

ISSN 1810-634X

# REVISTA de la SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ

REVISTA TRIMESTRAL

VOLUMEN 82 N° 3  
JULIO - SETIEMBRE - 2016



INSTITUCIÓN CIENTÍFICA FUNDADA EN 1933

LIMA, PERÚ



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

**(Rev Soc Quím Perú)**

**ISSN 1810 - 634X**

**Revista Trimestral**

**Comité Editor**

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

**Comité Consultivo**

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

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

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

Casilla Postal 14-0576 – Lima 14 Perú

Teléfono (511) 472-3925

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

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

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

**Certificado N° 95-1567**

---

**Vol 82**

**JULIO - SETIEMBRE 2016**

**N° 3**

En el Perú: N° suelto S/.15

Suscripción anual: S/. 60.00

En el extranjero: Suscripción anual: \$50.00



**CONTENIDO**  
**(Vol. 82 – N° 3 – 2016)**

<b>Editorial</b> .....	257
------------------------	-----

**Trabajos Originales**

- Efecto del contenido de humedad y temperatura sobre la difusividad térmica en granos andinos, por Nils Huamán Castilla, Gladys Yupanqui, Erik Allcca Alca, Giovanna Allcca.	259
- Evaluación del contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos de los frutos de aguaymanto ( <i>Physalis peruviana</i> L.) de diferentes lugares del Perú, por Bertha Jurado Teixeira, Isabel Mercedes Aparcana Aaturina, Leydi Steffani Villarreal Inca, Eva Ramos Llica, María Rosario Calixto Cotos, Paola Estefania Hurtado Manrique, Katherin María del Carmen Acosta Alfaro.	272
- Influencia de la presencia de borras durante el tiempo de reposo del vino base sobre algunos compuestos volátiles del pisco peruano de uva Italia, por Yasser Hidalgo, Beatriz Hatta, Juan Carlos Palma.	280
- Caracterización parcial de dos proteasas del veneno de la araña casera del Perú <i>Loxosceles laeta</i> , por Frank Huari, Fanny Lazo, Dan Vivas, Edith Rodríguez, Armando Yarlequé.	296
- Digestibilidad y energía digestible de cinco leguminosas forrajeras tropicales, por Alejandrina Sotelo M., Carlos Contreras M., Edgar Norabuena M., Roxana Castañeda S., Mariella van Heurck, Luz Ballón C.	306
- Evaluación de las propiedades químicas y mecánicas de biopolímeros a partir del almidón modificado de la papa, por Alarcón Cavero, Hugo Arturo; Arroyo Benites, Edmundo.	313
- Celdas solares sensibilizadas por colorante basadas en TiO <sub>2</sub> modificado con CuO, por Vanessa C. Martínez, Alcides López, Mónica M. Gómez.	324
- Modificación ácida del carbón activado y la influencia del grupo sustituyente en la adsorción de compuestos fenólicos, por Edwin Javier Aylas Orejón, Gino Picasso Escobar, María del Rosario Sun Kou.	339
- Modificación de poliuretanos químicamente activos mediante poli(vinilbencil-N-metil-D-glucamina) para la retención de boro, por Manuel Palencia, Enrique Combatt, Alvaro Arrieta.	325
- Estudio fitoquímico de las hojas de Jacaranda caroba (Vell.) DC., por Ingrid Elida Collantes Díaz, Elfriede Marianne Bacchib.	364
- Estudio de carbones activados impregnados con quitosano y su comparación con carbones comerciales, por Gerardo J. F. Cruz Cerro, Marlene Velásquez Yucra, Julio Santiago Contreras, José L. Solís Veliz, Mónica M. Gómez León, Riitta Keiskid.	373

**Informaciones**

---

**Revista Arbitrada**

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

## INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

If the authors reside abroad US \$ 110,00

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

## Formato para los artículos

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

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





## Editorial

### Año Internacional de las Legumbres

Las legumbres son una fuente importante de proteínas y de aminoácidos esenciales y se deben consumir como parte de una dieta saludable que nos permita prevenir enfermedades como la obesidad, diabetes, afecciones coronarias y el cáncer. Las leguminosas contienen gran aporte de proteínas promedio de 20 a 22% cuyo aminoácido limitante es la metionina, lo que hace que con los cereales cuyo limitante es la lisina exista complementaridad aminoacídica entre vegetales y mejore la calidad proteica de la dieta. Existen leguminosas como el tarwi y las soyas consideradas hiperproteicas porque contienen proteínas por encima del 40%, además brindan ácidos grasos esenciales como el ácido linoleico y bioactivos de interés para la prevención y tratamiento de enfermedades.

La Asamblea General de las Naciones Unidas, en su 68° período de sesiones, proclamó el 2016 como “Año Internacional de las Legumbres” (AIL), donde se busca sensibilizar sobre los beneficios nutricionales de las legumbres y su producción sostenible, buscando lograr la seguridad alimentaria y nutrición de la población con dietas saludables.

Promueve la articulación de toda la cadena de valor con fines de incrementar la producción mundial de legumbres y utilizar de manera más apropiada la rotación de los cultivos, sus beneficios para la fertilidad de los suelos ya que tienen la capacidad de fijar el nitrógeno en beneficio de una agricultura sostenible y reducir la huella de carbono buscando mitigar el cambio climático.

Es importante asumir los nuevos retos en el comercio de legumbres fomentando la investigación y la innovación en tecnología y de nuevos productos derivados.

El 12 y 13 de octubre de este año se organizó el Diálogo Regional del Año Internacional de las Legumbres para Europa y Asia Central: SEMILLAS NUTRITIVAS PARA UN FUTURO SOSTENIBLE, organizado por la FAO, Universidad de la Sapienza de Roma, con el apoyo del Fondo Internacional de Desarrollo Agrícola (FIDA), el gobierno de Turquía, la Confederación Mundial de Legumbres, con la participación de 15 países donde se trató temas prioritarios como acciones para incrementar su producción ya que la proporción de superficie cultivada es de 2% en Europa y 1% en Asia Central, muy bajo frente a los 75% y 80%, respectivamente de los cereales.

Se destaca la importancia de las investigaciones, tanto básica como aplicada, nuevas tecnologías incluyendo para la cosecha y post cosecha. Destaca la importancia de conectar a los centros de investigación con las empresas y la importancia de las políticas a nivel de gobiernos que busquen promoverlas mediante regulaciones y normativas que permitan que se hagan sostenibles y su acceso a la población.

Es importante que la población tome conciencia que las legumbres son cultivos necesarios para una nutrición saludable y una agricultura sostenible, amigable con el medio ambiente y se promueva su consumo a través de una gastronomía innovadora y segura para todos.

Dra. Ana María Muñoz Jáuregui

## EFFECTO DEL CONTENIDO DE HUMEDAD Y TEMPERATURA SOBRE LA DIFUSIVIDAD TÉRMICA EN GRANOS ANDINO

Nils L. Huamán Castilla<sup>a</sup>, Gladys Yupanqui<sup>b</sup>, Erik Allcca<sup>a</sup>, Giovanna Allcca<sup>c</sup>

### RESUMEN

Este estudio muestra un método sencillo para evaluar la difusividad térmica ( $\alpha$ ) en granos andinos de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) y cañihua (*Chenopodium pallidicaule Aellen*). Además, se estudió el efecto de la temperatura de 25 a 35°C y humedad en base húmeda de 10 a 20% sobre el comportamiento de esta propiedad. El método empleado para determinar la difusividad fue el propuesto por Gupta, el cual hace uso de las curvas de penetración de calor en un equipo especialmente armado para este fin. Los resultados obtenidos indican que los valores varían entre 7,5 y 8,9 x 10<sup>-8</sup> m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>. La evaluación de los datos indica que existe una fuerte influencia del tipo de grano, la humedad y la temperatura en esta propiedad térmica. Adicionalmente, se usó la metodológica de superficie de respuesta para encontrar un modelo empírico para representar la difusividad térmica en función del contenido de humedad y temperatura.

**Palabras clave:** quinua, cañihua, difusividad térmica, propiedades térmicas.

## EFFECT OF MOISTURE AND TEMPERATURE ABOUT THERMAL DIFFUSIVITY IN ANDEAN GRAINS

### ABSTRACT

This study shows a simple method for evaluating the thermal diffusivity ( $\alpha$ ) in Andean grains quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*) and cañihua (*Chenopodium pallidicaule Aellen*). In addition the effect of temperature 25 to 35 °C and humidity based humidity 10 to 20% about the behavior of this property was studied. The method used to determine the diffusivity was proposed by Gupta, which makes use of heat penetration curves in specially reinforced equipment for this purpose. The results indicate that the values vary between 7.5 and 8.9 x 10<sup>-8</sup> m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>. The evaluation of the data indicates that there is a strong influence on the type of grain, humidity and temperature in this thermal property. Additionally, the response surface methodology was used to find an empirical model to represent the thermal diffusivity depending on the moisture content and temperature.

**Key words:** quinoa, canihua, thermal diffusivity, thermal properties.

<sup>a</sup> Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Nacional de Moquegua, Av. Ancash s/n, Moquegua, Perú, b. Escuela de Postgrado Universidad Nacional Agraria la Molina, c. Universidad José Carlos Mariátegui.  
e-mail: nilefox@gmail.com; Teléfono: +51-988538896

## INTRODUCCIÓN

Los granos de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) y cañihua (*Chenopodium pallidicaule Aellen*) se cultivan por encima de los 4000 msnm, son una fuente muy rica en proteínas (~16 – 20%) en especial por el balance aminoácido que presenta. Por tal razón, los granos andinos forman parte de la dieta diaria de la población andina y hoy en día es demandado por el mercado internacional. Sin embargo, se puede encontrar una gran variedad de granos de quinua y cañihua dependiendo de su ecotipo, madurez biológica, localización del cultivo y composición del suelo<sup>1,2</sup>.

Los granos andinos una vez cosechados, se someten a una etapa de secado para reducir su contenido de humedad en base seca (~12%), esto permite prolongar el periodo de vida útil de los granos antes de su comercialización y consumo. No obstante los granos andinos pueden ser comercializados en su forma nativa (sin procesar) o procesados mediante diversas operaciones unitarias tales como reducción de tamaño, extrusión, tostado entre otros<sup>3</sup>. En el procesamiento de los granos andinos además de los controles tradicionales de humedad, temperatura y tiempos de proceso, la difusividad térmica, es un parámetro importante a considerar, debido a que nos permite establecer la capacidad de la transferencia de calor en estado no estacionario en operaciones como son: el secado, extrusión, expansión y tostado<sup>4</sup>. Por tal razón, su determinación permitirá incrementar la eficiencia en un proceso productivo que relacione la transferencia de calor.

La difusividad térmica,  $\alpha=k/(\rho \cdot C_p)$ , mide la tasa de difusión de calor en un material que posee conductividad térmica,  $k$  ( $W m^{-1} \text{ } ^\circ C^{-1}$ ), densidad,  $\rho$  ( $kg m^{-3}$ ); y calor específico,  $C_p$  ( $J kg^{-1} \text{ } ^\circ C^{-1}$ ). Sin embargo, pese a su gran interés es la propiedad menos estudiada en los granos andinos, quizás debido a la escasez de equipos comerciales destinados a tal fin. No obstante, dicha propiedad térmica varía en función de la temperatura, humedad, composición proximal, densidad y porosidad<sup>5</sup>.

Poulsen<sup>6</sup> y Gupta<sup>7</sup>, partiendo del método transitorio de Dickerson<sup>8</sup>, construyen las curvas de penetración de calor; la pendiente de dicha curva permite estimar el valor de la difusividad térmica en alimentos porosos a humedades bajas, considerando que la temperatura, humedad y porosidad son variables que influyen al momento de determinar la difusividad térmica en alimentos porosos. Por tales consideraciones, el objetivo del presente trabajo de investigación fue la determinación de la difusividad térmica en granos andinos de quinua variedades INIA Salcedo y Blanca de July y granos de cañihua variedades Cupi y Ramis acondicionados a niveles de humedad en base húmeda (Hbh) de 10, 15 y 20% y temperaturas de 25, 30 y 35°C.

## PARTE EXPERIMENTAL

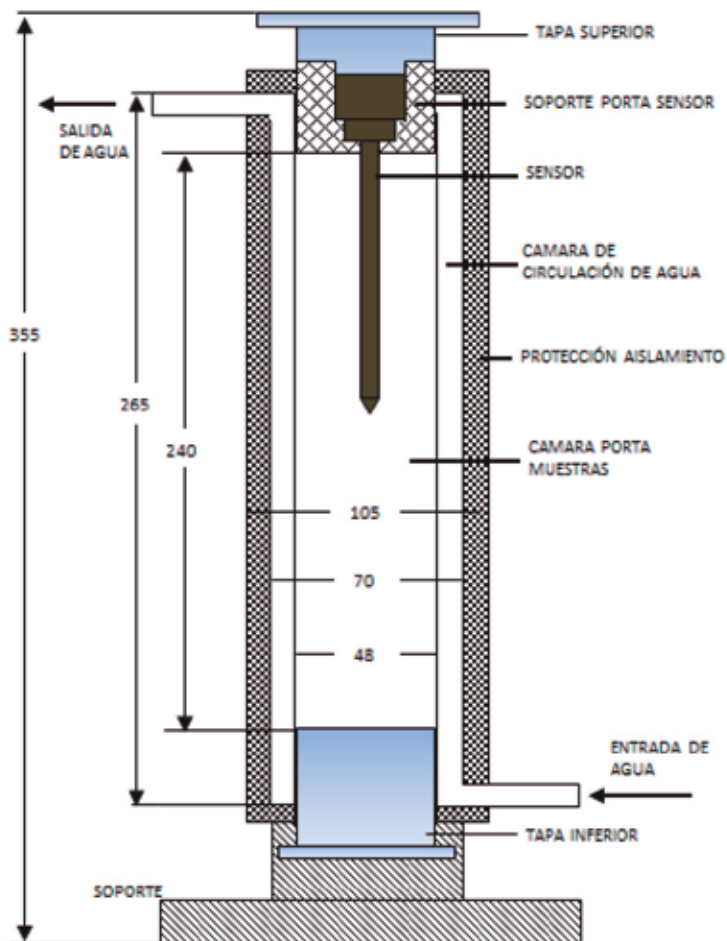
**Materia prima:** Los granos enteros de quinua variedades INIA Salcedo y Blanca de July (5 kg), y granos de cañihua variedades Cupi y Ramis (5 kg) fueron adquiridos del almacén de semillas del Instituto Nacional de Investigación Agraria INIA, Estación Experimental

Rinconada - Salcedo - Puno. Los granos adquiridos fueron analizados en su contenido de carbohidratos, proteínas, grasas, humedad y fibra.

Los granos fueron acondicionados a contenidos de humedad de 10, 15 y 20%. Para tal fin los granos fueron depositados en recipientes de vidrio de capacidad de 500 g, los recipientes fueron colocados en campanas de vidrio herméticas en cuyo interior se tenía soluciones salinas que permitían controlar la humedad relativa (HR) del medio ambiente como hidróxido de sodio (~10%HR), cloruro de litio (~15 %HR) y acetato de potasio (~20 %HR). Los granos fueron pesados de forma diaria hasta alcanzar la humedad en equilibrio (peso constante).

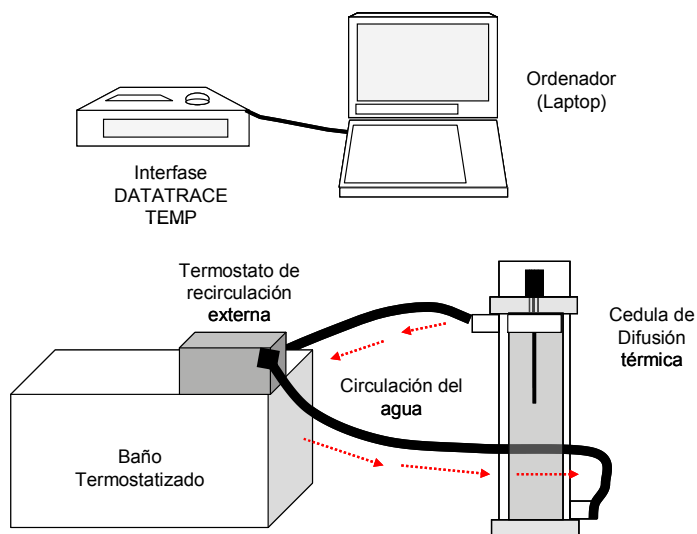
Se determinó la gravedad específica de los granos acondicionados mediante una balanza tipo Mohr Westphal modelo LB 502; la densidad real se calculó a partir de la gravedad específica; la densidad aparente fue determinada por el método de desplazamiento de volumen y la porosidad fue determinada de la relación de la densidad real y densidad aparente.

**Determinación de la difusividad térmica:** Las figuras 1 y 2, muestran el equipo instalado especialmente para este fin según lo propuesto por Ureña<sup>9</sup>. El equipo consiste en un cilindro de 250 mm de longitud y 48 mm de diámetro interno, con un espesor de pared aproximado a 1 mm. El cual está inmerso dentro de otro cilindro de mayor diámetro; en ambos extremos el cilindro tiene tapones de teflón que la sellan herméticamente, el espacio dejado por ambos cilindros es por donde circula el agua a una temperatura constante (figura 1). Uno de los tapones tiene un agujero con hilo de tornillo en el centro, por donde se introduce y se sujeta el sensor llamado Micropack, que forma parte del módulo de interface denominado DATATRACE TEMP; el cual con ayuda de un software de aplicación y un ordenador completan el sistema de adquisición de datos; la termocupla del sensor, cuyo extremo llega al centro geométrico del cilindro, y por donde se registra la temperatura de la muestra que es colocada en el interior del cilindro.



**Figura 1.** Esquema del cilindro Material acero inoxidable AISI 304, Cotas en mm

Los granos de quinua y cañihua acondicionados a 10, 15 y 20% de humedad en base húmeda (Hbh) fueron introducidos dentro del cilindro (figura 1). Un sensor registra la señal de variación de temperatura en función del tiempo (precisión de  $\pm 0.05$  °C); los granos fueron evaluados a 25, 30 y 35°C. Se registró 30 datos por segundo, la figura 2 muestra el esquema del equipo usado para determinar la difusividad térmica de los granos andinos.



**Figura 2.** Esquema del equipo usado para determinar la difusividad térmica

Entonces, para determinar la difusividad térmica se partió de la ecuación general de transferencia de calor, que es la siguiente:

$$\frac{\partial T}{\partial t} = \alpha \left( \frac{\partial^2 T}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 T}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 T}{\partial z^2} \right) \quad \text{Ec. 1}$$

Partiendo de la ecuación 1, expresada en derivadas parciales; donde: T: es la temperatura; t: es el tiempo; x, y, z son las posiciones axiales de la transferencia de calor; se obtiene la ecuación 2, que nos permite obtener los perfiles temperatura para una lámina y cilindro finito<sup>10</sup>. Las soluciones analíticas son soluciones de serie que contienen exponenciales, seno y funciones trascendentales. Para un cilindro finito a una temperatura inicial uniforme, expuesto a una temperatura ambiental constante y con superficie con resistencia a la convección despreciable, la solución propuesta es la siguiente<sup>8</sup>:

$$\frac{T_s - T}{T_s - T_i} = \sum_{m=1}^{\infty} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{2(-1)^{m+1}}{\beta_m} \cos(\beta_m 2x/l) \frac{2J_0(\beta_n r/R)}{\beta_n J_1(\beta_n)} \exp \left[ - \left( \frac{\beta_n^2}{R^2} + \frac{4\beta_m^2}{l^2} \right) \alpha t \right] \quad \text{Ec. 2}$$

Donde,  $T_s$ : Temperatura del medio circundante,  $T_i$ : Temperatura inicial, x: Coordenada rectangular, l: Longitud del cilindro finito,  $J_0$ : Función Bessel de primer clase de orden cero,  $J_1$ : Función Bessel de primer clase de orden uno, R: Radio en (m),  $\beta_n$ : Raíz de la función Bessel,  $\beta_m$ : Raíz de la función coseno, t: Tiempo (s), r: Coordenada radial y  $\alpha$ : Difusividad térmica. Para situaciones donde la muestra es expuesta por un período prolongado de tiempo, sólo el primer término de la solución por series es necesario. Para un objeto finito de forma cilíndrica, la solución expresada por la ecuación 2, puede ser simplificada de la siguiente

manera, considerando que  $m = n = 1$ ; es decir,  $\beta_m = \beta/2$ ,  $\beta_n = 2,4048$ , y  $J_1(2,4048) = 0,5191$ . En el centro del objeto cilíndrico,  $x = 0$ ,  $r = 0$ ; y  $J_0(0) = 1,0$ . De esta manera la solución aproximada para largos períodos de tiempo es expresada como<sup>10</sup>:

$$\frac{T_s - T}{T_s - T_i} = 2,0396 \exp \left[ - \left( \frac{2,4048^2}{R^2} + \frac{\pi^2}{\ell^2} \right) \alpha t \right] \quad \text{Ec. 3}$$

Cuando se grafican las curvas de penetración de calor experimentales sobre papel semi-logarítmico, es posible expresar la ecuación 3 como:

$$t = f_h \log \left( j \frac{T_s - T_i}{T_s - T} \right) \quad \text{Ec. 4}$$

De la ecuación 4;  $f_h = 0,398 \frac{r^2}{\alpha}$  es el parámetro de la curva de calentamiento y  $j = 1,6$ ; para el caso de un cilindro infinito. La pendiente de la curva  $t = \log(T)$ , permite determinar el valor de  $f_h$ . Reemplazando términos en la ecuación 4. Se obtiene:

$$t = 0,398 \frac{r^2}{\alpha} \log \left[ 1,6 \frac{T_a - T_0}{T_a - T} \right] \quad \text{Ec. 5}$$

A partir de la ecuación 5, podemos calcular la difusividad térmica como:

$$\alpha = \frac{0,398 r^2}{f_h} \quad \text{Ec. 6}$$

De la ecuación 6;  $\alpha$  es la difusividad térmica ( $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ ),  $r$  es el radio del cilindro ( $\text{m}$ ),  $f_h$  es el parámetro de la curva de calentamiento ( $\text{s}$ ). Los resultados de difusividad térmica para los granos fueron analizados estadísticamente empleando un arreglo multifactorial y se realizó la prueba de comparación múltiple de Tukey para observar la existencia de grupos homogéneos de datos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 1 resume el resultado de los análisis fisicoquímicos realizados a los granos de quinua y cañihua (antes de acondicionar). Se puede observar que el contenido de humedad inicial promedio fue de  $\sim 8\%$ . Al respecto, diversos estudios mencionan que después del trillado y secado de los granos andinos, su contenido de humedad varía de 15 a 12 %<sup>(3)</sup>. Sin embargo, una vez que el grano es procesado (perlado y lavado) presenta un contenido de humedad inferior a 10%, esto debido a un período de secado de 72 horas expuestos al ambiente (18 – 22°C). Este descenso se debe a la ausencia del perigonio eliminado en la etapa de lavado permitiendo una mayor deshidratación<sup>11</sup>. Los valores reportados en la tabla 1, son similares a los reportados por otros autores.



**Tabla 1.** Análisis fisicoquímicos de los granos de quinua y cañihua.

Característica	Cañihua		Quinua	
	Cupi	Ramis	B. July	INIA S.
<b>Humedad %</b>	8,81	8,57 (10,2*)	9,30	9,18 (11,65**)
<b>Proteína %</b>	13,65	16,27 (14,0*)	16,3	13,48 (13,81**)
<b>Grasa %</b>	3,48	3,30 (4,30*)	8,20	8,18 (5,01**)
<b>Fibra %</b>	2,36	3,36 (4,80*)	4,88	5,11 (4,38**)
<b>ELN %</b>	65,07	60,6 (64,0*)	56,18	61,53 (59,74**)

\* Fuente: Abugoch12

\*\*Fuente: Peñarrieta13

Los granos fueron acondicionados a valores de humedad promedio de 10, 15 y 20% (tabla 2); dichos porcentajes de humedad fueron considerados porque son los rangos más empleados en los procesos de almacenamiento y transformación como son los procesos de extrusión, expandido y laminado<sup>3,11</sup>.

Los cálculos de densidad real y aparente permiten determinar la porosidad del lecho a diferentes niveles de humedad; esta información permite entender la forma en la cual los granos se acomodan en el lecho poroso (cilindro para evaluar difusividad térmica). Al respecto, la porosidad de los granos andinos varía de 0,23 a 0,357 (tabla 2); los valores más bajos de porosidad pertenecen a los granos de cañihua, esto por el tamaño y menor diámetro de los granos que les permite acomodarse y compactarse mejor en el lecho poroso, estas variaciones apreciadas se deben al contenido de humedad, a la forma y tamaño de los granos.

**Tabla 2.** Análisis de humedad y porosidad en granos.

Tipo de grano	Variedad del grano	Acondicionamiento del contenido de humedad (%H <sub>bh</sub> )	Porosidad (ε)
Quinua	INIA – Salcedo	10,1	0,357
		15,2	0,342
		20,3	0,327
	Blanca de July	10,2	0,339
		15,3	0,323
		20,2	0,314
Cañihua	Cupi	10,2	0,284
		15,1	0,271
		20,1	0,262
	Ramis	10,3	0,258
		15,2	0,246
		19,9	0,231

La ASABE<sup>14</sup> publica diferentes tipos de granos con sus respectivos porcentajes de espacios vacíos (porosidad), siendo los granos de bajo contenido de humedad los que tienen propiedades similares al grano de quinua; tal es el caso de los granos de soya (variedad Wilson), que tienen un porcentaje 0,338 de porosidad. En lo que respecta a la porosidad de los granos de cañihua su porosidad es similar a los granos de sorgo variedades Yellow Milo y Siberian con porosidades de 0,285 y 0,268, respectivamente.

Para la calibración del equipo y validación de la metodología propuesta para evaluar la difusividad térmica (tabla 3), se determinó la difusividad térmica del agua a 20°C ( $\alpha$  experimental), los resultados fueron comparados con los datos de difusividad térmica del agua publicados por el Instituto Nacional de Estándares y Tecnología de EE.UU. (NIST), al que se denominó ( $\alpha$  estándar).

**Tabla 3.** Valores de difusividad térmica del agua a 20°C

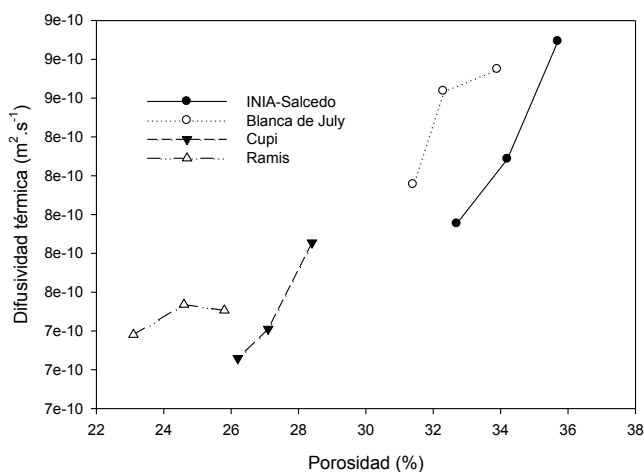
Detalle	Valores promedio
$\alpha$ experimental (m <sup>2</sup> /s)	1,5143E-02
$\alpha$ estándar (m <sup>2</sup> /s)	1,4367E-02
Fc Factor de corrección	0,9588

La tabla 4 presenta valores de la difusividad térmica en granos de quinua y cañihua, calculada a partir de la ecuación 6, acondicionadas a diferentes contenidos de humedad (tabla 2), evaluadas a temperaturas de 25, 30 y 35 °C. Los valores varían de 7,95 a 8,2 x 10<sup>-8</sup> m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup> para los granos de quinua y de 7,25 a 8,25 x 10<sup>-8</sup> m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup> para los granos de cañihua. La difusividad térmica en los granos andinos disminuye con el incremento del contenido de humedad (figura 3).

**Tabla 4.** Valores de difusividad térmica en granos

Nivel de humedad acondicionado	Temperatura	Difusividad térmica $\alpha \times 10^{-8}$ (m <sup>2</sup> /s)			
		cañihua		quinua	
		Cupi	Ramis	INIA - Salcedo	Blanca July
10%	25°C	7,855	7,506	8,893	8,349
	30°C	8,051	7,920	8,614	8,524
	35°C	8,204	8,136	8,798	8,637
15%	25°C	7,410	7,536	8,286	8,204
	30°C	7,910	7,814	8,270	8,334
	35°C	8,177	8,257	8,526	8,550
20%	25°C	7,259	7,381	7,953	8,156
	30°C	7,773	7,738	8,008	8,259
	35°C	7,847	8,210	8,469	8,421

Diversos autores mencionan que el contenido de humedad y temperatura influye en la variabilidad de la difusividad térmica, tal como sucede en el caso de los granos andinos. El comportamiento anómalo de la difusividad térmica en humedades bajas es característico de los alimentos porosos, ya que presentan volúmenes de aire disperso, siendo la difusividad térmica del aire unas 150 veces mayor que la del agua líquida con valores de  $2,25 \times 10^{-5} \text{ m}^2/\text{s}$  y  $1,45 \times 10^{-7} \text{ m}^2/\text{s}$ , respectivamente, a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ . Por lo tanto, los alimentos que tengan una alta porosidad se espera que tengan mayores valores de difusividad térmica<sup>15,16</sup>. Este comportamiento se ve reflejado en la figura 3, que muestra que a mayor porosidad mayor es la difusividad térmica en los granos andinos.

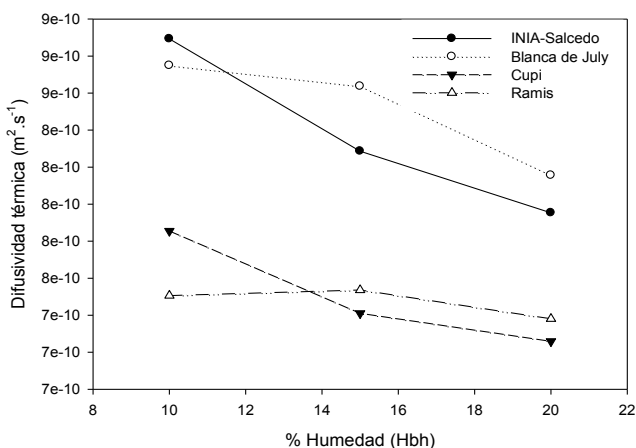


**Figura 3.** Variación de la difusividad térmica en función a la porosidad en granos andinos a  $10 \pm 0,1^\circ\text{C}$ .

La figura 4 muestra la influencia de la humedad sobre la difusividad térmica, existiendo una reducción de esta propiedad conforme se incrementa el contenido de agua en los granos andinos. Al respecto, Kostaropoulos y Saravacos<sup>15</sup> afirman que la reducción de la difusividad térmica en la región II (humedad 5 – 30%), es la región del diagrama de cambios generalizados de las propiedades de transporte en función de la humedad en alimentos porosos; dicha humedad es adsorbida en capas multimoleculares y los capilares se llenan gradualmente con agua, desplazando el aire, la difusividad térmica es reducida, subsecuentemente la difusividad térmica del agua líquida es más baja que la del aire.

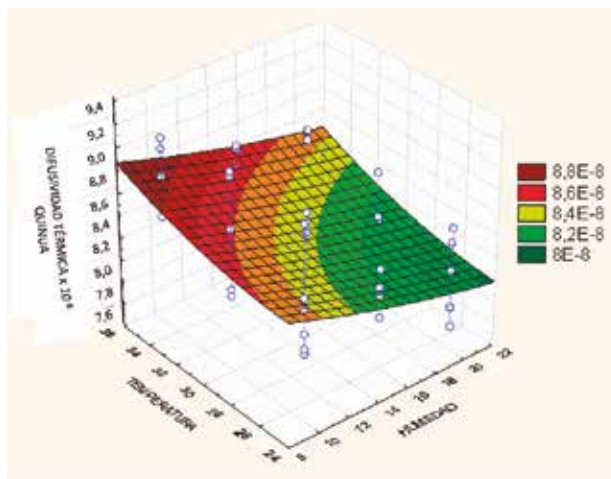
Estos comportamientos anómalos de la difusividad térmica en función de la humedad y porosidad fueron advertidos por diversos estudios, los cuales mencionan que son escasos los datos en alimentos secos y semi-secos, en humedades inferiores al 30%. Por ejemplo, un estudio<sup>16</sup> encontró que la difusividad térmica en granos de maíz se incrementa conforme se incrementan la temperatura alcanzando valores de  $0,91 \times 10^{-7}$  a  $3,23 \times 10^{-7} \text{ m}^2\cdot\text{s}^{-1}$ . No obstante otro estudio realizado en granos de soya encontró que conforme se incrementa el

contenido de humedad (14 a 30%) disminuye la difusividad térmica, efecto contrario sucede con la temperatura (50 a 150)<sup>17</sup>. Esto nos permite concluir que la difusividad térmica es un parámetro que además de ser influenciado por la porosidad, humedad y temperatura también depende de la microestructura, composición química y características físicas del alimento.



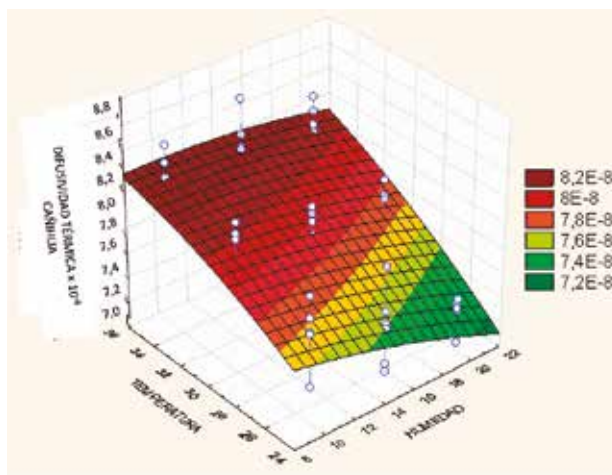
**Figura 4.** Variación de la difusividad térmica en función humedad en granos andinos a  $10 \pm 0,1^\circ\text{C}$ .

Los resultados de la difusividad térmica de granos de quinua y cañihua (tabla 4) fueron analizados mediante la metodología de superficie de respuesta (figuras 5 y 6); con la finalidad de poder aproximar un modelo matemático (ecuaciones 7 y 8), que permita predecir dicha propiedad a intervalos de humedad (10 a 15%) y temperaturas de (25 a 35°C).



**Figura 5.** Superficie de respuesta del efecto de la humedad y la temperatura sobre la difusividad térmica de la **quinua**, a través del modelamiento cuadrático

$$\alpha_{\text{quinua}} = 1.0334 \times 10^{-7} - 7.04 \times 10^{-10} \times H - 1.1635 \times 10^{-9} \times T + 7.854 \times 10^{-12} \times H^2 + 4.2626 \times 10^{-12} \times H \times T + 2.4059 \times 10^{-11} \times T^2 \quad \text{Ec. 7}$$



**Figura 6.** Superficie de respuesta del efecto de la humedad y la temperatura sobre la difusividad térmica de la **cañihua**, a través del modelamiento cuadrático

$$\alpha_{\text{cañihua}} = 5.1431 \times 10^{-8} - 5.7307 \times 10^{-10} \times H + 1.5898 \times 10^{-9} \times T - 1.0936 \times 10^{-11} \times H^2 + 2.191 \times 10^{-11} \times H \times T - 2.1187 \times 10^{-11} \times T^2 \quad \text{Ec. 8}$$

Dónde:  $\alpha$  = Difusividad térmica ( $\text{m}^2\text{s}^{-1}$ ); H = Humedad (10 - 20%); T = Temperatura (25-35°C), las ecuaciones 7 y 8, desarrolladas mediante la función cuadrática (superficie de respuesta de segundo orden), nos permiten realizar interpolaciones en un rango de 25 a 35 °C de temperatura y de 10 a 15% de humedad; se observa en las figuras 4 y 5 que conforme se incrementa la temperatura de 25 a 35°C el valor de la difusividad térmica es mayor; sin embargo a niveles de 10 a 20% de humedad su valor se reduce.

El análisis de varianza, a un 95% de confiabilidad, reporta que existe variación estadística significativa entre los tipos de granos. No obstante, las demás fuentes de variación (humedad y temperatura) presentan también diferencia estadística significativa, demostrando la dependencia que existe de la difusividad térmica entre la humedad y temperatura. El análisis de la Prueba Tukey reporta que los promedios de la difusividad térmica de los granos de quinua, variedades INIA-Salcedo y Blanca de July (quinua), son diferentes a los granos de cañihua variedades Cupi y Ramis (cañihua). Por lo tanto, se puede generalizar y concluir que la difusividad térmica varía en los granos de quinua y cañihua en función de su temperatura y humedad.

## CONCLUSIONES

Se comprobó que los valores de difusividad térmica de los granos de quinua y cañihua están comprendidos entre  $7,95$  y  $8,79 \times 10^{-8} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  y  $7,25$  a  $8,20 \times 10^{-8} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ; con porosidades de  $0,33$  a  $0,35$  y  $0,25$  a  $0,28$ , respectivamente; esta propiedad presenta diferencias entre los granos de quinua y cañihua por la forma y tamaño de los mismos; comprobándose la relación directa con la temperatura e inversa con el contenido de humedad en rangos de  $20$  a  $35^\circ\text{C}$  y de  $10$  a  $20\%$  de humedad.

## AGRADECIMIENTO

Agradecimiento a la Escuela de Posgrado y a la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria La Molina, por facilitarnos los laboratorios y equipos para el trabajo de investigación, igualmente al Instituto Nacional de Innovación Agraria - INIA por las semillas de granos andinos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Repo-Carrasco-Valencia RA-M, Serna LA. Quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd.) as a source of dietary fiber and other functional components. *Ciência e Tecnol Aliment.* 2011;31(1):225–30.
2. Domínguez SS. Quinoa—Postharvest and Commercialization. *Food Rev Int.* 2003;19(3):191–201.
3. López LM, Capparelli A, Nielsen AE. Traditional post-harvest processing to make quinoa grains (*Chenopodium quinoa* var. *quinoa*) apt for consumption in Northern Lipez (Potosí, Bolivia): Ethnoarchaeological and archaeobotanical analyses. *Archaeol Anthropol Sci.* 2011;3(1):49–70.
4. Nesvadba P, Houška M, Wolf W, Gekas V, Jarvis D, Sadd PA. Database of physical properties of agro-food materials. *J Food Eng.* 2004; 62(1) 497–503.
5. Poulsen KP. Thermal diffusivity of foods measured by simple equipment. *J Food Eng.* 1982;1(2):115–22.
6. Gupta TR. Thermal diffusivity measurements of wheat flour and wheat flour dough. *Food Process Eng.* 1996;19:343–52.
7. Dickerson WR. An Aparatus for the Measurement of Thermal Diffusivity of foods. *Food Technol.* 1965;18(5):343–53.
8. Ureña P. M. Obtención de alimentos modelo a partir de mezclas bentonita: glicerol: agua para estudios de tratamientos térmicos [Tesis Doctoral]. Valencia: Politecnica e Valencia; 1990.
9. Singh RP. Thermal diffusivity in food processing. *Food Technol.* 1982;36(2):97–91.
10. Jancurová M, Minarovičová L, Dandár A. Quinoa - A review. *Czech J Food Sci.* 2009; 27(1): 71–9.
11. Abugoch James LE. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): Composition, chemistry,

- nutritional, and functional properties. *Adv Food Nutr Res.* 2009; 58:1–31.
12. Peñarrieta JM, Alvarado JA, Åkesson B, Bergenståhl B. Total antioxidant capacity and content of flavonoids and other phenolic compounds in canihua (*Chenopodium pallidicaule*): An Andean pseudocereal. *Mol Nutr Food Res.* 2008;52(6):708–17.
  13. ASABE. Properties T. Products G. ASAE: Thermal Properties of Grain and Grain Products; 2008.
  14. Kostaropoulos AE, Saravacos GD. Thermal diffusivity of granular and porous foods at low moisture content. *J Food Eng.* 1997;33(1–2):101–9.
  15. Dotto GL, Pinto LAA, Moreira MFP. Determination of the effective thermal diffusivity in a porous bed containing rice grains: effects of moisture content and temperature. *Heat Mass Transf.* 2015; 52(4):887–96.
  16. Azadbakht M, Khoshtaghaza MH, Gobadian B. Thermal Properties properties of soybean pod as a function of moisture. *Am J Food Sci Technol.* 2012;8(4):1217–28.

## EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES Y LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS DE LOS FRUTOS DE AGUAYMANTO (*Physalis peruviana* L.) DE DIFERENTES LUGARES DEL PERÚ

Bertha Jurado Teixeira<sup>1\*</sup>, Isabel Mercedes Aparcana Ataurima<sup>1</sup>, Leydi Steffani Villarreal Inca<sup>1</sup>, Eva Ramos Llica<sup>1</sup>, María Rosario Calixto Cotos<sup>2</sup>, Paola Estefanía Hurtado Manrique<sup>1</sup>, Katherin María del Carmen Acosta Alfaro<sup>1</sup>

### RESUMEN

El aguaymanto es una especie nativa de la serranía peruana, que posee un diminuto fruto que discrepa con su grandeza nutricional y terapéutica. La presente investigación tuvo como objetivos valorar y comparar el contenido de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu y la capacidad antioxidante de los frutos de *Physalis peruviana* L., provenientes de Huánuco, Junín, Ancash y Cajamarca, por el método del DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo). El fruto procedente de Huánuco presentó mayor contenido de compuestos fenólicos expresados como  $149,3 \pm 1,62$  mg/Eq de ácido gálico/100 g de fruto. Asimismo, mayor capacidad antioxidante obteniendo como concentración inhibitoria  $IC_{50}$  1,86 mg/mL, comparado con los frutos provenientes de Junín, Ancash y Cajamarca; por lo que resultaría una buena fuente para la elaboración de diversos productos alimenticios benéficos para la salud (funcionales o nutraceuticos) y para la economía.

**Palabras clave:** *Physalis peruviana* L., polifenoles, actividad antioxidante.

## EVALUATION OF THE CONTENT OF PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF THE ETHANOL EXTRACTS OF THE FRUITS OF AGUAYMANTO (*Physalis peruviana* L.) FROM DIFFERENT LOCATIONS OF PERU

### ABSTRACT

The aguaymanto is a native species of the Peruvian highland, which has a tiny fruit that disagrees with its greatness and nutritional therapy. The present investigation had as objective to assess and compare the total polyphenol content by the Folin-Ciocalteu method and

<sup>1</sup> Laboratorio de Farmacognosia y Medicina Tradicional. Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara". Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Jr Puno 1002. Jardín Botánico. Lima. \*bjurado7@hotmail.com

<sup>2</sup> Instituto de Investigación de Ciencias Químicas. Facultad de Química e Ingeniería Química. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.



antioxidant capacity of the fruits of *Physalis peruviana* L., from Huánuco, Junín, Ancash y Cajamarca by the method of the DPPH (1,1-diphenyl-2-picril-hidrazilo). The fruit coming from Huánuco presented a higher content of phenolic compounds expressed as  $149.3 \pm 1.62$  mg/Eq of gallic acid/100g fruit. In addition, greater antioxidant capacity obtaining as inhibitory concentration IC50 1.86 mg/mL, compared with the fruits from Junín, Ancash y Cajamarca; and it would be a good source of consumption in benefit for the health.

**Key words:** *Physalis peruviana* L., polyphenols, antioxidant.

## INTRODUCCIÓN

El Perú es un país privilegiado con enorme variedad de productos naturales. Como representante, tenemos un diminuto fruto proveniente de la serranía de nuestro país, de no más de dos centímetros, de color amarillo e impregnado de una brillantez y fragancia envidiable que está recubierto con un cáliz de cinco sépalos que le otorgan protección natural, llamado aguaymanto (*Physalis peruviana* L.)<sup>1</sup>.

*Physalis peruviana* L., pertenece a la familia Solanaceae, es una planta herbácea semiarbustiva y perenne que se caracteriza por tener raíces fibrosas y pivotantes, flores de cinco pétalos amarillos, hojas acorazonadas de color verde y tallo con vellosidades verdes de crecimiento lateral<sup>2</sup>.

Numerosas publicaciones confieren a la especie propiedades beneficiosas para el ser humano, tanto medicinales como nutricionales. Tiene propiedad antiinflamatoria, hipoglicemiente, antihepatotóxica, antioxidante, tonifica el nervio óptico y purifica la sangre<sup>3-5</sup>. El fruto contiene compuestos bioactivos como polifenoles, provitamina A (3.000 IU de caroteno por 100 g), vitamina C (20-43mg por 100g), vitamina E (86,30 g por kilo de lípidos totales, como el  $\alpha$ -tocoferol que elimina las especies reactivas de oxígeno)<sup>6</sup> y algunos complejos de vitamina B (tiamina, Riboflavina, niacina). Además, la fibra (4,8%), proteína (0,3%) y fósforo (55%) contenido en esta baya son excepcionalmente altos para esta fruta<sup>3-5</sup>.

Los compuestos fenólicos constituyen uno de los más numerosos y representativos grupos de metabolitos secundarios de las plantas y su relevancia radica en su participación en la fisiología y el metabolismo celular como morfología, crecimiento, reproducción, defensa contra plagas y depredadores, y procesos germinativos, entre otros. Estos compuestos están presentes en la mayoría de los productos naturales consumidos por el hombre y en estudios recientes se ha demostrado una significativa actividad antioxidante, que evidencia su potencial benéfico sobre la salud humana<sup>7</sup>.

En un estudio se evaluó el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de *Physalis peruviana* L., encontrándose mayor cantidad de estos compuestos, según el método de Folin-Ciocalteu, en un extracto etanólico que en un extracto acuoso, reportando valores en un rango desde 57,9 mg/Eq de ácido gálico/100g de fruto hasta 90,80 mg/Eq de ácido gálico/100g de fruto<sup>8</sup>.

Considerando el alto contenido de polifenoles, vitamina A, C, E; en un estudio de actividad antioxidante se reportó un valor de 60% de inhibición del radical libre DPPH+ (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo) en un extracto etanólico del fruto a una concentración 60 mg/dL, y asimismo se expresó en un valor de 23,94  $\mu\text{mol Eq}$  de ácido ascórbico/g de extracto<sup>9</sup>.

Los objetivos de la presente investigación fueron: evaluación del contenido de polifenoles totales por el método de Folin Ciocalteu y la actividad antioxidante mediante el método de inhibición del DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo) del fruto de *Physalis peruviana* L. proveniente de Cajamarca, Ancash, Huánuco y Junín.

## PARTE EXPERIMENTAL

**Lugar de ejecución:** El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

**Muestra:** Los frutos de aguaymanto (*Physalis peruviana* L.) se recolectaron de diferentes regiones del Perú: Ancash, Junín, Cajamarca y Huánuco; en un estado de madurez tres, según la NTC 458010 y en época de verano. La identificación de la planta fue realizada por el biólogo José Campos De la Cruz (C.B.P. 3796) en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM).

**Reactivos:** Etanol absoluto QP, metanol QP, agua bidestilada, DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), trolox (6-hidroxi-2, 5, 7, 8 tetrametilcromo-2 ácido carboxílico 97%) (Sigma-Aldrich USA), vitamina C (Sigma-Aldrich, USA), ácido gálico (Merck) y reactivo de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, USA).

**Equipos:** Espectrofotómetro UV-visible (Merck), balanza analítica de capacidad de 1 mg - 200 g (Ohaus Pioneer), Estufa (Mettler).

**Obtención del extracto de *Physalis peruviana* L.:** Se seleccionaron los frutos sanos y firmes, se procedió a lavarlos con agua destilada y luego fueron licuados durante cinco minutos. Se pesaron 850 g de cada muestra, se maceró con 850 mL de etanol al 96% en un frasco de vidrio ámbar y se agitaron durante 15 minutos para luego ser almacenados a temperatura ambiente en oscuridad durante siete días. Posteriormente, se filtraron con papel filtro Whatman 40 y se concentraron en una estufa a 40°C por tres días.

**Determinación de compuestos fenólicos:** Se utilizó el método de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton *et al.*<sup>11</sup>. Se preparó una curva de calibración de ácido gálico cuyo rango de concentración fue de 1-7,5  $\mu\text{g/mL}$ . Los extractos etanólicos de las cuatro muestras vegetales fueron evaluados a una concentración de 0,9 mg/mL. A 0,3mL de la muestra se le añadió 0,45mL de la solución de Folin-Ciocalteu (diluido 1 en 2 con agua bidestilada) y se dejó reposar durante cinco minutos, luego se adicionó 0,45 mL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  20% y posteriormente

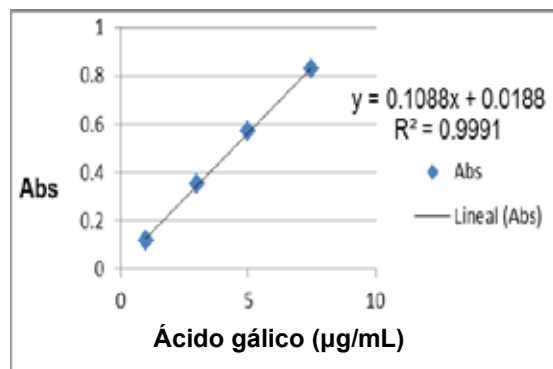
agua bidestilada hasta un volumen total de 3mL. Se agitó vigorosamente, se cubrió de la luz y se le llevó a reposo por 30 minutos a temperatura ambiente. Las absorbancias respectivas fueron medidas a 760 nm en un espectrofotómetro. Las muestras fueron analizadas por triplicado y el contenido de compuestos fenólicos totales fue expresado en mg de ácido gálico/g de extracto etanólico.

**Determinación de la actividad antioxidante:** Se evaluó la actividad antioxidante por el método del DDPH descrita por Brand-Williams *et al.*<sup>12</sup>. Se preparó diluciones en agua bidestilada de los extractos etanólicos hasta obtener concentraciones de 0,8 a 4 mg/mL. Se mezcló 0,8 mL de cada una de las diluciones con 1,6 mL de una solución de 20 mg/L de DPPH en metanol y se dejó reaccionar a temperatura ambiente por 30 minutos, al término de los cuales se procedió a medir la absorbancia de la mezcla a 517 nm. Las muestras fueron analizadas por triplicado. Los resultados se expresaron como valores de porcentaje de capacidad antioxidante y de concentración media inhibitoria (IC<sub>50</sub>).

$$\% \text{ Capacidad antioxidante} = \frac{[1 - ((\text{Abs. Muestra con DPPH}) - \text{Abs. Blanco muestra}))]}{\text{Abs. DPPH}^+} \times 100$$

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se observa la curva de calibración del ácido gálico usado como patrón de referencia para la determinación de compuestos fenólicos. En la tabla 1 se muestran los resultados de la cuantificación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu, cuyos resultados se expresan en mg/Eq de ácido gálico/100g de fruto. Se observa que el extracto etanólico del fruto proveniente de Huánuco presentó mayor cantidad de fenoles totales (149,3 ± 1,62 mg/Eq. ácido gálico/100g de fruto), valor superior al reportado por Mier *et al.* (2011)<sup>13</sup> de 131,19 ± 0,0 mg/Eq ácido gálico/100g de fruto proveniente de Colombia en un estado de madurez tres. Según Repo y Encina (2008)<sup>14</sup> se obtuvo un valor de 154 mg/Eq ácido gálico/100g de fruto proveniente de Cajamarca, superior a nuestro fruto analizado proveniente de la misma región; debido a que ellos han trabajado con un extracto metanólico y con frutos maduros; ya que el estado de madurez influye directamente en el contenido de compuestos fenólicos del aguaymanto. Es importante mencionar que los compuestos fenólicos que se encuentran en las frutas y vegetales, tienen un rol fundamental en la salud; ya que disminuyen el riesgo de enfermedades crónicas, tales como la enfermedad cardiovascular y cáncer (Boyer y Liu, 2004)<sup>15</sup>.



**Figura 1.** Curva de calibración del ácido gálico para la determinación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu

**Tabla 1.** Contenido de fenoles totales en los frutos de *Physalis peruviana* L.

Extracto seco de <i>Physalis peruviana</i> L. proveniente de:	Fenoles totales (mg/Eq. ácido gálico/100g de fruto)
Huánuco	149,3 ± 1,62
Junín	144,4 ± 0,97
Ancash	127,9 ± 0,79
Cajamarca	106 ± 0,48

En la tabla 2 se observa los porcentajes de actividad antioxidante por el método DPPH de los frutos de aguaymanto, a diferentes concentraciones en un rango de 0,8 hasta 4 mg/mL, el cual indica que el fruto proveniente de Huánuco presentó mayor porcentaje de captación de radicales libres ( $100 \pm 1,72$ ), seguido por los frutos provenientes de Junín, Ancash y Cajamarca; valor superior al reportado por Repo y Encina *et al.* (2008)<sup>14</sup> de 52% comparado con otras frutas nativas peruanas; debido a que ellos trabajaron con otra metodología de extracción, usando como solvente el metanol, tiempo de 24 horas y temperatura de 4°C. Cabe mencionar que los factores de extracción como temperatura, tiempo y tipo de solvente influyen directamente en la determinación de los compuestos bioactivos<sup>16</sup>. Según Mier *et al.* (2011)<sup>13</sup> se obtuvo un valor de  $79,61 \pm 0,10\%$  de captación de radicales DPPH del fruto de aguaymanto proveniente de Colombia, en un estado de madurez tres, valor cercano al obtenido en la muestra proveniente de Huánuco. Señalando, que el estado de madurez de un fruto influye directamente en el contenido de compuestos bioactivos, los cuales actúan en forma sinérgica para potenciar el efecto antioxidante.

**Tabla 2.** Porcentaje de captación de radicales libres por el método DPPH

Conc. mg/mL	% Captación de radicales libres de <i>Physalis peruviana</i> L.			
	Huánuco	Junín	Ancash	Cajamarca
4	100 ± 1,72	93,26 ± 0,61	86,86 ± 0,28	82,51 ± 1,72
3,2	96,98 ± 0,76	85,64 ± 0,53	83,57 ± 0,18	78,27 ± 1,02
2,4	77,03 ± 0,85	73,56 ± 0,45	72,81 ± 0,46	56,81 ± 0,37
1,6	67,59 ± 1,67	58,86 ± 0,28	58,68 ± 1,56	37,47 ± 0,95
0,8	42,22 ± 1,13	30,95 ± 0,11	37,16 ± 0,12	25,55 ± 1,92

En la tabla 3 se muestra los resultados de la evaluación de la actividad antioxidante y determinación del IC<sub>50</sub> en los frutos de aguaymanto. El IC<sub>50</sub> se define como la concentración necesaria de la muestra para disminuir en un 50% la concentración inicial de los radicales libres (DPPH<sup>+</sup>), teniendo en cuenta que a menor valor de IC<sub>50</sub> es mayor la actividad antioxidante<sup>17</sup>. Se observa que el fruto de Huánuco tuvo mayor porcentaje de captación de radicales libres y menor valor de IC<sub>50</sub> (1,86 mg/mL).

**Tabla 2.** Porcentajes de captación de radicales y valores de IC<sub>50</sub> (mg/mL)

Extracto de <i>Physalis peruviana</i> L. (2,4mg/mL)	Porcentaje de captación de radicales (%)	IC <sub>50</sub> (mg/mL)
Huánuco	77,03 ± 0,85	1,86
Junín	73,56 ± 0,45	2,04
Ancash	72,81 ± 0,46	2,24
Cajamarca	56,81 ± 0,37	2,36

## CONCLUSIONES

La determinación de fenoles totales fue de 149,3 ± 1,62; 144,4 ± 0,97; 127,9 ± 0,79 y 106 ± 0,48 mg/Eq. AG/100 g fruto; correspondiendo estos a Huánuco, Junín, Ancash y Cajamarca, respectivamente, mostrándose el extracto etanólico de Huánuco con mayor cantidad de fenoles totales.

Los extractos etanólicos de *Physalis peruviana* L. de Huánuco, Junín, Ancash y Cajamarca, evaluados por el método del DPPH, expresaron un porcentaje de captación de radicales libres de DPPH de 100 ± 1,72; 93,26 ± 0,61; 86,86 ± 0,28 y 82,51 ± 1,72%, respectivamente; asimismo, expresaron un IC<sub>50</sub> de 1,86; 2,04; 2,24 y 2,36 mg/mL, respectivamente; correspondiendo el de mayor capacidad antioxidante al extracto etanólico proveniente de Huánuco.

## AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ávalos C. Fruto Peruano que conquista el mundo. Generación [Internet]. Agosto 2010 [consultado 4 de septiembre 2014]; Disponible en: <http://www.generacion.com/magazine/383/fruto-peruano-que-conquista-mundo>
2. Trujillo JP. Aplicación de Elementos Intermitentes y Otros Coadyuvantes a la Conservación Frigorífica de Aguaymanto [Tesis Doctoral]. Madrid: Universidad Politécnica de Valencia, Facultad de Ciencias; 2007. 115 p.
3. Wu SJ, Tsai J, Chang SP, Lin DL, Wang S, Huang SN, et al. Supercritical carbon dioxide extracts exhibits enhanced antioxidant and anti-inflammatory activities of *Physalis peruviana* L. J Ethnopharmacol. 2006; 108(3): 407-413.
4. Franco LA, Matiz GE, Calle J, Pinzón R, Ospina LF, et al. Actividad antiinflamatoria de extractos y fracciones obtenidas de cálices de *Physalis peruviana* L. Biomédica. 2007; 27(1): 110-115.
5. Pardo JM, Fontanilla MR, Ospina LF, Espinosa L. Determining the pharmacological activity of *Physalis peruviana* L. fruit juice on rabbit eyes and fibroblast primary cultures. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2008; 7(7): 3074-3079.
6. Puente LA, Pinto-Muñoz CA, Castro ES, Cortés M. *Physalis peruviana* L. Multiple properties of a highly functional fruit. Food Res Int. 2011; 44(7):1733-40. 2011.
7. Vidal A, Motidome M, Mancini J, Fallarero A, Midori M, et al. Actividad antioxidante y ácidos fenólicos del alga marina *Bryothamnion triquetrum* (S.G.Gmelim). Rev Bras Cienc Farm. 2001; 37 (3): 373-82.
8. Wu SJ, Tsai J, Chang SP, Lin DL, Wang S, Huang SN, et al. Supercritical carbon dioxide extracts exhibits enhanced antioxidant and anti-inflammatory activities of *Physalis peruviana* L. J Ethnopharmacol. 2006; 108: 407-413.
9. Zavaleta J, Muñoz AM, Blanco T, Alvarado-Ortiz C, Loja B. Capacidad antioxidante y principales ácidos fenólicos y flavonoides de algunos alimentos. Horiz Med. 2005; 2(5): 29-38.
10. ICONTEC. Frutas frescas. Uchuva. Especificaciones. Norma Técnica Colombiana NTC 4580. Bogotá: Instituto Colombiano de Normas Técnicas; 1999.
11. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am J Enol Vitic. 1965; 16:144-158.
12. Brand-Williams W, Cuvelier M, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Food Sci Technol. 1995; 20: 25-30.
13. Mier HJ, Cáez G. Contenido de polifenoles, carotenos y capacidad antioxidante en frutos de uchuva (*Physalis peruviana* L.) en relación a su estado de maduración. ReCiTeIA. 2011; 11(1b): 104-115.
14. Repo R, Encina C. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. Rev Soc Quím Per. 2008; 74(2): 108-124.

15. Boyer J, Lui RH. Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutr J.* 2004; 3: 1-15.
16. Silva Ch S. Optimización del proceso de extracción supercrítica de los polifenoles de la vaina de tara (*Caesalpinia spinosa*) [Tesis]. Santiago de Chile: Universidad de Chile; 2012. 77 p.
17. Zhu KX, Lian CX, Guo XN, Zhou HM. Antioxidant activities and total phenolic contents of various extracts from defatted wheat germ. *Food Chem.* 2011; 126: 1122-1126.

## **INFLUENCIA DE LA PRESENCIA DE BORRAS DURANTE EL TIEMPO DE REPOSO DEL VINO BASE SOBRE ALGUNOS COMPUESTOS VOLÁTILES DEL PISCO PERUANO DE UVA ITALIA**

Yasser Hidalgo<sup>a</sup>, Beatriz Hatta<sup>a</sup>, Juan Carlos Palma<sup>b</sup>

### **RESUMEN**

Se investigó la influencia de la presencia de borras durante el reposo del vino base sobre algunos compuestos volátiles en el pisco, como: ácido acético, alcoholes superiores, ésteres y acetaldehído. Dos fracciones de vino base seco (con y sin borras) se almacenaron por cinco intervalos de tiempo: 0, 7, 20, 60, 150 días; y destiladas después. Los resultados indicaron que los piscos de vinos base con mayores tiempos de reposo presentan mayores contenidos de ácido acético (con borras: desde 0,15 g/L con 0 días de reposo hasta 0,30 g/L con 60 días de reposo y 0,69 g/L con 150 días de reposo; sin borras: desde 0,14 g/L con 0 días de reposo hasta 0,26 g/L con 150 días de reposo), propanol (con borras: desde 72,15 mg/100 mL A.A.<sup>c</sup> con 0 días de reposo hasta 105,34 mg/100 mL A.A. con 150 días de reposo), acetato de etilo (con borras: desde 22,00 mg/100 mL A.A. con 0 días de reposo hasta 43,10 mg/100 mL A.A. con 150 días de reposo) y acetato de iso-amilo (con borras: desde 0,00 mg/100 mL A.A. con 0 días de reposo hasta 10,57 mg/100 mL A.A. con 150 días de reposo); y menores contenidos de acetaldehído (con borras: desde 22,71 mg/100 mL A.A. con 0 días de reposo hasta 4,29 mg/100 mL A.A. con 60 días de reposo y 3,30 mg/100 mL A.A. con 150 días de reposo; sin borras: desde 16,98 mg/100 mL A.A. con 0 días de reposo hasta 4,30 mg/100 mL A.A. con 150 días de reposo). Los piscos destilados de vinos base con borras presentan mayores cantidades de acetato de etilo (22,00 vs. 16,61 mg/100 mL A.A.) y acetaldehído (22,71 vs. 16,98 mg/100 mL A.A.), que sus destilados de vinos base sin borras, con 0 días de reposo.

**Palabras clave:** Destilados, pisco, borras, tiempo de reposo, compuestos volátiles.

## **INFLUENCE OF LEES PRESENCE DURING THE RESTING TIME OF BASE WINE IN SOME VOLATILE COMPOUNDS OF PERUVIAN ITALIA GRAPE PISCO**

---

<sup>a</sup> Facultad de Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Agraria La Molina, Av. La Universidad s/n, Lima 12, Perú.

\* yasser\_hds@yahoo.com

<sup>b</sup> Facultad de Ciencias – Dpto. de Química, Universidad Nacional Agraria La Molina, Av. La Molina s/n, La Molina, Lima 12, Perú.

<sup>c</sup> A.A.: alcohol anhidro/anhydrous alcohol.



## ABSTRACT

The influence of lees presence during the resting time of base wines in some volatile compounds in Pisco obtained therefrom were studied, such as: acetic acid, higher alcohols, esters and acetaldehyde. Two dry base wine fractions (with and without lees) were stored for five time intervals: 0, 7, 20, 60, 150 days, and distilled afterwards.

The results indicated that piscos obtained from base wines with longer resting time show higher acetic acid contents (with lees: from 0.15 g/L with 0 resting days to 0.30 g/L with 60 resting days and 0.69 g/L with 150 resting days; without lees: from 0.14 g/L with 0 resting days to 0.26 g/L with 150 resting days), propanol contents (with lees: from 72.15 mg/100 mL A.A. with 0 resting days to 105.34 mg/100 mL A.A. with 150 resting days), ethyl acetate contents (with lees: from 22.00 mg/100 mL A.A. with 0 resting days to 43.10 mg/100 mL A.A. with 150 resting days) and iso-amyl acetate contents (with lees: from 0.00 mg/100 mL A.A. with 0 resting days to 10.57 mg/100 mL A.A. with 150 resting days); and lower acetaldehyde contents (with lees: from 22.71 mg/100 mL A.A. with 0 resting days to 4.29 mg/100 mL A.A. with 60 resting days and 3.30 mg/100 mL A.A. with 150 resting days; without lees: from 16.98 mg/100 mL A.A. with 0 resting days to 4.30 mg/100 mL A.A. with 150 resting days). Piscos coming from base wines with lees show higher ethyl acetate (22.00 vs. 16.61 mg/100 mL A.A.) and acetaldehyde (22.71 vs. 16.98 mg/100 mL A.A.) contents than those coming from base wines without lees, with 0 resting days.

**Key words:** Distillates, Pisco, lees, resting time, volatile compounds.

## INTRODUCCIÓN

El pisco es el producto obtenido exclusivamente por destilación de mostos frescos de “uvas pisqueras” recientemente fermentados, utilizando métodos que mantengan los principios tradicionales de calidad; y producido en la costa de los departamentos de Lima, Ica, Arequipa, Moquegua y los Valles de Locuma, Sama y Caplina del departamento de Tacna<sup>1</sup>.

El prensado de las uvas tiene por objetivo extraer la solución acuosa contenida en las bayas, así como ciertos compuestos del hollejo bajo el efecto de la presión. Esta operación se realiza en una prensa, que es, en general, un cilindro en el interior del cual la vendimia es comprimida, sea por el movimiento de uno o dos platos (prensas mecánicas) o por el inflado de una membrana (prensas neumáticas). La presión aplicada debe ser progresiva y alcanzar valores finales bastante elevados pero no demasiado para no romper los raspones, los hollejos y las pepitas<sup>2</sup>.

Desde el punto de vista teórico, 100 gramos de azúcares producen alrededor de 50 gramos de alcohol y 50 gramos de gas carbónico<sup>3</sup>. Además del alcohol etílico, en la fermentación alcohólica se producen a partir del ácido pirúvico otros compuestos, donde destacan el ácido

acético, ácido butírico, acetona, ácido láctico, acetofina, butanodiol-2,3, ácido fumárico, ácido oxalacético, ácido succínico, ácido propiónico, diacetilo, etc.<sup>4</sup>

La mayoría de los ácidos orgánicos restantes son producidos durante la vía de síntesis de los ácidos grasos a partir de la malonyl-Coenzima A<sup>5</sup>. Los ésteres se forman por reacciones entre alcoholes y ácidos, bajo la acción de esterasas de las levaduras y directamente por condensación del precursor del ácido acético, el acetyl-CoA<sup>3</sup>. La transformación de los aminoácidos de la uva, o los formados por la propia levadura, dan lugar a numerosos alcoholes superiores, que tienen más de 2 átomos de carbono, tales como los alcoholes propílicos, butíricos o amílicos<sup>3</sup>.

En el mosto también están presentes ciertas sustancias volátiles ligadas a la tipicidad aromática de la cepa, las cuales pertenecen esencialmente a dos familias químicas: las pirazinas (características de la familia del Cabernet Sauvignon) y los terpenoles (característicos de los moscateles)<sup>5</sup>. Durante la fermentación, el contenido de nerol y geraniol (terpenoles) decrecen, mientras que el linalol libre casi no varía; en general, se experimenta un descenso de terpenos libres como de ligados, lo que parece indicar que una proporción de estos compuestos sufre algún tipo de degradación<sup>6</sup>.

El inicio de la destilación de los mostos fermentados debe realizarse inmediatamente después de concluida la fermentación<sup>1</sup>. Sin embargo, tal como se acostumbra en la mayoría de bodegas pisqueras, el mosto fermentado se dejar reposar una semana para favorecer la sedimentación y eliminación de las borras (sólidos de mosto y levadura) mediante un trasiego<sup>7</sup>, y en el caso de algunas bodegas industriales, mediante una posterior filtración. Asimismo, estas bodegas industriales, que manejan grandes volúmenes en cuba, se ven en la necesidad de conservar sus mostos ya fermentados durante varias semanas o meses, debido al cuello de botella que se origina en el proceso de destilación.

Durante el reposo, los vinos sufren de manera espontánea una fermentación maloláctica bajo la acción de diferentes bacterias lácticas<sup>5</sup>. Esta consiste básicamente en la descarboxilación del ácido L(+) málico en el vino a ácido L(+) láctico, con la liberación de dióxido de carbono<sup>5</sup>. Un gramo de ácido málico tiende a producir 0,67 gramos de ácido láctico y 0,33 gramos de anhídrido carbónico<sup>8</sup>. Se constata también un aumento de los compuestos acetato de etilo, acetales, TDN (o trimetil(1,1,6)dihidronaftaleno), que más allá de cierto nivel, son el origen de defectos importantes en los aguardientes, mientras que diversos acetatos y ciertos ésteres de ácidos grasos, responsables de aromas afrutados o florales, ven cómo su concentración disminuye significativamente<sup>5</sup>.

El trasiego es el proceso de transferir el zumo o el vino de un contenedor a otro, de forma que se vacíe el líquido sobrenadante claro y se deje el sedimento. Puede haber muchos sedimentos en el mosto y en el vino, tales como partículas sólidas de la uva, levaduras y bacterias, cristales de tartrato, sedimento de clarificantes, metales y precipitados proteicos, etc.<sup>9</sup>

La obtención del aguardiente será por destilación directa y discontinua, separando las cabezas y colas para seleccionar únicamente la fracción central del producto llamado cuerpo

o corazón. Los equipos serán fabricados de cobre o estaño; se puede utilizar pailas de acero inoxidable<sup>1</sup>.

Algunas reacciones químicas tienen lugar en el curso de la destilación<sup>10</sup>:

- La hidrólisis de diversos constituyentes del vino.
- Formación de acetato de etilo.
- Formación de furfural, durante todo el calentamiento sobre las pentosas.
- Fijación de ácidos grasos y sulfuros por el cobre.
- Formación de glicerol en las partes descendentes del alambique, a partir de las sustancias grasas por reacción sobre el cobre caliente.

La cantidad de borras aportadas al vino en el alambique puede modificar sensiblemente el perfil aromático de los aguardientes obtenidos<sup>5</sup>. Su uso en la destilación proporciona más ésteres de ácidos grasos (octanoato o caprilato de etilo, decanoato a caprato de etilo, dodecanoato o laurato de etilo y ésteres de C14 a C18), más ácidos grasos y más componentes nitrogenados (aminoácidos)<sup>10</sup>.

Se consideran componentes volátiles y congéneres del pisco, las siguientes sustancias: ésteres, furfural, ácido acético, aldehídos, alcoholes superiores y alcohol metílico<sup>1</sup>. Estos componentes están influenciados por varios factores durante el proceso de producción, entre los cuales podemos distinguir los siguientes<sup>11</sup>:

1. Sustancias de aroma primario: generadas a partir de la variedad de la uva.
2. Sustancias de aroma secundario: generadas durante la vinificación y durante el proceso de fermentación.
3. Aromas de sustancias generadas durante el proceso de destilación.
4. Aromas de sustancias generadas durante el proceso de maduración o envejecimiento.

El objetivo del presente estudio es determinar la influencia de la presencia de borras durante el tiempo de reposo del vino base sobre los contenidos de ácido acético, propanol, acetato de etilo, acetato de iso-amilo y acetaldehído del pisco de uva Italia.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Materia prima

Uva de la variedad Italia (*Vitis vinifera* L. var. Italia), procedente del fundo San Pablo del distrito de Chíncha Baja, provincia de Chíncha, departamento de Ica.

### Análisis fisicoquímicos

Se determinó los componentes volátiles del pisco: metanol, furfural, acetaldehído, ácido acético, ésteres (acetato de etilo, acetato de isoamilo, formiato de etilo) y alcoholes superiores (propanol, isopropanol, butanol, isobutanol y alcohol iso/teramílico). Se utilizó un cromatógrafo de gases marca Hewlett Packard®, modelo GC 6890 con columna capilar

Agilent, tipo P-FFAP y detector FID. Método cromatográfico y condiciones de trabajo según Norma Técnica Peruana NTP 211.03512.

### **Análisis estadístico**

Los resultados se procesaron estadísticamente por análisis de varianza (ANOVA) y por medio de la prueba de comparaciones múltiples de Tukey a un nivel de significancia de 5%, procesados con el programa estadístico Minitab Release 14, para Windows.

### **Metodología experimental**

**Obtención del mosto:** los racimos de uva Italia se procesaron en una prensa neumática para extraer el zumo y eliminar la piel y los racimos.

**Fermentación:** el mosto de uva Italia fue depositado en un tanque de acero inoxidable de 200 L con sistema de agitación y se agregó un pie de cuba con levadura seleccionada (levadura seca activa *Saccharomyces cerevisiae* Maurivin™). La utilización de levadura seca activa comercial es una práctica común entre las bodegas vitivinícolas como “Bodegas & Viñedos Taberero S.A.C.”. Tiene entre sus principales ventajas permitir un comienzo rápido de la fermentación<sup>9</sup> e iniciar la fase exponencial de crecimiento en el menor tiempo posible<sup>13</sup>. El sistema de agitación sólo se utilizó al final de la fermentación con el objetivo de homogenizar la muestra antes de las etapas de filtración y reposo.

**Filtración:** en esta etapa se introdujo el factor “presencia de borras”. Así, concluida la fermentación, una fracción del vino base seco (990 g/L) fue despojada de sus borras mediante un filtro de placas.

**Reposo:** el vino base seco, sin filtrar y filtrado, se sometió en esta etapa, al factor “tiempo de reposo”, siendo depositado en botellones de vidrio de 10 litros de capacidad (previamente desinfectados), sin dejar espacio libre de cabeza y cerrándose herméticamente. Los tiempos de reposo de las muestras de vino base fueron: 0, 7, 20, 60 y 150 días.

**Trasiego:** las muestras de vino base seco sin filtrar, luego de haber concluido el tiempo de reposo respectivo, fueron trasegadas antes de ser destiladas.

**Destilación:** en un intervalo aproximado de 10 minutos desde la extracción de la muestra, se procedió a destilar aproximadamente 2,5 L de vino base en un alambique de cobre de 5 L de capacidad. Se separó al inicio de la destilación la primera fracción de destilado (cabeza) equivalente al 1% del volumen de vino a destilar y se cortó la misma a una graduación alcohólica de 42 °G.L (alc. vol.), aproximadamente. De acuerdo con Domenech<sup>6</sup>, en el Perú el porcentaje de cabeza eliminado (porcentaje al volumen del vino base a destilar) oscila entre 0,0 y 1,0%. En el presente trabajo se ha considerado 1,0% por ser el valor más usado en los estudios de investigación de origen nacional. Con respecto a la graduación alcohólica final del pisco, según Hatta<sup>10</sup>, 42 °G.L. (alc. vol.) es el grado alcohólico promedio de los piscos comerciales en el Perú.

Conservación: los destilados se dejaron reposar durante tres meses en botellas de vidrio según lo recomendado por el Reglamento de la Denominación de Origen PISCO1, antes de someterlos a análisis. Luego de concluida esta etapa, los piscos fueron caracterizados determinando sus compuestos volátiles.

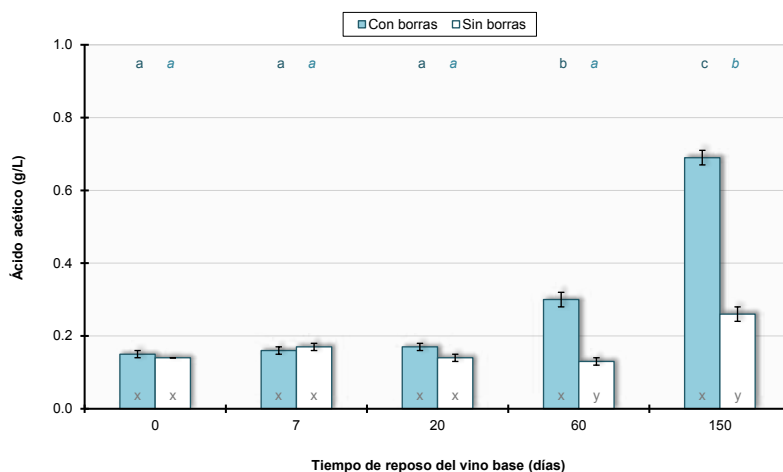
### Diseño experimental

Para evaluar los factores “presencia de borras” en el vino base, con sus niveles: con borras y sin borras; y el factor “tiempo de reposo” del vino base, con sus niveles: 0, 7, 20, 60 y 150 días; se utilizó un Diseño Factorial Completamente al Azar (DCA) con tres repeticiones.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Ácido acético

Tal como se observa en la figura 1, el contenido de ácido acético tuvo mayores concentraciones en los piscos provenientes de vinos base con borras con 60 y 150 días de reposo, y en los provenientes de vinos base sin borras con 150 días de reposo.

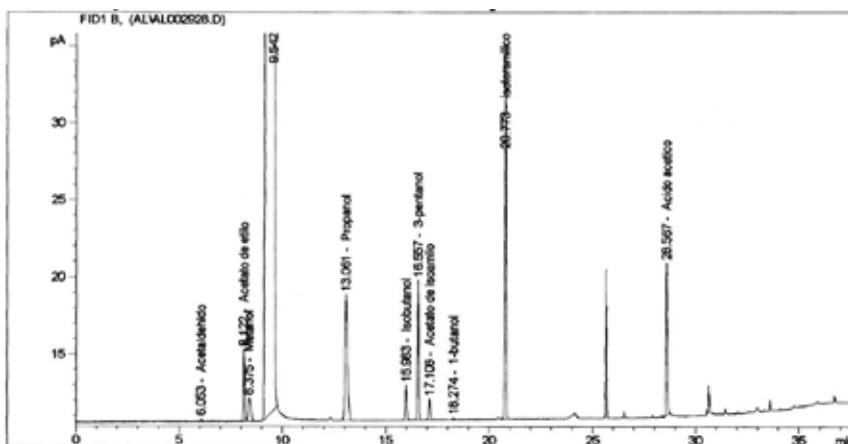


**Figura 1.** Contenido de ácido acético en los piscos provenientes de vinos base (con y sin borras) con diferentes tiempos de reposo.

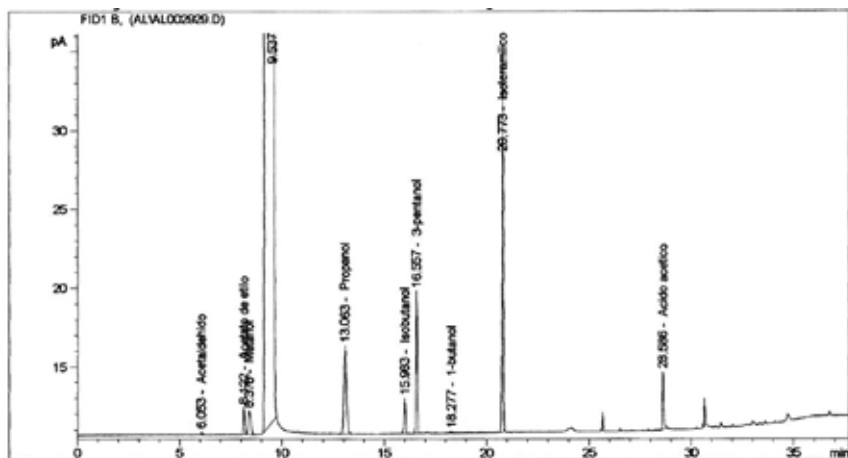
Las figuras 2 y 3 muestran los cromatogramas de dos muestras de piscos provenientes de vinos base con 150 días de reposo. En el primer caso se trata de un vino base con borras mientras que en el segundo de un vino base sin borras. Respecto al ácido acético, se puede observar claramente la diferencia en las alturas de los picos de ambas figuras. En el cromatograma de la figura 2 (con borras), el pico del ácido acético es más alto que en el de la figura 3 (sin borras). Estas mediciones se traducen en los resultados que se muestran en la figura 1, a los 150 días de reposo.

Una vez que el vino se ha alojado en la cuba bien cerrada y provista de buen sello, el vino estará al abrigo de las alteraciones y podrá esperar a ser destilado sin que sea útil realizar otros tratamientos. Por regla general, durante este reposo, los vinos sufren de manera espontánea una fermentación maloláctica bajo la acción de diferentes bacterias lácticas<sup>5</sup>. Fueron precisamente estas condiciones las que se crearon en el presente trabajo; llenando hasta el tope con vino base los recipientes utilizados y cerrándolos inmediatamente.

El ataque del ácido cítrico con formación de ácido acético es el responsable del aumento de la acidez volátil que se observa a lo largo de la degradación del ácido málico<sup>14</sup>. Su degradación comienza al mismo tiempo que la del ácido málico, pero es mucho más lenta, quedando a menudo ácido cítrico al final de la fermentación maloláctica<sup>15</sup>. Esto explicaría el aumento en la concentración de ácido acético en los piscos provenientes de vinos base con borras.



**Figura 2.** Cromatograma de una muestra de pisco proveniente de un vino base con borras con 150 días de reposo.



**Figura 3.** Cromatograma de una muestra de pisco proveniente de un vino base sin borras con 150 días de reposo.

Una fermentación maloláctica normal pura aumenta la acidez volátil entre 0,05 a 0,15 g/L, aproximadamente<sup>3</sup>. En esta investigación, el aumento de la acidez volátil en los vinos base con borras fue de más de 1,00 g/L. En efecto, luego de 150 días de reposo y con una fermentación maloláctica concluida muchas semanas atrás, se habría desencadenado una descontrolada producción de ácido acético a partir del ácido cítrico remanente. Según Hidalgo<sup>4</sup>, la duración de la fermentación maloláctica transcurre generalmente en un plazo de una a dos semanas.

Generalmente, el ácido tartárico no es metabolizado por las bacterias lácticas, aunque en ocasiones y después de haber sido degradados los ácidos málico y cítrico, puede ser atacado por determinados *Lactobacillus*<sup>4</sup>. Esta alteración lleva primero a la transformación del ácido tartárico en ácido láctico y en ácido acético; y segundo a la producción de ácido acético y ácido succínico<sup>14</sup>. Es muy probable que durante los 150 días de reposo, también se haya degradado en su totalidad el ácido cítrico, siendo el ácido tartárico el siguiente sustrato a utilizar por las bacterias lácticas.

Esta alteración es propia de vinos de zonas cálidas, donde su pH es elevado con valores entre 3,6 a 3,9 y con niveles de anhídrido sulfuroso bajos, que permiten un fácil desarrollo de los bacilos frente a los cocos<sup>4</sup>. En efecto, los valores de pH durante el tiempo de reposo de los vinos base con borras tuvieron un promedio de 4,23. Además, debido a que estos vinos base eran destinados a destilarse, no se utilizó anhídrido sulfuroso; presentándose así las condiciones propicias para esta alteración.

De acuerdo a los resultados estadísticos, habría que considerar que los piscos provenientes de vinos base con borras con 60 o más días de reposo, y los provenientes de vinos base sin borras con 150 o más días de reposo, serán siempre significativamente mayores en cuanto al contenido de ácido acético que los provenientes de vinos base con 0 días de reposo (figura 1).

En la figura 1 se observa claramente una mayor concentración de ácido acético en las muestras de pisco provenientes de vinos base con borras en comparación con los provenientes de vinos base sin borras, a los 60 y 150 días de reposo.

Efectivamente, en los vinos base sin borras no se habría desencadenado la fermentación maloláctica. Según Suárez e Iñigo<sup>16</sup>, la posibilidad de degradación del ácido málico disminuye, ya que él descube rápido y el trasiego precoz, alejan las bacterias demasiado pronto, además de empobrecer el medio en vitaminas y sustancias nitrogenadas que proceden de la autólisis de las levaduras. Las clarificaciones tempranas, habituales en vinos para la adquisición del grado de limpidez necesario, al igual que las filtraciones, tienden a retardar o incluso inhibir la fermentación maloláctica<sup>16</sup>.

Por lo tanto, el leve incremento de ácido acético observado en los piscos provenientes de vinos base sin borras, podría haber sido a causa de la hidrólisis de algunos ésteres acéticos. Según Flanzky<sup>5</sup>, la composición de los ésteres durante la conservación del vino sufre un reajuste (hidrólisis/esterificación) muy lento, debido a que tienen lugar unas reacciones puramente químicas entre los reactivos (éster, agua, alcohol, ácido), hasta que se alcanza un estado

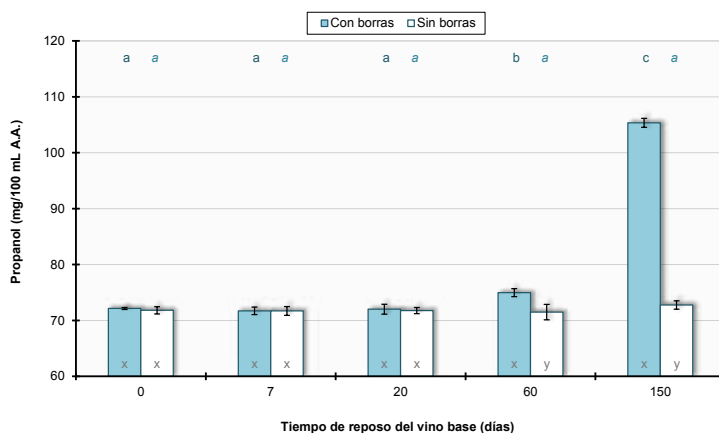
de equilibrio. Sin embargo, no se descarta un desencadenamiento tardío de la fermentación maloláctica.

En los piscos provenientes de vinos base con borras con 150 días de reposo, se obtuvo un contenido promedio de 0,69 g/L de ácido acético, ligeramente por debajo del máximo permitido por el Reglamento de la Denominación de Origen PISCO (200 mg/100 ml A.A.)<sup>1</sup> o un equivalente a 0,76 g/L; pero por encima del umbral de detección olfativa del ácido acético en el pisco, según Cacho *et al.*<sup>17</sup>, que es 0,6 g/L o 150 mg/100 ml A.A.

Aunque es necesario una pequeña cantidad de ácido acético para que los aguardientes adquieran cuerpo, importante para la calidad, un exceso de éste genera un alto contenido de acetato de etilo que desmejora la calidad del producto<sup>7</sup>. Es así que, el ácido acético de piscos provenientes de vinos base que reposaron con sus borras, podrían influir negativamente en la calidad del producto final.

### Propanol

Tal como se observa en la figura 4, el contenido de propanol tuvo mayores concentraciones en los piscos provenientes de vinos base con borras con 60 y 150 días de reposo, mientras que para los provenientes de vinos base sin borras no hubo variación durante todo el tiempo de reposo.



**Figura 4.** Contenido de propanol en los piscos provenientes de vinos base (con y sin borras) con diferentes tiempos de reposo.

Se ha mencionado que el tenor en alcoholes superiores del vino puede aumentar debido a alteraciones microbianas causadas por levaduras o por bacterias<sup>15</sup>. Así, durante la fermentación maloláctica, aumenta el contenido de propanol, el butanol-2 y el hexano<sup>16</sup>. Esto sustenta lo antes discutido sobre la ocurrencia de la fermentación maloláctica en los vinos base con borras durante el tiempo de reposo.



De acuerdo a los resultados estadísticos, habría que considerar que los piscos provenientes de vinos base con borras con 60 o más días de reposo serán siempre significativamente mayores en cuanto al contenido de propanol que los provenientes de vinos base con 0 días de reposo (figura 4).

En la figura 4 se observa claramente una mayor concentración de propanol en las muestras de pisco provenientes de vinos base con borras en comparación con los provenientes de vinos base sin borras, a los 60 y 150 días de reposo.

En efecto, para los piscos provenientes de vinos base sin borras no hubo variación en el contenido de propanol a lo largo de todo el tiempo de reposo. Esto debido a que no se habría realizado la fermentación maloláctica. Según Suárez e Iñigo<sup>16</sup>, las clarificaciones tempranas, habituales en vinos para la adquisición del grado de limpidez necesario, al igual que las filtraciones, tienden a retardar o incluso inhibir la fermentación maloláctica.

De acuerdo con el Reglamento de la Denominación de Origen PISCO<sup>1</sup>, el propanol, entre otros alcoholes superiores, debe estar presente sin precisar exigencias de máximos y mínimos. Sin embargo, los contenidos promedio de propanol de los piscos en esta segunda etapa de la investigación, en especial los provenientes de vinos base con borras con 150 días de reposo (105.34 mg/100 mL A.A.), presentaron valores bastante altos.

El propanol y butanol, a concentraciones normales, son inodoros pero contribuyen a las características del alcohol mismo<sup>7</sup>. Es así, que concentraciones elevadas de propanol como las que se detectaron en el presente estudio, podrían influir significativamente en las características sensoriales finales de los piscos.

### **Acetato de etilo**

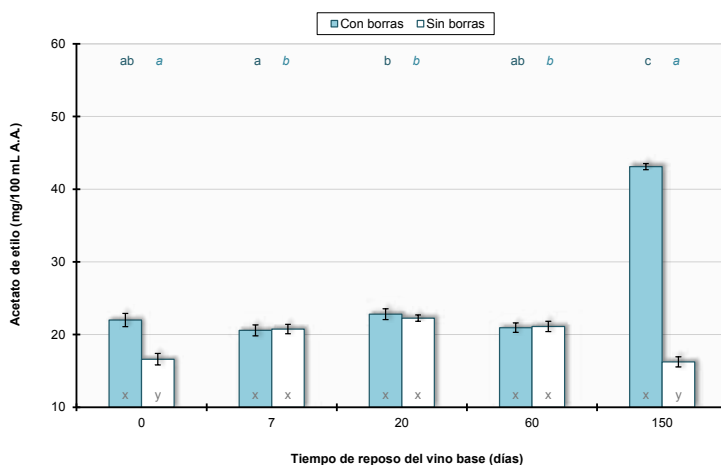
Tal como se observa en la figura 5, el contenido de acetato de etilo tuvo mayores concentraciones en los piscos provenientes de vinos base con borras con 150 días de reposo; mientras que para los provenientes de vinos base sin borras hubo un leve incremento de acetato de etilo cuando los vinos base pasaron de un tiempo de reposo de 0 a 7 días, y una disminución cuando pasaron de un tiempo de reposo de 60 a 150 días.

Se ha mencionado que durante la fermentación maloláctica, se forman ésteres como el acetato de etilo de olor a pegamento o el lactato de etilo de olor lácteo<sup>4</sup>, lo que coincide con los resultados obtenidos para los piscos provenientes de vinos base con borras.

El incremento de acetato de etilo en los piscos provenientes de vinos base con borras, estaría relacionado con el incremento de uno de sus sustratos, el ácido acético. El incremento de éste se hizo considerable a partir del día 60 del tiempo de reposo (figura 1), mientras que para el acetato de etilo, se hizo considerable a partir del día 150 (figura 5). En efecto, una esterificación química requiere primero la existencia de los sustratos.

De acuerdo a los resultados estadísticos, habría que considerar que los piscos provenientes de vinos base con borras con 150 o más días de reposo, serán siempre significativamente mayores en cuanto al contenido de acetato de etilo que los provenientes de vinos base con 0 días de reposo (figura 5).

El incremento de acetato de etilo en los piscos provenientes de vinos base sin borras desde los 0 a 7 días de reposo, y el posterior descenso hacia al final del mismo, habrían sido a causa de los procesos de esterificación e hidrólisis, respectivamente. Según Flanzzy<sup>5</sup>, la composición de los ésteres durante la conservación del vino sufre un reajuste (hidrólisis/esterificación) muy lento, debido a que tienen lugar unas reacciones puramente químicas entre los reactivos (éster, agua, alcohol, ácido), hasta que se alcanza un estado de equilibrio.



**Figura 5.** Contenido de acetato de etilo en los piscos provenientes de vinos base (con y sin borras) con diferentes tiempos de reposo.

La destilación favorece el enriquecimiento en ésteres volátiles tales como el acetato de etilo. Algunos ésteres se forman en los alambiques por las altas temperaturas provocándose una esterificación con los ácidos grasos liberados desde las células de las levaduras<sup>7</sup>. Esto coincide con el hecho de que el contenido de acetato de etilo en los piscos provenientes de vinos base con borras haya sido significativamente mayor en comparación con los provenientes de vinos base sin borras, a los 0 días de reposo (figura 5); lo que indica que este tipo de éster se encuentran en regular cantidad dentro de la célula de levadura al final de la fermentación.

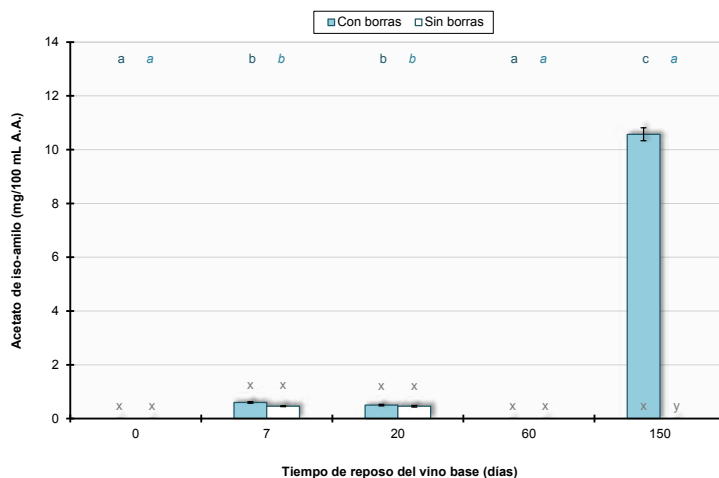
Los contenidos promedio de acetato de etilo de los piscos en esta segunda etapa de la investigación, se encontraron entre el mínimo y el máximo permitido por el Reglamento de la Denominación de Origen PISCO (10,0 a 280,0 mg/100 mL A.A.)<sup>1</sup>.

Aunque el acetato de etilo, cuantitativamente importante en el pisco, es considerado un componente negativo a la calidad por ser el responsable del olor a picado<sup>7</sup>, las concentraciones

encontradas en la mayoría de los piscos están por debajo del nivel de percepción<sup>10</sup>. Sin embargo, de acuerdo con Ribéreau-Gayon *et al.*<sup>15</sup>, el umbral de detección del acetato de etilo es cercano a 16 mg/100 mL A.A., por lo que en este caso, casi todos los valores obtenidos durante esta etapa, sí afectarían negativamente el sabor y el olor del producto final.

### Acetato de iso-amilo

Tal como se observa en la figura 6, el contenido de acetato de iso-amilo tuvo un incremento cuando los vinos base con y sin borras pasaron de un tiempo de reposo de 0 a 7 días, y una disminución cuando pasaron de un tiempo de reposo de 20 a 60 días. El acetato de iso-amilo tuvo mayores concentraciones en los piscos provenientes de vinos base con borras con 150 días de reposo.



**Figura 6.** Contenido de acetato de iso-amilo en los piscos provenientes de vinos base (con y sin borras) con diferentes tiempos de reposo.

Desde el día 20 al día 60 del reposo, se observa la desaparición total de las pequeñas cantidades de acetato de iso-amilo en los piscos provenientes de vinos base con y sin borras producidas anteriormente (figura 6), debido a la incidencia de la fermentación maloláctica. Según Rankine<sup>9</sup>, durante esta fermentación puede tener lugar una reducción considerable de ciertos ésteres con olor a fruta, como el acetato de isoamilo, que desaparece en un 80% a lo largo de esta transformación.

Sin embargo, al final del tiempo de reposo, la concentración de acetato de iso-amilo se incrementa de manera sustancial. Este incremento de acetato de iso-amilo en los piscos provenientes de vinos base con borras, estaría relacionado con el incremento de uno de sus sustratos, el ácido acético. El incremento de éste se hizo considerable a partir del día 60 del tiempo de reposo (figura 1), mientras que para el acetato de etilo se hizo considerable a partir

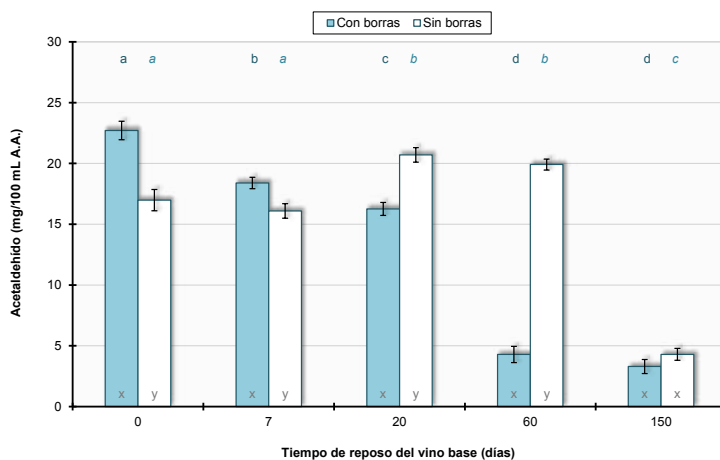
del día 150 (figura 6). En efecto, una esterificación química requiere primero la existencia de los sustratos.

De acuerdo a los resultados estadísticos, habría que considerar que los piscos provenientes de vinos base con borras con 150 o más días de reposo, serán siempre significativamente mayores en cuanto al contenido de acetato de iso-amilo que los provenientes de vinos base con 0 días de reposo (figura 6).

De acuerdo con el Reglamento de la Denominación de Origen PISCO<sup>1</sup>, se menciona que es posible que el acetato de iso-amilo no esté presente, lo cual coincide con los resultados obtenidos con respecto a los piscos provenientes de vinos base con 0 días de reposo. Se menciona también que de estar presente el acetato de iso-amilo, la suma con el acetato de etilo no debe sobrepasar de 330 mg/100 mL A.A.<sup>1</sup>, lo cual también coincide con los resultados obtenidos.

### Acetaldehído

Tal como se observa en la figura 7, el contenido de acetaldehído tuvo menores concentraciones en los piscos provenientes de vinos base con borras con mayores tiempos de reposo; mientras que para los provenientes de vinos base sin borras hubo un incremento de acetaldehído cuando los vinos base pasaron de un tiempo de reposo de 7 a 20 días, y una disminución importante cuando pasaron de un tiempo de reposo de 60 a 150 días.



**Figura 6.** Contenido de acetaldehído en los piscos provenientes de vinos base (con y sin borras) con diferentes tiempos de reposo.

Se ha demostrado que la fermentación maloláctica llevada a cabo con *Oenococcus oeni* es un mecanismo regulador del contenido de los vinos en acetaldehído: cantidades importantes de este compuesto desaparecen en el transcurso de la degradación maloláctica<sup>5</sup>. En efecto, los piscos provenientes de vinos base con borras (lo que aseguró la presencia de bacterias lácticas), presentaron una disminución importante y sostenida de acetaldehído durante los primeros 60 días del reposo.

El contenido de acetaldehído en los piscos provenientes de vinos base con borras fue significativamente mayor en comparación con los provenientes de vinos base sin borras, a los 0 días de reposo (figura 7); lo que indica que este tipo de aldehído se encuentran en regular cantidad dentro de la célula de levadura al final de la fermentación.

Generalmente, hay una formación de acetaldehído bastante rápida en las primeras semanas, seguida de un período en que la concentración permanece estacionaria o se reduce, y de otro en que se vuelve a elevar o continúa cayendo. Todo depende de las condiciones de acceso al aire<sup>18</sup>. Una oxidación posterior del acetaldehído, con formación de pequeñas cantidades de ácido acético, y la interacción con el etanol para producir acetal, serían las causas de su detrimento<sup>19</sup>. Estas afirmaciones coinciden con el comportamiento mostrado por los piscos provenientes de vinos base sin borras.

De acuerdo a los resultados estadísticos, habría que considerar que los piscos provenientes de vinos base con borras hasta con 60 días de reposo, serán siempre significativamente menores en cuanto al contenido de acetaldehído que los provenientes de vinos base con 0 días de reposo (figura 7).

## CONCLUSIONES

Los piscos provenientes de vinos base con mayores tiempos de reposo presentan mayores contenidos de ácido acético (con borras: desde 0,15 g/L con 0 días de reposo hasta 0,30 g/L con 60 días de reposo y 0,69 g/L con 150 días de reposo; sin borras: desde 0,14 g/L con 0 días de reposo hasta 0,26 g/L con 150 días de reposo), propanol (con borras: desde 72,15 mg/100 mL A.A. con 0 días de reposo hasta 105,34 mg/100 mL A.A. con 150 días de reposo), acetato de etilo (con borras: desde 22,00 mg/100 mL A.A. con 0 días de reposo hasta 43,10 mg/100 mL A.A. con 150 días de reposo) y acetato de iso-amilo (con borras: desde 0,00 mg/100 mL A.A. con 0 días de reposo hasta 10,57 mg/100 mL A.A. con 150 días de reposo); y menores contenidos de acetaldehído (con borras: desde 22,71 mg/100 mL A.A. con 0 días de reposo hasta 4,29 mg/100 mL A.A. con 60 días de reposo y 3,30 mg/100 mL A.A. con 150 días de reposo; sin borras: desde 16,98 mg/100 mL A.A. con 0 días de reposo hasta 4,30 mg/100 mL A.A. con 150 días de reposo). Los piscos destilados de vinos base con borras presentan mayores cantidades de acetato de etilo (22,00 vs. 16,61 mg/100 mL A.A.) y acetaldehído (22,71 vs. 16,98 mg/100 mL A.A.), que sus destilados de vinos base sin borras, con 0 días de reposo.

## AGRADECIMIENTO

A “Bodegas & Viñedos Taberero S.A.C.” por las instalaciones, materia prima, insumos, equipos y materiales. A “La Molina Calidad Total Laboratorios” por los análisis de cromatografía de gases.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Asociación Nacional de Productores de Pisco. Reglamento de la Denominación de Origen Pisco. Lima: INDECOPI; 2011.
2. Girard G. Bases científicas y tecnológicas de la enología. 1era. edición. Zaragoza: Editorial Acribia S.A.; 2004.
3. Blouin J, Peynaud É. Enología práctica: conocimiento y elaboración del vino. 4ta. edición. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa; 2004.
4. Hidalgo J. Tratado de enología; tomos I y II. 2da. edición. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa; 2011.
5. Flanzy C. Enología: fundamentos científicos y tecnológicos. 1era. edición. Madrid: Vicente Ediciones y Ediciones Mundi-Prensa; 2000.
6. Domenech A. Influencia de la maceración con orujos y corte de cabeza en el contenido de terpenos en piscos de la variedad Italia (*Vitis vinifera* L. var. Italia). [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina; 2006.
7. Hatta B. Influencia de la fermentación con orujos en los componentes volátiles del pisco de uva Italia (*Vitis vinifera* L. var. Italia). [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina; 2004.
8. Larrea A. Enología básica: fundamentos de vinificación. 1era. edición. Barcelona: Editorial Aedos-Barcelona; 1983.
9. Rankine B. Manual práctico de enología. 3era. edición. Zaragoza: Editorial Acribia S.A.; 2000.
10. Léauté R. Distillation in alambic. Am J Enol Viticult. 1990; 41: 90-103.
11. Miličević B, Banović M, Kovačević K, Gracin, L. Impact of grape varieties on wine distillates flavour. Food Technol. Biotech. 2002; 40: 227-232.
12. INDECOPI. Norma Técnica Peruana: Bebidas alcohólicas. Método de ensayo. Determinación de metanol y de congéneres en bebidas alcohólicas y alcohol etílico empleado en su elaboración, mediante cromatografía de gases. NTP 211.035: 2008. Lima: INDECOPI; 2008.
13. Asencios E. Influencia de la fermentación con levaduras nativas y comerciales en las características del pisco de Uvina o Jacquez (*Vitis aestivalis-cinerea* x *Vitis vinifera*) del valle de Lunahuaná. [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina; 2007.
14. Usseglio-Tomasset L. Química enológica. 4ta. edición. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa; 1998.
15. Ribéreau-Gayon P, Glories Y, Maujean A, Dubourdieu D. Tratado de enología: química del vino. 1era edición. Buenos Aires: Editorial Hemisferio Sur S.A.; 2003.

16. Suárez JA, Íñigo B. Microbiología enológica: fundamentos de vinificación. 1era. edición. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa; 1990.
17. Cacho JF, Moncayo L, Palma JC, Ferreira V, Culleré L. Characterization of the aromatic profile of the Italia variety of peruvian Pisco by gas chromatography-olfactometry and gas chromatography coupled with flame ionization and mass spectrometry detection systems. *Food Res Int.* 2012; 49: 117-125.
18. Suárez JA. Levaduras vínicas: funcionalidad y uso en bodegas. 1era. edición. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa; 1997.
19. Christopoulou-Gerogiannaki M, Gerogiannaki L, Anagnostaras E, Stavrakas DE, Pilissiou M. Identification of volatile compounds in Hellenic alcoholic beverages from native white grape varieties (*Vitis vinifera* L.). *J Food Technol.* 2007; 5: 233-241.

## CARACTERIZACIÓN PARCIAL DE DOS PROTEASAS DEL VENENO DE LA ARAÑA CASERA DEL PERÚ *Loxosceles laeta*

Frank Huari\*; Fanny Lazo; Dan Vivas; Edith Rodríguez; Armando Yarlequé.

### RESUMEN

A partir del veneno glandular de la araña casera *Loxosceles laeta*, se han aislado dos proteasas, una inespecífica con actividad sobre caseína y dimetilcaseína mientras que la otra es una proteasa con actividad procoagulante sobre plasma humano citratado. Para ello, se utilizó una columna de filtración molecular sobre Sephadex G-100, equilibrada con buffer acetato de amonio 0,05M pH 5,0, determinándose el contenido proteico por absorbancia a 280 nm y las respectivas actividades en cada fracción. También se midieron las actividades enzimáticas de: hialuronidasa, fosfolipasa A<sub>2</sub>, amidolítica, y la actividad hemorrágica. El análisis electroforético por PAGE-SDS determinó que la enzima proteolítica tiene un peso molecular de 35 kDa en tanto que la fracción procoagulante registró un peso molecular de 15,9 kDa. La actividad proteolítica fue inhibida por EDTA 5 mM en un 60,5% mientras que la fracción procoagulante fue inhibida por PMSF 5mM en un 93,3%. Por tanto, tales enzimas corresponden a una metaloproteasa y a una serinoproteasa, respectivamente. Por ensayos de inmunodifusión doble, ambas proteínas mostraron reactividad inmunogénica frente al antiveneno loxoscélico comercial.

**Palabras clave:** Veneno, araña, proteasa, procoagulante, antiveneno.

## ISOLATION AND PARTIAL CHARACTERIZATION OF TWO PROTEASES FROM THE VENOM OF PERUVIAN *Loxosceles laeta* SPIDER

### ABSTRACT

Two proteases from the glandular venom of *Loxosceles laeta* spider were isolated using a column of Sephadex G-100 gel molecular filtration equilibrated with 0,05M ammonium acetate buffer pH 5,0. One of them is a metalloprotease inhibited by 5 mM EDTA (60,5%) and the other is a serinoprotease inhibited by 5 mM PMSF (93,3%). The metalloproteinase had activity on casein and dimethylcasein while the serinoprotease had activity on citrated human plasma. They showed different molecular weights by PAGE-SDS: 35 kDa and

---

\* Laboratorio de Biología Molecular-Facultad de Ciencias Biológicas, UNMSM. Av. Venezuela Cdra. 34 s/n. Lima 1. Perú. Teléfono: 6197000 Anexo 1528/1558. Email: ayarleque48@gmail.com



15,9 kDa. In addition both were antigenic against commercial loxoscelic antivenom by immunodiffusion assays.

**Key words:** Venom, spider, proteases, procoagulant, antivenom.

## INTRODUCCIÓN

Las arañas del orden Araneae comprenden el grupo más diverso de la clase Arácnida con más de 39 000 especies en el mundo. Dentro de ellas, los géneros *Phoneutria*, *Atrax*, *Latrodectus* y *Loxosceles*, los dos últimos cosmopolitas, representan un considerable problema de salud pública debido a los casos de envenenamiento por mordedura que infringen a los seres humanos, conocido en el campo clínico como Aracneísmo<sup>1</sup>. Sus venenos desencadenan un cuadro de alteraciones fisiológicas severas, ocasionado por la acción de distintos componentes, algunos de ellos, enzimas<sup>2,3</sup>.

En el Perú, los estudios acerca de la composición química del veneno de *Loxosceles laeta*, son escasos y se han centrado en el análisis del veneno total a partir de las glándulas venenosas o el obtenido por estimulación eléctrica<sup>2,4</sup>. Sin embargo, a juzgar por los efectos biológicos que el veneno genera, es necesario diferenciar los principales componentes que contiene.

La enzima más estudiada en el veneno del género *Loxosceles* es la esfingomielinasa D, a la cual se le atribuye el efecto dermonecrótico, así como daño renal<sup>5</sup>. Sin embargo, la presencia y acción de enzimas proteolíticas no había sido abordada hasta la fecha.

En la presente investigación se han podido aislar dos componentes bioactivos con actividad proteolítica, los cuales pueden ser diferenciados por sus características bioquímicas, pero ambos son inmunogénicos frente al antiveneno loxoscélico. Se trata de una metaloproteasa y de una serinoproteasa.

## PARTE EXPERIMENTAL

### 1. Veneno

Se obtuvo a partir del extracto glandular de la araña *L. laeta*. Las glándulas fueron extraídas de 250 ejemplares adultos hembras procedentes de Lurín y Pachacámac, Lima, resuspendidas en buffer acetato de amonio 0,05M pH 5,0 y luego de la centrifugación a 4000 rpm el sobrenadante fue conservado a -20°C hasta su uso.

### 2. Determinación de la cantidad de proteína

Fue realizada según el método de Lowry et al., (1951) modificado por Loayza et al., 1985<sup>6</sup>. Para ello, se utilizó el reactivo de Folin Ciocalteus 1:6 y solución alcalina, midiendo la absorbancia a 660 nm. Se usó albúmina sérica bovina como estándar.

### 3. Actividades enzimáticas:

#### 3.1 Actividad proteolítica

**3.1.1** Se empleó el método de Takahashi y Ohsaka (1970), modificado por Rodríguez y Yarlequé (1991)<sup>10</sup>. La mezcla de reacción contenía 1 mL de caseína al 1% en buffer Tris-HCl 0,2 M pH 8,5; 0,5 mL de agua destilada y 50 µL del veneno total o fracción, incubándose a 37°C por 15 min. Se midió la actividad a 280 nm, luego de agregar ácido tricloro acético (TCA) 0,44 M en frío y obtener los centrifugados correspondientes. La actividad enzimática se determinó por la absorbancia a 280 nm de los productos ácido solubles y la actividad específica se expresó en unidades de actividad por mg de proteína.

**3.1.2** Asimismo, se usó el método reportado por Lin et al., 1969, modificado por Sánchez et al., 2000<sup>(11)</sup>; para lo cual se empleó 250 µL de dimetilcaseína 0,2% y 250 µL de buffer fosfato 0,1M pH 8,0, luego se agregó el veneno o fracción (20-50 µL) incubándose por 5 min a 37 °C. La reacción fue detenida por calentamiento a 100°C y posteriormente se adicionaron 250 µL del reactivo TNBS 0,5% y 250 µL de NaHCO<sub>3</sub> 4% pH 8,0. Luego de 30 minutos a 50°C en oscuridad, se agregaron 250 µL de SDS 10% y 125 µL de HCl 1,0 N. Se midió la actividad a 340 nm; este valor corresponde a las unidades de actividad enzimática, en tanto que la actividad específica se expresó en unidades por mg de proteína.

#### 3.2 Actividad procoagulante

Se usó el método de medir el tiempo de recalcificación del plasma humano citratado, Yarlequé et al., (1986)<sup>9</sup>, al adicionarse CaCl<sub>2</sub> 0,025 M. La mezcla de reacción contenía 0,2 mL de plasma humano citratado, 50 µL de veneno total o fracción, incubándose por 5 min a 37°C. El tiempo de recalcificación se midió en segundos, adicionando 0,1 mL de CaCl<sub>2</sub> 0,025 M. La actividad enzimática fue determinada calculando las inversas de los tiempos de recalcificación del plasma humano citratado, considerando como 100% el tiempo normal de recalcificación y la actividad específica fue expresada en mg de proteína.

#### 3.3 Hialuronidasa

Se evaluó por el método turbidimétrico de Di-Ferrante (1955), modificado por Hurtado et al., 2007<sup>8</sup>. La mezcla de reacción contenía 0,3 mL de buffer acetato de amonio 0,05M NaCl 0,15 M, pH 5,0. Usando 0,1 mL de ácido hialurónico comercial 0,5 mg/mL diluido en el mismo buffer, se agregó 0,1 mL de veneno total o fracción de *L. laeta* y se incubó a 37°C por 15 minutos. La reacción fue detenida con 2 mL de Bromuro Cetil Trimetil Amonio (BCTA) 2,5% en NaOH 2%, midiéndose la absorbancia a 400 nm.

La actividad enzimática se expresó en unidades Di-Ferrante, que corresponde a la reducción del 50% de turbidez inicial del ácido hialurónico. La actividad específica fue expresada en Unidades Di Ferrante por mg de proteína.

### 3.4 Actividad amidolítica

Fue determinada por el método de Erlanger *et al.*, (1961)<sup>7</sup> empleando el sustrato cromogénico Benzoil-Arginil-p-Nitroanilida (BAPNA). La mezcla de reacción contenía 1,5 mL de BAPNA  $9 \times 10^{-4}$  M; 0,5 mL de buffer Tris-HCl 0,05 M pH 8,1 y 50  $\mu$ L del veneno total o fracción. Luego de incubar por 15 minutos a 37°C se adicionó 1 mL de ácido acético al 60% para medir la reacción a 405 nm. La actividad específica fue expresada en U/mg, donde una unidad de actividad corresponde a los  $\mu$ g de *p*-nitroanilina liberados por minuto de reacción.

### 3.5 Fosfolipasa A<sub>2</sub>

Se exploró esta actividad usando el método espectrofotométrico de Oliveira y Palma, modificado por Lazo *et al.*, 1998<sup>12</sup>. Usando fosfatidil colina 15  $\mu$ moles a pH 7,9 y midiéndose los cambios de absorbancia a 558 nm en presencia de rojo de fenol (80 nmoles).

### 3.6. Actividad hemorrágica

Se determinó midiendo el área hemorrágica producida por el veneno o fracción en piel de ratones albinos cepa Balb C usando el método de Kondo *et al.* (1960), modificado por Lomonte *et al.*, 1982<sup>13</sup>. La dosis hemorrágica mínima (DHM) es la cantidad de veneno capaz de inducir un área hemorrágica de 10 mm de diámetro.

## 4. Fraccionamiento del veneno

9,2 mg del extracto glandular fueron aplicados a una columna de Sephadex G-100 (32,5 x 0,58 cm) equilibrada con buffer acetato de amonio 0,05 M pH 5,0. Se colectaron fracciones de 1 mL y la cantidad de proteína fue medida en cada fracción a 280 nm. Se ensayaron las actividades enzimáticas y la acción hemorrágica en cada fracción.

## 5. Electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil-sulfato de sodio (PAGE-SDS)

Se realizó según el método de Laemmli (1970)<sup>14</sup>, tanto en condiciones reductoras y no reductoras, usando concentraciones de 10 y 12% de acrilamida en una cámara vertical Sigma, aplicando corriente eléctrica de 100 voltios. Los geles fueron teñidos con azul brillante de Coomassie al 0,1%. Se usó como proteínas patrones: albúmina sérica bovina (66 kDa), ovoalbúmina (45 kDa) y lisozima (14,3 kDa).

## 6. Inhibidores proteolíticos

Se ensayó el efecto del agente Etilendiamino tetra acético (EDTA) en el rango de 1,25 a 10 mM y el Fenil metil sulfonil fluoruro (PMSF) en el rango de 1,25 a 6 mM. Para ello, se hicieron pre incubados de 5 minutos con las proteasas respectivas y luego se midieron las actividades enzimáticas.

## 7. Antigenicidad de las enzimas en estudio

La reactividad de las proteasas aisladas fue evaluada frente al antiveneno loxoscélico comercial (INS-Lima), mediante inmunodifusión doble (Ouchterlony & Nilsson, 1967)<sup>15</sup> en geles de agarosa al 1%, incubados en cámara húmeda por 72 horas a 4°C y teñidos con azul brillante de Coomassie.

## RESULTADOS

**Contenido de proteína en el veneno glandular.-** En la tabla 1 se muestran los resultados obtenidos al cuantificar las muestras de veneno de cinco lotes de arañas. Se observa que la variación en el contenido proteico por araña está en un rango de 70 a 166  $\mu\text{g}$  de veneno.

**Tabla 1.** Contenido proteico de las extracciones glandulares de *Loxosceles laeta*

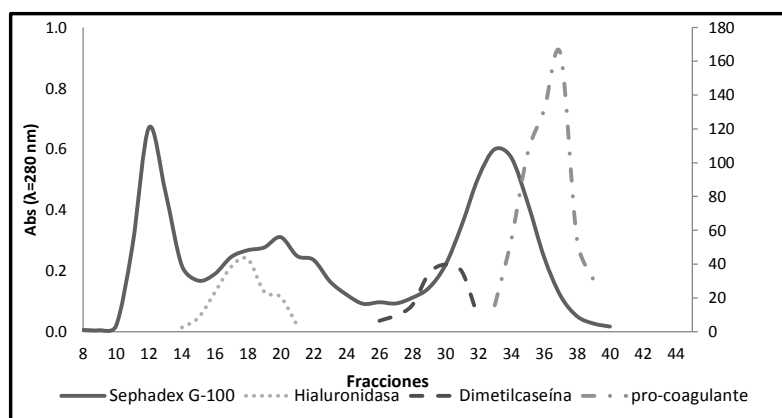
Lote	Número de arañas	Cantidad de proteína		Relación ( $\mu\text{g}$ veneno/araña)
		$\mu\text{g}/\mu\text{L}$	Proteína total (mg)	
1	20	2,1	2,09	104,5
2	20	2,4	2,4	120
3	60	3,98	9,96	166
4	80	7,0	6,97	87,1
5	116	6,76	8,12	70

**Actividades enzimáticas.-** En la tabla 2 se muestran las actividades específicas de las proteínas en estudio presentes en el veneno total de *L. laeta*. No se detectaron las actividades de fosfolipasa  $A_2$ , amidolítica ni acción hemorrágica.

**Tabla 2.** Actividades enzimáticas presentes en el veneno glandular de *Loxosceles laeta*

Enzima	Substrato	Actividad Enzimática	Actividad Específica
Hialuronidasa	Ácido hialurónico	0,034	17,7
Proteasa	Caseína	0,061	7,2
Proteasa	Dimetilcaseína	0,341	0,57
Pro.coagulante	Plasma humano citratado	0,012	0,625

**Separación cromatográfica sobre Sephadex G-100.-** El fraccionamiento del veneno de *L. laeta* (9,2 mg) en este sistema, determinó la aparición de 3 picos proteicos. La actividad hialuronidasa fue detectada en la subida del segundo pico mientras que las actividades proteolítica y procoagulante se registraron en la subida y caída del tercer pico, respectivamente (figura 1, tabla 3). Tanto la fracción proteolítica como el veneno total no mostraron actividad hemorrágica.



**Figura 2.** Perfil cromatográfico del veneno de *Loxosceles laeta* sobre Sephadex G-100 y ubicación de las actividades enzimáticas.

**Peso Molecular.-** Mediante PAGE-SDS, se determinó el patrón de bandas proteicas correspondientes tanto al veneno crudo, como a las enzimas en estudio; el veneno crudo presentó un total de 24 bandas proteicas en un rango de pesos moleculares de 15,9 a 97 kDa. La enzima con actividad proteolítica sobre dimetilcaseína se detectó como una única banda en condiciones reductoras y no reductoras, con un peso molecular de 35 kDa. En cuanto a la proteína procoagulante, su peso molecular fue de 15,9 kDa, siendo la proteína más pequeña detectada en este veneno.

**Tabla 3.** Actividades enzimáticas detectadas en el veneno fraccionado en columna de Sephadex G-100

Enzima	Proteína total	Actividad específica	Unidades totales de actividad	Rendimiento (%)	Purificación
Hialuronidasa	0,522	116	60,55	37,2	6,6
Proteasa	0,189	145	27,4	41,4	20,1
Proteasa	0,589	7,6	4,48	85,5	13,3
Procoagulante	1,077	133,7	144	87	7,4

**Inhibidores proteolíticos.-** Al evaluar los efectos de agentes químicos sobre la actividad proteolítica y procoagulante, se encontró que el EDTA redujo considerablemente la actividad proteolítica sobre dimetilcaseína, hasta un 39,6% (tabla 4) no teniendo efecto inhibitorio significativo el PMSF; contrariamente, este último agente inhibió hasta un 93,3% la actividad procoagulante (tabla 4), mientras que el EDTA no tuvo efecto alguno.

**Inmunogenicidad.-** En las pruebas de inmunodifusión doble, tanto el veneno crudo como la enzima proteolítica, fueron reconocidos por el antiveneno loxoscélico comercial, al formarse bandas de precipitina y para el caso de la enzima procoagulante ocurre también la aparición de bandas de precipitina, pero de menor intensidad.

**Tabla 4.** Inhibición de las actividades proteolítica y procoagulante aisladas del veneno glandular de *Loxosceles laeta*.

Agente	Concentración (mM)	Actividad enzimática (%)	
		Proteolítica	Procoagulante
EDTA	-----	100	100
	1,25	60,6	98
	2,5	50	97
	5	39,5	99
	10	28,5	96
PMSF	-----	100	100
	1,25	95,3	69,3
	2,5	100	6,7
	5	97	6,7
	10	96	5,4

## DISCUSIÓN

El limitante principal en el estudio del veneno de *L. laeta*, y en general del veneno de cualquier araña, es la cantidad de muestra que se obtiene de cada espécimen<sup>2-5</sup>, es decir algunos  $\mu\text{L}$ . Esta es una gran diferencia con el veneno ofídico, en el cual se pueden obtener hasta 4 mL por ejemplar adulto. Este hecho obliga a la captura de un número considerable de arañas, para poder obtener una cantidad adecuada de veneno, especialmente de ejemplares hembras adultas que proporcionan una cantidad mayor de proteínas<sup>2</sup>. Es obvio que para obtener los extractos glandulares, sea para investigación o para producción del antiveneno loxoscélico, se deben sacrificar arañas, lo que a su vez puede generar en el tiempo una notable reducción de ellas en los lugares que habitan, ocasionando, por tanto, un incremento de insectos, ya que ellos son su alimento.

Como puede observarse en la tabla 1, las variaciones en el contenido proteico se deben a que los ejemplares usados tienen diferente grado de producción de la ponzoña, en función del ambiente, edad y del alimento.

Por otro lado, el fraccionamiento cromatográfico permitió identificar plenamente dos enzimas proteolíticas diferentes en este veneno, una metaloproteasa y una serinoproteasa. Estos grupos de enzimas están involucrados en la generación de los principales desórdenes locales y sistémicos producidos por envenenamiento de origen animal. Está demostrado

que las metaloproteasas afectan tanto las proteínas tisulares como las plasmáticas, causando daños diversos, en tanto que las serinoproteasas actúan más directamente sobre las proteínas sanguíneas, como el fibrinógeno y los factores procoagulantes<sup>9</sup>.

Nuestros resultados evidencian que el veneno en estudio acelera el tiempo de coagulación del plasma humano (actividad procoagulante) y degrada sustratos como caseína y dimetilcaseína (actividad proteolítica); siendo este último el sustrato idóneo, debido a la menor cantidad de veneno requerido y de una mayor sensibilidad<sup>16</sup> cercana a 10 veces con respecto a la caseína (tablas 2 y 3).

Los ensayos con los inhibidores proteolíticos demostraron que esta actividad disminuyó considerablemente con EDTA, agente quelante de iones divalentes, por lo que puede concluirse que dicho componente enzimático es una metaloproteasa.

Para el caso del género *Loxosceles*, y a diferencia de los venenos de origen ofídico, el ión  $Zn^{2+}$  podría estar presente en la estructura tridimensional de la proteasa, es así que varios reportes han clasificado a estas enzimas en el grupo similar a Astacina, que son proteasas multifuncionales que tienen un dominio ligando a dicho ión, estas metaloproteasas son encontradas en varios organismos, desde bacterias a mamíferos, interviniendo en procesos fisiológicos como digestión, degradación de proteínas extracelulares, morfogénesis, eclosión de embriones, fertilización, entre otras<sup>2</sup>.

En cuanto a la actividad procoagulante, esta se vio severamente afectada por el PMSF inhibidor específico de las proteasas que contienen serina en su sitio activo, este se une irreversiblemente al aminoácido serina de la cadena polipeptídica, por ello se ha determinado en este veneno la presencia de, al menos, una serinoproteasa. Esta enzima, también encontrada en otros arácnidos, tiene características similares a la que describen Devaraja *et al.*, 2008<sup>17</sup>, quienes aislaron una proteasa de 16,3 kDa de peso molecular, de naturaleza serinoproteica en la araña de embudo *Hippasa agelenoides*.

Asimismo, la ausencia de las actividades amidolítica y coagulante indican que *L. laeta* no tiene acción directa sobre el fibrinógeno, pero no se descarta una actividad fibrinogenolítica<sup>17</sup>, la cual es causada principalmente por serinoproteasas. Adicionalmente, la ausencia de la actividad fosfolipasa del tipo A<sub>2</sub> no descarta la presencia de esta enzima, debido a que pueden ser enzimáticamente inactivas pero biológicamente activas, como en el caso de las esfingomielinasas tipo D<sup>5</sup>.

Por otro lado, el análisis cromatográfico permitió dilucidar que las actividades reportadas son realizadas por enzimas propias, al detectarse en fracciones marcadamente separadas y que estas se presentan en proporciones únicas con respecto al contenido proteico del veneno, no obstante, juntas estas fracciones, representan poco más del 30% del contenido proteico total; si bien es cierto que el concepto de que el agente principal en los venenos de arañas son las enzimas del grupo de las esfingomielinasas D<sup>5</sup>, este estudio permite inferir que las proteasas también tendrían un papel importante en el proceso de envenenamiento.

Los análisis electroforéticos del veneno total mostraron un rango de peso molecular entre 15,9 a 97 kDa. Para el caso de la enzima proteolítica se registró un peso molecular de 35 kDa y para la enzima procoagulante de 15,9 kDa. Veiga *et al.*, 2000<sup>18</sup> reportaron que, adicionalmente a la zona rica en proteínas de 5 a 40 kDa, había otra de 60 a 85 kDa presentes en el veneno de este género, donde varios de los componentes mayores a 50 kDa corresponderían a proteínas de naturaleza glandular.

Las enzimas estudiadas presentan estructura monocatenaria, ya que su migración electroforética no fue alterada por el agente reductor  $\beta$ -mercaptoetanol; así también, se deduce que son moléculas inmunogénicas, al originar líneas de precipitación con el antiveneno loxoscélico producido por el Instituto Nacional de Salud - Lima.

El presente estudio constituye el primer esfuerzo para detectar y caracterizar bioquímicamente la presencia de componentes diferentes a la esfingomielinasa D.

## CONCLUSIONES

El veneno de la araña *Loxosceles laeta* contiene, por lo menos, dos proteasas, una del tipo metaloproteasa y la otra, serinoproteasa. La metaloproteasa tiene un peso de 35 kDa, en tanto que la serinoproteasa de 15,9 kDa. Ambas son cromatográficamente separables, unicatenarias y antigenicamente reactivas frente al antiveneno loxoscélico comercial.

## AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al Vicerrectorado de Investigación de la UNMSM por el apoyo financiero otorgado a esta investigación. Uno de los autores (F. Huari) obtuvo su Título Profesional de Biólogo con mención en Zoología con parte de este estudio.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Coddington JA. Phylogeny and classification of spiders. In: Ubick D, Paquin P, Cushing PE. and V. Roth, Editores. Spider of North America: an identification manual. Mitchell: American Arachnological Society; 2005 .p. 18-24.
2. Zavaleta A. Loxoscelismo, un problema de salud en el Perú. Bol Sanit Panam. 1987; 103(4):378-86.
3. Vetter RS. Spiders of the genus *Loxosceles* (Araneae, Sicariidae): a review of biological, medical and psychological aspects regarding envenomations. J Arachnology. 2008; 36:150-163.
4. Arbaiza E, Venegas J, Yarlequé A, Zavaleta A. Aportes al estudio de las acciones proteolíticas, procoagulantes y caracterización electroforética de las proteínas de dos extractos tóxicos del veneno de *Loxosceles laeta*. Bol Chil Parasitol; 1989; 44: 8-16
5. De Santi Ferrara G, Fernandes-Pedrosa F, Junqueira-de-Azevedo I, Gonçalves-de-



- Andrade R, Portaro F, Manzonide-Almeida D. SMase II; a new sphingomyelinase D from *Loxosceles laeta* venom gland: Molecular cloning, expression, function and structural analysis. *Toxicon*. 2009; 53: 743-753.
6. Loayza S, Morante Y, Campos S, Yarlequé A. Enzimas proteolíticas en el veneno de las serpientes peruanas *Lachesis muta* y *Bothrops atrox*. *Bol Soc Quim Perú*. 1985; 52(3): 151-163
  7. Erlanger B, Kokowsky N, Ochemm W. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of Tripsin. *Arch Biochem Biophys*. 1961; 95: 271-78.
  8. Hurtado L, Lerma I, Rodríguez E, Yarlequé A. Evaluación, aislamiento y algunas propiedades bioquímicas de una hialuronato glucanohidrolasa del veneno de la serpiente peruana *Lachesis muta* "Shushupe". *Rev Soc Quim Perú*. 2007; 73(4): 226-234
  9. Yarlequé A, Heredia V, Arbaiza E, Zavaleta A. Estudios electroforéticos y acción procoagulante del veneno de *Loxosceles laeta*. *Diagnóstico*. 1986; 17(2):39-45.
  10. Rodríguez E, Yarlequé A. Aislamiento y algunas propiedades de la Proteínasa I del veneno de la serpiente peruana *Lachesis muta*. *Acta Cien Venez*. 1991; 42 (4): 219-25.
  11. Sánchez E, Santos C, Magalhaes A, Diniz C, Figueiredo S, Gilroy J. Isolation of proteinase with plasminogen-activating activity from *Lachesis muta muta* (Bushmaster) snake venom. *Arch Biochem Biophys*. 2000; 378 (1): 131- 141.
  12. Lazo F, Rodríguez e, Yarlequé a: Evaluación comparativa de dos métodos para determinar la actividad de Fosfolipasa A en venenos de serpientes. *Rev Perú Biol*. 1998; 5(2): 98-102.
  13. Lomonte B, Cerdas L, Gene J, Gutiérrez JM. Neutralization of local effects of the terciopelo (*Bothrops asper*) venom by blood serum of the colubrid snake *Clelia clelia*. *Toxicon*. 1982; 20(3): 571-579.
  14. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970; 227(5259): 680-85.
  15. Ouchterlony O, Nilsson L. Immunodiffusion and immunoelectrophoresis. *Handbook of Experimental immunology*. 1967; I (34): 655-60.
  16. Sanchez E, Santos C, Magalhaes A, Diniz C, Figueiredo S, Gilroy J. Isolation of proteinase with plasminogen-activating activity from *Lachesis muta muta* (Bushmaster) snake venom. *Arch Biochem Biophys*. 2000; 378(1): 131-141.
  17. Devaraja S, Nagaraju S, Mahadeswaraswamy YH, Girish KS, Kemparaju K. A low molecular weight serine-protease: purification and characterization from *Hippasa agelenoides* (funnel web) spider venom gland extract. *Toxicon*. 2008; 52:130-138.
  18. Veiga S, da Silveira RB, Dreyfuss J, Haoach J, Pereira A, Mangili O, Gremski W. Identification of high molecular weight serine-proteases in *Loxosceles intermedia* (brown spider) venom. *Toxicon*. 2000; 38(6): 825-839.

## DIGESTIBILIDAD Y ENERGÍA DIGESTIBLE DE CINCO LEGUMINOSAS FORRAJERAS TROPICALES

Alejandrina Sotelo M.<sup>1\*</sup>, Carlos Contreras M.<sup>1</sup>, Edgar Norabuena M.<sup>2</sup>,  
Roxana Castañeda S.<sup>3</sup>, Mariella van Heurck<sup>4</sup>, Luz Bullón C.<sup>5</sup>

### RESUMEN

El experimento fue conducido para determinar los coeficientes de digestibilidad y la energía digestible del *Arachis pintoi*, *Stylozanthos guianensis*, *Erythrina poeppigiana*, *Centrocema macrocarpum* y *Pueraria phaseoloides*. Se empleó el método directo, usando el mismo forraje como único alimento. El experimento tuvo dos fases, una de adaptación y una de colección de heces, con una duración de 15 y 5 días, respectivamente. Se utilizaron 25 cuyes machos en etapa de crecimiento distribuidos de tal manera que 5 cuyes correspondieron a cada leguminosa tropical evaluada. Los coeficientes de digestibilidad de los nutrientes del *Arachis pintoi* (51,96, 56,80, 29,46 y 71,32 por ciento de digestibilidad de la materia seca, proteína cruda, fibra cruda y extracto libre de nitrógeno, respectivamente) fueron cuantitativamente superiores a los otros tratamientos a excepción de la ceniza. Asimismo, los valores de energía digestible (en base seca) obtenidos fueron mayores en el *Arachis pintoi* (2,20 Kcal/g) que los otros forrajes.

**Palabras clave:** Energía digestible, digestibilidad, leguminosa tropical, *Arachis pintoi*, *Stylozanthos guianensis*, *Erythrina poeppigiana*, *Centrocema macrocarpum*, *Pueraria phaseoloides*, cuyes.

## DIGESTIBILITY AND DIGESTIBLE ENERGY OF FIVE TROPICAL FORAGE TREE LEGUMES

### ABSTRACT

This study was carried out to determine the digestibility coefficients and digestible energy of *Arachis pintoi*, *Stylozanthos guianensis*, *Erythrina poeppigiana*, *Centrocema macrocarpum* and *Pueraria phaseoloides*. The direct method was used, using the same forage as the only

<sup>1</sup> Facultad de Zootecnia, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú. Apdo. Postal 12-01-056 Lima-Perú. asotelo@lamolina.edu.pe

<sup>2</sup> Facultad de Química, Universidad Nacional de Ingeniería, Lima, Perú

<sup>3</sup> Facultad de Ciencias Veterinarias y Biológicas, Universidad Científica del Sur, Lima, Perú.

<sup>4</sup> Facultad de Zootecnia, Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, Lima, Perú.

<sup>5</sup> Facultad de Economía y Planificación. Departamento de Estadística. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.

food. The experiment had two phases, one for adaptation and one of faeces collection, with duration of 15 and 5 days, respectively. We used 25 male guinea pigs in growth stage distributed in order to get 5 guinea pigs for each tropical legume evaluated. The digestibility coefficients of nutrients were numerically higher for *Arachis pintoi* (51,96, 56,80, 29,46 y 71,32 percent of the dry matter, crude protein, crude fiber and nitrogen free extract digestibility, respectively) than for all the other treatments, except for the ash. Likewise, digestible energy values (in dry basis) were greater for *Arachis pintoi* (2,20 kcal/g) than for all other forages.

**Key words:** Digestible energy, digestibility, tropical legumes, *Arachis pintoi*, *Stylozanthus guianensis*, *Erythrina poeppigiana*, *Centrocema macrocarpum*, *Pueraria phaseoloides*, guinea pig.

## INTRODUCCIÓN

El cuy es un roedor que pertenece al género *Cavia*, tiene su origen en los andes interandinos de América del Sur, siendo el *Cavia cutleri* el antecesor de la especie doméstica actualmente conocida.

El cuy es una especie de alta adaptación a los diferentes medios ecológicos por lo que es posible encontrarlo en zonas de selva. La disponibilidad de alimentos de elevado valor nutricional para la producción animal es cada vez mayor, por lo que se hace necesario disponer de insumos de bajo costo y, sobre todo, que no compitan con los insumos usados en la alimentación de monogástricos, incluyendo el hombre. Los forrajes son la base de la alimentación en los cuyes, siendo potencialmente usados como insumo en la alimentación animal; por ello, es importante identificar los pastos en nuestra selva peruana, sobre todo las leguminosas de gran nivel proteico. Por esta razón, la Asamblea General de las Naciones Unidas consideró denominar el año 2016 como el “Año Internacional de las Legumbres” FAO<sup>14</sup>. En este contexto, resulta valioso el poder registrar los conocimientos asociados al valor nutricional de las leguminosas tropicales, con énfasis en la alimentación de cuyes.

El III Censo Nacional Agropecuario, realizado en Perú en 1994, estimó que la selva aporta un 13 por ciento del total de cabezas de cuyes y 12,1 por ciento de unidades agropecuarias (UA) en el Perú. Los cuyes se crían en unidades animales para la venta en los mercados y en forma ambulatoria, autoconsumo, fiestas y ceremonias. De esta manera, la selva del Perú constituye una importante plaza para la crianza de cuyes, representando una excelente oportunidad para la introducción de insumos nuevos de bajo costo.

Una crianza rentable requiere manejo intensivo y disponibilidad de recursos forrajeros, por lo que se hace necesario buscar insumos alimenticios no tradicionales adaptables a las zonas de trópico y de bajo costo. Por esta razón y para este estudio se han escogido cinco leguminosas tropicales, las cuales, desde el punto de vista nutricional y económico, son potencialmente excelentes alternativas en la alimentación de los cuyes. En tal sentido, el estudio contribuirá con información nutricional de los mencionados insumos para la actualización de nuevas

tablas de composición de alimentos y de esta manera puedan ser usados como insumos para alimentación de cuyes en la crianza comercial.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Leguminosas forrajeras evaluadas

Se evaluaron cinco leguminosas forrajeras provenientes del distrito de Yurimaguas, en la Región Loreto de la Amazonía peruana. Los pastos fueron cortados como se indica:

- *Centrosema macrocarpum*.- A los 70 días.
- *Pueraria phaseoloides*.- A los 70 cm de altura (aproximadamente de 2,5 a 3 meses de edad).
- *Stylosanthes guianensis*.- Corte cuando los tallos alcanzaron 70 cm de altura.
- *Erythrina poeppigiana*.- Poda del árbol a los 6 meses desde el último corte.
- *Arachis pintoi*.- A los 60 días.

Las cinco leguminosas fueron secadas y luego molidas utilizando un molino de seis cuchillas y una malla de 2 mm para obtener harina de cada una. Posteriormente, se tomó una muestra de cada una de ellas, las cuales fueron sometidas al análisis químico proximal según la metodología de la AOAC<sup>1</sup>.

### Animales

Se usaron 25 cuyes machos mejorados de tres meses de edad y peso homogéneo, los que fueron facilitados por la Granja de Cuyes de Cieneguilla del Programa de Investigación y Proyección Social en Carnes (PIPS-Carne), Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

### Variables evaluadas

El experimento tuvo un periodo de adaptación de quince días de duración para cada ensayo, realizándose un cambio gradual del alimento (concentrado y el forraje de evaluación) en los primeros cuatro días y proporcionando sólo la leguminosa a evaluar en los últimos 11 días. La alimentación fue *ad limitum*, cuantificándose diariamente el suministro de forraje seco, para ello se pesó diariamente durante los 15 días, lo ofrecido y lo residual, a fin de calcular el consumo neto.

El periodo de colección de heces se realizó los últimos cinco días para cada uno de los grupos de leguminosas, utilizando el método directo de colección total de heces. Las heces se mezclaron homogéneamente al final del periodo de colección realizándose un composito por cada animal. Una parte fue llevada a la estufa (105 °C) por 24 horas para determinar la materia seca de las heces y otra parte presecada a 60 °C por 24 horas, luego molida y etiquetada para analizar posteriormente su composición química proximal.

En base a los resultados obtenidos del análisis proximal de heces y forraje, se determinó el porcentaje de digestibilidad aparente de los nutrientes de las muestras de leguminosas, aplicando el método directo de digestibilidad descrito por Crampton y Harris<sup>2</sup>:

$$CD (\%) = \frac{\text{Nutriente ingerido} - \text{Nutriente heces}}{\text{Nutriente ingerido}} \times 100$$

Donde:

CD = Coeficiente de digestibilidad aparente

Para la determinación de la energía digestible de las leguminosas, previamente se estimó la energía bruta en base a los porcentajes de nutrientes de las cinco leguminosas y de sus respectivas heces, determinados por análisis químico proximal; luego se multiplicó por sus valores calóricos promedios (proteína: 5,7 kcal/g; extracto etéreo: 9,3 Kcal/g; extracto libre de nitrógeno y fibra: 4,1 kcal/g) según la Alimentation Equilibree Commentry<sup>3</sup>. Finalmente, en base al contenido energético del alimento y las heces expresadas en base seca, se determinó la energía digestible del forraje, mediante la fórmula descrita por Crampton y Harris<sup>2</sup>:

$$ED = EB - \frac{EH \times Qh}{Ia}$$

Donde:

ED = Energía digestible de la leguminosa (kcal/g)

EB\* = Energía bruta de la leguminosa (kcal/g)

Qh = Cantidad de heces producidas por día (g)

EH\* = Energía Bruta de las heces (kcal/g)

Ia = Cantidad de alimento ingerido por día (g)

\* La energía bruta de la leguminosa y de las heces se calculó con la siguiente fórmula descrita por Alimentation Equilibree Commentry<sup>3</sup>:

$$EB = 5,7 \times (\%PC) + 9,3 \times (\%EE) + 4,1 \times (\%FC + \%ELN)$$

### **Análisis estadístico**

La agrupación de datos obtenidos de cada variable en este experimento fue resumida mediante un análisis descriptivo utilizando al promedio como medida de tendencia y la desviación estándar y el coeficiente de variabilidad como medidas de variabilidad.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Consumo voluntario**

Los consumos de los forrajes secos y molidos de las cinco leguminosas forrajeras varían entre 51 y 70 g, como se observa en el cuadro 1.

**Cuadro 1.** Efecto del tipo de leguminosa sobre el consumo voluntario (g/cuy)

Animal	<i>Pueraria</i>	<i>Stylozanthos</i>	<i>Erythrina</i>	<i>Centroceema</i>	<i>Arachis</i>
Nº	<i>phaseoloides</i>	<i>guianensis</i>	<i>poepigiana</i>	<i>macrocarpum</i>	<i>pintoï</i>
1	70,20	68,80	71,70	70,60	46,30
2	62,40	61,90	68,80	63,30	52,80
3	72,20	51,20	67,80	64,80	47,10
4	67,30	72,60	73,30	57,10	49,70
5	58,10	65,20	68,40	55,00	57,00
Promedio	<b>66,04</b>	<b>63,94</b>	<b>70,00</b>	<b>62,16</b>	<b>50,58</b>

Los forrajes con mayor contenido de fibra han obtenido los mayores consumos, posiblemente debido a que los animales trataron de compensar las deficiencias propias de estos pastos con un mayor consumo. Esto no se observa en el *Arachis pintoï*, que presenta el menor consumo voluntario, lo cual puede deberse al menor contenido de fibra cruda y mayor contenido de extracto libre de nitrógeno comparado a las otras leguminosas evaluadas. También puede deberse a su energía digestible, ya que esta fue superior a la de las demás leguminosas; y ello probablemente contribuyó a disminuir el consumo. Además, Waghorn *et al.*<sup>4</sup> indicaron que el *Arachis pintoï* posee una frágil partícula debido en gran medida al menor contenido de pared celular, el cual permite proveer mayor cantidad de nutrientes. La interacción de nutrientes dentro del mismo forraje y el grado de madurez de la planta afectan en algún grado el consumo<sup>5</sup> incrementándolo o reduciéndolo. Se debe considerar que dependiendo del grado de aceptación del alimento y principalmente de la composición nutritiva será el consumo que se produzca en cada una de las etapas fisiológicas de los animales, por lo tanto a mejor calidad, menor cantidad y viceversa<sup>6</sup>. En general, altos consumos y baja digestibilidad de un alimento pueden estar relacionados al mayor contenido de fibra, lo que produce una tasa rápida de pasaje a través del tracto digestivo, disminuyendo la absorción de los nutrientes. El consumo de alimento también se incrementa con la concentración de proteína cruda en la dieta. Por otro lado, los bajos consumos asociados con alta digestibilidad de un alimento pueden estar relacionados a la presencia de compuestos depresores del apetito, como taninos y alcaloides<sup>7</sup>. La leguminosa que presentó el menor consumo (*Arachis pintoï*), cuenta con taninos condensados que pueden variar con el periodo de corte. Por ejemplo, se pueden encontrar cantidades de taninos condensados de 74,1 g/Kg MS a corte de seis meses de establecidas y 85,8 g/Kg MS a cortes efectuados a 28 días<sup>8</sup>.

### Composición química

Los valores obtenidos, tanto para la proteína bruta como para la fibra bruta en base seca de las leguminosas tropicales, se encuentran dentro de los porcentajes establecidos por Skerman<sup>9</sup>, quien también indica que los valores de fibra bruta suelen aumentar al progresar la madurez. Las composiciones químicas en base seca de las cinco leguminosas tropicales se presentan en el cuadro 2.

**Cuadro 2.** Análisis químico proximal en base seca de las cinco leguminosas tropicales

Leguminosa tropical	MO, (%)	MS, (%)	PC, (%)	EE, (%)	FC, (%)	ELN, (%)	C, (%)
<i>Pueraria phaseoloides</i>	92,52	100,00	19,76	1,98	35,76	35,02	7,48
<i>Erythrina poeppigiana</i>	87,60	100,00	24,81	4,36	29,38	29,05	12,40
<i>Stylozanthos guianensis</i>	93,82	100,00	14,48	1,96	37,96	39,42	6,18
<i>Centrocema macrocarpum</i>	84,77	100,00	15,78	1,79	40,49	26,72	15,23
<i>Arachis pintoi</i>	89,16	100,00	18,59	1,55	23,18	45,84	10,85

MS: Materia seca, PC: Proteína cruda, EE: Extracto etéreo, FC: Fibra cruda, ELN: Extracto libre de nitrógeno, C: Ceniza, MO: materia orgánica, BF: Base fresca.

**Fuente:** Análisis proximal, realizado en el Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (LENA).

### Digestibilidad aparente

Los coeficientes de digestibilidad aparente de los nutrientes de las cinco leguminosas se presentan en el cuadro 3, donde se observa que cuantitativamente la mejor digestibilidad aparente para todos los nutrientes corresponde al *Arachis pintoi*. Este resultado es similar al obtenido por Lagunes<sup>8</sup>, quien determinó y comparó el valor nutricional de cuatro leguminosas tropicales: *Stylosanthes guianensis*, *Centrosema macrocarpum*, *Pueraria phaseoloides* y *Arachis pintoi*, obteniendo este último la mayor digestibilidad de materia seca (74,4%). Esto podría ser el resultado del bajo contenido de fibra cruda del *Arachis pintoi* comparado a las otras leguminosas. El consumo de materia seca, el contenido de fibra cruda, y de proteína cruda de la dieta tienen efecto sobre la digestibilidad de los nutrientes<sup>10</sup>.

La digestibilidad es afectada por diversos factores, siendo la fibra cruda el principal componente que afecta negativamente la digestibilidad de un insumo o dieta. La edad de corte del pasto influye de manera notable pues a mayor edad del pasto, aumenta la pared celular y disminuye el contenido celular, volviéndose menos digestible, además el bajo contenido celular del forraje también puede afectar el aprovechamiento del mismo. El extracto libre de nitrógeno está constituido principalmente por los carbohidratos solubles, así como también vitaminas y demás compuestos orgánicos solubles no nitrogenados; los cuales están inversamente relacionados con la cantidad de fibra presente en los forrajes, dado que a medida que esta aumenta, los carbohidratos solubles irán en descenso e influirá en la digestibilidad de los forrajes<sup>11</sup>. Por otro lado, a medida que maduran las leguminosas tropicales suele producirse una reducción en el porcentaje de proteína cruda de la planta que va asociada con la disminución de la digestibilidad de la proteína<sup>9</sup> y un creciente aumento del contenido de la pared celular con la madurez<sup>12</sup>, debido a que la proteína cruda y pared celular interactúan en forma inversa<sup>13</sup>.

**Cuadro 3.** Coeficientes de digestibilidad aparente (%) y energía digestible (kcal/g) de las cinco leguminosas estudiadas

Leguminosas	MO <sup>(1)</sup>	MS <sup>(1)</sup>	PC <sup>(1)</sup>	EE <sup>(1)</sup>	FC <sup>(1)</sup>	ELN <sup>(1)</sup>	C <sup>(1)</sup>	ED <sup>(2)</sup>
<i>Pueraria phaseoloides</i>	36,97	35,36	53,94	14,46	17,84	48,21	15,38	1,58
<i>Stylozanthes guianensis</i>	37,60	37,91	43,86	8,33	18,50	55,15	42,63	1,56
<i>Erythrina poeppigiana</i>	23,87	24,09	41,52	8,87	18,22	16,77	25,61	1,04
<i>Centrosema macrocarpum</i>	36,06	32,27	49,08	4,87	26,44	45,02	11,16	1,38
<i>Arachis pintoii</i>	56,51	51,96	56,80	19,42	29,46	71,32	14,50	2,20

MO: Materia orgánica, MS: Materia seca, PC: Proteína cruda; EE: Grasa total, FC: Fibra cruda, ELN: Extracto libre de nitrógeno, C: Ceniza, ED: Energía digestible

(1) Los coeficientes de digestibilidad (CD) se determinaron aplicando el método directo de digestibilidad descrito por Crampton y Harris<sup>2</sup>.

(2) La energía digestible del forraje en base seca se calcula mediante la fórmula descrita por Crampton y Harris<sup>2</sup>.

### Energía digestible

El contenido de energía digestible, correspondiente a cada una de las leguminosas estudiadas, se consignan en el cuadro 3, donde se observa que la energía digestible del *Arachis pintoii* fue 2,20 Mcal/kg, valor superior al encontrado en las otras leguminosas: *Pueraria phaseoloides*, *Stylozanthes guianensis*, *Centrosema macrocarpum* y *Erythrina poeppigiana* (1,58, 1,56, 1,38 y 1,04 Mcal/kg de energía digestible, respectivamente). Los mayores valores de energía digestible del *Arachis pintoii* en comparación a los demás forrajes se explica por la menor cantidad de fibra cruda (23,18 por ciento) y mayor cantidad de ELN (44,97 por ciento) al ser comparada con las demás leguminosas (valores que van desde 29,38 a 40,49 por ciento para la fibra cruda y de 26,72 a 39,42 por ciento para el ELN), permitiendo que la energía sea aprovechada mejor, dado que el ELN contiene carbohidratos solubles de fácil digestión. Además, la fragilidad de la molécula de *Arachis pintoii*<sup>4</sup>, debido posiblemente al arreglo estructural de este forraje influyó en que el valor de la energía digestible se incremente.

## CONCLUSIONES

El *Arachis pintoii* obtuvo cuantitativamente la mayor digestibilidad y energía digestible que las otras leguminosas forrajeras tropicales.



## AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos del Departamento Académico de Nutrición de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria La Molina por el apoyo con los análisis requeridos para el presente trabajo de investigación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. 16<sup>th</sup> Ed. Washington DC: Ed. Cunniff; 2012.
2. Crampton EW, Harris LE. Nutrición Animal Aplicada: El uso de los alimentos en la formulación de raciones para el ganado. 2<sup>da</sup> ed. Zaragoza: Editorial Acribia; 1974.
3. Alimentation Equilibree Commentry (AEC). Animal Feeding: Energy, Amino Acids, Vitamins, Minerals. Paris: Doc. No. 4. AEC, Commentry; 1978.
4. Waghorn G, Shelton I, Thomas V. Particle breakdown and rumen digestion of fresh ryegrass (*Lolium perenne L.*) and lucerne (*Medicago sativa L.*) fed to cows during a restricted feeding period. Br J Nutr. 1988; 61(3): 409-423.
5. Rommey DL, Gill M. Intake of Forages. In: Givens DI, Owen E, Axford RFE, Omed HM. Forage Evaluation in Ruminant Nutrition. Wallingford: CABI Publishing; 2000. p. 43-62.
6. Meza G, Cabrera R, Morán J, Meza F, Cabrera C, Meza C, Meza J, Cabanilla M, López F, Pincay J, Bohórquez T, Ortiz J. Mejora de engorde de cuyes (*Cavia porcellus L.*) a base de gramíneas y forrajeras arbustivas tropicales en la zona de Quevedo, Ecuador. IDESA (Chile). 2014; 32(3): 75-80.
7. Tshibangu I, Nsahlai V, Kiatoko H, Hornick JL. Nutritive value of Adenodolichos rhomboideus leaves compared with Leucaena leucocephala and Stylosanthes guianensis forages in indigenous goats in Lubumbashi (DR Congo). Biotechnol Agron Soc Environ. 2014; 18(2): 165-173.
8. Lagunes S. Evaluación productiva y de calidad de leguminosas tropicales en el estado de Puebla [Tesis para optar el título de Maestro Tecnólogo]. Puebla: Colegio de Postgraduados; 2011.
9. Skerman PJ, Cameron DG, Riveros F. Leguminosas forrajeras Tropicales. Roma: FAO; 1991.
10. Schiere JB. Backyard rabbit farming in the Tropics. 3<sup>rd</sup> ed. Wageningen: Agrodok Publications; 1999.
11. Apraéz J.E. Comportamiento productivo del Cuy (*Cavia porcellus*) alimentado con pasto Kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) obtenido bajo diferentes métodos de atención cultural. Pasto: Facultad de Ciencias Pecuarias, Universidad de Nariño; 2002.
12. Campling RC. 1970. Physical regulation of voluntary intake. In: Proceedings of the Third International Symposium (1969, Cambridge, GB). Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant. Ed. A. Philipson. Cambridge: Newcastle upon Tyne; 1970. 226 p.
13. Keys J, Van Soest P, Young E. Effect of Increasing Dietary Cell Wall Content on the

- Digestibility of Hemicellulose and Cellulose in Swine and Rats. *J Anim Sci.* 1970; 31(6): 1172-1177.
14. FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2016. A/RES/68/231.

## **EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES QUÍMICAS Y MECÁNICAS DE BIOPOLÍMEROS A PARTIR DEL ALMIDÓN MODIFICADO DE LA PAPA**

Alarcón Cavero, Hugo Arturo<sup>1,2\*</sup> y Arroyo Benites, Edmundo<sup>1</sup>

### **RESUMEN**

En el presente artículo presentamos el estudio realizado para la obtención de biopolímeros a partir del almidón de papa, para ser utilizado como empaque de alimentos, se modificó el almidón con ácido acético al 5% obteniéndose un polímero con un 61,76% de amilosa y 38,28% de amilopectina. Las pruebas de elongación y tracción mostraron que el almidón modificado presentó una mejor propiedad mecánica.

Asimismo, se prepararon películas poliméricas donde se adicionaron aditivos al almidón modificado para lograr que el film mejore sus propiedades mecánicas y su textura, para ello se utilizó al Chitosan y Xathan en diferentes proporciones, determinándose una mejora de la propiedad mecánica del biopolímero. Esto fue corroborado con pruebas de elongación y tracción, obteniéndose valores del 33% y 8,47 N, respectivamente, las espectroscopias de infrarrojo y Uv-Vis realizadas a los biopolímeros muestran picos característicos de celulosa y una buena transmitancia del 87%. Todas las muestras fueron obtenidas siguiendo el método Taguchi.

**Palabras clave:** Biopolímeros, biodegradables, almidón de papa, empaques de alimentos.

### **Evaluation of chemical and mechanical properties of biopolymers by modified potato starch**

### **ABSTRACT**

In this paper we present the study to obtain biopolymers from potato starch, for use as a food packaging, starch with acetic acid was changed to 5% yielding a polymer with a 61.76% amylose and 38.28% amylopectin. The elongation and tensile tests showed that the modified starch presented better mechanical property.

Also, additives were added to the films by modified starch for to make the film improved mechanical properties and texture for this to Xathan Chitosan and were used in different

---

<sup>1</sup> Docente investigador Universidad de Lima. Av. Javier Prado Este 4600. Monterrico - Surco. Lima. halarcon@ulima.edu.pe

<sup>2</sup> Docente investigador Facultad de Ciencias - Universidad Nacional de Ingeniería

ratios, determining an improved mechanical property of the biopolymer were prepared. This was corroborated by elongation and tensile tests, yielding values of 33% and 8.47 N respectively and the Infrared spectroscopy -vis made Uv showing characteristic peaks biopolymers cellulose and good transmittance of 87%. All samples were obtained following the Taguchi method.

**Key words:** Biopolymers, biodegrade, potato starch, food packaging.

## INTRODUCCIÓN

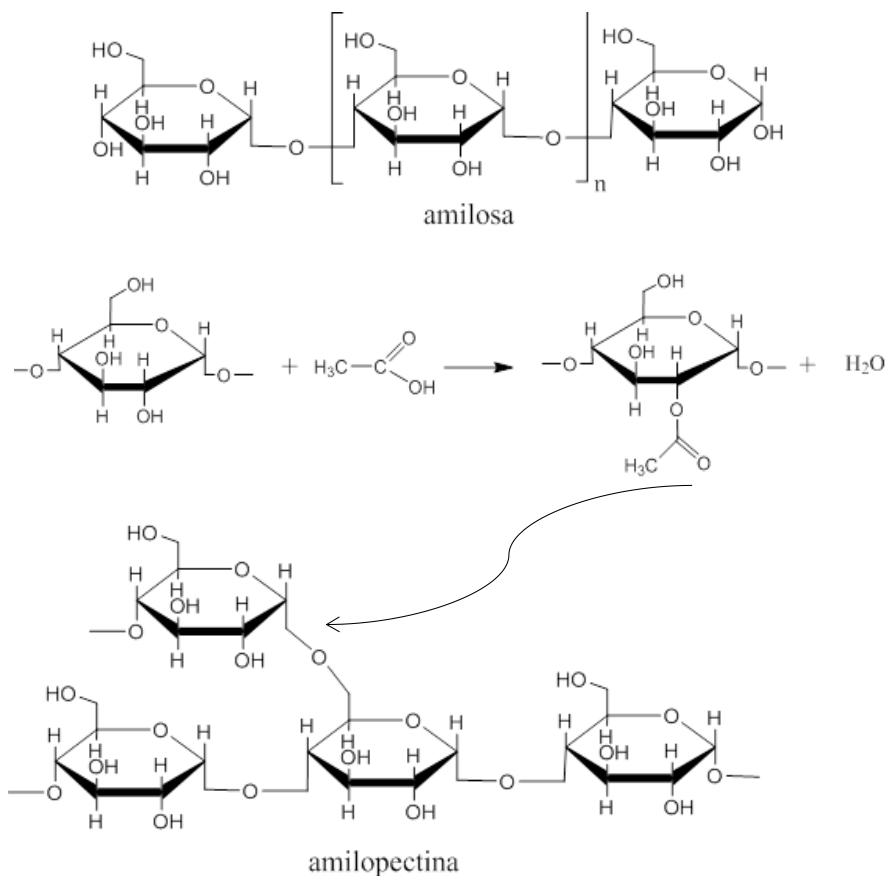
Actualmente, los envases o empaques han permitido mejorar la calidad de vida del hombre, han contribuido en la comercialización de todo tipo de productos, garantizando la calidad de los alimentos cuando se requiere almacenarlos y han generado un nivel de desarrollo económico en todos los países; sin embargo, lo negativo de este desarrollo es en el impacto ambiental<sup>1</sup>. Los envases conforman un componente imprescindible de los sistemas de distribución de los alimentos y contribuyen en poner una gran variedad de productos al alcance del consumidor. La existencia del producto y empaçado co-ayuda de manera importante a reducir los tiempos requeridos para la compra y preparación de los alimentos, traduciéndose en la búsqueda continua de esquemas de disminución de envolturas y envases<sup>2</sup>. Podemos definir envase como: “Todo producto fabricado con cualquier material que se utilice para contener, proteger, manipular, distribuir y presentar mercancías, desde materias primas hasta artículos acabados y desde el fabricante hasta el usuario o consumidor final. Los objetos desechables con estos fines se consideran también envases”<sup>3</sup>.

La remoción y disposición final de materiales orgánicos sintéticos, a partir del petróleo, ha generado problemas medioambientales de gran significancia. Por ello, actualmente, el almidón es uno de los componentes más importante para la fabricación de estos materiales de empaque, que contribuye a un mejor control ambiental<sup>4</sup>.

En el análisis de sostenibilidad, en el Perú, la papa es la mejor alternativa para obtener el almidón debido a que su producción duplica el consumo orientado a la canasta familiar (aproximadamente 2000 en miles de TM) y que aumenta sosteniblemente su producción, a diferencia del maíz y la yuca donde su producción tiene un aumento poco significativo<sup>5</sup>. El almidón de la papa está constituido por glucosa dispuestas en dos componentes: amilosa y amilopectina; su proporción varía de un tipo a otro según sea su fuente. El contenido de amilosa y el grado de polimerización son importantes en la determinación de las propiedades físicas, químicas y funcionales del almidón. Por ejemplo, el tamaño de los gránulos del almidón muestra una relación con la proporción amilosa/amilopectina<sup>6</sup>. Para mejorar las propiedades mecánicas del almidón es común someterlo a modificaciones, tanto físicas como químicas. El almidón que contiene amilopectina, alcanza valores más bajos de torque al ser procesado mediante extrusión<sup>7</sup>. Un alto contenido en amilosa provoca mayor fuerza de atracción entre los granos de almidón, esto impide la penetración de agua dentro de los gránulos, retrasando lógicamente el proceso de gelatinización durante el proceso de extrusión. El uso del almidón

sin modificar está muy limitado debido a sus pobres propiedades, como son: el deterioro de las propiedades mecánicas por la exposición a la humedad, la reducida procesabilidad debido a su alta viscosidad y la fragilidad de las películas fabricadas. Por estas limitaciones citadas, se realiza una modificación química del almidón que consiste en reemplazar el grupo hidroxilo de las moléculas del almidón, por algún grupo éster o éter<sup>8</sup>. Entre las mejoras que se debe considerar en la obtención de biopolímeros como empaque de alimentos, es la de utilizar aditivos específicos en las cantidades apropiadas, con el objetivo de mejorar sus propiedades. Se puede mejorar la maquinación agregando polivinilalcohol o glicerina, elaborando películas por procesos de extrusión, compresión y otras operaciones térmicas. El quitosano ha sido muy utilizado en la composición de films y revestimientos antimicrobianos por su acción bactericida y fungicida, debido a su capacidad de ligarse a las moléculas del agua e inactivar las enzimas microbianas. Si al biopolímero obtenido del almidón, se le agrega quitosano, aumentaría su propiedad mecánica y de barrera, así como evitaría la generación de hongos y bacterias en la superficie del material, debido a las propiedades antifúngicas y antimicrobianas, prolongando de esta forma el tiempo de vida de los alimentos. El porcentaje de estos componentes varían y están en relación con el material alimenticio en estudio<sup>9</sup>. Asimismo, la goma Xanthan, es un polisacárido natural de alto peso molecular, gracias a la rigidez estructural de la molécula, produce varias propiedades funcionales inusuales como estabilidad al calor, tolerancia de soluciones fuertemente agrias y básicas, viscosidad estable en un rango amplio de temperatura, y resistencia a la degradación enzimática<sup>10</sup>.

El presente trabajo tiene como objetivo obtener un biopolímero que pueda ser utilizado para empaque de alimentos, que cumpla las normas requeridas para dicho propósito, por lo que mejorar las propiedades mecánicas y de barrera constituye el propósito fundamental, y para obtener estos beneficios se requiere tener un almidón modificado químicamente, donde la proporción de amilosa aumente, así también añadir aditivos que mejoren dichas propiedades y mantener la inocuidad de los alimentos. Por otro lado, la modificación física del almidón permite obtener un entrecruzamiento molecular y constituir películas delgadas con mayor resistencia a la tensión y elongación, esto se desarrolla aplicando temperaturas apropiadas en las diferentes etapas del proceso de fabricación del biopolímero; para ello se buscó temperaturas y tiempos óptimos para la obtención de los films.



## PARTE EXPERIMENTAL

### 1. Preparación de láminas de biopolímeros

#### 1.1. Materiales y equipos

Para la obtención de los biopolímeros se utilizaron las siguientes sustancias: almidón de papa, agua destilada, alcohol polivinílico (PVA), etanol, glicerina, hidroxietilcelulosa (Hxcel), cloruro de sodio (NaCl), ácido acético y ácido bórico, Chitosan y goma Xanthan.

#### 1.2 Métodos de obtención

La obtención de un biopolímero que sirva como empaque de alimentos a partir de almidón de papa, requiere una preparación que permita controlar las condiciones en cada etapa de su proceso, así como las cantidades apropiadas de los reactivos que aportan características para este nuevo material. Para controlar las condiciones en cada etapa del proceso se diseñó un biorreactor, que de manera automática mantenga las condiciones del proceso de manera

óptima. La experiencia se realizó utilizando almidón sin modificar -almidón natural- sin tratamiento con ácido acético, y almidón modificado, se utilizó la muestra tratada con ácido acético porque es la que alcanzó la mayor cantidad de amilosa. Los reactivos utilizados que permitieron controlar la inocuidad, así como mejorar las propiedades mecánicas, fueron el Chitosan y el goma Xanthan.

### 1.2.1 Preparaciones preliminares y estandarización del procedimiento

Para determinar el número de pruebas experimentales se aplicó el método Taguchi<sup>11</sup>, el mismo nos permite obtener la combinación más adecuada y robusta de los componentes a utilizar.

Las cantidades obtenidas serán el estándar en los procedimientos para obtener el biopolímero, utilizando almidón natural (sin modificar) y almidón modificado de la papa.

Se determinó el siguiente modelo:  $L_9(3)^2$

Dónde:

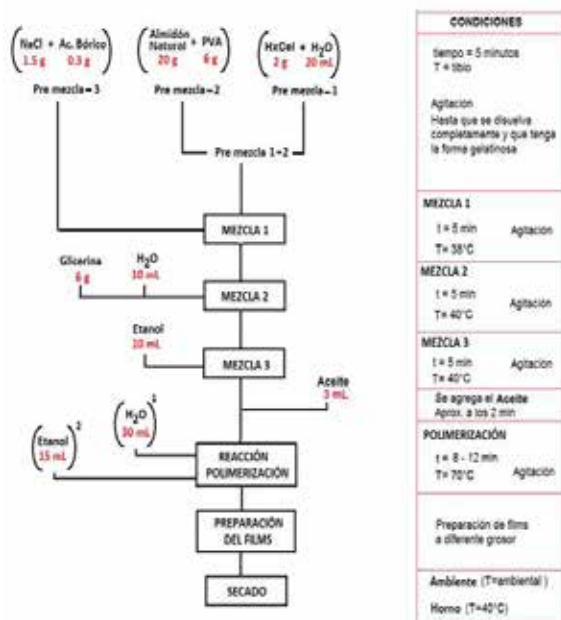
**a=9**, Se desarrollan 9 pruebas experimentales

**b=3**, Son los niveles para cada factor a analizar: Alcohol polivinílico (PVA), Hidroxilcelulosa (Hcel) y Glicerina (Glicer), para cada caso: alto, moderado y bajo

**c=2**, Son efectos independientes: Tipo de plastificante, cantidad (%masa, gramos, mL)

### 1.2.2 Obtención del biopolímero con almidón natural:

La obtención del biopolímero se realizó de acuerdo con el siguiente diagrama:



**Diagrama 1.** Procedimiento para la obtención de biopolímero a partir del almidón natural (no modificado)

O<sup>1</sup>: Cuando la mezcla llega a los 70°C se añade de 10 en 10 mL el agua, según como se va gelatinizando y evitar que se endurezca.

O<sup>2</sup>: Cuando la mezcla llega a los 70°C se añade de 5 en 5 mL de etanol, con el objetivo de terminar de disolver los grumos y la mezcla se vuelve transparente.

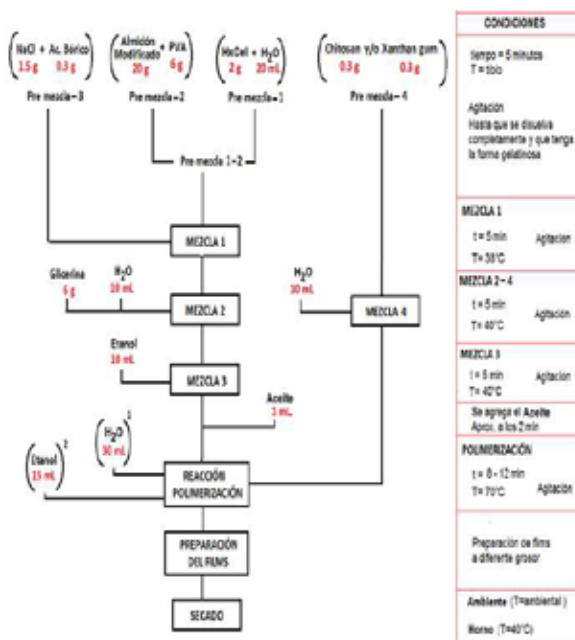
**Tabla 1.** Cantidades estandarizadas de los diferentes componentes

Polivinil Alcohol (g)	Hidroxil celulosa (g)	Glicerina (mL)	Agua (mL)	Aceite Resina (ml)	NaCl (g)	Ácido Bórico (g)
6	2	6	60	3	1,5	0,3

**Tabla 2.** Descripción de las muestras de biopolímero

Muestras	Almidón modificado	Componentes
M1	20 g tratado con el 15% Ac. Acético	Estándares
M2	20 g tratado con el 10% Ac. Acético	Estándares
M3	20 g tratado con el 5% Ac. Acético	Estándares

### 1.2.3 Obtención del biopolímero con almidón modificado:



**Diagrama 2.** Procedimiento para la obtención de biopolímero a partir del almidón modificado



**Tabla 3.** Descripción de las sustancias para las muestras de biopolímero con aditivos

Muestras	Almidón modificado	Componentes	Chitosan	Xanthan Gum
M4	20	Cant. estándares	0,3	0,3
M5	20	Cant. estándares	0,3	0
M6	20	Cant. estándares	0	0,3

### 1.3 Métodos de caracterización de los biopolímeros

Medidas de elongación y tracción. Se han realizado los ensayos de caracterización mecánica de las muestras de biopolímeros a partir del almidón de papa natural y almidón de papa modificado, en el laboratorio N° 12 - LABICER de la Universidad Nacional de Ingeniería, Facultad de Ciencias, a condiciones ambientales (temperatura = 24°C y humedad relativa = 59%). Los ensayos realizados corresponde a fuerza de tracción y elongación, para ello utilizaron la máquina de tracción universal ZWICK ROELL Z010, bajo la norma técnica ASTM D882.

**Tabla 4.** Pruebas de tracción y elongación sin aditivos

Muestra	Espesor (mm)	Ancho (mm)	Fuerza máxima de tracción (N)	Elongación máxima (%)	Relación Elongación/ Tracción	Norma Técnica
M1	0,16	24,08	6,07	14,38	2,37	ASTM D882
M2	0,12	24,71	8,60	8,45	0,98	
M3	0,11	25,51	6,77	13,97	2,06	

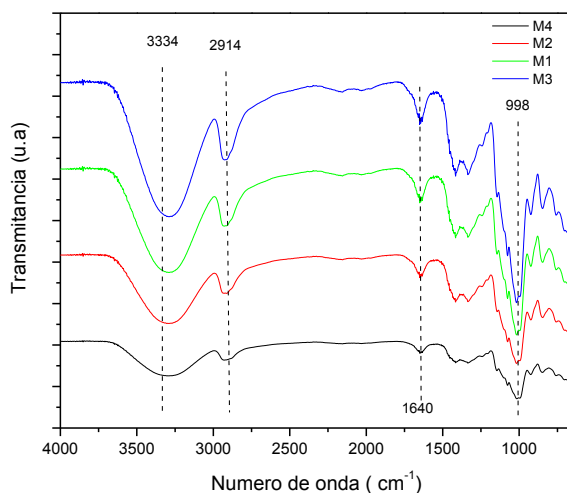
En este cuadro se observa que la muestra M3 es la más significativa, debido a que la relación elongación por unidad de tracción es 2,06 con un espesor de 0,11 mm, mientras que la muestra M1 su relación es 2,37 pero con un espesor mucho mayor 0,16 mm.

**Tabla 5.** Pruebas de tracción y elongación con aditivos

Muestra	Espesor (mm)	Ancho (mm)	Fuerza máxima de tracción (N)	Elongación máxima (%)	Relación Elongación / Tracción	Norma Técnica
M4	0,13	24,87	8,47	33,00	3,90	ASTM D882
M5	0,13	25,19	11,60	25,10	2,16	
M6	0,11	25,35	10,80	24,90	2,31	

En este cuadro se observa que la muestra M4 es la más significativa, ya que la relación elongación por unidad de fuerza es de 3,90, el cual es mucho mayor que las muestras M5 y M6 donde su relación es 2,16 y 2,31, ya que el aumento es en 80,6% y 54,8% por unidad de fuerza, respectivamente. Respecto a los espesores estos están casi en la misma relación.

### 1.3.1 Ensayos por espectroscopia infrarroja



En todos los casos, los espectros establecen como biopolímero a la celulosa de acuerdo a las bandas características de los grupos OH en la región de 3000  $\text{cm}^{-1}$ ; asimismo, la banda de las vibraciones C-H a 2914  $\text{cm}^{-1}$  y las vibraciones a 1640 y 998  $\text{cm}^{-1}$  las cuales están relacionadas a la hemicelulosa y a las pectinas.

Las pruebas de transmitancia (no se presenta el gráfico) muestran un valor en promedio del 87%, lo que indica una buena transmitancia respecto al paso de la luz.

## CONCLUSIONES

La obtención de un almidón modificado con buenas propiedades mecánicas, de acuerdo a pruebas realizadas, se logra por la adición de ácido acético al 5% v/v debido a que mejora la relación de amilopectina y amilosa, la adición de quitosano y goma Xantán le brindan una mejor textura al biopolímero, además de mejorar la propiedad mecánica en un 4%, esto fue corroborado con las pruebas de elongación y tracción.

Las caracterizaciones por espectroscopia infrarroja muestran que la adición de aditivos no cambia las características estructurales del biopolímero; asimismo, la prueba de transmitancia muestra un valor bastante aceptable de transparencia del biopolímero.

## AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ingeniería Industrial y al Instituto de Investigación Científica de la Universidad de Lima (IDIC) por el financiamiento otorgado para la realización del presente trabajo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Avendaño GC. Diseño y evaluación de las propiedades mecánicas y de barrera de un biopolímero obtenido a partir de almidón de papa para ser empleado en empaques para alimentos. Duitama: Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD, Escuela de Ciencias Básicas e Ingeniería, Ingeniería de Alimentos; 2009.
2. Tubón IR. Formulación, elaboración y evaluación de bioenvase para caramelos a base de almidón de yuca, sacarosa y gelatina. Riobamba: Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2013.
3. Parlamento Europeo. Directiva 94/62/CE del Parlamento Europeo y del Consejo Relativa a los envases y residuos de envases. Diario Oficial de las Comunidades Europeas; 1994: N° L 365/10.
4. Enríquez M, Velasco R, Ortiz V. Composición y procesamiento de películas biodegradables basadas en almidón. *Revista de Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. 2012; 10(1): 182-192.
5. Arroyo EV, Alarcón HA. Obtención, caracterización y análisis comparativo de polímeros biodegradables a partir de la yuca, papa y maíz. Lima: Instituto de investigación científica de la Universidad de Lima; 2013.
6. Delpuech F, Favier JC. Caractéristique des amidons de plantes alimentaires tropicales: action de l'alpha-amylase, gonflement et solubilité. *Ann Technol Agric*. 1980; 29(1):53 - 67.
7. Meré J. Estudio del procesamiento de un polímero termoplástico basado en almidón de patata amigable con el medio ambiente. Madrid: Universidad Carlos III de Madrid; 2009.
8. Peñaranda OI, Perilla JE, Algecira NA. Revisión de la modificación química del almidón con ácidos orgánicos. *Revista de ingeniería e investigación de la Universidad Nacional de Colombia*. 2008; 28(3): 47-52.
9. Durango AM, Soares NF, Arteaga MR. Filmes y revestimientos comestibles como empaques activos biodegradables en la conservación de alimentos. *Revista de Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial de la Universidad de Córdoba*. 2011; 9(1): 112-118.
10. López CA. Xantanos biopoliméricos: propiedades reológicas y aplicaciones. *Revista virtual Cienciaviva*. 2011; 25.
11. Taguchi G. Introduction to quality engineering: designing quality into products and processes. Tokyo: Asian Productivity Organization; 1986.

## **CELDA SOLARES SENSIBILIZADAS POR COLORANTE BASADAS EN TiO<sub>2</sub> MODIFICADO CON CuO**

Vanessa C. Martínez<sup>a</sup>, Alcides López<sup>a</sup>, Mónica M. Gómez<sup>\*a</sup>

### **RESUMEN**

Se prepararon celdas solares sensibilizadas con colorante empleando como electrodo de trabajo TiO<sub>2</sub> modificado con CuO (TiO<sub>2</sub>-CuO). En la preparación del recubrimiento modificado se utilizó un polvo comercial de TiO<sub>2</sub> (P25-Degussa) y pequeñas cantidades de CuO en polvo. El recubrimiento se depositó por el método del doctor Blade, sobre un sustrato conductor de SnO<sub>2</sub>:F, en el cual se depositó previamente, por la técnica de rociado pirolítico, una película delgada de TiO<sub>2</sub>, como capa de bloqueo. Para la sensibilización del recubrimiento se usó el complejo de rutenio, cis-bis (isotiocianato) bis (2,2'-bipiridil-4,4'-dicarboxilato) rutenio (II) bistetrabutil amonio, también conocido como N719. El polvo de CuO fue caracterizado estructuralmente por difracción de rayos X y su morfología fue estudiada por microscopía electrónica de barrido. Los grupos funcionales de los compuestos usados, TiO<sub>2</sub> y CuO fueron estudiados por espectroscopía infrarroja. Mediante voltametría cíclica se mostraron los ciclos de oxidación/reducción del Cu<sup>+1</sup>/Cu<sup>+2</sup>. Por medio de las medidas de eficiencia de conversión fotón incidente a electrón generado, y las medidas de eficiencia solar, se obtuvo que las películas TiO<sub>2</sub>-CuO modificadas con el 0,33 % de CuO mostraron valores de 57% y 2,0%, respectivamente, que son mayores a los que se prepararon solo con TiO<sub>2</sub>, que fueron 52% y 1,7%, respectivamente.

**Palabras clave:** Celdas solares sensibilizadas, TiO<sub>2</sub>, CuO, capa de bloqueo.

## **DYE SENSITIZED SOLAR CELLS BASED ON TiO<sub>2</sub> MODIFIED WITH CuO**

### **ABSTRACT**

Some dye-sensitized solar cells were prepared using TiO<sub>2</sub> modified with CuO (TiO<sub>2</sub>-CuO) like a working electrode. P25 commercial powder and small amounts of CuO powder were used in preparing the modified coating. The coating was deposited following doctor Blade method, on a conductive substrate SnO<sub>2</sub>:F, which was previously deposited on a TiO<sub>2</sub> blocking layer by spray pyrolysis technique. For sensitization of the coating, a ruthenium complex, cis-bis (isothiocyanate) bis (2,2'-bipiridil-4,4'-dicarboxilato) ruthenium (II) ammonium

---

<sup>a</sup> Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Ingeniería, Av. Túpac Amaru 210, Lima 25, Perú.  
mgomez@uni.edu.pe

bistetrautil, also known as N719, was used. The  $\text{CuO}$  powder was structurally characterized by X-ray diffraction and its morphology was studied by scanning electron microscopy. The functional groups of  $\text{TiO}_2$  and  $\text{CuO}$  were studied by infrared spectroscopy. The oxidation and reduction cycles of  $\text{Cu}$  were shown by cyclic voltammetry. Through incident photon to current conversion efficiency measures, and solar efficiency measures, it was found that the modified films  $\text{TiO}_2\text{-CuO}$  with 0,33 %  $\text{CuO}$  displayed values of 57 and 2 %, respectively, which were higher than those prepared from  $\text{TiO}_2$ , which were 52 % and 1,7 %, respectively.

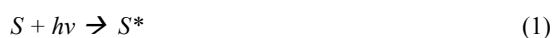
**Key words:** Dye solar cells,  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{CuO}$ , blocking layer.

## INTRODUCCIÓN

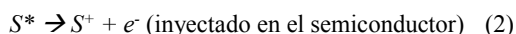
La preocupación por el medio ambiente ha venido incrementándose considerablemente en estos últimos años, con la búsqueda de fuentes de energías renovables<sup>1</sup> y la implementación de nuevas tecnologías que las aprovechen de manera eficiente.

Una de estas nuevas tecnologías son las celdas solares sensibilizadas por colorante, también llamadas DSC (de los términos en inglés *Dye-sensitized solar cells*), que se vienen desarrollando desde la década de los 90's<sup>2</sup> y que están constituidas por un electrodo de trabajo mesoporoso. Además, a diferencia de las celdas convencionales, son de fácil fabricación y de bajo costo.

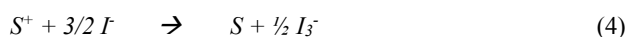
El principio de funcionamiento de estas celdas está basado en procesos de transferencia interfacial de electrones. Al incidir sobre el fotoelectrodo la radiación ( $h\nu$ ) es absorbida por el sensibilizador o colorante ( $S$ ), anclado sobre el semiconductor, que pasa a su estado excitado ( $S^*$ )<sup>3</sup>:



A partir del estado excitado del colorante ( $S^*$ ) se produce la inyección de electrones hasta los estados disponibles en la banda de conducción del  $\text{TiO}_2$ , y a su vez los electrones se difunden a través de las nanopartículas hasta el sustrato conductor:



El circuito se cierra externamente en el contraelectrodo, donde los electrones reducen el  $I_3^-$  a  $I^-$  (que forma parte electrolito), y que será la especie que repondrá electrones al nivel desocupado en el colorante, cerrando el ciclo de corriente:

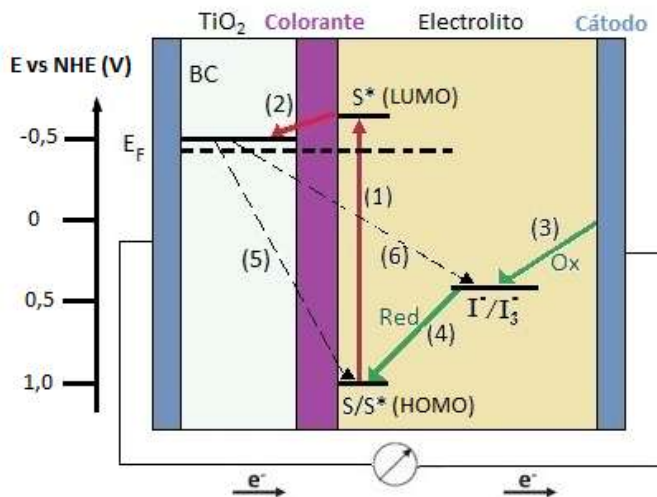


Durante este ciclo se producen procesos no deseados que suponen una pérdida de la eficiencia de la celda solar. Los electrones inyectados en la banda de conducción del  $\text{TiO}_2$  pueden transferirse al colorante oxidado (ecuación 5) o a los iones  $I_3^-$ , que se encuentran cercanos a la superficie del semiconductor (ecuación 6):<sup>3</sup>



Para obtener buenas eficiencias es necesario que los procesos de inyección (ecuación 2) y regeneración (ecuación 4) estén cinéticamente favorecidos con respecto a los procesos de recombinación (ecuaciones 5 y 6).

Otro proceso clave en el mecanismo de funcionamiento de las DSC es la absorción de luz por el colorante. Cuando el colorante absorbe la luz del sol, un electrón es excitado desde el nivel del orbital molecular ocupado de mayor energía (HOMO de los términos en inglés *highest occupied molecular orbital*) al nivel del orbital molecular desocupado de menor energía (LUMO de los términos en inglés *lowest unoccupied molecular orbital*). Un punto importante a considerar es la posición relativa entre estos orbitales del colorante y las bandas de energía del semiconductor, para asegurar la transferencia electrónica. La figura 1 muestra el esquema de niveles de energía propuestos para una DSC<sup>4</sup>.



**Figura 1.** Esquema del funcionamiento de una DSC. Los procesos que tienen lugar son: excitación (1), inyección (2), reducción del electrolito (3), regeneración del colorante (4). Durante el ciclo pueden producirse pérdidas debido a transferencia de electrones representadas por 5 y 6 (Adaptado de <sup>4</sup>).

Además de los componentes mencionados, se han realizado estudios en los que otros óxidos como NiO<sup>5</sup>, MgO, SnO<sub>2</sub> se han agregado al TiO<sub>2</sub> mesoporoso para modificarlo y mejorar la eficiencia de las celdas. En el presente trabajo se usó como modificante el CuO, lo que constituyó un recubrimiento de TiO<sub>2</sub> con partículas de CuO homogéneamente distribuidas en la película, que en adelante se denominará TiO<sub>2</sub>-CuO.

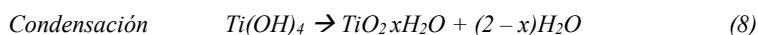
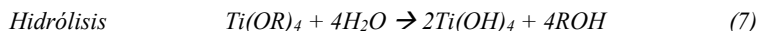
## PARTE EXPERIMENTAL

A continuación, se muestra la parte experimental del trabajo y las caracterizaciones realizadas, a los componentes del electrodo de trabajo y a la celda solar.

### Depósito de la capa de bloqueo de $\text{TiO}_2$

Esta capa de bloqueo de  $\text{TiO}_2$  se depositó sobre el sustrato de vidrio conductor ( $\text{SnO}_2:\text{F}$ ) por la técnica de rociado pirolítico, en la configuración final se encuentra entre la película mesoporosa de  $\text{TiO}_2$  y el sustrato conductor. La solución precursora a rociar fue isopropóxido de titanio diluido en alcohol isopropílico, en porcentaje de 20 a 80%, y manteniendo el sustrato a  $350\text{ }^\circ\text{C}$  de temperatura.

Las reacciones que se postulan serían las que evolucionan en el camino que recorre la nube desde la solución hasta el sustrato<sup>7</sup>.



En la figura 2 se muestra el esquema del equipo de rociado pirolítico usado en el laboratorio para depositar las capas de bloqueo. En este proceso se realizó un estudio del número de recorridos del sustrato con los que las celdas de  $\text{TiO}_2\text{-CuO}$  alcanzaron la mejor eficiencia solar.



Figura 2. Esquema del equipo de rociado pirolítico.

### Síntesis de partículas de CuO

El óxido de cobre, empleado en el recubrimiento  $\text{TiO}_2\text{-CuO}$ , se sintetizó preparando una solución hidro-alcohólica de sulfato de cobre (5 mM), que se colocó dentro de un baño ultrasónico (Cole-Parmer - 42 kHz, 130 W)<sup>8</sup>, por 1,5 h a 60 °C. Luego se llevó a un pH~9 por medio de gotas de hidróxido de amonio al 25%, que es el punto en el que empieza la precipitación del CuO. El polvo de CuO obtenido se lavó agregando agua destilada, se centrifugó y secó a 80 °C durante 2 horas.

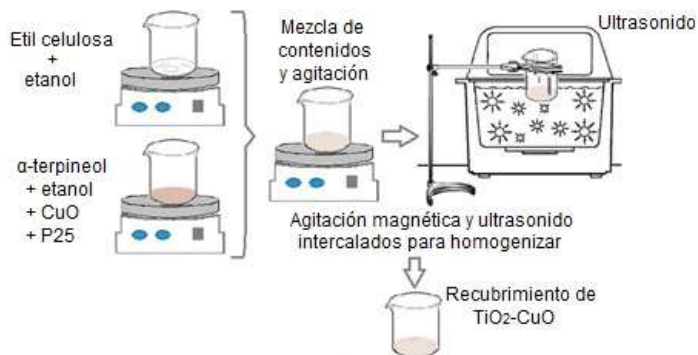
### Elaboración del electrodo de trabajo modificado ( $\text{TiO}_2\text{-CuO}$ )

Para la preparación del recubrimiento, se diluyó 0,12 g de etil celulosa y en 1 ml de etanol, se agitó durante unos minutos, hasta volverse una solución densa; aparte se pesaron 0,8 g de  $\alpha$ -terpineol y se le agregó 0,5 ml de etanol, se agitó manualmente. Luego se agregó la cantidad de CuO deseada (de 0 a 1,67 % p/p, ver tabla 1), respecto al polvo de  $\text{TiO}_2$  (Degussa P25). Se agitó un par de minutos y se agregó la solución de etil celulosa con etanol. Para homogenizar la pasta, se aplicó un proceso intercalado de agitación magnética y ultrasonido durante algunos minutos, en la figura 3 se describe gráficamente esta preparación. Luego, la pasta modificada  $\text{TiO}_2\text{-CuO}$  obtenida fue depositada sobre el vidrio conductor por el método del doctor Blade<sup>9</sup>. Estos recubrimientos, luego de secarse por unas horas, fueron sometidos a tratamiento térmico, con una rampa de 4 °C/min hasta 500 °C. Finalmente, estos recubrimientos fueron sensibilizados, es decir, fueron sumergidos en una solución alcohólica del colorante, de concentración 0,5 mM, durante 15 horas en oscuridad. Finalmente, se procedió a sellar la celda, que consistió en colocar una capa de Surlyn, entre el electrodo de trabajo y el contraelectrodo, derritiéndola hasta que selle. En el contraelectrodo, previamente, se hizo 2 orificios, por uno de ellos se inyectó el electrolito y se colocó una capa de Surlyn y, posteriormente, un vidrio para sellar dichos orificios, como se muestra en la figura 3.

**Tabla 1.** Valores de % peso del CuO respecto al  $\text{TiO}_2$ , usados en el trabajo.

% p/p CuO/TiO <sub>2</sub>
0,00
0,17
0,33
0,67
1,00
1,33
1,67





**Figura 3.** Esquema de la preparación del electrodo de trabajo constituido por recubrimientos de  $\text{TiO}_2$ - $\text{CuO}$ .

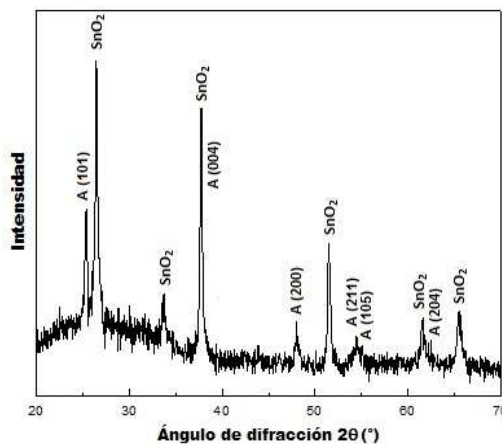
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se presentan los resultados de las caracterizaciones realizadas.

### Difracción de Rayos X

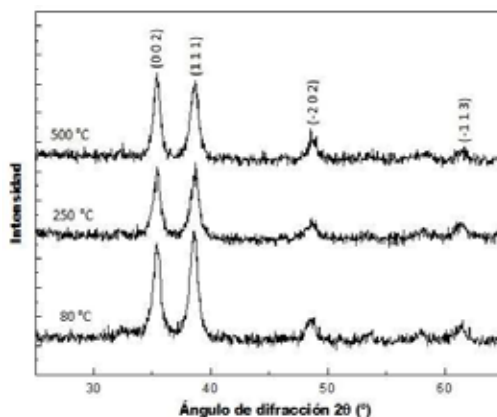
La caracterización por DRX de las muestras de  $\text{TiO}_2$  y  $\text{CuO}$  fueron analizadas por el difractómetro RIGAKU Miniflex II Desktop X Ray, con ánodo de  $\text{Cu}$ , operado con radiación  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda = 0,1540562$  nm), en un montaje experimental convencional  $\theta$ - $2\theta$ .

La figura 4 muestra el patrón de difracción de una capa de bloqueo de  $\text{TiO}_2$  obtenida por rociado pirolítico. Los picos de difracción corresponden a las reflexiones (101), (004), (200), (211), (105) y (204) de la fase anatasa del  $\text{TiO}_2$  para los ángulos 25, 38, 48, 54, 55 y 63°, respectivamente. Empleando el programa TOPAS10 se obtuvo que el tamaño promedio de los cristales para la fase anatasa fue de 60 nm.



**Figura 4.** Difractograma de rayos X para una capa de bloqueo de  $\text{TiO}_2$  depositada por rociado pirolítico sobre sustrato de vidrio recubierto de  $\text{SnO}_2$ :F.

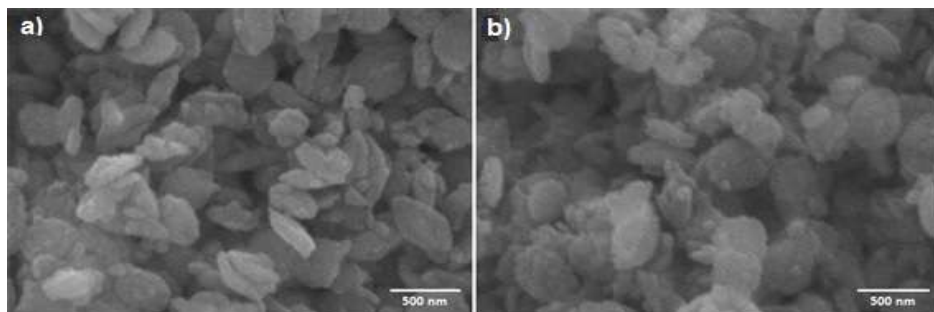
La figura 5 muestra los difractogramas de rayos X de una serie de 3 muestras en polvo de CuO, sometidas a tratamiento térmico de 80, 250 y 500 °C. Con el programa TOPAS, el tamaño de los cristales resultó 9, 9 y 10 nm para las temperaturas de 80, 250 y 500 °C, respectivamente. Se observa que este rango de temperatura no afecta el tamaño de los dominios cristalinos.



**Figura 5.** Difractogramas de rayos X de partículas de CuO, con tratamientos térmicos a diferentes temperaturas.

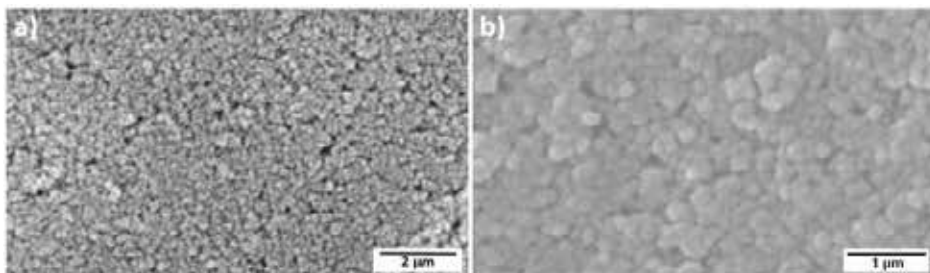
### Microscopía electrónica de barrido

El microscopio electrónico de barrido, usado en este trabajo, fue el Vega3 TESCAN, operado a 20 kV. La figura 6 corresponde a las micrografías electrónicas de barrido de partículas de CuO, con tratamientos térmicos de 80 y 500 °C, ambos polvos muestran conglomerados de formas ovoides, laminares y esféricas, con tamaños que varían desde 50 hasta 500 nm. Se evidencia que en este rango de temperatura los conglomerados cristalinos no modifican su morfología, de manera análoga que, para el caso de los dominios cristalinos, observados por DRX.



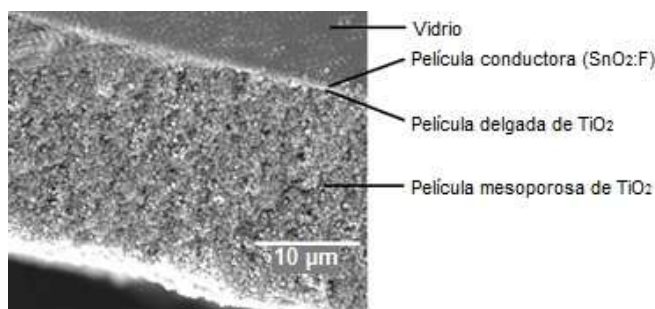
**Figura 6.** Micrografía electrónica de barrido de partículas de CuO. a) 80 °C, b) 500 °C.

La figura 7 muestra micrografías de una película de  $\text{TiO}_2$ - $\text{CuO}$  (0,33 % p/p) depositada sobre sustrato de vidrio pre-cubierto con  $\text{SnO}_2$ :F. En estas micrografías (de distintas ampliaciones) se observa una distribución uniforme de los conglomerados cristalinos, los cuales presentan un tamaño  $\sim 100$  nm, además se observan escasas cavidades superficiales. De estas micrografías no se reconoce la presencia de  $\text{CuO}$  en el  $\text{TiO}_2$ .



**Figura 7.** Micrografía electrónica de barrido de una película de  $\text{TiO}_2$  -  $\text{CuO}$ . a) 13 kX y (b) 27 kX de magnificación.

La figura 8 corresponde a la micrografía electrónica de barrido de la sección transversal de un electrodo de trabajo, el cual constó de un sustrato de vidrio pre-cubierto con  $\text{SnO}_2$ :F, sobre el cual se depositó una capa de bloqueo de  $\text{TiO}_2$  por rociado pirolítico y sobre esta se depositó una película mesoporosa de  $\text{TiO}_2$ , por el método del doctor Blade. En la figura se indican las posiciones de estos materiales y se estima que el grosor de la película mesoporosa es de  $20 \mu\text{m}$ , aproximadamente, mientras que la película delgada o capa de bloqueo de  $\text{TiO}_2$  no se logró resolver por esta técnica.



**Figura 8.** Micrografía electrónica de barrido de una película de  $\text{TiO}_2$ - $\text{CuO}$ .

### **Espectroscopía infrarroja transformada de Fourier**

Estas medidas se realizaron usando el espectrómetro infrarrojo IR Prestige 21 Shimadzu en el modo transmisión. Para analizar las muestras de  $\text{TiO}_2$  y  $\text{CuO}$  (0,0005 g) se prepararon pastillas con KBr (0,06 g). La figura 9 muestra los espectros FTIR, para las muestras en polvo de  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{TiO}_2$ - $\text{CuO}$  y  $\text{CuO}$ . Los espectros de  $\text{TiO}_2$  y  $\text{TiO}_2$ - $\text{CuO}$  muestran un pico amplio en  $580 \text{ cm}^{-1}$  debido al  $\text{TiO}_2$  asignado al modo stretching del enlace  $\text{O-Ti-O}^{11}$ . Los espectros

de  $\text{TiO}_2\text{-CuO}$  son bastante parecidos al de  $\text{TiO}_2$ , no se observan picos adicionales debido a la adición de  $\text{CuO}$ . En el espectro de  $\text{CuO}$  se observan picos a 426, 546 y 597  $\text{cm}^{-1}$  que se asignan a los modos stretching característicos del enlace  $\text{Cu-O}^{12}$ .

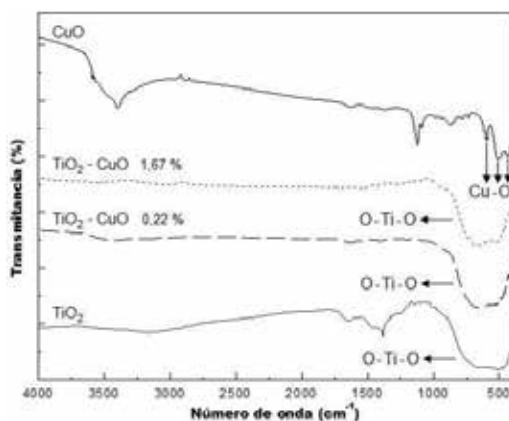


Figura 9. Espectros FTIR de nanopartículas de  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{TiO}_2\text{-CuO}$  y  $\text{CuO}$ .

### Curva característica corriente – voltaje (I-V)

El montaje de medición experimental constó de una lámpara de 250 W, que brindó una irradiancia de 1000  $\text{W/m}^2$  sobre la celda evaluada de área 0,25  $\text{cm}^2$ , un banco óptico, un filtro IR, y un sistema de adquisición de datos voltaje-corriente. Todo el sistema se ubicó dentro de una cámara oscura<sup>5</sup>. Para verificar si la capa de bloqueo disminuyó procesos de transferencia de electrones que representen pérdidas, se fabricaron películas con diferente número de recorridos de rociado pirolítico, para obtener diferentes espesores, donde de cada recorrido se espera tener un espesor aproximado de 10  $\text{nm}^6$ . Luego se evaluaron sus curvas I-V. La figura 10 muestra los resultados obtenidos.

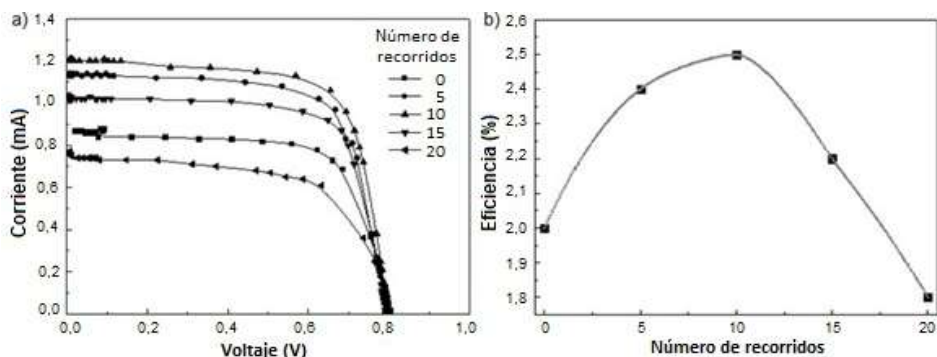
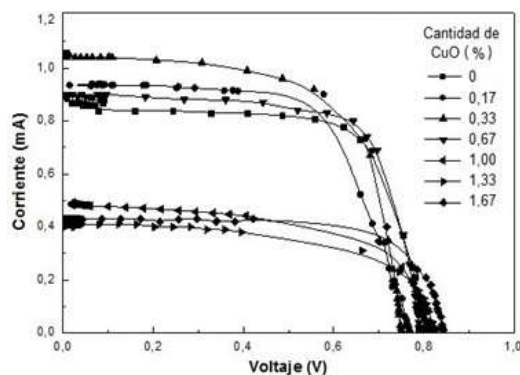


Figura 10. a) Curvas I-V de celdas de  $\text{TiO}_2$  mesoporoso con capas de bloqueo de diferente número de recorridos del sistema de rociado pirolítico, b) eficiencia solar de la celda vs número de recorridos del sistema de rociado pirolítico.

Se observa que la mejor eficiencia corresponde a la capa de bloqueo que tiene 10 recorridos del sistema de rociado pirolítico, lo que correspondería a un espesor aproximado de 100 nm. Después de determinar el valor óptimo para la capa de bloqueo se procedió a elaborar las películas TiO<sub>2</sub>-CuO, tal como se describió en la figura 3, variando la cantidad de CuO, de acuerdo a la tabla 1. La figura 11 muestra las curvas I-V obtenidas, donde la mejor eficiencia se observa para la celda construida con el recubrimiento TiO<sub>2</sub>-CuO, al 0,33 % p/p de CuO.

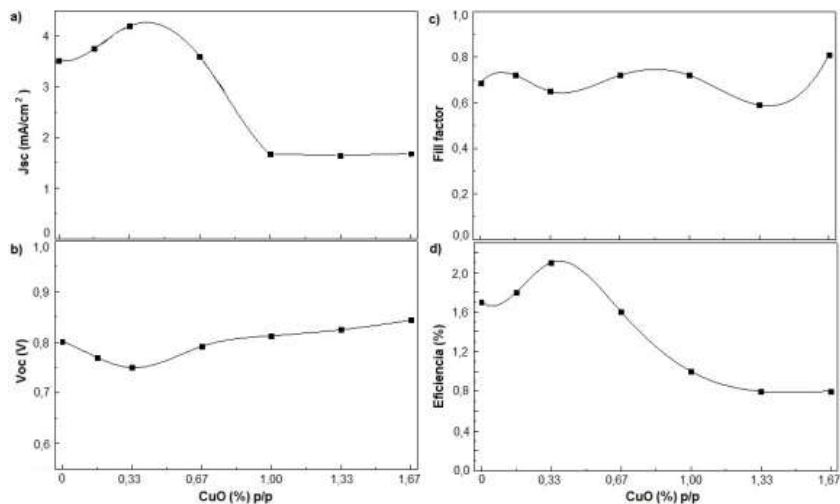


**Figura 11.** Curvas I - V obtenidas con diferentes cantidades de % p/p de CuO.

Se observó que para las celdas, cuyos recubrimientos contuvieron 0,17, 0,33 y 0,67% p/p de CuO, la corriente aumentó con respecto a la celda de solo TiO<sub>2</sub>, especialmente la que contuvo 0,33% de CuO; mientras que los valores de Voc variaron entre 0,77 y 0,79 V, lo que originó un aumento de eficiencias. Por otro lado, para las celdas cuyos recubrimientos contuvieron 1,00, 1,33 y 1,67% p/p de CuO se observó una disminución abrupta de la corriente, disminuyendo su eficiencia con respecto a la celda de solo TiO<sub>2</sub>. Sin embargo, los valores de Voc presentaron un ligero aumento (0,81 a 0,84 V). La tabla 2 muestra en detalle los parámetros de corriente de corto circuito (Jsc), voltaje de circuito abierto (Voc), factor de forma (FF) y eficiencia ( $\eta$ ) para cada una de estas celdas, y estos se grafican en la figura 12 en función de la concentración del CuO.

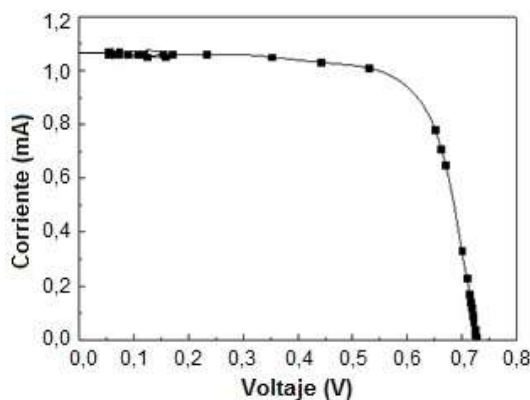
**Tabla 2.** Performance de las celdas sensibilizadas basadas en electrodos de TiO<sub>2</sub>-CuO.

Muestra % p/p CuO	Jsc (mA/cm <sup>2</sup> )	Voc (V)	FF (%)	$\eta$ (%)
TiO <sub>2</sub> (0 %)	3,52	0,80	0,69	1,7
TiO <sub>2</sub> -CuO (0,17 %)	3,75	0,77	0,72	1,8
TiO <sub>2</sub> - CuO (0,33 %)	4,20	0,75	0,65	<b>2,0</b>
TiO <sub>2</sub> - CuO (0,67 %)	3,60	0,79	0,72	1,6
TiO <sub>2</sub> - CuO (1,00 %)	1,67	0,81	0,72	1,0
TiO <sub>2</sub> - CuO (1,33 %)	1,64	0,82	0,59	0,8
TiO <sub>2</sub> - CuO (1,67 %)	1,68	0,84	0,81	0,8



**Figura 12.** Curvas de a) Densidad de corriente de corto circuito ( $J_{sc}$ ), b) voltaje de circuito abierto ( $V_{oc}$ ), c) *Fill factor* (FF) y d) eficiencia solar de la celda ( $\eta$ ) vs. cantidad de cobre presente en el electrodo de trabajo.

La figura 13 presenta la curva I-V para la celda fabricada con capa de bloqueo (de 10 recorridos) y un recubrimiento  $TiO_2$ -CuO (0,33 % p/p), que resulta ser la celda óptima.



**Figura 13.** Curva característica (I - V) de la celda solar de  $TiO_2$ -CuO modificada con 0,33% de CuO y fabricada con capa de bloqueo.

**Tabla 3.** Valores de la celda óptima.

$J_{sc}$ (mA/cm <sup>2</sup> )	$V_{oc}$ (V)	FF (%)	$\eta$ (%)
4,20	0,73	0,69	2,1

### Eficiencia en la conversión fotón incidente a electrón generado (IPCE)

El sistema empleado para estas mediciones estuvo constituido por una lámpara de xenón de 1000 W, un sistema óptico constituido por un monocromador, un semiespejo, un espectrofotómetro y un sistema de adquisición de datos. Se trabajó con un arreglo de 2 electrodos, considerando el rango de longitudes de onda entre 400 y 700 nm.

La película de  $\text{TiO}_2\text{-CuO}$  (0,33% p/p de  $\text{CuO}$  con la película de bloqueo de 10 recorridos) presentó un máximo de 56,9% para una longitud de onda de 530 nm, que corresponde al máximo de absorción de colorante<sup>13</sup>. Mientras que la película de solo  $\text{TiO}_2$  presentó un máximo de 52,1%, para la misma longitud de onda. Por otro lado, la película de  $\text{TiO}_2\text{-CuO}$  (1,67% p/p de  $\text{CuO}$ ), mostró un máximo de 22,6% en 548 nm.

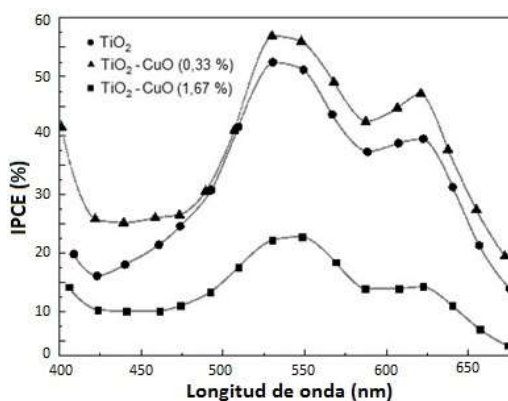


Figura 14. Eficiencia de conversión de fotón incidente a electrón generado.

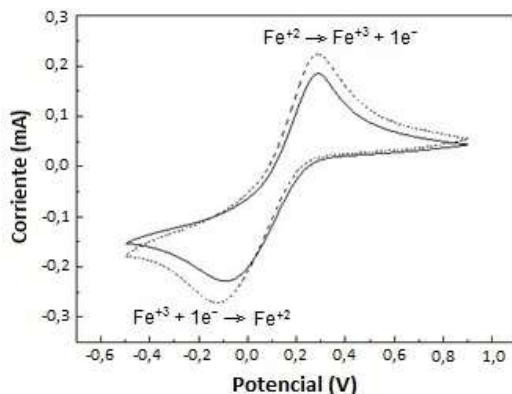
### Voltametría cíclica

Se realizó la voltametría cíclica en un sistema de tres electrodos, donde el electrodo de trabajo fue un recubrimiento de  $\text{TiO}_2\text{-CuO}$ , preparado con diferentes concentraciones de  $\text{CuO}$  (0, 0,33 y 1,67%) depositado sobre un sustrato conductor. Las medidas se realizaron en oscuridad (líneas sólidas) y bajo iluminación (líneas punteadas). Para la iluminación se empleó una lámpara UV, con componente en el rango UV-A y UV-B. El potencial de barrido fue de 50 mV/s para todas las medidas. El electrodo de referencia fue  $\text{Ag}/\text{AgCl}$  saturado en sal de cloruro de potasio, el contraelectrodo fue una punta de platino y se midió en un electrolito de ferricianuro de potasio. Se usó el potenciostato / galvanostato, modelo 263A Princeton Applied Research.

### Electrodo de trabajo mesoporoso de $\text{TiO}_2$ con 0% de $\text{CuO}$

En la figura 15 se muestran los voltagramas cíclicos de una película de  $\text{TiO}_2$ . En oscuridad (línea negra) se observó un pico catódico alrededor de -0,12 V correspondiente a la reducción del  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ , y el pico anódico alrededor de 0,29 V del  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ . En el análisis bajo iluminación (líneas punteadas) se observa en los voltagramas que la corriente aumentó

respecto al proceso en oscuridad, indicando que la iluminación (predominante a 350 nm) sobre el  $\text{TiO}_2$  favorece las reacciones redox del sistema  $\text{Fe}^{+3}/\text{Fe}^{+2}$ .



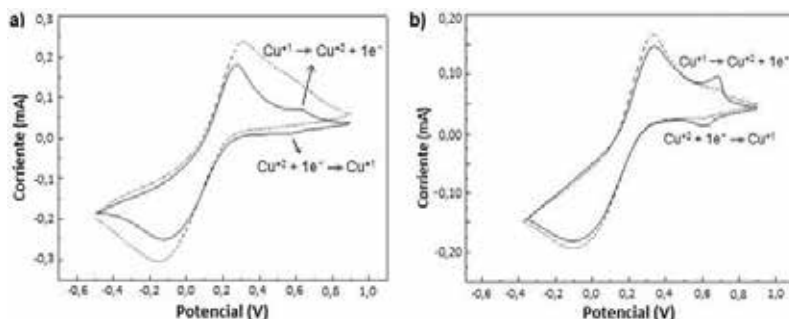
**Figura 15.** Voltagramas cíclicos de la película de  $\text{TiO}_2$ , proceso sin luz (línea sólida) y proceso con luz (línea punteada).

### Electrodo de trabajo mesoporoso modificado $\text{TiO}_2$ -CuO con 0,33 y 1,67% de CuO

La figura 16 a) corresponde a los voltagramas cíclicos de una película de  $\text{TiO}_2$ -CuO con 0,33% de CuO, durante la medición sin luz, además de los picos de oxidación/reducción del electrolito, se observan también dos picos pequeños adicionales en el recorrido anódico (0,64 V) y en el recorrido catódico (0,56 V). Los cuales se atribuyen a los procesos  $\text{Cu}^{+1}/\text{Cu}^{+2}$  y  $\text{Cu}^{+2}/\text{Cu}^{+1}$ , respectivamente<sup>14</sup>. Durante el barrido bajo iluminación (líneas punteadas) se distingue un aumento de transferencia de carga en los recorridos anódico y catódico; sin embargo, en el primero, este es más notorio debido a un solapamiento de los dos picos que se observan en el proceso sin luz. Además, se observa que ambos picos se han desplazado hacia un potencial más positivo, para el caso del pico anódico, y un potencial más negativo, para el pico catódico, lo que indicaría que hay un desplazamiento de la banda de conducción del  $\text{TiO}_2$ . Luego del barrido bajo iluminación, ya no se observa el pico del Cu, lo que señalaría que el Cu ya no se encuentra en el electrodo.

Análogamente, en la figura 16 b) se muestran los voltagramas de la película de  $\text{TiO}_2$ -CuO con 1,67% de CuO. En el proceso sin luz se observa la presencia notoria del pico anódico (640 mV), atribuido al proceso de oxidación de  $\text{Cu}^{+1}/\text{Cu}^{+2}$ , y catódico (620 mV) asignado a la reducción de  $\text{Cu}^{+2}/\text{Cu}^{+1}$ . Estos picos son mucho más pronunciados que en el caso anterior donde el electrodo de trabajo contuvo 0,33% de CuO, lo que concordaría con la mayor presencia de CuO. Durante la voltametría con luz (líneas punteadas), los picos asignados a la oxidación/reducción del  $\text{Cu}^{+1}/\text{Cu}^{+2}$ , han desaparecido casi totalmente, lo que indica que el CuO ya no se encuentra más en el electrodo, obteniéndose en definitiva una reacción irreversible.





**Figura 16.** Voltagramas cíclicos de recubrimientos  $\text{TiO}_2$ - $\text{CuO}$  con a) 0,33% y b) 1,67% de  $\text{CuO}$ , en procesos sin luz (línea sólida) y con luz (línea punteada)

## CONCLUSIONES

Se prepararon celdas solares sensibilizadas selladas empleando electrodos de trabajo modificados ( $\text{TiO}_2$ - $\text{CuO}$ ). Estos recubrimientos fueron depositados sobre sustratos conductores pre-cubiertos con una capa de bloqueo de  $\text{TiO}_2$ . Las condiciones óptimas para la concentración del  $\text{CuO}$  y la capa de bloqueo se determinaron considerando el valor de la eficiencia solar que alcanzó 2,1% para una concentración de 0,33 de  $\text{CuO}$ , y una capa crecida con 10 recorridos de rociado.

La caracterización de las partículas de  $\text{CuO}$  mostró que estas se presentaron en forma de conglomerados cristalinos de tamaños entre 50 y 500 nm constituidos a su vez por dominios cristalinos de aproximadamente 10 nm. Los cuales no pudieron ser identificados en los electrodos de trabajo modificados  $\text{TiO}_2$ - $\text{CuO}$ , empleando técnicas como microscopía electrónica de barrido y FTIR, debido a la baja concentración del  $\text{CuO}$  en el  $\text{TiO}_2$ . Sin embargo, mediante voltametría cíclica se identificaron los picos de oxidación/reducción de las especies  $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$ .

El aumento de eficiencia en las celdas solares, debido a la presencia de pequeñas cantidades de  $\text{CuO}$  (0,33%) en el recubrimiento mesoporoso de  $\text{TiO}_2$ , disminuiría reacciones de recombinación. Sin embargo, el aumento posterior de  $\text{CuO}$  en los electrodos modificados ocasionó una disminución de la corriente en las celdas solares, lo que podría estar asociado a aspectos como un pobre anclaje del colorante sobre la superficie del  $\text{CuO}$ <sup>15</sup>, o al desplazamiento de los niveles de energía del semiconductor con relación al colorante y el electrolito, lo que no favorecería la inyección de los electrones que atraviesan el electrodo nanoestructurado para llegar al contacto posterior.

## AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue desarrollado bajo el auspicio del Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC).

Los autores agradecen a la Dra. Elizabeth Carrera y al Dr. Luis Angelats, por los análisis de SEM, al Bach. Carlos Castillo por las mediciones de IPCE, y al Bach. Alejandro Arana, por su ayuda en las mediciones de voltametría cíclica. Uno de nosotros (M.M.G.) agradece al Instituto General de Investigación de la Universidad Nacional de Ingeniería por la financiación otorgada como Docente Investigador.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Boyle, G. Renewable Energy. 2004, University Press: Oxford.
2. O'Regan; B. and M. Grätzel. A low-cost, high-efficiency solar cell based on dye-sensitized colloidal TiO<sub>2</sub> films. *Nature*, 1991. **353**: 737-740.
3. Nazeeruddin, M.K., E. Baranoff, and M. Grätzel. Dye-sensitized solar cells: A brief overview. *Sol. Energ.*, 2011. **85**(6): 1172-1178.
4. Gratzel, M. Recent advances in sensitized mesoscopic solar cells. *Acc Chem Res*, 2009. **42**(11): 1788-98.
5. Galicia, M., J. Solís, and M. Gómez. Fabricación y caracterización de celdas solares sensibilizadas de TiO<sub>2</sub> modificado con nanopartículas de NiO. *Rev. Soc. Quím. Perú*, 2016. **81**(1): 87-99
6. Nazario, R., et al. Evaluación de capas de bloqueo en celdas solares sensibilizadas de óxido de titanio nanoestructurado. *Rev. Soc. Quím. Perú*, 2015. **81**(2): 109-122.
7. Jiang, C., et al. Influences of alcoholic solvents on spray pyrolysis deposition of TiO<sub>2</sub> blocking layer films for solid-state dye-sensitized solar cells. *J. Solid State Chem.*, 2013. **198**: 197-202.
8. J.L. Capelo-Martínez. "Ultrasound in Chemistry: Analytical Applications", Editorial Wiley-VCH, Weinheim, Alemania. 2009, 1.
9. J.C. Williams. "Treatise on Materials Science and Technology", Editorial Elsevier, New York, USA. 1976, 173
10. TOPAS Academic V5, <http://www.topas-academic.net/2012> (último acceso 08 noviembre 2016)
11. Gharagozlou, M. and S. Naghibi. Preparation of vitamin B12-TiO<sub>2</sub> nanohybrid studied by TEM, FTIR and optical analysis techniques. *Mater. Sci. Semicond. Process.*, 2015. **35**: 166-173.
12. Bhattacharjee, A. and M. Ahmaruzzaman. Facile synthesis of 2-dimensional CuO nanoleaves and their degradation behavior for Eosin Y. *Mater. Lett.*, 2015. **161**: 20-25.
13. Saxena, V., et al. Co-sensitization of N719 and RhCL dyes on carboxylic acid treated TiO<sub>2</sub> for enhancement of light harvesting and reduced recombination. *Org. Electron*, 2013. **14**(11): 3098-3108.
14. Shakeela, K., et al. Electrochemical behaviour of Cu(II)/Cu(I) redox couple in 1-hexyl-3-methylimidazolium chloride ionic liquid. *J. Chem. Sci.*, 2015. **127**(1): 133-140.
15. Park, J.-Y., et al. Copper and nitrogen doping on TiO<sub>2</sub> photoelectrodes and their functions in dye-sensitized solar cells. *J. Power Sources*, 2016. **306**: 764-771.

## MODIFICACIÓN ÁCIDA DEL CARBÓN ACTIVADO Y LA INFLUENCIA DEL GRUPO SUSTITUYENTE EN LA ADSORCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS

Edwin Javier Aylas Orejón<sup>1</sup>, Gino Picasso Escobar<sup>2</sup>, María del Rosario Sun Kou<sup>1</sup>

### RESUMEN

En este trabajo, se ha estudiado la influencia de grupos funcionales oxigenados en la capacidad adsorptiva de un carbón activado (CA) preparado a base de semillas de aguaje (*Mauritia flexuosa* L.F.) por activación química con ácido fosfórico. Luego el carbón activado fue oxidado con ácido nítrico y se comparó la capacidad adsorptiva del carbón activado (CA) y del carbón activado oxidado (ACA) en la adsorción de compuestos fenólicos: fenol, 4-clorofenol y 4-nitrofenol. La caracterización de ambos carbones activados se realizó a través de las técnicas de adsorción-desorción de nitrógeno, titulación Boehm, microscopía electrónica de barrido (SEM) y espectroscopía FTIR. La muestra oxidada (ACA) mostró un aumento en el área microporosa de 756 m<sup>2</sup>/g a 1272 m<sup>2</sup>/g, de igual manera los grupos funcionales oxigenados totales aumentó de 4,22 mmolH<sup>+</sup>.g<sup>-1</sup> a 4,82 mmolH<sup>+</sup>.g<sup>-1</sup> y el punto de carga cero (pHPZC) se redujo de 2,450 a 2,014. Se encontró que hay una fuerte influencia del grupo sustituyente en la adsorción del carbón. El aumento de los grupos funcionales oxigenados disminuyó la capacidad adsorptiva de los carbones activados. La capacidad de adsorción tanto del CA y ACA mostró el siguiente orden: 4-nitrofenol > 4-clorofenol > fenol. Se encontró que el modelo de pseudo segundo orden correlacionó mejor los datos experimentales.

**Palabras clave:** Carbón activado, oxidación, compuestos fenólicos

## ACID MODIFICATION OF ACTIVATED CARBONS AND THE INFLUENCE OF SUBSTITUENT GROUP IN THE ADSORPTION OF PHENOLIC COMPOUNDS

### ABSTRACT

In this work, it has been studied the influence of oxygenated functional groups on adsorption property of an activated carbon (CA), which was prepared from aguaje seeds (*Mauritia flexuosa* L. F.) by a chemical activation with phosphoric acid. Later the activated carbon was oxidized with nitric acid. The adsorptive capacity of phenolic compounds such as phenol, 4-chlorophenol and 4-nitrophenol were compared using both of the adsorbents, the activated

<sup>1</sup> Sección Química – Departamento de Ciencias. Pontificia Universidad Católica del Perú. Av. Universitaria 1801. Lima 32. San Miguel. Lima-Perú. \*Email: msun@pucp.edu.pe.

<sup>2</sup> Laboratorio de Investigación de Físicoquímica (LABINFIS). Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Ingeniería. Av. Túpac Amaru 210. Rímac. Lima-Perú

carbon (CA) and the oxidized activated carbon (ACA). The characterizations of both activated carbons were analyzed by nitrogen adsorption measurements, Boehm titration, scanning electron microscopy (SEM) and FTIR spectroscopy. The oxidized sample (ACA) showed an increase in the microporous area from 756 m<sup>2</sup>/g to 1272 m<sup>2</sup>/g, likewise ACA presented an increase in the concentration of oxygenated functional groups from 4,22 mmolH<sup>+</sup>.g<sup>-1</sup> to 4,82 mmolH<sup>+</sup>.g<sup>-1</sup>. In contrast, the point of zero charge (pHPZC) decreased from 2,450 to 2,014. This suggested that there is a strong influence of the substituent group on the carbon adsorption. The increase in the oxygenated functional groups originated the decrease in the adsorptive capacity of activated carbons. The adsorption capacity of both carbons CA and ACA showed the following order: 4-nitrophenol > 4-chlorophenol > phenol. It was found that the pseudo second-order model was the best fit model for the experimental data.

**Key words:** Activated carbon, oxidation, phenolic compounds

## INTRODUCCIÓN

Los carbones activados son utilizados en el tratamiento de aguas<sup>1</sup> con la finalidad de adsorber, entre otros contaminantes, los metales pesados. Esto es debido a dos factores que presentan: la textura y la química superficial. Se han realizado trabajos de tratamientos específicos<sup>2</sup> con la finalidad de mejorar estas propiedades y así aumentar la versatilidad de su empleo. Uno de los tratamientos más utilizados es la oxidación ácida de los carbones activados con ácido nítrico, pues con ello se aumenta la cantidad de grupos oxigenados en la superficie del carbón, como se ha comprobado en algunos trabajos<sup>3,4</sup> y ha sido un factor determinante en la adsorción de metales.

Por otro lado, se ha encontrado que el aumento de los grupos oxigenados en la superficie del carbón ocasiona la disminución de la capacidad adsorptiva de los carbones hacia los contaminantes orgánicos, especialmente los derivados fenólicos<sup>5</sup>. Por esta razón, el presente trabajo se ha orientado al estudio de la influencia que la oxidación ácida tiene sobre la adsorción de compuestos fenólicos con diferentes grupos sustituyentes y al análisis de la relación que estos tienen en el proceso de adsorción usando carbones activados.

Coughlin y Ezra<sup>6</sup> propusieron que cuando el fenol se adsorbe, a partir de disoluciones diluidas, lo hace de forma que su anillo aromático queda paralelo a las láminas de grafeno de la superficie del carbón. De esta forma, la adsorción se produce mediante interacciones electrostáticas entre los electrones  $\pi$  del anillo aromático y los electrones  $\pi$  de las láminas de grafeno.

La presencia de grupos sustituyentes en el anillo aromático produce cambios en la solubilidad de los compuestos fenólicos, en el carácter ácido y nucleofílico. Así, el grupo (-OH) es considerado fuertemente activante, el átomo de cloro (-Cl) es débilmente desactivante, mientras que el grupo (-NO<sub>2</sub>) es fuertemente desactivante. Esto causa que la afinidad relativa entre el carbón y el compuesto fenólico varíe considerablemente.

Para poder corroborar esta relación entre los grupos sustituyentes y su retención en la superficie del adsorbente, se ha estudiado la adsorción del fenol, 4-clorofenol y 4-nitrofenol, tanto en carbón activado, como en carbón activado oxidado con ácido nítrico.

## PARTE EXPERIMENTAL

### A) Preparación de carbón activado (CA)

El carbón activado (CA) se preparó a partir de semillas de aguaje (*Mauritia flexuosa* L.F.) por activación química con ácido fosfórico usado como agente activante<sup>7</sup>. Inicialmente, el precursor fue reducido de tamaño en forma granular y se tamizó hasta obtener un tamaño uniforme de partícula (3-5 mm). La impregnación se llevó a cabo a 85°C durante 2 h con soluciones de ácido fosfórico con una relación de impregnación de 0,75 gH<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>/gprecursor. Después de la impregnación, las muestras se carbonizaron a 600 °C con una velocidad de calentamiento de 8°C/min y con un flujo de nitrógeno de 250 mL/min. Finalmente, la muestra se lavó con agua destilada hasta obtener un pH=5, se secó a 100°C y tamizó hasta 0,25 mm (N°60-malla, ASTM).

### B) Oxidación del carbón activado (ACA) con ácido nítrico

Para el tratamiento de oxidación con ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>, 1M) se utilizó 2 g de CA, que se mezcló con 160 mL de la solución ácida durante 6 horas a 65°C; a continuación, la mezcla se filtró y el carbón se lavó con agua destilada a fin de eliminar los restos de ácido. Por último, la muestra oxidada se secó a 100°C durante 24 h. La muestra de carbón activado oxidado se denominó ACA.

### C) Caracterización de los carbones activados

La caracterización textural, química y morfológica de los carbones activados con y sin oxidación, se realizó utilizando las siguientes técnicas:

#### 1) Adsorción-desorción de N<sub>2</sub>

El área superficial y el volumen de poros de las muestras de carbón activado se evaluaron por adsorción-desorción de N<sub>2</sub> a 77 K en el rango de presiones relativas entre 0,005 a 1, en un equipo Gemini VII modelo 2390 t; el área superficial específica (SBET), se calculó mediante el modelo Brunauer-Emmett-Teller (BET). El volumen y área microporosa se determinó utilizando el método *t*-plot.

#### 2) Titulación Boehm- determinación de los grupos ácidos superficiales.

Para la determinación de los grupos ácidos superficiales por Titulación Boehm se preparó una serie de muestras, en cada una se pesó 0,02 g de carbón activado y se mezcló con 20 mL de soluciones de hidróxido de sodio (NaOH), carbonato de sodio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) y bicarbonato de sodio (NaHCO<sub>3</sub>), cada una de concentración 0,05 M, respectivamente. Las soluciones se mantuvieron a temperatura ambiente, con agitación constante durante 24 h. Se titularon alícuotas de 5 mL de cada una de las soluciones con HCl de 0,05 M.

### 3) Espectroscopia infrarroja (FTIR)

La espectroscopia infrarroja permitió determinar la presencia de los diferentes grupos funcionales, los cuales poseen un pico característico en las diferentes zonas del infrarrojo. Previo al ensayo, la muestra a analizar fue secada en la estufa a 100°C por 24 h. Se pesó 0,01 g de la muestra la cual fue pulverizada y mezclada con 0,09 g de KBr(s) en un mortero de ágata. La mezcla fue comprimida en una prensa hasta obtener una pastilla fina, la cual fue colocada en el espectrómetro Perkin Elmer modelo Spectrum 100 FTIR y fue analizada en el rango espectral de 4000 - 400  $\text{cm}^{-1}$ .

### 4) Determinación del punto de carga cero (pHPZC)

Para determinar el punto de carga cero, se preparó una serie de muestras, en cada una se pesó aproximadamente 500 mg de carbón activado y se mezcló con 20 mL de soluciones ácidas y básicas durante 24 h, se controló que el pH fuese igual a 2, 3, 4, 6 y 8. Para regular el pH, se utilizó HCl para las soluciones ácidas y NaOH para las soluciones básicas. Luego, la muestra se filtró y se determinó su pH utilizando un pHmetro WTW modelo 537 y un electrodo de pH con electrolitos líquidos de Ag/AgCl<sub>2</sub> (marca Sentix modelo 81). El pHPZC se obtuvo al graficar los valores de  $\Delta\text{pH}$  versus pH inicial.

### 5) Microscopía electrónica de barrido (SEM)

El análisis morfológico se realizó a través de la microscopía electrónica de barrido (SEM). Los ensayos se realizaron en un microscopio electrónico de barrido FEI Quanta 650. Las micrografías SEM fueron tomadas con tres tipos de sistemas de detección: electrones secundarios (SE), electrones retrodispersos (BSE) y detección mixta (MIX).

Previo al ensayo, la muestra a analizar se secó a 80 °C en la estufa durante 16 h para eliminar cualquier traza de humedad. Luego, se esparció una pequeña cantidad de la muestra en una oblea de carbono, hasta tener una superficie cubierta uniformemente. La oblea fue llevada al microscopio para el análisis morfológico (SEM). Las micrografías se obtuvieron con aumentos de 400X.

## D) Proceso de adsorción

En un trabajo previo se determinó el pH y la masa de adsorbente óptimo para la eliminación del fenol, 4-clorofenol y 4-nitrofenol con carbones activados preparados a partir de semillas de aguaje<sup>8</sup>. Previo a los ensayos de adsorción de los compuestos fenólicos, se determinó la curva de calibración con soluciones de 5, 10, 20, 40 y 60 ppm además de un blanco.

Los ensayos se realizaron por duplicado en un sistema por lotes y se determinó la concentración de los compuestos fenólicos al inicio y después de transcurrido un tiempo de contacto predeterminado hasta alcanzar la condición de equilibrio. Se analizó la señal del fenol a 270 nm, el 4-clorofenol a 280 nm y el 4-nitrofenol a 317 nm, utilizando un espectrofotómetro UV-Visible Perkin Elmer modelo Lambda 2 y se determinó la capacidad de adsorción (qt) mediante la siguiente ecuación:

$$q_t = \frac{V(C_0 - C_t)}{m} \quad (\text{Ec.1})$$

Donde,  $q_t$  es la capacidad de adsorción del compuesto fenólico (mg comp.fenólico/gCA),  $C_0$  y  $C_t$  son las concentraciones inicial y después de un tiempo  $t$ , respectivamente (mg comp. fenólico/L);  $V$  es el volumen de solución (L) y  $m$  es el peso de carbón activado (g).

### 1) Modelo cinético de pseudo primer orden

El modelo de pseudo primer orden define que la adsorción se da por la diferencia entre la capacidad de adsorción en el equilibrio ( $q_e$ ) y el obtenido a un tiempo  $t$  ( $q_t$ ). La ecuación linealizada se representa por:

$$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - k_1 t \quad (\text{Ec. 2})$$

Donde:

$q_e$ : capacidad de adsorción del adsorbato en la condición de equilibrio (mg/g)

$q_t$ : capacidad de adsorción del adsorbato a un tiempo  $t$  (mg/g)

$k_1$ : constante de velocidad del modelo de pseudo primer orden ( $\text{min}^{-1}$ )

$t$ : tiempo empleado en el ensayo de adsorción (min).

### 2) Modelo cinético de pseudo segundo orden

El modelo de pseudo segundo orden define el proceso considerando predominantemente una adsorción química del adsorbato sobre la superficie de los carbones activados. La forma linealizada de este modelo es:

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{1}{q_e} t \quad (\text{Ec.3})$$

Donde:

$q_t$ : capacidad de adsorción del adsorbato a un tiempo  $t$  (mg/g)

$t$ : tiempo empleado en el ensayo de adsorción (min)

$q_e$ : capacidad de adsorción del adsorbato en el equilibrio (mg/g)

$k_2$ : constante de velocidad del modelo de pseudo segundo orden (g/mg.min)

Se calculó la desviación estándar normalizada entre los valores experimentales y los valores calculados con los modelos cinéticos, con la finalidad de evaluar el mejor ajuste del modelo, la desviación estándar se calculó mediante la ecuación:

$$\Delta q_e (\%) = 100 \sqrt{\frac{\sum [q_{e(\text{exp})} - q_{e(\text{pro})} / q_{e(\text{exp})}]^2}{N-1}} \quad (\text{Ec. 4})$$

Donde:

$q_e(\text{exp})$  : valor experimental (mg/g)

$q_e(\text{pro})$  : valor correspondiente al  $q_e(\text{mg/g})$  pronosticado de acuerdo al modelo,

$N$  : número de mediciones.

El menor valor obtenido de la desviación estándar normalizada indica el mejor ajuste de los resultados experimentales.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

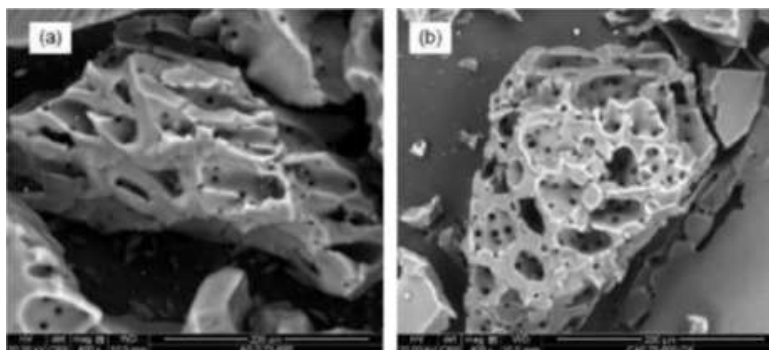
La tabla 1 muestra las características texturales del carbón activado (CA) y del carbón activado oxidado (ACA). La concentración del ácido nítrico (1M), temperatura (65°C) y tiempo de oxidación (6h), aplicados en la preparación de la muestra ACA se mantuvieron constantes a fin de mantener la superficie del carbón sin alteración. Los resultados muestran un aumento del área superficial y de la microporosidad del carbón con el proceso de oxidación (tabla 1). El cambio de la estructura porosa se atribuye a la mayor formación y posible reestructuración de los grupos ácidos oxigenados, como se observó por los resultados de Titulación Boehm. Similares resultados fueron encontrados por Rodríguez *et al.*<sup>9</sup> cuando oxidaron carbón activado con ácido nítrico y lo utilizaron en la adsorción de níquel. Chun *et al.*<sup>10</sup> mostraron que el tratamiento con ácido nítrico concentrado y con temperaturas elevadas producen deterioros del área superficial del adsorbente. Este efecto también fue reportado por Ríos *et al.*<sup>11</sup> y Aburub y Wirster<sup>12</sup>, quienes utilizaron ácido nítrico concentrado y tiempos de tratamiento de 24 a 38 h, ellos reportaron una reducción del área superficial del material adsorbente en 6,5% y 33,7%, respectivamente.

**Tabla 1.** Características texturales de los carbones: CA y ACA

Muestra	Área Total (m <sup>2</sup> /g)	Área mesoporosa (m <sup>2</sup> /g)	Área microporosa (m <sup>2</sup> /g)
CA	905	140	765
ACA	1410	138	1272

En la figura 1 se observa las micrografías SEM de las muestras CA y ACA. En ambos casos se evidencia la presencia de meso y microporosidad en el material. Se puede apreciar que la muestra ACA, presenta una superficie más irregular y con mayor porosidad en comparación con CA. Por otro lado, se confirma que el carbón activado mantiene su estructura inicial después del tratamiento de oxidación, sin mayores daños en el aspecto morfológico.





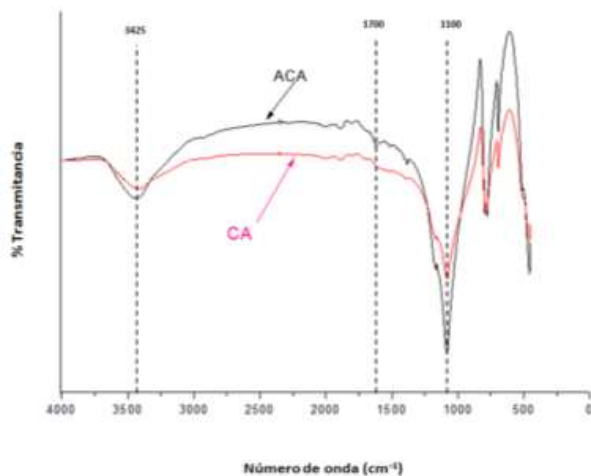
**Figura 1.** Micrografía SEM de las muestras (a) CA y (b) ACA, con aumento de 400X

La tabla 2 muestra los resultados obtenidos de los grupos oxigenados determinados por Titulación Boehm, así como también los valores del punto de carga cero de los materiales adsorbentes. El carbón activado (CA), muestra una variedad de grupos superficiales oxigenados (carboxílicos, lactónicos y fenólicos). Se puede observar en la muestra ACA que el proceso de oxidación incrementa la acidez total, favoreciendo la formación de grupos fenólicos (acidez débil) y principalmente carboxílicos (acidez medianamente débil), por otro lado, se redujo la presencia de los grupos lactónicos. Esta misma tendencia respecto a los grupos oxigenados, producto de la oxidación con ácido nítrico, se reportó en otros trabajos<sup>9,13,14</sup>. Por otro lado, los resultados del punto de carga cero muestran que ambos carbonos tienen una superficie ácida, la cual se incrementa con la oxidación del carbón, este resultado es concordante con los resultados obtenidos con la Titulación Boehm.

**Tabla 2.** Determinación de los grupos oxigenados superficiales y pH<sub>PZC</sub> de las muestras CA y ACA

Muestra	Grupos carboxílicos (mmolH <sup>+</sup> .g <sup>-1</sup> )	Grupos lactónicos (mmolH <sup>+</sup> .g <sup>-1</sup> )	Grupos fenólicos (mmolH <sup>+</sup> .g <sup>-1</sup> )	Grupos Ácidos Totales (mmolH <sup>+</sup> .g <sup>-1</sup> )	pH <sub>PZC</sub>
CA	1,12	3,08	0,03	4,22	2,450
ACA	4,10	0,05	0,67	4,82	2,014

Los espectros FTIR de los carbonos activados (figura 2), son consistentes con los valores de acidez total encontrados después del proceso de oxidación. Se puede apreciar un aumento en la intensidad de los picos característicos de los grupos funcionales oxigenados. En los espectros FTIR se aprecian tres bandas de interés: una ubicada a 3425 cm<sup>-1</sup>, asociada a las vibraciones de estiramiento O-H en alcoholes y ácidos carboxílicos. Una segunda banda a 1700 cm<sup>-1</sup>, de baja intensidad y que se aprecia mejor en la muestra ACA, es asociada a vibraciones de estiramiento de enlaces C=O de grupos carbonilos en aldehídos y cetonas, y la fuerte señal entre 1100-1000 cm<sup>-1</sup> atribuida a la presencia de enlaces simples C-O en ácidos carboxílicos. En los tres casos se aprecia un aumento en la intensidad de la señal con respecto al carbón original (CA). En estudios similares con ácido nítrico realizados por Figueredo *et al.*<sup>14</sup> también reportaron incrementos de estos grupos oxigenados.



**Figura 2.** Espectros FTIR de los carbones CA y ACA

### Proceso de adsorción

Se realizaron los ensayos cinéticos para determinar el tiempo de contacto necesario para alcanzar las condiciones de equilibrio. Las pruebas se realizaron a temperatura ambiente, utilizando una concentración inicial de 100 ppm de cada compuesto fenólico (adsorbato), siguiendo el procedimiento descrito anteriormente. En las figuras 3-5 se presentan las curvas cinéticas comparativas de ambos carbones obtenidas para la adsorción del fenol, 4-clorofenol y 4-nitrofenol, respectivamente. Todas las curvas mostradas son cóncavas y alcanzan una estabilidad (condición de equilibrio) en aproximadamente 3 h. Desde el inicio, las curvas se muestran muy cerca del eje qt, lo que indica una fuerte interacción adsorbato-adsorbente, que se evidencia por la mayor cantidad del adsorbato retenido sobre el adsorbente. La adsorción fue mayor para el 4-nitrofenol, seguido de 4-clorofenol y el fenol. Por otro lado, en los tres casos se observa para el carbón ACA, una disminución de la capacidad de adsorción de acuerdo al siguiente orden: fenol > 4-clorofenol > 4-nitrofenol.

El mecanismo de adsorción involucra la interacción de la densidad electrónica  $\pi$  deslocalizados en la superficie del adsorbente proveniente de las láminas de grafeno que componen los carbones CA y ACA, y la densidad electrónica  $\pi$  del anillo bencénico en la estructura de cada compuesto fenólico. Esto correspondería a un mecanismo de fisorción en el cual las especies involucradas se encuentran atraídas mediante fuerzas de van der Waals, es decir por atracciones electrostáticas.

Los grupos funcionales básicos en la superficie del carbón incrementan la densidad electrónica en las láminas de grafeno del carbón activado, de este modo las interacciones  $\pi$ - $\pi$  son más fuertes. Este efecto se ve reducido al oxidar el carbón ACA con ácido nítrico, puesto que al incrementarse los grupos oxigenados, principalmente los carboxílicos, estos se ionizan sustancialmente a pH ácidos produciendo iones  $H^+$ . Por lo anterior, se dedujo que la

adsorción de compuestos fenólicos requirió de más grupos básicos y menos grupos ácidos oxigenados, ello explica la baja retención observada en la muestra ACA (figuras 3-5). Este argumento fue también confirmado por el punto de carga cero del carbón ACA (tabla 2).

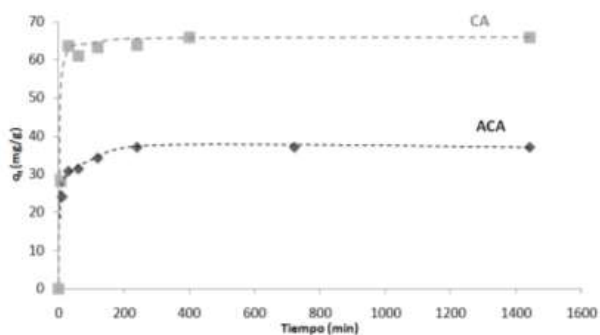


Figura 3. Cinética de adsorción de fenol sobre las muestras CA y ACA

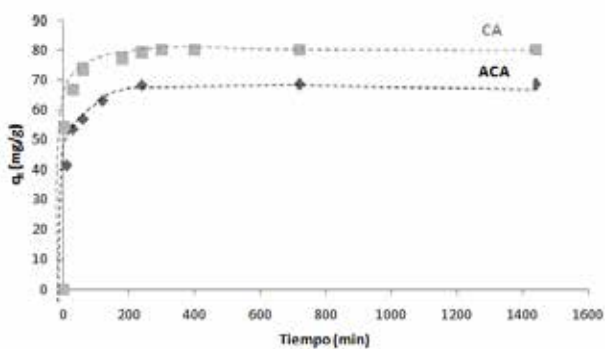


Figura 4. Cinética de adsorción de 4-clorofenol sobre las muestras CA y ACA

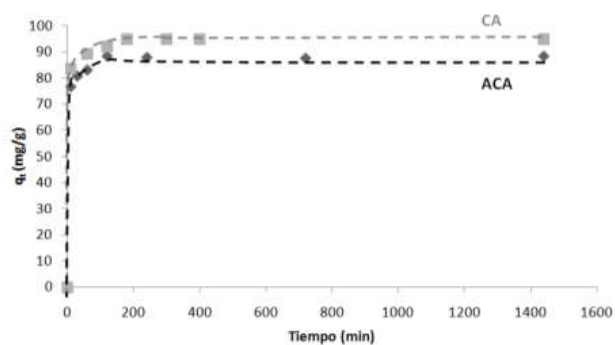


Figura 5. Cinética de adsorción de 4-nitrofenol sobre las muestras CA y ACA

Las tablas 3 y 4 muestran los parámetros obtenidos al correlacionar los resultados cinéticos con los modelos de pseudo primer orden y pseudo segundo orden. Se observó que con el modelo de pseudo segundo orden se obtuvieron valores del coeficiente de correlación ( $R^2$ ) cercanos a 1 y desviaciones estándar normalizadas ( $\Delta q_e$  %) más bajas que con el otro modelo. De igual manera, de las tablas, se puede observar que el orden de adsorción fue el siguiente: 4-nitrofenol > 4-clorofenol > fenol.

Esto es concordante con la teoría de adsorción propuesta por Coughlin y Ezra<sup>6</sup>. El fenol posee solo el grupo (-OH) que es considerado fuertemente activante, lo que disminuye la densidad de carga electrónica en el anillo aromático. El 4-clorofenol contiene al átomo de cloro (-Cl), que es débilmente desactivante y se encuentra en posición antagonista al grupo (-OH) en la molécula, lo que merma la acción de este grupo. El 4-nitrofenol contiene el grupo (-NO<sub>2</sub>) que es fuertemente desactivante y posee la característica de ser atractor de la densidad electrónica, por lo que la carga negativa pudo ser mejor estabilizada, esta se deslocaliza en los átomos de oxígeno o nitrógeno que son fuertemente electronegativos lo que favoreció la adsorción de este compuesto sobre la superficie del carbón CA, pero este efecto se redujo cuando el carbón fue oxidado.

La formación de complejos donor-aceptor (denominado complejo  $\pi$  o de transferencia de carga) postulada por otros investigadores<sup>15</sup> podría ser la causa de la adsorción de los compuestos fenólicos sobre el carbón activado en medio acuoso. Se puede comparar este tipo de mecanismo como el de una sustitución electrofílica aromática en química orgánica, donde los adsorbatos actúan como electrófilos y las láminas de grafeno del carbón activado como nucleófilos. La presencia de sustituyentes como el átomo de cloro o el grupo (-NO<sub>2</sub>) en el anillo aromático del fenol, lo vuelve más electrófilo, favoreciendo la adsorción.

**Tabla 3.** Parámetros obtenidos con el modelo de pseudo primer orden para la adsorción de fenol, 4-clorofenol y 4-nitrofenol sobre los carbonos CA y ACA

Compuesto	fenol		4-clorofenol		4-nitrofenol	
	CA	ACA	CA	ACA	CA	ACA
$k_1$ (min <sup>-1</sup> )	0,011	0,023	0,029	0,019	0,031	0,019
$q_e$ (mg/g)	17,171	23,172	62,877	43,191	45,253	19,726
$\Delta q_e$ %	92,41	57,41	51,87	65,74	65,54	92,38
$R^2$	0,462	0,944	0,757	0,923	0,958	0,737

**Tabla 4.** Parámetros obtenidos con el modelo de pseudo segundo orden en la adsorción de fenol, 4-clorofenol y 4-nitrofenol sobre los carbones CA y ACA

Compuesto	fenol		4-clorofenol		4-nitrofenol	
	CA	ACA	CA	ACA	CA	ACA
Parámetro	CA	ACA	CA	ACA	CA	ACA
$k_2(\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1})$	0,003	0,003	0,002	0,002	0,004	0,005
$q_e$ (mg/g)	66,376	37,624	81,232	69,036	95,608	88,642
$\Delta q_e$ %	8,55	7,09	12,26	4,52	5,42	2,95
$R^2$	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999

Como se observa en la tabla 5 la presencia de los grupos sustituyentes también puede afectar las propiedades físicas y químicas de los compuestos fenólicos. Así, se observó mayor adsorción en los compuestos fenólicos que tienen mayor tamaño y masa molar: 4-nitrofenol (139,1 g/mol) > 4-clorofenol (128,6 g/mol) > fenol (94,1 g/mol), esto se explica por las interacciones intermoleculares de London, las cuales son directamente proporcionales a la masa molar. Por otro lado, la acidez de los compuestos fenólicos se mide en base a su pKa (tabla 5). Mientras menor sea el pKa mayor será la disociación del ácido y por tanto su fuerza. De la misma manera, el pKa se puede usar cuantitativamente para determinar la proporción o fracción de las especies protonada (o neutra) y desprotonada en diferentes condiciones de pH. Cuando  $\text{pH} = \text{pKa}$  la concentración de ambas especies es la misma. Cuando  $\text{pH} < \text{pKa}$ , la especie que predomina es la protonada. Por el contrario, cuando  $\text{pH} > \text{pKa}$  la especie que se encuentra en mayor proporción es la desprotonada. Por lo tanto, dependiendo de la especie que se encuentra en solución, la adsorción se ve favorecida o disminuida.

Adicionalmente, hay una relación inversa entre la adsorción con la solubilidad. En este caso, el compuesto menos soluble (4-nitrofenol) fue el más adsorbido, por el contrario, el más soluble (fenol) fue el menos adsorbido.

**Tabla 5.** Propiedades de los compuestos fenólicos

Compuesto fenólico	Masa molar (g/mol)	Dimensiones moleculares (Å)	Solubilidad a 25°C (g/L)	pKa
fenol	94,1	5,76 x 4,17	93	9,89
4-clorofenol	128,6	6,47 x 4,17	27	9,37
4-nitrofenol	139,1	6,84 x 4,17	16	7,08

## CONCLUSIONES

Se logró obtener un carbón activado modificado con ácido nítrico en condiciones no severas de oxidación, con mayor cantidad de grupos funcionales ácidos totales y con mayor porosidad comparada con el carbón activado sin modificar.

La adsorción de los compuestos fenólicos fue principalmente dependiente de la química superficial de los carbones activados. Ambas muestras CA y ACA fueron utilizadas en la adsorción de fenol, 4-clorofenol y 4 nitrofenol. Las curvas cinéticas obtenidas mostraron que la capacidad de adsorción del carbón activado está relacionada con la mayor presencia de electrófilos superficiales en el anillo aromático (-Cl y -NO<sub>2</sub>), por el mayor tamaño y por la menor solubilidad de la molécula del adsorbato. De acuerdo a la capacidad de adsorción obtenida el orden fue el siguiente: 4-nitrofenol > 4-clorofenol > fenol.

El carbón modificado presentó una disminución en la capacidad de adsorción, debido a que la oxidación incrementó los grupos oxigenados en la superficie del carbón. La acidez total del carbón oxidado disminuyó de 2,450 mmolH<sup>+</sup>.g<sup>-1</sup> a 2,014 mmolH<sup>+</sup>.g<sup>-1</sup>. Los espectros FTIR de los carbones corroboraron el incremento de grupos carboxílicos y fenólicos sobre su superficie.

## AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen el apoyo financiero brindado por CONCYTEC a través del Proyecto N°12-2013 FONDECYT vinculado a la Maestría en Química, titulado: Desarrollo de tecnologías adecuadas y de bajo costo para el tratamiento de aguas residuales que contengan colorantes y nitrofenoles. También agradecen al VRI-PUCP y a la Sección Química de la Pontificia Universidad Católica del Perú por el apoyo logístico brindado.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Biniak S, Pakula M, Szymanski G, Swiatkowski A. Effect of activated surface oxygen-and/or nitrogen-containing groups on adsorption of copper (II) ions from aqueous solution. *Langmuir*, **1999**; 15: 6117–6122.
2. Rivera J, Sánchez M, Gómez V, Álvarez P, Alvim M, Dias J. Activated carbon modification to enhances its water treatment applications. An overview. *Journal of Hazardous Materials*, **2011**; 187: 1-23.
3. Goyal M., Rattan V, Aggarwal D, Bansal R. Removal of cooper from aqueous solution by adsorption on activated carbon. *Colloids Surf.*, **2001**; 190: 229-238.
4. Jia Y., Thomas K. Adsorption of cadmium ions on oxygen surface sites in activated carbon. *Langmuir*, **2000**; 16: 1114-1122.
5. Hydar S, Ferro M, Rivera J, Joly J. Adsorption of p-nitrofenol on an activated carbon with different oxidations. *Carbon*, **2003**, 41: 387-395.

6. Coughlin R, Ezra S. Role of surface acidity in the adsorption of organic pollutants on the surface of carbon. *Environ Sci. Technol.*, **1968**; 2: 291-297.
7. Obregon-Valencia D, Sun-Kou M.R. Comparative cadmium adsorption study on activated carbon prepared from aguaje (*Mauritia flexuosa* L.F.) and olive fruit stones (*Olea europaea* L.). *J. Environ. Chem. Eng.*, **2014**, 2: 2280-2288.
8. Aylas J, Sun-Kou M.R. Estudio de la capacidad adsorptiva del carbón activado preparado a partir de semillas de aguaje (*Mauritia flexuosa* L.F.) en la adsorción de fenol, 4-clorofenol y 4-nitrofenol. En: Actas del II Workshop on Adsorption, Catalysis and Porous Materials. Universidad de los Andes-Bogotá **2013**; 105-106.
9. Rodríguez P, Giraldo L, Moreno J. Oxidación de la superficie de carbón activado mediante  $\text{HNO}_3$  y  $\text{H}_2\text{O}_2$ : Efecto sobre la remoción de níquel (II) en solución acuosa. *Revista colombiana de química*, **2011**; 40(3): 349-364.
10. Chun Y, Mohd K, Wan D. Review of modifications of activated carbon for enhancing contaminant uptakes from aqueous solutions. *Sep. Purif. Technol.*, **2007**; 52: 403-415.
11. Rios A, Alves D, Dalmazio I, Fernando S, Bento V, Donnici C, Lago R. Tailoring activated carbon by surface chemical modification with O,S and N containing molecules. *Mater.Res.*, **2003**; 2:129-135.
12. Aburub A, Wurster D. Phenobarbital interactions with derivatized activated carbon surfaces. *J. Colloid Interf. Sci.*, **2006**; 296: 79-85.
13. Petit C, Peterson G, Mahle J, Bandosz T. The effect of oxidation on the surface chemistry of sulfur-containing carbons and their arsine adsorption capacity. *Carbon*, **2010**; 48: 1779-1787.
14. Figueredo J, Pereira, M, Freitas M, Orfao J. Modification of the surface chemistry of activated carbons. *Carbon*, **1999**; 37:1379-1389.
15. McGuire M, Suffet I. Treatment of water by granular activated carbon. *American Chemical Society*, **1983**; 202: 82-88.

## **MODIFICACIÓN DE POLIURETANOS QUÍMICAMENTE ACTIVOS MEDIANTE POLI(VINILBENCIL-N-METIL-D- GLUCAMINA) PARA LA RETENCIÓN DE BORO**

Manuel Palencia<sup>1</sup>, Enrique Combatt<sup>2</sup>, Álvaro Arrieta<sup>3\*</sup>

### **RESUMEN**

El boro es un micronutriente esencial en el desarrollo, fortalecimiento y crecimiento de las plantas; sin embargo, este elemento posee un estrecho rango de esencialidad conllevando a que la determinación de los contenidos de boro en los suelos sea de vital importancia con el fin de garantizar que su fitodisponibilidad permanezca en un rango óptimo de concentraciones. En la actualidad, el desarrollo de materiales poliméricos basados en poliuretanos (PUs) con capacidad controlada de carga y descarga, alta resistencia a la intemperie, y que permitan la dosificación controlada y extracción de boro de las aguas de riego son de gran interés para aplicaciones en agricultura. Así, el objetivo del presente trabajo fue desarrollar polímeros de injerto basados en N-metil-D-glucamina (NMDG) a partir de matrices de PU químicamente activas con capacidad de retención de boro. Para esto, se sintetizó el vinilbencil-N-metil-D-glucamina (VbNMDG) a partir del cloruro de vinilbencilo y NMDG.

Posteriormente, se llevó a cabo la uretanización del VbNMDG con metileno difenil diisocianato (MDI); el PU resultante al poseer grupos lábiles, capaces de reaccionar en una segunda etapa vía radicales libres, fue polimerizado para llevar a cabo la formación de polímeros de injerto con cadenas de NMDG. Finalmente, la capacidad de retención de boro se determinó por el método de la azometina-H. Los resultados muestran que estos materiales poseen la capacidad de retener boro y pueden emplearse potencialmente en la fertilización agrícola de este micronutriente.

**Palabras clave:** Ácido bórico, N-metil-D-glucamina, poliuretano.

## **MODIFICATION OF ACTIVE-CHEMICALLY POLYURETHANES BY POLY(VINYLBENZYL-N-METHYL-D-GLUCAMINE) FOR BORON RETENTION**

---

<sup>1</sup> Departamento de Química, Universidad del Valle, Cali – Colombia

<sup>2</sup> Departamento de Ingeniería Agrícola y Desarrollo Rural, Universidad de Córdoba, Montería – Colombia

<sup>3</sup> Departamento de Biología y Química, Universidad de Sucre, Barrio Puerta Roja, Sincelejo – Colombia.  
alvaroangel.arrieta@gmail.com



## ABSTRACT

Boron is an essential micronutrient for the development, strengthening and growth of the plants; however, range essentiality of this element is narrow producing that its determination in the soils is an aspect very important to warrant its phytoavailability within an optimum concentration range. At the present, the development of polymer materials based in polyurethanes (PUs) with controlled capacity of uptake and release, high weatherability, and which permit controlled extraction and dosing of boron from irrigation water are of great interest for applications in agriculture. Thus, the objective of this study was to develop grafting polymers based in N-methyl-D-glucamine (NMDG) from active-chemically PU matrixes with boron retention properties. For that, vinyl-benzyl-N-methyl-D-glucamine (VBNMDG) was synthesized from vinylbenzyl chloride and NMDG. Later, urethanization of VBNMDG was performed by the reaction with methylene-diphenyl-diisocyanate (MDI); resulting PU has reactive groups capable to react in a second stage by free radical polymerization to produce grafting polymers with NMDG chains. Finally, boron retention capacity was determined by azomethine-H method. Results show that these materials have boron retention capacity and that these can potentially be used for agricultural fertilization with it.

Key words: Boric acid, N-methyl-D-glucamine, polyurethane.

## INTRODUCCIÓN

El boro es un elemento químico que se encuentra presente en la naturaleza a través de diversas formas químicas; entre ella, las más comunes son el ácido bórico y otras especies asociadas al anión borato. Desde un punto de vista de nutrición vegetal, el boro es considerado un micronutriente esencial que se encuentra asociado con el crecimiento, fortalecimiento y desarrollo de las plantas, los frutos y las semillas, esto es debido a su participación en un gran número de procesos biológicos; por consiguiente, es ampliamente aceptado que el boro juega un papel importante en la producción y en la calidad de los productos agrícolas<sup>1-2</sup>. Sin embargo, tanto el exceso como la deficiencia de este elemento produce efectos negativos que conllevan a un mal funcionamiento fisiológico de las plantas, una disminución del rendimiento de los cultivos e incluso a la muerte de ellas<sup>2</sup>. La relevancia del boro en el funcionamiento de la planta y el estrecho rango de esencialidad hace que la determinación de los contenidos de boro en los suelos y en aguas de riego, sean de gran importancia para garantizar que su fitodisponibilidad permanezca dentro de los valores adecuados de concentraciones<sup>3</sup>.

El ácido bórico se caracteriza por formar complejos con una gran variedad de azúcares y otros compuestos que presentan en su estructura grupos *cis*-hidroxilo. La capacidad que presenta dicho elemento para estabilizar moléculas a través de dichos complejos se considera la base principal para entender el rol tan importante que juega el boro en los sistemas biológicos. La estabilidad del complejo formado depende fuertemente del tipo de poliol utilizado, por ejemplo, se ha demostrado que complejos estables son formados cuando se emplean polioles con sistemas *cis*-diol como el D-sorbitol, la N-metil-D-glucamina (NMDG) y la

D-ribosa<sup>4</sup>. Recientemente, se ha reportado la modificación de membranas de ultrafiltración con polímeros basados en NMDG y capacidad de retención de boro<sup>5</sup>.

Por otro lado, los poliuretanos (PUs) son una familia de polímeros que brindan una amplia versatilidad, durabilidad y resistencia. Se caracterizan por presentar el grupo uretano ( $R-N=C=O$ ) en su cadena principal, resultante de la reacción de policondensación entre una especie con grupos hidroxilos (por ej., polioles) y un isocianato polifuncional. Las propiedades y funcionalidad final de los PUs pueden ser controladas mediante la selección y combinación de sus precursores. De este modo, por ejemplo, se puede modificar la rigidez de la estructura polimérica, su flexibilidad u otras de sus propiedades mediante la inserción de monómeros con diversos grupos funcionales, tales como, grupos catiónicos, aniónicos y neutros<sup>6</sup>.

Por otro lado, los polímeros de injerto son copolímeros ramificados donde sus ramificaciones corresponden a una cadena polimérica distinta en naturaleza al polímero que compone la cadena principal. La ventaja de este tipo de materiales al igual que los PUs es su amplia gama de propiedades y aplicaciones que pueden obtenerse mediante el control de la inserción de las cadenas de injerto<sup>7,8</sup>.

El objetivo del presente trabajo fue desarrollar polímeros de injerto basados en NMDG a partir de matrices de PU químicamente activas con capacidad de retención de boro. Estudios previos relacionados con la sinergia entre PUs y polioles funcionales basados en NMDG se han desarrollado previamente<sup>9,10,11</sup>, sin embargo, en estos se trabajaron estrategias diferentes para la construcción del material (redes poliméricas interpenetrantes y uretanización de polioles de alto peso molecular)<sup>9,10</sup>.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Reactivos y materiales

El cloruro de vinilbencilo (VbCl, Aldrich) y la NMDG (Aldrich) se usaron para la síntesis del vinilbencil-N-metil-D-glucamina (VbNMDG); posteriormente, VbNMDG y metilen difenil diisocianato (MDI, Aldrich) se utilizaron para la formación de las matrices de PU químicamente activas. VbNMDG y peróxido de benzoilo (Aldrich) se usaron para la síntesis de los polímeros de injerto.  $H_3BO_3$  (Aldrich), Azometina-H (Merck), ácido ascórbico (Merck), ácido etilendiamino tetra-acético (Merck) y acetato de amonio (Merck) se utilizaron para la cuantificación de boro. 1,4-dioxano (Aldrich) y agua bidestilada se utilizaron como solventes.

### Síntesis de VbNMDG

La síntesis del VbNMDG se llevó a cabo mediante el procedimiento previamente publicado<sup>5,9,10</sup>. El VbNMDG se caracterizó por medio de espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier – Reflectancia total atenuada (FTIR/ATR, Shimadzu FTIR 8400). La síntesis se verificó mediante una prueba de polimerización<sup>9,11</sup> y espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protones (RMN-H).

### **Síntesis de poliuretanos químicamente activos**

Las matrices de PUs químicamente activas se sintetizaron mediante la policondensación del VbNMDG con MDI. Para ello, 0,1 g de VbNMDG se disolvieron en 5,0 mL de dioxano. Posteriormente, diferentes relaciones de MDI (2, 3 y 4 molar respecto al VbNMDG) se disolvieron en 5,0 mL de dioxano y se adicionaron a la solución de reacción. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente por 24 h con agitación constante. Los PUs obtenidos se caracterizaron por FT-IR/ATR y resonancia magnética nuclear en fase sólida (RMN-<sup>13</sup>C, Bruker 400 AC/PC 100 MHz).

### **Síntesis de los polímeros de injerto**

Los polímeros de injerto se sintetizaron mediante la inserción de cadenas poliméricas vía radicales libres de VbNMDG. Para ello, 0,05 g de VbNMDG se disolvieron en 5,0 mL de dioxano y se depositaron en un tubo de polimerización. Después, diferentes cantidades de PUs (2, 3 y 4 molar respecto al VbNMDG) y peróxido de benzoilo (3% molar) se disolvieron en 6,0 mL de dioxano y se mezclaron en un reactor de polimerización. La reacción se llevó a cabo a 75 °C por 24 h bajo atmósfera de nitrógeno con agitación constante. Los polímeros de injerto sintetizados se caracterizaron por FT-IR/ATR.

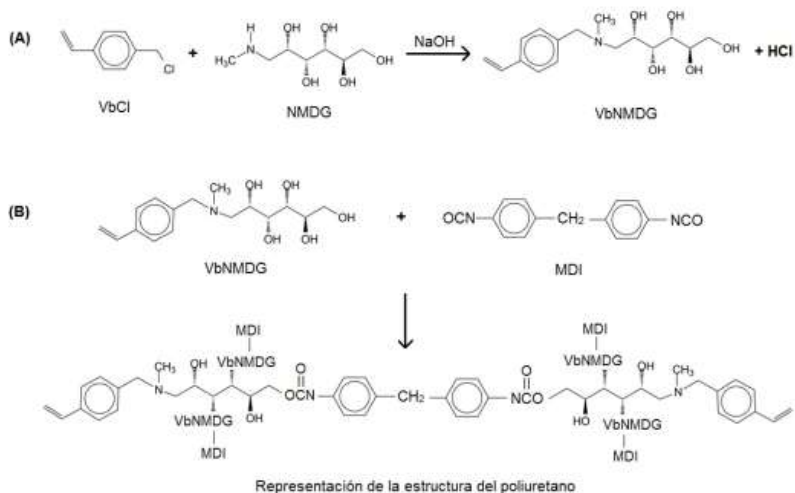
### **Evaluación de la capacidad de retención de boro**

La capacidad de retención de boro de los materiales sintetizados se determinó mediante experimentos tipo batch a pH 9,0 cuantificándose el boro remanente por el método de la azometina H (la descripción de este procedimiento ha sido previamente publicada)<sup>9,10</sup>.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Síntesis y caracterización**

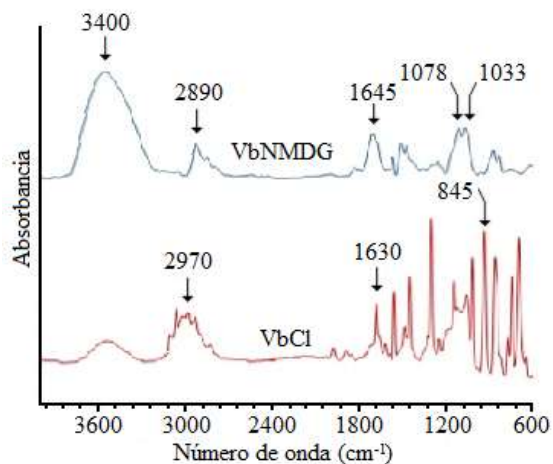
La síntesis de la VbNMDG se basa en la sustitución nucleofílica por parte de NMDG del átomo de cloro del VbCl generándose de este modo un monómero polifuncional (grupos hidroxilo y un doble enlace fácilmente polimerizable) (ver figura 1). Por lo tanto, se espera que el VbNMDG posea la capacidad de retener boro de forma análoga a la NMDG, polimerizar vía radicales libres al igual que su precursor (VbCl) y ser susceptible de reacciones de uretanización debido a la cadena polihidroxilada proveniente de la NMDG.



**Figura 1.** Reacción para la síntesis del VbNMDG (A) y reacción de obtención de los poliuretanos con dobles enlaces polimerizables (B)

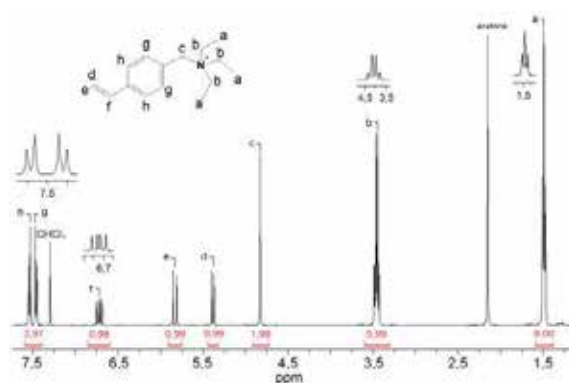
En la figura 2 se muestran los espectros de FT-IR/ATR del VbCl y VbNMDG. En el espectro correspondiente a la VbNMDG se evidencia la desaparición de la banda de vibración a  $845\text{ cm}^{-1}$ , lo cual hace referencia al enlace C–Cl en el monómero VbCl y la presencia de nuevas bandas de vibración alrededor de  $1080$ ,  $1033$  y  $3400\text{ cm}^{-1}$  asociadas a los enlaces C–O, C–N y O–H, respectivamente. Además, se observa en las regiones entre  $1650$ – $1630\text{ cm}^{-1}$  y  $2990$ – $2800\text{ cm}^{-1}$  vibraciones correspondientes a los enlaces C=C y C–H alifático las cuales se asocian, en el primer caso, con la molécula de VbCl y en el segundo caso tanto con el VbCl como con la NMDG. Lo anterior evidencia la funcionalización del monómero.

Es importante indicar que la no polimerización del VbCl durante la funcionalización se logra debido a la presencia de un inhibidor de polimerización en muy bajas cantidades (terbutilcatecol). Este inhibidor se activa en presencia de oxígeno e impide la polimerización del monómero bajo las condiciones de funcionalización. Como consecuencia de la naturaleza hidrofóbica del VbCl no se espera que este se encuentre presente en la fase acuosa y, por lo tanto, sólo es posible llevar a cabo la polimerización vía radicales libres si la funcionalización ha ocurrido, ya que la inserción de una cadena de NMDG solubiliza las unidades de VbCl, correspondiendo esto a un resultado positivo de la prueba de polimerización. En consecuencia, el resultado de la prueba de polimerización confirma que el doble enlace no se vio afectado durante la reacción (ver figura 1B). Además, a partir de la masa del polímero obtenido en esta prueba se calculó el porcentaje de rendimiento de la funcionalización de la síntesis del VbNMDG siendo esta del 78%. Esto es completamente congruente con los resultados obtenidos en trabajos previos<sup>9,10</sup>.



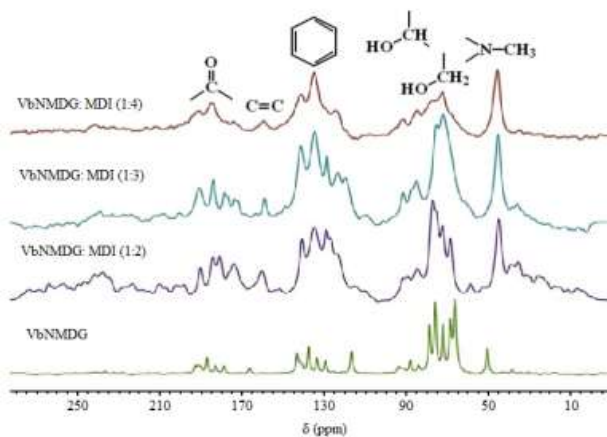
**Figura 2.** Espectro de FT-IR/ATR del VbCl y VbNMDG.

En la figura 3 se muestra el espectro de RMN del VbNMDG. En el espectro de RMN puede verse un singlete integrando para tres protones a 2,11 ppm que corresponden al grupo metilo (H-a). Dos multipletes aparecen a 2,41 y 2,54 ppm, cada uno integrando para un protón, estos han sido asignados en la estructura como H-b. Además, dos multipletes aparecen a 3,39 y 3,60 ppm los cuales integran para un protón cada uno (H-c). Además, un singlete que integra para dos protones corresponden al protón identificado como H-d e aparecen a 3,52 ppm. El multiplete que aparece entre 3,46 y 3,67 ppm integran para tres protones se asignó como H-e y el multiplete a 3,78 ppm (H-f). Las señales que aparece entre 4,30 y 4,57 ppm y que integra para cinco protones son atribuidas a los protones de los grupos -OH. Por otro lado, el doblete que integra para un protón y que aparece a 5,23 ppm se asignó a H-g ( $J = 11.0$  Hz). Otro doblete aparece a 5,79 ppm e integra para un protón (H-h con  $J = 17.7$  Hz). Un doblete que integra para un protón aparece a 6,74 ppm y se asignó a H-i ( $J=10,9$  y  $17,7$  Hz). Finalmente, dos dobletes, cada uno integrando para dos protones se asignaron a los protones del anillo bencénico, estos se observan a 7,29 ppm ( $J=8,1$  Hz) y 7,40 ppm ( $J=8,0$  Hz), estos se identificaron como H-i y H-k, respectivamente.



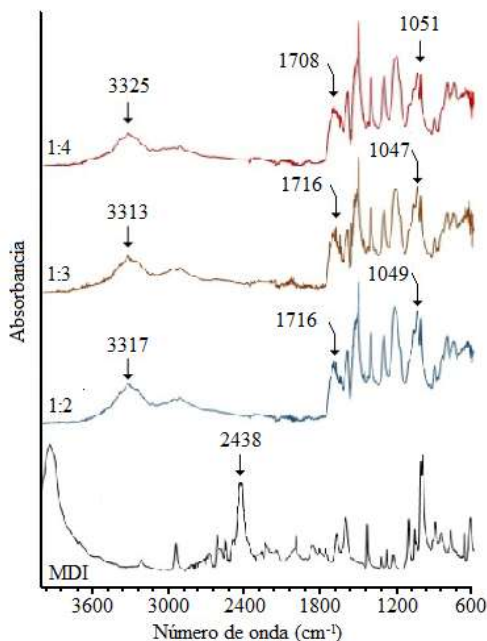
**Figura 3.** Espectro de RMN-H de la VbNMDG.

En la figura 4 se observan los espectros por RMN- $^{13}\text{C}$  en estado sólido de las resinas de PU sintetizadas, al igual que el del VbNMDG; en estos se identifican las señales de los diferentes tipos de carbono presentes en las resinas. Así, entre  $\delta$  30-35 ppm se evidencia una señal que corresponde a carbonos provenientes del grupo  $-\text{CH}_3$  unido al nitrógeno de la NMDG; las señales entre  $\delta$  60-75 ppm corresponden a los diferentes carbonos unidos a los grupos  $-\text{OH}$ . Por otro lado, señales hacia campo bajo, entre  $\delta$  120-130 ppm evidencian la presencia de carbonos aromáticos y señales entre  $\delta$  160-175 ppm y 175-210 ppm características de los carbonos correspondientes a los grupos vinílicos (dobles enlaces) y a los carbonos carbonílicos de los grupos uretano, respectivamente.



**Figura 4.** Espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  de las resinas de PU obtenidas a diferentes relaciones VbNMDG:MDI.

En la figura 5 se muestran los espectros de FT-IR/ATR de las matrices de PUs químicamente activas. La formación de los grupos uretano en los materiales obtenidos se verificó mediante la aparición de dos bandas características del grupo éster, la primera en la región entre 1720-1680  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente a la vibración de tensión del enlace  $\text{C}=\text{O}$ . La segunda banda de absorción se identifica en la región de 1060-1040  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente a la vibración de tensión del enlace  $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ . Además, se evidencia la desaparición de la intensidad de la banda entre 2450-2400  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente a la vibración de tensión del grupo  $\text{N}=\text{C}=\text{O}$ , perteneciente al MDI (reactivo de partida).

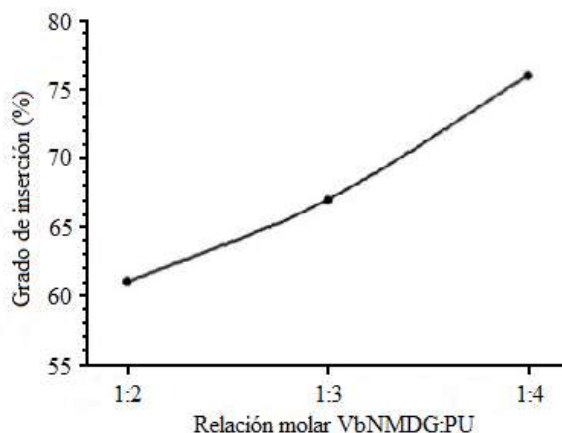


**Figura 5.** Espectro de FT-IR/ATR de las matrices de PUs químicamente activas a diferentes relaciones de VbNMDG:MDI.

Por otro lado, se identificó entre 3400-3300  $\text{cm}^{-1}$  una banda ancha asociada a la presencia de grupos -OH provenientes de la VbNMDG. La presencia de estos grupos indica que la reacción de uretanización no ocurrió sobre el total de grupos hidroxilo y en consecuencia una fracción de estos se encuentran haciendo parte de la matriz de PU.

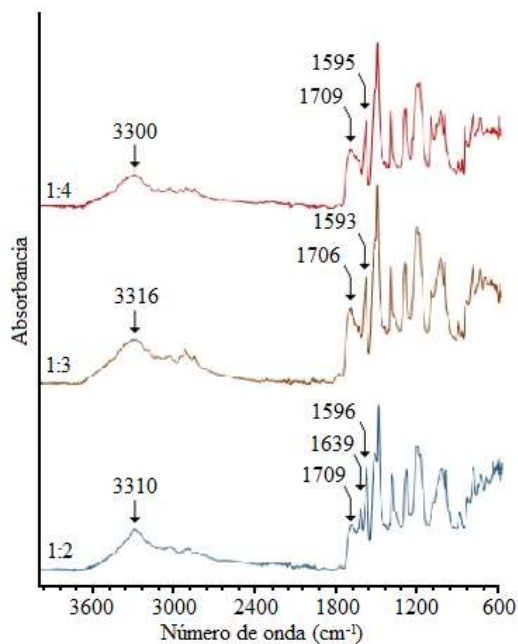
Las vibraciones en el infrarrojo asociadas con los dobles enlaces aparecen en las regiones 3090-3070  $\text{cm}^{-1}$  y 1670-1640  $\text{cm}^{-1}$ , estas corresponden a los grupos =C-H y C=C, respectivamente. Sin embargo, debido al solapamiento con otras bandas como la de los grupos hidroxilo y carbonilo no fue posible evidenciarlas. Aunque no fue posible identificar una banda de IR directamente con la presencia de grupos polimerizables, la presencia de estos se corrobora mediante la polimerización y subsecuente inserción de cadenas de poli(VbNMDG) sobre las partículas de PU. La formación de los polímeros de injerto se puede monitorear fácilmente por gravimetría, permitiendo establecer el porcentaje de inserción.

En la figura 6 se muestra el porcentaje de inserción de las cadenas poliméricas de VbNMDG sobre las matrices de PUs en función de la relación molar de los precursores. El incremento en el porcentaje de inserción, a medida que aumenta la relación molar de PU utilizado, se puede explicar debido a la mayor presencia de grupos con dobles enlaces que puedan reaccionar con la VbNMDG, permitiendo la posibilidad de generación de una mayor cantidad de cadenas poliméricas por núcleo de PU.



**Figura 6.** Grado de inserción cadenas poliméricas sobre las matrices de PUs.

En la figura 7 se observan los espectros de FT-IR/ATR de los polímeros de injerto a distintas relaciones VbNMDG:PU. Se puede observar una serie de bandas características de la VbNMDG que corroboran la inserción de las cadenas poliméricas sobre las matrices de PUs. En la región entre  $3550\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$  se aprecia la aparición de una banda ancha correspondiente a la vibración de tensión del enlace  $\text{-OH}$ , que indica la presencia de los grupos hidroxilos provenientes de la NMDG en el monómero funcionalizado insertado en la matriz de PU.



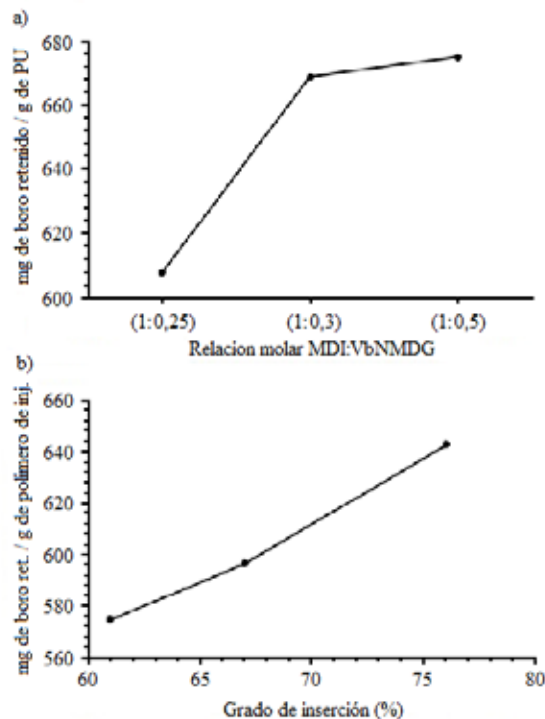
**Figura 7.** Espectro de FT-IR/ATR de los polímeros de injertos sintetizados a diferente relación VbNMDG:PU.



Entre 1715-1700  $\text{cm}^{-1}$  se observa la banda de vibración de tensión del enlace C=O, característico de la formación del grupo éster, proveniente de la presencia de los grupos uretanos en el polímero de injerto. En la región de 1640-1560  $\text{cm}^{-1}$  se observa una banda fuerte correspondiente a la banda de vibración de deformación del enlace N-H, proveniente de los grupos uretano y las cadenas de VbNMDG. Finalmente, en el espectro para la relación 1:2 se identifica una banda en la región de 1660-1640  $\text{cm}^{-1}$ , característica al enlace C=C, indicando presencia de dobles enlaces en la matriz polimérica, lo cual sugiere que la inserción del VbNMDG sobre las matrices de poliuretano no fue completa, quedando sitios activos (grupo vinílicos) disponibles. Así mismo, la presencia de estos dobles enlaces residuales es congruente con el relativamente bajo porcentaje de inserción de las cadenas de VbNMDG que se obtuvieron (< 65% para el polímero con relación molar 1:2 VbNMDG:PU).

### **Retención de boro**

La capacidad de retención de boro por los materiales obtenidos se explica mediante la incorporación de los grupos hidroxilos proveniente de la NMDG tanto en los PUs como en los polímeros de injerto. Estas unidades de NMDG poseen la capacidad de formar complejos con el boro, reteniéndolo sobre la matriz polimérica<sup>9,10</sup>. En la figura 8-a) se muestran los resultados de retención de boro de las matrices de poliuretanos. En esta gráfica se puede observar cómo la cantidad de VbNMDG utilizada influencia la capacidad de retención de boro; así, a mayor relación utilizada mayor la capacidad de retención. Este comportamiento se debe a una mayor disponibilidad de grupos *cis*-diol, capaces de acomplejar el boro. Por el contrario, a relaciones bajas de VbNMDG hay una menor disponibilidad de grupos *cis*-diol, presente en el material. Además, al estar presentes en las matrices de PU una movilidad restringida de las cadenas de NMDG y un mayor número de grupos uretanos actuando como puntos de entrecruzamiento sobre una misma cadena, se produce una disminución de la población de grupos hidroxilos adyacentes y por ende una disminución en la retención boro.



**Figura 8.** Capacidad de retención de boro de a) matrices de PU químicamente activas y b) polímeros de injerto.

En la figura 8-b) se muestra la capacidad de retención de boro de los polímeros de injerto en función del grado de inserción de las cadenas de VbNMDG. Como se observa, a medida que incrementa el grado de inserción de las cadenas de poli(VbNMDG), la capacidad de retención del material se incrementa; este comportamiento se debe a la mayor presencia de grupos capaces de acomplejar el boro en los polímeros de injertos. La capacidad de retención de estos polímeros está relacionada directamente con la cantidad de PUs químicamente activos utilizados en su síntesis. Lo anterior sugiere que es posible realizar un adecuado control sobre las propiedades retenedoras de boro del material mediante el control de los contenidos de PU químicamente activo en el reactor de polimerización.

## CONCLUSIONES

Polímeros de injerto basados en NMDG a partir de PU químicamente activos y con capacidad de retención de boro, pueden ser utilizados para la retención de este micronutriente en solución acuosa. La capacidad de retención de estos materiales se encuentra en función de la disponibilidad y contenido de grupos  $-OH$  incorporados, viéndose afectados por el grado

de entrecruzamiento del material y grado de inserción de las cadenas de VbNMDG. Los resultados sugieren que estos materiales pueden ser utilizados potencialmente en la retención y dosificación adecuada de boro en suelo, siendo posible tener control sobre sus propiedades de retención.

## AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen a la Universidad del Valle y al Banco de la República por los fondos suministrados en el marco del proyecto 3518.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hu H, Brown P. Absorption of boron by plants roots. *Plant Soil* 1997; 193:49-58.
2. Ozturk M, Sakcali S, Gucel S, Ashraf M, Ozturk M, Ahmad M (eds), *Plant adaptation and phytoremediation*. Dordrecht (Países bajos): Springer, 2010. Capítulo 13, Boron and Plants; p. 275-311.
3. Ahmad W, Zia M, Malhi S, Niaz A, Goyal A (Ed.), *Crop Plant*. Rijeka (Croatia): In Tech, 2012. Capítulo 5, Boron Deficiency in Soils and Crops: A Review; p. 77-114.
4. Woslka J, Bryjak M. Methods for boron removal from aqueous solutions. *Desalination* 2013; 310: 18-24
5. Palencia M, Vera M, Combatt E. Polymer networks based in (4-vinylbenzyl)-N-methyl-D-glucamine supported on microporous polypropylene layers with retention boron capacity. *J. Appl. Polym. Sci.* 2014; 131 (16): 40653.
6. Szycher M. *Szycher's Handbook of Polyurethanes*, 2da Ed. Boca Raton (EE.UU.): CRC Press Inc., 2012, p. 13-132.
7. Bhattacharya A, Rawlins JW, Ray P. *Polymer grafting and crosslinking*. Wiley and sons, Inc. publication. Canada, 2009.
8. Xu Z, Wan L, Huang X. Xu Z, Wan L, Huang X (eds.) *Surface Engineering of Polymer Membranes*. Berlin (Alemania): Springer, 2009. Capítulo 4, Surface modification by graft copolymerization, p. 80-149.
9. Palencia M, Restrepo D, Combatt E. Functional polymer from high molecular weight linear polyols and polyurethane-based crosslinking units: Synthesis, characterization, and boron retention properties, *J Appl Polym Sci* 2016; 133: 43895-43902
10. Palencia M, Afanasjeva N, Benavidez E. Desarrollo de poliuretanos con capacidad de retención de boro fitodisponible, *Temas Agrarios* 2015; 20 (2): 65-80
11. Kolender AA, Arce SM, Varela O. Synthesis and characterization of poly-O-methyl-[n]-polyurethane from a D-glucamine-based monomer. *Carbo Res* 2011; 346, 1398-1405.

## ESTUDIO FITOQUÍMICO DE LAS HOJAS DE *Jacaranda caroba* (Vell.) DC.

Ingrit Elida Collantes Díaz<sup>\*a</sup>, Elfriede Marianne Bacchi<sup>b</sup>

### RESUMEN

*Jacaranda caroba* es un árbol nativo del Brasil, comúnmente usado en la medicina tradicional brasileña. El estudio fitoquímico del residuo clorofórmico del extracto etanólico al 70% de las hojas, condujo al aislamiento e identificación de los siguientes triterpenos pentacíclicos ácido 3-epi-corosólico (**1**), ácido 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,19 $\alpha$ -trihidroxiursano-12-en-28-oico (**2**), ácido 2 $\alpha$ -hidroxiursólico (**3**), ácido maslínico (**4**), ácido 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,23-trihidroxiursano-12-en-28-oico (**5**), ácido 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,23-trihidroxioleano-12-en-28-oico (**6**), ácido 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,23-trihidroxioleano-12-en-28-oico (**7**), ácido 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,24-trihidroxiursano-12-en-28-oico (**8**) y ácido 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,24-trihidroxioleano-12-en-28-oico (**9**), por comparación de sus espectros de <sup>1</sup>H-RMN y <sup>13</sup>C-RMN con la literatura correspondiente.

**Palabras clave:** Bignonaceae, *Jacaranda caroba*, triterpenos pentacíclicos.

### ABSTRACT

*Jacaranda caroba* is a tree native to Brazil, commonly used in Brazilian traditional medicine. Phytochemical study made with the chloroform residue obtained from 70% ethanol extract of the leaves led to the isolation and identification of pentacyclic triterpenes 3-epi-corosolic acid (**1**), 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,19 $\alpha$ -trihydroxyurs-12-en-28-oic acid (**2**), 2 $\alpha$ -hydroxyursolic acid (**3**), maslinic acid (**4**), 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,23-trihydroxyurs-12-en-28-oic acid (**5**), 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,23-trihydroxyolean-12-en-28-oic acid (**6**), 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,23-trihydroxyolean-12-en-28-oic acid (**7**), 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,24-trihydroxyurs-12-en-28-oic acid (**8**) and 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,24-trihydroxyolean-12-en-28-oic acid (**9**), identified by literature comparison of their <sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR.

**Key words:** Bignonaceae, *Jacaranda caroba*, pentacyclic triterpenes.

### INTRODUCCIÓN

La familia Bignonaceae está compuesta por un promedio de 125 géneros y entre 700-800 especies, distribuidas mundialmente en áreas tropicales y subtropicales. El género *Jacaranda* presenta 49 especies nativas en América del Sur, Central y Caribe, de las cuales 39 son

<sup>\*a</sup>Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería, Av. Tupac Amaru 210, Lima, Perú. ingrit\_uni@hotmail.com

<sup>b</sup> Departamento de Farmácia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Brasil.

endémicas de Brasil<sup>1</sup>. *Jacaranda caroba*, en el valle Ribeira del estado de São Paulo es conocida como “caroba”, “carobinha”; en otras regiones es conocida también como “camboatá”, “camboatá-pequeno”, “camboté”, “caroba-do-campo”, “caroba-miúda”, “caroba muuda”, “caroba-do-carrasco”. Es considerado un árbol nativo del Brasil, que puede llegar a medir 20 metros de altura, esta especie es encontrada en la selva de la mata atlántica y es de uso ornamental, porque es de rápido crecimiento y fácil de cultivar. Durante mucho tiempo fue usada para hacer carbón, por ser suave y porosa<sup>2</sup>. Según la medicina tradicional brasileña, bañarse con un preparado de las hojas es indicado para infecciones, y beber la infusión de las hojas es usado como depurativo y contra la sífilis; las hojas maceradas en aguardiente es aplicada externamente en heridas y úlceras externas como cicatrizante<sup>2</sup>. Los estudios, desde el punto de vista farmacológico, mencionan la actividad antiúlceras in vivo del extracto etanólico al 70% de las hojas y el mismo autor, en 1999, demostró que la fracción de cloroformo del extracto hidroalcohólico de las hojas, mostró reducción en las úlceras inducidas por 300mmol/L de ácido clorhídrico en etanol al 60% (70% y 100% de reducción, respectivamente)<sup>3,4</sup>. Los estudios fitoquímicos, muestran la identificación (en las hojas) de la mezcla de los ácidos ursólico y oleánico en la fracción de diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):acetato de etilo (AcOEt) en la proporción de 97,5:2,5 además de esa mezcla de ácidos, fueron también aislados ácido ursólico y  $\alpha$ -amirina por Braga<sup>5</sup>. En las hojas fueron identificados 4 isómeros de ácido dicafeoilquinico y los flavonoides isorhamnetina-3-O-ramnósido-7,4'-di-O-glucósido, isorhamnetina-3-O-ramnósido-7/4'-di-O-glucósido, quercetina-3-O-(2-pentosil-6-ramnosil)-glucósido, quercetina-3-O-(2-pentosil)-glucósido, quercetina-3-O-(6-ramnosil)-glucósido, quercetina-3-O-glucósido, quercetina-3-O-galactósido, kaemferol-3-O-(6-ramnosil)-glucósido y kaemferol-3-O-glucósido<sup>6</sup>.

En este artículo, abordaremos el aislamiento por cromatografía en camada delgada preparativa y la identificación por <sup>1</sup>H- y <sup>13</sup>C-RMN de nueve triterpenos pentacíclicos presentes en la fracción obtenida por partición con cloroformo del extracto etanol al 70% de las hojas de *J. caroba*.

## PARTE EXPERIMENTAL

### **Recolección de la muestra e identificación botánica**

Fueron colectadas las hojas de *J. caroba* en el municipio de Leme del estado de São Paulo. El material vegetal fue identificado por la botánica Lucelia Garcez Lohmann, del departamento de botánica de la Universidad de São Paulo y un ejemplar de la especie fue depositado en el herbario SPF de la Universidad de São Paulo con el código de 9.V.2013.

### **Extracción y aislamiento de metabolitos secundarios**

Las hojas de *J. caroba* fueron secadas en estufa con corriente de aire a 40°C por 40 h. Las hojas secas fueron molidas y sometidas a extracción por el método de percolación con etanol al 70%; el extracto obtenido fue concentrado hasta la completa evaporación del etanol y la fase acuosa fue liofilizada hasta la obtención del extracto bruto de textura pastosa (39,5 g) de color verde.

Una parte (18,99 g) del extracto etanólico al 70% fue resuspendido en 30 mL de metanol y 10 mL de agua para hacer una partición líquido-líquido con los solventes 75 ml de hexano (Hex), 150 ml de cloroformo ( $\text{CHCl}_3$ ), 90 ml de acetato de etilo (AcOEt) y metanol-agua, obteniéndose los cuatro residuos de 2,1 g, 2,4 g, 1,09 g, 13,4 g, respectivamente. Una parte del residuo clorofórmico (1,8 g) fue sometido a cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria sílica-gel y como fase móvil la mezcla de solventes Hex, AcOEt y metanol (MeOH) de polaridad creciente. Se obtuvo 68 fracciones, las que fueron sometidas a cromatografía en capa delgada (CCD) analítica en cromatofolios de sílica gel en aluminio de la marca Merck. Los cromatofolios eluidos (en sistemas de eluentes de polaridad creciente de Hex:AcOEt,  $\text{CHCl}_3$ :AcOEt y  $\text{CHCl}_3$ :AcOEt:MeOH) fueron revelados con una solución de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) al 20%, seguida de calentamiento. Se juntaron seis fracciones (4-10, 13-21, 25-30, 32-40, 45-51, 55-61) siguiendo un patrón de semejanza entre ellas por CCD. El aislamiento de los metabolitos fue por CCD preparativa en placas de vidrio de 20 x 20 cm y 1 mm de espesor de sílica gel PF 254 (fase estacionaria) de la marca Merck.

De la reunión de la tercera fracción (25-30), se observó una mezcla de compuestos, que fue sometida a CCD preparativa, se usó como fase móvil Hex:AcOEt (2:1), la elución se realizó por tres veces consecutivas y a partir de lo cual se aisló 1 (31,2 mg).

De la fracción 4 (32-40) se obtuvo el compuesto 2 (30 mg) eluida con  $\text{CHCl}_3$ :AcOEt (1:1) sucesivamente. La mezcla de los compuestos 3 y 4 (36,9 mg) y 5 y 6 (72,8 mg) fueron aislados de la fracción 5 (45-51) por CCD preparativa eluida con  $\text{CHCl}_3$ :AcOEt:MeOH (2:2:0,1). Finalmente, eluyendo dos placas por CCD preparativa con la mezcla de los solventes  $\text{CHCl}_3$ :AcOEt:MeOH (2:2:0,25) por tres veces la fracción 6 (55-61), fueron obtenidos 7 (19,8 mg) y la mezcla de 8 y 9 (12,6 mg).

#### **Análisis por Resonancia Magnética Nuclear (RMN).**

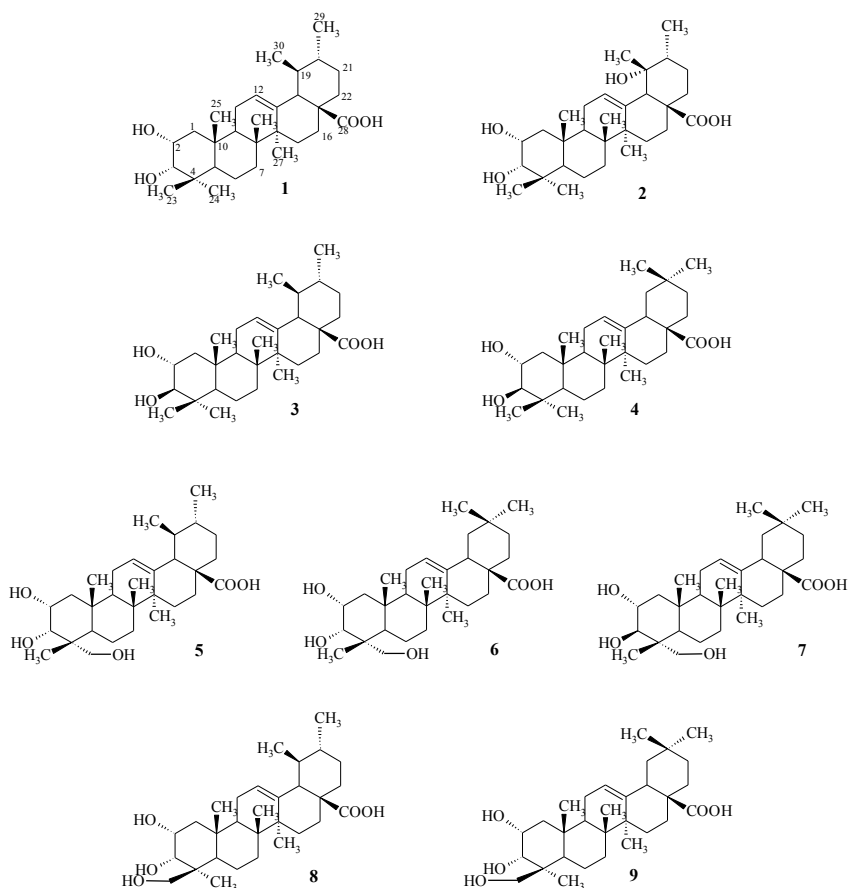
Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  fueron registrados en espectrómetros: Bruker AC-200 (4,69 T) operando a 200 MHz para RMN  $^1\text{H}$  y 50 MHz para RMN  $^{13}\text{C}$ . Espectrómetro de la marca Bruker DRX 300 (7,05T) operando a 300 MHz para RMN  $^1\text{H}$  y 75 MHz para RMN  $^{13}\text{C}$ . Espectrómetro Varian operando a 500 MHz para RMN  $^1\text{H}$  y 125 MHz para  $^{13}\text{C}$ ; los espectros fueron obtenidos en piridina- $d_5$  de la marca Merck.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Para realizar el aislamiento de los compuestos presente en este trabajo, ha sido necesario hacer un corte en la lateral de las placas de CCD preparativa para hacer el revelado con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  20% seguido de calentamiento, porque los compuestos aislados no revelan frente a la luz ultravioleta a 254 nm.

**Compuesto 1.-** Fueron aislados 31,2 mg de un sólido crema en cuyo espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (200 MHz, piridina- $d_5$ ) se observaron señales como los singuletes a  $\delta$  0,79 (3H, H-24), 0,84 (3H, H-25), 0,93 (3H, H-26), 1,0 (3H, H-23) y 1,16 (3H, H-27). Los singuletes anchos a  $\delta$

0,83 (3H, H-29) y 0,85 (3H, H-30), cada singulete corresponde a un metilo de la estructura; un doblete a  $\delta$  2,51 (1H,  $J=11,4$  Hz, H-18); otras señales como  $\delta$  3,66 (1H,  $s$ , H-3 $\beta$ ), 4,22 (1H,  $m$ , H-2 $\beta$ ), 5,35 singulete ancho (1H, H-12). Los desplazamientos químicos del espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN de este compuesto presentan las señales como los dobles enlaces de un esqueleto de tipo ursano<sup>7</sup>, que para este caso son 139,22 y 125,35  $\text{ppm}$ , la señal característica del C-18 en 53,44  $\text{ppm}$  y las señales de los carbonos carbonílicos C-2 y C-3 (C-OH) en 65,94 y 79,16  $\text{ppm}$ , respectivamente; los 30 desplazamientos químicos están en la tabla 1 y están en concordancia con los publicados en la literatura correspondiente<sup>8</sup> confirmando que se trata del ácido  $2\alpha,3\alpha$ -dihidroxiursano-12-en-28-oico también llamado de ácido 3-epi-corosólico (figura 1).



**Figura 1.** Estructura química de los triterpenos pentacíclicos aislados e identificados en el residuo clorofórmico en el extracto etanólico al 70% de las hojas de *J. caroba*.

**Compuesto 2.-** Fue aislado 30 mg de un sólido crema cuyo espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz, piridina-*d*5), presenta señales de los 6 metilos como singuletes a  $\delta$  0,81 (3H, *s*, H-24), 0,87 (3H, *s*, H-25), 0,98 (3H, *s*, H-26), 1,15 (3H, *s*, H-23), 1,30 (3H, *s*, H-29), 1,52 (3H, *s*, H-27); un único metilo doblete a  $\delta$  0,99 ( $\text{CH}_3$ , *d*,  $J=6,69$  Hz, H-30). También fue observado otras señales como un multiplete a  $\delta$  2,21 correspondiente al H-15, un singulete a  $\delta$  2,93 (1H, *s*, H-18), un multiplete a  $\delta$  2,97 correspondiente al H-16, 3,65 ppm un singulete ancho (1H, *s*, H-3 $\beta$ ), 4,19 ppm un doblete ancho (1H, *d*,  $J=10,47$  Hz, H-2 $\beta$ ) y un singulete ancho en 5,55 ppm (1H, *s*, H-12). Los desplazamientos químicos del espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN son característicos de un triterpeno con esqueleto tipo ursano hidroxilado en el C-19 (72,57 ppm), también por las señales de los dobles enlaces en 127,77 (C-12) y 139,87 ppm (C-13), y las señales de los carbonos carbonúlicos C-2 y C-3 en 65,99 y 79,18 ppm, respectivamente, todos los picos que presenta el espectro están en la tabla 1 y la comparación de estas señales con los descritos en la literatura<sup>9</sup> permitió demostrar que el compuesto **2** es ácido 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,19 $\alpha$ -trihidroxiursano-12-en-28-oico también llamado como ácido jacarandico (figura 1).

**Compuestos 3 y 4.-** Fueron aislados 36,9 mg (sólido crema), con el análisis de su espectro de RMN de hidrógeno y de carbono 13, se concluyó que era una mezcla de compuestos que describiremos a continuación; el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz, piridina-*d*5) para el ácido 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -dihidroxiursano-12-en-28-oico también llamado de ácido 2 $\alpha$ -hidroxiursolico (**3**) (figura 1) presenta señales como los singuletes anchos de los metilos a  $\delta$  0,85 (3H, H-29), 0,86 (3H, H-30), 0,88 (3H, *s*, H-25), 0,89 (3H, *s*, H-24), 0,96 (3H, *s*, H-26), 1,09 (3H, *s*, H-27), 1,15 (3H, *s*, H-23), otras señales a  $\delta$  2,52 (1H, *d*,  $J=10,74$  Hz, H-18), 3,29 (1H, *d* ancho,  $J=8,85$  Hz, H-3 $\alpha$ ), 3,98 (1H, *m*, H-2 $\beta$ ) y 5,35 (1H, *s* ancho, H-12). Para el ácido 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -dihidroxioleano-12-en-28-oico (**4**) también llamado de ácido maslínico (figura 1) el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz, piridina-*d*5) presenta las señales a  $\delta$  0,83 (3H, *s*, H-25), 0,86 (6H, *s*, H-29 y H-30), 0,88 (3H, *s*, H-26), 0,92 (3H, *s*, H-23), 0,96 (3H, *s*, H-24), 1,15 (3H, *s*, H-27), 3,18 (1H, *d* ancho,  $J=10,35$  Hz, H-18), 3,29 (1H, *d* ancho,  $J=8,85$  Hz, H-3 $\alpha$ ), 3,98 (1H, *m*, H-2 $\beta$ ) y 5,35 (1H, *s* ancho, H-12). Los desplazamientos químicos del espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN están en la tabla 1 y al ser confrontados con la literatura<sup>10</sup> se demuestra que es la mezcla de ácido 2 $\alpha$ -hidroxiursolico (**3**) y de ácido maslínico (**4**).

**Compuestos 5 y 6.-** Se aisló 78,2 mg de un sólido crema, amorfo; al ser analizado los espectros de  $^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -RMN se ha observado la mezcla de los ácidos 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,23-trihidroxiursano-12-en-28-oico (**5**) y el ácido 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,23-trihidroxioleano-12-en-28-oico (**6**) (figura 1). El espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (200 MHz, piridina-*d*5) los presenta los siguientes desplazamientos químicos de los hidrógeno para **5** como los 4 metilos singuletes de la estructura a  $\delta$  0,76 (3H, H-25), 0,88 (3H, H-26), 1,02 (3H, H-23) y 1,09 (3H, H-27); los dos metilos dobletes a  $\delta$  0,77 (3H, *d*,  $J=6,8$  Hz, H-29) y 0,89 (3H, *d*,  $J=7,4$  Hz, H-30). Están presentes también doblete a  $\delta$  2,49 con  $J=10,6$  Hz del H-18, a  $\delta$  3,63 con  $J=10,6$  Hz de uno de los H-23 y a  $\delta$  3,82 con  $J=10,4$  Hz corresponde a uno de los H-23, un singulete ancho a  $\delta$  4,04 correspondiente al H-3 $\beta$ , un doblete ancho a  $\delta$  4,17 con  $J=9,2$



**Tabla 1.** Desplazamiento químico en piridina-d5 de <sup>13</sup>C-RMN (75, 50 y 125 MHz) de los compuesto aislados del residuo clorofórmico del extracto etanólico al 70% de las hojas de *J. caroba*.

C	1 <sup>1</sup>	2 <sup>2</sup>	3 <sup>2</sup>	4 <sup>2</sup>	5 <sup>1</sup>	6 <sup>1</sup>	7 <sup>2</sup>	8 <sup>3</sup>	9 <sup>3</sup>
1	42,79	42,68	47,95	47,66	42,4	41,84	47,69	43,59	43,41
2	65,94	65,99	68,29	68,29	66,10	66,10	68,81	66,60	66,60
3	79,16	79,18	83,63	83,63	78,49	78,49	78,14	74,63	74,63
4	38,45	38,66	39,71	39,66	39,94	43,525	43,63	42,89	42,35
5	48,53	48,59	55,75	55,75	43,53	42,13	47,89	49,92	49,85
6	18,29	18,46	18,70	18,70	18,19	17,58	18,49	19,30	19,27
7	39,29	33,37	33,36	33,12	33,13	32,797	32,85	33,58	34,08
8	40,01	40,42	39,87	48,02	41,84	39,73	39,78	40,59	40,38
9	47,91	47,48	47,59	47,95	47,97	47,97	48,17	48,51	48,59
10	38,45	38,52	38,39	38,29	38,25	38,35	38,39	39,03	38,92
11	23,68	23,93	23,59	23,76	23,75	23,68	23,79	24,08	24,48
12	125,35	127,77	125,29	122,17	125,25	122,14	122,21	125,92	122,83
13	139,22	139,87	139,25	144,87	139,33	145,01	145,14	139,62	145,22
14	42,42	42,02	46,41	42,4	42,40	41,84	42,21	42,57	42,57
15	28,49	29,30	28,52	28,17	28,17	26,05	28,32	29,01	28,64
16	24,79	26,28	24,81	23,65	24,82	23,68	23,79	25,29	24,26
17	47,75	48,04	48,02	46,41	47,9	46,61	47,72	46,81	47,04
18	53,44	54,49	53,45	42,08	53,48	41,84	42,06	53,93	42,57
19	39,29	72,57	39,28	41,92	39,31	46,44	46,52	39,79	45,55
20	30,96	42,23	39,39	30,99	39,4	30,83	30,93	39,84	31,31
21	37,35	26,96	30,83	34,15	31,1	34,16	34,28	31,47	34,59
22	33,34	38,39	37,35	33,36	37,38	32,79	33,25	37,82	34,37
23	29,34	29,12	29,22	29,19	70,99	70,99	66,44	24,19	24,19
24	22,16	22,13	17,57	16,69	16,87	16,87	14,31	65,59	65,59
25	16,58	16,65	16,83	17,38	17,00	18,19	17,58	17,76	17,76
26	17,36	17,16	17,38	17,53	17,46	17,46	17,34	17,57	17,44
27	23,52	24,49	23,65	26,02	23,68	26,05	26,12	23,73	24,19
28	180,10	-	179,7	180,18	180,4	180,5	180,3	180,3	180,6
29	17,36	26,83	21,29	33,15	17,58	33,13	33,25	17,85	33,58
30	21,26	16,48	17,38	23,76	21,27	23,75	23,93	21,75	24,13

<sup>1</sup>Espectro obtenido a 50 MHz, <sup>2</sup>Espectro obtenido a 75 MHz, <sup>3</sup>Espectro obtenido a 125 MHz.

Hz del H-2β y un singulete ancho en 5,35 ppm del H-12. Los desplazamientos químicos del espectro de <sup>13</sup>C-RMN están en la tabla 1 y al ser comparados con los publicados por Lee<sup>11</sup>, confirman la estructura propuesta (**5**). Los desplazamientos químicos del espectro <sup>1</sup>H-RMN para la molécula **6** son los singuletes a δ 0,76 (3H, H-25), 0,79 (3H, H-29), 0,88 (3H, H-30), 0,91 (3H, H-26), 1,02 (3H, H-23) y 1,09 (3H, H-27), un doblete ancho a δ 3,17 con *J*=12,8 Hz del H-18, dos dobletes a δ 3,63 y 3,82 con *J*=10,6 y 10,4 Hz respectivamente, cada señal corresponde a cada uno de los hidrógenos en la posición 23, un singulete a δ 4,04 del H-3β, un doblete a δ 4,17 del H-2β y un singulete ancho a δ 5,35 del H-12; los desplazamientos químicos del espectro de <sup>13</sup>C-RMN están en la tabla 1 y están de acuerdo con los publicados<sup>12</sup> para la estructura propuesta **6** (figura 1).

**Compuesto 7.** - Se obtuvo 19,8 mg de un sólido crema cuyo espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz, piridina-*d*5), presenta señales como los singuletes a  $\delta$  0,80 (3H, H-25), 0,88 (3H, H-29), 0,93 (3H, H-30), 0,95 (3H, H-26), 0,96 (3H, H-23) y 1,09 (3H, H-27), un multiplete a  $\delta$  3,29 (H-18), los dobletes a  $\delta$  3,61 y 4,09 (1H cada uno, *d*,  $J=10,44$  Hz, H-23) y un multiplete a  $\delta$  5,35 (1H, H-12). Los desplazamientos químicos del espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN están en la tabla 1 y al comparar con los publicado<sup>13</sup> se concluye que se trata del ácido 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,23-trihidroxiolcano-12-en-28-oico (7) (figura 1).

**Compuestos 8 y 9.** - Fueron aislados 12,6 mg de un sólido crema que al ser analizado los espectros de  $^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -RMN, se ha definido que se trata de la mezcla de ácido 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,24-trihidroxiursano-12-en-28-oico (8) y de ácido 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,24-trihidroxiolcano-12-en-28-oico (9) (figura 1). El espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (500 MHz, piridina-*d*5), para ambas estructuras propuestas, la señal correspondiente al H-12 está a  $\delta$  5,48; los desplazamientos químicos de los hidrógenos para 8 son la señal del H-3 que está en posición  $\beta$ , es un singulete a  $\delta$  4,59, el pico del H-2 $\beta$  es un doblete ancho con  $J=9,77$  Hz que está a  $\delta$  4,46, uno de los H-24 es un doblete a  $\delta$  4,12 con  $J=10,74$  Hz y el otro H-24 también es un doblete a  $\delta$  3,83 con  $J=10,25$  Hz, la señal del H-18 es un doblete a  $\delta$  2,63 con  $J=11,23$  Hz, las señales de los 4 metilos (-CH<sub>3</sub>) son los singuletes a  $\delta$  0,93 (3H, H-25), 1,00 (3H, H-26), 1,21 (3H, H-24), 1,58 (3H, H-27), los metilos en H-29 y 30 son dos dobletes a  $\delta$  0,98 y 1,05 con  $J$  de 5,86 y 6,84 Hz, respectivamente. Los desplazamientos químicos del espectro de hidrógeno para 9 son un singulete a  $\delta$  4,59 del H-3 $\beta$ , un doblete ancho a  $\delta$  4,46 de H-2 $\beta$ , dos dobletes a  $\delta$  4,12 y 3,83 con  $J$  de 10,74 Hz y 10,25 Hz, respectivamente, que representan los dos H-24, un doblete ancho a  $\delta$  3,29 con  $J=12,21$  Hz de H-18 y los singuletes a  $\delta$  0,93 (3H, H-25), 0,96 (3H, H-29), 1,00 (3H, H-30), 1,03 (3H, H-26), 1,15 (3H, H-24), 1,69 (3H, H-27), los desplazamientos químicos del espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN están en la tabla 1 y están en concordancia con los publicados en la literatura correspondiente<sup>13</sup>.

## CONCLUSIONES

En el presente trabajo fueron aislados e identificados nueve triterpenos pentacíclicos de esqueletos del tipo ursano y oleano, de los cuales 3 de ellos (3-*epi*-corosólico 1, ácido 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,19 $\alpha$ -trihidroxiursano-12-en-28-oico 2 y ácido 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,23-trihidroxiolcano-12-en-28-oico 7) fueron aislados y 6 están en mezcla de dos (2 $\alpha$ -hidroxiursolico 3 y de ácido maslínico 4; ácido 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,23-trihidroxiursano-12-en-28-oico 5 y el ácido 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,23-trihidroxiolcano-12-en-28-oico 6 y ácido 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,24-trihidroxiursano-12-en-28-oico 8 y de ácido 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,24-trihidroxiolcano-12-en-28-oico 9). Los nueve triterpenos ya fueron identificados y/o aislados en otras plantas, en otras especies del mismo género fue reportado que los compuestos 1,2 y 3 ya fueron aislados en *J. caucana*<sup>14</sup> y el compuesto 1 también en *J. filicifolia*<sup>15</sup>. Los nueve compuestos están siendo reportados por primera vez en las hojas de *Jacaranda caroba*, ya que los triterpenos encontrados anteriormente en la especie en estudio fueron los ácidos ursólico, oleánico y  $\alpha$ -amirina<sup>5</sup>.

## AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al Conselho Nacional Pesquisas (CNPq) del gobierno brasileño, por la beca concedida a I.E.C.D. durante el periodo de 2002-2006 para la realización de este trabajo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gachet MS, Schuhly W. Jacaranda-An ethnopharmacological and phytochemical review. *J Ethnopharmacol* 2009; 121: 14-27.
2. Di Stasi LC, Hiruma-Lima CA, Plantas medicinais na amazônia e na mata atlântica. Editora UNESP:Botucatu, 2 ed., São Paulo, 2002; pp. 451-452.
3. Bacchi EM. Ação anti-úlceras e cicatrizante de algumas plantas brasileiras. *Rev Bras Farmacogn* 1986; 1(1): 93-100.
4. Bacchi EM, Rios JPC, Dias TG. Fraction responsible for Jacaranda caroba DC. antiulcer action. In: 2nd IUPAC International Conference on Biodiversity, UFMG, Belo Horizonte, MG. Programme and Abstracts, 1999 p. 173.
5. Braga FC, Valadares YM, Costa MA, Lombardi JA, de Oliveira AB. Estudo fitoquímico de *Erythraea centaurium*, *Jacaranda caroba*, *Remijia ferruginea* e *Solanum paniculatum* visando identificar marcadores químicos para o fitoterápico Ierobina®. *Rev Bras Farmacogn* 2003; 14: 28-31.
6. Ferreres F, Grosso C, Gil-Izquierdo A, Valentão P, Andrade PB. Phenolic compounds from Jacaranda caroba (Vell) A. DC.: approaches to neurodegenerative disorders. *Food Chem Toxicol* 2013; 57: 91-98.
7. Militão JSLT, Silva MG de V, de Moraes SM, Alencar JW. Contribuição para a determinação estrutural de triterpenos com auxílio de computador. *Quim Nova* 1996; 19: 121-126.
8. Wen X, Xia J, Cheng K, Zhang L, Zhang P, Liu J, Zhang L, Ni P, Sun H. Pentacyclic triterpenes. Part 5: Synthesis and SAR study of corosolic acid derivatives as inhibitors of glycogen phosphorylases. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2007; 17: 5777-5782.
9. Seto T, Tanaka T, Tanaka O, Naruhashi N.  $\beta$ -Glucosyl esters of 19 $\alpha$ -Hydroxyursolic acid derivatives in leaves of *Rubus* species. *Phytochem* 1984; 23(12), 2829-2834.
10. Taniguchi S, Imayoshi Y, Kobayashi E, Takamatsu Y, Ito H, Hatano T, Sakagami H, Tokuda H, Nishino H, Sugita D, Shimura S, Yoshida T. Production of bioactive triterpenes by *Eriobotrya japonica* calli. *Phytochem* 2002; 59: 315-323.
11. Lee IK, Kim DH, Lee SY, Kim KR, Choi SU, Hong JK, Lee JH, Park YH, Lee KR. Triterpenoic acids of *Prunella vulgaris* var. *lilacina* and their cytotoxic activities in vitro. *Arch. Pharm. Res.* 2008; 31(12): 1578-1583.
12. Noel MG, Dayrit FM. Triterpenes in the callus culture of *Vitex negundo* L. *Philipp J Sci* 2005; 134(1): 5-19.
13. Li L-M, Pu J-X, Xiao W-L, Sun H-D. Triterpenes from *Isodon xerophilus*. *Chin J Nat Med* 2012; 10(4): 307-310.
14. Ogura M, Cordell GA, Farnsworth NR. Potential anticancer agents. IV. Constituents of *Jacaranda caucana* Pittier. *Lloydia* 1977; 40(2): 157-168.

15. Ali RM; Houghton PJ. A new phenolic fatty acid ester with lipoxygenase inhibitory activity from *Jacaranda filicifolia*. *Planta Med.* 1999; 65: 455-457.

## ESTUDIO DE CARBONES ACTIVADOS IMPREGNADOS CON QUITOSANO Y SU COMPARACIÓN CON CARBONES COMERCIALES

Gerardo J. F. Cruz Cerro<sup>a</sup>, Marlene Velásquez Yucra<sup>b</sup>, Julio Santiago Contreras<sup>b</sup>,  
José L. Solís Veliz<sup>c</sup>, Mónica M. Gómez León<sup>c</sup>, Riitta Keiski<sup>d</sup>

### RESUMEN

Se obtuvieron carbones activados a partir de coronta de maíz (*Zea mays*) y pepa de ciruela (*Spondia purpurea* L.), los cuales fueron impregnados satisfactoriamente con quitosano. Las imágenes de microscopía electrónica de barrido de emisión de campo confirmaron la presencia de quitosano en cada uno de los carbones obtenidos.

Las propiedades adsorbentes y capacidad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* fueron estudiadas y comparadas con las propiedades de dos carbones activados utilizados en filtros comerciales para la potabilización casera de agua. Los experimentos de equilibrio, empleando azul de metileno, mostraron que los carbones activados impregnados con quitosano poseen capacidades máximas de adsorción comparables con las de los carbones comerciales evaluados (entre 145 y 192 mg/g).

Los carbones activados impregnados con quitosano presentaron una mejor respuesta microbiológica que la de los carbones comerciales. Tal es así que se obtuvo una mayor reducción de *Escherichia coli*. Los carbones activados preparados a partir de coronta de maíz alcanzó un nivel de reducción tan alto como 96,3%. Mientras que para los carbones comerciales se tienen valores de reducción de menores a 60,3%.

**Palabras clave:** Carbón activado, quitosano, propiedades adsorbentes, azul de metileno, *Escherichia coli*.

## ACTIVATED CARBONS IMPREGNATED BY CHITOSAN AND ITS COMPARISON WITH COMMERCIAL CARBONS

### ABSTRACT

Activated carbons were prepared from corncob and red mombin seed and impregnated with chitosan. Field Emission Scanning Microscopy (FESEM) micrographs confirm the

---

<sup>a</sup> Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Tumbes, Av. Universitaria s/n Pampa Grande, Tumbes, Perú. gcruz@untumbes.edu.pe

<sup>b</sup> Facultad de Química e Ingeniería Química, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Av. Universitaria, Lima 1, Perú

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

<sup>d</sup> Faculty of Technology, University of Oulu, P.O.Box 4300, FI-90014, Finland

presence of chitosan in the activated carbon surface. Adsorptive and antibacterial properties of the prepared materials were compared with two adsorbents used in commercial water filters. Equilibrium adsorption experiments showed that the materials prepared in this study had maximum adsorption capacity to methylene blue that is comparable with those of the commercial adsorbents (between 145 and 192 mg/g).

Activated carbons impregnated with chitosan exhibited higher antibacterial capacity against *E. coli* than the commercial adsorbents. The activated carbons prepared from corn cob reach levels of reduction as high as 96,3%. Meanwhile the commercial activated carbons had reduction values lower than 60,3%.

**Key words:** Agrowastes, activated carbon, chitosan, methylene blue, adsorption properties, *Escherichia coli*.

## INTRODUCCIÓN

Actualmente, existe en el mercado una serie de filtros utilizados para asegurar la calidad del agua potable a nivel casero. La mayoría de ellos están hechos a base de carbón activado en distintas presentaciones (granular, entrelazado con fibras de celulosa y en forma de monolitos) los cuales a su vez están impregnados con nanopartículas de diferentes componentes, entre los que destaca la plata (Ag). Sin embargo, la totalidad de estos productos son importados y de alto costo, por lo cual son difíciles de ser adquiridos masivamente.

Si bien es cierto la tecnología de nanopartículas de Ag ha sido utilizada exitosamente como antimicrobiano en el tratamiento de aguas<sup>1</sup>, la Ag no deja de ser un material tóxico para los ecosistemas acuáticos<sup>2</sup>, afecta la flora benéfica del suelo<sup>3</sup>, sus iones libres es potencialmente tóxico para el ser humano<sup>4</sup>, y es una materia prima no renovable. Además, para la producción del carbón activado se utiliza carbón mineral, el cual es un material no renovable que podría ser utilizado más eficientemente en la producción de energía en lugar de materia prima para la producción de materiales adsorbentes para el tratamiento de agua.

En esta coyuntura se hace necesaria la búsqueda de materias primas renovables y de bajo costo que reemplacen a las tradicionales utilizadas para producir estos materiales para el tratamiento de agua. Una de las alternativas es el uso de residuos agrícolas, como precursores de carbones activados. Se ha comprobado que estos materiales lignocelulósicos son precursores idóneos para la producción de carbones activados con alta porosidad, y sobre todo alta mesoporosidad, además han sido usados exitosamente en la adsorción de contaminantes de aguas<sup>5,6</sup>. Sin embargo, no poseen una de las principales propiedades que deben tener los materiales utilizados en los filtros de agua, es decir no poseen capacidad antibacteriana. Por ello, en el presente estudio se planteó producir un material compuesto: carbón activado-quitosano que podría ser usado en filtros comerciales. Se sabe que el quitosano tiene propiedades antimicrobiales muy interesantes y que además es biocompatible<sup>7</sup>. Adicionalmente, el quitosano se puede obtener de residuos hidrobiológicos, lo que coloca los resultados del

presente estudio en una opción tecnológica-ambiental interesante. En el presente trabajo el carbón activado se obtuvo de coronta de maíz (*Zea mays*) y pepa de ciruela (*Spondia purpurae* L.), los cuales fueron impregnados con quitosano comercial marca Fluka. Los estudios comparativos con los productos comerciales se llevaron a cabo morfológicamente mediante estudios de microscopía electrónica de barrido de emisión de campo, estudios de equilibrio y evaluación de la eficiencia de la adsorción del azul de metileno. Finalmente, se evaluó la capacidad de reducción de *Escherichia coli*.

## PARTE EXPERIMENTAL

Dos muestras de carbones activados fueron preparadas a partir de coronta de maíz (*Zea mays*) y de pepa de ciruela (*Spondia purpurae* L.). La activación realizada fue de tipo química utilizando  $ZnCl_2$  en una proporción 1/1 con la materia prima, la cual se realizó paralelamente con un proceso de carbonización a 600 °C durante 2 h en atmósfera de nitrógeno. El carbón obtenido se lavó con una solución de ácido clorhídrico 0,5 N y abundante agua destilada para luego ser secado por 12 h a 100 °C<sup>8</sup>. El quitosano se soportó en los carbones mediante impregnación clásica. 1 g de quitosano se mezcló en una solución de ácido acético al 1%, se colocó en un reactor y se elevó la temperatura hasta 100 °C y a una presión de 20 psi durante un periodo de 1 h. Los materiales obtenidos se lavaron con abundante agua destilada y se secaron a 40 °C hasta peso constante.

Los materiales obtenidos se identificaron como CM-Q y CP-Q para los materiales obtenidos de la coronta de maíz y la pepa de ciruela, respectivamente.

Adicionalmente, dos materiales utilizados en filtros comerciales fueron extraídos, molidos y tamizados a tamaño de partícula menor de 0,25 mm. Los carbones comerciales se identificaron como CC1 y CC2.

Los estudios de morfología por microscopía electrónica de barrido de emisión de campo se realizaron en carbones obtenidos de residuos agrícolas sin impregnar e impregnados con quitosano, así como con carbones comerciales. Para estos estudios se empleó un microscopio electrónico de barrido de emisión de campo, marca Zeiss, modelo Ultra plus. Se realizaron estudios estructurales de cristalinidad de los carbones comerciales mediante difracción de rayos X, para lo cual se usó un difractómetro Siemens D5000, con una radiación  $CuK\alpha$ .

Para comparar las capacidades de adsorción de los carbones obtenidos con los productos de los filtros comerciales, se efectuaron pruebas de equilibrio y cinética con azul de metileno. Es de precisar que el azul de metileno es utilizado comúnmente como modelo comparativo para evaluar la capacidad de adsorción de carbones activados<sup>8</sup> por su facilidad de medición y la posibilidad de tener amplia información de la cinética de adsorción de diversos carbones. Las pruebas de equilibrio de adsorción se llevaron a cabo utilizando 5 soluciones de 100 ml de azul de metileno con concentraciones en el rango de 40 y 120 mg/l. Cada solución se colocó en matraces de 250 ml y se adicionó en cada uno de ellos 0,1g de carbón. Los

matraces fueron agitados a 180 rpm en un agitador orbital durante 24 h a una temperatura de  $30 \pm 2$  °C. Luego de las 24 h, se extrajo una alícuota de la solución, se filtró y se midió la absorbancia a una longitud de onda de 660 nm de la solución en un espectrofotómetro UV-VIS *Spectroquant Pharo 300* (Merck), luego con una curva de calibración se determinó la concentración del azul de metileno en la solución. El mismo procedimiento se repitió para cada muestra.

Para ajustar los datos de equilibrio se utilizó el modelo de *Langmuir*:

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{K_L q_{max}} + \frac{C_e}{q_{max}} \quad (1),$$

donde  $q_e$  es la cantidad de azul de metileno adsorbido en el equilibrio (mg/g),  $C_e$  es la concentración de equilibrio del azul de metileno adsorbido (mg/l),  $q_{max}$  y  $KL$  son las constantes del modelo relativas a la máxima capacidad de adsorción (capacidad en la monocapa) y la energía de adsorción, respectivamente.

Para las pruebas de cinética se utilizó una solución de 10 mg/l de azul de metileno y una carga inicial de carbón activado de 0,1 g/l. Esta solución de 150 ml se colocó en un matraz de 250 ml y se agitó durante todo el experimento. Para monitorear la concentración del azul de metileno se extrajeron alícuotas (hasta un tiempo de 240 min) que luego fueron filtradas y posteriormente medidas espectrofotométricamente de manera análoga que para las pruebas de equilibrio. Para ajustar los datos de cinética se utilizó el modelo de *pseudo*-segundo orden:

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{K_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e} \quad (2),$$

donde  $t$  es el tiempo de adsorción (min),  $q_t$  es la cantidad de azul de metileno adsorbida en el tiempo  $t$  (mg/g),  $k_2$  es la constante de *pseudo*-segundo orden (g/mg·min) y  $q_e$  es cálculo de la capacidad de adsorción en el equilibrio (mg/g). Para obtener los parámetros del modelo se graficó  $t/q_t$  en función del tiempo.

Los estudios de capacidad antibacteriana se realizaron frente a la cepa bertani *Escherichia coli* (ATCC 25922), las cuales fueron sembradas en caldo Luria a  $36$  °C $\pm$ 1 durante 24 h. Una alícuota del cultivo fue suspendida en 10 ml de solución salina fisiológica hasta obtener una suspensión microbiana equivalente al tubo número 0,5 del nefelómetro de *McFarland*. Se tomó de la suspensión 0,1 ml para los tiempos de contacto de 30 y 60 min. Estas muestras fueron diluidas y luego sembradas en agar *Muller-Hinton* e incubadas a  $37$  °C por 24 h<sup>9-10</sup>. Se hizo un recuento de las colonias y se calculó la capacidad de reducción en % respecto de la cantidad de microorganismo inicial.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La figura 1 muestra las microfografías de microscopía electrónica con diferentes magnificaciones de los carbones activados obtenidos de coronta de maíz (a) y pepa de ciruela (b), así como

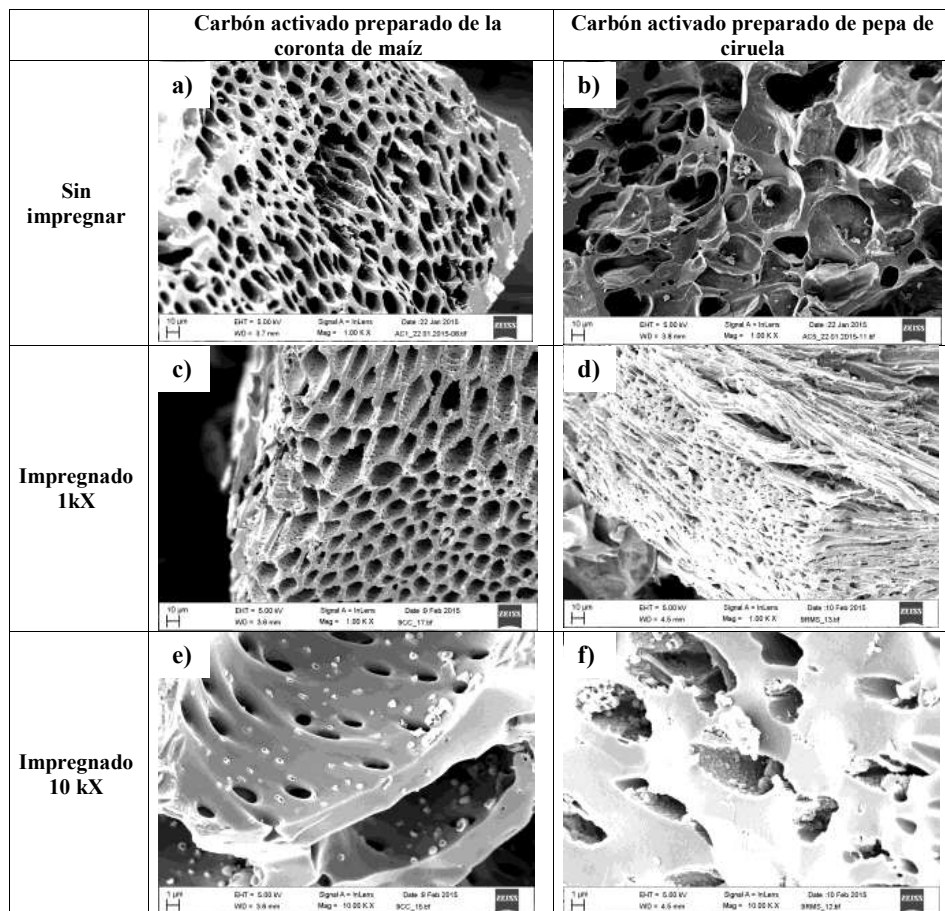


carbones activados obtenidos de coronta de maíz con impregnación de quitosano, CM-Q (c y e) y de pepa de ciruela con impregnación de quitosano, CP-Q (d y f).

La micrografía correspondiente al carbón activado procedente de la coronta de maíz presenta una estructura muy porosa, constituida por cavidades o poros de tamaños bastante uniformes que se encuentran en el rango de 10 y 20  $\mu\text{m}$  (figura 1a), mientras que para la micrografía correspondiente al carbón activado procedente de la pepa de ciruela se aprecian también poros, con una dispersión mayor de tamaños que se encuentran entre 10 y 30  $\mu\text{m}$  (figura 1b). Ambas muestras presentan algunas estructuras sólidas que no forman parte de las paredes del carbón activado, las cuales presentan un tamaño en el orden de micrómetros. Estas estructuras podrían estar relacionadas con el agente químico activador, o con pequeños trozos de los mismos carbones que se producen durante la molienda de las muestras.

La muestra CM-Q, presenta una morfología similar al del carbón activado sin impregnación procedente de la misma materia prima (Fig. 1a), se observan cavidades de tamaños muy uniformes y además orificios en las paredes de las cavidades (Fig. 1c). En la micrografía a mayor magnificación (Fig. 1e) se observa claramente que las paredes del carbón activado muestran en su superficie unas estructuras ovoidales que en su contorno presentan mayor concentración de material. Estas estructuras están en el orden de 500 a 700 nm y se atribuyen al quitosano.

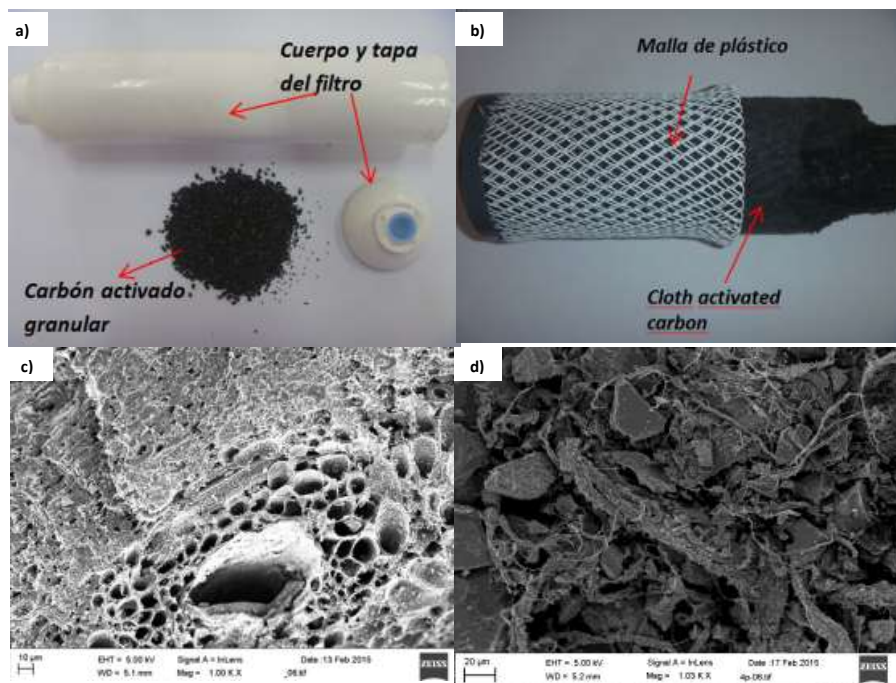
La figura 1d muestra la micrografía de la muestra PC-Q, se observa claramente la presencia de cavidades, que fueron identificadas para el caso del carbón activado sin impregnación (Fig. 1b). Pero para una mayor magnificación (Fig. 1f) se puede observar claramente la presencia de estructuras granulares en la superficie de los carbones, las cuales son asignadas al quitosano impregnado.



**Figura 1.** Micrografías electrónicas de carbones activados producidos de residuos agroindustriales: (a) coronta de maíz y (b) pepa de ciruela, así como los carbones impregnados con quitosano, obtenidos de coronta de maíz, CM-Q (c y e) y de pepa de ciruela, PC-Q (d y f).

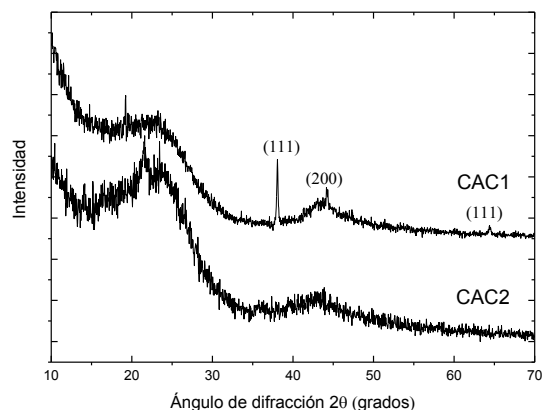
En la figura 2 se muestran fotografías y micrografías de microscopía electrónica de las dos muestras de carbon activado extraídas de filtros comerciales utilizados comúnmente en el tratamiento casero de agua potable CC1 y CC2. El material CC1 es un carbón activado granular (Fig. 2a), mientras que el material CC2 es un carbón activado entrelazado con fibras de celulosa (*cloth activated carbon*), el cual se encuentra compactado y asegurado con una malla de plástico, tal como se muestra en la figura 2b.

Las micrografías de microscopía electrónica (figuras 2 c y d) muestran la morfología de ambos carbones activados. Los granulos del carbon activado CC1 son de forma tetrahédrica y aparentemente altamente porosos, con poros de varias formas desde hexagonales hasta irregulares (Fig. 2c). El carbon activado CC2 (Fig. 2d) presenta granos de diversos tamaños y formas, mostrándose el entrelazamiento con las fibras de celulosa ya mencionado.



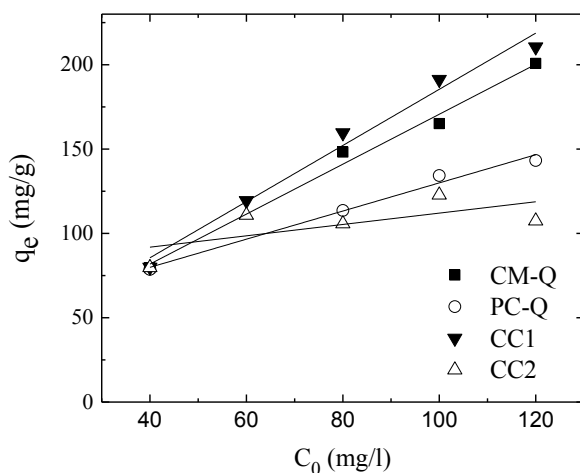
**Figura 2.** Fotografías de los filtros comerciales seleccionados para el estudio (a y b). Imágenes de microscopía electrónica de los materiales comerciales CC1(c) y CC2 (d).

Los difractogramas de rayos X de las muestras comerciales (Fig. 3) corroboran lo encontrado por el análisis EDS de la superficie, encontrando plata en la muestra CC1 y no en la CC2. Además, ambas muestras presentan los picos anchos clásicos de los carbones activados alrededor de  $2\theta=24$  y  $2\theta=42$  (11).



**Figura 3.** Difractogramas de rayos X para los carbones activados comerciales, CAC1 y CAC2. Los picos señalados en CAC1 corresponden a los índices de Miller de las reflexiones de los planos cristalográficos correspondientes a la plata.

La figura 4 contiene los datos de equilibrio de las dos muestras de carbones impregnadas con quitosano y de las muestras comerciales. En todos los casos a mayor concentración inicial ( $C_0$ ), la cantidad de azul de metileno adsorbida en el equilibrio ( $q_e$ ) es mayor; lo que está en concordancia con lo mencionado por Cherifi *et al.* (12) quien plantea que este hecho está basado en que la concentración inicial de azul de metileno provee una importante fuerza motriz para sobrepasar la resistencia por la transferencia de masa, por lo que a mayor concentración inicial mayor será la cantidad adsorbida al sobrepasar más fácil y rápidamente esta resistencia.



**Figura 4.** Datos de equilibrio de adsorción de azul de metileno por los materiales preparados y los carbones comerciales – evolución de la concentración de equilibrio en función de la concentración inicial.

Todos los datos de equilibrio se ajustan al modelo de *Langmuir*, tal como se aprecia al analizar los respectivos valores de  $R^2$  mostrados en la tabla 1, que varían entre 0,97 y 0,99. Esto supone una adsorción homogénea del azul de metileno sobre la monocapa de los materiales analizados.

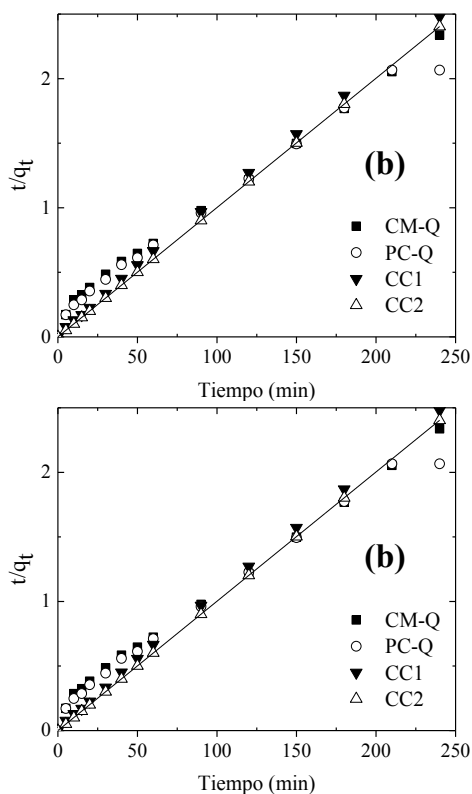
Comparando las máximas capacidades de adsorción ( $q_{max}$ ) de los materiales producidos y la de los carbones activados comerciales (tabla 1), el carbón CC2 muestra la mayor capacidad de adsorción de azul de metileno, seguido del carbón CM-Q, el PC-Q y, finalmente, del otro carbón comercial CC1; por lo que se demuestra que los carbones activados impregnados con quitosano poseen una capacidad de adsorción de azul de metileno comparable a los carbones comerciales estudiados.

**Tabla 1.** Parámetros obtenidos de la aplicación del modelo de equilibrio de *Langmuir* de los datos de adsorción de azul de metileno por los materiales preparados y los materiales comerciales.

Parámetro	Muestras			
	CM-Q	PC-Q	CC1	CC2
$q_{max}(mg/g)$	192	145	110	213
$K_L (l/g)$	0,98	0,38	2,46	7,83
$R^2$	0,97	0,98	0,99	0,99

Las cantidades adsorbidas de azul de metileno en función del tiempo ( $q_t$ ) son mayores para el caso de los carbones comerciales entre los primeros 100 min (Fig. 5 a). Sin embargo, después del tiempo mencionado, los valores de  $q_t$  son tan iguales o incluso mayores para las muestras CM-Q y PC-Q.

Comparando las dos muestras producidas en el presente estudio, se aprecia que la muestra PC-Q presenta ligeramente mayores valores de  $q_t$  que la muestra CM-Q en todos los tiempos analizados.



**Figura 5.** (a) Datos de cinética de adsorción de azul de metileno para los carbones impregnados con quitosano (CM-Q y PC-Q) y comerciales (CC1 y CC2); (b) Ajuste de los datos de equilibrio al modelo de *pseudo-segundo* orden.

Los datos de cinética de adsorción de azul de metileno se ajustan al modelo de pseudo-segundo orden, tal como lo demuestran los valores de  $R^2$  obtenidos del modelo y estén cercanos a la unidad, entre 0,989 y 1 (tabla 2). Este hecho supone una interacción del tipo químico entre el azul de metileno y los grupos funcionales superficiales de los materiales adsorbentes. Los valores de las cantidades de azul de metileno adsorbidas en el equilibrio ( $q_e$ ) son mayores para el caso de los materiales producidos en el presente estudio, corroborando la tendencia encontrada anteriormente cuando se analizó  $q_t$  en función del tiempo.

**Tabla 2.** Parámetros de cinética de pseudo-segundo orden de la adsorción de azul de metileno por las muestras producidas y los carbones comerciales.

Parámetro	Muestra			
	CM-Q	PC-Q	CC1	CC2
$q_e$ (mg/g)	111	115	97	100
$k_2$ (g/mg·min)	0,0004	0,0004	0,0038	0,004
$R^2$	0,995	0,989	0,9997	1

Comparando los valores de  $k_2$  (tabla 2) se puede evidenciar que la muestra CC2 posee una mayor velocidad de reacción que el resto de muestras. CM-Q, PC-Q y CC1 presentan velocidades de reacción similares. Esto podría sostenerse en la posibilidad de una mayor cantidad de poros presentes en la muestra CC2, de tal manera que permiten la adsorción de la molécula de azul de metileno que tiene un tamaño de  $1,66 \times 0,82 \times 0,54 \text{ nm}^8$ . Otro de los factores es el tamaño de partícula del material; tal como se aprecia en las micrografías de microscopía electrónica (figura 2) a pesar de que la muestra CC2 también fue tamizada a un tamaño de partícula menor de 0,25 mm, esta muestra un tamaño de partícula reducido comparado con el tamaño de partícula del resto de muestras. A menor tamaño de partícula mas fácil y rápido acceso del adsorbato a la superficie del material donde se encuentran los sitios activos de adsorción y además existen más sitios activos disponibles<sup>13</sup>.

**Tabla 3.** Reducción (%) de *E. coli* por los materiales producidos - Comparativo con carbones activado comerciales

Tiempo de contacto	Muestra			
	CM-Q	PC-Q	CC1	CC2
30 min	86,1	59,3	43,3	40,5
60 min	85,1	96,3	48,9	60,3

En general, los materiales producidos en el presente estudio presentan mejor capacidad de reducción de *E. coli* que los carbones comerciales, llegando a valores de eliminación de entre 85,1 y 96,3% después de 60 min de tiempo de contacto para las muestras CM-Q y PC-Q, respectivamente (tabla 3). De acuerdo a los resultados de 30 y 60 min de tiempo de contacto, la muestra CM-Q llega a su máxima capacidad de reducción de *E. coli* en los primeros 30 min, mientras que la muestra PC-Q alcanza su máxima capacidad de reducción mucho después (después del tiempo analizado), sin embargo su capacidad máxima de reducción de *E. coli* es mayor que la de la muestra CM-Q. Los carbones activados comerciales CC1 y CC2 mostraron niveles de reducción de *E. coli* de 48,9 y 60,3% luego de 60 min de tiempo de contacto, respectivamente.

La capacidad antibacteriana del quitosano contra las bacterias Gram negativas como la *E. coli* ha sido estudiada por varios autores<sup>14,15</sup> y coincide con lo encontrado en el presente estudio.

Acorde a los resultados de los carbones activados comerciales, el carbón con alto contenido de cloro presentó mayor capacidad de eliminación de *E. coli* que el que contiene nanopartículas de plata.

## CONCLUSIONES

Se han producido satisfactoriamente carbones activados a partir de coronta de maíz (*Zea mays*) y pepa de ciruela (*Spondia purpurae* L.) impregnados con quitosano (CM-Q y PC-Q). Imágenes de microscopia electrónica confirman la presencia de quitosano en diferentes morfologías en cada uno de los carbones activados producidos. En la muestra CM-Q el quitosano se encuentra como partículas individuales, mientras que en la muestra PC-Q como partículas individuales y también aglomeraciones.

Los experimentos de equilibrio mostraron que los carbones activados impregnados con quitosano mostraron comparables capacidades máximas de adsorción de azul de metileno que con dos carbones activados utilizados en filtros comerciales de agua (entre 145 y 192 mg/g) de acuerdo al modelo de *Langmuir*.

Los datos cinéticos de los adsorbentes obtenidos en el presente estudio y de los comerciales se ajustaron al modelo de *pseudo*-segundo orden, suponiendo una interacción de tipo químico entre el azul de metileno y las muestras. Estas pruebas mostraron mayores cantidades adsorbidas de azul de metileno en la primera etapa de los experimentos para los carbones comerciales, sin embargo los carbones producidos en el presente estudio resultaron con mayores capacidades de adsorción en el equilibrio.

Los carbones activados impregnados con quitosano presentaron mayor nivel de reducción de *E. coli* que los carbones comerciales, llegando a valores de reducción de entre 85,1 y 96,3 % después de 60 min de tiempo de contacto para las muestras CM-Q y PC-Q, respectivamente.

## AGRADECIMIENTOS

Los investigadores agradecen el apoyo económico de la Universidad Nacional de Tumbes (Proyecto Canon Resolución N° 0722-2014/UNT-R), al Programa Nacional de innovación para la competitividad y productividad-INNOVATE Perú (Contrato N° 356-PNICP-PIAP-2014). A la Academia de Finlandia también se le agradece por el financiamiento a través del proyecto AdMatU (DNo: 269631). M.M.G agradece al Instituto General de Investigación de la Universidad Nacional de Ingeniería (IGI-UNI).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rai M, Yadav A, Gade A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology advances*. 2009; 27(1):76-83.
2. Kwak J I, Cui R, Nam S H, Kim S W, Chae Y, An Y J. Multispecies toxicity test for silver nanoparticles to derive hazardous concentration based on species sensitivity distribution for the protection of aquatic ecosystems. *Nanotoxicology*. 2016; 10(5), 521-530.
3. Murata T, Kanao-Koshikawa M, Takamatsu T. Effects of Pb, Cu, Sb, In and Ag contamination on the proliferation of soil bacterial colonies, soil dehydrogenase activity, and phospholipid fatty acid profiles of soil microbial communities. *Water Air Soil Pollution*, 2005;164 :103-118.
4. Wijnhoven S W, et. al. Nano-silver—a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. *Nanotoxicology*. 2009; 3(2), 109-138.
5. Leelavathy K R, Nageshwaran V, Bharathi M. Comparative Study on Commercial and Corn Cobs Activated Carbon for Removal of Congo Red Dye. *Applied Mechanics and Materials*. 2015;787, 233-237.
6. Mor S, Chhoden K, Ravindra K. Application of agro-waste rice husk ash for the removal of phosphate from the wastewater. *Journal of Cleaner Production*. 2016;129, 673-680.
7. Krajewska B.. Application of chitin-and chitosan-based materials for enzyme immobilizations: a review. *Enzyme microb. Technol.*, 2004;35(2):126-139.
8. Cruz G. et.al., A Comparative Study on Activated Carbons Derived from a Broad Range of Agro-industrial Wastes in Removal of Large-Molecular-Size Organic Pollutants in Aqueous Phase. *Water, Air, & Soil Pollution*. 2015;226(7):1-15.
9. Ortiz-Ibarra H. et. al.. Surface characterization of electroposited silver on activated carbon for bactericidal purposes. *Journal of colloid and interface science*. 2007;314(2):562-571
10. Srinivasan NR, Shankar PA, Bandyopadhyaya R. Plasma treated acBtivated carbon impregnated with silver nanoparticles for improved antibacterial effect in water disinfection. *Carbon*. 2013;57:1-10.
11. Acharya J, Sahu JN, Mohanty CR, Meikap BC. Removal of lead (II) from wastewater by activated carbon developed from Tamarind wood by zinc chloride activation. *Chemical Engineering Journal*. 2009;149(1):249-262.
12. Cherifi H, Fatiha B, Salah H. Kinetic studies on the adsorption of methylene blue onto vegetal fiber activated carbons. *Applied Surface Science*. 2013;282:52-59.
13. El Qada EN, Allen SJ, Walker GM. Adsorption of methylene blue onto activated carbon produced from steam activated bituminous coal: a study of equilibrium adsorption isotherm. *Chemical Engineering Journal*. 2006;124(1):103-110.
14. Fernandez-Saiz P, Lagaron JM, Ocio MJ. Optimization of the biocide properties of chitosan for its application in the design of active films of interest in the food area. *Food Hydrocolloids*. 2009;23:913–921.
15. Kong M, Guang Chen X, Xing K, Jin Park H. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *International Journal of Food Microbiology*. 2010; 144:51–63.



## INFORMACIONES

Luego del éxito de cinco eventos nacionales e internacionales desde el 2012 hasta la fecha en forma ininterrumpida

- I Simposio Peruano de Nanotecnología (2012)
- Simposio Latinoamericano de Nanotecnología (CLAQ - 2012)
- II Simposio Peruano de Nanotecnología (2013)
- I Simposio Iberoamericano de Nanotecnología (CLAQ-2014)
- III Simposio Peruano de Nanotecnología (2015)

La Sociedad Química del Perú, en el marco de la celebración de sus 83 años de aniversario, se complace en presentar el

### IV SIMPOSIO PERUANO DE NANOTECNOLOGÍA (23, 24 y 25 de Noviembre 2016) FCF – UNMSM

El cual tiene por objetivo dar a conocer el estado de esta emergente tecnología, cuyas aplicaciones en textiles, electrónica, medicina, materiales industriales, entre otros, se basan en las extraordinarias propiedades de los sistemas de tamaño nanométrico.

La Comisión Organizadora agradece su participación al evento cuya programación contiene valiosos cursos internacionales y nacionales, importantes conferencias y trabajos de investigación que en su conjunto resultan ser la antesala del PRIMER CONGRESO INTERNACIONAL DE NANOTECNOLOGÍA a realizarse en el 2017.

#### Cursos Internacionales

- 1) **Nanometrología** Dr. Carlos Beitia  
Grenoble – Francia
- 2) **Polímeros y Nanotecnología** Dr. Bernal Sibaja Hernández  
Lanotec – Costa Rica
- 3) **Microscopía Electrónica – DLS** Centel T. Alvarado Godinez Instruments Nanotech  
Mg. Ana María Osorio Anaya  
LabNanoInTec-FQIQ-UNMSM

#### Cursos Nacionales

##### 1) Aplicaciones de la Química Cuántica computacional en nanomateriales

Dr. Aldo Guzmán Duxtan – LQCNM – LabTeC MC

Dr. Badhin Gómez Valdez – CIIM Universidad Católica de Santa María - Arequipa

Reiteramos cordialmente la invitación.

**Comisión Organizadora  
XXVIII CONGRESO PERUANO DE QUÍMICA  
“Dr. Gastón Pons Muzzo”**

**Ponentes Internacionales**

- Dr. Ralf Weberskirch (Alemania)
- Dr. Andrés Mauricio Hurtado Benavides (Colombia)
- Dra. Elena Ibáñez Ezequiel (España)
- Dr. Alejandro Cifuentes (España)
- Dr. Ángel Gutiérrez (España)

**Conferencistas Internacionales**

La empresa Analítica del Pacífico, integrada por un equipo formado de profesionales en química, electrónica, logística, finanzas, etc.; todos ellos científicos y técnicos; jóvenes y dinámicos, que con convicción y profesionalismo se acercan a los profesionales para convertirse en un solo eslabón de la tan necesaria cadena de calidad, nos presentan cinco conferencistas internacionales con temas especializados, ellos son:

- Dr. Jorge Javier Furlong
- Q.F. Alejandro Iglesias
- Lic. Arni Elei Costa
- Dra. Ana Rita Cristiano
- Dr. Gustavo Tokoro Riether

**Obituario**

† La Sociedad Química del Perú comunica que el 05 de setiembre del 2016 dejó de existir el Dr. Félix Echevarría Meléndez, Socio Vitalicio de la SQP, y el 04 de octubre del 2016 la Dra. Bertha Llanos Chang, distinguida socia de nuestra institución  
¡Nos unimos al dolor de toda su familia!

**Fe de erratas**

En la Revista N° 2-2016, en la página 183

DICE:

**Aprovechamiento de pelos de vacuno del proceso de pelambre enzimático de las curtiembres en la remoción de plomo**

Carmen Carola Palomino Amorína\*; Rocío Vargas Parker<sup>b</sup>; Lizardo Visitación Figueroa<sup>a</sup>

DEBE DECIR:

**Aprovechamiento de pelos de vacuno del proceso de pelambre enzimático de las curtiembres en la remoción de plomo**

Carmen Carola Palomino Amorín<sup>a\*</sup>; Rocío Vargas Parker<sup>b</sup>; Lizardo Visitación Figueroa<sup>a</sup>





# **XXVIII CONGRESO PERUANO DE QUÍMICA**

Marzo 2017, Lima - Perú