secado de 130 °C, 150 °C y 170 °C; en el microencapsulado se evaluó el % de recuperación de carotenoides totales encontrándose diferencia ($p < 0,05$) por efecto de la interacción del agente encapsulante y la temperatura de secado, los mayores % de recuperación fueron 74,10% y 83,76% a 130 °C y 150 °C, respectivamente, con goma arábica; no se evidencia diferencia ($p > 0,05$) en la actividad antioxidante las que van de 393,00 a 470,97 $\mu\text{mol-TE/g}$. de muestra. Con respecto al % de humedad, % de higroscopicidad, densidad aparente (g/cm^3) y % de rendimiento se evidencia diferencia ($p < 0,05$). En el % de solubilidad no se evidencia diferencia ($p > 0,05$), la microcápsula de carotenoides puede ser usada como alimento funcional.

Palabras clave: *Tropaeolum majus* L., microencapsulación, carotenoides, actividad antioxidante, spray drying.

^a Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias, Universidad Nacional del Centro del Perú.

^b Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, Facultad de Ciencias Aplicadas, Universidad Nacional del Centro del Perú, quispe_miguelangel@hotmail.com

^c Facultad de Ingeniería Mecánica, Universidad Nacional del Centro del Perú.

^d Facultad de Agronomía, Universidad Nacional del Centro del Perú.

EVALUATION OF STABILITY OF CAROTENOIDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF NASTURTIUM FLOWERS (*Tropaeolum majus* L.) IN SPRAY-DRYING MICROENCAPSULATION

ABSTRACT

Carotenoids were extracted from the petals of yellow nasturtium flowers (*Tropaeolum majus* L.) with hexane, chloroform and petroleum ether at 12, 24 and 48 hours; The highest yield was obtained with chloroform at 24 hours, which was purified to be solubilized with olive oil. It was then microencapsulated with maltodextrin and gum arabic. The dispersion was carried to a Mini Spray Dried B-290 at drying temperatures of 130 °C, 150°C and 170 °C; In the microencapsulation the % recovery of total carotenoids was evaluated ($p < 0.05$) due to the interaction of the encapsulating agent and the drying temperature, the highest recovery rates were 74.10 % and 83.76 % At 130 °C and 150 °C respectively, with gum arabic; No difference ($p > 0.05$) was found in antioxidant activity ranging from 393.00 to 470.97 $\mu\text{mol TE/g}$. shows. With regard to % humidity, % hygroscopicity, bulk density (g/cm^3) and % yield difference was evident ($p < 0.05$). In the % solubility no difference ($p > 0.05$) is evident, the microcapsule of carotenoids can be used as functional food

Key words: *Tropaeolum majus* L., microencapsulation, carotenoids, antioxidant activity, spray drying.

INTRODUCCIÓN

Las exigencias de la alimentación, en la actualidad, se han incrementado respecto a la calidad (organoléptica, microbiológica y nutricional), así la demanda de productos de carácter nutracéutico y funcional va en aumento; debido a que mejoran la salud y/o previenen ciertas enfermedades.

Los colorantes generalmente empleados en la industria de alimentos son de carácter sintético, estos cumplen bien sus funciones de tinción, sin embargo no aportan valor nutritivo considerable. Recientemente, se ha puesto de manifiesto que la relevancia de los carotenoides va más allá, de que algunos de ellos poseían actividad provitamínica A, al haberse demostrado que juegan un papel importante en la prevención de diversas enfermedades degenerativas humanas.

Los pétalos de la flor amarilla del mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) son una fuente importante en carotenoides, encontrándose la presencia de β -caroteno, γ -caroteno, ϵ -caroteno y licopeno¹; con un potencial como fuente de compuestos antioxidantes. Sin embargo, al ser sometidas a calentamiento, pérdida de integridad celular, extracción, cambios de pH, luz, temperatura; se tornan mucho más lábiles.

A través de proceso de microencapsulación se puede estabilizar las propiedades nutraceuticas de los carotenoides extraídos de los pétalos del mastuerzo. La microencapsulación de compuestos bioactivos consiste en la extracción del compuesto activo, emulsificación y secado por atomización; este último, implica fenómenos de transferencia de calor y masa durante la formación de la microcápsula. La adición de agentes encapsulantes permiten el aumento del contenido de sólidos totales, reduciendo la humedad del producto, facilitando así el secado y reduciendo la pegajosidad. Las que deben evaluarse a fin de permitir el incremento de la estabilidad del producto protegiéndolo. El secado por spray-drying presenta la mayor retención de la actividad antioxidante².

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales y reactivos

Se trabajó con pétalos de mastuerzo color amarillo, recolectados de la estación experimental Mantaro de la Universidad Nacional del Centro del Perú. Ubicado en el distrito de Mantaro, provincia de Jauja, departamento de Junín.

Obtención del microencapsulado del extracto de carotenoides de los pétalos del mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) color amarillo

El extracto obtenido es exclusivamente de los pétalos de color amarillo de la flor de mastuerzo, una vez purificado, se mezcló con aceite de oliva, y se encapsuló con goma arábica para luego ser llevado a secado por spray-drying, para tal fin se prosiguió el siguiente diagrama de flujo:

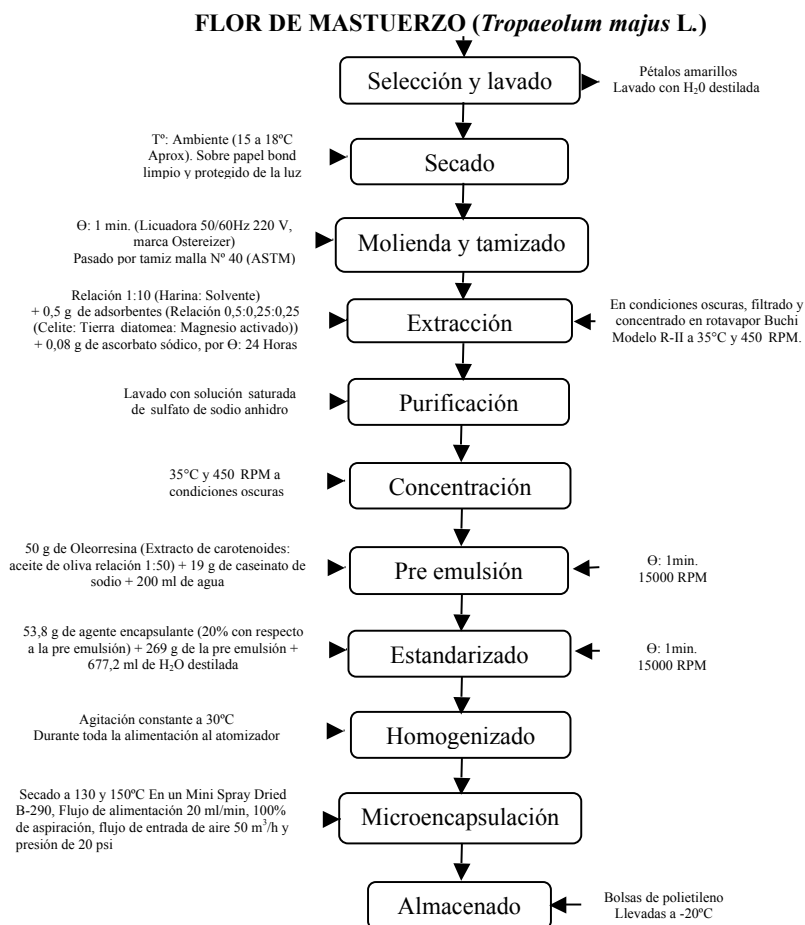


Figura 1. Diagrama de flujo de la microencapsulación por spray-drying del extracto de carotenoides los pétalos de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) color amarillo

Cuantificación de carotenoides, actividad antioxidante, característica química y fisicoquímica

En la cuantificación de los carotenoides totales, actividad antioxidante, característica química y fisicoquímica de la materia prima fresca, seca, extractos y las microcápsulas de carotenoides, se utilizó reactivos y protocolos debidamente validados.

Determinación de carotenoides

Carotenoides totales³

Determinación de la actividad antioxidante

Método ABTS⁴

Determinación de la característica química y fisicoquímica

Humedad⁵, Higroscopicidad⁵, Solubilidad⁵, Densidad aparente⁵, Rendimiento.

Recuperación de carotenoides: Su cálculo se basó en la cuantificación de carotenoides antes y después de encapsular hallándose el % de recuperación mediante la siguiente fórmula:

$$\%R = \frac{\text{Carotenoides totales después de encapsular}}{\text{Carotenoides totales antes de encapsular}} \times 100 \dots (1)$$

Análisis estadístico

Para la evaluación estadística se utilizó el DCA y el DCA con arreglo factorial de 2x3 cuyo análisis de varianza se trabajó con $p < 0,05$ de significancia; al encontrar diferencia significativa ($p < 0,05$) se procedió a realizar la prueba de comparación de medias de Tukey. Los datos fueron procesados con la ayuda de los programas estadísticos Minitab V_16 y la hoja de cálculo Microsoft Excel 2010.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuantificación de carotenoides y actividad antioxidante en los pétalos de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) color amarillo

La cuantificación de los carotenoides totales y actividad antioxidante se efectuaron sobre los pétalos de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) color amarillo en estado fresco con una humedad de 92,06 % y estado seco con una humedad 11,23 %.

Tabla 1. Contenido de carotenoides totales y actividad antioxidante de los pétalos amarillos de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.).

Condición	Carotenos totales (mg β -caroteno /100 g en base Seca)	Actividad antioxidante (μ mol-TE/g muestra en base seca)
Fresco	358,01 \pm 10,82 ^a	1922,34 \pm 23,05 ^a
Seco	254,83 \pm 3,04 ^b	739,81 \pm 18,41 ^b

Valores con diferentes letras (a y b) dentro de cada columna denotan significancia en la prueba de Tukey ($p < 0,05$), valores promedio de 4 repeticiones \pm desviación estándar.

En la tabla 1 se observa que existe diferencia significativa ($p < 0,05$) entre las muestras, encontrándose un mayor contenido de carotenoides totales y actividad antioxidante en los pétalos frescos respecto a los deshidratados; Rodríguez-Amaya⁶ señala que en el lento secado de cuatro vegetales de hoja verde se dio una retención más baja de carotenoides, debido a la activación de las enzimas y esta aumenta al pulverizarla ya que se pierde la integridad causando la degradación e isomerización de los pigmentos amarillos que contienen β -carotenos, estos factores sumados al tiempo de almacenamiento son los principales responsables de su pérdida; con respecto a la actividad antioxidante del mastuerzo Garzón y Wrolstad⁷ reporta 458 μ mol-TE/g para flores naranjas; Arellano *et al.*⁸, 587,01 μ mol-TE/g para flores amarillas; estos valores son menores a los hallados en la investigación; la variabilidad del contenido de carotenoides está influenciado por el clima, variedad, parte de la planta, estado de madurez, clima, cosecha, manejo post cosecha, procesamiento y almacenamiento⁶.

Cuantificación de carotenoides en los diferentes extractos de pétalos de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) color amarillo

La caracterización de los carotenoides totales en los diferentes extractos de pétalos de mastuerzo obtenido de los diferentes tiempos de extracción, se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Contenido de carotenoides totales (mg β -caroteno /100 g muestra en base seca) de los diferentes extractos de los pétalos amarillos de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.).

Extracto	Tiempos de extracción (Horas)	Carotenos totales
Hexano	12	246,08 \pm 1,43 ^f
	24	256,87 \pm 1,06 ^e
	48	329,14 \pm 1,02 ^b
Cloroformo	12	241,94 \pm 0,98 ^g
	24	358,05 \pm 0,81 ^a
	48	301,32 \pm 0,59 ^c
Éter de petróleo	12	244,92 \pm 0,72 ^{ig}
	24	258,4 \pm 1,46 ^e
	48	297,97 \pm 1,14 ^d

Valores con diferentes letras (a y g) dentro de cada columna denotan significancia en la prueba de Tukey ($p < 0,05$), valores promedio de 4 repeticiones \pm desviación estándar.

En la tabla 2 se reporta el contenido de carotenoides totales por efecto de la interacción del solvente y tiempos de extracción las que muestran diferencias significativas ($p < 0,05$); encontrándose que el mejor tratamiento dio como resultado 358,05 \pm 0,81 mg β -caroteno /100 g muestra, usando cloroformo durante un tiempo de lixiviación sólido-líquido de 24 horas; en la misma línea de investigación, Cornejo⁹ obtuvo la mejor extracción de carotenoides de la flor de *Senna multiglandulosa* con cloroformo comparado con éter etílico, isopropanol y éter de petróleo; Esta variabilidad en la composición de las mezclas de extracción está condicionada a la naturaleza y complejidad química de la fuente de pigmentos.

Cuantificación de carotenoides en el extracto purificado de pétalos de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) color amarillo

La caracterización de los carotenoides totales del extracto purificado por saponificación en frío, saponificación en caliente y lavado se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Contenido de carotenoides totales (mg β -caroteno /100 g muestra en base seca) de los extractos purificado de pétalos amarillos de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.).

Saponificación en caliente	Saponificación en frío	Lavado con solución saturada de sulfato de sodio anhidro
230,53 \pm 1,81 ^c	236,47 \pm 2,93 ^b	319,33 \pm 3,25 ^a

Valores con diferentes letras (a y c) dentro de cada columna denotan significancia en la prueba de Tukey ($p < 0,05$), valores promedio de 4 repeticiones \pm desviación estándar.

En la tabla 3 se reporta los resultados de los carotenoides totales de los extractos purificados en las que se aprecia que existe diferencia estadística ($p < 0,05$) en los distintos métodos, encontrándose que el mayor contenido de carotenoides se da en el lavado con solución saturada de sulfato de sodio anhidro teniendo entre un 25,95 % a 27,80 % de carotenoides totales adicionales con respecto a la saponificación en caliente y en frío; al respecto, Arellano¹⁰ señala que los carotenoides no son estables a pH extremos; ya que los álcalis pueden provocar isomerizaciones cis/trans de ciertos dobles enlaces, reagrupamientos y desesterificaciones al momento de saponificar, por lo que se recomienda no saponificar el extracto de pigmentos; el isomerismo de los pigmentos de los carotenoides empieza tan pronto como son solubilizados y no puede ser detenido por el almacenamiento en frío. Jaramillo¹¹ afirma que el proceso de saponificación daña severamente a los pigmentos reflejándose en una fuerte disminución en la concentración de carotenoides totales; por otro lado, Gsaki y Martínez¹² señalan que los procesos de lavados son muy frecuentes en las atapas de aislamiento y se llevan a cabo para eliminar restos orgánicos presentes en una mezcla orgánica de reacción. Rodríguez-Amaya⁶ comparó tres métodos de saponificación, con KOH en metanol al 10 % y observó una pérdida de 0 a 3 % a temperatura ambiente, mientras que con KOH en metanol al 60 % se obtuvo mayores pérdidas y con el método de saponificación en caliente obtuvo pérdidas de hasta el 100 %, por lo que en la investigación se eligió el método del lavado para purificar el extracto de carotenoides.

Cuantificación del % de recuperación de carotenoides y actividad antioxidante de las microcápsulas del extracto de carotenoides de los pétalos de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) color amarillo

La cuantificación del % de recuperación de carotenoides totales y la actividad antioxidante de las microcápsulas de carotenoides, obtenido del extracto purificado de carotenoides de los pétalos amarillos del mastuerzo, se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. % de recuperación de carotenoides y actividad antioxidante de las microcápsulas del extracto de carotenoides de los pétalos amarillos de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.).

Agente encapsulante	Temperatura secado	% Carotenos totales recuperados	Actividad antioxidante ($\mu\text{mol-TE/g}$ muestra en base seca)
Maltodextrina (20%)	130°C	54,82 \pm 0,03 ^{bc}	436,43 \pm 10,14 ^{ns}
	150°C	49,71 \pm 0,08 ^c	404,94 \pm 28,43 ^{ns}
	170°C	45,16 \pm 0,02 ^c	398,00 \pm 3,37 ^{ns}
Goma arábica (20%)	130°C	83,76 \pm 0,06 ^a	470,97 \pm 20,74 ^{ns}
	150°C	74,10 \pm 0,01 ^a	418,32 \pm 22,45 ^{ns}
	170°C	68,96 \pm 0,02 ^{ab}	393,38 \pm 72,47 ^{ns}

*, ns: indican significancia a $p < 0,05$ y no significancia. Valores con diferentes letras (a y c) dentro de cada columna denotan significancia en la prueba de Tukey ($p < 0,05$), valores promedio de 3 repeticiones \pm desviación estándar.

En la tabla 4 se reporta el % de carotenoides totales por efecto de la interacción del agente encapsulante y temperatura de secado, en las que se evidencia diferencia significativa ($p < 0,05$). La mayor estabilidad de carotenoides se obtiene con el agente encapsulante goma arábica y temperaturas de secado de 130 °C y 150 °C dándonos mayores % de recuperación de carotenoides. En la misma línea de investigación, Arellano¹⁰ encapsuló luteína de las flores de tagete (*Tagete erecta*) teniendo entre un 39,2 % a 42,6 % de recuperación usando como agente encapsulante la inulina y como oleorresina el aceite de girasol, estos niveles bajos de recuperación lo atribuye a las altas temperaturas de secado (140 °C-180 °C) ya que ocasionó la oxidación e isomerización de la luteína; Pedroza¹³ señala que el tipo de material encapsulante tiene influencia en la estabilidad de la emulsión antes de secar, en el tamaño de partícula, en las propiedades de flujo, en las mecánicas y en la vida útil del material deshidratado; asimismo, Matsumara *et al.*¹⁴, revelan que entre la interacción existente entre la goma arábica y los lípidos esta última previene su oxidación, la primera tiene la propiedad de adsorberse en la interfase aceite/agua formando una película viscoelástica, donde los lípidos contribuyen con la coherencia de la estructura a través de la formación de empalmes o uniones por medio de gotitas de aceite en los anclajes de las cadenas de la goma arábica; al respecto Larroza y Zerlotti¹⁵ señalan que la goma arábica podría considerarse una excelente elección como material de pared para la encapsulación de licopeno por secado por aspersión. A ello, se le atribuye el mayor % de recuperación de carotenoides en comparación del agente encapsulante maltodextrina, ya que la eficiencia en esta depende del grado de hidrólisis de las maltodextrinas, ya que muy bajos equivalentes de dextrosa no tienen el efecto positivo¹³.

En la actividad antioxidante no se evidencia diferencia estadística ($p > 0,05$) en los diferentes tratamientos encontrándose valores que van entre 393,38 a 470,97 $\mu\text{mol-TE/g}$ muestra; al respecto, Sáenz *et al.*², en la microencapsulación de extracto etanólico de nopal (*Opuntia ficus-indica*) con inulina, reportan 61,7 $\mu\text{mol-TE/g}$ atribuyendo la mayor actividad antioxidante al agente encapsulante; en misma línea de investigación, Arrazola, Herazo y Alvis¹⁶, en la interacción de las variables temperatura de secado y % de maltodextrina en los microencapsulados de extracto de antocianinas de la cáscara de berenjena, no encontraron diferencia estadística sobre la capacidad antioxidante.

Caracterización de las microcápsulas del extracto de carotenoides de los pétalos de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) color amarillo.

La caracterización del % de humedad, % de higroscopicidad, % solubilidad, densidad aparente (g/cm^3) y el % rendimiento se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Características de las microcápsulas del extracto de carotenoides de los pétalos amarillos de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.).

Agente encapsulante	Temperatura de secado	Humedad %	Higroscopicidad %	Solubilidad %	Densidad aparente (g/cm ³)	Rendimiento %
Maltodextrina (20%)	130°C	2,428±0,00 ^a	7,501±0,009 ^c	98,24±0,01 ^{ns}	1,068±0,01 ^a	19,20±0,01 ^a
	150°C	1,934±0,00 ^b	8,303±0,005 ^c	99,96±0,01 ^{ns}	1,044±0,01 ^{ab}	15,27±0,02 ^b
	170°C	1,650±0,01 ^b	8,622±0,004 ^{bc}	99,02±0,01 ^{ns}	1,014±0,01 ^{bc}	18,79±0,02 ^b
Goma arábica (20%)	130°C	2,285±0,01 ^a	10,811±0,006 ^{abc}	99,06±0,01 ^{ns}	0,946±0,02 ^{cd}	36,27±0,01 ^a
	150°C	1,883±0,01 ^{bc}	11,866±0,002 ^{ab}	98,85±0,01 ^{ns}	0,961±0,01 ^d	23,35±0,01 ^{bc}
	170°C	1,692±0,00 ^{cd}	14,144±0,018 ^a	99,15±0,01 ^{ns}	0,926±0,01 ^d	28,45 ±0,03 ^{cd}

*, ns: indican significancia a $p < 0,05$ y no significancia. Valores con diferentes letras (a y d) dentro de cada columna denotan significancia en la prueba de Tukey ($p < 0,05$), valores promedio de 3 repeticiones \pm desviación estándar.

En la tabla 5 se evidencia que existe diferencia significativa ($p < 0,05$) en cuanto al contenido de humedad, higroscopicidad, densidad aparente y rendimiento en los diferentes tratamientos por efecto de la interacción del agente encapsulante y la temperatura de secado. El contenido de humedad para el microencapsulado de carotenoides fue menor en los polvos obtenidos a altas temperaturas de secado; al respecto, Jittanit *et al.*¹⁷ señalan que a temperaturas más altas de entrada de aire, existe un gradiente de temperatura mayor entre la alimentación atomizada y el aire de secado, lo que resulta en una mayor fuerza motriz para la evaporación del agua, produciendo polvos con menor contenido de humedad; los valores de humedad obtenidos son cercanos a los reportados por Fernandes *et al.*¹⁸ en el secado de aceite esencial de romero que va de 0,26 a 3,16 %.

Con respecto a la higroscopicidad de las microcápsulas esta se incrementa a medida que se eleva la temperatura de secado, debido al menor contenido de humedad; Al respecto Tonon *et al.*¹⁹ señalan que hay una relación inversa entre la higroscopicidad y el contenido de humedad de los polvos y que está relacionado con el gradiente de concentración de agua entre el producto y el aire circundante; también se evidencia que la higroscopicidad varía con respecto al agente encapsulante, teniendo mayor higroscopicidad con el uso de goma arábica; por otro lado, Caparino *et al.*²⁰ mencionan que la maltodextrina permite obtener baja higroscopicidad en polvos, ello se corrobora en la investigación.

Se tienen una mayor densidad aparente de los polvos con la goma arábica en comparación de la maltodextrina; al respecto, Jittanit *et al.*¹⁷ manifiestan que la temperatura de secado alta trae una mayor tasa de evaporación de la humedad de la alimentación dando como resultado una mayor porosidad y menor densidad aparente del microencapsulado; el agente encapsulante es un material de formación de cubierta y al ser utilizado induce a la acumulación y atrapamiento del aire dentro de la partícula haciendo que se vuelva menos densa y porosa²⁰.

Con respecto al rendimiento, se observa que el mayor rendimiento se obtuvo con la goma arábica a 130°C, se evidencia pérdidas a la hora de obtener el polvo entre 63,73 a 84,73 %; Salazar-González *et al.*²¹ atribuyen estas pérdidas al polvo que queda adherido en las paredes del secador, los mismos autores reportan rendimientos entre 71,3 a 74,9 % en la producción de polvos del extracto de la flor de Jamaica usando goma de mezquite.

En cuanto a la solubilidad de los atomizados no se evidencia diferencia ($p>0,05$) esta se incrementa a medida que la temperatura de entrada de aire es alta. La temperatura de secado tiene un efecto positivo sobre la solubilidad ya que altas temperaturas de secado dan como resultado una mayor porosidad de los polvos¹⁷. La mayor porosidad condujo a la superficie más específica del microencapsulado, dando como resultado la mayor superficie de contacto entre el polvo y el agua; Cano-Chauca *et al.*²² señalan que los portadores de secado maltodextrina y goma arábica se disuelven fácilmente en agua, por ello mejoran la capacidad de disolución de las microcápsulas de carotenoides; la solubilidad del polvo secado está influenciada principalmente por el tipo y la concentración de los portadores de secado.

CONCLUSIONES

- El mejor método de extracción de carotenoides de pétalos amarillos de mastuerzo fue usando el cloroformo mediante lixiviación por un tiempo de 24 horas.
- La saponificación en frío y caliente del extracto de carotenoides de pétalos amarillos de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) sobre el contenido de carotenoides totales, no es recomendable, por la alta degradación que implica este proceso.
- La microencapsulación de los extractos de carotenoides de los pétalos amarillos de mastuerzo con agente encapsulante goma arábica y la temperatura de secado de 130 °C y 150°C permiten un mayor % de recuperación de carotenoides (74,10 % y 83,76 %); estas presentan un alto potencial antioxidante (418,32 y 470,97 $\mu\text{mol-TE/g}$ muestra).
- La característica química y fisicoquímica de las microcápsulas de carotenoides permite establecer su uso como aditivo alimentario para su incorporación en alimentos funcionales.

AGRADECIMIENTO

Los autores expresamos nuestro agradecimiento al Instituto de Investigación de la UNCP, a la Facultad de Industrias Alimentarias y a los Fondos del Canon Minero administrados por la Universidad Nacional del Centro del Perú.

BIBLIOGRAFÍA

1. Camavilca M, Leyva M. Identificación de antocianinas y carotenoides en flores de mastuerzo (*Tropaeolum majus*) por cromatografía en capa fina. [tesis para optar el título de Ingeniero en Industrias Alimentarias]. Huancayo: Universidad Nacional del Centro del Perú; 2015.
2. Saénz S, Tapia S, Chávez J, Robert P. Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus indica*). Food Chem. 2009; 114(2): 616–622.
3. Wrolstad R, Acree T, Decker E, Penner M, Reid D, Schwartz S, et al. Handbook of Analytical Chemistry: Pigments, Colorants, Flavor, Texture and Bioactive Food Components. Hoboken: Wiley Interscience, John Wiley & Sons Inc. Publications; 2005.
4. Arnao M. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: A practical case. Trends Food Sci Technol. 2000; 11(11): 419-421.
5. Cai Y, Corke H. Production and properties of spray-dried *Amaranthus* betacyanin pigments. J Food Sci. 2000; 65(7): 1248-1252.
6. Rodríguez-Amaya D. Carotenoides y preparación de alimentos: retención de los carotenoides, provitamina A en alimentos preparados, procesados y almacenados. Primera edición. Campiñas: John Snow, Inc./OMNI; 1999.
7. Garzón G, Wrolstad R. Major anthocyanins and antioxidant activity of nasturtium flowers (*Tropaeolum majus*). Food Chem. 2009; 114(1): 44-49.
8. Arellano K, Herrera J, Quispe M, Espinoza C, Véliz N, Orihuela W. Evaluación de los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de tres colores de pétalos de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.). Rev Soc Quím Perú. 2015; 81(14): 319-328.
9. Cornejo D. Extracción, identificación, cuantificación y determinación de la actividad antioxidante de los carotenoides presentes en las flores de *Senna Multiglandulosa* a través de cuatro métodos de extracción. [tesis para optar el grado de Ingeniero en Biotecnología]. Sangolqui: Escuela Politécnica del Ejército; 2011.
10. Arellano C. Extracción de luteína a partir de flores de tagete (*Tagete erecta*) y estabilización por microencapsulación. [tesis para optar el grado de Ingeniero en alimentos]. Santiago de Chile: Universidad de Chile; 2011.
11. Jaramillo E. Efecto del tratamiento térmico, enzimático y térmico-enzimático sobre los pigmentos y micro estructura de la flor de calabaza. Ciudad de México: Instituto Politécnico Nacional Escuela Nacional de Ciencias Biológicas; 2010.
12. Gsaky A, Martínez A. Técnicas experimentales en síntesis orgánica. Segunda edición. Madrid: Editorial Síntesis; 2012.
13. Pedroza R. Alimentos microencapsulados: Particularidades de los procesos para la microencapsulación de alimentos para larvas de especies acuícolas. Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Cancún-México; 2002.
14. Matsumara Y, Satake C, Egami M, Mori T. Interaction of gum arabic, maltodextrin and pullulan with lipids in emulsions. Biosci Biotechnol Biochem. 2000; 64(9): 1827-1835.
15. Larroza I, Zerlotti A. Encapsulation of Lycopene Using Spray Drying and Molecular Inclusion Processes. Braz Arch Biol Technol. 2007; 50(5): 893-900.

16. Arrazola G, Herazo I, Alvis A. Microencapsulación de antocianinas de berenjena (*Solanum melongena* L.) mediante secado por aspersión y evaluación de la estabilidad de su color y capacidad antioxidante. *Información tecnológica*. 2014; 25(3): 31-42.
17. Jittanit W, Chantara-In M, Deying T, Ratanavong W. Production of tamarind powder by drum dryer using maltodextrin and Arabic gum as adjuncts. *Songklanakarin J Sci Technol*. 2011; 33 (1): 33-41.
18. Fernandes R, Borges S, Botrel D. Influencia de las condiciones de operación de secado por pulverización sobre propiedades de aceite esencial de romero microencapsuladas. *Revista Ciencia tecnología de alimentos*. 2013; 33(1): 171-178.
19. Tonon R, Brabet C, Hubinger M. Influence of process conditions on the physicochemical properties of acai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray drying. *J Food Eng*. 2008; 88 (3): 411-418.
20. Caparino O, Tang J, Nindo C, Sablani S, Powers J, Fellman J. Effect of drying methods on the physical properties and microstructures of mango (Philippine Carabao var.) powder. *J Food Eng*. 2012; 111(1): 135–148.
21. Salazar-González C, Vergara-Balderas F, Guerrero J. Evaluación de agentes encapsulantes de un extracto de Jamaica microencapsulado. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*. 2009; 2(3): 14-25.
22. Cano-Chauca M, Stringheta L, Sardagna L, Cal-Vidal J. Mango juice dehydration spray drying using different carriers and functional characterization. *Proceedings of the 14th International Drying Symposium, São Paulo, Brazil, 2004; 2005-2012*.

COMPARISON OF THE PHOTOPROTECTIVE EFFECTS OF SUNSCREENS USING SPECTROPHOTOMETRIC MEASUREMENTS OR THE SURVIVABILITY OF YEAST CELLS EXPOSED TO UV RADIATION

Luis Gabriel Gutiérrez Mesías^a, Anthony Mijail Romero Qwisgaard^a,
Giuliana Paola Chávez Untiveros^a, Luciano Augusto Palomino Kobayashi^a,
Luis Enrique Moromisato Shimabukuro^b, Ana Akemi Kitazono Sugahara^{c*}

ABSTRACT

This work focuses on simple methods that allow comparison of the photoprotective effects of sunscreens. One such method described by Mansur and colleagues relies on the spectrophotometric measurements of the organic filters extracted with ethanol. The extracts are subjected to absorbance measurements in the of 290 to 320 nm range, with 5 nm intervals. The sunscreen sun protection factor (SPF) is estimated with an equation that relates each absorbance value with their respective erythemal effect, at the wavelength used for each measurement. In the current work, three commercial sunscreens were assayed using this method, which produced SPF values that were markedly lower than those declared by the manufacturers. These results prompted a more thorough analysis, which concluded that the Mansur method is not suitable for assaying sunscreens with SPFs above 15. The analysis included a survey of the data previously reported by several authors that had used the same method. On the other hand, this report also includes the optimization of a yeast serial dilution assay that allows reliable comparison of the photoprotection levels conferred by sunscreens. Importantly, this yeast assay could be applied to compare the photoprotective effects of products with a wide range of SPFs, including sunscreen lotions, filter suspensions or solutions, natural product extracts, *etc.*

Key words: Sun protection factor, SPF, UV radiation, Mansur equation

^a Department of Biology – School of Sciences - Universidad Nacional Agraria La Molina

^b Skinclean Laboratory, (Calle B Mz. D Lote 51 – Independencia – Lima 28 – Perú)

^{c*} Correspondence author, Department of Chemistry – School of Sciences – Universidad Nacional Agraria La Molina, Av. La Molina S/N – La Molina – Lima 12 – Perú, Tel. +51-13-6147800 ext. 305, Email: anakitazono@lamolina.edu.pe

COMPARACIÓN DE LOS EFECTOS FOTOPROTECTORES DE LOCIONES BLOQUEADORAS USANDO MEDICIONES ESPECTROFOTOMÉTRICAS O LA SOBREVIVENCIA DE CÉLULAS DE LEVADURAS EXPUESTAS A RADIACIÓN UV

RESUMEN

Este trabajo reporta la optimización de ensayos simples para comparar los efectos fotoprotectores de bloqueadores solares. Uno de estos métodos es el de Mansur y colaboradores, que se basa en mediciones espectrofotométricas de los filtros orgánicos extraídos con etanol. Las absorbancias de los extractos son medidas en el rango de 290 a 320 nm con intervalos de 5 nm. En este método el factor de protección solar (FPS) es calculado con una ecuación que relaciona los valores de absorbancia con los respectivos efectos eritémicos a la longitud de onda utilizada en cada medición. En este trabajo se analizaron tres bloqueadores con el método Mansur, obteniéndose valores de FPS mucho menores a los declarados. Este resultado motivó un análisis más minucioso que determinó que el método Mansur no es adecuado para bloqueadores con FPS mayor a 15. El análisis incluyó revisiones de los datos de FPS reportados por diversos autores usando el mismo método. Este trabajo también incluye la optimización de un ensayo simple que usa diluciones seriadas de cultivos de levadura para comparar, muy eficientemente, los efectos fotoprotectores de los bloqueadores solares. Este ensayo con levaduras permite comparar los efectos fotoprotectores en un amplio rango de FPS y puede incluir lociones comerciales, soluciones de extractos naturales, y activos en suspensión o solución.

Palabras clave: Factor de protección solar, FPS, radiación UV, ecuación Mansur.

INTRODUCTION

The demand for topical sunscreens increases each year as the recommendations to protect our skin from sun exposure become more widespread. These recommendations are based on the demonstrated correlation between extended exposure to the solar ultraviolet (UV) radiation and the occurrence of skin damage, premature aging, and skin cancer¹. This problem is particularly critical in countries located close to the equator like Peru, and this was one of the main motivations for this work.

The UV radiation that reaches the earth surface is composed of 95% UVA (320 - 400 nm) and 4% UVB (280 - 320 nm) radiations. UVB is the predominant cause of erythema or sunburn and DNA damage, due to the formation of pyrimidine dimers. On the other hand, UVA is more related to tanning and photoaging but can also cause DNA damage indirectly through the formation of reactive oxygen species. UVC radiation (200 - 280 nm) is not normally present on the earth surface, except at regions of very high altitude².

Because of their increasingly important functions, it is critical that the general public understands the degree of protection against UVA and UVB that sunscreens are able to provide. Currently, nearly sixty active compounds are allowed in the making of sunscreen products. These are divided into two main categories, depending on their physicochemical properties and mechanisms of action: The organic filters act by absorbing the UV radiation; and the other group mainly formed by inorganic compounds, act by reflecting or dispersing it^{1,3,4}.

Regarding the parameters used to measure and define sunscreen efficiency, the term “sun protection factor” (SPF) is the most widely known and applied. The SPF of a sunscreen is measured in a laboratory. It is defined as the amount of UV radiation (exposure time) needed to produce a sunburn (erythema) on skin protected with a sunscreen, relative to that of unprotected skin¹⁻⁴.

The standard method for SPF determination is based on the *in vivo* measurement of the minimal erythemal dose (MED) on volunteers with and without sunscreen application. However, this method is not devoid of flaws since some reports have demonstrated that it is unreliable to determine an SPF on the basis of a single assay. For example, a study performed on sixty different sunscreen products found that the discrepancies in the found and claimed SPFs were significantly greater when testing products of higher SPFs⁵. Furthermore, the standard *in vivo* assay is not only difficult and costly to implement but also and importantly, requires irradiation of small areas of the skin of volunteers. This fact raises some ethical implications that need to be considered.

There are several *in vitro* methods that have proved efficient and are widely used, but require specialized equipment and materials. Most of these methods are based on the spectrophotometric analysis in the 290 - 400 nm range of solid artificial substrates on which the sunscreen is spread. The substrate most favored is made of polymethylmethacrylate (PMMA)⁶. This method cannot be applied without these substrates and a specialized spectrophotometer. For this reason, it has been important to count on more simpler methods to quantify the photoprotective capabilities of sunscreens for research, regulatory, or consumer information purposes. One such method was reported by Mansur *et. al.* in 1986, which involves a simple UV-spectrophotometric assay of alcohol extracts of commercial sunscreens⁷, and has been used in several studies⁸⁻¹³.

The yeast *Saccharomyces cerevisiae* has long been used to study the responses to DNA damage caused by UV irradiation. Yeast cells can be easily cultured and therefore, offer multiple advantages as a testing system for the photoprotection capabilities of sunscreens. For example, yeast has been used to demonstrate the significant higher protective effects of the widely used sunscreen benzophenone, over its deleterious effects due to production of reactive oxygen species elicited by UV irradiation¹⁴.

The aim of this work was to compare the photoprotective effects of commercial sunscreens using two methods: The spectrophotometric assay proposed by Mansur *et al.*, and one based on the survival rates of yeast cells upon exposure to UV radiation. The latter, while not

a quantitative assay, could be used to simply and accurately compare the photoprotective effects of commercial sunscreens in their terminated form, filter solutions or lotions, and natural product extracts.

EXPERIMENTAL PART

Sunscreens and control lotions and gels. Four lotions were purchased in different stores in the city of Lima. One is a moisturizing lotion (used as a control, “LC”), and the other three were sunscreens with claimed SPF values of 50 or 60 (“L1”, “L2”, “L3”). The declared lotion compositions are listed in Table 1.

Table 1. Composition of the commercial lotions tested

Name	Photoactive compounds	Bases and excipients
LC	None	lanolin, cetyl alcohol, ceteareth-6 and stearyl alcohol, ceteareth-25, beeswax acid, paraffinum liquidum, methylparaben, propylparaben, tocopheryl acetate, polyether-1, sodium perborate, boric acid, glycerin, fragrance, aqua
L1	Octyl methoxycinnamate Benzophenone-3 Octyl salicylate Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate	glycerin, dimethicone, glyceryl stearate PEG 100 stearate, cetearyl alcohol, acrylates copolymer, phenoxethanol, triethanolamine, fragrance, DMDM hydantoin, acrylates/c 10-30 alkyl acrylate crosspolymer, lecithin, EDTA, methylparaben, propylparaben, phospholipids, hydrogenated lecithin, tocopheryl acetate, retinyl palmitate, carboomer, disodium EDTA, magnesium ascorbyl phosphate, imidazolidinyl urea, carrageenan, ethylparaben, butylparaben, isobutylparaben, aqua
L2	Octocrylene Homosalate Butyl methoxydibenzoylmethane Ethylhexyl salicylate (octyl salicylate) Benzophenone-3 (oxybenzone) Titanium dioxide Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate Phenylbenzimidazole sulfonic acid	cycllopentasiloxane, dicaprylyl carbonate, glycerin, propylheptyl caprylate, silica, dimethicone, triethanolamine, caprylyl methicone, nylon-12, potassium cetyl phosphate, triaccontanyl PVP, trimethylsiloxysilicate, phenoxethanol, stearyl dimethicone, xanthan gum, acrylates/c10-30 alkyl acrylate crosspolymer, biosaccharide gum-2, biosaccharide gum-3, disodium EDTA, methylisothiazolinone, BHT, tocopheryl acetate, camellia sinensis leaf extract, theobroma cacao seed extract, aqua
L3	Octocrylene Butyl methoxydibenzoylmethane Butylene glycol dicaprylate/dicaprate Titanium dioxide Ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine	glycerin, alcohol denat., c12-15 alkyl benzoate, bis-, dicaprylyl carbonate, glyceryl stearate citrate, hydrogenated coco-glycerides, myristyl myristate, tocopheryl acetate, stearyl alcohol, vp hexadecene copolymer, ethylhexylglycerin, xanthan gum, trimethoxycaprylylsilane, trisodium EDTA, sodium citrate, citric acid, sodium acrylates/c10-30 alkyl acrylate crosspolymer, aqua

Additionally, two gels were manufactured for some of the yeast assays (see below), one was a control (“GC”) and the other had an SPF of 30 (“G30”). “GC” included the base Gransil EP-9® and excipients, while “G30” also included octocrylene, homosalate, benzophenone-3, and avobenzone.

Spectrophotometric assays. The method described by Joao De Souza Mansur *et. al.* was used to determine the SPF values⁷, with a few modifications as described. Whenever possible, all suspensions and solutions were kept protected from light until their immediate use. For each lotion sample, 1,0 g was weighed, transferred to a 100 mL volumetric flask, and mixed with 80 mL ethanol on a rotatory shaker for 45 min. Enough ethanol was added to complete the volume and the suspension was well mixed. An aliquot of each suspension was centrifuged at 13700xg for 5 minutes. 150 µL of the clear supernatant were diluted to 25 mL with ethanol, thus obtaining a lotion solution with a final concentration of 0,06 mg/mL. This concentration is lower than that called in the original protocol of 0,2 mg/mL but was preferred to allow absorbance readings below 0,800. Thus, to apply the denoted “Mansur

equation” for the estimation of the SPFs, a dilution factor of 3,333 was applied on all the absorbance values. A Biomate 3 spectrophotometer (ThermoFisher) was used to measure absorbances in the 290 – 320 nm range (with 5 nm intervals), using ethanol as blank. All the extractions and absorbance measurements were repeated independently at least three times, and the averages were used to apply Mansur equation⁷:

$$\text{SPF} = \text{CF} \times \sum_{290 \text{ nm}}^{320 \text{ nm}} \text{EE}(\lambda) \times \text{I}(\lambda) \times \text{ABS}(\lambda)$$

Where: CF is the correction factor (=10); “EE”, the erythral effect of radiation at wavelength λ ; “I”, the solar intensity spectrum; and “ABS”, the absorbance. “EE”, “I”, and “ABS” are values obtained or applied for every wavelength (λ). The values for each of the [EE(λ)xI(λ)] products have been reported by the authors as normalized on the basis of the work by Sayre et. al., and are: 0,0150 for 290nm; 0,0817 for 295nm; 0,2874 for 300nm; 0,3278 for 305nm; 0,1864 for 310nm; 0,0839 for 315nm; and 0,0180 for 320 nm^{7,15}.

Spectrophotometric assays using homosalate. Homosalate (Salisol®) was obtained from “Salicylates and Chemicals” (Mumbai, India). To apply the protocol described by Mansur *et al.* and in order to obtain absorbance values within the acceptable range of 0,200 to 0,800, the following modifications were adopted: An 8 % w/w homosalate solution was diluted weighing 1,5 g and adding ethanol up to 50 mL. This solution was diluted again, measuring 200 μ L and adding ethanol up to 25 mL. With this final dilution, the prepared solution contains the original 8 % w/w standard solution with a concentration of 0,24 mg/mL instead of 0,2 mg/mL, which is the concentration obtained when following Mansur’s protocol for the sunscreen lotions. Therefore, the dilution factor 0,8333 was applied to all absorbance values obtained before applying Mansur equation.

Yeast strains and culture conditions. The yeast *Saccharomyces cerevisiae* strain used for all assays was of the W303 background (MATA leu2-3,112 trp1-1 can1-100 ura3-1 ade2-1 his3-11,15)¹⁶. Yeast cells were grown on YPD (1 % yeast extract, 2 % peptone, 2 % glucose) broth, or solid media containing 2 % agar. All cultures were grown at room temperature, with rotating agitation for liquid cultures, for 2 to 3 days.

In vivo photoprotection assays using *Saccharomyces cerevisiae*. Yeast cells were grown on rich YPD broth with shaking and at room temperature for three days. Aliquots of these cultures were spread onto YPD plates using sterile glass beads to obtain a uniform distribution of cells. For the serial dilution assays, the three day cultures were briefly sonicated to disrupt cell aggregates and serially diluted with sterile water to obtain 100, 500 and 2500 fold dilutions. 4 μ L of each dilution were spotted in two rows on sections of YPD plates, and the spots were allowed to dry. Each plate was covered with a cellophane sheet similarly divided in sections, each of which was covered with suspensions of the lotions or gels to be tested. These suspensions were made weighing 2 g of the gel or lotion, and adding enough water or alcohol as suitable to produce a suspension that is easily spreadable on the cellophane sheet. The area of each cellophane section was estimated so that to have spread on it a volume of

the suspension to produce a layer of 2 mg/cm² of the lotion or gel, to mimic the conditions recommended for sunscreen application on the skin prior to sunlight exposition¹.

For UVB irradiation, the source was a VWR transilluminator (VWR International, U.S.A.) with four 8W light tubes that emit 302 nm radiation. The transilluminator was positioned 10 cm above the plate covered with the cellophane sheet so that the UVB radiation impacted directly on it for 2 minutes, at maximum intensity.

For UVC irradiation (254 nm), the cellophane-covered plates were positioned at the base of a wood chamber that included two GE G15T8 germicide lamps (UV radiance RG-3, 4,9W) located 43 cm above. These exposures were for one minute.

RESULTS AND DISCUSSION

Spectrophotometric assays. The method described by Mansur *et al.*, was applied to determine the SPF values of three commercial lotions (denoted L1, L2, and L3) and the results are shown in Table 2. Surprisingly, all found SPF values were markedly lower than those expected (declared), ranging from 16,8 to 39,4 % (Table 3).

Table 2. Spectrophotometric determination of the SPF_s of three commercial lotions using the method developed by Mansur *et al.*⁷

Wavelength (nm)	Absorbances* (ABS)			[EE(λ) x I(λ)]	Products [EE(λ) x I(λ)] x ABS		
	L1	L2	L3		L1	L2	L3
290	0,490	0,413	0,247	0,015	0,007355	0,006194	0,003710
295	0,574	0,485	0,283	0,0817	0,046923	0,039645	0,023101
300	0,586	0,484	0,295	0,2874	0,168345	0,139173	0,084807
305	0,601	0,519	0,303	0,3278	0,196926	0,170019	0,099460
310	0,613	0,501	0,312	0,1864	0,114186	0,093371	0,058110
315	0,583	0,471	0,320	0,0839	0,048879	0,039545	0,026876
320	0,487	0,434	0,331	0,018	0,008763	0,007811	0,005964
	Σ([EE(λ) x I(λ)] x ABS)				0,591	0,496	0,302
				SPF**	19,712	16,525	10,067

* Averages of three independent assays

** Obtained after applying the correction factor of 10 and the dilution factor of 3,333

The deviation standard values for L1, L2 and L3 were 0,1; 0,2; and 0,2; respectively

Table 3: Comparison of the found and declared SPF values for the tested lotions

Sample	Found SPF	Declared SPF	%
L1	19,7	50	39,4
L2	16,5	60	27,5
L3	10,1	60	16,8

$$\% = (\text{Found SPF} / \text{Declared SPF}) * 100$$

These findings prompted a more thorough analysis on reported studies that had used the Mansur method to quantify the SPFs of commercial sunscreens^{8,9, 11-13}, and the results are listed in Table 4. All reported results were compared with the respective declared SPF value for each sunscreen lotion tested. While there was a good agreement for the lotions with SPF 15, the found values started differing considerably as the declared SPF values increase. For lotions of SPFs higher than 50, the found values corresponded to only the 13,7 - 59,2 % of those declared.

Table 4: Comparison of the found and declared SPF values from reported studies using the method developed by Mansur *et al.*⁷

Declared SPF	Found SPF (average)	Number of samples	St. Dev.	%*	References
15	14,9	19	0,7	99,3	8,11-13
20	15,6	13	2,1	78,0	8,9, 11-13
30	22,1	7	5,1	73,7	8,9,12,13
50	29,6	10**	11	59,2	9,11,12
60	23,1	1	N.A.	38,5	11
90	12,3	2	2,3	13,7	12

$$*\% = (\text{Found SPF} / \text{Declared SPF}) \times 100$$

**Several of these indicated SPF values of "50+"

Altogether, these results suggest that the Mansur method is not suitable to assay sunscreens of SPF values above 15. However, this easy and simple method has been used by several investigators to determine the SPF values of extracts from natural products or lotions prepared with these, and commercial sunscreens⁸⁻¹³.

The list of standard sunscreen lotions recommended by the Food and Drug Administration (FDA) and other international organizations includes 8% w/w homosalate, to provide an SPF value of 4,⁰¹⁷. For this reason, Mansur *et al.* used this standard lotion to develop their equation. Therefore, given the discrepancies in the results and to confirm the adequacy of the followed procedure, the spectrophotometric assays were also run using an 8 % w/w homosalate standard solution, and the results are shown in Figure 1. While the absorption spectrum shows an optimum wavelength of 305 nm, similar to that reported by the manufacturer of 307 nm, the SPF value obtained was also significantly lower than the expected value of 4,0. Nevertheless, the UV specific extinction value obtained was close to that reported in the certificate of analysis received, proving that the absorbance readings and calculations applied were correct.

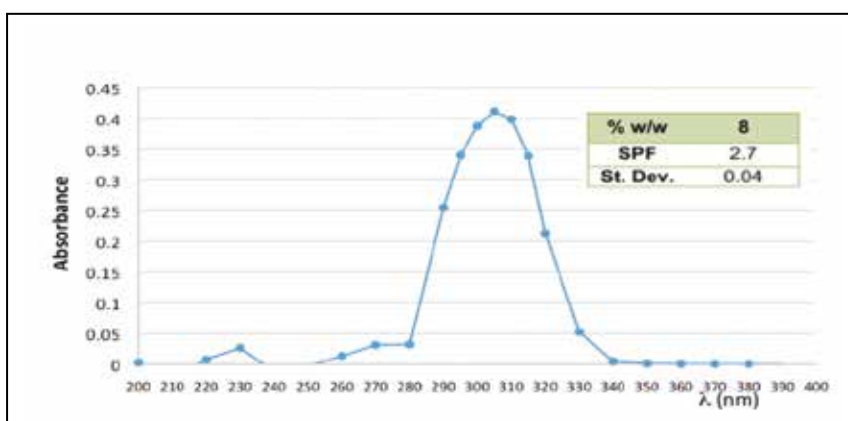


Figure 1. Absorption spectrum of an ethanolic solution of homosalate and the results of the spectrophotometric determination of the SPF of an 8 % w/w solution. The spectrum shows a peak at 305 nm, characteristic of homosalate. A lotion containing 8 % w/w homosalate is used as the standard sunscreen for the recommended in vivo assays that follow the changes in the minimal erythemal dose, with an expected SPF of 4. The SPF value obtained using the Mansur method and equation was 2,7 (67.5 %).

One explanation for the discrepancy could be the fact that Mansur *et al.* used a homosalate standard lotion for the development of their equation. It is then possible that one or more of the excipients had been extracted into the ethanolic solution and contributed to the obtained absorbances in the 290 – 320 nm range, thus causing the overestimation of the SPF values. The concentrations of those excipients remain basically unchanged during the manufacturing of higher SPF sunscreens and therefore, do not proportionately produce that overestimation. Accordingly, when applying the Mansur method and equation to determine the SPFs of high SPF sunscreens, the obtained values are lower.

On the other hand, the labels for the tested lotions L1, L2 and L3 indicated they all included UVA and UVB sunscreen actives, as most modern sunscreens do¹. In order to determine

if these photoactive compounds were efficiently recovered with the ethanolic extractions, the lotions were processed as described, and the absorbances of the final solutions were measured in the 200 – 390 nm range. The absorption spectra shown in Figure 2 indicated that both UVA and UVB filters were recovered for L2 and L3 but not for L1. The ethanolic extract of the latter exhibited the highest absorbances in the UVB range but the lowest values for wavelengths above 330 nm (UVA range). Accordingly, the found SPF for L1 was closer to its declared value than for the other two lotions (Table 3), since only the absorbances for the UVB range are taking into account for its estimation using the Mansur method. Therefore, this simple spectrophotometric method is not only inaccurate and inefficient but also, does not comprise the photoprotective effects of UVA actives such as butyl methoxydibenzoylmethane (avobenzene, Parsol 1789), which is included in both L2 and L3^{1,3,4}. Importantly, filters such as titanium dioxide and zinc oxide are not soluble in ethanol and thus, their photoprotective effects are also not taking into account when using the Mansur method.

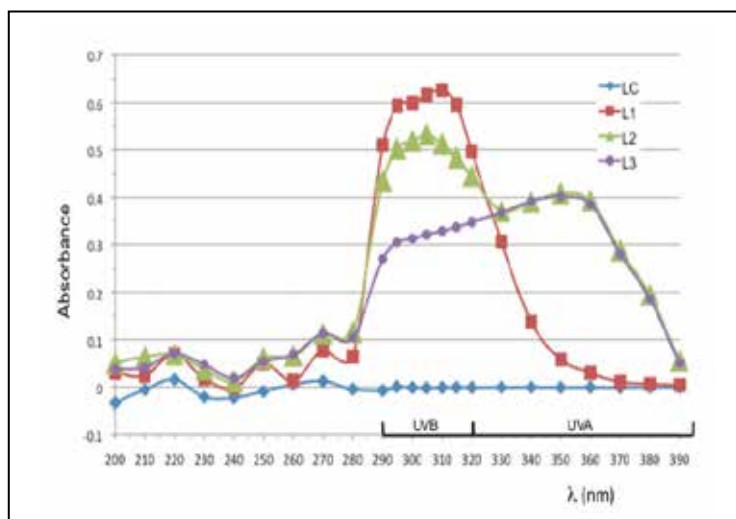


Figure 2. Absorption spectra of ethanol extracts obtained from three commercial sunscreen lotions (“L1”, “L2”, and “L3”) and a body lotion control (“LC”). The assays were performed using three independent rounds of extraction and spectrophotometric determinations in the 200 – 390 nm range, using ethanol as blank.

***In vivo* photoprotection assays using yeast cells.** The results shown above prompted the search for a more reliable, simple and efficient means to demonstrate and compare the photoprotective capabilities of sunscreen lotions. Thus, a commonly used method based on the survival rates of cultures of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* was optimized and adapted for this purpose. First, plates containing solid rich medium covered with homogeneous layers of yeast cells were used. Before irradiation, each plate was covered with a cellophane sheet divided in small sections on which, aliquots of lotion or gel suspensions had been homogeneously spread. Besides these and to serve as controls, parts of the cellophane sheet

were covered with aluminum foil (to provide a shield against the UV radiation), and others were left uncovered (unprotected control). The amount of suspension spread was estimated so that to achieve layers of 2 mg of the gel or lotion per square cm (2 mg/cm^2), the thickness of sunscreens that is recommended for adequate protection of the skin¹ (Figure 3). The cellophane-covered plates were irradiated with UVC radiation for 1 minute, as described.

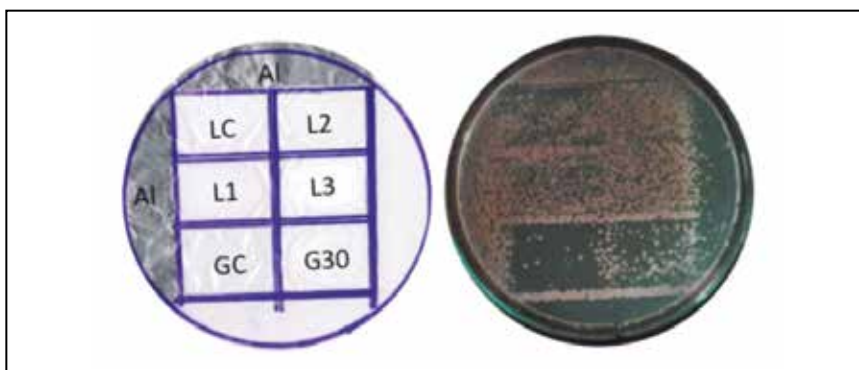


Figure 3. Growth comparison of yeast exposed to UVC radiation directly or through a layer of lotion or gel. A yeast suspension was homogeneously spread on a plate containing rich medium. Before irradiation, a cellophane sheet with sections covered with lotions (LC, L1, L2, L3), gels (GC, G30) or aluminum foil (Al). “LC” and “GC” are the lotion and gel controls, respectively. “L1”, “L2”, and “L3” are commercial sunscreen lotions and “G30” is a manufactured gel with a predicted SPF value below 30. All lotions and gels were suspended in water or ethanol to facilitate their spreading on the cellophane sheet. Aliquots of each suspension were taken so as to produce sections with 2 mg of the lotion or gel per square centimeter.

This procedure allowed only a qualitative comparison of the photoprotective effects, but it was possible to clearly distinguish between the sections that were left unprotected (no growth) and those that were less or more protected (lotion and gel sunscreens and controls, or aluminum foil). The SPF-30 gel (G30) allowed formation of a higher number of colonies than its respective control (GC). It was also possible to clearly distinguish higher photoprotective effects for the L1, L2 and L3 sunscreens than for the lotion control (LC).

In order to improve the resolution of the assay, the method was modified using small aliquots of 5 fold serial dilutions of yeast cultures instead of the yeast layers (Figures 4 and 5). In these assays, the rich media on the plates were spotted with the same three serial dilutions in two identical rows, on each of four sections. On the other hand, a cellophane sheet divided in four sections was also prepared to cover each plate. In each of the cellophane sheets, one of the sections was covered with a piece of aluminum foil, a lotion or gel suspension to produce a thickness of 2 mg/cm^2 , or left unprotected. The cellophane-sheet covered plates were then irradiated as indicated.

With this simple assay it was possible to efficiently compare the photoprotective effects of the lotions or gels on the yeast cells spotted on the plate, within the range limited by the totally exposed and unprotected sections (“—”), and the fully protected ones covered with aluminum foil (“Al”).

Figure 4 shows a representative set of results for an assay of photoprotection against UVB radiation. Here, the lotion control provided no protection, with the spotted cells showing lack of growth, similar to the unprotected section. Meanwhile, the photoprotective effects of the L1, L2 and L3 sunscreens are evident since yeast cells are able to show robust growth in the respective sections, while no colony was formed in the LC or unprotected section. Comparing the UVB photoprotective effects of the lotions, it is possible to conclude that $L1 > L3 > L2 > LC$. Under these assay conditions, yeast cells were not able to survive when UVB irradiated under the sections covered with the G30 or GC samples. It is important to note here that the SPF values obtained using the Mansur method (Table 2) are 19,7, 16,5 and 10,1 for the L1, L2 and L3 lotion, respectively. Similarly, the absorption spectra shown in Figure 2 suggest that the UVB photoprotection effects for L3 are considerably lower than L2. The yeast assay indicates the opposite, providing more evidence for the inadequacy of the spectrophotometric method.

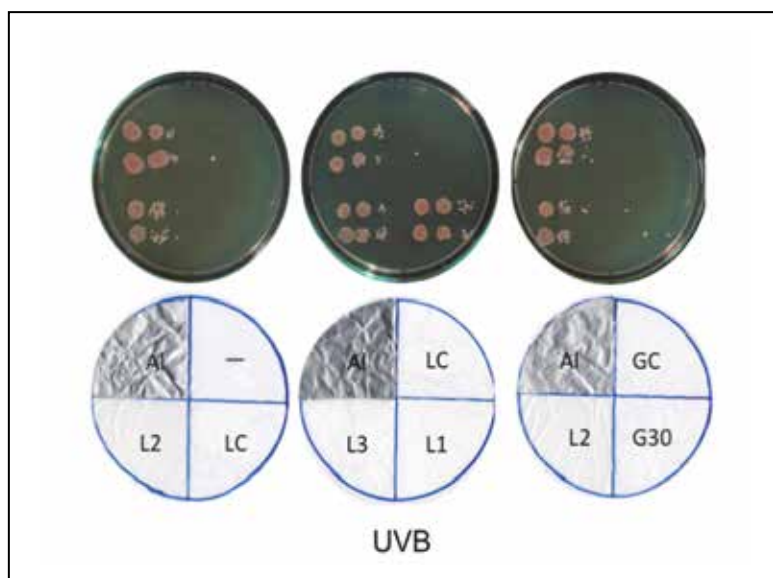


Figure 4. Photoprotection comparison assay using yeast cells and UVB radiation. Wild-type yeast cell cultures were serially diluted 5 fold and the corresponding aliquots were spotted on rich media, in two identical rows, in four sets. Each plate was covered with a cellophane sheet divided in four sections, each of which was covered with: aluminum foil (Al), lotion or gel control (LC or GC), the low SPF gel sample (G30) or one of the commercial lotions (L1, L2, L3). For one of the plates, a section was left uncovered (“—”) as a control. The corresponding cellophane sheets used in the assay are shown below each of the plates. The plates were exposed to UVB radiation for 2 minutes as described. Upon exposure, the plates were incubated at room temperature for 2 to 3 days.

Figure 5 shows results obtained following the same procedure except that the cellophane-covered plates were exposed to UVC. Here, lotions L1, L2 and L3 showed similar levels of strong protection. On the other hand, a small number of colonies were able to form in the areas covered with LC and G30 but no growth was evident in the GC and unprotected sections. This high protection level correlates better with the declared SPF values for the lotions. It is important to note that the protective effects of titanium dioxide and zinc oxide filters are more evident against UVC, and this fact is probably the reason behind the robust growth observed in the L1, L2 and L3 sections. The G30 gel lacks both of these filters.

Besides providing a very simple and efficient means to compare the photoprotective effects of sunscreens, the described yeast assay offers the opportunity to show in a very didactic manner, the benefits of sunscreen usage. More simpler versions of this assay have already been implemented in school exercises in the U.S.A. that allow the students to learn firsthand about the dangers of sun exposure without adequate photoprotection¹⁸. Therefore, this yeast assay could be efficiently used not only to compare sunscreens in an academic or regulatory setting, but also to educate the general public about the imperative need to protect oneself from the dangerous effects of UV radiation.

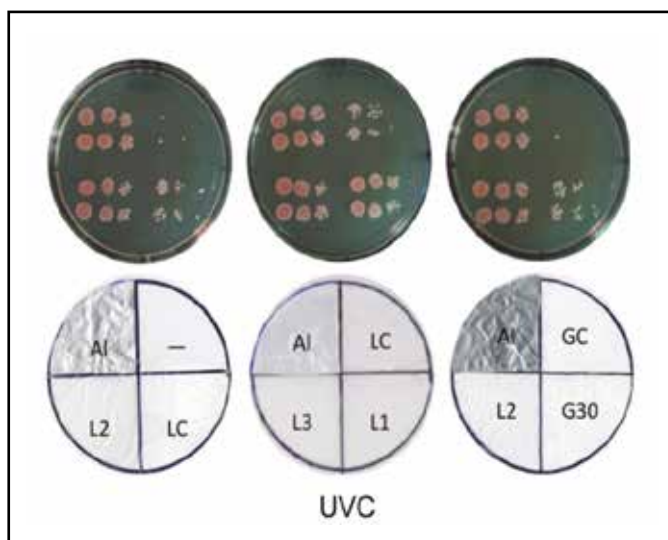


Figure 5. Photoprotection comparison assay using yeast cells and UVC radiation. Wild-type yeast cell cultures were serially diluted 5 fold and the corresponding aliquots were spotted on rich media, in two identical rows, in four sets. Each plate was covered with a cellophane sheet divided in four sections, each of which was covered with: aluminum foil (AI), lotion or gel control (LC or GC), the low SPF gel sample (G30) or one of the commercial lotions (L1, L2, L3). For one of the plates, a section was left uncovered (“—”). The corresponding cellophane sheets used in the assay are shown below each of the plates. The plates were exposed to UVC for 1 minute as described. Upon exposure, the plates were incubated at room temperature for 2 to 3 days.

CONCLUSION

This study demonstrates that the denoted "Mansur method" and "Mansur equation" should not be used to assay sunscreens of SPF's above 15. Further, a yeast assay is described that could be used to simply and reliably compare the photoprotection levels conferred by sunscreens.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank "InnovatePerú" (Contract N°157-PNIPC-PIAP-2015) and the Research Support Office at the "Universidad Nacional Agraria La Molina" (Grant for scientific and technological research - UNALM 2013) for providing the funding that made this work possible. We also thank Mr. José Kitazono and Ms. Bélgica Pérez for their help throughout these studies.

REFERENCES

1. Jou PC, Feldman RJ, Tomecki KJ. UV protection and sunscreens: What to tell patients. *Cleve Clin J Med.* 2012;79:427-436.
2. Diffey BL. What is light? *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2002;18:68-74.
3. Jansen R, Wang SQ, Burnett M, Osterwalder U, Lim HW. Photoprotection: part I. Photoprotection by naturally occurring, physical, and systemic agents. *J Am Acad Dermatol.* 2013;69:853 e1-12.
4. Jansen R, Osterwalder U, Wang SQ, Burnett M, Lim HW. Photoprotection: part II. Sunscreen: development, efficacy, and controversies. *J Am Acad Dermatol.* 2013;69:867 e1-14.
5. Miksa S, Lutz D, Guy C. Relevance of Sun Protection Factor claim: Review of a study with 60 different commercial sunscreen products from European market. *Household Pers. Care Today.* 2016;11:64-68.
6. Cole C. Sunscreens--what is the ideal testing model? *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2014;30:81-87.
7. Mansur JS, Breder MNR, Mansur MCA, Azulay RD. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *An Bras Dermatol.* 1986;61:121-124.
8. Dutra EA, Oliveira DAGdCe, Kedor-Hackmann ERM, Santoro MIRM. Determination of sun protection factor (SPF) of sunscreens by ultraviolet spectrophotometry. *Rev Bras Cienc Farm.* 2004;40:381-385.
9. Fonseca AP, Rafaela N. Determination of Sun Protection Factor by UV-Vis Spectrophotometry. *Health Care: Curr Rev.* 2013;1:108 e1-e4
10. Inocente-Camones MÁ, Tomas-Chota GE, Huamán-Malla J, Muñoz-Jáuregui AM, García-Morán RI, Quispe-Fuentes G, et al. Actividad antioxidante y fotoprotectora in vitro de una loción y gel elaborados con extracto estabilizado de camu camu (*Myrciaria dubia*, Kunth). *Rev Soc Quim Peru.* 2014;80:65-77.
11. Mbangi L, Mulenga M, Mpiana PT, Bokolo K, Mumbwa M, Mvingu K. Determination of Sun Protection Factor (SPF) of Some Body Creams and Lotions Marketed in Kinshasa

- by Ultraviolet Spectrophotometry. *Int J Adv Res Chem Sci.* 2014;1:7-13.
12. Omar KA, Abdulrahman RS. Determinations of Sun Protection Factor (SPF) of some sunscreens marketed in Kurdistan Region by UV-Visible spectrometry and study their Rheological properties. *Int J Pharm Chem.* 2015; 05:40-44.
 13. Sudhakar V, Balasubramanian V. Sun protection factor (SPF) determination of marketed sunscreen formulation by in-vitro method using UV-VIS spectrophotometer. *Arch Appl Sci Res.* 2013;5:119-122.
 14. Beckett A, McClure B, Zimmerman K. Benzophenone and Padimate-O Protect *Saccharomyces cerevisiae* From UV Radiation and Cause Little Harm From UV-Induced Reactive Chemical Species. *J Exp Microbiol Immunol.* 2004;5:37-43.
 15. Sayre RM, Agin PP, Levee GJ & Marlowe E. A comparison of in vivo and in vitro testing of suncreening formulas. *Photochem and Photobiol.* 1979; 29: 559-566.
 16. Thomas BJ, Rothstein R. Elevated recombination rates in transcriptionally active DNA. *Cell.* 1989;56:619-630.
 17. Food and Drug Administration (FDA). Sunscreen drug products for over-the-counter human use - Testing procedures. United States: FDA; 2016.
 18. Association for Biology Laboratory Education (ABLE). Tested Studies for Laboratory Teaching. En: D'Costa AR, Santoro I, editors. 31st Annual ABLE Conference. Proceedings of the 30th Workshop/Conference of the Association for Biology Laboratory Education (ABLE); June 9-13, 2009; University of Delaware Newark, DE: K.L. Clase; 2009. P. 371-382

EFFECTO DEL SISTEMA DE ESTERILIZACIÓN ORGÁNICA (OSS) EN LAS PROPIEDADES NUTRICIONALES Y FUNCIONALES DEL YACÓN (*Smallantus sonchifolius* Poepp. & Endl.)

Américo Guevara Pérez^a, Keidy Cancino Chávez^b, Gabriela Llontop^c

RESUMEN

La máxima conservación química y funcional del yacón, por el sistema de esterilización orgánica, se logró aplicando una carga de 4 kg/saquillo, 1 minuto de tiempo de proceso y 100 °C temperatura de inyección de vapor saturado. Bajo estas condiciones se obtuvo 2,4 % (b.s.) de proteínas y 52 % (b.s.) de fructooligosacáridos. Respecto a la carga microbiana, se redujo 60,59 % (10 UFC/g), 65,76 % (20 UFC/g) y 0 % (<10 UFC/g) para aerobios, mohos y levaduras, respectivamente; el comportamiento de patógenos fue muy similar al de la materia prima: *E. coli* <3 UFC/g, ausencia de salmonella (25 g) y <3 UFC/g para coliformes totales, cuyas muestras se lograron ajustar a las exigencias de la norma sanitaria peruana y a las normas internacionales; lo que evidenció que al aplicar la tecnología OSS se logra conservar la calidad nutricional y funcional del yacón.

Palabras clave: *Smallantus sonchifolius*, yacón, sistema de esterilización orgánica (OSS).

ORGANIC STERILIZATION SYSTEM (OSS) EFFECT IN NUTRITIONAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF YACON (*Smallantus sonchifolius* Poepp. & Endl.)

ABSTRACT

The maximum chemical and functional conservation of the yacón by the organic sterilization system, was achieved by applying a load of 4 kg / pouch, 1 min. process time and temperature 100 °C saturated steam injection. Under these conditions, was obtained 2,4 % (db) protein and 52 % (db) of fructooligosaccharides. Regarding the microbial load, 60,59 % (10 CFU / g), 65,76 % (20 CFU / g) and 0 % (<10 CFU / g) for aerobes, molds, and yeasts, respectively decreased; pathogenic behavior was very similar to that of the raw material: *E. coli* <3 CFU / g, absence of Salmonella (25 g) and <3 CFU / g for total coliforms, whose samples were able to adjust to the demands of the health standard Peruvian and international standards; which

^a Universidad Nacional Agraria La Molina. Facultad de Industrias Alimentarias, Av. La Molina s/n, Ap. 12-056 Lima 12, Perú. aguevara@lamolina.edu.pe

^b Universidad San Ignacio de Loyola. Facultad de ingeniería. kdcancino@yahoo.com

^c Peruvian Nature S&S SAC. gllontop@peruviannature.com

showed that applying the OSS technology is accomplished to preserve the nutritional and functional quality of yacon.

Key words: *Smallanthus sonchifolius*, Yacón, organic sterilization system (OSS).

INTRODUCCIÓN

Los cultivos andinos, como los granos, tubérculos, raíces, frutas, plantas aromáticas y medicinales, tienen gran potencial de transformación en productos procesados. El yacón (*Smallanthus sonchifolius* [Poepp. &Endl.] H. Robinson) es una raíz nativa que no requiere de fertilizantes químicos ni pesticidas, con potencial para personas que sufren de diabetes, dado a que tanto en las raíces como en las hojas han encontrado una acción hipoglucemiante, antioxidante, con propiedades prebióticas y antienvjecimiento (raíces)^{1,2}.

El mercado para el yacón y sus derivados es muy prometedor, si a ello sumamos otros atributos como la certificación orgánica, el comercio justo y el desarrollo de alternativas modernas, amigables y confiables de desinfección, pasteurización o esterilización, aumentaría significativamente.

Las tecnologías de desinfección existentes (irradiación, óxido de etileno, ozono y UV) están prohibidas en algunos países, entre ellos Japón, que aunado a las nuevas exigencias de inocuidad de alimentos donde se demanda ciertos niveles microbiológicos y a la vez restringen la aplicación de algunos métodos de esterilización convencional³; hacen que el Sistema de Esterilización Orgánica “Organic Sterilization System (OSS)”, basada en someter al producto a cambios de presión y temperatura dentro de una cámara de vacío por un tiempo determinado, representa una solución natural, eficiente, reconocida y permitida internacionalmente, para lograr la conservación de las propiedades químicas y funcionales, así como la descontaminación microbiana del producto³.

Por lo expuesto, se llevó a cabo la investigación con el objetivo de determinar los parámetros del proceso OSS de descontaminación del yacón para preservar sus propiedades nutricionales y sensoriales.

PARTE EXPERIMENTAL

Lugar de ejecución

La investigación se desarrolló en instalaciones de la empresa Peruvian Nature S&S S.A.C, y en los laboratorios del Instituto de Certificación, Inspección y Ensayo La Molina Calidad Total Laboratorios, pertenecientes a la Universidad Nacional Agraria La Molina.

Análisis realizados

Análisis físico-químico. Químico proximal⁴: Humedad, proteínas, grasa, ceniza, fibra, carbohidratos (por diferencia) y energía (calorías) y fructooligosacáridos⁵.

Análisis microbiológico⁶. Aerobios mesófilos viables (UFC/g), levaduras (UFC/g), mohos (UFC/g). *Salmonella* sp. (25g), coliformes totales (NMP/g) y *E. coli* (NMP/g),

Metodología experimental

Acondicionamiento del yacón (Tratamiento PRE-OSS): Las raíces de yacón orgánico adquiridas en el Mercado de Productores de Santa Anita-Lima, fueron seleccionadas y sometidas a análisis de *E. coli*, salmonella y coliformes; luego se lavó, desinfectó, cortó en trozos de 10x10x10 mm y secó a 60 °C. En esta etapa se evaluó: aerobios mesófilos viables, mohos y levaduras, tal como se puede apreciar en la tabla 1.

Posteriormente, los trozos deshidratados fueron acondicionados en saquillos de yute de 3 y 4 kg y puestos en bandejas para ser transportados en coches de carga a la cámara de esterilización. Los trozos deshidratados fueron analizados en: proximal y contenido de fructooligosacáridos.

Tabla 1. Diseño factorial del proceso de descontaminación microbiana por el sistema de esterilización orgánica (Tratamiento OSS).

Puntos experimentales	Carga (kg/saquillo)	Tiempo de proceso (min)	Temperatura de inyección vapor (°C)
T1	3	1	100
T2	4	1	100
T3	3	2	100
T4	4	2	100
T5	3	1	105
T6	4	1	105
T7	3	2	105
T8	4	2	105

Descontaminación microbiana por el sistema de esterilización orgánica (Tratamiento OSS): El producto acondicionado, previamente en saquillos de 3 y 4 kg para 160 kg/Bach, ingresó a la cámara de proceso para su desinfección. El tratamiento OSS se llevó a cabo en 4 etapas: a) Preparación: Se evacuó el aire de la cámara de vacío preparándola para la inyección de vapor saturado. b) Tratamiento OSS: Se inyectó vapor saturado a temperaturas programadas de 100 y 105 °C por tiempos de 1 y 2 minutos (tabla 1), con la finalidad de evitar la penetración excesiva del vapor y humedad al interior del producto. c) Evacuado de la cámara de vacío, se realizó extrayendo eficientemente el vapor inyectado. d) Secado a 60 °C. Ejecutado el tratamiento OSS, las muestras fueron secadas en condiciones asépticas, hasta una humedad de 4-5 % cuya finalidad fue eliminar el agua remanente y de este modo lograr su estabilidad. En el producto estabilizado se realizó los siguientes análisis: Aerobios mesófilos viables, mohos y levaduras, *E. coli*, salmonella y coliformes totales.

La molienda se llevó a cabo en un molino de martillo (aprox. 80 mesh). La harina fue directamente recibida en el área de envasado, donde a través de mangas ingresó a la envasadora automática.

En la figura 1 se muestra el flujo de operaciones del proceso de descontaminación microbiana del yacón por el sistema de esterilización orgánica (tratamiento OSS).



Figura 1. Flujo de operaciones del proceso de descontaminación microbiana del yacón por el sistema de esterilización orgánica (Tratamiento OSS).

Caracterización del producto final

Para evaluar la calidad de la harina de yacón (mejor tratamiento: máxima descontaminación) se realizó los siguientes análisis: proximal, fructooligosacáridos y carga microbiana: aerobios mesófilos viables, mohos y levaduras, *E. coli*, salmonella y coliformes totales.

Diseño experimental y análisis estadístico

Se aplicó un diseño factorial 2^3 (8 puntos factoriales) para evaluar el efecto de la carga/saquito (3 y 4 kg), tiempo de proceso (1 y 2 minutos) y temperatura de inyección de vapor saturado (100 y 105 °C) sobre la carga microbiana (aerobios mesófilos viables, levaduras y mohos), con el propósito de determinar los parámetros del proceso de descontaminación microbiana del yacón por el sistema de esterilización orgánica (Tratamiento OSS), para preservar sus propiedades nutricionales y funcionales. El programa estadístico utilizado fue el Statgraphics® Centurion XVI.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Acondicionamiento del yacón (Tratamiento PRE-OSS)

En la tabla 2 se presentan los resultados de la carga microbiana del yacón al Tratamiento PRE-OSS, reportando en la materia prima <3 (NMP/g) para *E. coli*, coliformes totales y ausencia de salmonella.

Tabla 2. Comportamiento de la carga microbiana del yacón al tratamiento PRE-OSS.

Tratamiento	Momento del análisis	Carga microbiana			Patógenos		
		Aerobios (UFC/g)	Mohos (UFC/g)	Levaduras (UFC/g)	<i>E. coli</i> (NMP/g)	Salmonella (UFC/g)	Coliformes (NMP/g)
Materia prima	Yacón raíz				< 3	ausencia	< 3
T1	PRE OSS	2600	50	<10			
T2	PRE OSS	2000	110	<10			
T3	PRE OSS	12000	<10	<10			
T4	PRE OSS	5100	50	<10			
T5	PRE OSS	3800	70	10			
T6	PRE OSS	5100	10	<10			
T7	PRE OSS	10000	20	<10			
T8	PRE OSS	3800	<10	<10			

El tratamiento PRE-OSS logró en los trozos deshidratados (materia prima procesada) resultados variados en cuando al recuento de aerobios mesófilos viables, cuyos valores más altos estuvieron en los tratamientos T3 y T7, con 12×10^3 y 1×10^4 UFC/g, respectivamente. También se logró resultados variados para el recuento de mohos, cuyos valores más elevados estuvieron en los tratamientos T2 y T5, con 110 y 70 UFC/g, respectivamente. En relación al recuento de levaduras se observó que para casi todos los tratamientos el contenido fue <10UFC/g, a excepción del T5 que se reportó 10UFC/g.

En la tabla 3 se presentan los resultados de la composición físico-químico del yacón en trozos deshidratados.

Se puede observar un alto contenido de carbohidratos, alcanzando un 93,2 % en base seca. Al respecto, algunos autores^{7,15} reportaron que el contenido de carbohidratos totales del yacón varía entre 89,53 a 94,14 % en base seca, confirmando así que estos nutrientes representan alrededor del 90 % del peso seco del yacón⁸.

Tabla 3. Análisis químico proximal, contenido de fructooligosacáridos y valor calórico del yacón en trozos antes del tratamiento OSS.

COMPONENTES	Trozos de yacón deshidratado	
	b.h.	b.s.
Humedad (g/100g)	4,1	-
Proteína (g/100g)	2,2	2,3
Grasa (g/100g)	0,3	0,3
Fibra (g/100g)	0,0	0,0
Cenizas (g/100g)	4	4,2
Carbohidratos (g/100g)	89,4	93,2
Fructooligosacáridos (g/100g)	48,1	50,2
Valor calórico (Kcal)	369,1	

Los trozos deshidratados del yacón presentaron un 50,2 % de fructooligosacáridos. Investigaciones sobre el contenido de fructooligosacáridos (FOS) del yacón reportaron valores promedio en base seca que varían entre 59,61 a 78,3 %^{9,11,15}. En tal sentido, algunos investigadores mencionan que entre el 40 y 70 % de los carbohidratos del yacón, son fructooligosacáridos (FOS)¹², el resto lo conforman sacarosa, fructosa y glucosa¹¹. Sin embargo, la composición relativa de los diferentes azúcares varía de acuerdo al cultivo, la época de siembra y cosecha, el tiempo y temperatura post cosecha.

Descontaminación microbiana por el sistema de esterilización orgánica (Tratamiento OSS).

En la tabla 4 se muestra el comportamiento de la carga microbiana del yacón después del Tratamiento OSS, los factores evaluados fueron: Carga (kg/saquillo), tiempo (min) y temperatura (°C).

Tabla 4. Comportamiento de la carga microbiana del yacón después del tratamiento OSS.

Tratamientos	Momento del análisis	Carga (kg/saquillo)	Tiempo de proceso (min)	Temperatura de inyección vapor (°C)	Carga microbiana					
					Aerobios (UFC/g)	Mohos (UFC/g)	Levaduras (UFC/g)	E. coli (NMP/g)	Salmonella (UFC/g)	Coliformes (NMP/g)
1	POST OSS	3	1	100	10	<10	<10	<3	Ausencia	<3
2	POST OSS	4	1	100	20	<10	<10	<3	Ausencia	<3
3	POST OSS	3	2	100	70	<10	<10	<3	Ausencia	<3
4	POST OSS	4	2	100	10	<10	<10	<3	Ausencia	<3
5	POST OSS	3	1	105	<10	<10	<10	<3	Ausencia	<3
6	POST OSS	4	1	105	20	<10	<10	<3	Ausencia	<3
7	POST OSS	3	2	105	10	<10	<10	<3	Ausencia	<3
8	POST OSS	4	2	105	10	10	<10	<3	Ausencia	<3

Las diferentes combinaciones de factores (kg/saquillo, tiempo de proceso y temperatura de inyección de vapor) reportaron recuentos variados de aerobios entre <10 a 70 UFC/g, mohos <10 a 10 UFC/g y levaduras <10 UFC/g. De los resultados obtenidos se determina que el tratamiento OSS ejerce acción sobre la carga microbiana.

Con el propósito de cuantificar la reducción de la carga microbiana se evaluó el Log (UFC/g) antes y después del tratamiento OSS (kg/saquillo, tiempo de proceso y temperatura de inyección de vapor saturado (°C)). En la tabla 5 se muestran los valores promedio de la reducción de aerobios, mohos y levaduras obtenidos: 80,47; 62,12 y 30,10 %; 60,59 %; 65,76 % y 0 %, correspondientes a los tratamiento 5 (3 kg/saquillo, tiempo de proceso de 1 minuto y 105 °C de temperatura de vapor saturado) y 2 (4 kg/saquillo, tiempo de proceso de 1 minuto y 100 °C temperatura de vapor saturado), respectivamente. Asimismo, se encontraron valores muy similares, como: 73,03; 58,8 y 0 % y 75; 46,28 y 0 %, correspondientes a los tratamiento 4 (4 kg/saquillo, tiempo de proceso de 2 minutos y 100 °C temperatura de vapor saturado) y tratamiento 7 (3 kg/saquillo, tiempo de proceso de 2 minutos y 105 °C temperatura de vapor saturado), por lo que se puede inferir que el mejor comportamiento le correspondió al tratamiento 2, es decir con cargas de 4 kg/saquito, 1 minuto de tiempo de proceso y 100 °C de temperatura de inyección de vapor saturado.

Tabla 5. Reducción de la carga microbiana en función de Log (UFC/g) en yacón antes y después del tratamiento OSS.

Tratamientos	Momento del análisis	Carga (kg/saquito)	Tiempo de proceso (min)	Temperatura de inyección de vapor (°C)	Reducción carga microbiana (%)					
					Aerobios	Mohos	Levaduras	E. coli	Salmonella	Coliformes
1	POST OSS	3	1	100	70,72	58,86	0,00	<3	Ausencia	<3
2	POST OSS	4	1	100	60,59	65,76	0,00	<3	Ausencia	<3
3	POST OSS	3	2	100	54,77	0,00	0,00	<3	Ausencia	<3
4	POST OSS	4	2	100	73,03	58,86	0,00	<3	Ausencia	<3
5	POST OSS	3	1	105	80,47	62,12	30,10	<3	Ausencia	<3
6	POST OSS	4	1	105	64,91	30,10	0,00	<3	Ausencia	<3
7	POST OSS	3	2	105	75,00	46,28	0,00	<3	Ausencia	<3
8	POST OSS	4	2	105	72,07	43,07	0,00	<3	Ausencia	<3

El análisis de varianza (tabla 6) evidencia que la temperatura de inyección de vapor saturado presenta diferencias estadísticas significativas para la reducción de la carga microbiana: aerobios, mohos y levaduras. Además, se puede observar que la variable kg/saquillo es el factor con menor efecto significativo sobre la reducción de la carga microbiana.

Tabla 6. Análisis de varianza para la reducción de aerobios totales, mohos y levaduras.

Fuente	Gl	Reducción de Aerobios Totales (%)					Reducción de Mohos (%)					Reducción de Levaduras (%)				
		Suma de Cuadrado		Razón- F	Valor- P	Signif.	Suma de Cuadrado		Razón- F	Valor- P	Signif.	Suma de Cuadrado		Razón- F	Valor- P	Signif.
		Cuadrados	Medio				Cuadrados	Medio				Cuadrados	Medio			
EFFECTOS PRINCIPALES																
A:Carga/saquillo	1	26,8324	26,8324	3,89	0,0801	ns	773,118	773,118	2,33	0,1612	ns	226,503	226,503	9	0,015	*
B:Tiempo de Proceso	1	0,8281	0,8281	0,12	0,737	ns	5988,44	5988,44	18,05	0,0021	*	226,503	226,503	9	0,015	*
C:Temperatura de Vapor Saturado	1	277,889	277,889	40,28	0,0001	*	1938,2	1938,2	5,84	0,0388	*	226,503	226,503	9	0,015	*
INTERACCIONES																
AB	1	420,66	420,66	60,97	0,0000	*	7,20923	7,20923	0,02	0,8861	ns	226,503	226,503	9	0,015	*
AC	1	177,156	177,156	25,68	0,0007	*	8754,41	8754,41	26,39	0,0006	*	226,503	226,503	9	0,015	*
BC	1	6,76	6,76	0,98	0,3481	ns	135,141	135,141	0,41	0,5392	ns	226,503	226,503	9	0,015	*
RESIDUOS	9	62,0944	6,89938				2986,08	331,786				226,502	25,1669			
TOTAL (CORREGIDO)	15	972,22					20582,6					1585,52				

Del análisis de comparación de medias (Tukey), se concluye que no existe diferencia significativa entre los tratamientos. En tal sentido, teniendo en cuenta el análisis de varianza (ANVA), las variables y costos operativos del tratamiento OSS, permitieron determinar que el producto tratado con 4 kg/saquillo, 1 minuto de tiempo de proceso y con 100 °C de temperatura de inyección de vapor saturado (tratamiento 2), representa la combinación de factores con la máxima reducción de la carga microbiana: 10 UFC/g para aerobios (60,59 %), 20 UFC/g mohos (65,76 %) y <10 UFC/g levaduras (0 %).

Caracterización del yacón en polvo (producto final)

Caracterización química proximal y contenido de fructooligosacáridos del yacón en polvo.

La tabla 7 presenta los resultados de las características físico-químicas del yacón en polvo, obtenidos con el tratamiento 2: 4 kg/saquillo, 1 minuto de tiempo de proceso y 100 °C de temperatura de inyección de vapor saturado.

El producto reportó una mayor humedad residual (7,5 %), con respecto a los trozos deshidratados (4,1 %, tratamiento PRE OSS). Los contenidos de proteína y fructooligosacáridos no presentaron variación durante el tratamiento OSS, manteniéndose en 2,4 % y 52 % sobre la materia seca, respectivamente (tabla 7). Al respecto, investigaciones sobre el contenido de fructooligosacáridos del yacón en base seca, reportaron valores que variaron entre 44,15 a 57,11 %^{10,11,15}. Este efecto se sustenta en que durante el tratamiento OSS el producto es expuesto a un ambiente saturado de vapor por un corto tiempo, que destruye los microorganismos de la superficie preservando al máximo las propiedades físicas y sensoriales.

Los resultados, respecto a la presencia de carga microbiana del producto obtenido, cumplen con los requisitos microbiológicos establecidos por la legislación sanitaria peruana y las normas internacionales exigidas por Japón¹³ y USA¹⁴; por tanto, se puede afirmar que el tratamiento del producto con el Sistema de Esterilización Orgánica (OSS) logra la descontaminación microbiana del producto preservando al máximo las propiedades nutricionales y funcionales.

CONCLUSIONES

- Los parámetros del sistema de esterilización orgánica (OSS) que permitió la máxima reducción de carga microbiana del yacón fue con 4 kg/saquillo, 1 minuto de tiempo de proceso y 100 °C temperatura de inyección de vapor saturado.
- El yacón en polvo obtenido presentó una reducción de la carga microbiana: 60,59 % (10 UFC/g) para aerobios, 65,76 % (20 UFC/g) mohos y 0 % (<10 UFC/g) levaduras. El comportamiento de patógenos del yacón después del tratamiento OSS fue muy similar al de la materia prima: *E. coli* <3 UFC/g, ausencia de salmonella (25 g) y <3 UFC/g para coliformes totales; indicando que el tratamiento aplicado logró la descontaminación microbiana a límites mínimos establecidos para el consumo humano, ajustándose a las exigencias de la norma sanitaria peruana y a las normas internacionales.
- Los contenidos de proteínas y fructooligosacáridos no sufrieron variación significativa durante el tratamiento OSS, obteniéndose 2,4% de proteína y 50% fructooligosacáridos (b.s.), logrando preservar la calidad nutricional y funcional del producto.
- La composición química del yacón en trozos, antes del tratamiento OSS en g/100g (b.s.) fue: Proteína 2,3; grasa 0,3; fibra 0,0; ceniza 4,2; carbohidratos 93,2 y fructooligosacáridos 50,2; y de la harina de yacón después del tratamiento con la tecnología OSS en g/100g (b.s.) fue: Proteína 2,4; grasa 0,0; fibra 2,4; ceniza 3,8; carbohidratos 93,8, fructooligosacáridos 52,0.

AGRADECIMIENTO

Al Programa Nacional de Innovación para la Competitividad y Productividad (FIDECOM), por financiar esta investigación.

A la empresa Peruvian Nature S&S SAC, propietaria del equipo OSS, donde se realizó la parte experimental de la investigación

BIBLIOGRAFÍA

1. Lachman J, Fernández EC, Orsák M. Yacon [*Smallanthus sonchifolia* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] chemical composition and use-a review. *Plant Soil Environ.* 2003; 49 (6): 283–290.
2. Lock O, Rojas R. Química y Farmacología de *Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob. (“Yacón”). *Rev Quím.* 2005; 19(1): 31-35.

3. Organic sterilization system. OSS, The natural way to treat your products [Internet]. Lima; Peruvian Nature; 2014. [Citado el 01 jul. 2014]. Disponible en: <http://www.peruviannature.com/oss.html>
4. AOAC. Official Methods of Analysis. 18th Ed. Gaithersburg, MD: AOAC International; 2005. Methods: 925.40, 981.10, 942.05, 978.10.
5. Jaime L, Martin-Cabrejas M, Mollá E, López-Andréu F, Esteban R. Effect of Storage on Fructan and Fructooligosaccharide of Onion (*Allium cepa* L.). *J Agric Food Chem.* 2001; 49: 982-988.
6. ICMSF. Internacional Commission on Microbiological Specification for Foods. Vol. 1. 3rd Ed. Zaragoza: editorial Acirbia; 2000.
7. Ramos R, Arias G. Evaluación químico bromatológica de las variedades yurac llajum, qello llajum y yurac checche de *smallanthus sonchifolius* (poepp & endl).h. robinson (yacón) procedente de Puno. *Ciencia e Investigación.* 2010; 13(2): 72-76.
8. Lizárraga L, Ortega R, Vargas W, Vidal A. Cultivo del yacón (*Polimnia sonchifolia*). En resúmenes Curso Pre-congreso – IX Congreso Internacional de cultivos andinos. Cuzco; 1997.
9. Vilhena S, Câmara F, Piza I, Lima G. Contenido de fructanos en raíces tuberosas de yacón (*Polymnia sonchifolia*). *Sociedad Mexicana de Nutrición y Tecnología de Alimentos. Cienc Tecnol Aliment.* 2003 4(1):35-40.
10. Nieto C. Estudios agronómicos y bromatológicos en Jicama (*Polimia sonchifolia* Poepp et Endl). *Arch Lat Nut.* 1991; 41(2):213-221.
11. Mindani, C. Efecto de las condiciones de proceso en las características del yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl.) liofilizado. [Tesis para optar el grado de Magister Scientiae en Tecnología de Alimentos]. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina; 2009.
12. Chivarry C. Influencia de las condiciones de Almacenaje del yacón fresco (*Smallanthus sonchifolius*) en sus compuestos bioactivos. [Tesis para optar el título de Ingeniero en Industrias Alimentarias]. Lima: Universidad Nacional Agraria la Molina; 2007.
13. MINCETUR. Guía de requisitos sanitarios y fitosanitarios para exportar alimentos a Japón. [Internet]. Lima: MINCETUR; 2010. [Accesado el 10 Jul 2014]. Disponible en: http://www.siicex.gob.pe/siicex/resources/calidad/req_japon.pdf.
14. MINCETUR. Guía de requisitos sanitarios y fitosanitarios para exportar alimentos a USA. [Internet]. Lima: MINCETUR; 2010. [Accesado el 10 Jul 2014]. Disponible en: http://www.siicex.gob.pe/siicex/resources/calidad/req_usa.pdf.
15. Cancino K, Guevara A. Influencia de la concentración del zumo en la deshidratación osmótica del yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl.). *Anales Científicos UNALM.* 2006; 15(64): 225-243.

VARIACIÓN DEL CONTENIDO DE BETALAÍNAS, COMPUESTOS FENÓLICOS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DURANTE EL PROCESAMIENTO DE LA QUINUA (*Chenopodium quinoa* W.)

Julio Mauricio Vidaurre-Ruiz^{a,b}, Gleny Días-Rojas^c, Edy Mendoza-Llamo^c, Miguel Ángel Solano-Cornejo^b

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue determinar el contenido de compuestos fenólicos totales (CFT), flavonoides (F), pigmentos betalámicos (PB) y capacidad antioxidante de granos de quinua (*Chenopodium quinoa* W.), después del proceso de lavado, secado y cocción. Se evaluaron dos variedades de quinua (Pasankalla y Negra Collana), las cuales fueron proporcionadas por la Dirección Regional de Agricultura de Cajamarca, Perú. El contenido inicial de CFT, F y PB fue mayor en la variedad Negra Collana que en la variedad Pasankalla y el comportamiento fue similar después de todas las etapas de procesamiento, con excepción de la capacidad antioxidante, la cual se incrementó después del proceso de secado y cocción. Los PB de las dos variedades de quinuas en estudio se degradaron y difundieron en el agua de acción siguiendo una cinética de primer orden. Aunque hubo pérdidas significativas de CFT, F y PB ($p < 0,05$) después del proceso de cocción, las dos variedades de quinuas siguen siendo excelentes fuentes funcionales por su elevada capacidad antioxidante.

Palabras clave: Pigmentos de la quinua, proceso de cocción, Pasankalla, Negra Collana, compuestos bioactivos.

ABSTRACT

The aim of this research was to determine the content of total phenolic compounds (CFT), flavonoids (F), betalamic pigments (PB) and antioxidant capacity of quinoa grains (*Chenopodium quinoa* W.), after washing, drying and cooking process. Two varieties of quinoa (Pasankalla and Black Collana) were evaluated, which were provided by the Regional Department of Agriculture of Cajamarca, Peru. The initial content of CFT, F and PB was higher in the Black Collana variety than in the Pasankalla variety and the behavior was similar after all the processing stages, with the exception of the antioxidant capacity, which increased after drying and cooking process. PB, of the two varieties of quinoa under study,

^a Doctorado en Ciencia de Alimentos, Universidad Nacional Agraria La Molina, Av La Molina s/n Lima, Perú, jvidaurre@crece.uss.edu.pe

^b Escuela de Ingeniería Industrial, Facultad de Ingeniería Arquitectura y Urbanismo, Universidad Señor de Sipán, Perú.

^c Escuela de Ingeniería Agroindustrial y Comercio Exterior, Facultad de Ingeniería Arquitectura y Urbanismo, Universidad Señor de Sipán, Perú.

were degraded and diffused in the water of cooking following first order kinetics. Although there were significant losses of CFT, F and PB ($p < 0.05$) after cooking process, the two varieties of quinoa are still excellent functional sources due to their high antioxidant capacity.

Key words: Pigment of quinoa, cooking process, Pasankalla, Black Collana, bioactive compounds.

INTRODUCCIÓN

La quinua es un grano de origen andino que ha captado la atención mundial debido a sus excelentes propiedades nutricionales, funcionales y potencial aplicación farmacéutica¹⁻³. Existe un creciente interés en conocer las propiedades funcionales de este alimento, ya que es rico en compuestos fenólicos⁴. En recientes publicaciones se ha reportado la presencia de betalainas, principalmente betanina e isobetanina, en quinuas de color rojo y negro⁵ y se ha reportado que el contenido de los pigmentos betalámicos pueden variar entre 0,15 a 6,10 mg/100 g⁶.

Diversas investigaciones han estudiado el efecto de diferentes métodos de procesamiento sobre los compuestos bioactivos de los granos de quinua. Dini *et al.*⁷, reportan pérdidas entre el 31 a 64 % de los compuestos fenólicos en quinuas amargas y dulces durante el proceso de cocción por 20 minutos. Gómez-Caravaca *et al.*⁸ evaluaron la influencia del proceso del perlado en el contenido de compuestos fenólicos y saponinas, demostrando que el 30 % de abrasión es necesario para obtener quinuas dulces, con un contenido total de saponinas menor a 110 mg/100 g y con pérdidas del 21,5 % de compuestos fenólicos libres y 35,2 % de fenoles ligados. Miranda *et al.*⁹ evaluaron el impacto de diferentes temperaturas de secado en las propiedades nutricionales, contenido de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante en granos de quinuas, encontrando que las temperaturas de secado entre 60 y 80°C resultan en una notable degradación de los compuestos fenólicos totales, aunque no evidencian pérdidas significativas con respecto a la capacidad antioxidante. Sin embargo, Alvarez-Jubete *et al.*¹⁰, reportan que el proceso de germinación de la quinua da lugar a un aumento en el contenido de fenoles totales, hasta incluso, que estos se incrementan después del proceso de horneado.

También se sabe que la composición en compuestos fenólicos y pigmentos betalámicos de los granos de quinua puede diferir por factores ecológicos, agronómicos y morfológicos^{3,5,11}, por ello es necesario caracterizar quinuas provenientes de la sierra norte del país y conocer el efecto del procesamiento convencional de los granos de quinua antes de ser consumidos. Si bien es cierto que la pérdida o degradación de estos compuestos es inevitable en toda la cadena de producción, la investigación detallada sobre los efectos durante el procesamiento de los granos de quinua es necesaria para la comprensión de las posibles causas y factores que promuevan la pérdida de estos compuestos de interés, con la finalidad de encontrar medidas que se puedan tomar para reducir estas pérdidas.

Es por eso que el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto del proceso de lavado, secado y cocción de dos variedades de quinuas (Pasankalla y Negra Collana), provenientes del departamento de Cajamarca, sobre el contenido de compuestos fenólicos totales, flavonoides, pigmentos betalámicos y capacidad antioxidante.

PARTE EXPERIMENTAL

Materia prima

La investigación se realizó con dos variedades de quinua (*C. quinoa*) Pasankalla (grano de color rojo) y Negra Collana (grano de color negro) sin procesar, las cuales fueron proporcionadas por la Dirección Regional de Agricultura de Cajamarca (DRAC). Los granos de quinua fueron cosechados a 3500 msnm, en el distrito de San Pablo, departamento de Cajamarca-Perú.

Reactivos e instrumentos

El DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo), ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox) fue adquirido de Sigma-Aldrich (USA). El reactivo de Folin-Ciocalteu, persulfato de potasio, carbonato de sodio anhidro, ácido gálico, catequina y nitrato de sodio fueron adquiridos de Merck (USA). El cloruro de aluminio y etanol fueron proporcionados por el laboratorio de química de la Universidad Señor de Sipán, Lambayeque.

Las mediciones para la cuantificación de compuestos fenólicos, flavonoides y pigmentos betalámicos en los granos de quinua, fueron realizadas utilizando un espectrofotómetro (UV-VIS) (UNICO, S-2100) ajustado a las longitudes de onda apropiadas para cada ensayo. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

Preparación y procesamiento de las muestras

Las dos variedades de quinua, antes de ser procesadas, fueron sometidas a una inspección visual, por separado, para descartar partículas impurezas como tallos, hojas, granos extraños. Una vez limpia la materia prima, los granos de quinua fueron lavados utilizando agua destilada en una proporción 1:10 (materia prima: agua) a temperatura ambiente (con agitación) durante 20 minutos y con cuatro cambios consecutivos de agua. Luego, los granos fueron secados a 70 °C hasta obtener una humedad de 12 % y finalmente sometidos al proceso de cocción en agua en ebullición durante 30 minutos utilizando una proporción 1:6 (materia prima: agua). Durante el proceso de cocción se tomaron muestras de granos y de líquido de cocción cada cinco minutos, con la finalidad de evaluar la cinética de degradación de los pigmentos. Los granos fueron colados y enfriados a temperatura ambiente para luego ser sometidos a los análisis, posteriormente explicados en cada etapa de procesamiento.

Composición proximal

Se determinó el contenido de humedad, proteínas, grasa, fibra cruda y cenizas de acuerdo a los métodos oficiales de la AOAC¹². El contenido de carbohidratos se determinó por diferencia y todos los análisis se realizaron por triplicado.

Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales

Para la determinación del contenido de compuestos fenólicos totales se siguió la metodología propuesta por Repo-Carrasco y Encina-Zelada¹³, con algunas modificaciones. Se colocaron 5 g de quinua (crudas, lavadas, secadas y cocidas) con 20 mL de etanol al 95 % y se tritularon. Luego, las muestras, se colectaron dentro de un matraz y se dejaron en reposo por 24 horas en refrigeración (4 °C). Después del reposo se centrifugaron por 15 min a 3000 rpm. Con una micropipeta se tomó 0,5 mL de la muestra (sobrenadante claro) y 8 mL de agua ultrapura y se mezcló. Al mismo tiempo se preparó un blanco con 0,5 mL de etanol al 95 %; se añadió 0,5 mL del reactivo Folin-Ciocalteu (Diluido en un factor de 8); se mezcló y dejó reaccionar por tres minutos y luego se añadió 1 mL de carbonato de sodio (Na₂CO₃) al 20 %. Las muestras fueron protegidas de la luz y almacenadas por 30 minutos, posteriormente, se midió la absorbancia a 725 nm. Los resultados se expresaron como mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 g de muestra en base seca, que se deriva de la curva de calibración de referencia de ácido gálico.

Determinación del contenido de flavonoides

El contenido de flavonoides se realizó siguiendo la metodología propuesta por Dini *et al.*⁷. Se tomó 0,5 mL del extracto etanólico de las quinuas (crudas, lavadas, secas y cocidas) y se añadieron en un matraz 2 mL de agua ultrapura y 0,15 mL de solución acuosa de nitrito de sodio (NaNO₂) al 5 %. Después de 5 minutos, se añadió 0,15 mL de solución acuosa de cloruro de aluminio (AlCl₃) al 10 % y se dejó reaccionar por un minuto, luego se adicionó 1 mL de hidróxido de sodio (NaOH) 1M, se mezcló bien y se completó con agua ultrapura hasta volumen final de 5 mL. Se determinó la absorbancia de la mezcla, de color rosa, a 510 nm frente a un blanco preparado sin muestra, sólo con etanol al 95 % y los demás compuestos indicados. El contenido de flavonoides totales de los extractos se expresó como mg equivalentes de catequina (EC) por 100 g de muestras en base seca, previa preparación de la curva de calibración con catequina.

Determinación del contenido de betalainas

El contenido de betalainas en los granos de quinua (crudos, lavados, secos y cocidos) se determinó utilizando la metodología propuesta por Abderrahim *et al.*⁶, con algunas modificaciones. Se mezclaron 2,5 g de quinua con 20 mL de etanol al 95 %, se tritularon y licuaron a temperatura ambiente por cinco minutos. Luego las muestras fueron almacenadas por 24 horas en refrigeración (4 °C) en condiciones de oscuridad para su posterior análisis.

El contenido de betacianina (pigmento de color rojo) y betaxantina (pigmento de color amarillo) se determinaron midiendo la absorbancia a 537 y 479 nm, respectivamente, mediante el uso de coeficientes de extinción molar de 60.000 L mol⁻¹ cm⁻¹ para betacianinas y 48.000 L mol⁻¹ cm⁻¹ betaxantinas. El contenido total de betalainas se determinó sumando el contenido de betacianinas y betaxantinas.

Determinación de la capacidad antioxidante

Para la determinación de la capacidad antioxidante de los granos de quinua (crudos, lavados, secados y cocidos) se utilizó el método del radical DPPH, siguiendo el procedimiento propuesto por Hirose *et al.*². Se tomaron 2 mL de los extractos etanólicos de los granos de

quinua y se mezclaron con 2 mL de solución etanólica de DPPH al 0,15 mM. La mezcla se agitó vigorosamente y se dejó reposar durante 30 min en oscuridad. Después se midió la absorbancia a 517 nm frente a un blanco que contenía solamente etanol al 95 %. La actividad antioxidante se calculó utilizando la siguiente ecuación: Capacidad captadora del radical DPPH (%) = [(A-B) / A] x 100.

Donde A y B son las absorbancias del control y de la muestra de reaccionada a 517 nm, respectivamente. Se preparó una curva de calibración con Trolox y la actividad antioxidante de los granos de quinua se expresó como μmol de equivalente Trolox (ET) por cada 100 g de muestra en peso fresco.

Análisis estadístico

Los resultados de CFT, F, PB y capacidad antioxidante fueron insertados en un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA), donde se realizó un análisis de varianza y pruebas de comparación de medias con un nivel de significancia de $\alpha=0,05$; comparando las etapas de procesamiento y la variedad de quinua utilizada.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición proximal de las muestras de quinua

Las dos variedades de granos de quinua, mostraron similar contenido en nutrientes, aunque se puede destacar un mayor contenido de proteína y fibra en la variedad Negra Collana en comparación con la variedad Pasankalla (tabla 1). El contenido de proteína fue menor al reportado por Repo-Carrasco *et al.*³ cuyo contenido promedio de proteína de diez variedades de quinua, entre ellas de color rojo, negro y amarillo, fue de 12,61 %. Este resultado puede ser explicado por el lugar donde fueron cosechados los granos de quinua, como lo demuestra en su investigación Gonzalez *et al.*¹⁴, quienes informan que existe una clara variación en el rendimiento de semillas, el contenido total de proteínas y la composición de aminoácidos entre los cultivares de diferentes regiones agroecológicas.

Tabla 1. Composición proximal de granos de quinua (g/100 g).

Variedad de quinua	Humedad	Proteína	Grasa	Fibra cruda	Ceniza	Carbohidratos
Pasankalla	8,56 \pm 1,2	9,39 \pm 0,54	5,25 \pm 0,76	1,93 \pm 0,24	3,11 \pm 0,10	71,76
Negra Collana	12,45 \pm 0,89	10,42 \pm 0,35	4,64 \pm 0,85	2,59 \pm 0,12	2,45 \pm 0,12	67,45

Los demás componentes, como humedad, grasa, fibra cruda, ceniza y carbohidratos, fueron similares a los reportados por Miranda *et al.*¹⁵ y Repo-Carrasco *et al.*³, a excepción del contenido de grasa, el cual fue menor al encontrado por Miranda *et al.*⁴, quien trabajó con quinuas provenientes del Valle de Elqui, ciudad de La Serena, Chile.

Compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante

El contenido inicial de compuestos fenólicos totales (CFT) fue mayor en la variedad Negra Collana (142,3 mg EAG/ 100 g b.s) que en la variedad Pasankalla (108,9 mg EAG/ 100 g b.s). Este contenido fue similar al reportado por Repo-Carrasco y Encina-Zelada¹³, quienes analizaron quince variedades de quinuas provenientes del Perú, encontrando que los CFT variaron entre 35,29 a 139,94 mg EAG/ 100 g b.s. Valores más elevados han sido reportados en quinuas provenientes del altiplano peruano. Abderrahim *et al.*⁶, reportan que el contenido de CFT se encuentran en el rango de 128 a 452 EAG/100 g b.s. En diversas investigaciones se han reportado contenido de CFT menores, a los encontrados en esta investigación, por ejemplo Tang *et al.*⁵, reportan que el contenido de CFT en quinuas provenientes de Guelph en Canadá variaron entre 46,7 a 68,2 mg EAG/ 100 g b.s. En esta investigación también se reporta que el contenido de CFT se incrementó con el color de las quinuas. Miranda *et al.*⁴, reportan que el contenido de CFT de seis eco tipos de quinuas chilenas variaron entre 14,22 a 65,53 mg EAG/ 100 g b.s y Miranda *et al.*⁹ reportan valores de CFT de 28,41 mg EAG/100 g b.s en quinuas provenientes de Elqui Valley, Chile. Como se puede apreciar, el contenido de CFT en los granos de quinua es muy variable y puede estar influenciado por las condiciones agroecológicas donde se siembra¹¹.

Durante el procesamiento de los granos de quinua se evidenció una pérdida significativa de CFT después del proceso de lavado ($p < 0,05$) (figura 1A). Donde se perdió el 49 y 51 % de CFT en la variedad Negra Collana y Pasankalla, respectivamente. Esta pérdida está íntimamente ligada al elevado porcentaje de CFT libres que presenta la quinua, como ha sido reportado por Abderrahim *et al.*⁶; Laus *et al.*¹⁶ y Tang *et al.*⁵. Después del proceso de secado (figura 1A), el contenido de CFT se mantuvo estable, sin evidenciar pérdidas significativas ($p > 0,05$); este resultado contradice al expuesto por Miranda *et al.*⁹, quienes reportan pérdidas significativas, de CFT, durante el secado a temperaturas de 60, 70 y 80 °C. Pero este cambio puede depender de muchos factores, como: el tiempo de secado, la velocidad del aire, la variedad de quinua, etc. Después del proceso de cocción, se evidenció que la variedad Negra Collana retuvo mayor cantidad de compuestos fenólicos que la variedad Pasankalla ($p < 0,05$), logrando una retención del 32 y 22 % de CFT, respectivamente. Este resultado es similar al reportado por Dini *et al.*⁷, quienes evaluaron el contenido de CFT después del proceso de cocción de quinuas amargas y dulces, determinando que las quinuas amargas, retuvieron mayor cantidad de CFT que la variedad dulce (69 y 37 %, respectivamente).

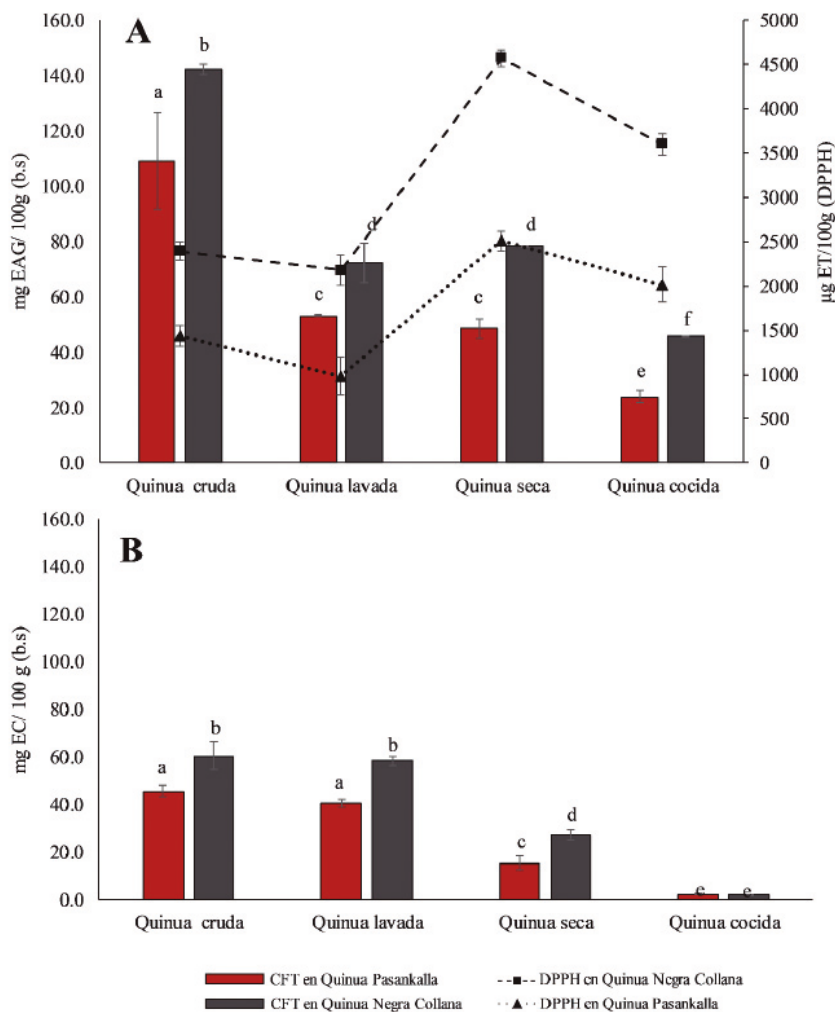


Figura 1. Efecto del procesamiento de los granos de dos variedades de quinua en el contenido de A) compuestos fenólicos totales (CFT), capacidad antioxidante (DPPH) y B) flavonoides. Las letras diferentes muestran que existe diferencias significativas ($p < 0,05$).

La figura 1A también muestra la actividad antioxidante después de las diferentes etapas de procesamiento ($p < 0,05$), donde se puede apreciar que existe un aumento después del proceso de secado y cocción para ambas variedades de quinuas, en comparación con el contenido inicial. Este fenómeno se puede atribuir a la liberación o formación de compuestos durante el secado y la cocción que tengan mayor capacidad antioxidante^{7,9}.

Con respecto al contenido de flavonoides iniciales, se evidenció diferencia significativa ($p < 0,05$) entre la variedad Pasankalla (45,67 mg EC/ 100 g b.s) y Negra Collana (60,34 mg EC/ 100 g b.s). Estos resultados fueron similares a los reportados por Repo-Carrasco *et al.*³, quienes determinaron que el contenido de flavonoides en diez variedades de quinuas peruanas varió entre 36,2 a 144,3 mg / 100 g y los flavonoides predominantes, en las muestras, fueron la quercetina y el kaempferol, mientras que en algunas variedades se encontró también miricetina e isorhamnetina. Si bien estos valores son elevados para ser grano, se ha reportado mayor contenido de flavonoides en quinuas cultivadas en Japón, las cuales tenían concentraciones de 130,1 a 190,0 mg/100 g (suma de quercetina glicosilada y kaempferol)².

Después del proceso de lavado no se evidenció pérdida significativa ($p < 0,05$), en ninguna de las variedades de quinua (figura 1B). Esto se puede deber a que los flavonoides se acumulan en las vacuolas y estas están protegidas por las células¹⁷. En cambio, después del proceso de secado y cocción, sí se evidenciaron pérdidas significativas ($p < 0,05$) para ambas variedades de quinuas (figura 1B). Estos resultados obtenidos difieren de lo reportado por Dini *et al.*⁷, quienes evidencian pérdidas del 55 a 78 % de flavonoides, en cambio en esta investigación encontramos pérdidas entre 80 a 95 %. Esto se puede deber al tipo de flavonoide que presentan estas variedades de quinuas, lo cual nos invita a desarrollar investigación más detallada sobre estos compuestos.

Contenido de pigmentos betalámicos

El contenido de pigmentos betalámicos (betacianinas, betaxantinas y betalainas) fue ligeramente mayor en la variedad Negra Collana (0,17 mg/ 100 g) (figura 2B) comparado con la variedad Pasankalla (0,13 mg/100 g) (figura 2A). No se evidenciaron pérdidas significativas de los pigmentos después del proceso de lavado y secado ($p > 0,05$) pero sí después del proceso de cocción, logrando un contenido final entre 0,04 y 0,06 mg/ 100 g de betalainas.

Durante el proceso de cocción la pérdida de betalainas en los granos de quinua Pasankalla y Negra Collana siguieron una cinética de primer orden ($n=1$). Estos resultados concuerdan con investigaciones anteriores las cuales reportan que los pigmentos betalámicos se degradan siguiendo una cinética de primer orden y que son sensibles a diversos factores como luz, temperatura y tiempo de almacenamiento^{18,19}.

La ganancia de betalainas en el agua de cocción de las dos variedades de quinuas siguieron una cinética de primer orden; aunque la constante de velocidad de ganancia de betalainas en el agua de cocción de la variedad Pasankalla (0.0243 min^{-1}) fue mayor que de la variedad Negra Collana (0.0142 min^{-1}). Dando como resultado visual una mayor pigmentación en el líquido de cocción en la variedad Pasankalla.

Recientemente se ha reportado que el contenido de betalainas en granos de quinuas puede variar entre 0,15 – 6,10 mg/ 100 g, expresados como la suma de betacianinas y betaxantinas⁶, pero una de las posibles causas del menor contenido de betalainas en esta investigación se puede deber al proceso de extracción, el cual se debería optimizar con la finalidad de tener resultados más concretos y concluyentes.

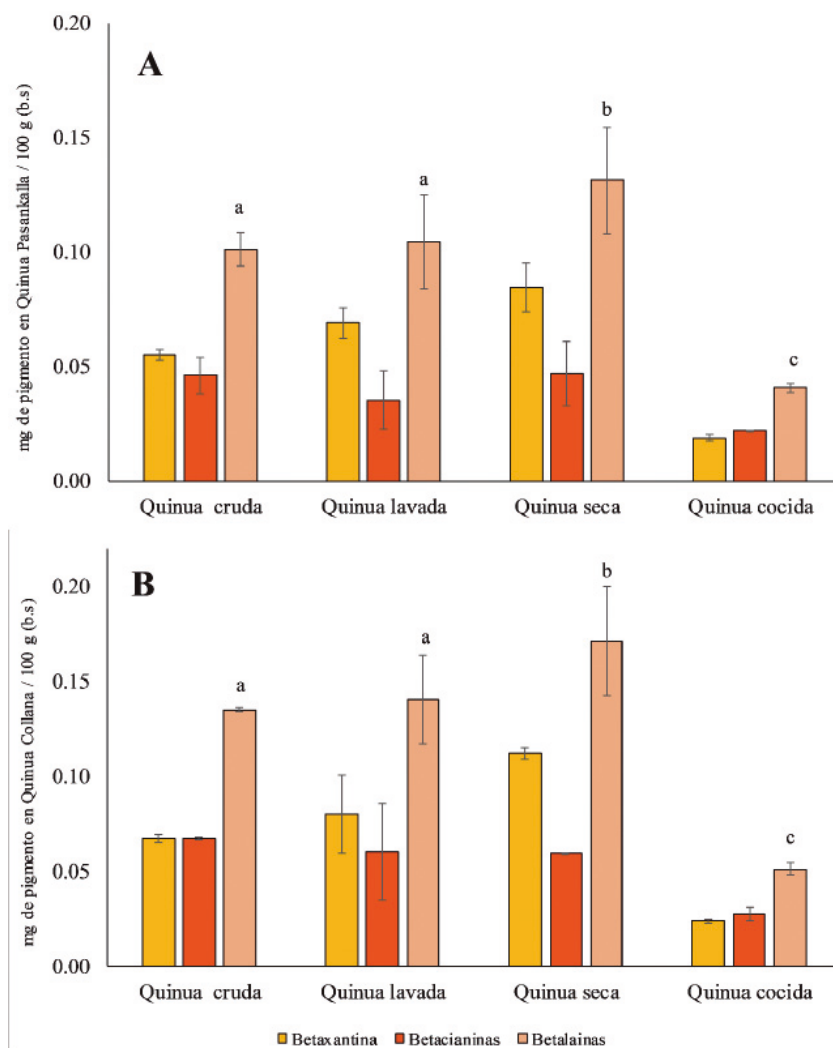


Figura 2. Efecto del procesamiento de la variedad A) Pasankalla y B) Negra Collana en el contenido de betaxantinas, betacianinas y betalainas. Las letras diferentes muestran que existe diferencias significativas ($p < 0,05$).

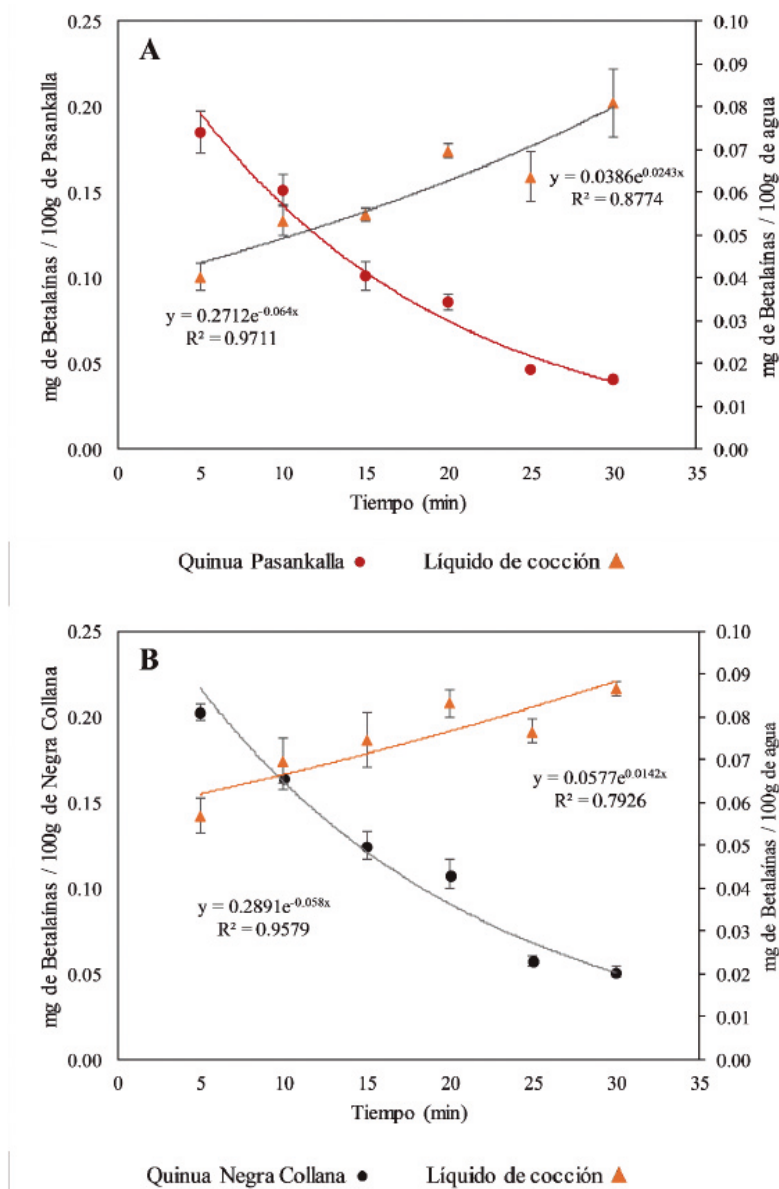


Figura 3. Cinética de pérdida y ganancia de betalainas durante el proceso de cocción de quinoa Pasankalla (A) y quinoa Negra Collana (B).

CONCLUSIONES

El creciente interés por el consumo de los granos andinos como la quinua, no sólo se centra en su importante contenido de aminoácidos sino también porque es fuente de compuestos bioactivos que pueden tener efectos beneficiosos para la salud. La presente investigación demuestra que las quinuas provenientes del departamento de Cajamarca son ricas en compuestos fenólicos como los flavonoides y pigmentos como las betalainas. Si bien después de los procesos como lavado, secado y cocción algunos compuestos bioactivos, de las variedades Negra Collana y Pasankalla, disminuyen significativamente, también se pueden formar otros compuestos con mayor capacidad antioxidante. En esta investigación también se demostró que las variedades de quinuas en estudio son fuentes de pigmentos betalámicos, los cuales se pueden degradar y difundir en el agua durante el proceso de cocción siguiendo una cinética de primer orden. Por ello el consumo de ambas variedades es interesante como fuente natural de compuestos bioactivos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Dirección Regional de Agricultura (DRAC) del departamento de Cajamarca, por proporcionar las materias primas de estudio. Así como también al personal de laboratorio de Química de la Facultad de Ingeniería Arquitectura y Urbanismo y Laboratorio de Microbiología de Facultad de Medicina de la Universidad Señor de Sipán.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gawlik-Dziki U, Świeca M, Sułkowski M, Dziki D, Baraniak B, Czyz J. Antioxidant and anticancer activities of *Chenopodium quinoa* leaves extracts - In vitro study. *Food Chem Toxicol.* 2013; 57: 154–160.
2. Hirose Y, Fujita T, Ishii T, Ueno N. Antioxidative properties and flavonoid composition of *Chenopodium quinoa* seeds cultivated in Japan. *Food Chem.* 2010; 119(4) :1300–1306.
3. Repo-Carrasco R, Hellström JK, Pihlava JM, Mattila PH. Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Food Chem.* 2010; 120(1): 128–33.
4. Miranda M, Vega-Gálvez A, Uribe E, López J, Martínez E, Rodríguez MJ, et al. Physico-chemical analysis, antioxidant capacity and vitamins of six ecotypes of chilean quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). *Procedia Food Sci.* 2011; 1: 1439–1446.
5. Tang Y, Li X, Zhang B, Chen PX, Liu R, Tsao R. Characterisation of phenolics, betanins and antioxidant activities in seeds of three *Chenopodium quinoa* Willd. genotypes. *Food Chem.* 2015; 166: 380–388.
6. Abderrahim F, Huanatico E, Segura R, Arribas S, Gonzalez MC, 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.
7. Dini I, Tenore GC, 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(3): 447–451.
 8. Gómez-Caravaca AM, Iafelice G, Verardo V, Marconi E, Caboni MF. Influence of pearling process on phenolic and saponin content in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). Food Chem. 2014; 157: 174–178.
 9. 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(3): 258–263.
 10. Alvarez-Jubete L, Wijngaard H, Arendt EK, Gallagher E. Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. Food Chem. 2010; 119(2): 770–778.
 11. Fischer 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.
 12. AOAC. Official methods of analysis. 17th ed. Gaithersburg, MD: Association of Official Analytical Chemists; 2000.
 13. Repo-Carrasco R, Encina Zelada CR. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de cereales andinos: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), Kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) y Kiwicha (*Amaranthus caudatus*). Rev Soc Quím Perú. 2008; 74(2): 85–99.
 14. Gonzalez JA, Konishi Y, Bruno M, Valoy M, Prado FE. Interrelationships among seed yield, total protein and amino acid composition of ten quinoa (*Chenopodium quinoa*) cultivars from two different agroecological regions. J Sci Food Agric. 2012; 92(6): 1222–1229.
 15. Miranda M, Vega-gálvez A, Martínez E a, López J, Marín R, Aranda M, et al. Influence of contrasting environments on seed composition of two quinoa genotypes : nutritional and functional properties. Chil J Agric re. 2013; 73(2):108-116.
 16. Laus MN, Gagliardi A, Soccio M, Flagella Z, Pastore D. Antioxidant Activity of Free and Bound Compounds in Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Seeds in Comparison with Durum Wheat and Emmer. J Food Sci. 2012; 77(11): 1150-1155.
 17. Dewanto V, Xianzhong W, Adom KK, Liu RH. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. J Agric Food Chem. 2002; 50(10): 3010–3014.
 18. Díaz-Rojas G, Mendoza-Llamo E, Vidaurre-Ruiz J. Cinética de la degradación de betalainas y fenoles totales durante la coccion de la quinua (*Chenopodium quinoa*). Rev Ing Ciencia, ecnología e Innovación. 2015; 2(2): 85–95.
 19. Sánchez-Chávez W, Cortez-Arredondo J, Solano-Cornejo M, Vidaurre-Ruiz J. Cinética de degradación térmica de betacianinas, betaxantinas y vitamina C en una bebida a base de jugo de remolacha (*Beta vulgaris* L.) y miel de abeja. Sci Agropecu. 2015; 6(2): 111–118.

REMOCIÓN DE CROMO Y DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO DE AGUAS RESIDUALES DE CURTIEMBRE POR ELECTROCOAGULACIÓN

Roddy Mayta^a, Jhony Mayta^{b*}

RESUMEN

Se estudió la remoción de cromo III y demanda química de oxígeno (DQO) de muestras de aguas residuales de curtiduría por electrocoagulación (EC) en un reactor electroquímico de operación discontinua. La influencia de los tiempos (15 a 45 min), voltajes (5 a 10 V), diluciones (0 a 2) y sus interacciones en el proceso de EC fueron significativos ($p < 0,05$). Durante el proceso de EC de las muestras se observó incrementos de pH, temperatura y disminuciones de la conductividad. La máxima remoción de cromo III (~98 %) y DQO (~48 %) fue obtenida con el tratamiento (45 min, 10 V y dilución de 2). Asimismo, los resultados experimentales permitieron desarrollar modelos matemáticos para la remoción de cromo III y DQO, respectivamente.

Palabras clave: Electrocoagulación, cromo trivalente, demanda química de oxígeno.

REMOVAL OF CHROMIUM AND CHEMICAL OXYGEN DEMAND OF TANNERY WASTEWATER BY ELECTROCOAGULATION

ABSTRACT

Removal of trivalent chromium and chemical oxygen demand (DQO) of tannery wastewater samples by electrocoagulation (EC) from discontinuous operation electrochemical reactor were studied. The influence of times (15 to 45 min), voltages (5 to 10 V), dilutions (0 to 2) and their interactions in EC process were significant ($p < 0.05$). Increases in pH, temperature, and decreases of conductivity of the samples during the EC process were observed. The maximum removal of trivalent chromium (~98 %) and DQO (~48 %) was obtained with the treatment (45 min, 10 V and dilution of 2). Likewise, the experimental results allowed to develop mathematical models for the removal of trivalent chromium and DQO, respectively.

Key words: Electrocoagulation, trivalent chromium, chemical demand oxygen.

^a Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Altiplano Puno (UNAP), Avenida del Ejército s/n, Puno, Perú.

^b Carrera Profesional de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Nacional de Moquegua (UNAM), Jr. Ancash s/n. Moquegua, Perú, jhonymayta@hotmail.es

INTRODUCCIÓN

Los derivados del cromo trivalente se utilizan extensamente como curtientes en el tratamiento del cuero. La industria del cuero, en particular, genera gran cantidad de aguas de curtido y restos de pieles de animales. El sulfato básico de cromo es más utilizado en la curtición de pieles de animales (Golder, Samanta & Ray, 2007). Las aguas residuales de curtiduría contienen alrededor de 30-35% de la sal de curtido inicial (Cassano, Molinari, Romano & Drioli, 2001).

La toxicidad crónica del cromo trivalente (cromo III) es menor que el cromo hexavalente (cromo VI) (USEPA, 1980). Sin embargo, las descargas de efluentes con cromo III en cuerpos receptores con menor dilución de agua pueden provocar una toxicidad por cromo. Por ello, en la mayoría de países del mundo restringieron su vertido a aguas superficiales con contenido de cromo III de 1-2 mg/L (Kimbrough, Cohen, Winer, Creelman & Mabuni, 1999). Algunos efectos del cromo VI en la salud del ser humano son: alergias en la piel, irritaciones y sangrado de la nariz, erupciones cutáneas, malestar estomacal, alteración del material genético, entre otros. Las intoxicaciones crónicas pueden producir mutaciones en el tracto gastrointestinal y acumulaciones en el hígado, el riñón, la glándula tiroidea y la médula ósea (Costa & Klein, 2006).

La EC es un proceso electroquímico utilizado en el tratamiento de aguas residuales. Esta técnica presenta múltiples ventajas en comparación a los sistemas biológicos y/o químicos. En el proceso de EC, el coagulante es generado *in situ* por la reacción de oxidación de un ánodo. Las especies cargadas o metales pesados pueden ser removidos del efluente por la reacción entre iones con carga opuesta o debido a la formación de flóculos de hidróxidos metálicos (Mollah, 2001). Posteriormente, los contaminantes forman componentes hidrofóbicos que se precipitan o flotan, facilitando su remoción por algún método de separación secundario (Pettersson, 1985).

La demanda química de oxígeno (DQO) es un análisis no específico pero muy útil para estimar los requerimientos de oxígeno de los vertidos industriales, en los cuales la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) no es demasiado eficaz debido a la presencia de tóxicos u otras sustancias inhibitoras (Mancy and Wever, 1971). Las altas concentraciones de DQO en aguas residuales pueden provocar la desoxigenación de las aguas con las que entra en contacto. Este proceso puede afectar el requerimiento de O₂ de los organismos acuáticos.

Las sales de cromo utilizadas en la curtiduría del Centro de Investigación de la Facultad de Ingeniería Química de la UNAP contienen cromo III. Este compuesto no es absorbido completamente por la piel durante el proceso de curtición y son eliminados junto con las aguas residuales del proceso sin ningún tratamiento, representando un peligro potencial de intoxicación. Por lo tanto, el objetivo de la presente investigación fue estudiar el efecto del proceso de electrocoagulación por lote en la remoción de cromo III y DQO de las aguas residuales de curtiduría.

METODOLOGÍA

Toma de muestras

Las muestras de aguas residuales del proceso de curtido de pieles de ovino fueron provenientes del Centro de Investigación y Producción de la Facultad de Ingeniería Química - UNAP. Se obtuvo 11 muestras de 15 L en recipientes de plástico rotulados y de uso exclusivo.

Proceso de electrocoagulación

El proceso de EC se realizó en *batch* en un reactor electroquímico provisto de una fuente de poder de 14 V y 9 A (figura 1). El material de la celda fue de acrílico y tuvo una capacidad de 1,3 L y 7×7 cm² de área de reacción. Se utilizó seis electrodos de aluminio (3 ánodos y 3 cátodos) con distancias de 1 cm entre sí. Antes de realizar el proceso de EC, la celda y los electrodos fueron lavados con una solución de ácido clorhídrico al 4 % durante 10 min y fueron enjuagados con abundante agua potable.

El proceso de EC de las muestras se realizó de acuerdo a la combinación de los niveles de los parámetros de estudio (tabla 1). Las diluciones de las muestras de aguas residuales se realizaron con agua potable. Posterior al proceso de EC las muestras mantuvieron en reposo durante 2 h. El sobrenadante se filtró en papel Watman Nro. 2 y fue envasado y codificado en frascos de vidrio para su análisis correspondiente.

Tabla 1. Niveles de las variables independientes establecidas de acuerdo al diseño factorial 2^k con tres puntos centrales.

Símbolo	Parámetro o variable independiente	Nivel bajo (-1)	Nivel alto (+1)
A	Tiempo (min)	15	45
B	Voltaje (V)	5	10
C	Dilución (-)	0	2



Figura 1. Reactor electroquímico y fuente de poder.

Métodos de análisis

Las determinaciones del pH, conductividad (k), temperatura y sales totales disueltas (TDS) se obtuvieron directamente a través de un equipo multiparámetro HI 9828 Hanna. El nitrógeno amoniacal ($N - NH_4$) se determinó por el método Nessler (HACH, 2017). Asimismo, la determinación de DQO se realizó por el método de digestión en reactor (HACH, 2014) en los laboratorios de la Facultad de Ingeniería Química - UNAP y la Municipalidad Distrital de José Domingo Choquehuanca, Puno, Perú. Las determinaciones de cromo III y cromo total se realizaron de acuerdo al método de absorción atómica por horno de grafito (EPA, 1978) y el método espectrofotométrico propuesto por Castro *et al.* (1997), respectivamente. Las muestras fueron analizadas en el Laboratorio de Calidad Ambiental de la Universidad Mayor de San Andrés (UMSA) La Paz, Bolivia y de la Facultad de Ingeniería Química - UNAP, Perú.

Las determinaciones de cromo III y DQO se expresaron en porcentajes de remoción utilizando la siguiente ecuación.

$$\eta = \frac{C_i - C_f}{C_i} \times 100$$

Dónde: η es el porcentaje de remoción, C_i es la concentración inicial y C_f es la concentración final.

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño factorial 2^k (Montgomery, 2013) con tres puntos centrales considerando a los tiempos de residencia (A), voltajes (B) y diluciones de agua (C) (tabla 1). Se realizó tres réplicas del experimento. Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) y la determinación de las diferencias significativas entre los tratamientos se realizó por medio de la prueba de medias de Duncan. El nivel de significancia fue determinado a $P < 0,05$.

RESULTADOS

Análisis fisicoquímico de aguas residuales

Las características fisicoquímicas de las muestras de aguas residuales provenientes del proceso de curtición se muestran en la tabla 2. Valores similares de cromo, pH, k y sales disueltas en muestras de aguas residuales de curtiembre también fueron observados por Mendoza (2009).

Tabla 2. Comparativo de los resultados del análisis fisicoquímico de las muestras de agua residual del proceso de curtiembre y LMP de actividades de curtiembre

Parámetros	Resultados	LMP ¹ de efluentes de curtiembre para:	
		Alcantarillado	Aguas superficiales
pH	4,22	6,0 – 9,0	5,0 – 8,5
Temperatura (°C)	15,00	35	35
<i>k</i> (mS cm ⁻¹)	36,05	--	--
TDS (mg L ⁻¹)	17,36	--	--
DQO (mg L ⁻¹)	1132	1500	50
Como III (mg L ⁻¹)	1470	--	--
Cromo VI (mg L ⁻¹)	--	0,4	0,2
Cromo total (mg L ⁻¹)	1586	0,2	0,5
N – NH ₄ (mg L ⁻¹)	64	30	10

¹Decreto Supremo N° 003-PRODUCE (2002).

En general, se obtuvieron menores valores de pH, temperatura y mayores valores de N-NH₄ de las aguas residuales de curtiembre en comparación a los límites máximos permisibles (LMP) de efluentes para alcantarillado de las actividades de curtiembre (DS 003-PRODUCE, 2002). El nivel de DQO de las muestras fueron menores en comparación a los LMP para aguas de alcantarillado, pero resultó mayor para los LMP de aguas superficiales. Los LMP para cromo VI y cromo total (tabla 2) fueron ampliamente superados por los niveles de cromo III de las muestras de aguas residuales del proceso de curtiembre, representando un peligro para la salud (Costa & Klein, 2006).

Análisis de muestras tratadas por electrocoagulación.

Los resultados del análisis pH, conductividad, temperatura, cromo III y DQO de las muestras se observan en la tabla 3. En general, todos los tratamientos presentaron incrementos en el pH y la temperatura y disminuciones de la conductividad de las muestras durante el proceso de EC. Incrementos de pH similares también fueron observados por Martínez (2007) en aguas residuales industriales y atribuido a la capacidad amortiguadora del proceso de EC y la formación de iones OH⁻ en el cátodo durante el proceso de reducción de agua. Por otro lado, Arango (2007) también observó incrementos de temperatura durante el proceso de EC y atribuido al desgaste de la película de óxido de aluminio de la superficie del electrodo y también por la liberación de calor en la reacción entre la solución y los electrodos. Finalmente, la disminución de la conductividad en efluentes es debido a la alta concentración de contaminantes. La mayor proximidad entre los iones de la solución inhibe la actividad de la conductividad y pierde su habilidad de transmitir corriente (Lenntech, 2007).

Los tratamientos EC03 y EC04 presentaron menores niveles de cromo III y DQO y, por consiguiente, mayores fueron las tasas de remoción (tabla 2) y visualmente fueron los

más transparentes en comparación a las muestras sin ningún tratamiento (figura 2). Golder *et al.* (2007) observaron una remoción casi completa (99 %) de cromo III utilizando una configuración bipolar a una corriente de 1000 mA en comparación a la remoción de 81,5 % para una configuración monopolar. Gilpavas (2008) también logró remover un ~72 % de cromo III y 19 % de DQO en aguas residuales de curtiembre en un reactor con configuración monopolar con electrodos de hierro y aluminio. Uno de los factores que afectaron la solubilidad del cromo III fue la mayor variación del pH obtenido en EC04. Golder *et al.* (2007) observaron una mínima solubilidad de cromo III en un rango de pH de 5,8 a 9,3 en disoluciones que no contienen iones cloruro.

Las superficies de respuesta y las ecuaciones optimizadas de remoción de cromo III y DQO se muestran en la figura 3. Asimismo, las interacciones entre el tiempo, voltaje y dilución en la remoción de cromo III produjo un efecto significativo, mientras que en la remoción de DQO, la interacción voltaje y dilución fue significativa (tabla 3). Mayores tasas de remoción de cromo III y DQO se obtuvieron aplicando altos voltajes y mayores diluciones (tabla 2). El efecto del voltaje en la remoción de cromo III podría depender de la corriente y la resistencia del medio (Golder, Samanta & Ray, 2007; Mollah, 2001) debido a una alta conductividad y baja agitación del medio. Respecto a la dilución, Gilpavas (2008) también logró remover hasta un ~99 % de cromo III y 60 % de DQO en aguas residuales de curtiembre y atribuido a las características y diseño de la celda electrolítica. Las concentraciones elevadas de iones de cromo en la solución dificultan el proceso de remoción (Golder, Samanta & Ray, 2007; Mollah, 2001). Sin embargo, los tiempos de residencia (15 y 45 min) no parecen influir en la mayor remoción de cromo III y DQO del experimento. Estos resultados podrían explicarse por la acumulación de burbujas de O_2 e H_2 en los electrodos a los 10 min del proceso de EC. Mollah (2001) también observó formaciones de placas de óxido que disminuyeron el transporte de masa entre los electrodos y la solución.

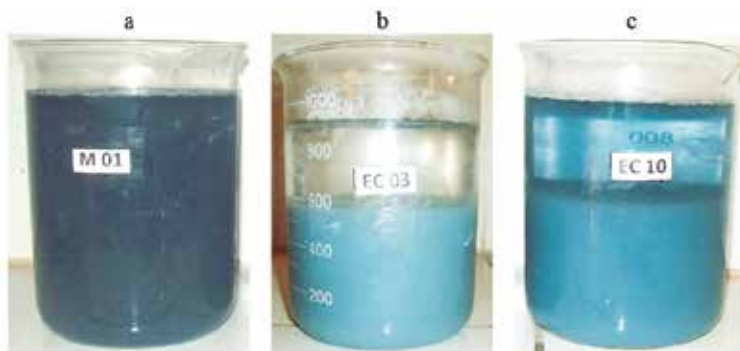


Figura 2. a) muestra inicial del agua residual del proceso de curtiembre, b y c) aguas residuales tratadas por electrocoagulación.

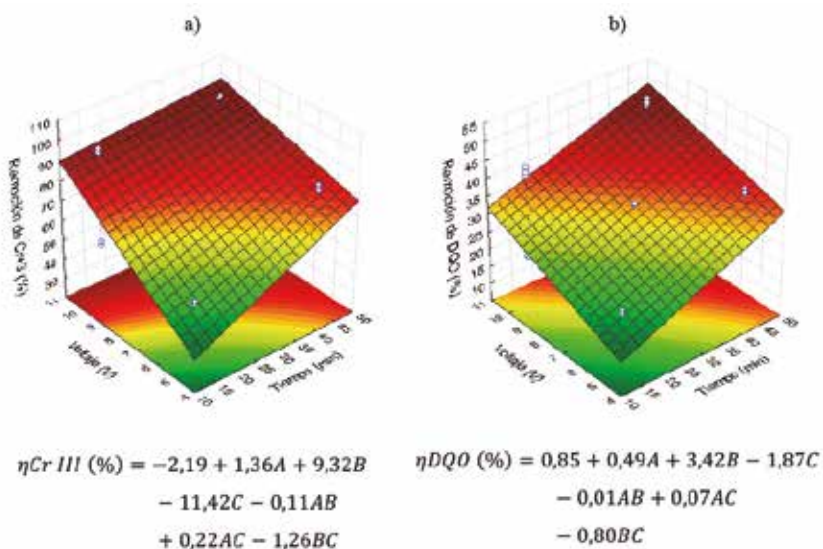
Tabla 3. Análisis físico-químicos y porcentajes de remoción de cromo III y DQO de aguas residuales de curtiembre tratadas por electrocoagulación.

Tratamiento	A (Tiempo)	B (Voltaje)	C (Dilución)	Propiedades físicas			Propiedades químicas			Remoción (η)	
				pH	k (mS cm ⁻¹)	T (°C)	Cromo III (mg L ⁻¹)	DQO (mg L ⁻¹)	Cromo III (%)	DQO (%)	
EC01	15	5	2	5,90 ^c	12,00 ^c	23,83 ^g	230,08 ^c	297,75 ^b	53,16 ^f	21,24 ^f	
EC02	45	5	2	5,87 ^c	11,30 ^h	35,00 ^d	86,30 ^g	229,72 ^f	82,09 ^b	39,23 ^b	
EC03	15	10	2	6,21 ^b	10,60 ⁱ	24,83 ^f	15,09 ^h	217,11 ^g	96,66 ^a	42,59 ^a	
EC04	45	10	2	6,54 ^a	10,50 ⁱ	38,50 ^a	5,60 ^h	197,46 ^g	97,72 ^a	47,78 ^a	
EC05	15	5	0	4,31 ⁱ	34,20 ^c	22,83 ^g	1030,01 ^a	945,90 ^a	29,64 ^h	16,97 ^g	
EC06	45	5	0	4,53 ^h	35,40 ^a	35,83 ^c	567,51 ^d	806,21 ^c	60,73 ^e	28,55 ^e	
EC07	15	10	0	4,55 ^{gh}	35,40 ^a	26,83 ^e	742,52 ^b	914,32 ^b	49,67 ^g	19,64 ^f	
EC08	45	10	0	4,61 ^g	35,20 ^b	38,83 ^a	380,09 ^f	685,43 ^c	74,61 ^c	39,76 ^c	
EC09	30	7,5	1	5,23 ^d	23,20 ^e	27,00 ^e	305,02 ^e	502,38 ^d	68,56 ^d	33,43 ^d	
EC10	30	7,5	1	5,10 ^e	22,60 ^f	26,33 ^c	292,51 ^e	501,40 ^d	70,05 ^d	33,26 ^d	
EC11	30	7,5	1	4,80 ^f	23,40 ^d	26,83 ^e	311,21 ^e	511,44 ^d	68,44 ^d	33,19 ^d	

Promedios seguidos de una letra diferente (a-i) en la misma columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,05$).

Tabla 4. Cuadrados medios (CM) y probabilidades (*P*) para remociones de Cr⁺³ y DQO

Factores	Remoción de Cr ⁺³			Remoción de DQO		
	gl	CM	<i>P</i>	Gl	CM	<i>P</i>
Bloques	2	16,64	0,152	2	9,26	0,325
A: Tiempo	1	2773,07	0,000	1	1130,925	0,000
B: Voltaje	1	3246,63	0,000	1	718,020	0,000
C: Dilución	1	4957,08	0,000	1	792,022	0,000
A×B	1	434,52	0,000	1	6,883	0,359
A×C	1	253,89	0,000	1	27,118	0,076
B×C	1	238,01	0,000	1	95,895	0,002
Error	24	8,17		24	7,859	
Total	32			32		
		R ² = 0,98			R ² = 0,94	

**Figura 3.** Superficies de respuesta y ecuaciones de remoción de cromo III (a) y DQO (b)

CONCLUSIONES

Este estudio muestra que la electrocoagulación de las muestras de aguas residuales de curtiembre permitió remover significativamente el contenido de cromo trivalente y la demanda química de oxígeno, lográndose mejores resultados con mayores diluciones, voltajes y tiempos de residencia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Golder AK, Samanta AN, Ray S. Removal of Cr³⁺ by Electrocoagulation with Multiple Electrodes: Bipolar and Monopolar Configurations. *J Hazard Mater.* 2007 Mar; 141(3): 653-661.
2. Cassano A, Molinari R, Romano N, Drioli E. Treatment of aqueous effluents of the leather industry by membrane processes: a review. *J Membr Sci.* 2001 Jan; 181(1): 111-126.
3. USEPA. Ambient Water Quality Criteria for Chromium, EPA-440/5-80-035, NTIS PB85-227478, Office of Water Regulations and Standards, Criteria and Standards. U.S. Environmental Protection. 1980.
4. Kimbrough DE, Cohen Y, Winer AM, Creelman L, Mabuni C. A Critical Assessment of Chromium in the Environment. *Crit Rev Environ Sci Technol.* 1999; 29(1):1-46.
5. Costa M, Klein CB. Toxicity and Carcinogenicity of Chromium Compounds in Humans. *Crit Rev Toxicol.* 2006 Feb; 36(2):155-163.
6. Mollah MY, Schennach R, Parga JR, Cocke DL. Electrocoagulation (EC) — science and applications. *J Hazard Mater.* 2001; 84(1): 29-41.
7. Patterson JW. Industrial wastewater treatment technology. Second edition ed. Stoneham, MA: Butterworth Publishers, Stoneham; 1985.
8. Mancy KH, Weber WJ. Analysis of Industrial Wastewaters. New York: Wiley, NY; 1971.
9. HACH. Hach Company World Headquarters. Nitrogen-Ammonia, Nessler Method/ Method 8038. [Internet]. 2017 [citado 12 set 2017] Disponible en: <https://www.hach.com/nitrogen-ammonia-reagent-set-nessler/product-downloads?id=7640208228>.
10. HACH. Hach Company World Headquarters. Oxygen Demand, Chemical, Dichromate Method/ Method 8000. [Internet]. 2014 [citado 12 set 2017]. Disponible en: <https://www.hach.com/asset-get.download.jsa?id=7639983816>.
11. EPA. Chromium (AA, Furnace Technique). EPA-NERL: 218.2: Chromium by Graphite Furnace AA. Methods for the Chemical Analysis of Water and Wastes (MCAWW) (EPA/600/4-79/020). [Internet]. 1978 [citado 2 dic 2016]. Disponible en: https://www.nemi.gov/methods/method_summary/5283/.
12. Castro ML, Ikeda K, Suárez D. Metodología para la determinación de Cr (III). Centro Panamericano de Investigación Científica; 1997.
13. Montgomery DC. Design and analysis of experiments. Hoboken: Wiley; 2013.
14. Mendoza B. Tratamiento de aguas residuales procedentes de la planta de curtiembre del Centro de Investigación y Producción de la Facultad de Ingeniería Química. [Tesis de

- pregrado]. Puno: Universidad Nacional del Altiplano; 2009.
15. DS 003-PRODUCE. Aprueban Límites Máximos Permisibles y Valores Referenciales de efluentes para alcantarillado y aguas superficiales para las actividades industriales de cemento, cerveza, curtiembre y papel. Normas legales. Diario Oficial El Peruano. [Internet]. 2002 [citado 5 ago 2011]. Disponible en: <http://diariooficial.elperuano.pe/normas>.
 16. Martínez F. Tratamiento de aguas residuales mediante electrocoagulación y coagulación convencional. Memoria para optar el grado de Doctor en Ingeniería Química. Ciudad Real: Universidad de Castilla la Mancha; 2007.
 17. Arango R. Diseño de una celda de electrocoagulación para el tratamiento de aguas residuales de la industria láctea. *Rev Univ EAFIT*. 2007; 43(147): 56-67.
 18. Gilpavas E. Aplicación de la electroquímica en el tratamiento de aguas residuales. Medellín- Colombia: Universidad EAFIT; 2008

SÍNTESIS DE SACARINATOCOBRE(I)

Mario Ceroni Galloso^{*a}, Jorge R. Angulo Cornejo^a, María N. Lino Pacheco^a,
Claudia C. Villanueva Huerta^a, Augusto G. Huiza Rojas^a

RESUMEN

Se ha obtenido el compuesto de coordinación sacarinatocobre(I), $[\text{Cu}_2(\text{C}_7\text{H}_4\text{SO}_3\text{N})_2]_n$, por reacción de reducción de sulfato de cobre con ácido ascórbico y adición de sacarinato de sodio en medio acuoso. La caracterización se realizó por análisis elemental, espectroscopia fotoelectrónica de rayos X, espectrofotometría infrarroja y voltametría cíclica.

Palabras clave: Cobre, sacarinato, XPS, IR.

SYNTHESIS OF COPPER(I)- SACCHARINATE

ABSTRACT

The coordination compound saccharinatecopper(I), $[\text{Cu}_2(\text{C}_7\text{H}_4\text{SO}_3\text{N})_2]_n$, was obtained by reduction reaction of copper sulfate with ascorbic acid and addition of sodium saccharinate in aqueous medium. The characterization was performed by elemental analysis, X ray photoelectron spectroscopy, infrared spectrophotometry and cyclic voltammetry.

Key words: Copper, saccharinate, XPS, IR.

INTRODUCCIÓN

El sacarinato de sodio, desde 1885, es tal vez el edulcorante más usado en la industria de los productos alimenticios y en la formulación de algunos productos farmacéuticos; por ejemplo, en el endulzamiento de ciertos medicamentos, en la goma de mascar, enjuague bucal, pasta de dientes, aceite de hígado de bacalao y tabaco masticable. Por otra parte, desde 1955 se usa como aditivo en los baños de galvanizado de zinc para aumentar el brillo y la elasticidad de los revestimientos de níquel.¹

La sacarina, mostrada en figura 1, es un compuesto heterociclo de importancia en la industria farmacéutica debido a que tiene en su estructura átomos de C, N, O y S relevantes en la

^a Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Química e Ingeniería Química, Av. Germán Amézaga 375, Lima 1, Perú, mceronig@unmsm.edu.pe

actividad de ciertas drogas². Por ello, la sacarina y sus derivados orgánicos han mostrado muchas propiedades biológicas como inhibidores de: elastasa leucocitaria humana, catepsina grand proteasa, proteinasa³, aldehído deshidrogenasa⁴, agregación plaquetaria⁵, triptasa de los mastocitos humanos⁶, entre otros. Asimismo, se han estudiado propiedades analgésicas de los derivados de sacarina y como antídoto para intoxicación metálica⁸. Por otro lado, en la actualidad se estudia la reactividad de algunos compuestos metálicos de sacarina con el ADN⁹.

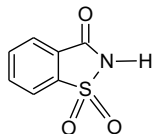


Figura 1. Estructura de la sacarina.

La síntesis de nuevos derivados de la sacarina, tanto los orgánicos como los compuestos de coordinación, son de interés actual en la síntesis química. Debido a que la sacarina es un reactivo barato y muy versátil para la síntesis de nuevos derivados orgánicos heterociclos es posible realizar ataques nucleofílicos al carbono carbonílico¹⁰, la N y O- alquilación han producido muchos compuestos de gran valor para la química médica¹¹ y recientemente se han obtenido nuevos compuestos producto de ciertas modificaciones en el anillo benzenico¹².

La forma iónica de la sacarina (ion sacarinato), desde el punto de vista químico, es muy apreciada debido a su carácter polifuncional, por ello se convierte en un reactivo versátil capaz de coordinar diferentes metales de transición.¹³⁻¹⁴ Existen varios compuestos de sacarina con metales y en el caso de los compuestos con cobre todos los reportados son de cobre (II), pero muy pocos de cobre (I)¹⁵.

PARTE EXPERIMENTAL

Los equipos utilizados fueron los siguientes: Espectrofotómetro infrarrojo con transformada de Fourier Thermo Nicolet iS10, micro analizador elemental Leco Truspec Micro, UV-Vis Thermo Scientific-Helios, X-Ray photoelectron spectroscopy K-Alpha, resonancia magnética nuclear (¹H 200MHz) Varian Gemini 200 y Bas Cyclic Voltammetry (CV) CV-1B-120 Serial 271 Bionalytical Bas Systems.

Los reactivos utilizados fueron de grado reactivo para síntesis y los solventes grado HPLC.

Síntesis de sacarinatocobre(I)

Se preparó una mezcla de ligando reductor, añadiendo 10 mL de solución acuosa de 0,07 g (0,40 mmol) de ácido ascórbico a 10 mL de solución acuosa de 0,19 g (0,79 mmol) de la sal de sacarinato de sodio. Esta mezcla se añade con agitación a una solución de 0,20 g (0,80 mmol) de CuSO₄·5H₂O en 10 mL de agua a temperatura ambiente. Luego de unos instantes

se observó la aparición de una mezcla verde clara que fue variando su tonalidad a amarillo verdoso hasta adquirir una coloración amarillo perene con abundante precipitado. La mezcla se agitó durante 15 minutos más, se filtró, lavó con tres porciones de 10 mL de agua, el producto fue secado en estufa a 50 °C durante una hora y se obtuvo el producto de color amarillo. Rendimiento 90%, p.f. mayor a 300 °C.

Análisis elemental para $C_7H_4SO_3NCu$ calculado: Cu 25,90 C 34,20, H 1,60, N 5,70 y S 13,10%. Encontrado: Cu 25,80 C 34,20, H 1,76, N 5,46 y S 13,00%.

FT-IR (cm^{-1}): 3080 w (CH_{arom}), 1609 s (C=O), 1578 s ($C=C_{arom}$), 1458 m ($C=C_{arom}$), 1296 s (SO_2), 1262 m (C=O), 1146 vs (SO_2), 1115 s (CH), 1049 m (CH), 945 s (CH), 752 s (CH).

UV-Vis λ_{max} (DMF)/nm: 290 y 789.

XPS (eV): N 1s 399, 15 eV; O 1s 532,7 eV y 531,49 eV. S 2p 168,4 eV; C 1s 285,08, 288,21 y 286,01 eV; Cu 2p_{3/2} 932,76 eV.

1H RMN (200 MHz, CD_2Cl_2 , Me_4Si) δ : 7,87 (1 H, d), 7,6 – 7,8 (3H).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El compuesto obtenido corresponde a un sólido de color amarillo intenso que se obtuvo gracias a una reacción *template*, en la que se forma en primer lugar el complejo de sacariantocobre(II) de color verde y luego se produce la reducción de cobre (II) a cobre (I), haciendo que la reacción sea específica. Normalmente los complejos de cobre (I) son de color amarillo y tienden a formar polímeros insolubles. La razón de este actuar se basa en la inestabilidad que presenta la especie Cu^I de asociarse a iones libres que se encuentren en el medio y que pudieran dar productos no deseados, justamente es en este punto donde actúa el ion sacarinato.

Respecto a la solubilidad el compuesto sintetizado es térmicamente inestable en todos los solventes tratados y que se disuelve en frío solo con solventes muy polares y coordinantes como DMF, DMSO y piridina.

El análisis elemental encontrado se aproxima al análisis elemental calculado, con lo cual se obtiene la fórmula empírica $C_7H_4SO_3NCu$. Se sabe, en general, que la estequiometría da pocos indicios sobre la estructura de los compuestos: por ello, este compuesto podría ser mononuclear, binuclear o polinuclear.

La naturaleza de coordinación del cobre (I) es usualmente dos y tres¹⁶, sumado al análisis IR del nuevo complejo que presenta una sola señal del enlace C=O desplazado hacia frecuencias muy bajas (1609 cm^{-1}) lo cual es una evidencia de enlace oxígeno del grupo amido $-NC=O$ unido a cobre. Por ello, posiblemente el compuesto tenga una estructura de naturaleza no

monomérica constituida por unidades fundamentales del tipo $[\text{Cu}(\text{C}_7\text{H}_4\text{SO}_3\text{N})]$, con enlaces $\text{Cu}-\text{N}_{\text{sac}}$ y además el $\text{C}=\text{O}$ del ion sacarinato interactúa también con el Cu^{I} .

En general, los compuesto de cobre (I) (d^{10}) son incoloros, pero pueden ser coloreados a causa del ligando o la aparición de bandas de transferencia de cargas. Como el sacarinato es incoloro, el compuesto amarillo verdoso obtenido debe su color a las transferencias de cargas de átomos dadores como el $\text{C}=\text{O}$ de la sacarina al cobre (I). Por ello, el segundo pico intenso UV-Vis que aparece a 789 nm está ligado a este fenómeno.

El estudio del espectro ^1H RMN indica la presencia del anión sacarinato, se observan las señales de los protones aromáticos. Los protones del tipo (2), (3) y (4) están contenidos en una sola señal ancha y muy intensa con un desplazamiento químico entre 7,6 y 7,8 ppm, mientras que el protón (1) se muestra como un doblete a 7,87 ppm.

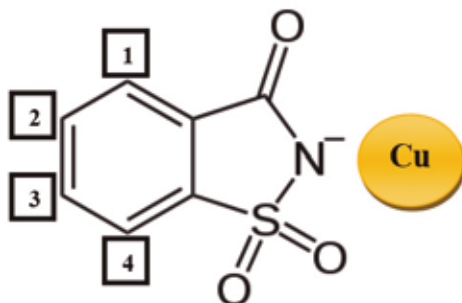


Figura 2. Protones del grupo sacarinato del compuesto obtenido.

En el espectro RMN ^{13}C , si bien las señales son anchas y por ello no se observan los 7 carbonos, se puede apreciar la del carbonilo de la sacarina coordinada al cobre(I) a 166 ppm. La señal del CO del dímero $[\text{Cu}(\text{sac})(\text{PPh}_3)]_2$ ¹⁵ aparece a 168 ppm y en el caso de la sacarina libre aparece a 161 ppm. Este dato corrobora la gran interacción de ese grupo carbonilo con el cobre, tal como se observó también en el FTIR. Por ello, ambos datos indican una coordinación del grupo carbonilo al cobre(I).

Se ha realizado voltamperogramas cíclicos (CVs) de 1000 ppm del complejo obtenido en acetonitrilo 6,0 % en el rango de potencial de -1,5 a 1,5 V y a diferentes velocidades de barrido (75, 100 y 300 mV/s). Se ha determinado también que todos los voltamperogramas realizados no muestran la oxidación ni reducción íntegra del ligando sacarinato ni mucho menos la descomposición del complejo para el rango del potencial de -1,5 a 1,5 V. Igualmente, se puede observar que la relación de picos de corriente ($I_{\text{pc}}/I_{\text{pa}}$) tiene una ligera aproximación a 1 y los valores de $\Delta E (= |E_{\text{pa}} - E_{\text{pc}}|)$ son muy altos en relación al sistema reversible (60 mV). Esto sugiere, por consiguiente, que el fenómeno está relacionado al salto de solo un electrón cuya transferencia no está en equilibrio y es ligeramente rápida. Además, se puede observar que en cada uno de los casos los potenciales de pico anódico y catódico son independientes

de la velocidad de barrido. Por lo tanto, con todos los datos obtenidos se puede considerar que el compuesto exhibe solamente electroactividad en el centro metálico pero el sistema redox Cu(II)/Cu(I) se orienta mejor al comportamiento cuasi-reversible.

Por otro lado, para el espectro XPS de Cu $2p^{3/2}$ (figura 3) confirma que la señal a 932,76 eV corresponde únicamente a la presencia de CuI coordinado.¹⁷ Las señales XPS para el O1S confirman la formación de un enlace Cu-O (532,7 eV)¹⁷; a 531,80 eV se observa la señal de doble intensidad que la señal del anterior es asignada al SO₂. El XPS para el N1s indica la presencia de enlace N-Cu a 399,15 eV.

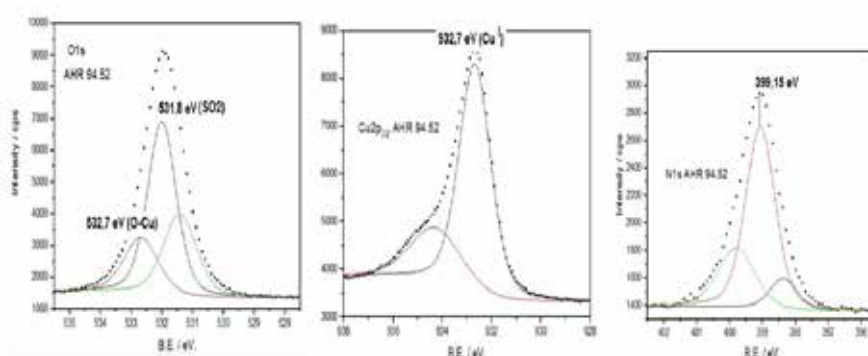


Figura 3. Señales XPS Cu $2p_{3/2}$, N1s y O1s del complejo $[\text{Cu}_2(\text{C}_7\text{H}_4\text{SO}_3\text{N})_2]_n$

Por el análisis del IR y XPS se puede afirmar que el compuesto obtenido tiene el cobre en estado de oxidación +1 y está unido a través del nitrógeno y oxígeno del grupo C=O del sacarinato, formando un puente. Se trataría, en realidad, de una estructura básica dimérica mostrada en la figura 4.

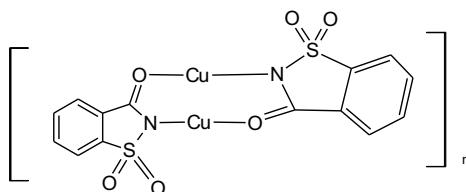


Figura 4. Estructura dimérica del compuesto $[\text{Cu}_2(\text{C}_7\text{H}_4\text{SO}_3\text{N})_2]_n$

La estructura dimérica de cobre(I) donde hay enlaces Cu-O=C y Cu-N, ambos con dos sacarinas ya fue reportada en el compuesto $[\text{Cu}(\text{sac})(\text{PPh}_3)]_2$ ¹⁵, donde además cada cobre coordina con una trifenilfosfina. Asimismo, este tipo de enlace se encuentra en el compuesto de coordinación de cobre(II) en $[\text{Cu}_2(\text{C}_6\text{H}_4\text{COSO}_2\text{N})_4(\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_2)_4]$ ¹⁸.

CONCLUSIONES

Se ha obtenido un nuevo compuesto de coordinación entre el ion sacarinato y el cobre(I) mediante una reacción de reducción *template*, el cual genera el complejo de fórmula $[\text{Cu}_2(\text{C}_7\text{H}_4\text{SO}_3\text{N})_2]_n$ con una estructura probablemente dimérica donde el sacarinato actúa como un ligando puente a través del N y del C=O.

Los datos de la voltametría cíclica indican que el compuesto exhibe solamente electroactividad en el centro metálico pero el sistema redox Cu(II)/Cu(I) se orienta mejor al comportamiento cuasi-reversible.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen a Innóvate Perú por el contrato N° 364-PNCP-PIBA-2014. Asimismo, al Dr. Lothar Hennig de la Universidad de Leipzig, Alemania, por los espectros RMN.

BIBLIOGRAFÍA

1. Roth K, Lück E. Die Saccharin-Saga. Chem Unserer Zeit. 2011; 45:406-423.
2. Yeung K, Meanwell NA, Li Y, Gao Q. A facile construction of 4-hydroxymethylbenzothiazolone-1,1-dioxide. Tetrahedron Lett. 1998; 39:1483-1486. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(98\)00011-2](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(98)00011-2).
3. Groutas WC, Kuang R, Ruan S, Epp JB, Venkataraman R, Truong TM. Potent and specific inhibition of human leukocyte elastase, cathepsin G and proteinase 3 by sulfone derivatives employing the 1,2,5-thiadiazolidin-3-one 1,1 dioxide scaffold. Bioorg Med Chem. 1998;6: 71-661.
4. Nagasawa HT, Kawle SP, Elberling JA, DeMaster EG, Fukuto JM. Prodrugs of nitroxyl as potential aldehyde dehydrogenase inhibitors vis-a-vis vascular smooth muscle relaxants. J Med Chem. 1995;38: 71-1865.
5. Sunkel CE, Fau de Casa-Juana M, Cillero FJ, Priego JG, Ortega MP. Synthesis, platelet aggregation inhibitory activity, and in vivo antithrombotic activity of new 1,4-dihydropyridines. J Med Chem. 1988;31: 90-1886.
6. Combrink KD, Gülgeze HB, Meanwell NA, Pearce BC, Zulan P, Bisacchi GS, et al. 1,2-Benzothiazol-3-one 1,1-dioxide inhibitors of human mast cell tryptase. J Med Chem. 1998;41:60-4854.
7. González G, Lyndon C, Sunkel C. Hepatic Kinetics of SCP-1(N-[alpha-(1,2-benzothiazol-3(2H)-ona-1,1-dioxide-2-yl)-acetyl]-p-aminophenol) compared with acetaminophen in isolated rat liver. Eur J Pharm Biopharm. 1998;46:7-293.
8. Malik KMA, Haider SZ, Hossain MA, Hursthouse MB. Dipotassium Sodium Trisaccharinate Monohydrate. Acta Cryst. 1984;40:1696-1698.
9. Kumar P, Dasari S, Patra AK. Ruthenium (II) complexes of saccharin with dipyrroquinoxaline and dipyrrophenazine: Structures, biological interactions and

- photoinduced DNA damage activity. *Eur J Med Chem.* 2017;136:52-62.
10. Maiti S, Rambabu D, Prasad ASG, Rao VG, Rao MVB. Synthesis and Utilization of Saccharin Derivatives. *JOAC.* 2012;1:467-477.
 11. Jakopin ž, Dolenc MS. Advances in the Chemistry of Saccharins: From Synthetic Novelties Towards Biologically Active Compounds. *Curr Med Chem.* 2010;17:651-671.
 12. Rankin GM, Poulsen S. Synthesis of Novel Saccharin Derivatives. *MDPI.* 2017; 22:516. DOI: 10.3390/molecules22040516.
 13. Baran EJ, Yilmaz VT. Metal complexes of saccharin. *Coord Chem Rev.* 2006; 250:1980-1999.
 14. Jovanovski G. Metal Saccharinates and Their Complexes with N-donor Ligands. *CCACAA.* 2000; 73:843-868.
 15. Falvello LR, Gomez J, Pacual I, Tomás M, Urriolabeitia, Schultz AJ. Saccharinate as a versatile Polyfunctional Ligand. Four Distinct coordinations Modes. Misdirected Valence, and a Dominant Aggregate Structure from a single Reaction System. *Inorg Chem.* 2001; 40: 4455-4463.
 16. Emeléus HJ, Sharpe AG. *Advances in Inorganic Chemistry and Radiochemistry.* 17th Ed. Cambridge: Editorial Elsevier; 1975.
 17. Lino-Pacheco MN. Síntesis y caracterización de ligandos quelantes y sus complejos metálicos: estructura molecular del complejo bis[N-benzoil-O-metil-N'-(p-nitrofenil)-isoureato]cobre(II) [tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Química e Ingeniería Química; 2000.
 18. Liu SH, Huang JL. Structure of a Copper Complex Containig Saccharin and Imidazole: $[\text{Cu}_2(\text{C}_6\text{H}_4\text{COSO}_2\text{N})_4(\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_2)_4]$. *Acta Cryst.* 1991; C47:41-43.

SÍNTESIS DE 3-NITRO-N-(1,1,3-TRIOXO-1,3-DIHDRO-2H-1λ⁶,2-BENZOTIAZOL-2-CARBOTIOIL)BENZAMIDA

Jorge R. Angulo-Cornejo^a, Mario Ceroni-Galoso^a, María N. Lino-Pacheco^a,
Claudia C. Villanueva-Huerta^a, Carlo Felipe Tovar-Taboada^a

RESUMEN

Se ha sintetizado el compuesto 3-nitro-N-(1,1,3-trioxo-1, 3-dihidro- 2H-1λ⁶,2-benzotiazol-2-carbotioil)benzamida que se caracterizado por análisis elemental, espectroscopia infrarroja, resonancia magnética nuclear ¹H y ¹³C. La estructura del nuevo compuesto presenta una señal característica en el espectro 1H-RMN del grupo N-H a campos muy desplazados por la presencia de un hidrógeno muy desprotegido a 11,9 ppm, debido a la existencia de puente de hidrógeno entre el C=O del grupo de la sacarina y el grupo N-H.

Palabras clave: Benzoiltiourea, Sacarina, 3-Nitro-benzoil, Ligando N, S, O dador.

SYNTHESIS OF 3-NITRO-N-(1, 1, 3-TRIOXO-1,3-DIHYDRO-2H-1λ⁶,2-BENZOTHIAZOLE-2-CARBOTHIOYL)BENZAMIDE

ABSTRACT

The novel compound 3-nitro-N-(1, 1, 3-trioxo-1, 3-dihydro-2H-1λ⁶, 2-benzothiazole-2-carbothioyl)benzamide has been synthesized and is characterized by elemental analysis, infrared spectroscopy, nuclear magnetic resonance ¹H and ¹³C. The structure of the new compound shows a characteristic signal in the 1H-NMR spectrum of the NH group to fields highly displaced by the presence of a highly deprotected hydrogen at 11.90 ppm, due to the existence of a hydrogen bond between the C = O of saccharin group and the NH group.

Key words: Benzoylthiourea, Saccharin, 3-Nitro benzoyl, Ligand N, S, O donor

INTRODUCCIÓN

La química de la aciltioureas ha despertado un interés especial por sus potenciales aplicaciones¹, especialmente por su facilidad para sintetizarlos sin considerar condiciones especiales de temperatura, atmosfera inerte, etc.

^a Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Química e Ingeniería Química, Av. Germán Amézaga 375, Lima 1, Perú, joraceru@yahoo.es

La importancia que tienen estos compuestos es su estructura que le brinda enormes posibilidades de unión con iones metálicos, debido a que presentan grupos relevantes desde el punto de vista de su naturaleza dura y blanda que le dan importantes propiedades^{1,2}. El hecho de coexistir el S (base blanda), O (base dura) y N (base dura) en una misma molécula hace que el comportamiento de estos en el ligando sea moderado.

Angulo y sus colaboradores han realizado importantes estudios en la síntesis de este tipo de compuestos N, S y O dadores y sus complejos metálicos^{3,4}.

En la literatura se han observado importantes aplicaciones de las aciltioureas, destacando entre ellas las posibilidades de aplicación en medicina⁵, ya que han demostrado propiedades tuberculostáticas⁶, antibacterianas y antiparasitarias muy notables⁷; lo que ha motivado el interés para combinar las conocidas capacidades de la sacarina y sus derivados con las potencialidades que ofrecen las aciltioureas.

La sacarina es un compuesto heterocíclico que ha sido usado como edulcorante desde 1885; asimismo, es un compuesto de mucha utilidad farmacéutica, tanto como analgésico así como bactericida; adicionalmente, los compuestos metálicos de la sacarina han sido estudiados debido a su potencial uso como antídoto para tratar el envenenamiento con metales tóxicos⁸.

PARTE EXPERIMENTAL

El punto de fusión fue tomado en un aparato PFUS-150604, el espectro infrarrojo fue tomado en un aparato FT-IR Nicolet iS-10 en los intervalos de 4000 a 400 cm⁻¹. Los espectros del ligando ¹H-RMN, ¹³C, APT, H,H-COSY, HSQC y HMBC se obtuvieron de un espectrómetro VARIAM MERCURY 400 plus (400 MHz para ¹H y 100 MHz para ¹³C en DMSO-d₆). El análisis elemental se realizó en un Analizador Elemental C, N, H, S Perkin Elmer 2400.

El 3-nitro cloruro de benzoilo, el tiocianato de potasio y la sacarina son reactivos para síntesis mientras el acetonitrilo utilizado como solvente presenta grado HPLC.

Síntesis del ligando 3-nitro-N-(1, 1, 3-trioxo-1,3-dihidro- 2H-1λ⁶,2-benzotiazol-2-carbotioil)benzamida

Se mezclan 0,50 g (2,7 mmol) de cloruro de 3-nitro benzoilo con 0,26 g (2,7 mmol) de tiocianato de potasio en 20 mL de acetonitrilo y se reflujo durante 2 horas, luego se filtró el precipitado de cloruro de potasio y se lavó dos veces con porciones pequeñas de acetonitrilo caliente. A la solución amarilla resultante se le agregó 0,49 g (2,7 mmol) de sacarina en 10 mL de acetonitrilo y 0,38 g (2,7 mmol) de sulfato de sodio anhidro. Toda la mezcla se mantuvo en agitación durante tres horas en baño de hielo, luego se filtró el sulfato de sodio y la solución se dejó reposar hasta la aparición de un precipitado amarillo-naranja. El compuesto fue recrystalizado en una mezcla de acetonitrilo y cloroformo en relación 1:1. Se obtuvo un rendimiento del 56 %. Punto de fusión: 191-193 °C.

Análisis elemental calculado para $C_{15}H_9O_6N_3S_2$: C 46,03; H 2,32; N 10,74%. Encontrado: C 46,18 ; H 2,62; N 10,36%.

FT-IR (cm^{-1}): 3429w (N-H); 3086 w ($C_{Ph}-H_{aromatico}$); 1739 m ($C=O_{tiourea}$); 1691 w ($C=O_{sac}$); 1612 m, 1464 m ($C=C_{Ph}$); 1464 m (N-H Flexion); 1348 s ($C_{Ph}-NO_2$); 1215 m ($C=S$); 1128 m (S=O).

1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) 11,90 (s, 1H, N-H); 8,61 (s, 1H, o - Ph_{NO_2}); 8,46 (J=4Hz, t, 1H, p - Ph_{NO_2}); 8,32 (J=6Hz, d, 1H, o - Ph_{NO_2}); 8,10 (J=8Hz, d, 1H, o - Ph_{sac}); 7,95 (J=6Hz, t, 1H, p - Ph_{sac}); 7,94 (J=4Hz, d, 1H, o - Ph_{sac}); 7,90 (J=4Hz, t, 1H, m - Ph_{sac}); 7,76 (J=8Hz, t, 1H, m - Ph_{NO_2}).

$^{13}C\{^1H\}$ – APT – RMN (100 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) 165,9 (CS); 162,2 (CO); 148,3 ($C=O_{sac}$); 140,5 ($ipso$ - Ph_{NO_2}); 135,6 ($ipso$ - $Ph_{C=O}$); 132,8 (C_{ipso} - SO_2); 128,9 (C_{ipso} - $C=O_{sac}$); 135,8 (p - $ipso$ - Ph_{NO_2}); 130,9 (m - $ipso$ - Ph_{NO_2}); 127,7 (p - $ipso$ - $Ph_{C=O}$); 121,3 (o - $ipso$ - Ph_{NO_2}); 124,9 (o - C_{ipso} - SO_2); 135,3 (m - C_{ipso} - SO_2); 134,7 (p - C_{ipso} - SO_2); 122,6 (o - C_{ipso} - $C=O_{sac}$).

DISCUSIÓN Y RESULTADOS

Las reacciones que ocurren para la formación del nuevo ligando 3-Nitro-N-(1, 1, 3-trioxo-1,3-dihidro-2H-1 λ ,6,2-benzotiazol-2-carbotioil)benzamida se muestran en la figura 1.

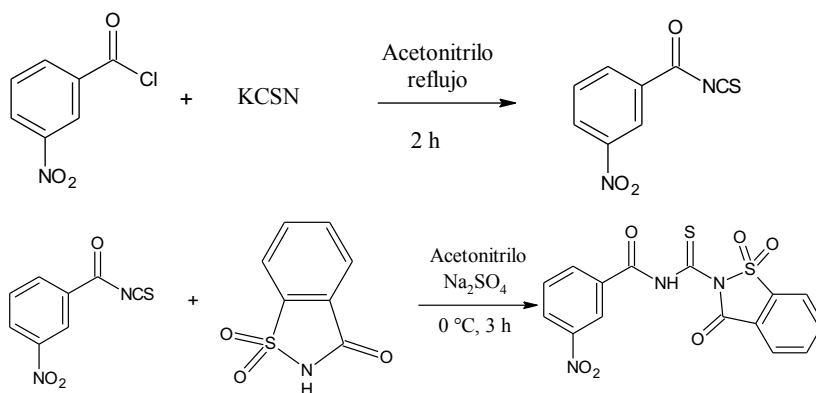


Figura 1. Secuencia de reacciones para obtener 3-nitro-N-(1,1,3-trioxo-1,3-dihidro-2H-1 λ ,6,2-benzotiazol-2-carbotioil) benzamida.

Los resultados obtenidos en el espectro FT-IR evidencian la presencia de grupos funcionales característicos de la aroiltiourea: IR ν/cm^{-1} : ν (N-H) 3429, ν (C-H aromático) 3086 ν (C=O) 1691 ν (C-NO₂) 1348 ν (C=S) 1215 además de los grupos ν (C=O) 1739 ν (S=O) 1128 típicos de la sacarina⁹.

El espectro 1H-RMN muestra el desplazamiento del grupo N-H a 11,90 ppm característico de las aroiltioureas con aminas primarias¹⁰. Este desplazamiento a campos bajos se puede explicar mediante la presencia de un enlace puente de hidrógeno intramolecular entre el C=O de la sacarina y el hidrógeno del N-H, tal como se muestra en la figura 2.

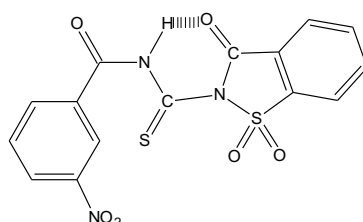


Figura 2. Estructura de 3-nitro-N-(1,1,3-trioxo-1,3-dihidro- 2H-1λ⁶,2-benzotiazol-2-carbotioil) benzamida.

Este puente de hidrógeno causa un desplazamiento a menor número de onda del grupo C=O de la sacarina (de 1725 cm^{-1} a 1691 cm^{-1}) en el espectro FT-IR^{11,12}.

Más información nos dan los espectros RMN ¹³C y APT encontrando al grupo C=S a 165,9 ppm y al grupo C=O a 162,2 ppm, estos desplazamientos son próximos a los encontrados para C=S y C=O en varias aroiltioureas sustituidas^{13,14} e incluso en aroiltioureas sustituidas con grupos desactivadores como el fluor^t. También encontramos al grupo C=O de la sacarina a 148,3 ppm y los desplazamientos de los carbono cuaternarios C1 y C2 a 128,9 ppm y 132,8 ppm, respectivamente.

El análisis elemental confirma la presencia del porcentaje de los elementos que se esperaban obtener, con lo cual se concluye que se ha obtenido un nuevo ligando derivado de las aroiltioureas y de la sacarina cuya estructura está mostrada en la figura 2.

CONCLUSIONES

Por la reacción del isocianato de 3-nitro-benzoilo y la sacarina se ha obtenido el ligando 3-nitro-N-(1, 1, 3-trioxo-1,3-dihidro-2H-1λ⁶, 2-benzotiazol-2-carbotioil)benzamida, la cual ha sido caracterizada por medio de punto de fusión, análisis elemental, espectroscopia FT-IR y ¹H-RMN y ¹³C, lo cual ha confirmado la formación de un nuevo compuesto derivado de las aroiltioureas y la sacarina.

Este nuevo ligando, debido a sus propiedades de quelato, podría ser muy reactivo con los iones metálicos de interés como el Cu^{II} , Fe^{II} , Fe^{III} y Ag^{I} .

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen a INNOVATE PERU por el financiamiento del contrato N° 364-PNICP-PIBA-2014. Asimismo, al Dr. Lothar Hennig de la Universidad de Leipzig, Alemania, por el registro de los espectros RMN.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lino MN. Síntesis y caracterización de ligandos quelantes y sus complejos metálicos estructura molecular del complejo bis [N-benzoil-O-metil-N'-(p-nitrofenil)-isoureato] cobre (II). [Tesis de Maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Química e Ingeniería Química; 2000.
2. Anaya F, Angulo-Cornejo J. Extracción de cobre y plata con benzoiltiureas disustituidas. *Rev Per Quím Ing Quím.* 2002; 5(1): 23-28.
3. Angulo-Cornejo J, Ayala-León K, Richter R, Böhlig H, Hennig L, Beyer LZ. Hydrogen Bonds in 1,1-Bis(2-hydroxyethyl)-3-benzoylthiourea and its Nickel(II)- and Copper(II)-Chelate Complexes. *Anorg Allg Chem.* 2005; 631: 3040-3045.
4. Angulo-Cornejo J. Síntesis de ligandos N, O y S dadores y sus complejos metálicos. *Rev Soc Quím Perú.* 2007; 74(3): 249-258.
5. Birkett DP, Jacobine AF. Accelerators for two step adhesive systems. US. WO2014004311 A1, 21 June, 2013
6. Angulo-Cornejo JR, Lino-Pacheco MN, Sosa F, Bazalar D. Acción tuberculostática y antibacteriana de la 1, 1 dietil-3-benzoiltiurea. *Rev Soc Quím Perú.* 2004; 70(4): 184-188.
7. Angulo-Cornejo JR, Lino-Pacheco MN, Quiroz-Huamán R, Bazalar-Velásquez D. 1-(nitro-fenil)-3-benzoiltiurea y 1-(4-nitro-fenil)-3-benzoiltiurea: comparación de la actividad antibacteriana. *Rev Soc Quím Perú.* 2006; 72(3):117- 128.
8. Malic KMA, Haider SZ, Hossain MA, Hursthouse M. Dipotassium Sodium Trisaccharinate Monohydrate, $\text{*K}_2\text{Na}(\text{C}_7\text{H}_4\text{NO}_3\text{S})_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$. *Acta Crystallogr. Sect. C.* 1984; 40: 1696-1698.
9. Arief MMH. Synthesis of some saccharin derivatives of expected biological activity based on N-(Saccharinyl)-acetic acid azide. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat Elem.* 1996; 114: 129-134.
10. Hu JH, Yan NP. Crystal Structure and Properties of N-Phenyl-N'-(2-nitrobenzoyl) thiourea. *Asian J Chem.* 2013; 25(16): 9009-9012.
11. Aydin F, Tunoglu N, Aykac D. Synthesis of Two Novel Aroyl Thioureas and Their Use as Anion Binding Receptors. *Asian J Chem.* 2013; 25(5): 2455-2458.
12. Kurt G, Sevgi F, Mercimek B. Synthesis, characterization, and antimicrobial activity of new benzoylthiourea ligands. *Chem Pap.* 2009; 63(5): 548-553.

13. Schroder U, Richter R, Angulo-Cornejo J, Beyer L. Reacción del Bis[n-benzoil-(di)tiouretanato] Níquel(II), con cloruro de tionilo y fosgeno: formación de tiosulfanos, disulfanos y N-etóxicarbonil-cloruro benzimidoílico. *Rev Soc Quím Perú*. 2004; 70(1). 27-38.
14. Angulo-Cornejo J R, Ayala-Leon K, García-Herbosa G, Cuevas-Vicario JV, Diez V, Richter R, et al. Synthesis and structural characterization of N-[4-(2-Hydroxyethyl)-1,2,4-oxathiazinan-3-ylidene]-benzamide and its Mercury(II) Chloride adduct. *Z Naturforsch B*. 2005; 60(9): 945-950.
15. Hennig L, Ayala-León K, Angulo-Cornejo JR, Richter R, Beyer LJ. Fluorine hydrogen short contacts and hydrogen bonds in substituted benzamides. *Fluor Chem*. 2009; 130 (5): 453-460.

USO DEL DISEÑO FACTORIAL EN LOS ENSAYOS DE LIBERACIÓN CONTROLADA DEL ÁCIDO 1,3 INDOLACÉTICO CARGADO EN MATRICES DE QUITOSANO

Ana Valderrama Negrón^a, Christian Jacinto Hernández^a,
Susana Ponce García^b, Luis Manrique Pollera^a

RESUMEN

En este trabajo se utilizó el diseño factorial de experimentos para la preparación de partículas de quitosano cargadas con la hormona vegetal ácido 1,3-indolacético (AIA) y posteriormente estudiar la liberación controlada en agua. Las partículas de quitosano cargadas se prepararon disolviendo la hormona y el quitosano en ácido acético haciéndose gotear luego en solución de NaOH con agitación constante. Se utilizó el Diseño Factorial 2³ cuyos factores a estudiar fueron: la concentración de quitosano (% quitosano), tiempo de gelación en NaOH (tiempo en NaOH) y concentración de tripolifosfato de sodio (TPP) (% de TPP). Como respuesta se obtuvo la cantidad de hormona liberada en dos horas, medida espectrofotométricamente a 285 nm. Los resultados del diseño experimental indicaron que los tres factores influyen en la cantidad liberada de AIA en dos horas, en donde a mayor concentración de quitosano aumenta la velocidad de liberación, mientras que a mayor concentración de TPP y mayor tiempo de gelación en NaOH disminuye la velocidad de liberación.

Palabras clave: Diseño factorial, liberación controlada, ácido 1,3 indolacético, quitosano.

ABSTRACT

In this work we used the factorial design of experiments for the preparation of chitosan particles loaded with the vegetable hormone 1,3-indoleacetic acid (AIA) to study its controlled release in water. The chitosan particles were prepared by dissolving the hormone and chitosan in acetic acid and then dripping in NaOH solution with constant stirring. Factorial Design 2³ was used to study the concentration of chitosan (% chitosan), gelation time in NaOH (time in NaOH) and sodium tripolyphosphate (TPP) concentration (% of TPP). In response, the amount of hormone released in 2 hours, measured spectrophotometrically at 285 nm, was obtained. The results of the experimental design indicated that the three factors influence the released amount of AIA in 2 hours, where a higher concentration of chitosan increases the rate of release, while the higher concentration of TPP and longer gelation time in NaOH decreases the release rate.

Key word: Factorial design, controlled release, 1,3 indoleacetic acid, chitosan.

^a Facultad de Ingeniería Industrial, Instituto de Investigación, Universidad de Lima. Av. Javier Prado Este 4600, Urbanización Fundo Monterrico Chico, Santiago de Surco, Lima, Perú, avalderr@ulima.edu.pe.

^b Facultad de Ciencias, Escuela Profesional de Química, Universidad Nacional de Ingeniería Av. Túpac Amaru 210, Lima 25, Perú.

INTRODUCCIÓN

Las hormonas vegetales (fitohormonas) son un grupo de sustancias orgánicas de origen natural, que influyen en los procesos de crecimiento, diferenciación y desarrollo de un vegetal, estas son: auxinas, giberelina, citoquininas, ácido abscísico y etileno¹. La administración exógena de estas hormonas ganó relevancia a partir de los años 90; sin embargo, su uso fue limitado debido a que sus efectos biológicos tienen una estrecha región de concentración efectiva. En los últimos años, sistemas de liberación controlada de agroquímicos, en general, han recibido una gran atención. Esta tecnología tiene la ventaja de proteger de la degradación la sustancia a liberar, además de dosificar en forma adecuada a la planta, logrando mayor eficiencia en el uso de estas hormonas y por tanto un ahorro económico².

Entre los sistemas de liberación controlada resaltan las matrices biopoliméricas de quitosano, un polisacárido cuyas propiedades de biocompatibilidad, biodegradabilidad, no tóxico, y mucoadhesivo hizo que tenga un gran progreso para aplicaciones en medicina y farmacia³.

En las aplicaciones para agricultura, gran parte de la literatura se refiere al quitosano, el cual, en 1978, se propuso como membrana protectora para la liberación controlada de agroquímicos. Posteriormente, se utilizaron películas y perlas fabricadas con hidrogeles de quitosano y sus derivados para la liberación controlada de urea y atrazina, un herbicida de uso común para controlar la cizaña en el maíz. Las matrices usadas sirvieron para controlar la liberación de los agroquímicos estudiados y extender su tiempo de liberación hasta 180 veces mayores que cuando estos se aplicaban solos. En el 2001, el quitosano tuvo efectos beneficiosos en plantas florales y de cosechas. Hacia el 2007 se estudió la adsorción de paraquat con polímeros naturales, y al año siguiente la quitina y el quitosano mostraron algunas potencialidades para la agricultura en Latinoamérica⁴. En el 2011, el quitosano aparece registrado por la Agencia de Protección Ambiental Estadounidense (EPA) como bioplaguicida para cultivos de uvas y fresas. Al año siguiente, se aplicó la microencapsulación con alginato en alimentos⁵, y en el 2014 se probó el efecto del recubrimiento de quitosano y alginato en la liberación controlada de fertilizantes aplicados al suelo⁶.

A pesar de estos logros, aún existe un gran desconocimiento de sus aplicaciones potenciales en el encapsulamiento de ingredientes activos para la agricultura⁷. En la actualidad se tienen ciertas referencias del estudio de quitosano^{8,9} como matrices para la liberación controlada de algunos agroquímicos mientras que en el Perú, aún no se ha reportado el uso del quitosano/alginato en la liberación controlada de hormonas vegetales.

Actualmente, varios trabajos que estudian el efecto de algunas variables que influyen en la liberación controlada, son desventajosos, debido a que utilizan muchos experimentos, no evalúan cuantitativamente el efecto que tienen estas variables y si hay algún efecto de interacción¹⁰. El Diseño Factorial de Experimentos es una herramienta estadística que nos ofrece una metodología de la experimentación; asimismo, del procedimiento para la interpretación de los resultados obtenidos, realizando menor cantidad de experimentos con la mayor fiabilidad de sus resultados. Algunos trabajos realizados en este sentido han sido

reportados por Kincl¹¹ y Iurian¹². Con el diseño factorial se puede hacer los estudios de los efectos de cada uno de las variables (efectos principales) y de conexión entre ellas (efectos de interacción), esta última importante debido a que muchas variables actúan en modo de interacción e influyen en la liberación controlada.

En el presente trabajo se han preparado micropartículas de quitosano cargadas con el ácido 1,3-indolacético utilizándose el diseño factorial 2³ a dos niveles para evaluar el efecto de la concentración del quitosano (biopolímero), concentración del NaOH (como agente gelificante) y tripolifosfato de sodio (como agente entrecruzante) en la velocidad de liberación en agua.

PARTE EXPERIMENTAL

Reactivos

El quitosano de mediano peso molecular tenía 1197 kDa medido viscosimétricamente y 87 % de grado de desacetilación medido por titulación potenciométrica con NaOH. El ácido 1,3 indolacético (AIA) y Tripolifosfato de sodio (TPP) fueron adquiridos de SIGMA. Hidróxido de sodio y ácido acético de grado analítico de FERMONT.

Equipos

Los espectros UV fueron medidos en un espectrofotómetro modelo UV- 1800, SHIMADZU CORPORATION.

Procedimiento experimental

a. Curva de calibración:

Se disolvieron 8,8 mg de hormona AIA en 50 mL de agua, luego se tomó 1 alícuota de 1 mL y se llevó a 25 mL con agua y se hizo un barrido espectral entre 190 y 400 nm. Una vez determinada la longitud de onda de trabajo, se tomaron ciertos volúmenes para generar la curva de calibración de ALTA concentración: 2.5, 2, 1.5, 1 y 0.5 mL llevados a un volumen 25mL con agua. Para generar la curva de calibración de BAJA concentración se tomaron los volúmenes: 0, 125, 250, 375, 500 y 625 μ L llevando a un volumen final de 25mL con agua.

b. Ensayo de estabilidad de la hormona en medio acuoso:

Se disolvieron 8,8 mg de hormona AIA en 50 mL de agua, luego se tomó 1 alícuota de 1 mL y se llevó a 25 mL con agua y se hizo un barrido espectral entre 190 y 400 nm durante un periodo de cuatro días. El experimento se llevó a cabo en duplicado, donde una solución fue expuesta a la luz y otra se mantuvo en la oscuridad.

c. Preparación de las partículas a partir del quitosano disuelto con la hormona

Se disolvió 1 g de quitosano en 50 mL ácido acético al 2% adicionando 0,05 g de hormona AIA en agitación hasta su completa disolución. Luego se dejó gotear sobre una solución de NaOH 2M en agitación constante a 1 y 3 horas de reposo. Las partículas se lavaron con agua abundante hasta obtener un pH neutro y finalmente se reticularon con tripolifosfato de sodio

(TPP, pH=6,8) al 1 % y al 3 % por 24 horas. Se filtraron, lavaron y secaron al vacío en un desecador. Todo este proceso se llevó a cabo con los materiales cubiertos con papel aluminio para evitar el contacto con la luz.

d. Experimento de liberación de la hormona

El estudio de la liberación controlada se llevó a cabo en agua. A 25 mL de agua se agregaron 60 mg de las partículas cargadas con AIA y se agitó a 130 rpm en agitador magnético a temperatura ambiente. A distintos tiempos, se tomó 1 mL de la solución acuosa y se reemplazó con 1 mL de agua. Se obtuvo el espectro UV y se midió la absorbancia a 280 nm.

e. Diseño experimental

Se realizó un diseño factorial 2³ para evaluar el efecto de tres factores que influyen en la preparación de las partículas cargadas: concentración del quitosano (% de quitosano), tiempo de gelación en hidróxido de sodio (tiempo) y porcentaje de tripolifosfato de sodio (% TPP). La preparación de las partículas cargadas se realizó según el procedimiento general del apartado c, los niveles de cada uno de los factores se encuentran en la tabla 1:

Tabla 1. Valores de los factores estudiados a Nivel (-) y Nivel (+)

Factor	Nivel (-)	Nivel (+)
% quitosano	1,5	2,0
tiempo	1 h	3 h
% TPP	1 %	3 %

Para el diseño factorial 2³ se prepararon ocho matrices de partículas cargadas para realizar ocho experimentos de liberación a los niveles indicados en la tabla 1, y se codificaron según se muestra en la tabla 2.

A partir de cada una de estas matrices se realizaron las pruebas de liberación controlada de la AIA (tal como se indica en párrafo d) en diferentes intervalos de tiempo. La cantidad liberada en un lapso de 120 minutos se tomó como respuesta para el estudio del diseño factorial 2³.

Tabla 2. Matriz del Diseño Experimental para la preparación de las partículas de quitosano cargadas con AIA

No	Muestra	X1 (% Quitosano)	X2 (tiempo en NaOH)	X3 (% TPP)
1	M1	1,5	1 h	1
2	M2	2,0	1h	1
3	M3	1,5	3 h	1
4	M4	2,0	3 h	1
5	M5	1,5	1 h	3
6	M6	2	1h	3
7	M7	1,5	3 h	3
8	M8	2,0	3 h	3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

a. Curva de calibración:

La figura 1 (a) muestra el espectro UV de la hormona (AIA) disuelta en agua donde se puede apreciar una banda de mayor absorbancia en $\lambda_1=228.7\text{nm}$ correspondiente a las transiciones $n \rightarrow \pi$ del grupo carboxílico y la segunda de menor absorbancia a $\lambda_2=280.9\text{ nm}$ correspondiente a las transiciones $\pi \rightarrow \pi$ de los dobles enlaces alternados del grupo indol.

A la misma concentración, pero en este caso disuelta en ácido acético 2 %, el espectro de la hormona muestra una sola banda (figura 1 (b)) en $\lambda_2=280.9\text{nm}$ correspondiente al grupo indol. En este espectro ya no se observa la banda que corresponde a las transiciones del grupo carboxílico, por lo que se ha determinado a $\lambda_2=280.9\text{ nm}$ como la longitud de onda de referencia para los ensayos de calibración y de liberación controlada de la hormona.

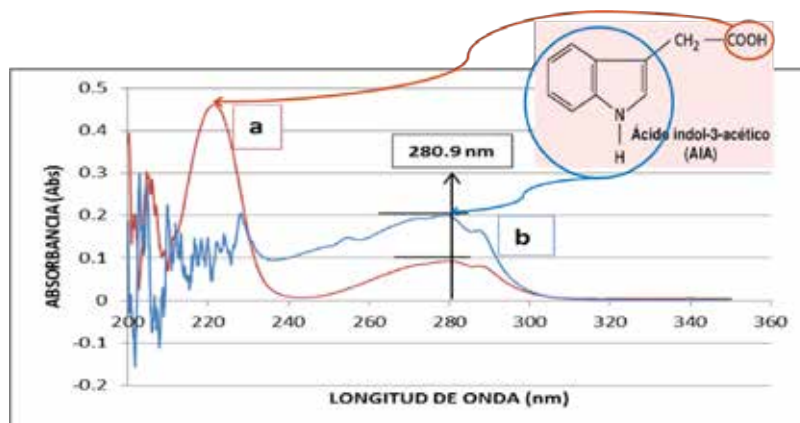


Figura 1. Espectro UV de la hormona ácido 1,3-indolacético (AIA) en medio (a) acuoso y (b) ácido acético 2%

Una vez determinada la longitud de onda máxima se obtienen las curvas de calibración de alta y baja concentración como se muestra en la figura 2 (a y b), respectivamente.

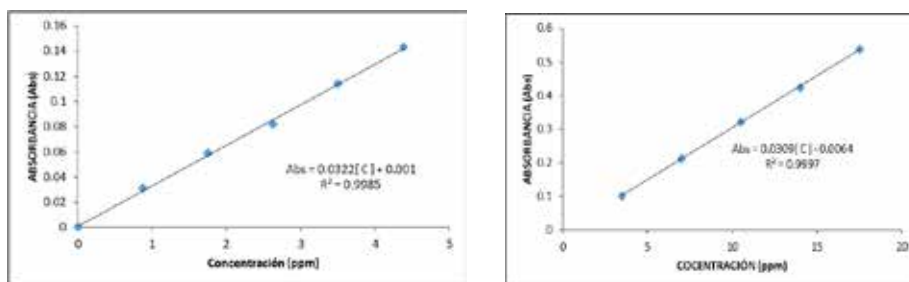


Figura 2. Curva de calibración de la hormona AIA: (a) baja y (b) alta concentración.

b. Ensayo de estabilidad de la hormona en medio acuoso:

En la figura 3 se puede evidenciar que cuando la hormona es expuesta a la luz, la absorbancia de sus bandas va disminuyendo, es decir disminuye su concentración mientras el perfil de su espectro se mantuvo semejante. La literatura señala que la hormona en solución sufre un proceso de foto-oxidación y se transforma en compuestos biológicamente inactivos de naturaleza lactónica. La saturación del doble enlace en el anillo produce la pérdida de la actividad hormonal.

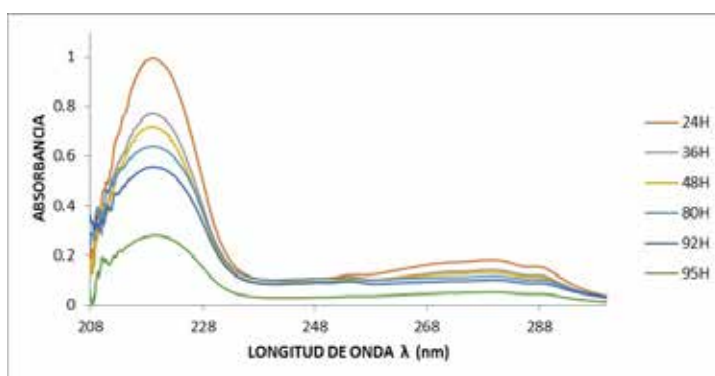


Figura 3. Espectros UV de la hormona (AIA) expuesta a la luz en diferentes tiempos.

Cuando se repite el procedimiento, pero en la oscuridad, se obtuvo la figura 4, donde se puede observar la integridad de la hormona en aproximadamente el mismo tiempo de experimento.

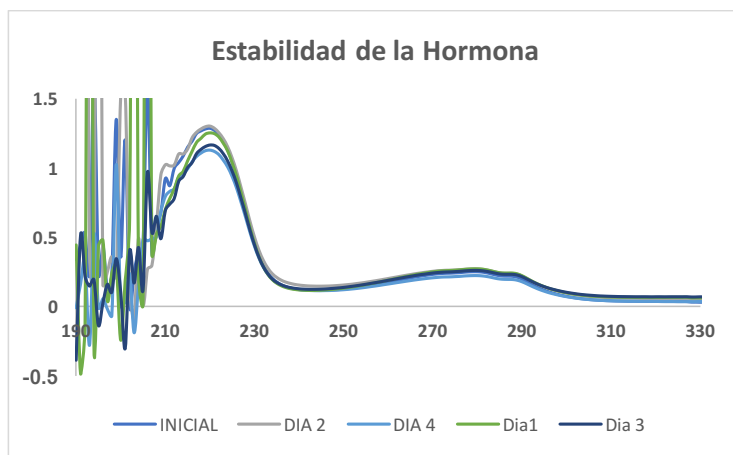


Figura 4. Espectros UV de soluciones acuosas de la hormona AIA en la oscuridad

Los resultados de este análisis conllevaron a realizar los ensayos de la liberación, cubriendo con papel aluminio todo el material así como el uso de material color ámbar en la recepción de las muestras de la liberación de la hormona.

c. Efecto de factores con el Diseño Factorial

El porcentaje de AIA liberada de todas las partículas preparadas según la tabla 2 se encuentra graficado en las figuras 5a y 5b, las cuales muestran las diferencias en la velocidad de liberación según el método de preparación de las partículas de quitosano cargadas con la hormona.

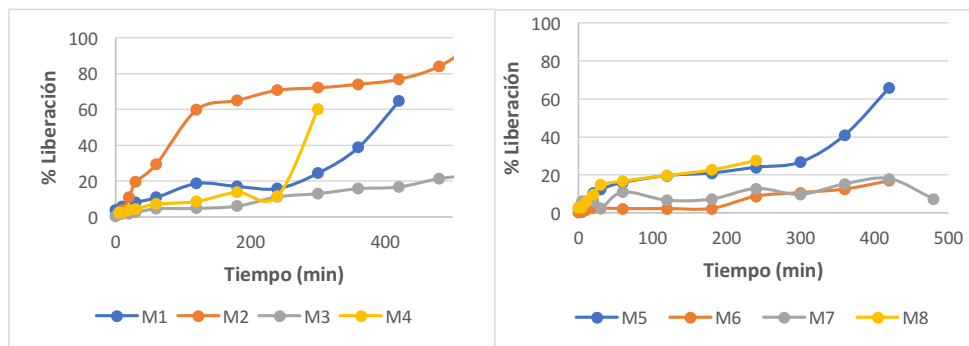


Figura 5. Perfil de liberación del ácido 1,3-indolacético (AIA) en: a) TPP 1 % y b) TPP 3 %.

Se observa, en general, que en TPP al 3% hay una menor liberación, esto debido a que probablemente a estas concentraciones el TPP forma un mayor enrejado que controla la velocidad de liberación.

Para estimar los efectos que presentan los factores estudiados en la liberación, se hizo un análisis del diseño factorial utilizando el software MINITAB 16 tomando como respuesta la cantidad liberada a 120 min. Los resultados se muestran en la figura 6.

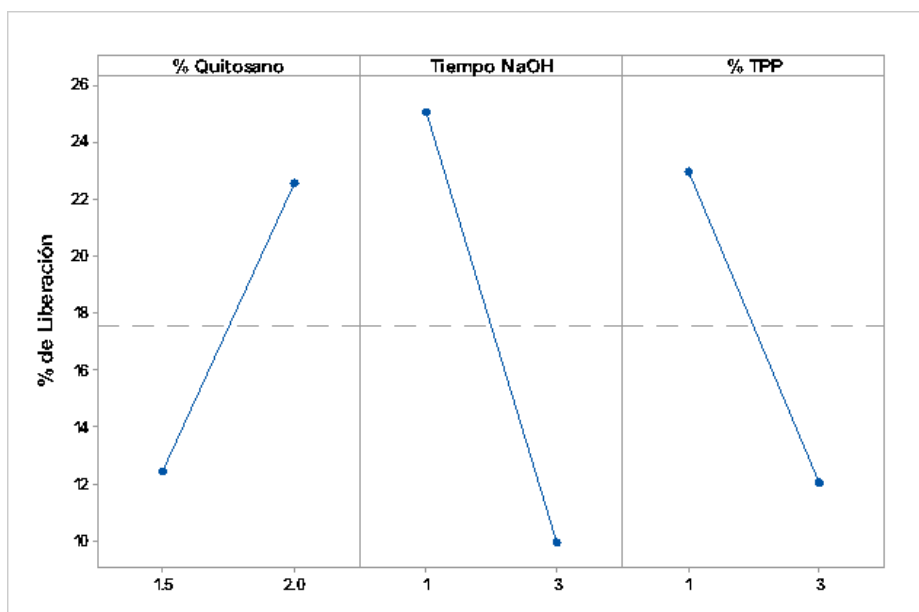


Figura 6. Gráfica de los efectos del % quitosano, tiempo de gelación en NaOH y % de TPP en la cantidad liberada a 120 min.

Los resultados muestran que los tres factores influyen en la cantidad del AIA liberada de las partículas de quitosano a las 2 horas de ensayo. Tanto el tiempo de gelación del quitosano en NaOH y el % de TPP disminuyen el % de liberación a niveles altos, esto debido a que dichos factores influyen en la formación del entrecruzamiento del gel; por otro lado, el aumento en la concentración del quitosano aumenta el % de liberación del AIA, quizás porque este aumento de la concentración favorece el hinchamiento de la partícula en el proceso de liberación, favoreciendo la liberación del AIA.

Evaluando también los resultados de los efectos de interacción de los factores estudiados, estos se encuentran en la figura 7 y se llevaron a cabo con MINITAB 16.

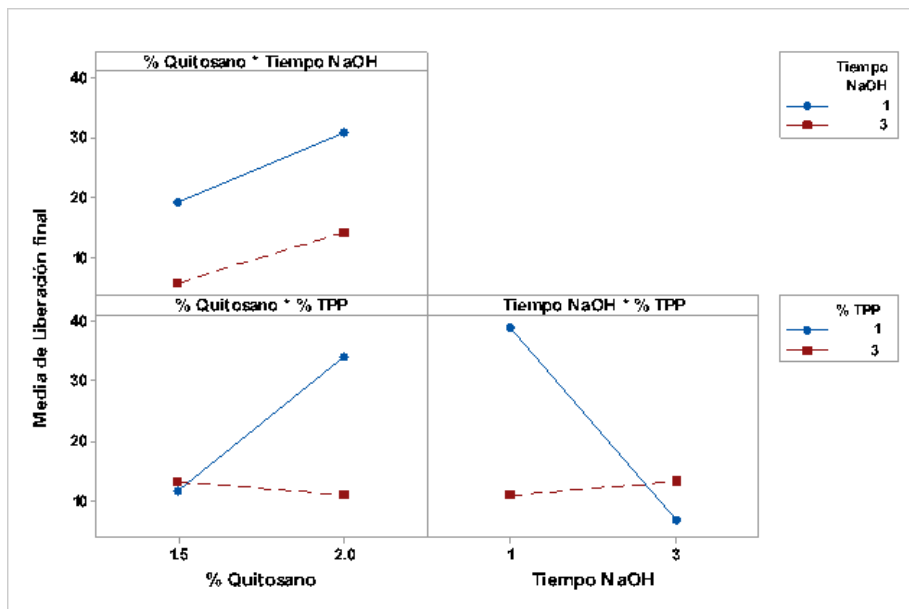


Figura 7. Gráfica de los efectos de interacción del % de quitosano, tiempo de gelación de NaOH y % TPP.

La figura 7 muestra que existen efectos de interacción entre los parámetros medidos, esto es, el efecto que originan el % de quitosano y el tiempo de gelación en NaOH sobre el % de liberación del AIA, se ve influenciado según el nivel en el que se encuentra del % de TPP, y esto debido a que quizás aquí tengan que ver efectos combinados en el entrecruzamiento con el grado de hinchamiento de las partículas preparadas. El estudio de todos estos efectos nos permite evaluar las condiciones necesarias para una adecuada velocidad de liberación del AIA en medio acuoso.

Con los resultados obtenidos se pudo también obtener una gráfica de superficie de la liberación del AIA en función de los dos factores que más influyen en la liberación del AIA, es decir del % de quitosano y % de TPP a nivel de tiempo de NaOH de 2 horas, estos resultados se muestran en las figuras 8 y 9.

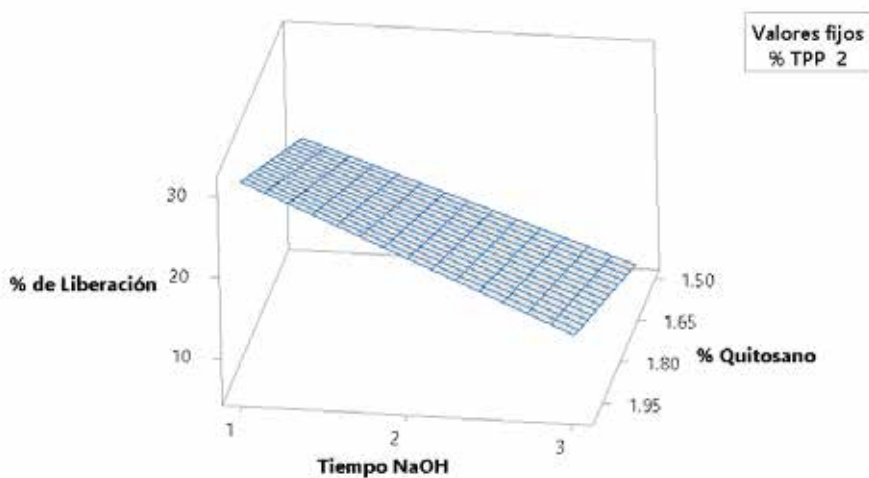


Figura 8. Gráfica de superficie del % de quitosano y tiempo de gelación en NaOH en la liberación del AIA de la partícula de quitosano.

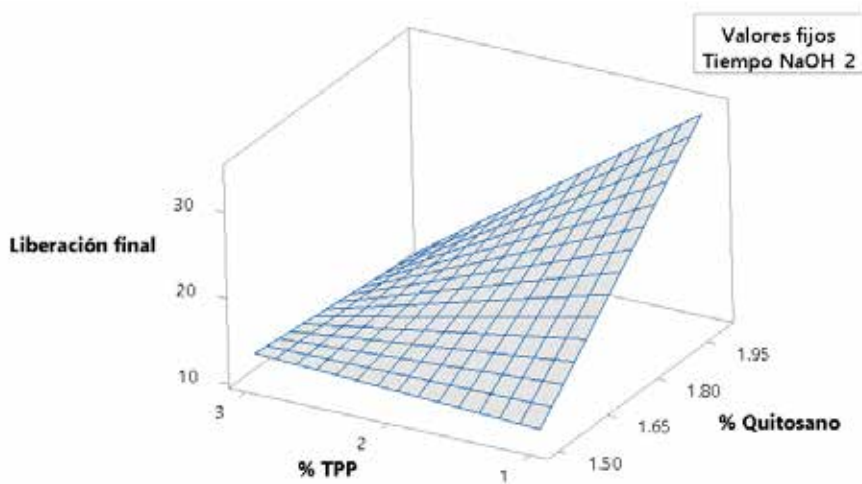


Figura 9. Gráfica de superficie del % de quitosano y % de TPP en la liberación del AIA de la partícula de quitosano.

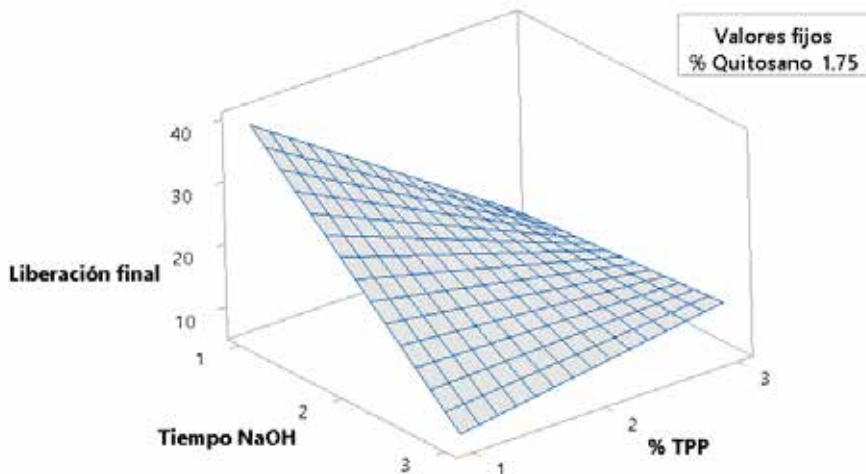


Figura 10. Gráfica de superficie del % de TPP y tiempo de gelación en NaOH en la liberación del AIA de la partícula de quitosano.

La gráfica de la figura 10 nos muestra que es posible realizar un modelo matemático de predicción de liberación del AIA en medio acuoso a partir del % de quitosano, tiempo de gelación en NaOH y % de TPP.

CONCLUSIONES

La aplicación del Diseño Factorial 2^3 , ha demostrado ser un método estadístico viable para ser aplicado en ensayos donde son varios los parámetros que influyen en los procesos y que hay que evaluar.

Gracias a este diseño experimental podemos proponer ensayos más certeros y optimizar la matriz de quitosano para la liberación controlada de la hormona AIA.

El diseño experimental aplicado en este trabajo, indica que los tres factores estudiados influyen en la cantidad liberada de AIA en un periodo de 2 horas, en donde a mayor concentración de quitosano aumenta la velocidad de liberación, mientras que a mayor concentración de TPP y mayor tiempo de gelación en NaOH disminuye la velocidad de liberación.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos al Instituto de Investigación de la Universidad de Lima (IDIC), por los aportes económicos para el desarrollo de este tema de investigación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lluna Duval R. Hormonas vegetales : crecimiento y desarrollo de la planta. *Ind Hortícola*. 2006;196:22–6.
2. Tsatsakis AM, Shtilman MI. Polymeric derivatives of plant growth regulators: synthesis and properties. *Plant Growth Regul*. 1994;14(1):69–77.
3. Fan L, Jin R, Le X, Zhou X, Chen S, Liu H, et al. Chitosan microspheres for controlled delivery of auxins as agrochemicals. *Microchim Acta*. 2012;176(3–4):381–7.
4. Lebrón O. R. *Proyecto fi de carrera*. 2007.
5. Lupo B, González C, Maestro A. Microencapsulación con alginato en alimentos. *Técnicas y aplicaciones*. *Rev Venez Cienc y Tecnol Aliment*. 2012;3(1):130–51.
6. Aguilar Y. Preparación y evaluación en suelo de fertilizantes de liberación controlada (NPK) cubiertos con polímeros biodegradables. 2014;
7. Kashyap PL, Xiang X, Heiden P. Chitosan nanoparticle based delivery systems for sustainable agriculture. *Int J Biol Macromol [Internet]*. 2015;77:36–51. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.02.039>
8. Szopko R, Schmidt C, Peniche C. Novel drug delivery systems : Chitosan conjugates covalently attached to steroids with potential anticancer and agrochemical activity *Javier Pérez Qui nones*. 2009;84(2011):858–64.
9. Wu L. Preparation and properties of chitosan-coated NPK compound fertilizer with controlled-release and water-retention. 2008;72:240–7.
10. Fan L, Jin R, Le X, Zhou X. Chitosan microspheres for controlled delivery of auxins as agrochemicals. (2012):381–7.
11. Kincl M, Turk S, Vrečer F. Application of experimental design methodology in development and optimization of drug release method. *Int J Pharm*. 2005;291(1–2):39–49.
12. Iurian S, Turdean L, Tomuta I. Risk assessment and experimental design in the development of a prolonged release drug delivery system with paliperidone. *Drug Des Devel Ther [Internet]*. 2017;11:733–46. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85015324888&doi=10.2147%2FDDDT.S125323&partnerID=40&md5=795db3a441fc81c6f259f46a8fad4c2>

INFORMACIONES

Con motivo de Fiestas Patrias se llevó a cabo, con mucho éxito, el sábado 22 de julio, nuestro Almuerzo de Camaradería, en las instalaciones del Grand Hotel Faraona, en Miraflores.

Agradecemos a todos nuestros asociados y amigos por su participación en este evento, que sirvió para generar mayor comunicación y afianzamiento de las relaciones de amistad, en un ambiente de calidez y alegría.

TARDES CIENTÍFICAS

El miércoles 23 de agosto del 2017 se realizó, en el Auditorio de la Sociedad Química del Perú, la conferencia:

“Materiales microporosos para aplicaciones ambientales: El efecto del confinamiento en las propiedades de adsorción”

En esta conferencia se presentó un completo estudio de las interacciones anfitrión-huésped que ocurren en la interfase entre superficies de zeolitas de alta sílice e hidrocarburos seleccionados como modelos de contaminantes orgánicos usualmente encontrados en aguas subterráneas contaminadas con desechos industriales de refinerías de petróleo y gasolineras.

Expositor: Quím. Diana Olivas Olivera, MSc. PhD

Química candidata de doctorado en Química-Física en la Università del Piemonte Orientale-Dipartimento di Scienze e Innovazione Tecnologica (Alessandria - Italia).

Se ocupa del estudio químico físico del adsorbimento hidrocarburo en materiales porosos para la descontaminación de aguas subterráneas.

El miércoles 13 de setiembre del 2017 se llevó a cabo, en el Auditorio de la Sociedad Química del Perú, la conferencia:

“Diagnóstico del consumo de alcohol utilizando muestras de cadáveres: importancia médico-legal y forense”

El objetivo general de esta conferencia fue identificar los tipos de consumidores de bebidas alcohólicas, realizando un diagnóstico del individuo y estimando las repercusiones médico-legales y forenses.

Durante la conferencia se discutió las siguientes relaciones de interés:

- Consumidor abusivo vs. Consumidor crónico
- Dependencia alcohólica vs. Alcoholismo
- Bebida alcohólica vs. Alcoholemia
- Etanol vs. Metabolitos del etanol
- Muestra biológica vs. Interpretación analítica

Expositor: Dr. César López Matayoshi

Doctor en Ciencias Biomédicas. Especialista en criminalística, toxicología forense y análisis químico e instrumental.

Colaborador e investigador del Departamento de Toxicología y Legislación Sanitaria de la Facultad de Medicina - Universidad Complutense de Madrid.

Profesor contratado de la Facultad de Ciencias y Filosofía de la UPCH.

La Sociedad Química del Perú estuvo presente en el ECI-2017 Invierno, que se realizó del 30 de julio al 1 de agosto del 2017.

El 1 de agosto fue nuestra participación en el Auditorio I de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Ricardo Palma, en Surco.

En el turno de la mañana, de 9:00 a 12:00 hrs, se presentaron nueve conferencias, y en el turno de la tarde, de 14:00 a 16:40 hrs, se presentaron ocho conferencias, cada una de 20 minutos por expositor.

Agradecemos a todos los expositores por su valiosa participación en este importante evento.

SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ

SOCIOS HONORARIOS

Dr. Mario J. Molina (México)
Dra. Olga Lock Sing (Perú)
Dr. Antonio Monge Vega (España)
Dr. Lothar Beyer (Alemania)

SOCIOS CORRESPONDIENTES

Dr. Aiache, Jean-Marc (Francia)
Dr. Cea Olivares, Raymundo (México)
Dr. Chifa, Carlos (Argentina)
Dra. Cascales Angosto, María (España)
Dr. Del Castillo García, Benito (España)
Dr. De Simone, Francesco (Italia)
Dr. García-Herbosa, Gabriel (España)
Dr. Infante, Gabriel A. (Puerto Rico)
Dr. Joseph-Nathan, Pedro (México)
Dr. Mors, Walter B. (Brasil)
Dr. San Feliciano, Arturo (España)
Dr. Suwalski, Mario (Chile)
Dr. Vicente Pérez, Santiago (España)



**CONGRESO IBEROAMERICANO DE QUÍMICA
XXIX CONGRESO PERUANO
LIMA - PERÚ
Del 16 al 19 de Octubre 2018**