

REVISTA de la SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ

REVISTA TRIMESTRAL CONTINUA

Volumen 91 N° 2
ABRIL - JUNIO 2025



INSTITUCIÓN CIENTÍFICA FUNDADA EN 1933

LIMA, PERÚ

REVISTA
de la
SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ
(Rev Soc Quím Perú)
ISSN impreso: 1810-634X
ISSN on line: 2309-8740
Revista Trimestral

COMITÉ EDITOR

Presidenta : Ana Cecilia Valderrama Negrón
Editor en Jefe : Hugo Alarcón Caveró
Miembros : Julio Santiago Contreras
Julio Ruiz Quiróz

COMITÉ CONSULTIVO

Dr. Hugo Arturo Alarcón Caveró
Universidad Nacional de Ingeniería

Dr. Jacinto Hernández, Christian Ronald
Universidad Nacional de Ingeniería

Dr. Olivio Nino Castro Mandujano
Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Dr. Juan Montes de Oca Ávalos
Universidad Nacional de Ingeniería

Dr. Mario Ceroni Galloso
Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Dr. Julio Santiago Contreras
Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Dr. Juan Dávalos Prado
Instituto de Química-Física "Rocasolano"
España

Dra. Ana Valderrama Negrón
Universidad Nacional de Ingeniería

Revista indizada en el Chemical Abstracts, SciELO y Latindex

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

Casilla Postal 14-0576 – Lima 14 Perú

Teléfono (511) 960 189 928

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 91

ABRIL - JUNIO 2025

N° 2

En el Perú: N° suelto S/ 15

Suscripción anual: S/ 60.00

En el extranjero suscripción anual: US \$ 50

SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ
CONSEJO DIRECTIVO
(Marzo 2024 – Marzo 2026)

Presidente	: Dra. Ana Cecilia Valderrama Negrón
Vicepresidente	: Dr. Mario Ceroni Galloso
Secretario	: Mg. Mario Antonio Bolarte Arteaga
Director Administrativo	: Mg. Helmer Helí Lezama Vigo
Tesorero	: Dr. Christian Ronald Jacinto Hernández
Vocales	: Mg. Elizabeth Deza Marti Dra. Santos Haydeé Chávez Orellana Mg. José Gonzalo Beretta Enciso Dr. Juan José León Cam Dra. Mercedes Puca Pacheco Mg. Norma Amparo Cuizano Vargas

Comisión de Economía y Finanzas

Presidente: Dr. Juan José León Cam

Comisión de Publicaciones

Presidente: Dra. Ana Cecilia Valderrama Negrón

Comisión de Actuaciones Científicas

Presidente: Dr. Juan Manuel Parreño Tipián

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

CONTENIDO

(Vol. 91 – N° 2 – 2025)

- Actividad antioxidante y antibacteriana in vitro del extracto glicólico de las flores de *senna birostris* “Mutuy” y sus posibles aplicaciones dermocosméticas por, Jeffrey Jonathan Huaman Rimachi, Carla del Carpio-Jiménez. Págs. 66 – 77
- Estudio comparativo de la acción de dos copolímeros tribloque de estireno-butadieno-estireno (sbs) para la modificación de las propiedades de un asfalto peruano por, Wendy Herencia, Juan Carlos Rueda. Págs. 78 - 89
- Detección de aflatoxinas en muestras ambulatorias de solución oleosas de cannabis de Lima metropolitana mediante detector de fluorescencia por cromatografía líquida (fl-hplc) por, Daice Huachaca Lagos, Américo Castro Luna, Norma Ramos Cevallos, Felix Castillo Morales, Arcadio Zuñiga Santi, Adil Barrientos Amau, Maricielo Puma Puma, Sofía Otori Querevalu. Págs. 90 - 99
- Metales pesados y hongos micotoxigénicos en *Zea mays* L. “maíz amarillo duro” en etapas de cosecha y poscosecha en la ciudad de Huaral, Lima-Perú por, Juan Ponce Cobos, Américo Castro Luna, Norma Ramos Cevallos, Felix Castillo Morales. Págs. 100 - 111
- Síntesis de polimeros telequelicos de 2-etil-2-oxazolina con grupos funcionales vinilo y amonio cuaternario por, Juan Carlos Rueda, Aurelio Contreras. Págs. 112 - 123
- Informaciones

Revista Arbitrada

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

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

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Los autores enviarán sus artículos al correo electrónico revsqperu@gmail.com a la Comisión de Publicaciones, junto con una carta dirigida al editor y abonarán 30 soles (autores nacionales) ó 30 dólares (autores extranjeros) por concepto de gastos administrativos (por revisión del artículo), 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.

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 revsqp@gmail.com

El texto completo, debe ser escrito en formato Microsoft Word, tamaño de página A4. Márgenes; izquierdo 3 cm, derecho 3 cm, superior 3 cm, inferior 3 cm. Espacio 1 1/2, fuente Times New Roman, estilo de fuente regular (salvo indicación contraria), color de fuente negro (texto y gráficos) y tamaño de fuente 12. Se imprimirá de manera vertical. Todo el texto, excepto el título, debe estar alineado a la derecha y a la izquierda (usar la opción "justificar"). Los decimales deben llevar coma.

Los idiomas de publicación son español e inglés.

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.

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.).

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).

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.

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.

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

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 las revistas se escribirán según el Chemical Abstracts Service Source Index (<http://www.cas.org/sent.html>) y List of Journals Indexed in Index Medicus, (<http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lisou.html>) Las referencias citadas se escribirán con el tamaño de fuente 10 y se seguirá el estilo de Vancouver

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO GLICÓLICO DE LAS FLORES DE *Senna birostris* “MUTUY” Y SUS POSIBLES APLICACIONES DERMOCOSMÉTICAS

Jeffrey Jonathan Huaman Rimachi^a, Carla del Carpio-Jiménez^{b*}

RESUMEN

La industria cosmética se está transformando impulsada por un conocimiento más profundo de la salud de la piel y los avances científicos y está desarrollando dermocosméticos, una categoría única entre los cosméticos y los medicamentos. Esta nueva tendencia ha permitido identificar principios activos de fuentes vegetales, es el caso de cuatro importantes polifenoles bioactivos en especies *Senna*; astragalina, kaempferol, reina y aloe-emodina con potencial aplicación en el tratamiento de la dermatitis atópica. En algunas comunidades de Cusco, crece un arbusto de coloridas flores amarillas, *Senna birostris*, cuyas hojas trituradas se usan para curar heridas, en otros países es usada para tratar herpes y otras patologías de la piel. El objetivo de la presente investigación fue determinar la actividad antioxidante y antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* y establecer su posible aplicación dermocosmética. Se determinó la actividad antioxidante usando el método de inhibición de radicales libres DPPH estableciendo el porcentaje de inhibición y la concentración inhibitoria media (IC₅₀) y la actividad antibacteriana se estableció a través del método de pozos excavados. El porcentaje de inhibición de DPPH a una concentración de 100 µg/mL fue de 71,0%, con una IC₅₀ de 66,33 ± 1,753 µg/mL. En cuanto a la actividad antibacteriana se obtuvo un halo de inhibición de 9,00 ± 0,32 mm a la concentración de 100%. El extracto glicólico de las flores de *S. birostris* demostró su actividad de inhibición de radicales libres y su actividad antibacteriana, lo que sustentaría su uso dermocosmético.

Palabras clave: Actividad antioxidante; actividad antibacteriana; extracto glicólico; dermatitis atópica; compuestos fenólicos.

^a Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, <https://orcid.org/0009-0000-0474-4478>

^b Laboratorio de Tecnología Farmacéutica, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Av. de la Cultura 733, Cusco 80101, Perú, *delcarpiojc_daqa@unsaac.edu.pe, <https://orcid.org/0000-0001-7487-354X>

ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL IN VITRO ACTIVITY OF THE GLYCOLIC EXTRACT FROM THE FLOWERS OF *Senna birostris* “MUTUY” AND ITS POTENTIAL COSMETIC APPLICATIONS

ABSTRACT

The cosmetic industry is undergoing a transformation driven by a deeper understanding of skin health and scientific advancements. This has led to the development of dermocosmetics, a unique category between cosmetics and pharmaceuticals. One prominent trend in this field is the identification of active compounds from plant sources. For example, four important bioactive polyphenols found in *Senna* species—astragalin, kaempferol, rhein, and aloe-emodin—show potential for treating atopic dermatitis. In some communities in Cusco, a shrub with bright yellow flowers called *Senna birostris* is grown. The crushed leaves of this plant are traditionally used to heal wounds, while in other countries, it is employed in the treatment of herpes and various other skin conditions. The objective of this research was to determine the antioxidant and antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* of the glycolic extract of *Senna birostris* flowers and its possible dermo-cosmetic application. The antioxidant activity was determined using the DPPH free radical inhibition method establishing the percentage inhibition and the mean inhibitory concentration (IC_{50}) and the antibacterial activity was established through the dug well method. The percentage inhibition of DPPH at a concentration of 100 μ g/mL was 71.0%, with an IC_{50} of 66.33 ± 1.753 μ g/mL. Regarding the antibacterial activity, an inhibition zone of 9.00 ± 0.32 mm could be obtained at the concentration of 100%. The glycolic extract of *S. birostris* flowers demonstrated its free radical inhibition activity and antibacterial activity, which would support its dermo-cosmetic use.

Keywords: Antioxidant activity; antibacterial activity; glycolic extract; atopic dermatitis; phenolic compounds.

INTRODUCCIÓN

El género *Senna* pertenece a la familia Fabaceae Lindl. (Leguminosae), de gran relevancia en la medicina popular. Desde el punto de vista taxonómico, algunas especies se han transferido del género *Cassia* al género *Senna* ⁽¹⁾. Este taxón comprende actualmente 500-600 especies ⁽²⁾, muchas de las cuales aún no se han caracterizado con respecto a su composición química y propiedades biológicas. Varias especies han sido utilizadas durante siglos por tribus americanas, africanas e indias, principalmente como laxante, hepatoprotector, antipalúdico o antimicrobiano ⁽³⁾. En la medicina tradicional, *Senna sp.*, es empleada tópicamente en el tratamiento de afecciones cutáneas especialmente ocasionadas por dermatofitos ⁽⁴⁾ y eczemas, así como en el tratamiento de heridas. Investigaciones previas han demostrado que las especies de *Senna* son un reservorio de compuestos fenólicos con interesantes propiedades farmacológicas ⁽¹⁾. En la zona andina del Perú crece un llamativo arbusto, *Senna birostris*, cuyas flores destacan por su color amarillo, su nombre común es Mutuy, y en algunas comunidades de Cusco, sus hojas

trituras se usan para curar heridas y sus semillas en forma de emplastos para tratar quemaduras ⁽⁵⁾. En países como India, Camerún, Cuba y Brasil, esta especie es tradicionalmente usada para el tratamiento de herpes y otras patologías de la piel.

El aumento del estrés oxidativo y la reducción de antioxidantes son factores que contribuyen significativamente a la patogénesis de la dermatitis atópica (DA) ⁽⁶⁾. Se cree que los radicales libres alteran los mecanismos de defensa y restauración, aumentando la peroxidación lipídica y disminuyendo los niveles de antioxidantes. Esto contribuye a los daños y trastornos cutáneos. Se espera que la suplementación con antioxidantes naturales como los compuestos fenólicos en el tratamiento de la DA mejore significativamente el estado de la piel, la proteja del estrés oxidativo e inhiba la respuesta inflamatoria. Asimismo, según muchos estudios, *Staphylococcus aureus* es el microorganismo más común que causa infección cutánea en la dermatitis atópica (DA) ⁽⁷⁾. Esta bacteria está estrechamente relacionada con la patogenia y la gravedad de la enfermedad. Cuando la piel del paciente está colonizada masivamente por *S. aureus* se desencadena una cascada de respuestas inflamatorias en la piel mediante la liberación de grandes cantidades de alérgenos ⁽⁸⁾. Por ello, la terapia antibiótica es uno de los elementos esenciales en el tratamiento de la DA. Sin embargo, el uso excesivo de los antibióticos existentes podría provocar la aparición de bacterias resistentes a los mismos. La popularidad de los productos vegetales con propiedades antimicrobianas ha aumentado en la última década. Los extractos de plantas son ricos en antioxidantes y antimicrobianos naturales, por lo que las industrias farmacéutica y cosmética están investigando nuevos principios activos de fuente vegetal. La revisión bibliográfica muestra que las propiedades antioxidantes dependen no sólo del contenido de compuestos polifenólicos, sino también del tipo de extracto y del tiempo de extracción ⁽⁹⁾. La presente investigación tuvo como objetivo determinar la actividad antioxidante y antibacteriana in vitro del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* para establecer su potencial uso dermocosmético.

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal

Las flores de *Senna birostris* (Mutuy) (Fig. 1A) se recolectaron cerca de la fortaleza de Saqsaywaman a una altura de 3560 m.s.n.m en la provincia y departamento del Cusco. La identificación taxonómica se realizó en el Herbario Vargas CUZ de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

Obtención del extracto glicólico

Las flores secas de *Senna birostris* (150 g) (Fig. 1B) se molieron y tamizaron usando una malla 30 (0,600 mm) y se maceraron en un recipiente con una mezcla de agua destilada y propilenglicol en una proporción 50:50, por un periodo de dos semanas a temperatura ambiente. Se filtró a través de un papel filtro Whatman N°1 (Fig. 1C) y se evaporó a 45°C (Fig. 1D). Se calculó el porcentaje de extracción.

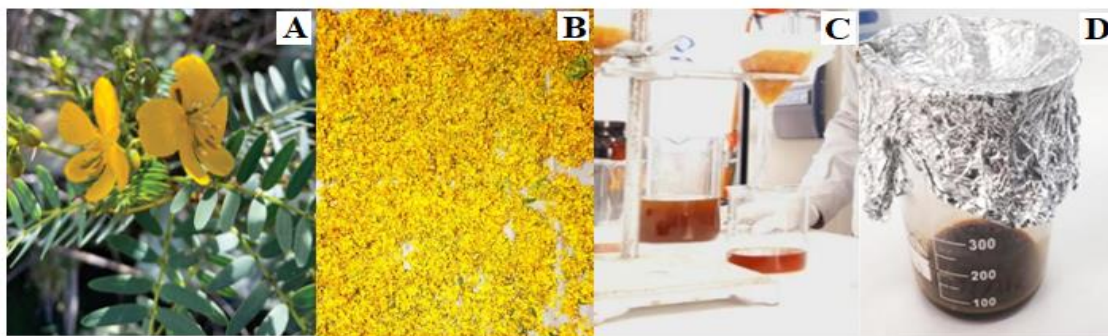


Figura 1. Flores de *S. birostris* (A); Flores secas (B); Filtración del extracto glicólico (C); Extracto glicólico seco (D)

Análisis fitoquímico cualitativo

Se determinó la presencia o ausencia de metabolitos secundarios usando reacciones de identificación específicas (coloración y precipitación) siguiendo los protocolos de Lock de Ugaz (2016) ⁽¹⁰⁾.

Actividad antioxidante

Se utilizó el método de decoloración del radical libre 2,2-diphenyl 1-picrylhydrazyl (DPPH) propuesto por Brand-Williams et al. (1995) ⁽¹¹⁾.

Se preparó una curva patrón de ácido ascórbico usando una solución de 1 mg de ácido ascórbico en 10 mL de etanol al 70% para obtener concentraciones de 2 - 10 µg/mL. Para el extracto glicólico, se preparó diferentes concentraciones entre 20 - 100 µg/mL. Se agregó 0,5mL de etanol al 70% y 1,5mL de solución de DPPH a los tubos conteniendo las muestras, se agitó vigorosamente y se dejó reaccionar durante 30 minutos en la oscuridad. Posteriormente, la absorbancia fue medida a 517 nm en un espectrofotómetro UV-Vis. Se calculó la Concentración Inhibitoria Media (CI₅₀) y el porcentaje de inhibición, calculado con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ inhibición} = \frac{\text{Abs. Control} - \text{Abs. Muestra}}{\text{Abs. Control}} \times 100$$

Donde:

Abs. Control = Absorbancia de la concentración inicial de DPPH

Abs. Muestra = Absorbancia de DPPH + Extracto glicólico

Actividad antibacteriana

La actividad antibacteriana del extracto glicólico *S. birostris* se evaluó sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Microbiologics – Genlab del Perú), bacteria frecuentemente aislada de pieles con acné y que según muchos estudios es el microorganismo causante de infección cutánea en la dermatitis atópica (DA). Se usó el método de pozos excavados ⁽¹²⁾. Se cultivó la bacteria en 5mL de Caldo Brain Heart Infusión (BHI), se incubó a 37 °C durante 24 horas. Se ajustó la turbidez al estándar de Mc Farland 0,5 (equivalente a 1,5x10⁸ UFC/mL). Se prepararon concentraciones del extracto glicólico de las flores de *S. birostris* (Mutuy) al 25%, 50%, 75% y 100%, y como control positivo se usó una solución de eritromicina (15 µg / 25 µL). Usando un hisopo

estéril se procedió a la siembra de la suspensión bacteriana sobre placas con agar Muller - Hinton, con una pipeta Pasteur se realizaron tres pozos de aproximadamente 6,0 mm de diámetro por cada placa Petri, con una micropipeta se depositaron 25 μ L de las concentraciones de extracto glicólico y el control positivo. Todas las placas fueron incubadas por 24 horas a 37 °C. Se midieron los halos generados usando un vernier digital.

Análisis estadístico

Los resultados cuantitativos se muestran como media $\pm$ desviación estándar. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y un análisis de Tukey para comparar las medias que mostraban diferencias significativas ($p < 0,05$) usando el software SPSS Statistics 22.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Obtención del extracto glicólico

La Tabla 1 muestra el porcentaje de extracción obtenido usando la solución de propilenglicol + agua destilada (50:50):

Tabla 1. Porcentaje de extracción usando la solución propilenglicol y agua destilada (50:50)

Muestra	Peso inicial	Peso final	Porcentaje de extracción
Flores de <i>Senna birostris</i>	150 g	90,26 g	60,17 %

En la Tabla 1 se observa el porcentaje de extracción obtenido de las flores de *Senna birostris* usando una solución de propilenglicol y agua destilada en una proporción de 50:50, habiéndose obtenido un 60,17%.

Dado que la polaridad de los disolventes puede determinar la eficacia de la extracción de compuestos bioactivos de las materias primas, la polaridad de los disolventes debe ser compatible con la polaridad de las moléculas bioactivas de interés ⁽¹³⁾.

En nuestro estudio seleccionamos como disolvente una mezcla de propilenglicol (PG) y agua. El propilenglicol presenta ventajosas propiedades fisicoquímicas como su constante dieléctrica (32,1) que es comparable a la del metanol (32,7) y superior a la del etanol (24,5), lo que indica características de disolvente con similar capacidad de extracción, tiene múltiples funciones, como disolvente y humectante, y se utiliza habitualmente en cosmética. Esto contrasta con el metanol y el etanol, que pueden dañar la función de barrera de la piel y provocar sequedad. Además, los extractos vegetales obtenidos mediante un sistema de disolvente hidroglicólico pueden utilizarse directamente en fórmulas cosméticas, eliminando la necesidad de procesamiento adicional para eliminar el disolvente ⁽¹⁴⁾.

El PG es un ingrediente muy utilizado en cosméticos y productos de cuidado personal, como limpiadores faciales, cremas hidratantes, jabones de baño, acondicionadores y

champús, preparados para el afeitado, desodorantes y fragancias. Se encuentra en la base de datos CosIng y su uso como ingrediente cosmético no está restringido según las disposiciones generales del Reglamento sobre cosméticos de la Unión Europea ⁽¹⁵⁾.

Los extractos vegetales glicólicos o hidroglicólicos ofrecen una amplia gama de ventajas adicionales como su solubilidad en agua, biocompatibilidad, estabilidad y baja toxicidad. Varios estudios también han demostrado que el PG puede aumentar la solubilidad de distintos ingredientes naturales, reducir la actividad del agua y mejorar así el efecto conservante. El PG se utiliza en fórmulas cosméticas como humectante, agente reductor de la viscosidad, disolvente e ingrediente de fragancias. Por lo que, desde el punto de vista práctico es uno de los extractos más útiles para la industria cosmética.

En efecto, en el estudio realizado por Myo & Khat-Udomkiri, (2022), reportaron que las muestras sometidas a extracción con soluciones de propilenglicol acuoso al 40 % y 60 % (p/v) proporcionaron los valores más altos de rendimiento fenólico. Basándose en el principio de que lo semejante disuelve lo semejante, el 40 % y el 60 % p/v de propilenglicol acuoso podrían tener la polaridad más similar para los compuestos fenólicos. Estudios previos demostraron que el propilenglicol acuoso produce extractos con mayor contenido fenólico ⁽¹⁶⁾.

Análisis fitoquímico cualitativo

La Tabla 2 muestra la presencia de los metabolitos secundarios identificados en el extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy).

Tabla 2. Metabolitos secundarios identificados en el extracto glicólico de las flores de *S. birostris*

Metabolito secundario	Reactivo	Reacción positiva	Resultado
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico 1%	Coloración azul o verde	++
Flavonoides	Shinoda	Coloración roja	++
Alcaloides	Dragendorff	Precipitado rojo o naranja	-
Triterpenos y Esteroides	Liebermann – Burchard	Coloración verde intenso o azul	+
Saponinas	Prueba de espuma	Formación de espuma persistente durante 30 minutos	+
Taninos	Tricloruro férrico 1%	Precipitado azul o verde	-
Quinonas	Bornträger	Coloración rosada o roja en la capa acuosa	-

Leyenda: Abundante (+++); Regular (++); Poco (+); Ausencia (-)

El análisis fitoquímico del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) evidencia la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, triterpenos, esteroides y saponinas.

El género *Senna* contiene metabolitos importantes principalmente compuestos fenólicos, así como alcaloides, antraquinonas, flavonoides, taninos, glucósidos, esteroides, terpenoides, saponinas y aceites volátiles. Así, de las flores de *Senna auriculata* y *Senna siamea* se aislaron y cuantificaron compuestos fenólicos con importantes actividades farmacológicas ^(17,18). Estudios previos han demostrado que los extractos crudos y los metabolitos aislados de muchas especies del género *Senna* muestran una amplia gama de actividades farmacológicas in vitro e in vivo, como antidiabético, anticoncepcional, antimicrobiano, antioxidante, antipirético, antinociceptivo, antidepresivo y antiinflamatorio ⁽¹⁹⁾.

Un estudio reciente identificó cuatro importantes polifenoles bioactivos (astragalina, kaempferol, reina y aloe-emodina) con potencial aplicación en el tratamiento de la dermatitis atópica ⁽²⁰⁾. Este resultado abre la necesidad de seguir investigando otras especies del género *Senna*.

Estudios desarrollados previamente establecieron que *C. alata* (*S. alata*), una especie relacionada a *S. birostris*; es rica en polifenoles, compuestos formados por anillos aromáticos con uno o varios grupos hidroxilos. Algunos son fenoles simples, es decir, ácidos fenólicos y derivados fenólicos. Otros tienen estructuras complejas, como las flavonas, los flavonoides, las antocianinas y las antraquinonas ⁽²¹⁾.

Actividad antioxidante

La Figura 2 establece la relación entre las concentraciones del patrón ácido ascórbico (A) y del extracto glicólico de las flores de *S. birostris* (B) y sus respectivos porcentajes de inhibición del radical libre DPPH. Asimismo, se muestra el IC₅₀ respectivo

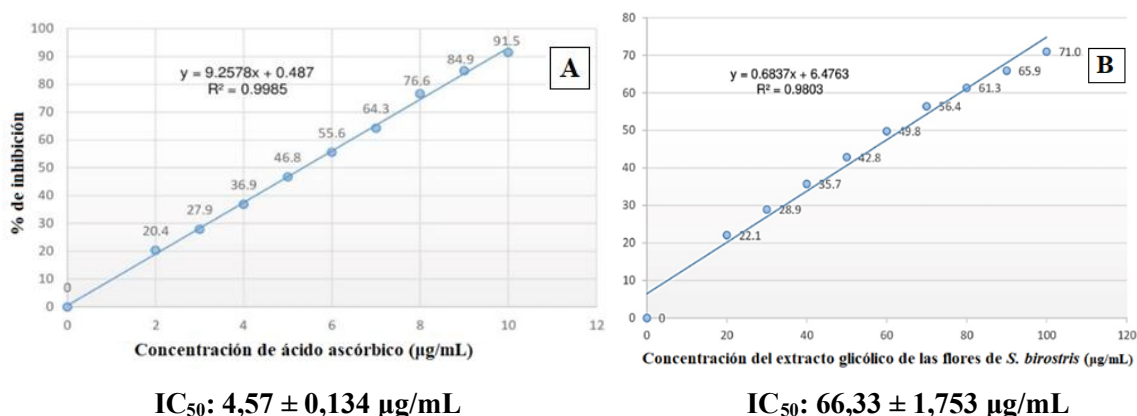


Figura 2. Comparación entre las concentraciones del ácido ascórbico y extracto glicólico de las flores de *S. birostris* y el porcentaje de inhibición del DPPH

Como se observa en la Figura 2, el coeficiente de determinación R² para el ácido ascórbico y para el extracto glicólico fue de 0.9985 y 0.9803 respectivamente. Estos valores cercanos a la unidad indican una correlación positiva entre las variables concentración y porcentaje de inhibición, lo que significa que tanto la actividad antioxidante del ácido ascórbico y del extracto glicólico dependen directamente de su concentración. El ácido ascórbico mostró mayor actividad antioxidante con un porcentaje de inhibición de 91,5%

a una concentración de 10 $\mu\text{g/mL}$ en tanto que el extracto glicólico de las flores de *S. birostris* mostró un porcentaje de inhibición de 71,0% a una concentración de 100 $\mu\text{g/mL}$. El patrón ácido ascórbico mostró un IC_{50} de $4,57 \pm 0,134 \mu\text{g/mL}$ por lo que tiene mayor actividad antioxidante, entendiéndose que a menor IC_{50} corresponde una mayor actividad antioxidante. Mientras que el IC_{50} del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) fue de $66,33 \pm 1,753 \mu\text{g/mL}$.

Otras investigaciones establecieron IC_{50} para otras especies de *Senna*, a saber: 521 $\mu\text{g/mL}$ para el extracto metanólico de *Senna alata* ⁽²⁰⁾, 6,3 $\mu\text{g/mL}$ para el extracto etanólico de las hojas de *Senna velutina* (Vogel) H.S. Irwin & Barneby ⁽²²⁾ y 72,9 $\mu\text{g/mL}$ para *S. reticulata* ⁽²³⁾. Los extractos glicólicos de los frutos de *Hippophaë rhamnoides* L. y *Vaccinium oxycoccos* L. demostraron ser valiosas materias primas con propiedades antioxidantes ⁽⁹⁾, asimismo, muchas especies de *Senna* son ricas en polifenoles que presentan una fuerte actividad de inhibición de radicales libres ^(21,24).

La Figura 3 muestra los porcentajes de inhibición del radical DPPH calculados con las diferentes concentraciones del extracto glicólico de *S. birostris*.

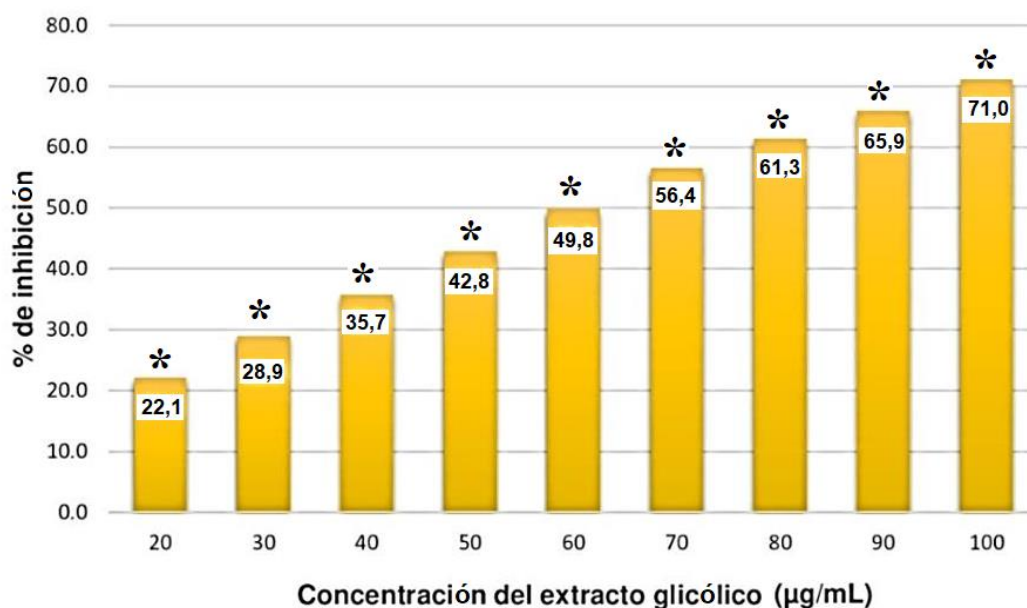


Figura 3. Porcentaje de inhibición del radical DPPH a las diferentes concentraciones del extracto glicólico de las flores de *S. birostris*.

* $p < 0,05$ indica diferencias significativas, según la prueba de Tukey

La Figura 3 muestra el porcentaje de inhibición del radical libre DPPH del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* a las concentraciones ensayadas. A medida que la concentración del extracto aumenta, se incrementa el porcentaje de inhibición del radical libre DPPH, es decir aumenta la actividad antioxidante, concluyéndose que, a mayor concentración del extracto glicólico, será mayor la actividad antioxidante.

Según Prasathkumar et al., (2021) ⁽²⁵⁾, la actividad antioxidante por el método DPPH del extracto metanólico de la especie vegetal *Senna auriculata* (L) Roxb a las concentraciones: 100 $\mu\text{g/mL}$ y 500 $\mu\text{g/mL}$ mostró porcentajes de inhibición de 62,36% y 96,33% respectivamente. Asimismo, el extracto metanólico al 80% de las hojas de *S. Singueana* mostró un porcentaje de inhibición del DPPH de $67,2 \pm 1,42 \%$ ⁽²⁶⁾.

Actividad antibacteriana

La Tabla 3 muestra el resultado de la medición de los halos de inhibición de los diferentes porcentajes del extracto glicólico de *S. birostris* y del fármaco patrón eritromicina.

Tabla 3. Diámetro de los halos de inhibición del extracto glicólico de las flores de *S. birostris* sobre *Staphylococcus aureus*

Muestra	Diámetro de los halos de inhibición (mm)
Extracto glicólico 25%	6,00 ± 0,01 ^a
Extracto glicólico 50%	6,50 ± 0,21 ^a
Extracto glicólico 75%	8,50 ± 0,14 ^b
Extracto glicólico 100%	9,00 ± 0,32 ^b
Eritromicina 15 µg / 25 mL	26,71 ± 1,22 ^c

Las medidas con letras diferentes (a-c) indican diferencias significativas ($p < 0.05$, ANOVA, prueba de Tukey)

En la Tabla 3 se muestran los resultados de la medida de los halos de inhibición del control positivo (eritromicina 15 µg / 25 µL) y del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. La eritromicina mostró un halo de inhibición promedio de 26,71 ± 1,22 mm, en tanto que, el extracto glicólico de *Senna birostris* mostró un halo de 9,00 ± 0,32 mm a una concentración del 100%. Las concentraciones de 75 %, 50 %, 25 % alcanzaron halos promedio de 8,50 ± 0,14 mm, 6,5 ± 0,21 mm, y 6,00 ± 0,01 mm, respectivamente. Estos resultados mostraron que la actividad antibacteriana es dependiente de la concentración del extracto glicólico.

Según los criterios de Toda et al., (1991) ⁽²⁷⁾ los halos de inhibición entre 8-12 mm corresponde a una actividad antibacteriana ligera, por lo que, el extracto glicólico de las flores de *S. birostris* presenta una actividad antibacteriana ligera. Un estudio previo estableció la actividad antibacteriana del extracto metanólico, rico en polifenoles de la especie vegetal *Senna alata* L. mostrando halos de inhibición de 5 mm frente a *Staphylococcus aureus*. El mismo extracto mostró halos de inhibición entre 10 – 20 mm sobre cepas fúngicas como *Trichophyton mentagrophytes*, *Candida albicans*, *Aspergillus flavus* entre otros ⁽²⁸⁾. Otras especies con actividad antimicrobiana son *S. alexandrina*, *S. spectabilis*, *S. podocarpa*, *S. occidentalis*, *S. racemosa*, *S. tora* y *S. siamea*. En general, la actividad antimicrobiana de *Cassia alata* (L.) Roxb. (CA) o *Senna alata* (L.) Roxb. podría prevenir infecciones, especialmente con *Staphylococcus aureus* ^(7,29) y contribuye a la cicatrización, el cierre y la recuperación de las lesiones cutáneas de la dermatitis atópica ⁽³⁰⁾.

Desde un punto de vista práctico, los extractos de plantas que contienen propilenglicol (PG) como disolvente son más útiles en la industria cosmética. Los extractos glicólicos o hidroglicólicos se caracterizan por una buena solubilidad en agua, así como por su estabilidad, reducción de la actividad del agua y, por tanto, disminución del riesgo de contaminación del producto cosmético, también se reduce la cantidad de conservante(s) utilizado(s) en el producto acabado, aumentando la solubilidad de otras materias primas poco solubles, mejorando la viscosidad del cosmético y actuando como humectante. En

ese sentido, es una idea interesante estudiar especies *Senna* para su posible uso dermocosmético, teniendo en cuenta los antecedentes de su uso tradicional para el tratamiento de afecciones cutáneas.

CONCLUSIONES

En el presente estudio se ha demostrado que el extracto glicólico presenta polifenoles y flavonoides, principios activos utilizados en cosmética y dermocosmética, habiéndose determinado su actividad antioxidante dependiente de su concentración, así mostró un porcentaje de inhibición de 71% a la concentración de 100 µg / mL y presentó un IC₅₀ de 66,33 ± 1,753 µg / mL. En cuanto a su actividad antibacteriana se verificó que también es dependiente de su concentración, mostrando un halo de inhibición promedio de 9,00 ± 0,32 mm a una concentración del 100%.

Sin embargo, es importante señalar que estos resultados se derivan de modelos in vitro, que pueden no reflejar completamente la complejidad de las respuestas biológicas en los organismos vivos, por lo que es necesario realizar ensayos clínicos en humanos, así como la evaluación de seguridad en términos de irritación y sensibilización, para respaldar plenamente tanto la eficacia como la seguridad de los extractos glicólicos de las flores de *Senna birostris*.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecemos el uso de materiales, reactivos y equipos del Laboratorio de Tecnología Farmacéutica de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaramos que no existe conflicto de intereses.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alshehri MM, Quispe C, Herrera-Bravo J, Sharifi-Rad J, Tutuncu S, Aydar EF, et al. A Review of Recent Studies on the Antioxidant and Anti-Infectious Properties of Senna Plants. *Oxid Med Cell Longev*. 2022; 2022(1): 6025900. <https://doi.org/10.1155/2022/6025900>.
2. Pereira RM, Ferreira-Silva GÁ, Pivatto M, Santos Lde Á, Bolzani S, Chagas de Paula DA, et al. Alkaloids derived from flowers of *Senna spectabilis*, (–)-cassine and (–)-spectaline, have antiproliferative activity on HepG2 cells for inducing cell cycle arrest in G1/S transition through ERK activation and downregulation of cyclin D1 expression. *Toxicol In Vitro*. 2016; 31: 86-92. doi: 10.1016/j.tiv.2015.11.018.
3. Khurm M, Wang X, Zhang H, Hussain SN, Qaisar MN, Hayat K, et al. The genus *Cassia* L.: Ethnopharmacological and phytochemical overview. *Phytother Res*. 2021;35(5): 2336-2385. doi:10.1002/ptr.6954.

18. Kamagaté M, Koffi C, Kouamé NM, Akoubet A, Alain N, Yao R, et al. Ethnobotany, phytochemistry, pharmacology and toxicology profiles of *Cassia siamea* Lam. J Phytopharmacol. 2014; 3(1): 57-76.
19. Oladeji OS, Adelowo FE, Oluyori AP. The genus *Senna* (Fabaceae): A review on its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology. S Afr J Bot. 2021; 138: 1-32. doi: 10.1016/j.sajb.2020.11.017.
20. Lee SK, Keng JW, Mai CW, Lim HC, Chow SC, Akowuah GA, et al. Phytochemical Analysis and Biological Activities of Flavonoids and Anthraquinones from *Cassia alata* (Linnaeus) Roxburgh and Their Implications for Atopic Dermatitis Management. Plants. 2025; 14(3): 362. doi: 10.3390/plants14030362.
21. Chua LYW, Chua BL, Figiel A, Chong CH, Wojdyło A, Szumny A, et al. Characterisation of the convective hot air drying and vacuum microwave drying of *Cassia alata*: Antioxidant activity, essential oil volatile composition and quality studies. Molecules. 2019; 24(8): 1625. doi: 10.3390/molecules24081625.
22. Campos JF, de Castro DTH, Damião MJ, Vieira Torquato HF, Paredes-Gamero EJ, Carollo CA, et al. The chemical profile of *Senna velutina* leaves and their antioxidant and cytotoxic effects. Oxid Med Cell Longev. 2016; 2016(1):8405957. doi: 10.1155/2016/8405957.
23. Navarro M, Moreira I, Arnaez E, Quesada S, Azofeifa G, Alvarado D, et al. Proanthocyanidin characterization, antioxidant and cytotoxic activities of three plants commonly used in traditional medicine in Costa Rica: *Petiveria alliaceae* L., *Phyllanthus niruri* L. and *Senna reticulata* Willd. Plants. 2017; 6(4): 50. doi: 10.3390/plants6040050.
24. Fatmawati S, Purnomo AS, Bakar MFA. Chemical constituents, usage and pharmacological activity of *Cassia alata*. Heliyon. 2020; 6(7): e04396. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e04396.
25. Prasathkumar M, Raja K, Vasanth K, Khusro A, Sadhasivam S, Sahibzada MUK, et al. Phytochemical screening and in vitro antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory, anti-diabetic, and wound healing attributes of *Senna auriculata* (L.) Roxb. leaves. Arab J Chem. 2021; 14(9):103345. doi: 10.1016/j.arabjc.2021.103345.
26. Mwamatope B, Tembo D, Chikowe I, Kampira E, Nyirenda C. Total phenolic contents and antioxidant activity of *Senna singueana*, *Melia azedarach*, *Moringa oleifera* and *Lannea discolor* herbal plants. Sci Afr. 2020; 9: e00481. doi: 10.1016/j.sciaf.2020.e00481.
27. Toda M, Okubo S, Hara Y, Shimamura T. Antibacterial and bactericidal activities of tea extracts and catechins against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Nippon Saikingaku Zasshi. 1991; 46(5): 839–845. doi:10.3412/jsb.46.839.
28. Makinde AA, Igoli JO, Ta'Ama L, Shaibu SJ, Garba A. Actividad antimicrobiana de *Senna alata*. Afr J Biotechnol. 2007; 6 (13): 1509-1510.
29. Geoghegan JA, Irvine AD, Foster TJ. *Staphylococcus aureus* and atopic dermatitis: A complex and evolving relationship. Trends Microbiol. 2018; 26(6): 484–497. doi: 10.1016/j.tim.2017.11.008.
30. Keng JW, Lee SK, Sang SH, Liew KB, Teo SS, Mossadeq WMSM, et al. *Cassia alata* and Its Phytochemicals: A Promising Natural Strategy in Wound Recovery. Sci. 2024; 6(2):34. doi: 10.3390/sci6020034

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ACCIÓN DE DOS COPOLÍMEROS TRIBLOQUE DE ESTIRENO-BUTADIENO-ESTIRENO (SBS) PARA LA MODIFICACIÓN DE LAS PROPIEDADES DE UN ASFALTO PERUANO

Wendy Herencia^a, Juan Carlos Rueda^{b*}

RESUMEN

Se prepararon asfaltos modificados con polímeros mezclando dos copolímeros lineales comerciales de bloque de estireno-butadieno-estireno (SBS-1 y SBS-2) con un asfalto de origen peruano (PEN 60/70). Se realizó un estudio comparativo de la influencia de SBS-1 y SBS-2 en las propiedades físicas y reológicas del asfalto. La caracterización de los copolímeros SBS se realizó mediante técnicas de RMN, FTIR y GPC. Mediante análisis de ¹H RMN, se determinó que la principal diferencia en la composición química de SBS-1 y SBS-2 radicaba en que el copolímero SBS-2 presentaba 36 % mol de grupos 1,2-vinilpolibutadieno, mientras que el copolímero SBS-1 solo 11 % mol. Las pruebas reológicas demostraron que el aditivo SBS-1 tuvo un mayor rendimiento que el aditivo SBS-2 en la mejora de las propiedades reológicas del asfalto modificado, como la resistencia a la deformación y elasticidad. Esto permitió que el asfalto modificado con polímero SBS-1 se clasifique para pavimentos de más altas exigencias.

Palabras clave: Asfalto modificado, copolímero tribloque-SBS, estabilidad del asfalto, propiedades reológicas.

COMPARATIVE STUDY OF THE ACTION OF TWO STYRENE-BUTADIENE-STYRENE (SBS) TRIBLOCK COPOLYMERS FOR THE MODIFICATION OF THE PROPERTIES OF A PERUVIAN ASPHALT

ABSTRACT

Polymer-modified asphalts were prepared by mixing two commercial linear styrene-butadiene-styrene block copolymers (SBS-1 and SBS-2) with an asphalt of Peruvian origin (PEN 60/70). A comparative study of the influence of SBS-1 and SBS-2 on the physical and rheological properties of asphalt was carried out. The characterization of the SBS copolymers was carried out using NMR, FTIR and GPC techniques. Through ¹H NMR analysis, it was determined that the main difference in the chemical composition of SBS-1 and SBS-2 was that the SBS-2 copolymer had 36% mol of 1,2-vinyl-polybutadiene

^a Materials Technology Group-TDM Asphalts, Lima, Peru

^b Polymer Laboratory, Physical Section, Research Department (DFI), Pontifical Catholic University of Peru (PUCP), Lima, Box 1761, Peru, **jrueda@pucp.edu*.

groups while the SBS-1 copolymer only 11% mol. Rheological tests demonstrated that the SBS-1 additive had higher performance than SBS-2 additive in improving the rheological properties of the modified asphalt, such as creep resistance and elasticity, and this allowed the SBS-1 polymer-modified asphalt to be classified for more demanding pavements.

Keywords: Modified asphalt, SBS-triblock copolymer, asphalt stability, rheological properties.

INTRODUCTION

Asphalts are a complex mixture of hydrocarbons derived from the heavy fraction of crude oil distillation. Asphalts are thermoplastic and viscoelastic liquids that behave, at low temperatures, as a glass-like solid and at high temperatures as a viscous fluid¹. Being a viscoelastic material, asphalt exhibits both elastic and viscous properties and the relationships between the stress applied to the asphalt and the resulting deformations are temperature and time dependent².

Asphalts are mainly used to make road pavements. Pavements are composed of mineral aggregate and filler surrounded by an asphalt binder matrix. The performance of such pavement depends on the binding properties of asphalt, since asphalt is the continuous phase and is the only element of the pavement that can be deformed³.

Environmental conditions and increasing vehicle traffic can generate several problems in the pavement, the most frequent being: permanent deformation at high temperatures, cracking at low temperatures, fatigue associated with loads, among others³. For this reason, it is very important to study the asphalt binder in order to improve its physical and rheological properties and consequently its performance on the pavement. Currently, the use of linear styrene-butadiene-styrene copolymers (SBS triblock copolymers) are the most widely used polymeric additives, since they are capable of improving the properties of asphalt thanks to their chemical structure, and their degree of dispersion and compatibility with asphalt^{1,4,5}. It is essential to ensure the stability of the modified asphalt to avoid phase separation during storage, pumping, or asphalt application and thus obtain the desired properties in the pavement³. Stability testing can indirectly determine whether the interactions created between the asphalt and the polymers during the mixing process are strong enough to resist polymer separation under the conditions in which it is stored. One way to measure stability is to determine if there is a significant variation in the softening point, which would indicate phase separation⁶. The physical properties of a modified asphalt such as penetration, viscosity, linear elastic recovery, storage stability, etc. are important to determine the initial quality of the modified asphalt. However, the rheological properties of the asphalt are decisive because they allow to better determine the quality of the asphalt and allow to know more precisely what type of traffic the modified asphalt is suitable⁶⁻⁸. Rheological properties are measured with the dynamic shear rheometer and, for example, the Multiple Stress Creep and Recovery Test (MSCR, American Standard Testing Method-ASTM D-7405) is applied to study the rheological properties, which determines the degree of permanent deformation that an asphalt can undergo at high temperatures.

The objective of this work was to make a comparative study of the action of two linear SBS triblock copolymers in modifying the physical and rheological properties of an asphalt of Peruvian origin. For comparison purposes, the parameters of the current

Peruvian official standard for modified asphalts Type IC were used (Table 1). This standard is similar to the old USA ASTM D-5976 standard for modified asphalts. The rheological properties of modified asphalts were determined with the method mentioned above (ASTM D-7405) and ASTM D-7175.

We consider that this study could serve as a reference for the application of SBS additives in asphalts of other countries.

Table 1. Quality requirements for modified asphalt type IC (Peruvian standard, Highway Manual EG-2013, Ministry of Transport and Communications (MTC)-Peru, Table 431-01).

Test on asphalt		Test on rolling thin film oven test	
Penetration ^a , 25°C, dmm	50 – 75		
Absolute viscosity ^b , 60°C, P	5000 min.	Penetration ^a , 4°C, dmm	13 min.
Storage stability ^c , °C	2,2 max.	Linear elastic recovery ^d , 25°C, %	60 min.
Linear elastic recovery ^d , 25°C, %	60 min.	Storage stability ^c , °C	10 max.
Softening point ^e , °C	60 min.		
Kinematic viscosity ^f , 135°C, cSt	3000 max.		

^{a)-f)} The analysis methods of the *American Standard Testing Method (ASTM)* D-5, D-2171, D-7173, D-6084, D-36 and D-2170 were used for analysis of penetration, absolute viscosity, storage stability, linear elastic recovery, softening point and kinematic viscosity of the asphalts, respectively.

^{g)} *Rolling thin film oven residue*: is the asphalt residue after asphalt being subjected to aging in the thin film rotary oven at a temperature of 163°C for 85 minutes, according to ASTM D-2872.

EXPERIMENTAL PART

Materials

Two commercial linear styrene-butadiene-styrene block copolymers, SBS-1 and SBS-2 (Table 2) were used to modify a low-penetration asphalt of Peruvian origin (PEN 60/70, Petroperú Company-Conchán refinery in Lima, Peru).

Table 2. Characteristics of SBS-1 and SBS-2 block copolymers.

	Mn ^a	%PS ^b	%PB(C+T) ^c	%PB(1,2 V) ^d
SBS-1 ^e	99350	19	70	11
SBS-2 ^e	92650	21	43	36

a) Molecular weight (determined by Gel Permeation Chromatography (GPC), Agilent 1100, Column PL, Mixed B-LS with PS-Gel 10 um, CHCl₃, RI, 25°C). The Dispersity values were 1,47 and 1,57 for SBS-1 and SBS-2, respectively.

b) % molar polystyrene (PS) in block copolymer, determined by quantitative analysis ¹H NMR (NMR Spectrometer Bruker Ascend 500 MHz, 25°C, CDCl₃).

c) % molar (*cis* + *trans*)-polybutadiene (PB) in block copolymer, determined by ¹H NMR.

d) % molar 1,2-vinyl-polybutadiene (PB) in block copolymer, determined by ¹H NMR.

e) ¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm): 1,2-1,60 (CH₂-CH, polystyrene (PS)), 1,7-2,5 (CH₂, CH, polybutadiene (PB)), 4,9-5,1 (CH₂ 1,2-vinyl-PB), 5,3-5,5 (CH= (*cis* + *trans*) PB), 5,6 (CH=, 1,2-vinyl-PB) 6,3 – 7,4 ppm (aromatic protons, PS).

The chemical composition of the PEN 60/70 asphalt was determined by SARA (acronym for Saturated-Aromatics-Resins-Asphaltenes) chromatographic analysis (Table 3). This asphalt had an instability index (Ic) of 0,59.

Table 3. SARA-Chromatographic analysis of base asphalt PEN 60/70^a

Saturated (%)^b: 22,45; Aromatics (%)^b: 9,51; Resins (%)^b: 53,45; Asphaltenes (%)^b: 14,59;
Colloidal Index^c: 0,59

- a) Asphalt PEN 60/70 of Petroperú Company (Refinery Conchán-Lima, Peru).
b) Components weight percentages obtained by SARA-Chromatography Analysis using Iastrosan MK-6s chromatograph.
c) Colloidal Index (Ic)⁹ = (% asphaltenes + % saturated) / (% resins + % aromatics).
All are weight percentages obtained by SARA analysis.

The Ic value provides information on the instability of the polymer-asphalt system⁹. In general, an Ic greater than 0,3 predicts incompatibility (phase separation) between the asphalt and the SBS copolymer⁹.

For the characterization of the asphalt, conventional physical properties were used, such as, for example, penetration, softening point, ductility, penetration index, absolute viscosity, Brookfield viscosity and kinematic viscosity (Table 4).

Table 4. Conventional physical properties of the asphalt PEN 60/70^a

Penetration at 25°C (Pen _{25°C}):	62 dmm	Ductility at 25°C	>150 cm
Softening point:	49°C	Elastic recovery at 25°C:	30%
Penetration Index ^b (PI):	-1	Absolute viscosity at 60°C:	3,881 P
Pfeiffer and Van Doormal Correlation ¹⁰		Kinematic viscosity at 135°C:	429 cSt

a) ASTM methods were used in the analyses, which were mentioned in Table 1.

b) Pfeiffer and Van Doormal Correlation¹⁰.

PI = (1952-500logPen_{25°C}-20SP)/(50logPen_{25°C}-SP-120), where SP = Softening Point of asphalt.

Preparation of polymer modified asphalts

The polymer modified asphalts (PMA) were prepared by mixing 3% by weight of each of the SBS block copolymers relative to the weight of original PEN 60/70 asphalt.

Typical procedure: In a high shear mixer, 12 kilograms of PEN 60/70 asphalt were heated to 180°C and after, 360 grams of SBS additive were added. After mixing, a sample was taken to verify qualitatively, with the fluorescence microscope, that there were no undissolved polymer lumps in the mixture and, if positive, the additive AD-1 were added to the asphalt-polymer mixture according of recommendation of supplier and it was stirred at the same temperature. After this time, samples were taken to determine qualitatively the degree of dispersion of the polymer in asphalt, and performing physical, rheological and storage stability tests.

Stability of asphalt-polymer mixtures (ASTM D-7173)

The modified asphalt was placed in a pair of aluminum tubes and placed upright in an oven at 163°C for 48 hours. Once cooled, the tubes were cut into three sections, and samples were taken from the top and bottom (the middle part was discarded), then, the softening point test (Ring and Ball, Method ASTM D36) was performed with both samples to determine the degree of separation in the PMA.

Asphalt-polymer morphology

The degree of polymer dispersion in the asphalt samples was studied by total reflection optical fluorescence.

Rheology

Rheological tests of asphalts were carried out in a dynamic shear rheometer (DSR, TA-Instruments, Model DHR-2, ASTM D-7175 method). Typical procedure: The asphalt sample was placed between two 25 mm diameter parallel plates (with 1,0 mm test clearances) in the DSR and subjected to a temperature sweep at a frequency of 10 rad/sec. The dynamic shear modulus (G^*) and the phase angle (δ) of the asphalt binder were determined with ASTM D-7175 method. The complex shear modulus G^* is the ratio of the maximum shear stress and shear strain of linear viscoelastic materials under a continuous sinusoidal load and then is an indicator of the stiffness or resistance of the asphalt binder to deformation under load and the phase angle (δ) evaluates the relationship between the elastic and viscous response during the shear process. If phase angle (δ) is greater the elasticity of the asphalt decreases and vice versa. For original asphalt PEN 60/70 and for SBS-asphalt mixtures, applying the ASTM D-7405 method, temperatures 64°C and 76°C, respectively, were used.

Multiple Stress Creep and Recovery (MSCR) Test of asphalt binder (ASTM D-7405).

The test was used to analyze the high temperature performance of asphalt and was performed on the dynamic shear rheometer. The MSCR consisted of subjecting the asphalt, after being aged in a rolling thin film oven (RTFOT), to the maximum temperature (64°C (for PEN 60/70) or 76°C (for F-1 and F-2)). The aged sample was exposed to 20 deformation-recovery cycles, divided into two stages, the first of 10 cycles, at 0,1 kPa of stress and the second also of 10 cycles at 3,2 kPa of stress. Each cycle lasted 10 seconds: 1 second of creep and 9 seconds of recovery. MSCR test determines the elastic response (R_e) and accumulated deformation (J_{nr}) of asphalt. The accumulated deformation (J_{nr}) is calculated with the following formula for each cycle: $J_{nr} (0,1 \text{ kPa}) = \varepsilon/100$ and $J_{nr} (3,2 \text{ kPa}) = \varepsilon/3200$, where ε = deformation of asphalt.

RESULTS AND DISCUSSION

The block copolymers styrene-butadiene-styrene, SBS-1 and SBS-2, were characterized by ^1H NMR and ^{13}C NMR spectrometry. Typical signals of styrene (e.g., aromatic protons at 6,3-7,4 ppm) and butadiene (e.g., *cis-trans*-vinyl protons at 5,3-5,5 ppm and 1,2-vinyl protons at 5,6 ppm) were identified (Figure 1).

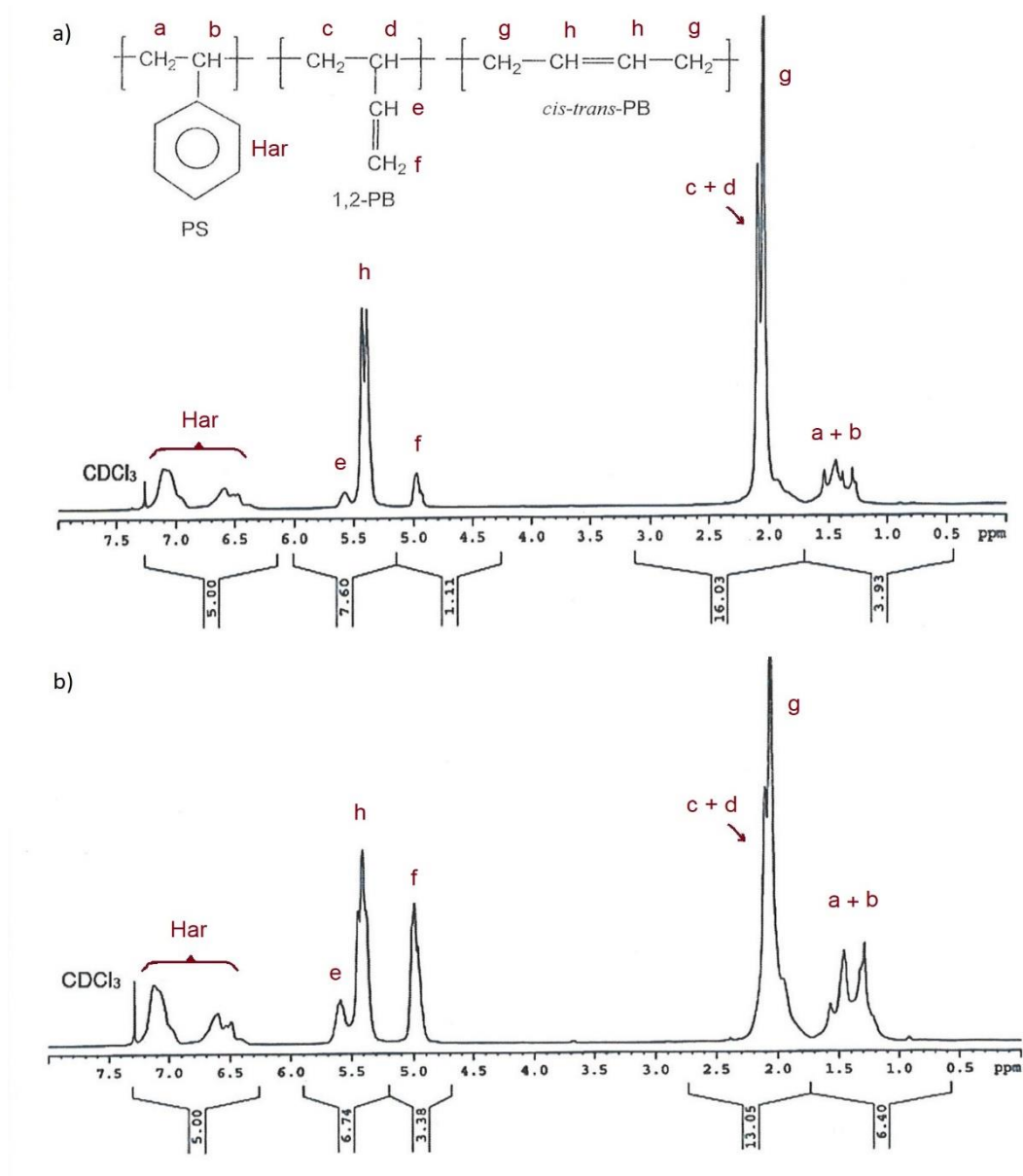


Figure 1. ^1H -NMR spectra of (a) SBS-1 and (b) SBS-2 block copolymer in CDCl_3 at 25°C .

By quantitative ^1H NMR analysis, comparing the "Har" signal versus "e", "f", and "h" signals of the mentioned spectra it was determined that the polystyrene content was 19,8 mol % and 21,8 mol % for SBS-1 and SBS-2, respectively. Likewise, was determined that SBS-1 and SBS-2 contained 70 mol % and 43 mol % of *cis-trans*-polybutadiene, respectively and comparing the integrals of the "e", "f" versus "h" signals (Figure 1) it

was determined that SBS-1 and SBS-2 contained 11 mol % and 36 mol % of 1,2-vinylpolybutadiene groups, respectively.

SBS-1 and SBS-2 copolymers were also characterized by FTIR-ATR. The presence of styrene and butadiene was detected, for example (SBS-2), with the signals at 3005 cm^{-1} (aromatic) and 966 cm^{-1} ($=\text{CH}$, *trans* 1,4), respectively. The presence of 1,2-vinylpolybutadiene groups in SBS-1 and SBS-2 copolymers was detected at 909 cm^{-1} (Figure 2).¹¹⁻¹³

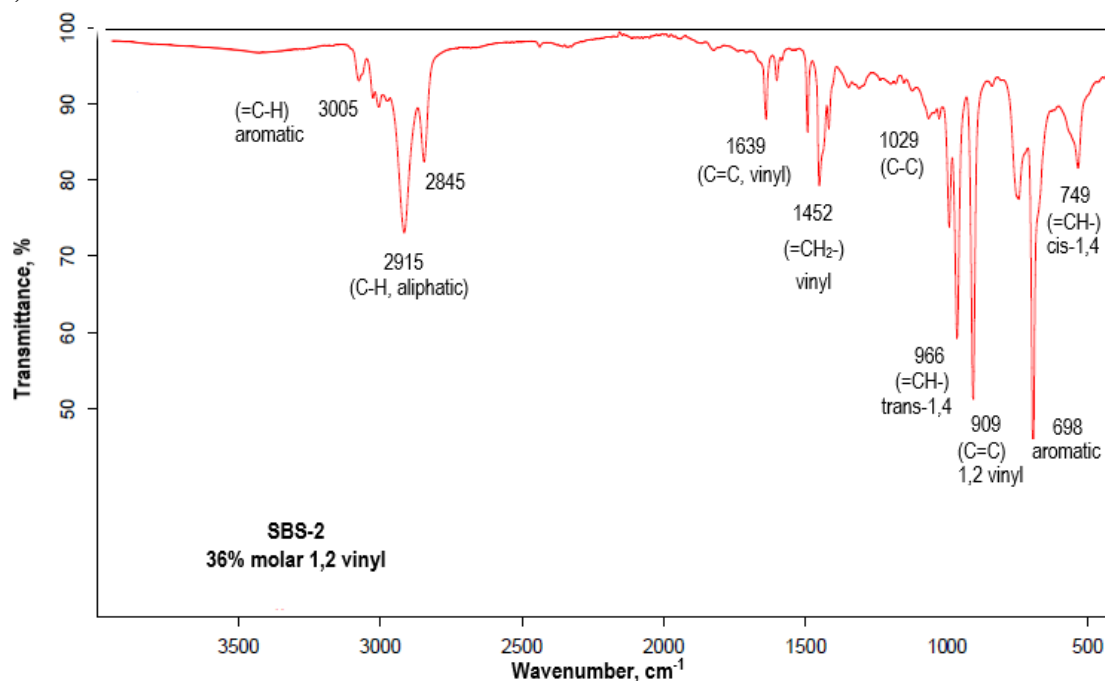


Figure 2. FTIR-ATR spectra of SBS-2 copolymer at 25°C.

The number average molecular weight of the SBS-1 and SBS-2 copolymers, obtained by GPC, were 99350 and 92650, respectively and both had a relative narrow molecular weight dispersion (1,5), which is consistent with anionic polymerization, the method by which these copolymers are made in the industry^{3, 14}.

Through SARA-chromatographic analysis it was determined that the original PEN 60/70 asphalt had an instability index I_c of 0,59 (Table 3) greater than maximum 0,3 and therefore there should be an incompatibility between asphalt and SBS copolymers due to the lower degree of solubility of the SBS copolymer in asphalt due to the low content of aromatic compounds in asphalt^{3,9,15}.

In general, when asphalt is modified with SBS copolymer, a three-dimensional network is formed that produces greater viscosity, and an increase in the complex modulus (G^*), greater elastic response (Re) and better mechanic behavior at high and low temperatures^{3, 5}.

Due to the high Colloidal Index of PEN 60/70 asphalt selected ($I_c = 0,59$), the formulations of modified asphalt used additive to improve asphalt polymer compatibility (interaction between polymer and asphalt), both formulations (F-1 and F-2) meet all the requirements of Table 1.

Table 5. Physical properties of asphalts modified with SBS-1 and SBS-2 block copolymers

Test on asphalt	F-1	F-2
Penetration ^b , 25°C, dmm	56	52
Absolute viscosity ^b , 60°C, Px10 ³	17,39	12,76
Kinematic viscosity ^b , 135°C, cSt	1588	1350
Storage stability ^b , °C	1,6	2,0
Elastic recovery ^b , 25°C, 10 cm, %	82	85
Softening Point ^b , °C	61,4	61,7
<i>Rolling Film Oven Test^c,</i>		
Elastic recovery ^c , 25°C, 10 cm, %	77	78
Penetration ^c , 4°C, dmm	24	20
Storage stability ^c , °C	0,6	2,8

a) F-1, F-2: Prepared modified asphalt formulations. In both formulations (F-1 and F-2) 3% by weight of SBS-1 or SBS-2 copolymer was used relative to the weight of original PEN 60/70 asphalt.

b) Requirement of minimum or maximum values contained in the Peruvian standard for IC modified asphalts (see Table 1).

c) Rolling thin film oven test: is the asphalt residue after original asphalt being subjected to the thin film rotary oven at a temperature of 163°C for 85 minutes, according to ASTM D-2872.

d) The analysis methods of the *American Standard Testing Method (ASTM)* D-5, D-2171, D-2170, D-7173, D-6084 and D-36 were used for analysis of penetration, absolute viscosity, kinematic viscosity, storage stability, linear elastic recovery and softening point of the asphalts, respectively.

From the data in Table 5, it was determined that the additives SBS-1 and SBS-2, have a practically equal effect in improving the physical properties of the asphalt-SBS copolymer mixture. However, the SBS-1 additive produced much better rheological properties in the modified asphalt than the SBS-2 additive, as will be seen later.

For PEN 60/70 and asphalt mixtures the standard temperature used for measurement was 64°C and for F-1 and F-2 were 64°C and 76°C. This is because the Performance Grade of Peruvian asphalt PEN 60/70 is normally PG 64-22, while modified asphalt is typically PG 76-22.

Rheological tests of asphalts (PEN 60/70, F-1 and F-2) were carried out in a dynamic shear rheometer (DSR) applying the ASTM D-7175 method. The dynamic shear modulus (G^*) and the phase angle (δ) of the asphalts were determined under the conditions mentioned in the experimental part. The $G^*/\sin(\delta)$ increased for F-1 and F-2 when the asphalt was modified with SBS polymers (Table 6), and therefore, the creep resistance of F-1 and F-2 was better than that of PEN 60/70 asphalt. Of the two modified asphalts, formulation F-1 presented a lower phase angle (δ) at both temperatures and therefore, it will be a more elastic asphalt than F-2 and PEN 60/70 at these conditions. It was also determined that the modification of asphalt with SBS polymers increased the failure temperature in the original asphalt from 69,1°C to 83.6°C (F-1) and to 80.4°C (F-2) respectively (Table 6). The failure temperature is where $G^*/\sin \delta$ is equal to 1 kPa and above this temperature the asphalt loses its properties as a binder.

The F-1 formulation presented a lower phase angle (Table 6). Therefore, it will be more elastic against deformations⁷.

Multiple stress creep recovery (MSCR) tests were used to determine the high-temperature performance of original PEN 60/70 and SBS-modified asphalt. The stress levels of the test were 0,1 kPa and 3,2 kPa, and each stress condition consisted of 10 loading cycles, each loading cycle with constant stress for 1 s and loading recovery for 9 s. According to the characteristics of asphalt, 64 and 76°C was selected as the test temperature in the study, and the creep recovery test results of SBS-modified asphalt were compared to the original asphalt (Table 7 and 8).

Table 6. Dynamic shear modulus of asphalts, ASTM D-7175

Asphalt	$G^*/\sin \delta^a$ (kPa)	Phase angle ^b (δ)	Fail.Temp. ^c (°C)
PEN 60-70	1,91 (64°C)	81,5 (64°C)	69,1
F-1	5,91 (64°C)	62,9 (64°C)	
F-2	4,75 (64°C)	66,8 (64°C)	
F-1	1,93 (76°C)	67,2 (76°C)	83,6
F-2	1,49 (76°C)	72,4 (76°C)	80,4

a) $G^*/\sin \delta$: dynamic shear modulus of asphalt obtained by Dynamic Shear Rheometer (DSR)

b) Phase angle of asphalt obtained by Dynamic Shear Rheometer.

c) Fail temperature of asphalt.

Creep recovery percentage (Re (%)) is used to characterize the ratio between the rebound deformation and the total deformation of asphalt materials at different stress levels to obtain the elastic properties of asphalt. The non-recoverable creep compliance (Jnr) is used to represent the viscous residual deformation of asphalt materials, and the higher its value, the worse the high temperature resistance of the materials.

As can be seen of Table 7, due to the poor high-temperature resistance of the original asphalt PEN 60/70 itself, this material had a creep recovery rate (Re) of the original asphalt at 0,1 and 3,2 kPa is only 23,7% and 13,3%, respectively. Compared with original asphalt, the creep recovery rate of F-1 and F-2 asphalt mixture was significantly higher and also there is a smaller difference (< 8%), between the elastic response at 0,1 kPa and at 3,2 kPa of the modified asphalts compared to the original asphalt (greater than 43%). This is an indicator that the modified asphalts are more resistant and stable than the original asphalt PEN 60/70 under the high stresses to which they were subjected and, therefore, is an indicator of their improved quality^{7, 16, 17}.

Figure 3 shows that, at 64°C, 70°C or 76 °C the elastic recovery (Re(%)), at 0,1 kPa or 3,2 kPa pressure, of F-1 and F-2 is greater than the original PEN 60/70 asphalt and that Re(%) of F-1 is always greater than that of F-2 at any of these conditions (temperature, pressure).

The non-recoverable creep flexibility (Jnr) for F-1 and F-2 was significantly reduced compared to PEN 60/70 (Table 8).

Table 7. Asphalt deformation resistance (Re) at 64°C

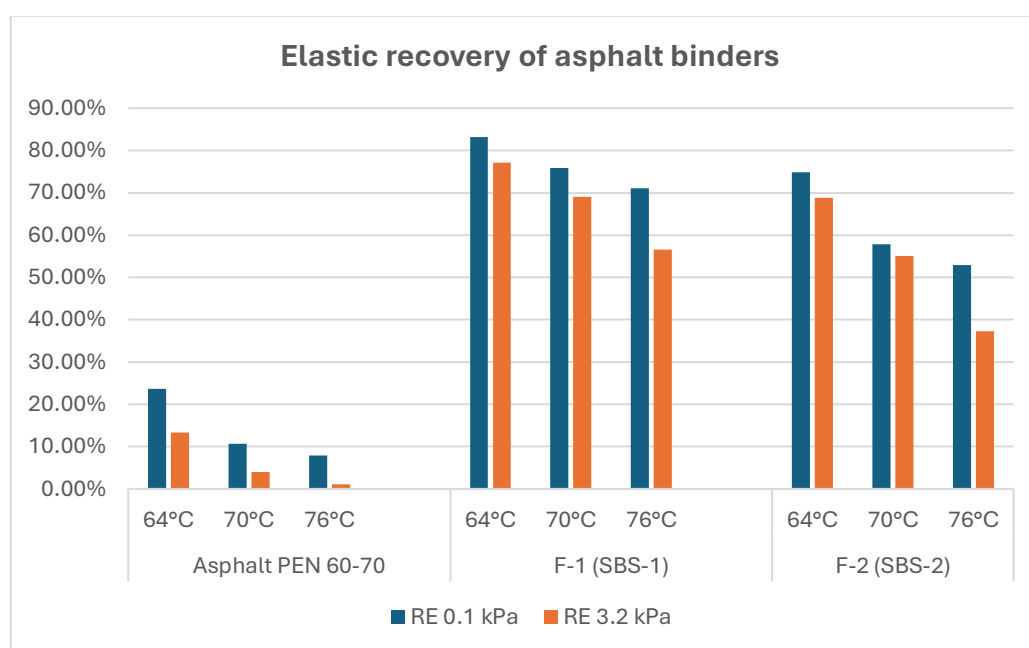
Asphalt	Re, 0,1 kPa ^a , (%)	Re, 3,2 kPa ^b , (%)	Re, dif. ^c , (%)
PEN 60-70	23,7	13,3	43,7
F-1	83,2	77,1	7,3
F-2	74,8	68,8	8,0

a) Average percent recovery of asphalt at a creep stress of 0,1 kPa.

b) Average percent recovery of asphalt at a creep stress of 3,2 kPa.

c) Percent of difference in recovery of asphalt between 0.1 kPa and 3.2 kPa.

It was used the MSCR Method, ASTM D-7405 Method.

**Figure 3.** Elastic recovery of asphalt binders at 64°C, 70°C and 76°C

This indicates that the addition of SBS-1 (F-1) and SBS-2 (F-2) enhanced the rutting resistance of asphalt. Then F-1 and F-2 had a lower permanent deformation than the original asphalt (without SBS copolymer). So we can conclude that with respect to elasticity and resistance to deformation, the SBS-1 additive produces better properties in asphalt than the SBS-2 additive.

From the results in Table 8, F-1 and F-2 were classified for “Very Heavy” and “Heavy” traffic, respectively.

Table 8. Non-recoverable creep compliance (Jnr) of asphalts at 76°C. (MSCR, ASTM D-7405)

Asphalt	Jnr, 0.1 kPa ^a , kPa ⁻¹	Jnr, 3.2 kPa ^b , kPa ⁻¹	Jnr, dif. ^c , %	Type of traffic ^d
PEN 60-70	4,12	5,40	31,20	NC
F-1	0,325	0,515	58,48	(V)
F-2	0,707	1,090	53,62	(H)

- a) Non-recoverable creep compliance (Jnr) of asphalt at a creep stress of 0,1 kPa.
b) Non-recoverable creep compliance (Jnr) of asphalt at a creep stress of 3,2 kPa.
c) Percent difference between non recoverable creep compliance of asphalt at 0,1 kPa and 3,2 kPa.
d) NC: does not classify for any type of traffic at 76°C,
H: Traffic Heavy, 10-30 millions of ESAL.
V: Traffic Very Heavy, >30 millions of ESAL.
were ESAL: number of equivalent load repetitions of a standard load dual wheel single axle of 18000 lb.

CONCLUSIONS

Two linear triblock copolymers styrene-butadiene-styrene (SBS copolymers) were used as additives to improve the performance of Peruvian asphalt PEN 60/70 and obtain modified asphalts for paving. The mentioned asphalt had an instability index $I_c = 0,59$, which is higher than the maximum expected value of 0,3 due to the low content of aromatic compounds in the asphalt, which implied a low solubility of the SBS copolymers in it.

The main difference in the chemical composition of SBS-1 and SBS-2 was the higher content of 1,2-vinyl-polybutadiene groups presents in SBS-2 copolymer. However, rheological tests demonstrated that the SBS-1 additive outperformed the SBS-2 additive in improving the rheological properties of the modified asphalt, such as resistance to deformation and elasticity. This allowed the SBS-1-modified asphalt to be classified for use in pavements with greater demands.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank TDM Asphalts, a company from the Materials Technology Group in Lima, Peru, for funding this research. They also thank the Pontifical Catholic University of Peru (PUCP), Lima, Peru, and the Leibniz Institute for Polymer Research in Dresden, Germany, for providing polymer characterization analysis.

REFERENCES

1. Airey G. D. Styrene-butadiene-styrene polymer modification of road bitumens. *J Mater Sci.* 2004; 39: 951-959.
2. Zhang J, Bao. Determination of asphalt mixture's viscoelastic constitutive parameters for pavement response analysis using dynamic modulus transformation.

- Constr Build Mater. 2021; 315 (10): 125729. doi: 10.1016/j.conbuildmat.2021.125729.
3. Zhu JB. Polymer modification of bitumen: advances and challenges. *Eur Polym J.* 2014; 54: 18-38. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2014.0.005.
 4. Wu W, Cavalli MC, Jiang W, Kringos N. Differing perspectives on the use of high-content SBS polymer-modified bitumen. *Constr Build Mater.* 2024; 411: 134433. doi: 10.1016/j.conbuildmat.2023.134433.
 5. Wang Y, Guo S, Pei Z, Zham S, Lin S, Li J. Study of the properties and modification mechanism of SBS-modified asphalt by dry process. *Materials (Basel).* 2024;17(7):1454. doi: 10.3390/ma17071454.
 6. Wen G, Zhang Y, Sun K, Fan Y. Rheological characterization of storage-stabile SBS-modified asphalts. *Polym Test.* 2002; 21: 295-302. doi: 10.1016/S0142-9418(01)00086-1.
 7. Chen JS, Huang CC. Fundamental characterization os SBS-modified asphalt mixed with sulfur. *J Appl Polym Sci.* 2006; 103(5), 2817-2825. doi: 10.1002/app.24621.
 8. Mielczarek M, Formalczyk S, Slowik M. Evaluation of rheological properties of polymer-modified asphalt binders and mastics with organic additive-imidazoline. *Sustainability.* 2024; 16 (4): 1434. doi: 10.3390/su16041434
 9. Polaccoa G, Filippia S, Merusib F, Stastnac G. A review of the fundamentals of polymer-modified asphalts: Asphalt/polymer interactions and principles of compatibility. *Adv Colloid Interface Sci.* 2015; 224: 72-112. doi: 10.1016/j.cis.2015.07.010
 10. Pfeiffer JH, Van Doormal PM. The rheological properties of asphaltic bitumens. *J Inst Pet.* 1936; 22: 414-440.
 11. Günzler H, Gremlich HU. *IR Spectroscopy- An Introduction.* First edition. Weinheim, Germany: Wiley-VCH; 2002.
 12. Behera P, Mandal T, Maiti M, Jasra R. Insight into preparation of vinyl polybutadiene via cobalt-based catalyst: tuning its properties by thiol-ene modification of vinylgroup. *Rubber Chem Technol.* 2016; 89(2): 335-348. doi: 10.5254/ rct.16.84832.
 13. Ciampelli F, Morero D, Cambini M. Some remarks on the infrared analysis of polyisoprenes. *Makromol Chem.* 1963; 61: 250. doi: 10.10102/macp.1963.020610122.
 14. Koltzenburg S, Maskos M, Nuyken O. *Polymer chemistry.* Second edition. Berlin, Germany: Springer; 2023. doi: 10.1007/978-3-662-64929-9.
 15. Airey GD. Rheological properties of styrene-butadiene-styrene polymer modified road bitumens. *Fuel.* 2003; 82: 1709-1719. doi: 10.1016/S0016-2361(03)00146-7.
 16. Al-Adham K, Al-Abdul Wahhab H. Influence of temperature on Jnr values of polymer modified asphalt binders. *Int J Pavement Res Technol.* 2018; 1: 603-610. doi: 10.1016/ j.ijprt. 2018.01.001.
 17. Lesueur D. The colloidal structure of bitumen: consequences on the rheology and on the mechanismus of bitumen modification. *Adv Colloid Interface Sci.* 2009; 45(1-2): 42-82. doi: 10.1016/ j.cis.

DETECCIÓN DE AFLATOXINAS EN MUESTRAS AMBULATORIAS DE SOLUCIÓN OLEOSAS DE CANNABIS DE LIMA METROPOLITANA MEDIANTE DETECTOR DE FLUORESCENCIA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA (FL-HPLC)

Daice Huachaca Lagos^a, Américo Castro Luna^{*a}, Norma Ramos Cevallos^a, Felix Castillo Morales^a, Arcadio Zuñiga Santi^a, Adil Barrientos Amau^a, Maricielo Puma Puma^a, Sofía Otori Querevalu^a

RESUMEN

En este estudio se identificó y cuantificó cinco muestras de soluciones oleosas de cannabis que fueron colectadas en forma ambulatoria del centro de Lima, Perú, para poder realizar el análisis se realizó mediante cromatografía líquida con detector de fluorescencia (HPLC-FL) el análisis requirió de un estándar que contiene mix de cuatro aflatoxinas las cuales son aflatoxinas G1, B1, G2 y B2, A partir del estándar de aflatoxinas de una concentración de 2,6 ug/mL (mix de AFB1, AFB2, AFG1 y AFG2) 1ug/mL de AFB1, 1ug/mL de AFG1, 0.3 ug/mL de AFB2 y 0.3 ug/mL de AFG2, los resultados obtenidos en las muestras analizadas no contienen aflatoxinas, El control de calidad es de suma importancia para verificar que las formulaciones con cannabis puedan tener una dosis adecuada, se debe controlar la dosis adecuada, la contaminación por microorganismos, micotoxinas como las aflatoxinas, plaguicidas entre otros, para poder evitar consecuencias peligrosas para la salud se debe cumplir las normas de seguridad y un control de calidad respectivo.

Palabras clave: Aflatoxinas, Cannabis, Cromatografía líquida, Fluorescencia.

DETECTION OF AFLATOXINS IN AMBULATORY SAMPLES OF CANNABIS OIL SOLUTION FROM LIMA METROPOLITANA BY FLUORESCENCE LIQUID CHROMATOGRAPHY DETECTOR (FL-HPLC)

ABSTRACT

In this study we identified and quantified five samples of oily solutions of cannabis that were collected on an outpatient basis from the center of Lima, Perú, in order to perform the analysis was performed by liquid chromatography with fluorescence detector (HPLC-FL) analysis required a standard containing a mix of four aflatoxins which are aflatoxins G1, B1, G2 and B2, From the standard aflatoxins of a concentration of 2,6 ug/mL (mix

^a Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Jr. Puno N.º 1002, Lima, Perú.

*Autor de correspondencia: acastrol@unmsm.edu.pe

of AFB1, AFB2, AFG1 and AFG2) 1ug/mL of AFB1, 1ug/mL of AFG1, 0.3 ug/mL of AFB2 and 0.3 ug/mL of AFG2, the results obtained in the analyzed samples do not contain aflatoxins. Quality control is of utmost importance to verify that the formulations with cannabis can have an adequate dose, the adequate dose, contamination by microorganisms, mycotoxins such as aflatoxins, pesticides, among others, must be controlled in order to avoid dangerous consequences for health, safety standards and the respective quality control must be complied with.

Keywords: Aflatoxins, Cannabis, Liquid chromatography, Fluorescence.

INTRODUCCIÓN

En el Perú, el 17 de noviembre del 2017 se aprueba la ley “N.º 30681 LEY QUE REGULA EL USO MEDICINAL Y TERAPÉUTICO DEL CANNABIS Y SUS DERIVADOS Artículo 1. Objeto de la Ley La presente ley tiene por finalidad garantizar el derecho fundamental a la salud y permitir el acceso, exclusivamente para uso medicinal y terapéutico, del cannabis y sus derivados”¹. Teniendo en cuenta ello, es importante el conocimiento y/o control de los contaminantes que se hagan presente en las muestras de cannabis. Uno de los contaminantes microbianos son las aflatoxinas, estas son micotoxinas producidas por hongos del género *Aspergillus*².

En 1960, a raíz de la muerte de pavipollos, evento relacionado a la ingesta de harina de maní contaminada por *Aspergillus flavus*, se descubrió la existencia de las aflatoxinas, encontrándose posteriormente una gran variedad, de entre las cuales destacan B1, B2, G1, G2, cuya presencia en alimentos representan un problema a nivel mundial por su carácter altamente tóxico, cancerígeno y teratógeno³. Siendo que La Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC) clasificó a las aflatoxinas como carcinógenos humanos⁴, y así mismo proporciona evidencia científica sobre los efectos nocivos en la salud por la exposición a las aflatoxinas⁵. Estas aflatoxinas se forman en condiciones de temperatura, humedad y precipitaciones idóneas para la proliferación de hongos; además pueden aparecer en el cultivo, cosecha y almacenamiento de productos agrícolas⁶, y mayormente se encuentran en los cereales tales como maíz, arroz, trigo, soja, frutos secos y productos lácteos⁷.

El análisis de aflatoxinas en Perú, se realiza mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS/MS) en muestras de páprika en polvo, páprika entera, nueces, castañas, cacao y cereales⁸. El análisis de aflatoxinas en soluciones oleosas de cannabis es más desafiante debido a la complejidad y la naturaleza de la muestra, utilizando métodos que permitan comprobar que las concentraciones de aflatoxinas se encuentren debajo de los límites reglamentarios permitidos (20 ppb)⁹.

Los detectores de fluorescencia (FL) miden la emisión óptica de luz mediante moléculas de soluto después de haber sido excitadas a una longitud de onda de mayor energía y puede ser muy sensible para compuestos que tienen fluorescencia nativa o que pueden hacerse fluorescente mediante derivatización¹⁰. Esta técnica ha demostrado ser muy importante y eficaz para ayudar a convertir a los analitos en formas activas fluorescentes y hacerlos más sensibles a la técnica de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)¹¹. La técnica HPLC es una herramienta analítica que puede detectar, separar y cuantificar el principio activo, sus diversas impurezas y degradantes, y además cuenta con diversos parámetros cromatográficos de optimización¹². El objetivo de este trabajo

fue determinar la concentración de aflatoxinas presentes en muestras oleosas de *Cannabis sativa* comercializada en Lima metropolitana mediante Detector de Fluorescencia por Cromatografía Líquida (FL-HPLC).

PARTE EXPERIMENTAL

Colecta de las muestras

Las cinco muestras oleosas de *Cannabis sativa* fueron adquiridas de comerciantes ambulatorios en distintos puntos de Lima Metropolitana. En la Tabla 1 se detalla la codificación utilizada, así como los datos encontrados en las etiquetas de los productos adquiridos.

Tabla 1. Datos de las muestras de soluciones oleosas de *Cannabis sativa*.

Muestra	Nombre	Lote	Fecha de vencimiento
N° 1	Extracto estandarizado de cannabidiol (CBD) <i>Cannabis sativa</i>	1014225	S/F
N° 2	Aceite Medicinal Natural CBD	S/L	F.P:03-05-2023 FV:05-03-2025
N° 3	ACEITE MEDICINAL NATURAL CBD	S/L	F.P:03-06-2023 FV:03-06-2025
N° 4	ACEITE MEDICINAL C.B.D MUNDO CANNABIS	Q74	S/F
N° 5	Extracto estandarizado de cannabidiol (CBD) <i>Cannabis Sativa</i>	S/L	S/F

Preparación del estándar

Para la preparación de la curva de calibración se realizó una solución a partir del estándar de aflatoxinas de concentración 2,6 µg/mL (1µg/mL de AFB1; 1µg/mL de AFG1; 0,3 µg/mL de AFB2 y 0,3 µg/mL de AFG2). Se analizaron cinco diluciones de este estándar de aflatoxinas totales, desde 0,65 µg/mL hasta 13,0 µg/mL. Posteriormente se realizó la derivatización de estas soluciones.

Preparación de las muestras

Se pesó 5 g de las muestras oleosas correspondientes, que fueron colocadas en una fiola de 100 mL. Estas fueron aforadas con el diluyente, para luego ser homogeneizadas y agitadas durante 30 minutos utilizando un agitador magnético. Se eluyeron las muestras a través de la columna de inmunoadfinidad, para finalmente realizar el proceso de derivatización para cada una de las cinco muestras.

Derivatización

Todas las muestras fueron sometidas a un proceso de derivatización utilizando como reactivo una solución de ácido trifluoroacético:ácido acético:agua (2:1:7). Se transfirió 200 uL de la muestra a un vial de 1,5 mL; al que se adicionaron 700 uL de reactivo de derivatización. Se cerró el vial y se agitó en Vortex, para posteriormente ser calentado a 65 °C durante 10 minutos en baño maría. Una vez enfriado el vial, se inyectó 50 uL del producto en el equipo de HPLC-FL.

Condiciones cromatográficas

Se utilizó un equipo de Cromatografía líquida de alta resolución con detector de fluorescencia (HPLC-FL). Las muestras fueron eluidas a través de una columna RP-18 de 12.5 cm x 4 mm x 5 um (L1), utilizando como fase móvil una mezcla isocrática agua:metanol (60:40) que fue inyectada a una velocidad de 0,8 mL por minuto (mL/min). La longitud de onda de excitación fue de 365 nm, mientras la de emisión fue de 450 nm.

Determinación de la concentración de aflatoxinas

Una vez culminado el análisis cromatográfico, se utilizaron los datos obtenidos para el cálculo del contenido de aflatoxinas presente en cada una de las muestras.

$$\text{Contenido de aflatoxinas (ug/kg)} = \frac{C_{\text{smpl}} \left(\frac{\text{ng}}{\text{mL}} \right) \times \text{Solvente (mL)} \times \text{elución (mL)}}{\text{peso muestra (g)} \times \text{alícuota (mL)}}$$

Donde:

Peso muestra: peso en gramos de la muestra analizada (5 g)

Solvente: cantidad de solvente para la extracción (100 mL)

Elución: volumen colectado al eluir por la columna de inmunoadfinidad (1 mL)

C_{smpl}: concentración de aflatoxina calculada por regresión lineal

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La legalización del cannabis requiere de métodos analíticos adecuados para garantizar la seguridad pública. En el cannabis pueden existir muchos contaminantes, entre ellos se encuentran los metales pesados como arsénico (As), mercurio (Hg), plomo (Pb) y cadmio (Cd), así como las aflatoxinas, ocratoxina A, plaguicidas, entre otros contaminantes biológicos¹³. Las aflatoxinas son metabolitos secundarios derivados de la

difuranocumarina, generados por hongos del grupo *Aspergillus*, en especial *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, y se consideran contaminantes nocivos por su capacidad para dañar el hígado, afectar el sistema inmunológico y provocar cáncer^{14; 15}. Se clasifican en cuatro tipos generalmente, aflatoxina B1 (AFB1), aflatoxina B2 (AFB2), aflatoxina G1 (AFG1) y aflatoxina G2 (AFG2); siendo la AFB1 la más tóxica y catalogada como carcinógeno del Grupo I por la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC)¹⁶. Por lo que, la presencia de aflatoxinas constituye un riesgo importante, sobre todo en formulaciones no reguladas que podrían estar bajo condiciones de almacenamiento y procesamiento inadecuadas. En la tabla 2 se detallan los datos obtenidos tras el análisis cromatográfico por HPLC-FL de los estándares y muestras problemas.

Tabla 2. Datos del análisis de las muestras de aceite de cannabis para la cuantificación de aflatoxinas.

Sample ID	Área del pico				
	AFLAT. G1	AFLAT. B1	AFLAT. G2	AFLAT. B2	AFLAT. TOTAL
FM	0	0	0	0	0
BLANCO	0	0	0	0	0
STD 1	61789	94621	23526	41875	221811
STD 1	61970	97865	23951	42256	226042
STD 2	129435	227189	53972	93355	503951
STD 2	128431	228935	53289	92980	503635
STD 3	241230	429917	102365	168568	942080
STD 3	243481	438745	105541	164589	952356
STD 4	541300	981025	229158	367560	2119043
STD 4	540669	979956	222596	378224	2121445
STD 5	1297890	2487662	588963	975708	5350223
STD 5	1330530	2490517	583568	971289	5375904
MP1	0	0	0	0	0
MP1	0	0	0	0	0
MP2	0	0	0	0	0
MP2	0	0	0	0	0
MP3	0	0	0	0	0
MP3	0	0	0	0	0
MP4	0	0	0	0	0
MP4	0	0	0	0	0
MP5	0	0	0	0	0
MP5	0	0	0	0	0
FM	0	0	0	0	0

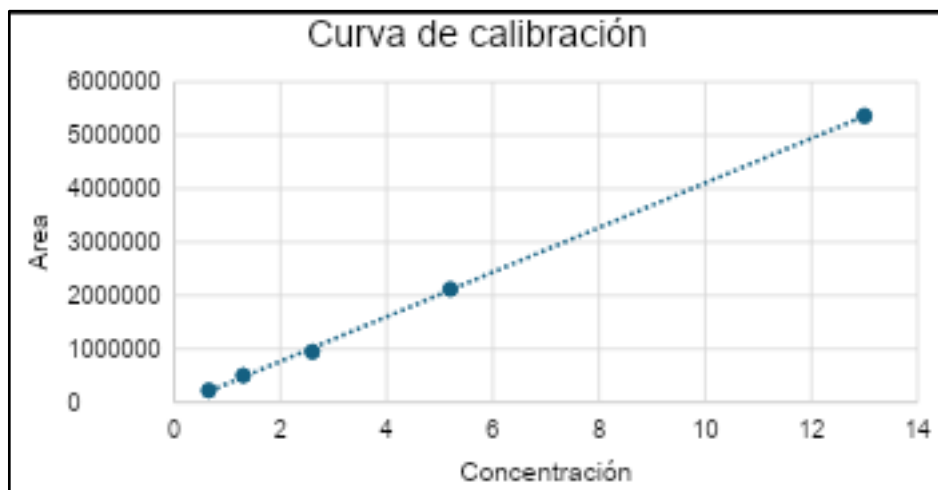


Figura 1. Curva de calibración de aflatoxinas totales para cuantificación de aflatoxinas.

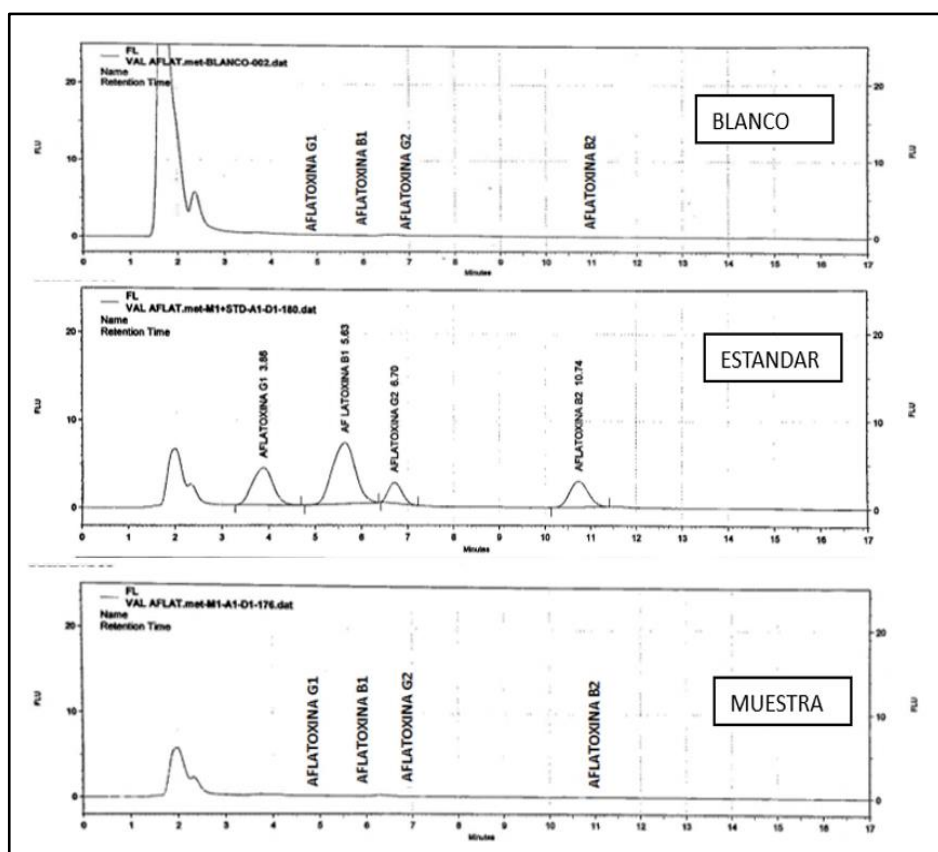


Figura 2. Cromatograma del blanco, mix de estándar de aflatoxinas y muestra problema.

En el presente estudio, se realizó la detección de aflatoxinas en muestras ambulatorias de soluciones oleosas de cannabis. Por lo que, se utilizó un estándar certificado con concentraciones definidas de cada aflatoxina (2,6 $\mu\text{g/mL}$ en total; con 1 $\mu\text{g/mL}$ de AFB1 y AFG1; y 0,3 $\mu\text{g/mL}$ de AFB2 y AFG2), permitiendo establecer un límite de detección confiable. La metodología se realizó de acuerdo a la normativa oficial AOAC 994,03; Norma ICONTEC, NTC 1232, la cual corresponde a la determinación de aflatoxinas en cereales y alimentos por Cromatografía líquida de alta eficiencia con detector de fluorescencia (HPLC-FL)¹⁷. La ausencia de aflatoxinas en las muestras sugiere que los

aceites de cannabis evaluados no estuvieron expuestos a contaminación fúngica significativa en su producción y almacenamiento, lo cual es un hallazgo positivo desde el punto de vista de la seguridad del consumidor. Como se puede observar en los cromatogramas descritos en la figura 2, hubo ausencia de aflatoxinas en las cinco muestras oleosas de *Cannabis sativa*.

Las variedades de *Aspergillus* tienen la capacidad de generar aflatoxinas y ocratoxina A (OTA). No obstante, a pesar de que investigaciones anteriores han señalado que *A. flavus* y *A. parasiticus* pueden sintetizar aflatoxinas en muestras de cannabis libre de gérmenes, estas micotoxinas rara vez se encuentran en análisis de control¹⁸. Esta irregularidad podría deberse a varios motivos, como la abundancia de cepas no productoras de toxinas en los cultivos de cannabis, condiciones ambientales poco propicias para la formación de micotoxinas, el efecto inhibitor de los terpenos de la flores sobre el crecimiento de hongos, o la posible descomposición de compuestos por parte de la planta o sus microorganismos asociados¹⁹.

En la investigación realizada por Burchicio *et al.* (2022), se examinaron las aflatoxinas (AF) y la ocratoxina A (OTA) en 142 muestras de cannabis ilegal decomisadas en el mercado local mediante cromatografía líquida de alta eficacia con un detector de fluorescencia. Las AF se transformaron antes de su detección utilizando una celda Kobra. No se encontró contaminación por AF (LOD=0,04 ug/Kg) en ninguna de las muestras estudiadas. Por otro lado, se halló OTA en alrededor de un tercio de las muestras, con una concentración promedio de 4,30 ug/Kg²⁰.

En el estudio de Wilcox *et al.* (2020) se analizaron 5 muestras de productos de cannabis a las cuales se les realizó la elución de aflatoxinas por columnas de inmunoafinidad multi anticuerpo y comparadas con un sistema automatizado con cartuchos de inmunoafinidad reutilizables en línea que posteriormente fueron analizadas mediante detección por fluorescencia mediante cromatografía líquida, el valor obtenido para la muestra de aceite que contiene 2,75% de cannabidiol (CBD) fue de 0,3 ug/Kg en el primer método y en el segundo 0,1 ug/Kg, observándose la constante de concentraciones bajas de aflatoxinas en muestras comercializadas de cannabis. Analizando la metodología, en este caso las condiciones de extracción fueron diferentes, aunque el metanol - agua es el disolvente de aflatoxinas por excelencia, se optó por una extracción con acetonitrilo - agua, además en la LC se utilizó la programación de dos fases móviles para mejorar la forma de los picos y garantizar una mejor separación de las aflatoxinas individuales, en este estudio se cumplió con un porcentaje de recuperación de 76 a 120%, y las desviaciones estándar estuvieron entre 0,8 y 6,6%²¹.

Existen diversas técnicas cromatográficas para determinar la cantidad de contaminantes en muestras de cannabis; además, otros métodos como el inmunoensayo enzimático para medir la aflatoxina B1²². Sin embargo, los métodos más utilizados son la cromatografía líquida (LS) acoplada a espectrometría de masas (MS), y la cromatografía de gases (GC) acoplada a MS²³. Por ejemplo en el estudio de Serafimovska *et al.* (2021), se analizó la concentración de aflatoxinas en muestras de flores, las flores enriquecidas con aflatoxinas y posteriormente en el extracto descarboxilado con etanol al 96%, analizadas mediante el método analítico LC/MS/MS, en las muestras de flores no se obtuvo cantidades significativas de aflatoxinas, pero en el extracto se encontró una mayor concentración de aflatoxinas en comparación con la muestra enriquecida además se demostró que el método LC/MS/MS es reproducible, sensible, rentable y eficaz para la determinación de aflatoxinas en extractos de cannabis. Se considera importante el control de las aflatoxinas durante el cultivo, cosecha y poscosecha ya que cantidad de aflatoxinas en estas etapas

comprometen la cantidad fuera de los límites permitidos en los productos derivados de ellas²⁴.

CONCLUSIONES

Se realizó la identificación y cuantificación de soluciones oleosas de cannabis mediante cromatografía líquida con detector de fluorescencia (HPLC-FL). El análisis realizado a las muestras analizadas, no reportaron presencia de aflatoxinas, dando un resultado negativo por debajo del límite de detección de 2,6 µg/mL.

AGRADECIMIENTO

Agradecer al Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara" y al Grupo de Investigación Recursos Naturales "RENATU" por brindar los laboratorios y equipos necesarios para realizar la presente investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. El peruano. Ley que regula el uso medicinal y terapéutico del cannabis. Viernes 17 noviembre [Internet]. 2017;ley 30681:3 y 4. [citado 18 mayo 2025]. Disponible en: <https://busquedas.elperuano.pe/normaslegales/ley-que-regula-el-uso-medicinal-y-terapeutico-del-cannabis-y-ley-n-30681-1587374-1/>.
2. Dryburgh LM, Bolan NS, Grof CPL, Galettis P, Schneider J, Lucas CJ, et al. Cannabis contaminants: sources, distribution, human toxicity and pharmacologic effects. *Br J Clin Pharmacol*. 2018 Nov;84(11):2468-2476. doi: 10.1111/bcp.13695.
3. Pickova D, Ostry V, Toman J, Malir F. Aflatoxins: History, Significant Milestones, Recent Data on Their Toxicity and Ways to Mitigation. *Toxins (Basel)*. 2021 Jun 3;13(6):399. doi: 10.3390/toxins13060399.
4. Organización Mundial de la Salud. Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volumen 56. Lyon, France: IARC Press; 1993. Aflatoxinas; págs. 245–395.
5. Wild CP, Miller JD, Groopman JD. Control de las micotoxinas en los países de ingresos bajos y medios. IARC. Informes de Grupos de Trabajo N°9. 2015. 9 p.
6. Jallow A, Xie H, Tang X, Qi Z, Li P. Worldwide aflatoxin contamination of agricultural products and foods: From occurrence to control. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2021 May;20(3):2332-2381. doi: 10.1111/1541-4337.12734.
7. Leask E, Gibb RC, Laidlaw JP. Aflatoxin. *Lancet*. 1964 May 16;1(7342):1090.
8. SENASA. Método de ensayo: determinación de aflatoxinas en alimentos por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masa en tándem (LC-MS/MS) [Internet]. 2022. [citado 10 jun 2025]. Disponible en: https://www.senasa.gob.pe/intranet/wp-content/uploads/2022/09/MET-UCCIRT-Res-16_6-Aflatoxinas.pdf.

9. Performance H, Chromatography L. Ochratoxin A in Cannabis by LC Using Prominence-i and the RF-20Axs Fluorescence Detector:19–21.
10. Swartz M. HPLC detectors: a brief review. *J Liq Chromatogr Relat Technol.* 2010; 33(9-12):1130-1150. doi: 10.1080/10826076.2010.484356.
11. Muhammad N, Hussian I, Ali A, Hussain T, Intisar A, Ul Haq I, et al. A comprehensive review of liquid chromatography hyphenated to post-column photoinduced fluorescence detection system for determination of analytes. *Arab J Chem.* 2022;15(9):104091. doi: 10.1016/j.arabjc.2022.104091.
12. Gupta V, Jain AD, Gill NS, Gupta K. Development and validation of HPLC method - a review. *International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences.* 2012; 2(4): 17-25.
13. Dryburgh LM, Bolan NS, Grof CPL, Galettis P, Schneider J, Lucas CJ, et al. Cannabis contaminants: sources, distribution, human toxicity and pharmacologic effects. *Br J Clin Pharmacol.* 2018;84(11):2468-76. Disponible en: doi: 10.1111/bcp.13695.
14. Gwinn KD, Leung MCK, Stephens AB, Punja ZK. Fungal and mycotoxin contaminants in cannabis and hemp flowers: implications for consumer health and directions for further research. *Front Microbiol.* 2023 Oct 19;14:1278189. doi: 10.3389/fmicb.2023.1278189.
15. Working I. IARC Monographs on the evaluation of Carcinogenic Risks to Humans [Internet]. Nih.gov. International Agency for Research on Cancer; 2025 [citado 6 mar 2025]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK419324/>
16. IARC. Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins [Internet]. [citado 21 mayo 2025]. Disponible en: <http://publications.iarc.who.int/Book-And-Report-Series/Iarc-Monographs-On-The-Identification-Of-Carcinogenic-Hazards-To-Humans/Some-Naturally-Occurring-Substances-Food-Items-And-Constituents-Heterocyclic-Aromatic-Amines-And-Mycotoxins-1993>
17. AOAC. Determinación de aflatoxinas en cereales y alimentos por cromatografía líquida de alta eficiencia HPLC. AOAC Official Method 994.03. ICONTEC NTC 1232.
18. Jameson LE, Conrow KD, Pinkhasova DV, Boulanger HL, Ha H, Jourabchian N, et al. Comparison of State-Level Regulations for Cannabis Contaminants and Implications for Public Health. *Environ Health Perspect.* 2022 Sep;130(9):97001. doi: 10.1289/EHP11206.
19. Palumbo JD, O’Keeffe TL, Abbas HK. Microbial interactions with mycotoxigenic fungi and mycotoxins. *Toxin Rev.* 2008;27(3-4):261–85. doi: 10.1080/15569540802416301.
20. Buchicchio L, Asselborn L, Schneider S, van Nieuwenhuyse A, Moris G, Schummer C. Investigation of aflatoxin and ochratoxin A contamination of seized cannabis and cannabis resin samples. *Mycotoxin Res.* 2022 Feb;38(1):71-78. doi: 10.1007/s12550-022-00449-z.
21. Wilcox J, Pazdanska M, Milligan C, Chan D, MacDonald SJ, Donnelly C. Analysis of Aflatoxins and Ochratoxin A in Cannabis and Cannabis Products by LC–Fluorescence Detection Using Cleanup with Either Multiantibody Immunoaffinity Columns or an Automated System with In-Line Reusable Immunoaffinity Cartridges. *J AOAC Int.* 2020;103(2):494-503. doi: 10.5740/jaoacint.19-0176.

22. Nardo FD, Cavallera S, Baggiani C, Chiarello M, Pazzi M, Anfossi L. Enzyme Immunoassay for Measuring Aflatoxin B1 in Legal Cannabis. *Toxins (Basel)*. 2020 Apr 20;12(4):265. doi: 10.3390/toxins12040265.
23. López-Ruiz R, Marín-Sáez J, Garrido Frenich A, Romero-González R. Recent applications of chromatography for analysis of contaminants in cannabis products: a review. *Pest Manag Sci*. 2022 Jan;78(1):19-29. doi: 10.1002/ps.6599.
24. Serafimovska T, Stefanovski S, Erler J, Keskovski Z, Stefkov G, Mitevska M, et al. Does Cannabis Extract Obtained From Cannabis Flowers With Maximum Allowed Residual Level of Aflatoxins and Ochratoxin a Have an Impact on Human Safety and Health? *Front Med (Lausanne)*. 2021 Nov 15;8:759856. doi: 10.3389/fmed.2021.759856.1

METALES PESADOS Y HONGOS MICOTOXIGÉNICOS EN *Zea mays* L. "maíz amarillo duro" EN ETAPAS DE COSECHA Y POSCOSECHA EN LA CIUDAD DE HUARAL, LIMA-PERÚ

Juan Ponce Cobos^a, Américo Castro Luna^{*a}, Norma Ramos Cevallos^a, Felix Castillo Morales^a

RESUMEN

El maíz amarillo duro es un cultivo fundamental en la dieta peruana, pero su calidad puede verse comprometida por contaminantes químicos y biológicos. El presente estudio tuvo como objetivo determinar la presencia de plomo, cadmio y hongos micotoxigénicos en muestras de maíz amarillo duro en etapas de cosecha y poscosecha procedentes de Huaral, Lima. Para ello, se determinaron las concentraciones de plomo y cadmio mediante Espectrofotometría de Absorción Atómica de Flama, además, se aislaron y contaron los hongos mediante purificación de cepas en medios selectivos para identificar géneros micotoxigénicos. Los resultados mostraron concentraciones elevadas de plomo ($< 5,847$ mg/kg) y cadmio ($< 1,016$ mg/kg), que exceden los límites internacionales para cereales. En el análisis micotoxigénico, se identificaron los géneros *Fusarium sp.* y *Penicillium sp.* en ambas etapas, con dos cepas distintas de *Fusarium* aisladas, pero no identificadas a nivel de especie. Estos hallazgos coinciden con reportes que indican que la contaminación fúngica puede originarse tanto en campo como en almacenamiento, y que el manejo inadecuado favorece la proliferación de hongos toxigénicos. Además, es fundamental implementar estrategias integrales de manejo poscosecha para reducir la contaminación química y biológica, asegurando la calidad e inocuidad del maíz amarillo duro.

Palabras clave: Plomo, Cadmio, *Zea mays*, *Fusarium*, *Penicillium*.

^a Facultad de Farmacia y Bioquímica, Departamento de Química Básica y Aplicada, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Av. Miguel Grau 755, Lima 23, Perú.

*Autor de correspondencia: acastrol@unmsm.edu.pe

HEAVY METALS AND MYCOTOXYGENIC FUNGI IN *Zea mays* L. "maíz amarillo duro" AT HARVEST AND POST HARVEST STAGES IN HUARAL CITY, LIMA-PERU

ABSTRACT

Hard yellow corn is a fundamental crop in the Peruvian diet, but its quality can be compromised by chemical and biological contaminants. The present study aimed to determine the presence of lead, cadmium and mycotoxigenic fungi in samples of hard yellow corn at harvest and postharvest stages from Huaral, Lima. For this purpose, lead and cadmium concentrations were determined by Flame Atomic Absorption Spectrophotometry, and fungi were isolated and counted by purification of strains on selective media to identify mycotoxigenic genera. The results showed elevated concentrations of lead ($< 5,847$ mg/kg) and cadmium ($< 1,016$ mg/kg), which exceed international limits for cereals. In the mycotoxigenic analysis, the genera *Fusarium* sp. and *Penicillium* sp. were identified at both stages, with two distinct strains of *Fusarium* isolated, but not identified to species level. These findings are consistent with reports indicating that fungal contamination can originate both in the field and in storage, and that improper handling favors the proliferation of toxigenic fungi. In addition, it is essential to implement integrated postharvest management strategies to reduce chemical and biological contamination, ensuring the quality and safety of hard yellow corn.

Keywords: Plumb, Cadmium, *Zea mays*, *Fusarium*, *Penicillium*.

INTRODUCCIÓN

Las micotoxinas son compuestos bioactivos producidos principalmente por hongos de los géneros *Aspergillus* spp, *Penicillium* spp y *Fusarium* spp, los cuales tienden a infectar cultivos de cereales, que son fuentes importantes de alimento para humanos y animales. Entre las micotoxinas más relevantes se encuentran los tricoenos, las fumonisinas, las aflatoxinas, la ocratoxina A y la zearalenona (1-6). Estos compuestos no solo perjudican los cultivos, sino que su ingesta se ha vinculado al desarrollo de enfermedades crónicas, efectos carcinogénicos, inmunosupresión y alteraciones endocrinas (7). Se han identificado alrededor de 35 tipos de micotoxinas que pueden afectar al maíz y a sus productos derivados (8). La ocratoxina A, en particular, es una micotoxina producida por hongos de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, y es un contaminante común en cereales como el maíz, con demostrada toxicidad, especialmente a nivel renal (9).

Además, es fundamental destacar que la presencia de metales pesados en alimentos de origen vegetal representa un riesgo significativo para la salud humana, principalmente debido a la contaminación de los suelos agrícolas peruanos. Estos suelos contienen de manera natural compuestos químicos como cadmio, mercurio, arsénico, cromo y plomo, los cuales se ven incrementados por diversas actividades humanas que contribuyen a la contaminación del suelo (10). El plomo, un metal pesado altamente tóxico, puede causar daños en el sistema nervioso, renal, reproductor, hematopoyético y cardiovascular. Por su parte, el cadmio es reconocido como un metal pesado con alta toxicidad y ha sido clasificado por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) como carcinógeno del Grupo I (11). La Organización Mundial de la Salud (OMS) los señalan

entre las diez sustancias químicas que representan mayor preocupación para la salud pública. Estos metales se acumulan en los suelos debido a prácticas agrícolas como la fertilización y el riego, y posteriormente son absorbidos por las plantas a través de sus raíces, lo que facilita su entrada en la cadena alimentaria (12).

En el Perú, el cultivo de maíz representa una actividad económica relevante en el Perú, según el informe de SENASA, que requiere un monitoreo fitosanitario constante debido a su susceptibilidad a infestaciones por enfermedades y plagas (13), especialmente aquellas causadas por hongos, que van desde la pudrición de las mazorcas hasta la generación de micotoxinas (14). Tanto el Codex Alimentarius (CXS 193-1995) como la normativa vigente de la Unión Europea establecen los mismos límites permitidos para plomo y cadmio en cereales, fijando en 0,1 mg/kg el máximo para cadmio y en 0,2 mg/kg para plomo, con el fin de salvaguardar la salud pública y facilitar el comercio.

Por esta razón, el objetivo de este estudio fue determinar la presencia de plomo, cadmio y hongos micotoxigénicos en muestras de maíz amarillo duro en etapas de cosecha y poscosecha procedentes de Huaral, Lima, esto permitirá comprender mejor la problemática existente y contribuir con información valiosa para futuras investigaciones relacionadas con la salud pública, la salud ambiental y la seguridad alimentaria.

PARTE EXPERIMENTAL

Recolecta de las muestras

El presente estudio se realizó recolectando muestras de maíz amarillo duro de diferentes campos de cultivos localizados en la ciudad de Huaral a 188 msnm, del departamento de Lima. Además, la colecta fue realizada en etapas de cosecha y poscosecha, a una temperatura aproximada de 23 °C y 17 °C en los meses de abril y agosto del 2024, respectivamente (Ver Tabla 1). La muestra recolectada de cada campo de cultivo estuvo compuesta de 3 puntos de muestreos aleatorios para que este fuese lo más representativo posible de cara al consumidor final.

Tabla 1. Descripción informativa de las muestras de maíz amarillo duro recolectadas.

Nº	Nombre	Procedencia	Muestra*
1	MPC	Campos de cultivos en Huaral, Lima.	600 g de Maíz amarillo duro en etapa de poscosecha.
2	MC	Campos de cultivos en Huaral, Lima.	600 g de Maíz amarillo duro en etapa de cosecha.

*La muestra está conformada por el muestreo de 3 puntos aleatorios.

Clasificación y tratamientos de las muestras

Se realizó la clasificación taxonómica de las muestras de maíz amarillo duro procedentes de la ciudad de Huaral, del departamento de Lima. Posteriormente, las muestras fueron secadas en una estufa a 40 °C hasta la pérdida total de humedad. Luego, se redujo el tamaño de partícula de las muestras en un molino de cuchillas. Finalmente, las muestras

homogenizadas se conservaron a bajas temperaturas sin exposición a la luz, ni humedad (15).

Determinación de metales pesados

Se siguió la determinación de plomo y cadmio según el método AOAC 999.11 (16), el análisis de las muestras se realizó mediante un espectrofotómetro de absorción atómica de flama modelo AA-7000 de Shimadzu. En la etapa de preparación para determinar plomo, cadmio y arsénico. Se pesó entre 10 y 20 gramos de las muestras de maíz amarillo duro en un crisol, luego fue sometida a calcinación en una mufla, con un incremento gradual de temperatura desde 100°C hasta alcanzar 450°C, por un período de al menos 8 horas. Posteriormente, se añadieron 2 ml de agua destilada y la muestra se calentó en una plancha, para luego reintroducirla en la mufla. Una vez obtenidas las cenizas, se procedió a agregar 5 ml de HNO₃ 6M hasta evaporación completa. Finalmente, se adicionó HNO₃ 0,1M para la digestión, la cual se dejó por 20 minutos. El residuo se transfirió a una fiola de 25 ml, completando el volumen con agua ultrapura.

El blanco de las muestras fue procesado siguiendo el mismo procedimiento que las muestras, y el análisis se llevó a cabo por duplicado. Como referencia, se emplearon soluciones estándar de plomo y cadmio con concentración inicial de 1000 mg/L y 996 mg/L en medio de HNO₃ 0,5N; respectivamente. A partir de estas, se preparó una curva de calibración con puntos de 0,05; 0,1; 0,2 y 5 ppm para cadmio y de 0,5; 1; 2 y 5 ppm para plomo.

Dado que las concentraciones de Pb y Cd se reportaron entre el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ), se trataron como datos censurados. Se aplicó un enfoque por escenarios: valor conservador (LOD), estimación puntual (media del intervalo [LOD, LOQ]) y valor máximo (LOQ). Para contextualizar la incertidumbre, se estimó la desviación estándar y, cuando correspondió, se calcularon intervalos de confianza del 95 % para la media y se acotaron físicamente a [LOD, LOQ]. Finalmente, se compararon las estimaciones con los límites máximos permitidos (UE/Codex).

Análisis de hongos micotoxigénicos

De las muestras se tomaron 10 g en un ambiente estéril del maíz amarillo en etapas de poscosecha y cosecha, y luego se colocó en un matraz con 90 ml de agua peptonada estéril y se dejó en agitación a 160 RPM por 15 minutos. A continuación, se realizaron diluciones decimales hasta llegar a la concentración 10⁻⁶. Una vez realizadas las diluciones, se seleccionó 100 ul de cada dilución para sembrar en placas Petri por incorporación y por triplicado en Agar Papa Dextrosa (APD) a la cual se le agregó 0,4 g/L de cloranfenicol. Las condiciones de incubación fueron a 28°C en un período de 5 a 7 días, con un seguimiento constante del crecimiento (17).

A partir de estos es que se realizó el proceso de repique en otras placas Petri con APD para adquirir solo una cepa de hongo por placa y poder realizar una adecuada identificación. Las condiciones de incubación fueron a 28°C en un período de 5. Las colonias fúngicas obtenidas se inocularon en APD inclinado, luego de las mismas condiciones de incubación se conservaron en refrigeración a 4°C.

Se realizó el método de Riddell modificado (18), el cual consiste en utilizar placas Petri con lámina y laminillas estériles, en las cuales se le adiciona porciones de agar de 0,8 cm de lado y de alto para luego inocular el hongo en las caras laterales, posteriormente se le coloca una laminilla sobre el agar, y luego se agregó una porción de algodón húmedo

estéril, y de esta forma se dejó en incubación por 28°C por 5 días. Posteriormente, tras la incubación se realizó una observación del crecimiento de cada hongo con sus respectivas estructuras adheridas a las láminas. Finalmente, se realizó un montaje de las láminas y laminillas con azul de lactofenol para observar las estructuras de los hongos en microscopio óptico, se corroboró el género de cada uno de los hongos purificados y se reportó cada uno.

Recuento microbiano

Los hongos almacenados en refrigeración fueron reactivados en APD a través de una siembra en una placa Petri por puntura, luego se incubaron a 28 °C durante 5 días. Todo este proceso se realizó por triplicado. Se cuantificaron las colonias que crecieron en el medio de cultivo APD, con cloranfenicol, y se determinó el recuento microbiano en unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml) mediante la siguiente fórmula:

$$\text{UFC/ml} = \frac{\# \text{ colonias} \times \text{Factor de dilución}}{\text{Volumen de sembrado (ml)}}$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La investigación se llevó a cabo en el Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara" en la Facultad de Farmacia y Bioquímica – UNMSM y en el Laboratorio de Investigación y Certificaciones "LABICER" en la Facultad de Ciencias – UNI.

Determinación de metales pesados

Se realizó la determinación de Plomo y Cadmio en las muestras de maíz amarillo duro en etapas de poscosecha y cosecha (Ver Tabla 2). Los resultados revelaron concentraciones preocupantes de metales pesados en las muestras de maíz amarillo duro analizadas, con niveles de plomo (< 5,847 mg/kg) y cadmio (< 1,016 mg/kg) que exceden significativamente los estándares internacionales de seguridad alimentaria y representan un riesgo potencial para la salud humana y animal.

Tabla 2. Determinación de Plomo (Pb) y Cadmio (Cd) en las muestras de Maíz amarillo duro recolectadas.

Metal pesado	Muestra de Maíz amarillo duro (mg/Kg)		LOQ* (mg/Kg)	LMP (mg/Kg)
	Poscosecha	Cosecha		
Pb**	< 5,847	< 5,847	5,847	0,2
Cd***	< 1,016	< 1,016	1,016	0,1

*Límite de Cuantificación del Método. **LOD: 1,754 mg/Kg ***LOD: 0,305 mg/kg

Las concentraciones de Pb y Cd se ubicaron entre LOD y LOQ (1,754 – 5,847 mg/kg para Pb; 0,305 – 1,016 mg/kg para Cd). La estimación puntual (media del intervalo) fue de

3,80 mg/kg para Pb (SD de 1,18 mg/kg) y 0,66 mg/kg para Cd (SD de 0,21 mg/kg). Considerando $n=3$, los IC95 % teóricos, acotados a los límites analíticos, abarcaron [1,754; 5,847] mg/kg (Pb) y [0,305; 1,016] mg/kg (Cd). En el análisis de sensibilidad frente a la normativa, incluso el escenario más conservador (LOD) superó los límites máximos permitidos de 0,2 mg/kg (Pb) y 0,1 mg/kg (Cd) en $8,8\times$ y $3,1\times$ veces, respectivamente; la estimación puntual indicó $19,0\times$ (Pb) y $6,6\times$ (Cd) veces, y el escenario máximo $29,2\times$ (Pb) y $10,2\times$ (Cd) veces (Ver Tabla 3).

Tabla 3. Resumen analítico de Pb y Cd, estimaciones y comparación normativa.

Metal pesado	LOD (mg/kg)	LOQ (mg/kg)	Estimación puntual (mg/kg)	SD* estimada (mg/Kg)	Múltiplo LMP (LOD)	Múltiplo LMP (puntual)	Múltiplo LMP (LOQ)
Pb	1,754	5,847	3,801	1,182	8,8 x	19,0 x	29,2 x
Cd	0,305	1,016	0,661	0,205	3,1 x	6,6 x	10,2 x

*Desviación estándar.

Aun con la incertidumbre inherente a los datos censurados entre LOD y LOQ, el enfoque por escenarios muestra que, para Pb y Cd, el incumplimiento normativo persiste en todo el rango plausible. Esta conclusión es robusta porque el escenario más conservador (LOD) ya excede los límites máximos (UE/Codex). La magnitud de los múltiplos ($\geq 3\times$ para Cd y $\geq 8\times$ para Pb veces) sugiere una contribución relevante de fuentes y prácticas agronómicas (fertilizantes fosfatados, riego, y movilidad geoquímica de cationes divalentes), coherente con lo reportado para cereales en contextos similares. Todo esto podría indicar una contaminación severa que puede representar riesgos significativos para la seguridad alimentaria, considerando que el maíz es un alimento básico en la dieta peruana.

La extensión de esta contaminación es acorde con investigaciones anteriores que han evidenciado la habilidad del maíz para acumular metales pesados de suelos contaminados. Estudios llevados a cabo en cultivos de maíz situados cerca de depósitos mineros han revelado que estas plantas son capaces de concentrar grandes cantidades de metales pesados, lo que reduce notablemente su rendimiento y plantea riesgos potenciales para la salud de animales y personas que las consumen (19).

Desde un punto de vista químico, la alta afinidad del Pb y Cd por compuestos nitrogenados y fosforilados del grano, como proteínas y fitatos, favorece su acumulación en matrices vegetales. Entre las fuentes probables de contaminación se encuentran el uso de fertilizantes fosfatados, aguas de riego contaminadas y depósitos residuales en suelos agrícolas (20; 21). La evidencia sugiere que, aunque el análisis estuvo limitado por el LOQ, el riesgo potencial para la salud pública es elevado, especialmente considerando la ingesta crónica de maíz en la dieta local.

Los elevados niveles de metales pesados registrados indican que las plantas de maíz analizadas probablemente sufrieron efectos fitotóxicos durante su desarrollo. Investigaciones experimentales han evidenciado que el cadmio provoca una reducción del 42% en la altura de las plantas y una pérdida de peso del 63% en las dosis más altas, mientras que el plomo produce una disminución del 20% en altura y del 15% en peso. Dado que el cadmio es más móvil y soluble en agua en comparación con otros metales, su impacto en el crecimiento vegetal es más significativo, ya que inhibe la síntesis de

proteínas, afecta negativamente la fotosíntesis y dificulta el transporte de carbohidratos (22). La acumulación de estos metales en los tejidos de las plantas no solo compromete la calidad nutricional de los granos, sino que también interfiere con la absorción de nutrientes esenciales. Investigaciones han mostrado que la exposición al cadmio reduce de manera considerable el contenido de potasio (18,4%) y calcio (21,3%) en los brotes, así como también afecta la asimilación de micronutrientes como el cobre, zinc, hierro y manganeso (23).

Análisis de hongos micotoxigénicos

Se realizó secuencialmente la resuspensión, purificación, preservación y repique de las muestras de maíz amarillo duro en etapas de poscosecha y cosecha (Ver Figura 1).

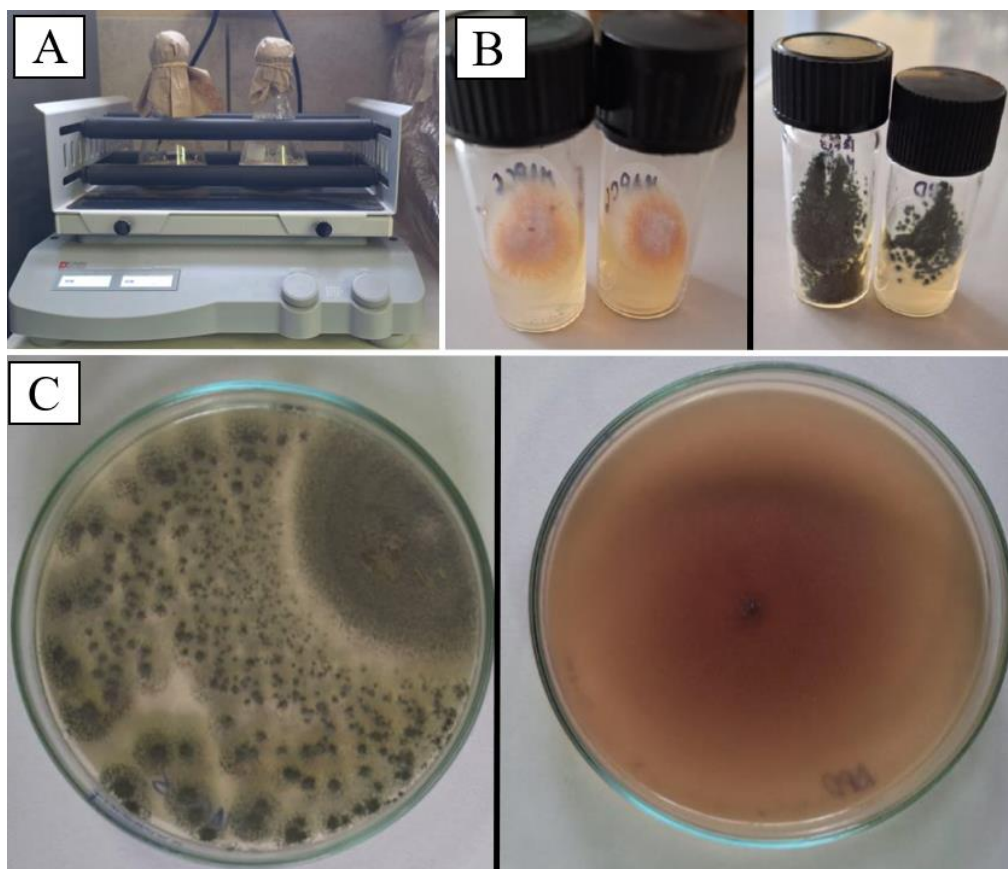


Figura 1. Proceso de preparación de las muestras de maíz amarillo duro en etapas de poscosecha y cosecha **A.** Resuspensión **B.** Purificación **C.** Repique

En el análisis de macrocultivo y microcultivo se lograron encontrar los géneros de hongos *Fusarium sp.* y *Penicillium sp.* tanto para el maíz amarillo duro en etapa de poscosecha (Ver Figura 2) y para el de la etapa de cosecha (Ver figura 3). Los hongos *Fusarium sp.* presentaron remarcadas hifas hilianas septadas y los conidios fragmosporados e hilianos, mientras que el *Penicillium sp.* presento hifas hilianas, septadas y conidios en cadenas desde las fiásides.

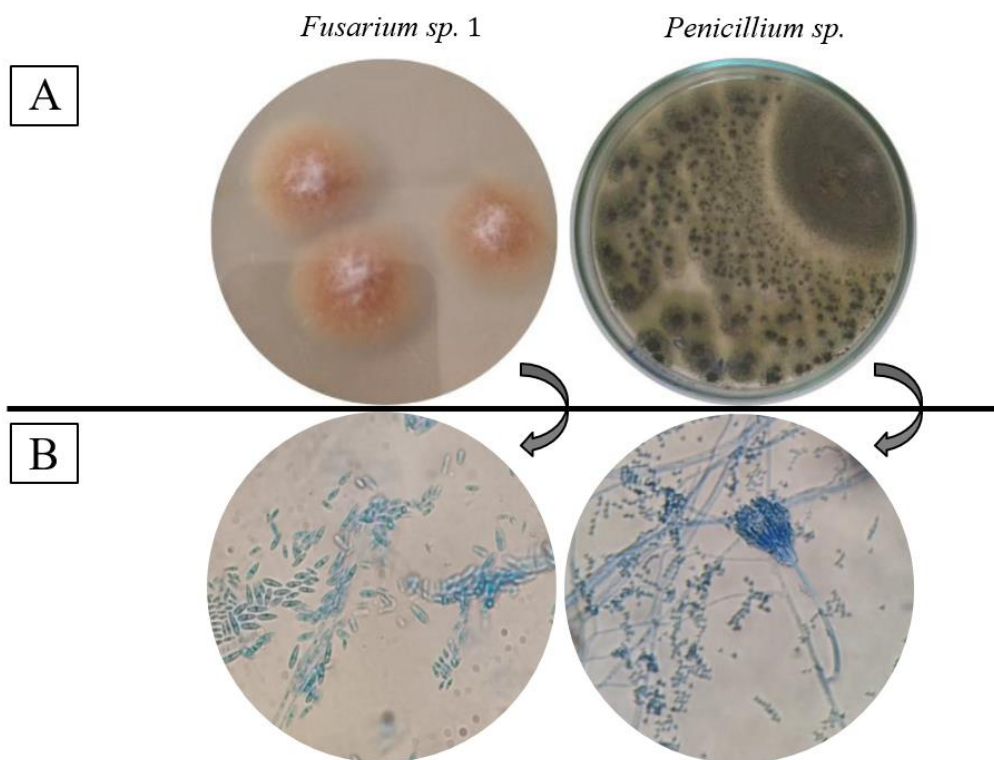


Figura 2. Análisis micotoxigénico del maíz amarillo duro en etapa de poscosecha **A.** macrocultivo **B.** microcultivo

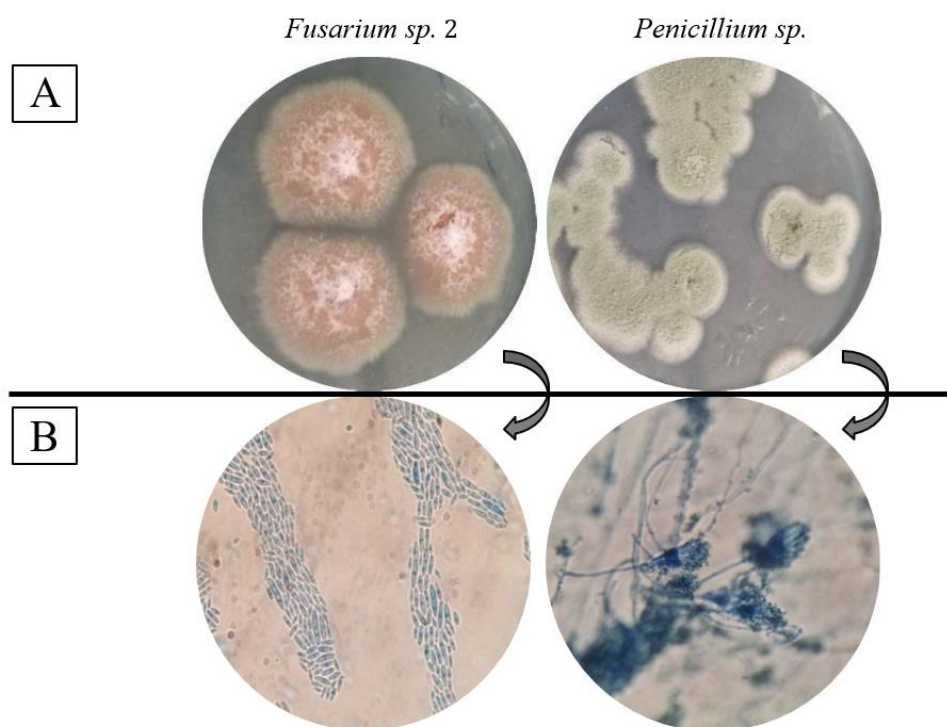


Figura 3. Análisis micotoxigénico del maíz amarillo duro en etapa de cosecha **A.** macrocultivo **B.** microcultivo

Se lograron aislar dos cepas clasificadas dentro del género *Fusarium*; sin embargo, la identificación a nivel de especie no fue posible debido a las limitaciones propias de la caracterización morfológica y a la falta de análisis moleculares adicionales. Por ello, ambos aislamientos se reportan como *Fusarium sp. 1* y *Fusarium sp. 2*, se les asignaron las denominaciones provisionales para distinguir entre las dos cepas identificadas únicamente a nivel genérico.

La presencia de *Fusarium sp.* y *Penicillium sp.* en muestras de maíz amarillo duro durante las fases de poscosecha y cosecha indica un posible riesgo para la seguridad alimentaria, debido a la capacidad de estos hongos para producir micotoxinas termoestables que pueden persistir a lo largo del procesamiento. La identificación restringida a nivel genérico subraya la necesidad de aplicar técnicas moleculares que permitan una caracterización más precisa, lo cual es fundamental para evaluar el verdadero perfil toxigénico de estas cepas (24).

La detección de ambos géneros en las fases de poscosecha y cosecha indica que puede haber contaminación tanto en el campo como en el almacenamiento. Prácticas inadecuadas en el manejo de la poscosecha, como un secado lento y niveles de humedad superiores al 18%, favorecen el crecimiento de *Penicillium sp.*, cuyas toxinas pueden generarse incluso en material fresco antes de ser ensilado (25). En el caso de *Fusarium sp.*, las condiciones climáticas durante la floración, como las lluvias y la alta humedad, favorecen ciertas infecciones iniciales, mientras que los daños mecánicos ocurridos durante la cosecha facilitan la entrada de contaminantes secundarios (26).

Recuento microbiano

Previamente, se realizó el pretratamiento a las muestras de maíz amarillo duro en etapas de poscosecha y cosecha según la Figura 1. Posteriormente, se procedió a realizar el conteo de colonias (Ver Figura 4) dando como resultado $< 3,0 \times 10^4$ UFC/ml para el maíz amarillo duro en etapa de poscosecha y $1,80 \times 10^5$ UFC/ml para el maíz amarillo duro en etapa de cosecha (Ver Tabla 4).



Figura 4. Recuento microbiano de hongos en el maíz amarillo duro en etapas de poscosecha y cosecha.

Tabla 4. Recuento microbiano de las muestras de maíz amarillo duro recolectadas.

Muestra de Maíz amarillo duro	Cuento (# de colonias)				Dilución	Recuento microbiano (UFC/ml)
	1°	2°	3°	Prom.		
Etapas de poscosecha	3	1	1	1,67*	10^{-3}	$< 3,0 \times 10^4$
Etapas de cosecha	21	18	15	18,00**	10^{-3}	$1,8 \times 10^5$

*Fuera del límite mínimo detectable. **Dentro del rango tolerable.

Los recuentos microbianos registrados ($< 3,0 \times 10^4$ UFC/mL en poscosecha vs. $1,80 \times 10^5$ UFC/mL en cosecha) revelan un patrón atípico que sugiere contaminación primaria durante la fase de cosecha y un control parcial durante el almacenamiento. Esta divergencia señala deficiencias críticas en el manejo agronómico inicial y destaca la necesidad de optimizar protocolos de higiene en etapas tempranas de la cadena de producción.

La disminución a $< 3,0 \times 10^4$ UFC/mL sugiere la aplicación de prácticas de secado eficaces, probablemente reduciendo la humedad por debajo del 14%, umbral crítico para inhibir el crecimiento bacteriano. Sin embargo, la persistencia de *Fusarium* y *Penicillium* indica que las temperaturas de almacenamiento mantuvieron condiciones óptimas para la esporulación fúngica, la ventilación insuficiente en silos creó microambientes anaerobios favorables para hongos facultativos o la ausencia de tratamientos antimicrobianos (ej. ácido propiónico) permitió la supervivencia de esporas termotolerantes (27).

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente estudio ponen en evidencia una preocupante contaminación del maíz amarillo duro en las etapas de poscosecha y cosecha, tanto por metales pesados como por microorganismos potencialmente toxigénicos. Las concentraciones elevadas de plomo y cadmio superan ampliamente los límites internacionales, lo que representa un riesgo significativo para la salud humana y animal. La presencia de géneros fúngicos como *Fusarium sp.* y *Penicillium sp.*, junto con la identificación de dos cepas distintas de *Fusarium*, indica una contaminación micológica persistente que puede derivar en la producción de micotoxinas nocivas. Finalmente, los recuentos microbianos sugieren una alta carga bacteriana en la etapa de cosecha que disminuye en poscosecha, reflejando un manejo poscosecha parcial pero insuficiente para controlar la proliferación fúngica.

AGRADECIMIENTO

Al Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales “Juan de Dios Guevara” de la Facultad de Farmacia y Bioquímica-UNMSM y al Laboratorio de

Investigación y Certificaciones LABICER de la Universidad Nacional de Ingeniería, por el apoyo brindado durante la ejecución de la presente investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Achaglinkame MA, Opoku N, Amagloh FK. Aflatoxin contamination in cereals and legumes to reconsider usage as complementary food ingredients for Ghanaian infants: A review. *J Nutr Intermed Metab*. 2017 Dec 1; 10:1–7. doi: 10.1016/j.jnim.2017.09.001
2. Mousavi Khaneghah A, Ismail E, Raeisi S, Fakhri Y. Aflatoxins in cereals: State of the art. *J Food Saf*. 2018 Dec 1;38(6): e12532. doi: 10.1111/jfs.12532.
3. Polak-Śliwińska M, Paszczyk B. Trichothecenes in food and feed, relevance to human and animal health and methods of detection: A systematic review. *Molecules*. 2021 Jan 16;26(2):454. doi: 10.3390/molecules26020454.
4. Salasib A. A Review of Ochratoxin A Occurrence, Condition for the Formation and Analytical Methods. *Int J Agric Sci Food Technol*. 2020 oct 29;180–5. doi: 10.11648/j.jddmc.20200602.11.
5. Topi D, Babić J, Pavšič-Vrtač K, Tavčar-Kalcher G, Jakovac-Strajn B. Incidence of *Fusarium* Mycotoxins in Wheat and Maize from Albania. *Molecules*. 2020 Dec 31;26(1):172. doi: 10.3390/molecules26010172.
6. Mahato DK, Devi S, Pandhi S, Sharma B, Maurya KK, Mishra S, et al. Occurrence, impact on agriculture, human health, and management strategies of zearalenone in food and feed: A review. *Toxins (Basel)*. 2021 Jan 26;13(2):92. doi: 10.3390/toxins13020092.
7. Duarte-Vogel S, Villamil-Jiménez LC. Micotoxinas en la Salud Pública. *Rev Salud Pública Sup*. 2006;8(1):129–35.
8. Weaver AC, Weaver DM, Adams N, Yiannikouris A. Co-Occurrence of 35 Mycotoxins: A Seven-Year Survey of Corn Grain and Corn Silage in the United States. *Toxins (Basel)*. 2021 Jul 23;13(8):516. doi: 10.3390/toxins13080516.
9. Lopez de Cerain A, Jimenez AM, Espeleta O, Bello J. Efectos tóxicos de la ocratoxina A. [Internet]. Pamplona: Facultad de Farmacia, Universidad de Navarra [citado 12 mar 2025]. Disponible en: https://www.adiveter.com/ftp_public/articulo804.pdf
10. López LK, García M, Madueño F, Bautista N, Marín G, Olórtégui D. Metales pesados en tres variedades de *Solanum tuberosum* L. (papa) expendidos en el mercado mayorista de Santa Anita (Lima-Perú). *Ciencia e Investigación*. 2020; 23(1): 25-30.
11. Degryse F, Smolders E, Parker DR. Partitioning of metals (Cd, Co, Cu, Ni, Pb, Zn) in soils: concepts, methodologies, prediction and applications - a review. *Eur J Soil Sci*. 2009;60(4):590–612. doi: 10.1111/j.1365-2389.2009.01142.x.
12. Buccolieri A, Buccolieri G, Dell'Atti A, Strisciullo G, Gagliano-Candela R. Monitoring of total and bioavailable heavy metals concentration in agricultural soils. *Environ Monit Assess*. 2010;168(1–4):547–60. doi: 10.1007/s10661-009-1133-0.
13. Cusco: Evaluación de plagas en el cultivo de maíz - SENASA al día [Internet]. Cusco; 2017 [citado 14 abril 2025]. Disponible en: <https://www.senasa.gob.pe/senasacontigo/cusco-evaluacion-de-plagas-en-el-cultivo-de-maiz/>

14. Principales plagas y enfermedades en el cultivo de maíz amarillo duro en costa norte - YouTube [Internet]. [citado 25 feb 2025]. Disponible en: https://www.youtube.com/watch?v=G1X3BAZFSAo&ab_channel=IniaPeru
15. Cuevas G, Walter I. Metales pesados en maíz (*Zea mays* L.) cultivado en un suelo enmendado con diferentes dosis de compost de lodo residual. *Rev Int Contam Ambient*. 2004;20(2):59-68.
16. AOAC International. Official method 999.11: Determination of lead, cadmium, copper, iron, and zinc in foods by atomic absorption spectrophotometry after dry ashing. AOAC Official Methods of Analysis. Gaithersburg, MD: AOAC International; 1995.
17. Chimbo JDS, Casignia ÁMR, Figueroa FJR, Romero PIÁ, Cabrera AB. Caracterización morfológica-cultural de hongos asociados a los frutos de chonta (*Bactris gasipaes* Kunth), en cinco localidades de Orellana, Ecuador. *Rev Prot Veg* [Internet]. 2022 [citado 18 abril 2025];37(2). Disponible en: <https://revistas.censa.edu.cu/index.php/RPV/article/view/1267>
18. Riddell RW. Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. *Mycologia*. 1950;42(3):265-70.
19. Ruiz-Huerta EA, Armienta-Hernández MA, Dubrovsky JG, Gómez-Bernal JM. Bioaccumulation of heavy metals and As in maize (*Zea mays* L.) grown close to mine tailings strongly impacts plant development. *Ecotoxicology*. 2022;31(3):447–67. doi: 10.1007/s10646-022-02522-w.
20. Elik Ü, Gül Z. Accumulation potential of lead and cadmium metals in maize (*Zea mays* L.) and effects on physiological-morphological characteristics. *Life (Basel)* [Internet]. 2025;15(2):310. doi: 10.3390/life15020310.
21. Cataldi M, Vigliotti C, Sblendorio V, Ferrara C. Cadmium☆.in: *Ref Modul Biomed Sci*. Elsevier; 2017. doi: 10.1016/B978-0-12-801238-3.99380-2.
22. Cangelosi V, Ruckthong L, Pecoraro VL. Lead(II) binding in natural and artificial proteins. *Met Ions Life Sci*. 2017;17. doi: 10.1515/9783110434330-010.
23. Yerlikaya Anli R, Akşahin V, DüNDAR Ş, Ahmet NASE. Cadmium pollution impairs maize growth and uptake of cationic essential nutrients. *ISPEC J Agric Sci*. 2022; 6(1):144–53.
24. Zheng Y, Wu W, Sun C, Liu H, Dou J. Occurrence and fate analysis of mycotoxins in maize during the post-harvest period. *Toxins (Basel)*. 2024;16(11): 459. doi: 10.3390/toxins16110459.
25. Mansfield MA, Jones AD, Kuldau GA. Contamination of fresh and ensiled maize by multiple penicillium mycotoxins. *Phytopathology*. 2008 Mar;98(3):330-6. doi: 10.1094/PHYTO-98-3-0330.
26. Giorni P, Bertuzzi T, Battilani P. Impact of fungi co-occurrence on mycotoxin contamination in maize during the growing season. *Front Microbiol*. 2019;10:1265. doi: 10.3389/fmicb.2019.01265.
27. Sperber WH, North American Millers' Association Microbiology Working Group. Role of microbiological guidelines in the production and commercial use of milled cereal grains: a practical approach for the 21st century. *J Food Prot*. 2007;70(4):1041–53. doi: 10.4315/0362-028x-70.4.1041.

SINTESIS DE POLIMEROS TELEQUELICOS DE 2-ETIL-2-OXAZOLINA CON GRUPOS FUNCIONALES VINILO Y AMONIO CUATERNARIO

Juan Carlos Rueda^{*a}, Aurelio Contreras^a

RESUMEN

Se sintetizaron nuevos polímeros telequéllicos (MKA-1 y MKA-2) de 2-etil-2-oxazolina (Etoxa) conteniendo grupos terminales vinilo y amonio cuaternario. La síntesis se llevó a cabo mediante la polimerización catiónica por apertura de anillo de Etoxa, en acetonitrilo y a 75°C, siendo iniciada la misma por el *para*-clorometilestireno y terminada por la N,N'-dimetildodecilamina. Los polímeros telequéllicos fueron caracterizados estructuralmente mediante resonancia magnética nuclear (¹H-RMN y ¹³C-RMN) y por espectrometría infrarroja (FTIR). Se determinó mediante el análisis cuantitativo del espectro ¹H-RMN que los grados de polimerización de los polímeros telequéllicos MKA-1 y MKA-2 fueron de 21,4 y 9,2 unidades, respectivamente. Estos valores concordaron con la razón molar inicial Etoxa/CMS para MKA-1 y MKA-2 (21,1 y 9,0, respectivamente). Así mismo, mediante ¹H RMN se determinó que los grados de funcionalización, con grupos amonio cuaternarios, de los telequéllicos MKA-1 y MKA-2 fueron de 98 y 99%, respectivamente. Los pesos moleculares de MKA-1 y MKA-2, obtenidos a partir de los grados de polimerización, fueron de 2455 y 1243 g/mol, respectivamente.

Palabras clave: 2-etil-2-oxazolina, polímeros telequéllicos, polimerización catiónica “viva”.

SYNTHESIS OF TELECHELIC POLYMERS OF 2-ETHYL-2-OXAZOLINE WITH VINYL AND QUATERNARY AMMONIUM FUNCTIONAL GROUPS

ABSTRACT

New telechelic polymers (MKA-1 and MKA-2) of 2-ethyl-2-oxazoline (Etoxa) containing vinyl and quaternary ammonium terminal groups were synthesized. The synthesis was carried out by cationic ring-opening polymerization of Etoxa in acetonitrile at 75°C, initiated by *para*-chloromethylstyrene and terminated by N,N'-dimethyldodecylamine. The telechelic polymers were structurally characterized by nuclear magnetic resonance (¹H-NMR and ¹³C-NMR) and by infra red spectrometry (FTIR). Quantitative analysis of the ¹H-NMR spectra determined that the degrees of polymerization of the telechelic polymers MKA-1 and MKA-2 were 21,4 and 9,2 units, respectively. These values were in agreement with the initial molar ratio Etoxa/CMS for MKA-1 and MKA-2 (21,1 and 9,0, respectively). Likewise, ¹H-NMR determined that the degrees of functionalization with quaternary ammonium groups of the telechelic MKA-1

^a * Pontificia Universidad Católica del Perú, jrueda@pucp.edu.pe

and MKA-2 were 98 and 99%, respectively. The molecular weights of MKA-1 and MKA-2, obtained from the degrees of polymerization, were 2455 and 1243 g/mol, respectively.

Keywords: 2-ethyl-2-oxazoline, telechelic polymers, “living” cationic polymerization.

INTRODUCCIÓN

Las 2-oxazolinas son compuestos denominados endoimino éteres que pueden ser polimerizados vía polimerización catiónica por apertura de anillo produciendo polímeros lineales^{1,2}. La polimerización de las 2-oxazolinas es iniciada por sustancias electrofílicas tales como, por ejemplo, triflato de metilo, tosilato de metilo, clorometilestireno, etc.^{3,4}

Las 2-oxazolinas se caracterizan porque su polimerización transcurre de forma “viva”, esto significa que en esta polimerización solo existen la reacción de iniciación y propagación y no existen las reacciones de terminación y de transferencia de cadena y entonces se puede prefijar, desde el inicio de la polimerización, el grado de polimerización y la funcionalización del polímero⁴⁻⁶.

La polietiloxazolina junto con la polimetiloxazolina son consideradas por la Oficina de Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de los Estados Unidos como polímeros biocompatibles y por esta razón existe un gran interés en el mundo científico en estos polímeros para encontrar posibles aplicaciones en el campo de la medicina^{3,4}. Mediante la polimerización de las 2-oxazolinas se han elaborado diferentes estructuras poliméricas tales como, por ejemplo, macromonómeros, copolímeros en bloque, copolímeros injertados, macromonómeros, polímeros telequélidos e hidrogeles, entre otros⁵⁻¹⁰.

Los polímeros telequélidos son polímeros que contienen grupos funcionales, iguales o diferentes, en sus dos extremos de cadena y por ejemplo, se pueden elaborar aplicando simultáneamente los métodos del *iniciador* y *terminador* de los macromonómeros. Se puede iniciar y terminar la polimerización con agentes iniciadores y terminadores funcionalizados^{5,6}. Estos polímeros telequélidos pueden posibilitar, por ejemplo, la elaboración de hidrogeles, que son considerados polímeros de alto valor agregado^{2,5-10}.

Los grupos funcionales amonio cuaternarios, contenidos, en general, en un compuesto orgánico, han demostrado ser eficientes como agentes antibacterianos¹¹. Se han elaborado polioxazolinas conteniendo estos grupos funcionales, las cuales fueron efectivas como materiales antibacterianos^{11,12}.

En esta investigación presentamos la síntesis y caracterización de nuevos polímeros telequélidos que contienen grupos vinilo y amonio cuaternarios, y con los cuales se podrá, posteriormente, elaborar nuevos hidrogeles antibacterianos¹³.

PARTE EXPERIMENTAL

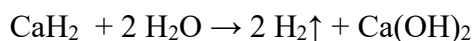
Las sustancias utilizadas en esta investigación fueron usadas como recibidas o fueron purificadas y secadas según métodos estándar descritos en la literatura⁷⁻¹⁰. *para*-Clorometilestireno (97%, Aldrich), N, N'-dimetildodecilamina (97%, Aldrich), yoduro de sodio (99.9%, Merck), acetonitrilo (99.9%, Aldrich), Nitrógeno gas (99.999%, Linde), propionitrilo (99%, Merck), acetato de cadmio (98%, Merck), etanolamina (98%, Merck). Los análisis de espectrometría de resonancia magnética nuclear (¹H-RMN y ¹³C-RMN) fueron realizados con un equipo Bruker, modelo AC300, frecuencia de 300 MHz para ¹H y de 75,5 MHz para ¹³C, cloroformo deuterado. Los espectros infrarrojos (FTIR-ATR)

fueron obtenidos con un equipo Bruker, modelo Tensor 27, método ATR, detector MCT, rango de medición: 400-4000 cm^{-1} , resolución: 4 cm^{-1} , 32 escaneos por medición^{5,6,8}.

Síntesis de la 2-Etil-2-oxazolina (Etoxa)

La síntesis de la 2-etil-2-oxazolina se llevó a cabo según el procedimiento de Witte y Seeliger¹⁴. A un balón de dos bocas, el cual estaba equipado con un condensador, y bajo corriente de nitrógeno, se adicionaron 4,67 gramos (0,0176 mol) de acetato de cadmio dihidratado, y 193,3 g de propionitrilo (3,51 moles). Se calentó la mezcla a 130°C hasta conseguir la disolución de la sal. Luego se adicionó, en forma lenta, 257 g de etanolamina (4,21 moles). Se dejó reaccionar a 130°C durante 24 horas. Luego la mezcla de reacción se enfrió y se extrajo el producto (2-etil-2-oxazolina) mediante destilación. Producto de la reacción se obtuvo 320 g de 2-etil-2-oxazolina (EtOxa), obteniéndose un rendimiento del 95%. Luego, la 2-etil-2-oxazolina fue secada con hidruro de calcio y purificada mediante destilación (p. eb. 128°C). Este procedimiento de purificación y secado fue repetido tres veces.

El hidruro de calcio contribuye al secado de la Etoxa y otras sustancias porque reacciona con las trazas de agua mediante la siguiente reacción:



Este procedimiento de purificación y secado también fue aplicado a la purificación del acetonitrilo, *para*-clorometilestireno y la N,N'-dimetildodecilamina.

La Etoxa fue caracterizada mediante resonancia magnética nuclear de protones (¹H-RMN) y carbono 13. (Figuras 1 y 2).

¹H-RMN (en CDCl₃) δ (ppm): 1,05 (CH₃CH₂CO-); 2,15 (-CH₂-CO); 3,65 (NCH₂); 4,1 (OCH₂). ¹³C-RMN (en CDCl₃) δ (ppm): 11 (CH₃CH₂CO-); 22 (-CH₂-CO); 54 (NCH₂); 67 (OCH₂); 169 (N=C-O).

Purificación del *para*-clorometilestireno (CMS)

El *para*-clorometilestireno (CMS) se purificó mediante una destilación a vacío sobre hidruro de calcio. El CMS destiló a 55°C a una presión de 0,5 mm Hg. Se adicionó trazas de hidroquinona (inhibidor de radicales libres) al CMS antes de la destilación con la finalidad de evitar la polimerización prematura del CMS. La destilación del CMS se realizó tres veces. La primera y segunda destilación se realizó días antes y la tercera destilación se realizó el mismo día de la síntesis de los polímeros telequelicos para garantizar la pureza del CMS. El CMS fue caracterizado por ¹H-RMN.

¹H-RMN (en CDCl₃) δ (ppm): 4,55 (-CH₂Cl); 5,25, 5,75, 6,7 (CH=CH₂); 7,3-7,4 (Ar).

Purificación de la N, N'-Dimetildodecilamina (DMDA)

La N,N'-dimetildodecilamina (DMDA) fue secada con el hidruro de calcio y fue destilada al vacío dos veces y caracterizada por ¹H-RMN y ¹³C-RMN.

¹H-RMN: en CDCl₃) δ (ppm): 0,85 (-CH₃); 1,2-1,3 ((CH₂)₉); 1,4 (-CH₂-CH₂N-); 2,2 (N(CH₃)₂CH₂).

^{13}C -RMN (en CDCl_3) δ (ppm): 14,1 ($-\text{CH}_3$); 22,7 (CH_2); 28-32 ($(\text{CH}_2)_9$); 45,5 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 60,0 ($-\text{NCH}_2$).

Síntesis de telequélcos de 2-etil-2-oxazolina (MKA-1 y MKA-2) con grupos terminales vinilo y amonio cuaternario

Previamente a la síntesis, el reactor de vidrio de 100 ml de capacidad fue secado mediante una corriente de aire a 450°C , y fue enfriado hasta la temperatura ambiente mediante una corriente de nitrógeno seco de alta pureza.

Ejemplo típico (telequélco MKA-1): A un reactor de 100 ml se agregó 1,69 g (11,27 mmol) de yoduro de sodio y se aplicó vacío de 0,5 mm Hg durante 30 minutos. Luego, se detuvo el vacío y se introdujo nitrógeno al sistema. Entonces se agregaron al reactor, 0,860 g (5,63 mmol) de *para*-clorometilestireno, 11,78 g (118,8 mmol) de 2-etil-2-oxazolina, y 30 ml de acetonitrilo. Se cerró el reactor bajo una atmósfera de nitrógeno, se procedió a agitar la mezcla de reacción a 75°C durante 7 horas. Después de este tiempo, se enfrió la mezcla reaccionante hasta la temperatura ambiente (25°C) y se terminó la polimerización mediante la adición a la mezcla de reacción de 12,01 g (56,3 mmol) de N,N'-dimetildodecilamina. La reacción de terminación se llevó a cabo durante 120 horas a 35°C . Luego de este tiempo, la mezcla de reacción fue filtrada, se evaporó el solvente y el polímero resultante fue disuelto en 20 ml de cloroformo y se purificó mediante precipitación en éter dietílico. Este procedimiento de purificación se repitió tres veces. El polímero MKA-1 fue finalmente caracterizado por espectrometría de resonancia magnética nuclear (RMN) y espectroscopia infrarroja (FTIR). En forma similar fue sintetizado y caracterizado el telequélco MKA-2.

^1H -RMN (CDCl_3) δ (ppm): 0,9 ($-\text{CH}_3$ (DMDA)); 1,0-1,2 ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-(Etoxa)}$); 1,2-1,5 ($(\text{CH}_2)_9$ (DMDA)); 1,8 (CH_2); 2,2-2,6 ($\text{CH}_2\text{-(Etoxa)}$); 3,4 ($-\text{NCH}_3$); 3,5 ($-\text{N-CH}_2\text{-(Etoxa)}$); 4,6 (Ar-CH_2); 5,3, 5,75, y 6,7 (CH=CH_2); 7,1-7,5 (Ar).

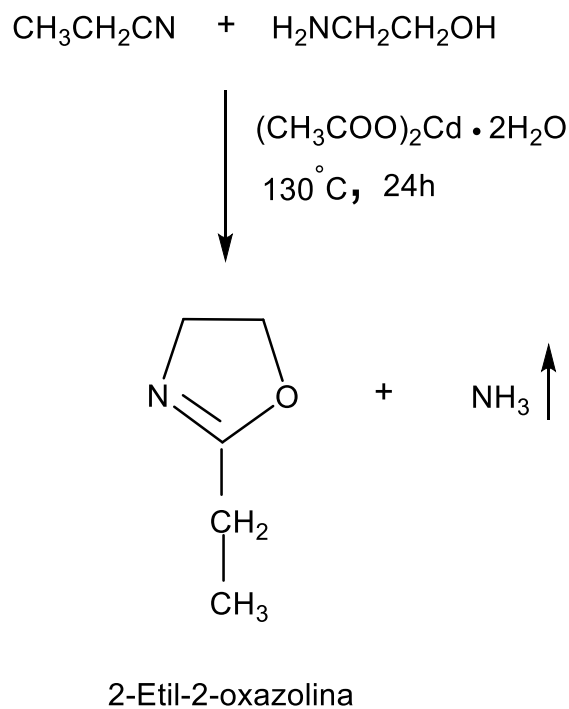
^{13}C -RMN (CDCl_3) δ (ppm): 10 ($-\text{CH}_3$ (Etoxa)); 14 ($-\text{CH}_3$ (DMDA)); 24-35 ($-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_9$); 42-48 ($-\text{CH}_2\text{-CH}_3$); 115, 137 ($\text{CH}_2=\text{CH}$); 128 (Ar-); 138 (CH=); 177 (NC=O).

FTIR (cm^{-1}): 2976 (C-H, aromático), 2935-2877 (C-H, alifático), 2300 (grupo amonio cuaternario), 1625 (N-C=O , amida), 1195 (C-N).

RESULTADOS Y DISCUSION

Síntesis y caracterización de 2-etil-2-oxazolina (Etoxa)

Se sintetizó la 2-etil-2-oxazolina mediante el método de Witte y Seeliger¹⁴. Este método consistió en la reacción, a 130°C , del propionitrilo y la etanolamina. La reacción fue catalizada por el acetato de cadmio dihidratado (Esquema 1). Como subproducto de la reacción se obtuvo el amoniaco. El rendimiento de la reacción fue del 95%. La Etoxa se caracterizó mediante sus espectros ^1H -RMN y ^{13}C -RMN. Estos espectros corroboraron la estructura química de la Etoxa.



Esquema 1. Síntesis de la 2-etil-2-oxazolina mediante el método de Witte y Seeliger¹⁴

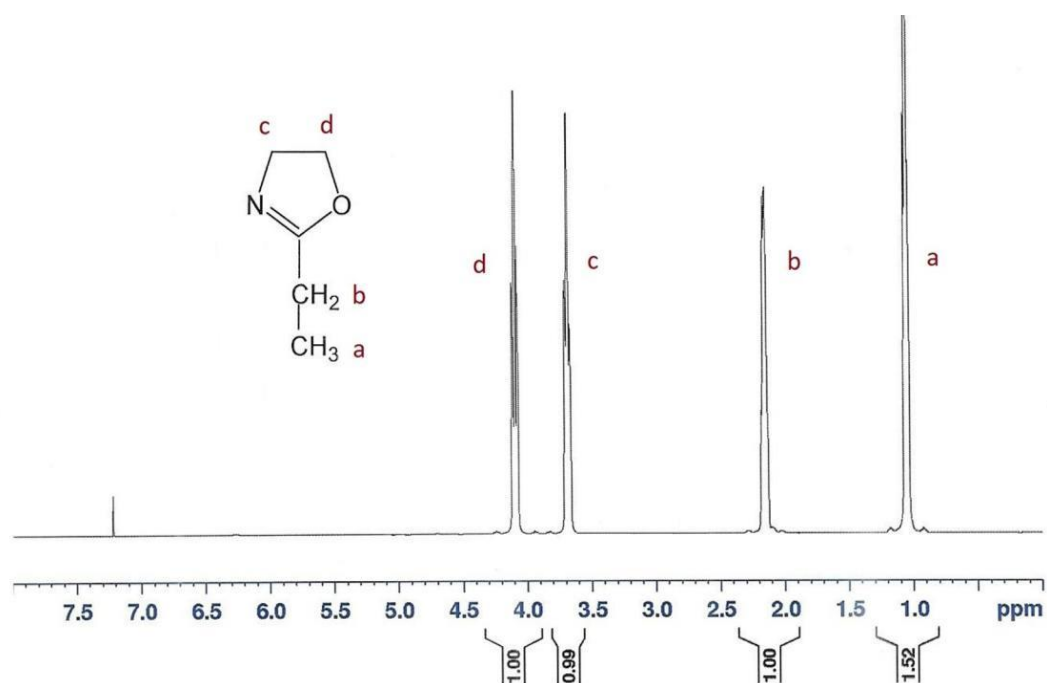


Figura 1. Espectro ^1H -RMN de 2-Etil-2-oxazolina en CDCl_3 a 25°C

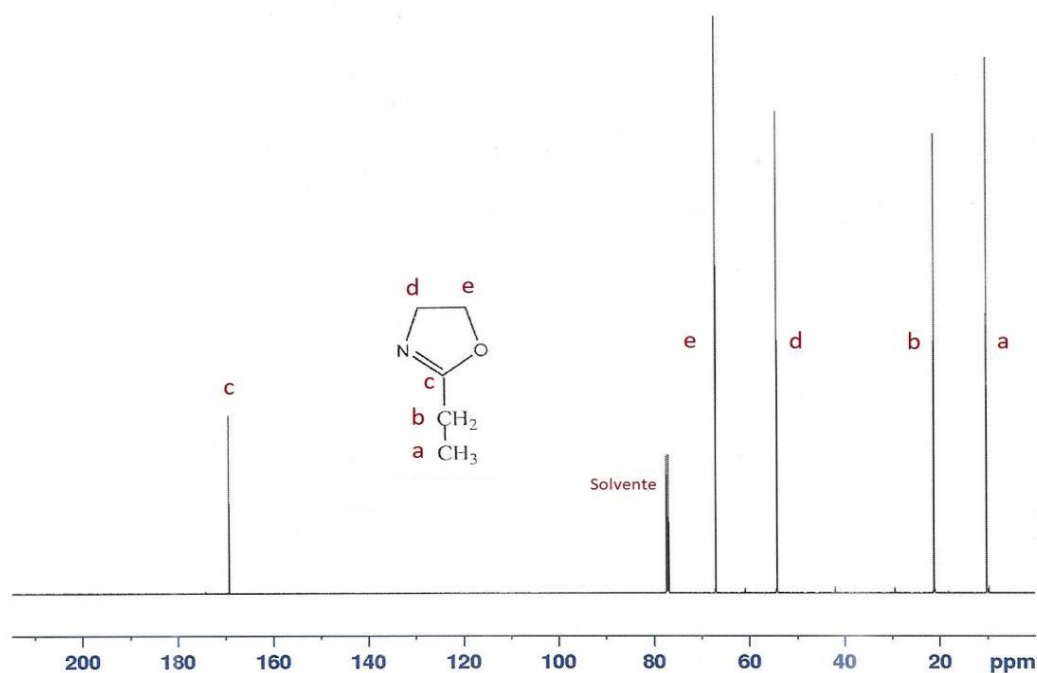


Figura 2. Espectro ^{13}C -RMN de 2-Etil-2-oxazolina en CDCl_3 a 25°C .

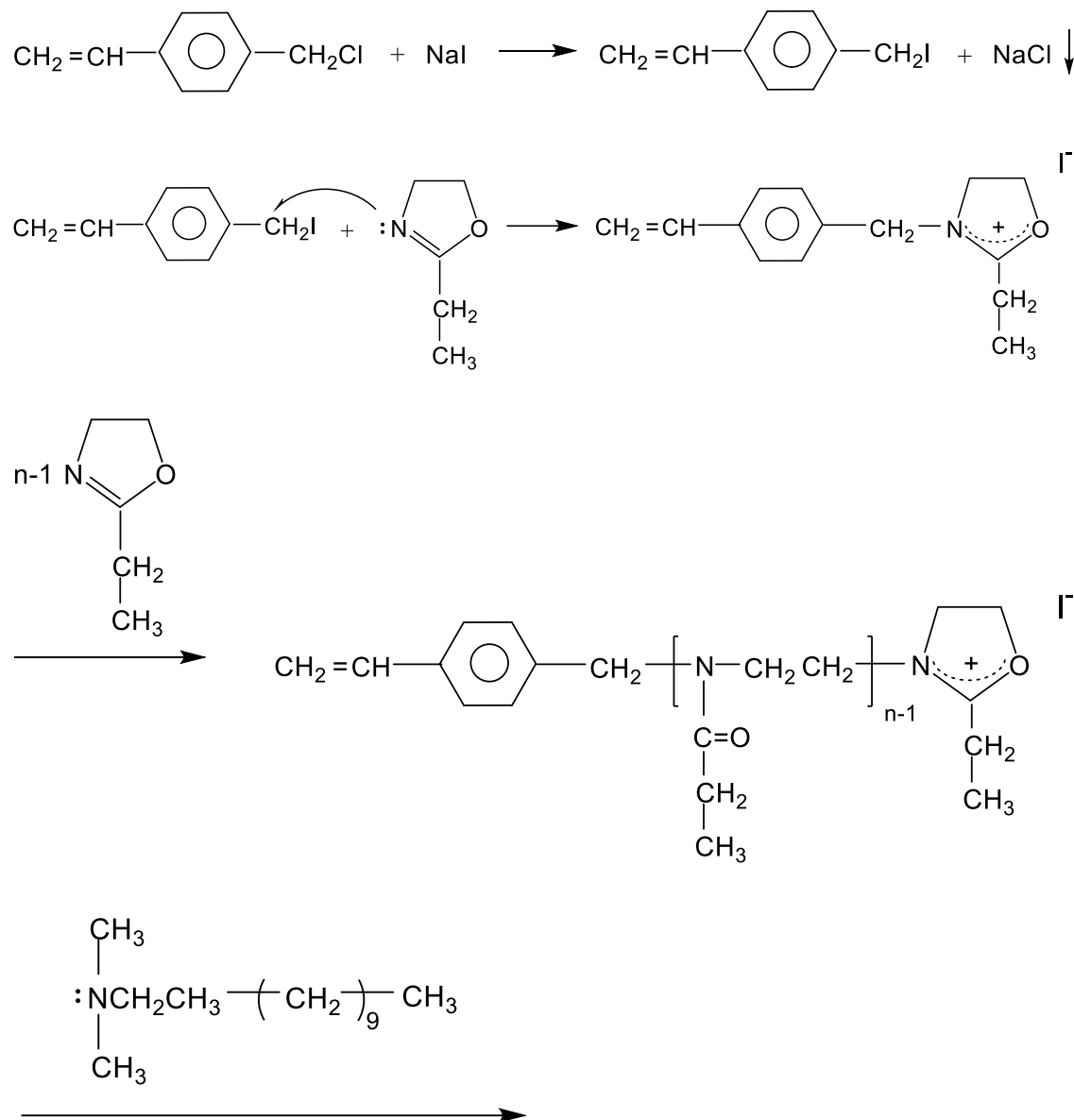
Síntesis y caracterización de los polímeros telequélcos MKA-1 y MKA-2

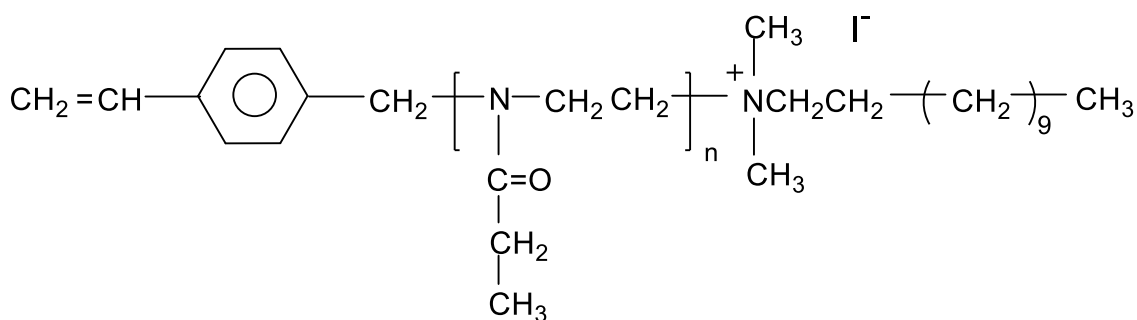
Se sintetizaron los polímeros telequélcos de 2-etil-2-oxazolina (Etoxa), MKA-1 y MKA-2, mediante la polimerización catiónica por apertura de anillo de Etoxa, en acetonitrilo, usando como iniciador el *para*-clorometilestireno (CMS), y como co-iniciador al yoduro de sodio (NaI). La síntesis se realizó a una temperatura de 75°C y por un tiempo de 7 horas bajo atmósfera de nitrógeno seco. Para finalizar la síntesis de los telequélcos se utilizó como terminador la N,N'-dimetildodecilamina (DMDA), la cual se adicionó a la mezcla de reacción en una proporción molar 10 veces mayor que el iniciador *para*-clorometilestireno y además se usó en la reacción de terminación un tiempo de reacción relativamente alto, de 120 horas a 35°C . Estas dos condiciones usadas en la terminación sirvieron para aumentar la probabilidad de que esta reacción ocurra con este agente terminador DMDA y se forme el grupo amonio cuaternario en el final de cadena y se pueda obtener el polímero telequélco (Esquema 2).

En la síntesis de MKA-1 y MKA-2 se aplicó simultáneamente los métodos del "iniciador" y "terminador" comúnmente usados en la síntesis de macromonómeros⁶. De esta manera se introdujo el grupo vinilo al inicio de la cadena polimérica de cada telequélco mediante el iniciador *para*-clorometilestireno (CMS) y también se introdujo el grupo amonio cuaternario al final de la cadena polimérica mediante el término de la cadena propagante con el terminador N,N'-dimetildodecilamina (Esquema 2).

Aplicando un procedimiento ya comprobado en la literatura^{7,8}, se mantuvo en la polimerización una relativa baja concentración del iniciador, baja temperatura de reacción (75°C) y un corto tiempo de polimerización (7 horas) para evitar así una polimerización prematura (por radicales libres) del grupo vinilo proveniente del *para*-clorometilestireno. En la síntesis de los telequélcos se varió la relación molar inicial Etoxa/CMS en MKA-1 y MKA-2 de 21,1 a 9,0, respectivamente. Se obtuvieron los polímeros telequélcos MKA-1 y MKA-2 con rendimientos de 86% y 88%, respectivamente. Las condiciones de

reacción y resultados experimentales de la síntesis de los telequélidos se resumen en la Tabla 1. Es conocido de la literatura que la polimerización catiónica de las 2-oxazolinas transcurre de manera “viva” (sin que ocurran reacciones secundarias de terminación ni de transferencia de cadena) si se realiza en condiciones adecuadas (monómeros, iniciador, terminador y solvente puros y secos)^{5,6}.





Polímero telequérico MKA-1 o MKA-2

Esquema 2. Mecanismo de polimerización para la obtención del polímero telequérico de 2-etil-2-oxazolina.

El mecanismo de polimerización de la síntesis de los telequéricos se propone a ser de la siguiente manera (Esquema 2): la iniciación ocurriría mediante la reacción del *para*-clorometilestireno (CMS) con el yoduro de sodio (NaI) (relación molar NaI/CMS: 2/1) formándose *in situ* el agente iniciante iodometilestireno (IMS) mediante la sustitución nucleofílica del cloro por el yodo^{1,7,8}. El iodometilestireno (IMS) inicia la polimerización catiónica por apertura de anillo de 2-etil-2-oxazolina atacando a la primera molécula de Etoxa formándose el primer catión oxazolinico y el contraión yoduro. El monómero Etoxa ataca al catión oxazolinico y abre el anillo y la propagación de la polimerización procede vía una especie propagante iónica¹ debido a que el monómero Etoxa es más nucleofílico que el contraión yoduro, (Esquema 2). La terminación ocurre mediante la reacción del catión oxazolinico propagante con la N,N'-dimetildodecilamina (DMDA), formándose el telequérico funcionalizado con el grupo vinilo en el inicio de la cadena polimérica y con el grupo de amonio cuaternario en el final de la misma.

Tabla 1. Síntesis de los polímeros telequéricos. Condiciones de reacción y resultados.

Polímero ^a RMN)	CMS ^b (mmol)	Etoxa ^c (mmol)	DMDA ^d (mmol)	R1 ^e	R2 ^f	Fg (%)	Rend. ^h (%)	Mn ⁱ (¹ H
MKA-1	5,63	118,8	56,3	21,1	21,4	98	86	2455
MKA-2	11,27	101,4	113	9,0	9,2	99	88	1243

^a) Denominación del polímero telequérico, ^b) *para*-Clorometilestireno ^c) 2-etil-2-oxazolina (Etoxa), ^d) N, N'-dimetildodecilamina (DMDA), ^e) Relación molar inicial Etoxa/Iniciador CMS, ^f) relación molar final (experimental) Etoxa/Iniciador obtenida mediante análisis cuantitativo del espectro ¹H-RMN, ^g) Grado de funcionalización obtenido mediante el espectro ¹H-RMN, ^h) rendimiento de la polimerización obtenido comparando el peso de polímero obtenido versus la suma de los pesos de los monómeros e iniciador, ⁱ) Pesos moleculares calculados a partir de los grados de polimerización experimentales. ^j) En los dos experimentos se usaron las siguientes condiciones: relación molar de yoduro de sodio (NaI)/Iniciador (CMS) = 2, temperatura de reacción = 75°C, tiempo de reacción = 7 horas y solvente de reacción: acetonitrilo: 30 mL.

Los telequélidos MKA-1 y MKA-2 fueron caracterizados por resonancia magnética nuclear de protones (^1H -RMN) (Figuras 3 y 4). Los espectros ^1H -RMN de MKA-1 y MKA-2 fueron similares y se demostró en ambos la presencia del monómero 2-etil-2-oxazolina (Etoxa), del resto del iniciador *para*-clorometilestireno (CMS) y del terminador N,N'-dimetildodecilamina (DMDA). Las señales a 7,1-7,5 ppm (H_{Ar} , anillo aromático), señal **b** a 6,7 ppm ($-\text{CH}=\text{}$), señales **a'** y **a** en 5,75 y 5,3 ppm ($\text{CH}_2=\text{}$) y señal **c** en 4,5-4,6 ppm (grupo CH_2 junto al anillo aromático) demuestran la presencia del resto del iniciador *para*-clorometilestireno en el telequélido. Las señales **d** a 3,5 ppm ($\text{N}-\text{CH}_2\text{CH}_2$), **e** a 2,4 ppm ($\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$) y **f** a 1,1 ppm (CH_2CH_3) demuestran la presencia del mero de la 2-etil-2-oxazolina (Etoxa) y finalmente las señales **g** en 3,4 ppm ($\text{CH}_3-\text{N}^+-\text{CH}_3$), **h** en 1,8 ppm ($\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2$), **i** en 1,25-1,50 ppm (CH_2)₉ y **j** en 0,9 ppm (CH_3) demuestran la presencia del terminador N,N'-dimetildodecilamina (DMDA) en la estructura del polímero telequélido.

Por otro lado, mediante el espectro ^{13}C -RMN de MKA-1 (Figura 5) se determinó que están presentes las señales de los carbonos de la Etoxa (CH_3 , CH_2 y NCH_2 en 14, 42-48, y 52 ppm, respectivamente), las señales del iniciador ($\text{CH}_2=\text{CH}-$ y C_{Ar} en (117, 138) y 128, respectivamente) y las señales del grupo amonio cuaternario ($\text{CH}_2(\text{CH}_2)_9$ en 24-35 ppm), confirmando también este espectro la estructura propuesta para el polímero telequélido (Esquema 2).

Se realizó un análisis cuantitativo de los espectros ^1H -RMN de MKA-1 y MKA-2 y se calculó el grado de polimerización y la funcionalización de los mismos (Fig. 3 y 4). Se comparó la integral de la señal **f** (CH_2CH_3) de 2-etil-2-oxazolina versus el promedio de las integrales de las señales **a**, **a'** y **b** del iniciador *para*-clorometilestireno y se determinó que los grados de polimerización de MKA-1 y MKA-2 fueron 21,4 y 9,2, respectivamente. Estos valores concordaron con los valores teóricos de 21,1 y 9,0 para MKA-1 y MKA-2, respectivamente. Entonces, los pesos moleculares calculados, usando estos grados de polimerización experimentales, fueron de 2455 g/mol y de 1243 g/mol para MKA-1 y MKA-2, respectivamente (Tabla 1). Para el cálculo del porcentaje de funcionalización de los telequélidos con el grupo amonio cuaternario se asumió que todas las cadenas poliméricas contenían un grupo vinilo en el inicio de cadena ya que el iniciador era el *para*-clorometilestireno (Esquema 2). Se comparó la integral de la señal **i** (1,25-1,50 ppm) del terminador (N,N'-dimetildodecilamina) con el promedio de las integrales de las señales **a**, **a'** y **b** del iniciador *para*-clorometilestireno y se obtuvo los porcentajes de funcionalización para MKA-1 y MKA-2 de 98% y 99%, respectivamente. Por lo tanto, de estos resultados, podemos concluir que prácticamente todas las cadenas de los telequélidos contienen en su inicio y final de cadena grupos funcionales vinilo y amonio cuaternario, respectivamente.

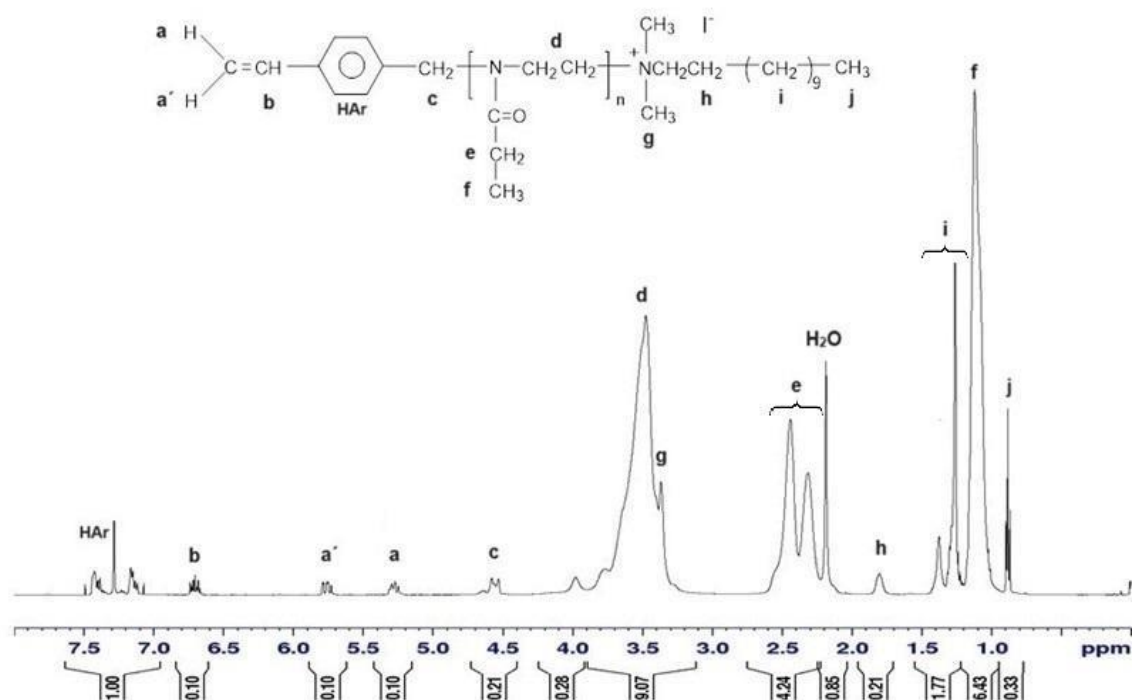


Figura 3. Espectro ¹H-RMN de telequérico MKA-1 en cloroformo deuterado a 25°C.

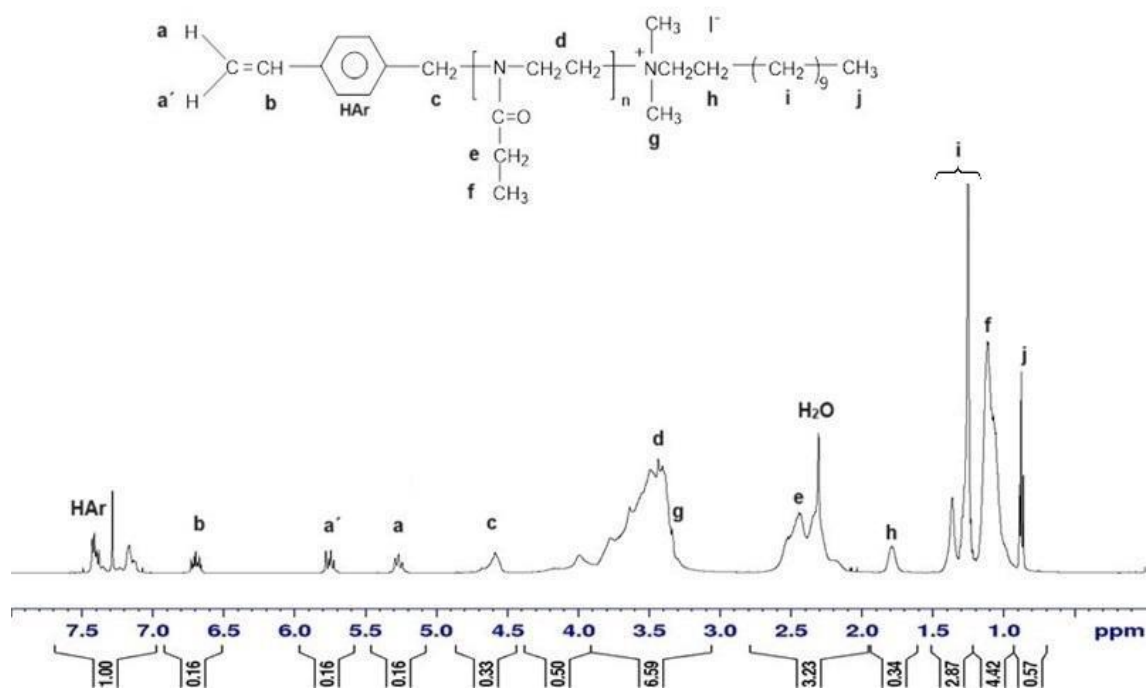


Figura 4. Espectro ¹H-RMN de telequérico MKA-1 en cloroformo deuterado a 25°C.

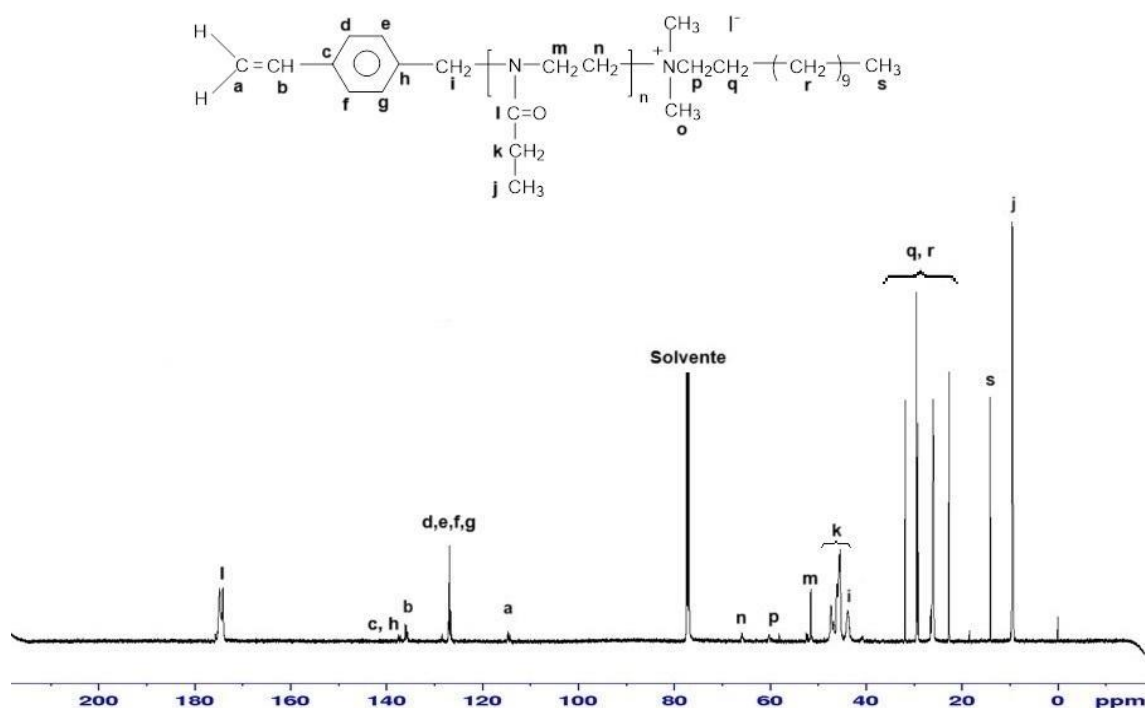


Figura 5.- Espectro ^{13}C -RMN del MKA-1 en cloroformo deuterado a 25°C .

Mediante análisis FTIR-ATR se determinaron las señales características del grupo carbonilo de las amidas en 1625 cm^{-1} , de los grupos alifáticos (C-H) en $2935\text{--}2877\text{ cm}^{-1}$ y del grupo amonio cuaternario en 2300 cm^{-1} .

CONCLUSIONES

Se obtuvieron nuevos polímeros telequelicos, MKA-1 y MKA-2, conteniendo grupos terminales vinilo y amonio cuaternario, mediante la polimerización cationica por apertura de anillo de la 2-etil-2-oxazolina iniciada por el *para*-clorometilestireno y terminada con la N,N'-dimetildodecilamina. Mediante la espectrometría de resonancia magnética nuclear de protones se determinó que los telequelicos MKA-1 y MKA-2 tuvieron grados de polimerización 21,4 y 9,2 los cuales estuvieron en concordancia con las razones molares iniciales monómero (Etoxa)/ Iniciador (CMS) de 21,1 y 9,0, respectivamente y los grados de funcionalización de MKA-1 y MKA-2 fueron de 98 y 99%, respectivamente. Esto quiere decir que prácticamente todos los polímeros telequelicos elaborados MKA-1 y MKA-2 contuvieron un grupo vinilo en el inicio de cadena y un grupo amonio cuaternario en el final de cadena.

AGRADECIMIENTOS

A la Pontificia Universidad Católica del Perú por el financiamiento de esta investigación mediante el proyecto de investigación DFI-CAP-PI-1000.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aoi K, Okada M. Polymerization of oxazolines. *Prog Polym Sci.* 1996; 21: 151-208. doi: 10.1016/0079-6700(95)00020-8.
2. Hoogenboom R. The future of poly (2-oxazoline)s. *Eur Polym J.* 2022; 179: 111521. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2022.111521.
3. Nemati Mahand S, Aliakbarzadeh S, Moghaddam A, Salehi Moghaddam A, Kruppke B, Nasrollahzadeh M, et al. Polyoxazoline: a review article from polymerization to smart behaviours and biomedical applications. *Eur Polym J.* 2022; 178: 111484. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2022.111484.
4. Jana S, Uchman M. Poly(2-oxazoline)-based stimulus-responsive (co)polymers: An overview of their design, solution properties, surface-chemistries and applications. *Prog Polym Sci.* 2020; 106: 101252. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2020.101252.
5. Delaittre G. Telechelic poly(2-oxazolines)s. *Eur Polym J.* 2019, 121: 109281. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2019.109281.
6. Pizzi D, Humphries J, Morrow JP, Fletcher NL, Bell CA, Kempe K. Poly(2-oxazoline) macromonomers as building blocks for functional and biocompatible polymer architectures. *Eur Polym J.* 2019; 121: 109258. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2019.109258.
7. Rueda JC, Santillán F, Komber H, Voit B. Synthesis and characterization of stiff, self-crosslinked thermoresponsive DMAA hydrogels. *Polymers.* 2020; 12: 1401. doi: 10.3390/polym12061401.
8. Rengifo J, Zschoche S, Voit B, Rueda JC. Synthesis and characterization of new interpenetrated hydrogels from N-isopropylacrylamide, 2-oxazoline macromonomer and acrylamide. *Eur Polym J.* 2022; 177: 111456. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2022.111456.
9. Rueda JC, Suárez C, Komber H, Zschoche S, Voit B. Synthesis and characterization of pH- and thermo-responsive hydrogels based on poly(2-cyclopropyl-2-oxazoline) macromonomer, sodium acrylate, and acrylamide. *Polym Bull.* 2020; 77: 5553-5565.
10. Zschoche S, Rueda JC, Binner M, Komber H, Janke A, Arndt KF, et al. Reversibly switchable pH- and thermoresponsive core-shell nanogels based on poly(NiPAAm)-graft-poly(2-carboxyethyl-2-oxazoline)s. *Macromol Chem Phys.* 2012; 213: 215-226. doi: 10.1002/macp.201100388.
11. Waschinski CJ, Barnert S, Theobald A, Schubert R, Kleinschmidt F, Hoffmann A, et al. Insights in the antibacterial action of poly(methyloxazoline)s with a biocidal end group and varying satellite groups. *Biomacromolecules.* 2008 Jul;9(7):1764-71. doi: 10.1021/bm7013944.
12. Waschinski CJ, Herdes V, Schueler F, Tiller JC. Influence of satellite groups on telechelic antimicrobial functions of polyoxazolines. *Macromol Biosci.* 2005 Feb 23;5(2):149-56. doi: 10.1002/mabi.200400169.
13. Dargaville TR, Park JR, Hoogenboom R. Poly(2-oxazoline) Hydrogels: State-of-the-Art and Emerging Applications. *Macromol Biosci.* 2018 Jun;18(6):e1800070. doi: 10.1002/mabi.201800070.
14. Witte H, Seeliger W. Cyclische Imidsäureester aus Nitrile und Aminoalkoholen. *Justus Liebigs Ann Chem.* 1974; 6:996-1009. doi: 10.1002/jlac.197419740615.

