

ISSN impreso: 1810-634X  
ISSN on line: 2309-8740

# REVISTA de la SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ

REVISTA TRIMESTRAL

VOLUMEN 87 N° 3  
JULIO - SETIEMBRE - 2021



INSTITUCIÓN CIENTÍFICA FUNDADA EN 1933

LIMA, PERÚ



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

**(Rev Soc Quím Perú)**

**ISSN impreso: 1810-634X**

**ISSN on line: 2309-8740**

**Revista Trimestral**

**Comité Editor**

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

**Miembros** : Julio Santiago Contreras

Lisveth Flores Del Pino

Julio Reynaldo Ruiz Quiroz

**Comité Consultivo**

Caramatin Soriano, María  
**Universidad de Talca - Chile**

Quintana Cáceda, María  
**Universidad Nacional de Ingeniería**

Cedrón, Juan Carlos  
**Universidad De la Laguna - España**

Rueda Sánchez, Juan Carlos  
**Pontificia Universidad Católica del Perú**

Gamboa Fuentes, Nadia  
**Pontificia Universidad Católica del Perú**

Ruiz Quiroz, Julio  
**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

La Rosa Toro Gómez, Adolfo  
**Universidad Nacional de Ingeniería**

Santiago Contreras, Julio  
**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

Kong Moreno, Maynard  
**Pontificia Universidad Católica del Perú**

Valderrama Negrón, Ana Cecilia  
**Universidad Nacional de Ingeniería**

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

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

Casilla Postal 14-0576 – Lima 14 Perú

Teléfono (511) 960 189 928

e-mail: [sqperu@gmail.com](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 87**

**JULIO - SETIEMBRE 2021**

**N° 3**

En el Perú: N° suelto S/.15

Suscripción anual: S/. 60.00

En el extranjero: Suscripción anual: \$50.00



**SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ**  
**CONSEJO DIRECTIVO**  
**(marzo 2020 – marzo 2022)**

<b>Presidente</b>	: Mg. Helmer Heli Lezama Vigo
<b>Vice-Presidente</b>	: Mg. Neptalí Ale Borja
<b>Tesorero</b>	: Dr. Juan Manuel Parreño Tipián
<b>Secretaria</b>	: Lic. Nora Emperatriz Alvino De la Sota
<b>Director Administrativo</b>	: Ing. Patricio Eudes Muñoz Huillcas
<b>Vocales</b>	: Quím. Rodolfo Pumachagua Huertas Mg. Norma Amparo Cuizano Vargas Dr. Fernando Carlos Carrasco Solís Mg. Nora Gabriela Herrera Hernández Mg. Mario Antonio Bolarte Arteaga Mg. Max Jorge Carlos Salazar

**Comisión de Economía y Finanzas**

Presidenta: Ing. Quím. Flor de María Sosa Masgo

**Comisión de Publicaciones**

Presidenta: Dra. Ana Cecilia Valderrama Negrón

**Comisión de Actuaciones Científicas**

Presidenta: MSc. Luz Castañeda Pérez

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



**CONTENIDO**  
**(Vol. 87 – N° 3 – 2021)**

<b>Editorial</b> .....	193
------------------------	-----

**Trabajos Originales**

- Actividad antibacterial y composición química del aceite esencial de la <i>Aloysia aloysioides Loes</i> , por Carmen Huanca Miranda, Nino Castro Mandujano, Jesús López Rodilla, Nelson Bautista Cruz.	195
- Actividad antiinflamatoria y antioxidante de tres variedades de <i>Opuntia ficus-indica</i> “Tuna”, por Edwin Carlos Enciso Roca, Enrique Javier Aguilar Felices, Pablo Williams Común Ventura, Johnny Aldo Tinco Jayo.	207
- Antocianinas en corontas y extractos de maíz morado ( <i>Zea mays</i> L) “INIA 615” conservados en anaquel, por Samuel Cerro-Ruiz, Leonardo Espillico-Cormilluni.	217
- Composición química y actividad antibacteriana de los aceites esenciales de <i>Citrus paradisi</i> , <i>Juglans neotropica</i> <i>DIELS</i> , <i>Schinus molle</i> Y <i>Tagetes elliptica</i> Smith, por Julio Reynaldo Ruiz Quiroz, María Elena Salazar Salvatierra.	228
- Estudio experimental de la degradación del plaguicida metomilo en aguas superficiales aplicando procesos avanzados de oxidación, por Grecia Quispe Suni, Cynthia Medina Flores, Andrea Villasante Aparicio, Julian Rengifo Herrera, Miriam Bernal de Arenas.	242
- Evaluación de la actividad sinérgica entre quitosano de pluma de pota ( <i>Dosidicus gigas</i> ) y ácido cítrico en el pardeamiento de la pulpa de chirimoya ( <i>Annona cherimola</i> Mill.), por Freddy Quispe, Yanina Villaa, Noemí Bravo, Olivio Castro, Julio Santiago, Marco Guerrero.	261
- Metales de valor añadido en los ríos Salado ubicados en las cuencas Sama y Locumba (región de Tacna - Perú) y su correlación con arsénico y boro, por Edgardo Avendaño Cáceres, Margarita Briceño Toledo, Lorena Cornejo Ponce, Dante Morales Cabrera, Neil I. Ward.	278
- Química verde - Una alternativa eco-amigable en la obtención de nanopartículas de Ag <sup>0</sup> por, Hugo Alarcón, Macarena Tolmos, Nelson Villacrés, Emily Huarote.	298

---

**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 3 cm. 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

### La presencia de los metales pesados en los cuerpos de aguas

La relación de los seres humanos con los metales es muy antigua. La Edad de los Metales, periodo entre 6000 a. C. y 1000 a. C., es muy importante en el despegue evolutivo de la humanidad. El desarrollo de la metalurgia facilitó la fabricación de todo tipo de herramientas, especialmente aquellas empleadas luego en la agricultura, hasta armas con fines no necesariamente defensivos. Nuestra vida sin el uso de los metales - algunas veces no estamos conscientes pues una carcasa polimérica los disimula - sería imposible de imaginar, más en tiempos de pandemia cuando requerimos estar permanentemente interconectados. La lista de productos que ahora disfrutamos contiene artículos que nos son imprescindibles.

Desafortunadamente, este progreso histórico no estuvo desligado de sus consecuencias ambientales. Todas las operaciones propias de la minería y la metalurgia, ejemplos paradigmáticos, así como de cualquier otra actividad industrial, siempre han liberado residuos tóxicos al ambiente. Los problemas básicos han sido no haber previsto sus efectos toxicológicos y ecotoxicológicos, ni haber contado desde el inicio con estrategias apropiadas para minimizar los impactos, garantizar la seguridad ocupacional y buscar alternativas tecnológicas más responsables con el ambiente.

Entre los contaminantes antropogénicos más conocidos están los llamados metales pesados. Aquí cabe hacer dos precisiones: no todo metal pesado es tóxico, y la toxicidad siempre estará relacionada a altas concentraciones en la matriz ambiental de interés. Afortunadamente, la mayoría de países cuenta con normativas ambientales y sistemas de vigilancia, aunque no se puede afirmar su eficacia en todos los casos.

Los metales pesados tóxicos más estudiados son Hg, Pb, As, Cd, Cr, Zn, Cu, Ni, Sn, Co, pero no son los únicos elementos que deben ser monitoreados. Sus efectos en los seres humanos son diversos, según el elemento en cuestión, debido a que son persistentes, se bioacumulan y se magnifican en las cadenas tróficas, y son muy tóxicos aun en bajísimas concentraciones. En algunos casos, los órganos diana son los mismos para varios elementos, exacerbando las condiciones clínicas en caso de una exposición múltiple.

A pesar de los esfuerzos por fiscalizar las actividades industriales y domésticas que están relacionadas con la liberación de metales tóxicos al ambiente, hace décadas que se estudian los cuerpos receptores de este tipo de efluentes. Lagos, lagunas, reservorios, acuíferos subterráneos, aguas marinas y oceánicas, nieve o aguas lluvia inevitablemente acusarán alguna presencia de estos elementos en muestras obtenidas por programas de monitoreo y vigilancia puntuales o sostenidos. Los programas de vigilancia permanente, cuyos resultados son de acceso público usando las tecnologías de información más modernas, son rutinarios y de gran calidad científica en muchos países altamente desarrollados en el control ambiental. Es necesario recordar que un principio ético es que la información medioambiental sea de acceso de todos los ciudadanos de cada país. Recordemos que la educación y la información

ambiental de calidad son las armas más poderosas que podemos usar para lograr una transición a una sociedad más responsable con nuestro planeta. El planeta que habitamos es nuestra única casa y debemos cuidarla, especialmente de la contaminación en aguas por metales pesados tóxicos.

*Dra. Nadia Gamboa*  
*Profesora Principal del Departamento Académico de Ciencias - Sección Química*  
*Pontificia Universidad Católica del Perú*

## ACTIVIDAD ANTIBACTERIAL Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LA *Aloysia aloysioides* Loes

Carmen Huanca Miranda<sup>1</sup>, Nino Castro Mandujano<sup>1\*</sup>, Jesús López Rodilla<sup>2</sup>, Nelson Bautista Cruz<sup>3</sup>

### RESUMEN

En la presente investigación se estudió al aceite esencial de la "lima-lima" (*Aloysia aloysioides* Loes y *Moldenke*), fue colectada en el distrito de Tintay, Apurímac-Perú, los pobladores de esta zona, lo utilizan por sus propiedades antiinflamatorias en forma de emplastos. El objetivo es extraer y caracterizar al aceite esencial de la *Aloysia aloysioides* Loes & *Moldenke* y evaluar la actividad antibacteriana. A partir de 674 gramos de muestra fresca (ramas) se obtuvo el aceite esencial por destilación por arrastre con vapor, luego, se caracterizó realizando un análisis fisicoquímico, cromatográfico por CG-EM, espectroscópico FT-IR y el análisis antibacteriano. Se obtuvo el aceite esencial con un rendimiento de 0,38%; se identificó al  $\beta$ -Cariofileno (10,88 %), limonelo (9,9 %), p-cimeno (7,22%), Oxido de cariofileno (5,98 %), Nerolidol (4,96 %) y  $\alpha$ -humuleno (4,92 %) como componentes mayoritarios. Además, este aceite esencial tiene actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*, hasta un 73% de efectividad cercano a la gentamicina; por estas razones podría ser usado en preparaciones farmacéuticas.

**Palabras claves:** *Aloysia aloysioides* Loes & *Moldenke*, actividad antibacteriana, CG-EM.

## ANTIBACTERIAL ACTIVITY AND CHEMICAL COMPOSITION OF THE ESSENTIAL OIL OF *Aloysia aloysioides* Loes

### ABSTRACT

In the present investigation the essential oil of the "lime-lime" (*Aloysia aloysioides* Loes and *Moldenke*) was studied, it was collected in the district of Tintay, Apurímac-Peru, the inhabitants of this area, use it for its anti-inflammatory properties in the form of plasters. The objective is to extract and characterize the essential oil of *Aloysia aloysioides* Loes & *Moldenke* and evaluate the antibacterial activity. From 674 grams of fresh sample (branches) the essential oil was obtained by steam distillation, then it was characterized by performing a physicochemical analysis, chromatographic by GC-MS, spectroscopic FT-IR and antibacterial

<sup>1</sup> Laboratorio de Productos Naturales, Departamento de Química Orgánica, Escuela de Química, Facultad de Química e Ingeniería de Química, UNMSM. ocastron@unmsm.edu.pe.

<sup>2</sup> Departamento de Química, Universidade Beira Interior, Covilhã, Portugal.

<sup>3</sup> Laboratorio de Microbiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica - UNMSM

analysis. The essential oil was obtained with a yield of 0.38%;  $\beta$ -Caryophyllene (10.88%), limonene (9.9%), p-cymene (7.22%), caryophyllene oxide (5.98%), Nerolidol (4.96%) and  $\alpha$ -humulene were identified (4.92%) as majority components. In addition, this essential oil has antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, up to a 73% effectiveness close to gentamicin; for these reasons it could be used in pharmaceutical preparations.

**Keywords:** *Aloysia aloysioides* Loes & Moldenke, antibacterial activity, GC-MS.

## INTRODUCCIÓN

El estudio de varias especies de La familia Verbenaceae han permitido evidenciar su utilidad en la medicina tradicional en malestares del aparato digestivo, aparato reproductor femenino, sistema músculo esquelético y nosologías dependientes de la cultura como antioxidantes, esto debido a compuestos fenólicos contenidos en especies como *Aloysia citriodora* Palau, esta especie contiene un alto porcentaje de fenólico y estos componentes, generalmente poseen una mayor actividad antioxidante<sup>2</sup>, por otro lado, se ha logrado identificar mediante cromatogramas provenientes de la infusión de las hojas un perfil de polifenoles caracterizados por la presencia de ácido cafeico y flavonoides<sup>3</sup>, los extractos alcohólicos y acuosos poseen actividad antiinflamatoria, atribuida a la presencia de theviridosido, un glucósido iridoide, además, otro componente común en la familia VERBENACEAE, la actividad analgésica se debe a la presencia de verbascósido y en cuanto a la actividad antipirética, el extracto acuoso es ligeramente superior al del paracetamol<sup>4</sup>.

Como agentes antimicrobianos y antimicóticos, los aceites esenciales y extractos de plantas han formado las bases de muchas aplicaciones, que van desde la preservación, procesados de carne hasta productos farmacéuticos, es así como el aceite esencial de tomillo no solo actúa como agente antibacteriano si no también minimiza la oxidación de lípidos además de mejorar sus características sensoriales incluso mejorando la salubridad del producto hasta por dos semanas en almacenamiento refrigerado<sup>5</sup>, además, otros estudios demuestran la amplia actividad antimicrobiana de especies de la familia VERBENACEA, como es el caso del aceite esencial de la *Aloysia triphylla* mostrando efectos sobre el trypanosoma cruzi siendo un tratamiento alternativo frente a los escasos fármacos para su tratamiento<sup>6</sup>. Estudios realizados en Venezuela muestran el amplio espectro antibacteriano contra patógenos genito-urinarios y hacen notable su uso con bajas dosis<sup>6</sup> y el aceite de la *Aloysia gratissima* es un antibacteriano efectivo contra *Staphylococcus aureus* y *M. luteus* e incluso mostró actividad antiedematogena con un gran porcentaje de inhibición de la inflamación siendo esto último aplicado de manera tópica<sup>7</sup> también muestra actividad antimicrobiana contra *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis*<sup>8</sup>.

En cuanto a la composición de los aceites la identificación de los analitos se apoya en el uso de la cromatografía gases acoplada a espectrometría de masas<sup>9</sup>, la detección en la *Aloysia Triphylla* da como componentes principales como 1,8-cineol (12,4%), geranial (9,9%), 6-metil-5-hepten-2-ona (7,4%) y neral (6,9%) analizado por CG-EM<sup>10</sup>, por otro lado, para la *Aloysia gratissima* se logró identificar también metabolitos secundarios de la clase de

terpenos, un total de 14 componentes y siendo los principales componentes identificados isopinocampone (trans -3-pinanona) (25.4%), limoneno (15.1%) y guaiol (12.7%)<sup>11</sup>.

Finalmente, la presente investigación tiene por objetivo, extraer y caracterizar al aceite esencial de la *Aloysia aloysioides Loes & Moldenke* y evaluar la actividad antibacteriana; además, este estudio será un aporte a la flora peruana ya que no hay ningún estudio fitoquímico de esta planta.

## PARTE EXPERIMENTAL

**Material vegetal.** La muestra en estudio de *Aloysia aloysioides Loes & Moldenke* (ver figura 1), fueron recolectadas en junio de 2019 en el distrito de Tintay provincia de Aymaraes, Abancay (Perú).

**Identificación de la muestra.** La identificación botánica se realizó en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por el Mg. Asunción Cano Echevarría, quien nos proporcionó el nombre científico como *Aloysia aloysioides Loes & Moldenke* (constancia N° 124-USM-2019).



**Figura 1.** Imagen de la planta en estudio “lima-Lima”.

**Tabla 1.** Taxonomía de la “lima-lima” *Aloysia aloysioides* Loes & Moldenke.

CARACTERÍSTICA	CLASIFICACIÓN
<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Subclase</b>	Asteridae
<b>Orden</b>	Lamiales
<b>Familia</b>	Verbenaceae
<b>Genero</b>	Aloysia
<b>Especie</b>	<i>Aloysia aloysioides</i> Loes & Moldenke
<b>Nombre vulgar</b>	“lima-lima”

**Extracción del aceite esencial.** La muestra fue sometida a una destilación, por el método de arrastre de vapor de agua, usando 673 gramos, durante 2 horas, usando un equipo semiindustrial de acero inoxidable de 20 litros de capacidad. El aceite esencial obtenido se secó con sulfato de sodio anhidro.

**Cromatografía de gases (CG).** fue realizado con un cromatógrafo de Agilent® Technologies 7890A GC-System equipado con una columna capilar DB5-MS, 30mx0.25 nm i. d., con film de Polidimetil Siloxane (J & W LTM Column module) de un espesor de 0,25 µm. La temperatura inicial de la columna es de 60°C durante 5 minutos, aumentando de 60°C a 200°C, con una rampa de aumento de temperatura de 4°C/min, en la siguiente rampa de temperatura aumenta de 200°C hasta los 280°C con una rampa de crecimiento de 10°C/min; la temperatura final se mantiene constante durante 35 minutos. La temperatura del inyector es de 250°C, el detector se encuentra a una temperatura de 180°C. El gas de arrastre es Helio con un caudal de 1 mL/min, el volumen de inyección de la muestra es de 1µL.

**Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM).** realizado en un detector acoplado al cromatógrafo, corresponde a un Agilent® Technologies 5975C, Inert XL MSD con detector Triple-Axis, operando en las condiciones indicadas anteriormente, con un voltaje de ionización de 70 eV y con la fuente iónica a una temperatura de 230°C. A análisis se realiza aproximadamente en 110 min.

**Análisis de los resultados.** se realizó con el software Chemstation para el análisis de las áreas obtenidas para los varios componentes, la identificación de los espectros de masas de cada pico se realiza con las siguientes bases de datos: Nist Mass Spectral Software, y Wiley.

## Análisis Microbiológico

**Cepas microbianas.** Para el ensayo de actividad antimicrobiana se utilizaron 3 cepas bacterianas y una cepa fúngica (hongo). Todas las cepas utilizadas fueron cepas patógenas aisladas de muestras clínicas humanas proporcionadas por el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica - UNMSM. Las cepas bacterianas fueron *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* (Gram negativas) y *Staphylococcus aureus* (Gram positivo) y *Candida albicans* (hongo).

**Preparación de inóculos y ensayo de actividad antimicrobiana.** La técnica utilizada fue difusión en pozo en agar. Se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Los microorganismos almacenados en agar inclinado se cultivaron en agar tripticasa soya (TSA) para las bacterias y en agar Sabouraud dextrosa para el hongo, se incubaron a 37 °C x 24 h. Después de este tiempo se realizó la preparación de las suspensiones microbianas en suero fisiológico a 0,5 de escala de McFarland. De cada suspensión microbiana se tomó 50 µL y se mezcló con 20 mL de agar Mueller Hinton licuado estéril a 45 °C para las bacterias y agar Sabouraud para *Candida albicans*, luego se pasó a placas Petri estéril, se dejó solidificar y se realizó 3 pozos de 6 mm de diámetro en cada placa utilizando un sacabocados estéril. En un pozo de las placas se colocó 100 µg de la muestra (crema), en el segundo pozo se colocó 50 µL (25 µg/mL) de solución gentamicina (control +) para las bacterias y fluconazol (control +) para *Candida albicans* y en el tercer pozo se colocó 50 µL de suero fisiológico (control -). Las placas de fueron incubadas a 37 °C entre 24 a 48h en este tiempo se verificó la presencia de los halos de inhibición alrededor de los pozos. En las placas con presencia de halos de inhibición se midieron el diámetro de los halos en milímetros (mm). Los ensayos para la muestra se realizaron por duplicado<sup>12, 13</sup>.

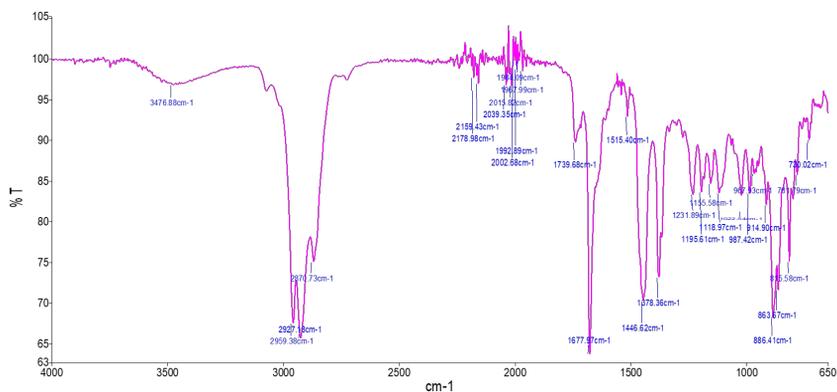
## RESULTADOS Y DISCUSION

Se obtuvo un aceite de olor cítrico con leve color amarillo, con un rendimiento de 0,38 %, respecto al material muestra inicial, la índice refracción del aceite esencial fue 1,477 y la densidad promedio fue de 0,8525 g/ml.

### Análisis espectroscópico

#### Espectroscopía infrarroja

En la figura 2, se muestra el espectro FT-IR del aceite esencial de *Aloysia aloysiodes Loes & Moldenke*, que permitirá identificar los grupos funcionales contenidos en los componentes químicos del aceite esencial



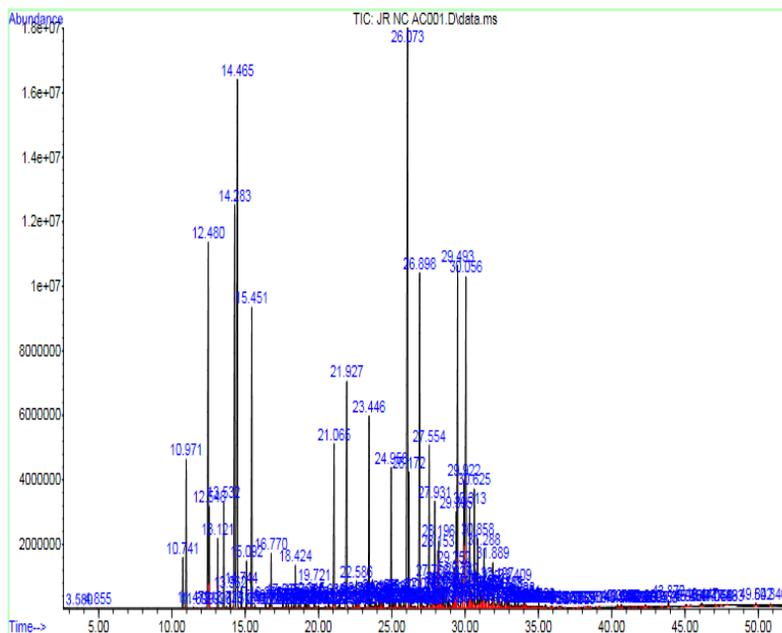
**Figura 2.** Espectro IR del aceite esencial de Lima-Lima.

En la Tabla N° 1 se muestran los componentes identificados mediante espectroscopia IR, tales como los dimetilos terminales presentes en el citral, la  $\alpha$ -tujona y la 6-metil-5-hepten-2-ona. El estiramiento del enlace C=O en 1739 y 1677  $\text{cm}^{-1}$  es característico del grupo carbonilo y evaluado junto con la torsión C—H que se aprecia a 1378  $\text{cm}^{-1}$ , indican la presencia de aldehídos, posiblemente con enlace C=C en su cadena principal debido al pico en 1677  $\text{cm}^{-1}$ ; esto coincide con la estructura del citral, este compuesto está presente en el aceite esencial de cedrón. Además, se pueden observar picos de absorción a 1446  $\text{cm}^{-1}$ , característicos de torsión de tijeras de radicales metilenos (-CH<sub>2</sub>-) de compuestos cíclicos pequeños (C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub>). Así mismo, hay picos de absorción en 2959 y 1446  $\text{cm}^{-1}$ , que corresponden a grupos metileno terminales (=CH<sub>2</sub>), como los hallados en la molécula del limoneno o el espatulenol. Los picos de absorción en 1195 y 1118  $\text{cm}^{-1}$  son indicio de la presencia de alcoholes secundarios y terciarios debido al estiramiento del enlace C-OH<sup>14</sup>. Además, se observa que alrededor de 2000  $\text{cm}^{-1}$ , hay varios picos pequeños, el cual nos indica que el aceite esencial tiene aromáticos.

**Tabla 2.** Bandas de absorción del espectro infrarrojo del aceite esencial de “Lima-Lima”.

Bandas cm <sup>-1</sup>	Grupo funcional	Observaciones
3476	O-H	Una banda de tensión O-H enlazado a un aromático
2959	-CH <sub>3</sub>	Doblete debido a las vibraciones de tensión asimétrica y simétrica del C-H independiente de la molécula
2959-2870	-CH <sub>3</sub> , -CH <sub>2</sub> -	Vibración de alargamiento de enlaces C - H característico de compuestos orgánicos. Valor es útil para determinar la hibridación del átomo de carbono, corresponde a carbono sp <sup>3</sup> (alcano o posibles grupos alquilo)
2870	-CH <sub>2</sub> -	Vibraciones simétricas del átomo de hidrógeno, independiente del tamaño de la molécula.
1738	(C=O)	Vibración de alargamiento del carbonilo (C=O) valor característico de aldehídos y cetonas.
1446	CH <sub>2</sub> -	Flexión de carbono - hidrógeno.
1446	-CH <sub>3</sub>	Característico del grupo metilo.
1378	-CH <sub>3</sub> , -CH <sub>2</sub> -	Característico del isopropil (dos grupos metilo en el mismo carbono)
1364	-CH <sub>3</sub>	Alcano, metilo - geminal.
987	Alifáticos	Bandas muy débiles con difícil designación
914 -967	Alifáticos	Bandas muy débiles con difícil designación
815 -840	=C-H	Alquenos, hidrocarburos aromáticos.
730 -781	C-H	Debido a vibraciones del carbono - hidrógeno

La identificación de los componentes presentes en el aceite esencial mediante CG-EM, se realizó comparando los tiempos de retención y los espectros de masas mediante búsqueda computarizada en la librería con las siguientes bases de datos: Nist Mass Spectral Software, y Wiley. En la figura 3, tenemos el cromatograma del aceite esencial.



**Figura 3.** Cromatograma CG\_EM del aceite esencial de la *Aloysia aloysioides*.

Respecto de composición, de los treinta componentes identificados, el 30,81% monoterpenos, monoterpenos oxigenados de 11,32 %, sesquiterpenos 22,94 % y finalmente con un 18,35% de sesquiterpenos oxigenados estos mostrados en la figura 3. Los componentes mayoritarios identificados fueron:  $\beta$ -Cariofileno (10,88 %), limoneno (9,9 %), p-cimeno (7,22%), Oxido de cariofileno (5,98 %), Nerolidol (4,96 %) y  $\alpha$ -humuleno (4,92 %). Este aceite guarda estrecha relación con el aceite esencial *De Aloysia thyphylla* siendo esta de la misma familia estudiada en Argentina el  $\beta$ -Cariofileno (3,3%) y otra en Venezuela,  $\beta$ -Cariofileno (2,1 %).

**Tabla 3.** La composición del aceite esencial de Lima-Lima.

Componente	Abundancia %	RT	Fórmula global
$\beta$ -Cariofileno	10,88	26,07	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
limoneno	9,49	14,46	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
p-cimeno	7,22	14,28	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>
Oxido de cariofileno	5,98	30,06	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O
Sabineno	5,61	12,48	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
Nerolidol	4,96	29,49	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O
$\alpha$ -humuleno	4,92	26,9	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
Y-terpineno	3,8	15,45	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
Citral	3,67	21,93	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O
Gemacreno D	2,22	27,33	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
Espatulenol	2,14	29,92	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O
neral	2,29	21,06	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O
Acetato de Mirtenilo	2,31	23,45	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>
$\alpha$ -pineno	1,72	10,97	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
$\alpha$ -felandreno	1,18	13,53	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
$\beta$ -pineno	1,05	12,55	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
Acetato de Geranilo	1,62	24,96	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>
$\alpha$ -Chamigreno	1,72	26,1	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
Biciclogermacreno	1,31	27,55	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
Germacreno B	1,2	29,39	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
Guaiol	1,24	30,18	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O
Oxido Humuleno	1,59	30,37	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O
Endo-1-bourbananol	0,94	30,51	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O
Cadinol Isomero	0,83	31,29	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O
$\beta$ -Mirceno	0,74	13,12	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
Hidrato de Sesquisabineno	0,67	29,14	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O
Butirato de Geranilo	0,82	28,11	C <sub>14</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>
$\beta$ -Bisaboleno	0,69	28,15	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
Linolool	0,61	16,77	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
otros componentes (>0,5%)	17,1		
TOTAL	99,9		

El componente mayoritario es el beta-Cariofileno, con casi 11 % del aceite esencial, además, se verificó la presencia del limoneno, se concluyó que este componente de la planta es el que le proporciona al aceite de lima-lima un sabor y olor agradable, pues su contenido es importante, aunque menor al beta-Cariofileno. Como se puede apreciar la figura 4, el contenido de Sesquiterpenos y Monoterpenos presentes en el aceite de esencial de lima-lima expresado en porcentajes, cuya diferencia entre ambos componentes es del 7.87%, que hace notable la cantidad elevada de Sesquiterpenos presentes en la *Aloysia peruviana* y la distingue de otras especies *Aloysias* reportadas en estudios previos.

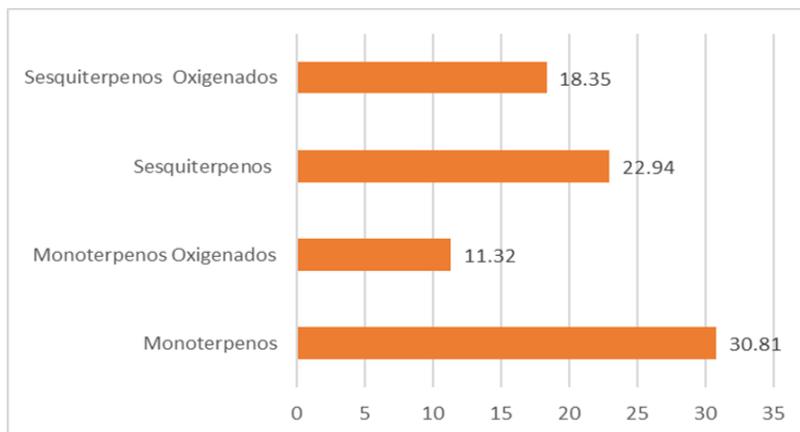


Figura 4. Porcentaje de Terpenos.

**Evaluación de la actividad antibacteriana.** En la tabla 4 se evidencia que para la muestra existe halo de inhibición solo para *Staphylococcus aureus*, no existe halos de inhibición para *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*. Se concluye que el aceite esencial tiene actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* (Gram positivo) pero no tiene ninguna actividad antimicrobiana contra *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* (Gram negativos) y *Candida albicans* (hongo). Es preciso indicar que, la muestra fue enfrentada a las cepas clínicas, los cuales son diferentes a las cepas estándar (ATCC). Las cepas clínicas pueden ser mucho más resistentes a comparación de las cepas estándar, pero realizar el ensayo con cepas clínicas se acercan a la realidad si se tiene previsto aplicar el aceite en algún producto.

De acuerdo con los valores obtenidos se observa que el aceite esencial de *Aloysia aloysioides* Loes & Moldenke no presentó actividad que otras especies de *Aloysia* de su misma familia, ya que diversos estudios indican que si son bioactivos frente a *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* (Demo *et. al*, 2005 y Duarte *et. al*, 2007). Esta diferencia se puede atribuir a variación en la composición química del aceite la ausencia del geranial y el porcentaje mínimo de neral el cual en el caso del aceite esencial de Lima -lima no supera el 3%, también, otro factor a tomar en cuenta es la proporción de Monoterpenos y Sesquiterpenos es muy cercana no mayor al 7,87 %, finalmente esta composición podría estar influenciada también por las condiciones del medio ambiente donde crece la planta, esto fue demostrado en estudios previos en otras *Aloysias*.

**Tabla 4.** Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Aloysia aloysioides Loes & Moldenke* contra cepas de referencia.

Microorganismos	Diámetro de halos de inhibición (mm)				
	Fluconazol	Gentamicina	Suero fisiológico	Muestra	Muestra
	(control +)	(control +)	(Control -)	1	2
<i>Escherichia coli</i>	---	30	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	---	25	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	---	26	0	19	19
<i>Candida albicans</i>	23	---	0	0	0

## CONCLUSIONES

El aceite esencial de *Aloysia aloysioides Loes & Moldenke*, obtenido por el método de destilación por arrastre con vapor de agua, posee un rendimiento RAE% de 0,38%. El análisis fisicoquímico del aceite esencial, nos revela que es un líquido de color ligeramente amarillento, olor cítrico herbáceo, sabor ligeramente dulce y cítrico, soluble en alcohol al 96%, el índice de refracción es 1,4798, la densidad de 0,8561 g/mL.

Se han identificado y cuantificado 208 compuestos empleando la Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM) en la muestra de aceite esencial de *A. aloysioides Loes & Moldenke*, de estos, 6 son los compuestos mayoritarios, estos son:  $\beta$ -Cariofileno (10,88 %), limoneno (9,9 %), p-cimeno (7,22%), Oxido de cariofileno (5,98 %), Nerolidol (4,96 %) y  $\alpha$ -humuleno (4,92 %).

Este aceite esencial es una fuente de sustancias con actividad antibacteriana que podría ser usado en preparaciones farmacéuticas y aplicaciones en la Industria Alimentaria para el tratamiento de infecciones causadas por *Staphylococcus aureus*. Por otro lado, este es el primer reporte de actividad antibacteriana del aceite esencial de *A. aloysioides Loes & Moldenke* contra patógenos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. López-Villafranco M, Aguilar-Contreras A, Aguilar-Rodríguez S, Xolalpa-Molina S. Las Verbenaceae empleadas como recurso herbolario en México: una revisión Etnobotánica-Médica. Polibotánica. 2017; 44:195-216.
2. Hashemi S, Mohammad B, Khaneghah A, Koubaa M, Barba F, Abedi E, Niakousari M, Tavakoli J. Extracción de aceite esencial de hojas de *Aloysia citriodora* Palau usando ultrasonido continuo y pulsado: cinética, actividad antioxidante y antimicrobiana. Process Biochem. 2018; 65:197-204

3. Wernert M, Wagner M, Gurni A, Carballo M, Ricco R. Estudio de polifenoles de infusiones y cocimientos de hojas de "Cedrón" (*Aloysia citrodora* Palau) y "Poleo" (*Lippia turbinata* Griseb.) -Verbenaceae. BLACPMA. 2009; 8(4): 308-311.
4. Seham S, El-Hawary M, Amira Y, Motaal A, Abd-Hameed L. Bioactivities, phenolic compounds and in-vitro propagation of *Lippia citriodora* Kunth cultivated in Egypt. Bull Fac Pharm Cairo Univ. 2012; 50(1): 1–6.
5. Kassem G, Atta-Alla O, Ali F. Improving the quality of beef burger by adding thyme essential oil and jojoba oil. Arch Zootec. 2011; 60 (231): 787-795.
6. Rojas L, Velasco J, Díaz T, Gil Otaiza R, Carmona J, Usabillaga A. Composición química y efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia triphylla* (L'Hér.) Britton contra patógenos genito-uritarios. BLACPMA. 2010; 9 (1): 56 – 62
7. Vandresen F, Shmitt E, Kato L, Alves De Oliveira C, Bersani A, Da Silva C. Constituintes químicos e avaliação das atividades antibacteriana e antiedematogênica de *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook.) Tronc. y *Aloysia virgata* (Ruiz & Pav.) Pers., Verbenaceae. Rev Bras Farmacogn. 2010; 20(3):317-321.
8. Bailac P, Dellacasa D, Firpo N, Ponzi M. Composición del aceite esencial y actividad antimicrobiana de *Aloysia gratissima* de San Luis–Argentina. An Asoc Quím Argent. 1999; 87(3):149-153.
9. Stashenko E, Jairo M. Algunos aspectos prácticos para identificación de analitos por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Scientia Chrom. 2010; 2(1):29-47.
10. Bellakhdar J, Idrissi A, Canigual S, Iglesias J, Vila R. Composition of lemon verbena (*Aloysia triphylla* (L'Herit) Briton) oil of Moroccan. J Essent Oil Res. 1994; 6(5):523 – 526.
11. Trovati G, Gilberto O, Chierice, Sanches E, Galhiane M. Essential Oil Composition of *Aloysia gratissima* From Brazil. J Essent Oil Res. 2010; 4:325-326,
12. Odeniyi MA, Okumah VC, Adebayo-Tayo BC, Odeniyi OA. Green synthesis and cream formulations of silver nanoparticles of *Nauclea latifolia* (African peach) fruit extracts and evaluation of antimicrobial and antioxidant activities. Sustain Chem Pharm. 2020;15:100197. doi:10.1016/j.scp.2019.100197
13. Torres-Chatí J, León-Quispe J, Tomas-Chota G. Actividad antibacteriana y antifúngica de extractos de hojas de Luma chequen (Molina) A. Gray “arrayán” frente a patógenos de origen clínico. Rev Soc Ven Microbiol. 2017; 37(1): 10-16.
14. Pretsch E. Tablas para la elucidación estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos. Madrid: Editorial Alhambra; 2015.
15. Darwish RS, Hammoda HM, Ghareeb DA, Bellah El Naggar EM, Harraz FM, & Shawky E. Efficacy-directed discrimination of the essential oils of three Juniperus species based on their in-vitro antimicrobial and anti-inflammatory activities. J Ethnopharmacol. 2020; 259:112971. doi: 10.1016/j.jep.2020.112971.

## ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA Y ANTIOXIDANTE DE TRES VARIEDADES DE *Opuntia ficus-indica* “TUNA”

Edwin Carlos Enciso Roca<sup>\*a</sup>, Enrique Javier Aguilar Felices<sup>a</sup>,  
Pablo Williams Común Ventura<sup>a</sup>, Johnny Aldo Tinco Jayo<sup>a</sup>

### RESUMEN

Se determinó la actividad antiinflamatoria y antioxidante del extracto hidroalcohólico de fruto de las variedades anaranjada, morada y blanca de *Opuntia ficus-indica*. Los métodos fueron: fenoles totales por Folin-Ciocalteu, flavonoides por cloruro de aluminio y la actividad antioxidante por DPPH, ABTS y FRAP; y la actividad antiinflamatoria *in vitro* por estabilización de membrana de glóbulos rojos. El contenido de fenoles totales fue 4,08, 3,87 y 3,69 mg EAG/g de extracto para las variedades anaranjada, blanca y morada, respectivamente ( $p > 0,05$ ); el de flavonoides fue mayor en la variedad anaranjada (2,36 mg EQ/g), seguida de la variedad morada (2,29 mg EQ/g) y blanca (2,0 mg EQ/g) ( $p < 0,05$ ), respectivamente. La capacidad secuestradora de radical libre DPPH de la variedad anaranjada presentó mayor actividad (6,20  $\mu\text{mol ET/g}$ ) ( $p < 0,05$ ), para ABTS la variedad morada presentó mayor actividad (25,35  $\mu\text{mol ET/g}$ ) ( $p < 0,05$ ) y para el potencial antioxidante reductor del hierro (FRAP), las tres variedades presentaron valores similares ( $p > 0,05$ ). El porcentaje de actividad antiinflamatoria *in vitro*, fueron para la variedad anaranjada (60,32%), morada (51,37%) y blanca (36,01%), respectivamente, mostrando menor actividad, frente a dexametasona (87,93%) y diclofenaco (84,60%) ( $p < 0,05$ ). Se concluye que la pulpa de los frutos de las tres variedades tienen actividad antioxidante y antiinflamatoria.

**Palabras clave:** *Opuntia ficus-indica*, compuestos fenólicos, flavonoides, actividad antiinflamatoria, actividad antioxidante.

---

<sup>a</sup> Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Av. Independencia s/n Ciudad Universitaria, Ayacucho, Perú.

\* edwin.enciso@unsch.edu.pe

## ANTI-INFLAMMATORY AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THREE VARIETIES OF *Opuntia ficus-indica* “TUNA”

### ABSTRACT

The anti-inflammatory and antioxidant activity of the hydroalcoholic extract of the fruit of the orange, purple and white varieties of *Opuntia ficus-indica* was determined. The methods were: total phenols by Folin-Ciocalteu, flavonoids by aluminum chloride and antioxidant activity by DPPH, ABTS and FRAP; the anti-inflammatory activity *in vitro* by the red blood cell membrane stabilization method. The total phenolic content for the orange, white and purple varieties were 4.08, 3.87 and 3.69 mg GAE/g ( $p > 0.05$ ). The flavonoid content was higher in the orange variety with 2.36 mg QE/g, followed by the purple and white variety with 2.29 and 2.0 mg QE/g ( $p < 0.05$ ). In the free radical scavenger for DPPH the orange variety presents a higher activity of 6.20  $\mu\text{mol TE/g}$  ( $p < 0.05$ ), for ABTS the purple variety presents 25.35  $\mu\text{mol ET/g}$  ( $p < 0.05$ ) and for the ferric reducing activity potential (FRAP) the varieties did not show differences ( $p > 0.05$ ). In the anti-inflammatory activity *in vitro*, the orange (60.32%), purple (51.37%) and white (36.01%) varieties showed lower activity, when were compared to dexamethasone (87.93%) and diclofenac (84.60%) ( $p < 0.05$ ). It is concluded that the pulp of the fruit of the three varieties from *Opuntia ficus-indica* "prickly pear" have antioxidant and anti-inflammatory activity

**Key words:** *Opuntia ficus-indica*, phenolic compounds, flavonoids, antioxidant activity, anti-inflammatory activity.

### INTRODUCCIÓN

*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller “tuna” es una planta nativa de México distribuida en todo Sudamérica, que se ha adaptado en la costa y sierra del Perú<sup>1</sup>, cuyo potencial nutricional, medicinal, en la industria alimentaria y farmacéutica ha sido reconocido por la FAO para el desarrollo de las regiones áridas y semi áridas, especialmente en los países en desarrollo<sup>2</sup>.

El consumo de frutas con propiedades antioxidantes previenen diversas enfermedades crónicas y mejoran la salud del consumidor, es así que, *Opuntia ficus-indica* posee propiedades nutricionales, medicinales, antioxidantes y con una cantidad considerable de fibras con efectos en la salud como control de peso, colesterol en sangre y control de la diabetes<sup>1,3</sup>.

Las plantas con propiedades antioxidantes también presentan actividad antiinflamatoria como lo reportado en la cáscara de tuna que presenta actividad antioxidante y antiinflamatoria<sup>4</sup>, de la misma forma algunos polifenoles de las frutas tienen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, anticancerígenas y antibacterianas<sup>5</sup>.

Los radicales libres nocivos para la salud y los procesos inflamatorios como problemas de salud afectan principalmente a la población en general disminuyendo la calidad de vida de las personas, y para contrarrestar se utilizan diversos tratamientos siendo uno de ellos el uso empírico de plantas medicinales como la tuna que se usa para curar heridas y tratar diferentes patologías, como úlceras, disnea, glaucoma, enfermedades del hígado y fatiga. Además, el consumo de las frutas y sus jugos ha sido tradicionalmente recomendado por sus propiedades diuréticas, hipoglucemiantes, antialérgicas, analgésicas, y antiinflamatorias, así como el uso de los cladodios para la gastritis y tratamiento de úlceras<sup>6</sup>.

Los efectos adversos de los fármacos sintéticos es un problema vigente de la farmacología moderna, sin embargo, las plantas usadas en la medicina tradicional se constituyen en una alternativa para prevenir y curar diversas patologías sin causar efectos colaterales. No existen reportes del contenido de compuestos fenólicos, de su actividad antioxidante y antiinflamatoria in vitro de variedades de esta especie. Por lo tanto, en la presente investigación se determinó la actividad antiinflamatoria y antioxidante del extracto hidroalcohólico del fruto de tres variedades de *Opuntia ficus-indica* "tuna".

## PARTE EXPERIMENTAL

### **Población y muestra**

Frutos de las variedades anaranjada, morada y blanca de *Opuntia ficus-indica* "tuna", que crecen en el distrito de Tambillo de la región de Ayacucho.

La muestra estuvo constituida por 3 kg de frutos de cada variedad, cuyo muestreo fue por conveniencia teniendo en cuenta la integridad y calidad del fruto, colectadas entre enero y febrero de 2020.

### **Obtención del extracto hidroalcohólico**

2 kg de pulpa del fruto fresco de cada variedad fue retirado en condiciones asépticas, trituradas en una licuadora y maceradas por 7 días con 5 L de etanol de 96° con agitación constante. Se filtró y el filtrado se concentró en un evaporador rotatorio BUCHI R3000 hasta sequedad. El extracto hidroalcohólico, fue conservado en refrigeración hasta su posterior uso.

### **Ensayo fitoquímico del extracto**

Los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico se identificaron según la técnica descrita por Lock<sup>7</sup>.

### **Determinación de fenoles totales**

50 µL del extracto metanólico (10 mg/mL) se diluyó a 1 mL con agua destilada y se adicionó 0,5 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu 0,2 N y 2,5 mL de carbonato de sodio al 5%, seguidamente se dejó reaccionar en la oscuridad por 40 minutos. La lectura de las absorbancias se realizó a 725 nm en espectrofotómetro UV-Vis Genesys 150 Thermoscientific. La curva patrón se preparó con solución de ácido gálico (50 µg/mL) a las concentraciones de 10, 20,

30, 40 y 50  $\mu\text{g/mL}$ . El contenido de fenoles totales se expresa en miligramos equivalente a ácido gálico por gramo de extracto ( $\text{mg EAG/g}$ )<sup>8</sup>.

#### **Determinación del contenido de flavonoides**

Se realizó según el método de cloruro de aluminio, en la cual a 0,50 mL del extracto (10  $\text{mg/mL}$ ) se llevó a 1 mL con agua destilada, luego se agregaron 0,15 mL de nitrito de sodio al 5%, 5 minutos después 0,15 mL de cloruro de aluminio al 10%, a los 6 minutos, 2 mL de hidróxido de sodio al 4% y se completó a 5 mL con agua destilada, se mezcló y se dejó reaccionar en la oscuridad por 15 minutos a temperatura ambiente. La lectura de las absorbancias se realizó a 510 nm contra un blanco utilizando el espectrofotómetro UV-Vis Genesys 150 Thermoscientific. Se preparó una curva patrón con quercetina (200  $\mu\text{g/mL}$ ) a las concentraciones de 40, 80, 120, 160 y 200  $\mu\text{g/mL}$ . El contenido de flavonoides se presentan como miligramos equivalente a quercetina por gramo de extracto ( $\text{mg EQ/g}$ )<sup>8</sup>.

#### **Determinación de la actividad antioxidante**

##### **Método de secuestro del radical libre 1,1 – difenil – picril – hidrazilo (DPPH)**

150  $\mu\text{L}$  de extracto (10  $\text{mg/mL}$ ) se mezcló con 2850  $\mu\text{L}$  del radical libre DPPH (20  $\text{mg/L}$ ) en metanol con una absorbancia de  $1,1 \pm 0,02$  nm. Después de mezclar fue incubada en la oscuridad por 30 minutos. La absorbancia se midió a 515 nm en espectrofotómetro UV-Vis Genesys 150 Thermoscientific. La curva patrón se preparó con Trolox a las concentraciones de 0 a 800  $\mu\text{mol/mL}$ . La actividad antioxidante equivalente a trolox se expresa como micromol equivalente a trolox por gramo de extracto ( $\mu\text{mol ET/g}$ )<sup>9</sup>.

##### **Método de secuestro del catión radical del ácido 2,2'- azinobis- (3- etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS<sup>+</sup>)**

Se preparó una solución patrón (SP) mezclando 10 mL de ABTS 4,06  $\text{mg/mL}$  con 10 mL de persulfato de potasio 0,7  $\text{mg/mL}$ , al cual se dejó reaccionar por 12 horas. La solución de trabajo (ST) se preparó con 1 mL de SP y 60 mL de metanol, ajustándose la absorbancia a  $1,1 \pm 0,02$  con metanol a 734 nm en espectrofotómetro UV-Vis Genesys 150 Thermoscientific. 150  $\mu\text{L}$  del extracto (5  $\text{mg/mL}$ ) fue mezclada con 2850  $\mu\text{L}$  de ST e incubada en la oscuridad por 2 horas, midiéndose la absorbancia a 734 nm. La curva patrón se preparó con trolox de 0 - 400  $\mu\text{mol/mL}$ . La actividad antioxidante se expresa como micromol equivalente a trolox por gramo de extracto ( $\mu\text{mol ET/g}$ )<sup>9</sup>.

##### **Método del potencial antioxidante reductor del hierro (FRAP)**

Se mezcló 150  $\mu\text{L}$  de muestra con 2850  $\mu\text{L}$  del reactivo TPTZ previamente preparado al cual se dejó por 30 minutos a 37 °C. La absorbancia se midió a 593 nm en espectrofotómetro UV-Vis Genesys 150 Thermoscientific. La curva patrón se realizó con Trolox de 50 a 800  $\mu\text{mol/mL}$ . El resultado se expresa como micromol equivalente a Trolox por gramo de extracto ( $\mu\text{mol ET/g}$ )<sup>9</sup>.

#### **Determinación de la actividad antiinflamatoria**

La actividad antiinflamatoria *in vitro* se realizó usando la técnica de estabilización de membrana de glóbulos rojos<sup>10</sup>. Se obtuvo 2 mL de sangre por punción venosa y se mezcló

con 2 mL de solución de Alsever (Sigma-Aldrich), se mezcló en un vórtex, se centrifugó a 3000 rpm x 10 minutos y se eliminó el sobrenadante. Al sedimento se agregó solución salina fisiológica (SSF) para lavar los glóbulos rojos, se centrifugó a 3000 rpm x 5 minutos y se eliminó el sobrenadante. Se repitió el lavado de 2 a 3 veces hasta que el sobrenadante sea translucido. Luego se preparó una suspensión de glóbulos rojos al 10% con SSF.

Se prepararon las muestras a concentraciones de 25 mg/mL de los extractos de tuna anaranjada, morada y blanca, luego se procedió de la siguiente manera: en tubos de ensayo marcados se colocaron 1 mL de agua destilada, 1 mL de muestra 25 mg/mL, 1 mL de tampón salino, 1 mL de suero fisiológico y 0,5 mL de suspensión de glóbulos rojos (1 g/mL). Seguidamente se llevaron a 37 °C por 30 minutos y después fueron centrifugados por 5 minutos a 3000 rpm. El sobrenadante se leyó a 560 nm en un espectrofotómetro UV-Vis Genesys 150 Thermoscientific. Como blanco se usó agua destilada y como estándares se utilizaron diclofenaco (0,5 mg/mL) y dexametasona (4 mg/mL). Se determinó el porcentaje de protección de la membrana de glóbulos rojos utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Protección} = 100 - [(ABS\_Muestra / ABS\_Control) \times 100]$$

### **Análisis estadístico**

Los resultados fueron reportados como el promedio de tres determinaciones  $\pm$  desviación estándar. Los datos del contenido de fenoles totales y flavonoides entre las variedades fueron sometidos al análisis de varianza de un factor (ANOVA) y las diferencias entre las muestras fueron determinadas por la prueba de comparaciones múltiples de Tukey. Valores de  $p < 0,05$  fueron considerados como significativos.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la tabla 1, se observa los metabolitos secundarios presentes en el pulpa de la tuna de las variedades anaranjada, morada y blanca. Los metabolitos secundarios encontrados fueron lactonas y/o cumarinas, azúcares reductores, taninos y fenoles catequinas y flavonoides.

En la Tabla 2, se muestra que el contenido de fenoles totales es mayor en la variedad anaranjada ( $4,08 \pm 0,13$  EAG/g) y menor en la variedad morada ( $3,69 \pm 0,42$  EAG/g), sin embargo, estas diferencias no son significativas ( $p > 0,05$ ). Asimismo, en el caso del contenido de flavonoides también la variedad anaranjada ( $2,36 \pm 0,04$  EQ/g) tuvo mayor contenido y la variedad blanca ( $2,00 \pm 0,08$  EQ/g) menor contenido, siendo las diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) y al realizar la prueba de comparaciones múltiples de Tukey, se observó respuestas similares para las variedades anaranjada y morada. Por otro lado, se determinó la relación entre el contenido de flavonoides y fenoles totales, resultando que la variedad morada tiene un mayor contenido de flavonoides y la variedad blanca un menor contenido en relación al contenido de fenoles totales.

**Tabla 1.** Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico del fruto de tres variedades de *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller “tuna”.

Metabolito Secundario	Ensayos	Resultados			Observaciones
		Tuna anaranjada	Tuna morada	Tuna blanca	
Lactonas y/o cumarinas	Baljet	+	+	+	Coloración roja
Azucares	Benedict	+	+	+	Precipitado rojo
Reductores	Feling	+	+	+	ladrillo
Aminoácidos	Ninhidrina	+	+	+	Coloración violeta Coloración verde
Catequinas	Catequinas	+	+	+	carmelita a la luz UV
Taninos y Fenoles	Cloruro férrico	+	+	+	Color azul negruzco
Flavonoides	Shinoda	+	+	+	Coloración roja

En la Tabla 3, se observa que en el ensayo del DPPH la variedad anaranjada mostró mayor actividad antioxidante ( $6,20 \pm 0,45 \mu\text{mol ET/g}$ ), mientras que, la variedad blanca mostró menor actividad ( $3,39 \pm 0,76 \mu\text{mol ET/g}$ ) ( $p < 0,05$ ). En el caso del ensayo del ABTS la variedad morada tuvo mayor actividad antioxidante ( $25,35 \pm 0,37 \mu\text{mol ET/g}$ ) y la variedad blanca tuvo menor actividad ( $24,27 \pm 0,15 \mu\text{mol ET/g}$ ) ( $p < 0,05$ ). Finalmente, en el ensayo FRAP las tres variedades tuvieron actividad antioxidante similar ( $p > 0,05$ ).

**Tabla 2.** Contenido de fenoles totales y flavonoides presentes en el extracto hidroalcohólico del fruto de tres variedades de *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller “tuna”.

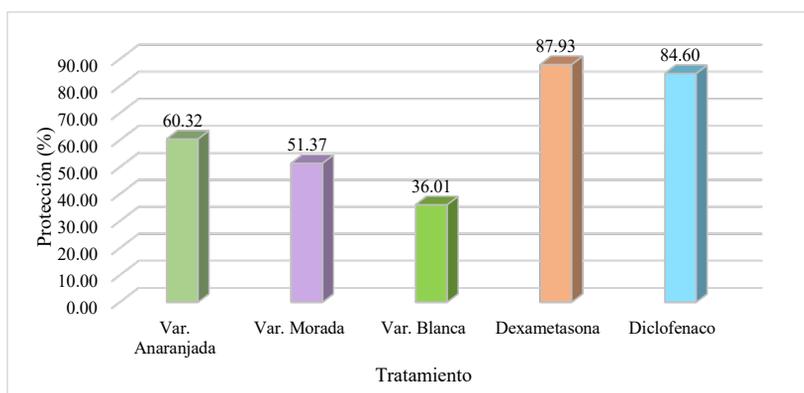
Variedad	Fenoles totales (mg EAG/g)	Flavonoides (mg EQ/g)	Relación entre flavonoides/fenoles totales
Anaranjada	$4,08 \pm 0,13$	$2,36 \pm 0,04$	0,58
Morada	$3,69 \pm 0,42$	$2,29 \pm 0,04$	0,62
Blanca	$3,87 \pm 0,07$	$2,00 \pm 0,08$	0,52
Valor p	$> 0,05$	$< 0,05$	

Los resultados se expresan en promedio  $\pm$  D.E.

**Tabla 3.** Actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico del fruto de tres variedades de *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller "tuna".

Variedad	DPPH ( $\mu\text{mol ET/g}$ )	ABTS ( $\mu\text{mol ET/g}$ )	FRAP ( $\mu\text{mol ET/g}$ )
Anaranjada	6,20 $\pm$ 0,45	24,71 $\pm$ 0,17	32,26 $\pm$ 4,55 <sup>a</sup>
Morada	4,40 $\pm$ 0,81	25,35 $\pm$ 0,37	35,40 $\pm$ 3,54 <sup>a</sup>
Blanca	3,39 $\pm$ 0,76	24,27 $\pm$ 0,15	32,80 $\pm$ 1,97 <sup>a</sup>
Valor p	< 0,05	<0,05	>0,05

Los resultados se expresan en promedio  $\pm$  D.E.

**Figura 1.** Actividad antiinflamatoria in vitro del fruto de tres variedades de *Opuntia ficus-indica* "tuna" ( $p < 0,05$ )

En la figura 1, se presenta la actividad antiinflamatoria in vitro de los extractos del fruto de tres variedades expresada como porcentaje de protección de la membrana de glóbulos rojos, mostrando diferencias significativas. La protección para la variedad anaranjada fue de 60,32%, morada 51,37% y blanca de 36,01% siendo menor a la dexametasona (87,93%) y al diclofenaco (84,60%) que mostraron mejor protección ( $p < 0,05$ ).

Se ha reportado el contenido de fenoles totales en extractos etanólicos de pulpa liofilizada ( $14,83 \pm 0,10$  mg EAG/g) y pulpa secada en estufa ( $17,59 \pm 0,10$  mg EAG/g) de frutos de *Opuntia ficus-indica* de Sudáfrica, sin precisar la variedad<sup>11</sup>. También, se ha reportado el contenido de fenoles totales en la pulpa del fruto de ocho variedades de *Opuntia ficus-indica*, en las cuales la variedad anaranjada (22,08 mg EAG/kg) obtuvo mayor contenido, seguida de la variedad morada (18,47 mg EAG/kg) y la variedad rosa (1,68 mg EAG/kg) menor contenido. Estos resultados coinciden con lo reportado. Estas diferencias en el contenido

pueden deberse al tratamiento de la muestra, donde el extracto se obtuvo a partir de pulpa fresca. Otros factores podrían ser la madurez del fruto y el clima. Por otro lado, se ha determinado el contenido de fenoles totales en el jugo de la pulpa del fruto de *Opuntia ficus-indica* de cuatro cultivares provenientes de Tunes, Argelia, Marruecos e Italia, en las cuales el extracto metanólico de los cultivares Marruecos ( $2,53 \pm 0,06$  mg EAG/100 g) y Argelia ( $2,45 \pm 0,06$  mg EAG/100 g) tuvieron mayor contenido y el de menor contenido el cultivar Italia ( $0,80 \pm 0,35$  mg EAG/100 g), siendo las diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ )<sup>12</sup>.

Al determinar la actividad secuestradora del radical libre y antioxidante, hallaron que la variedad naranja tuvo la mayor actividad en los ensayos del DPPH ( $400,92 \pm 8,376$   $\mu$ mol ET/100 g de extracto seco), ABTS ( $316,63 \pm 12,468$   $\mu$ mol ET/100 g de extracto seco) y FRAP ( $346,95 \pm 7,48$   $\mu$ mol ET/100 g de extracto seco), en relación con las variedades roja y amarilla<sup>13</sup>. Los resultados encontrados coinciden, debido a que la variedad anaranjada tuvo el mejor comportamiento frente a los ensayos del DPPH y ABTS. La actividad antioxidante según el método DPPH del fruto de tres variedades expresada como  $\mu$ mol ET/g de muestra, mostraron diferencias significativas entre las variedades. Las variedades blanca y morada mostraron menor capacidad secuestradora, mientras que, la variedad anaranjada mostró la mayor actividad.

En investigación realizada sobre las propiedades antioxidantes y antiinflamatorias de las cáscaras de *Opuntia ficus-indica*, se encontró la actividad antioxidante y antiinflamatoria en menor grado al mango (*Mangifera indica*)<sup>4</sup>. Al evaluar la composición fenólica, actividad antioxidante y antiinflamatoria de extractos de flores marroquíes de *Opuntia ficus-indica* se encontró un alto potencial antioxidante y antiinflamatorio de los extractos de flor de tuna<sup>14</sup>. En investigación efectuadas con dieta de *Opuntia ficus-indica* “tuna” encontraron disminución ( $p < 0,05$ ) de los marcadores proinflamatorios como el factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleucina (IL) - $1\beta$ , interferón- $\gamma$  (INF) - $\gamma$ , IL-8, proteína C reactiva (PCR) y velocidad de sedimentación globular (VSG), mientras que aumentó ( $p < 0,05$ ) el marcador antiinflamatorio IL-10<sup>15</sup>.

## CONCLUSIONES

La pulpa del fruto de las variedades anaranjada, morada y blanca de *Opuntia ficus-indica* “tuna”, tienen actividad antioxidante y actividad antiinflamatoria *in vitro* y que esto se relaciona con su contenido de fenoles totales y flavonoides.

## AGRADECIMIENTOS

A la Unidad de Investigación e Innovación de Ciencias de la Salud, por permitirnos desarrollar el presente trabajo de investigación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kaur M, Kaur A, Sharma R. Pharmacological actions of *Opuntia ficus-indica*: A review. *J Appl Pharm Sci*. 2012;2(7):15–8.
2. Amaya J. Cultivo de tuna (*Opuntia ficus-indica*). [Internet]. Gerencia Regional Agraria La Libertad. 2009. 8 p. [Citado 10 jul 2021]. Disponible en: [http://www.agrolalibertad.gob.pe/sites/default/files/MANUAL\\_TECNICO\\_DE\\_TUNA.pdf](http://www.agrolalibertad.gob.pe/sites/default/files/MANUAL_TECNICO_DE_TUNA.pdf)
3. Salehi E, Emam-Djomeh Z, Askari G, Fathi M. *Opuntia ficus-indica* fruit gum: Extraction, characterization, antioxidant activity and functional properties. *Carbohydr Polym*. 2019;206: 565–72.
4. Lozoya Castillo DL, Castillo-Hernández SL, Hernández-Marín DA, Rivas-Morales C, Sánchez-García E. Evaluación de la actividad antimicrobiana, antiinflamatoria y antioxidante de subproductos de *Opuntia ficus-indica* y *Mangifera indica*. *Investig Desarro Cienc Tecnol Aliment*. 2018; 3:139-44.
5. Burin VM, Ferreira-Lima NE, Panceri CP, Bordignon-Luiz MT. Bioactive compounds and antioxidant activity of *Vitis vinifera* and *Vitis labrusca* grapes: Evaluation of different extraction methods. *Microchem J*. 2014; 114:155–63.
6. Belhadj Slimen I, Najar T, Abderrabba M. Bioactive compounds of prickly pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.]. En: Murthy HN, K. Y. Paek KY (eds.). *Bioactive Compounds in Underutilized Vegetables and Legumes*. Chapter 9. Springer International Publishing. 2021;1–40. doi: 10.1007/978-3-030-57415-4\_12.
7. Lock O. *Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales*. Tercera Ed. Lima: Fondo Editorial PUCP; 2016.
8. Thangaraj P. *Pharmacological assays of plant-based natural products*. [Internet]. Springer International Publishing; Switzerland; 2016. [Citado 13 jul 2021]. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-26811-8>.
9. Enciso EC, Aguilar EJ, Común PW, Condorhuamán YM. Efecto hepatoprotector y actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico del fruto de dos variedades de *Opuntia megacantha* "Tuna". *Cienc Invest*. 2020;23(1):51–8.
10. Arroyo JL, Cisneros CB. *Modelos experimentales de investigación farmacológica*. Lima: Publicaciones ASDIMOR S.A.C; 2012. 40 p.
11. Aruwa CE, Amoo S, Kudanga T. Phenolic compound profile and biological activities of Southern African *Opuntia ficus-indica* fruit pulp and peels. *LWT*. 2019; 11:337–44.
12. Bargougui A, Tag HM, Bouaziz M, Triki S. Antimicrobial, antioxidant, total phenols and flavonoids content of four cactus (*Opuntia ficus-indica*) cultivars. *Biomed Pharmacol J*. 2019;12(3):1353–68.

13. Smeriglio A, Bonasera S, Germanò MP, D'Angelo V, Barreca D, Denaro M, et al. *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. fruit as source of betalains with antioxidant, cytoprotective, and anti-angiogenic properties. *Phytother Res.* 2019;33(5):1526–37.
14. Benayad Z, Martinez-Villaluenga C, Frias J, Gomez-Cordoves C, Es-Safi NE. Phenolic composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of extracts from Moroccan *Opuntia ficus-indica* flowers obtained by different extraction methods. *Ind Crops Prod.* 2014; 62:412–20.
15. Attanzio A, Tesoriere L, Vasto S, Pintaudi AM, Livrea MA, Allegra M. Short-term cactus pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill] fruit supplementation ameliorates the inflammatory profile and is associated with improved antioxidant status among healthy humans. *Food Nutr Res.* 2018;62. doi: 10.29219/fnr.v62.1262.

## ANTOCIANINAS EN CORONTAS Y EXTRACTOS DE MAÍZ MORADO (*Zea Mays* L) “INIA 615” CONSERVADOS EN ANAQUEL

Samuel Cerro-Ruiz<sup>a</sup>, Leonardo Espillico-Cormilluni<sup>b</sup>

### RESUMEN

Se identificaron y cuantificaron por cromatografía UPLC antocianinas en corontas de maíz morado (*Zea mays* L) “INIA 615” o “Negro Canaán” y sus extractos conservados en envases de vidrio en anaquel. Se aplicó el método del pH diferenciado para antocianinas totales y el Diseño Factorial de Variables Mixtas  $3 \times 2^2$  con 14 tratamientos, utilizando el software Statgraphics Centurión XVII para el análisis estadístico, siendo las variables independientes: a) tiempo de almacenaje/muestra: 15, 52 y 90 días; b) envases ámbar, verde e incoloro con iluminación permanente de 470 lux /m<sup>2</sup>; c) pH 3, 3,5 y 4, mientras que la variable dependiente fue la degradación de antocianinas totales. En corontas se encontró 12,98 mg/g de antocianinas totales siendo 4,94 mg/g de cianidina-3-glucósido y 3,38 mg/g de cianidina-3-(6”malonilglucósido). En los extractos se encontraron principalmente cianidina-3-glucósido (93,56 µg/mL) y cianidina-3-(6”malonilglucósido) (48,15 µg/mL). Las variables tuvieron un nivel de significancia  $p < 0,05$ . A 90 días ambas cianidinas se degradaron: cianidina-3-glucósido (69,63%, ámbar, pH 3; 79,05%, incoloro, pH 4) y cianidina-3-(6”malonilglucósido) (91,61%, ámbar, pH 3; 95,35% incoloro, pH 4).

**Palabras clave:** Antocianinas, cianidina-3-glucósido, corontas, “INIA 615”, maíz morado.

## ANTHOCYANINS IN THE COBS AND EXTRACTS OF PURPLE CORN (*Zea Mays* L) “INIA 615” PRESERVED UNDER SHELF

### ABSTRACT

Anthocyanins were identified and quantified by UPLC in purple corn cobs (*Zea mays* L), also called “INIA 615” or “Negro Canaán”, and their extracts were preserved in glass containers on a shelf. The differentiated pH method and  $3 \times 2^2$  Mixed Factorial Design with 14 fact treatments were applied to total anthocyanins using the Statgraphics Centurion XVII for statistical analysis and taking into account the degradation of total anthocyanins as the

<sup>a</sup>Departamento Académico de Ingeniería en Industrias Alimentarias-Facultad de Ciencias Agropecuarias. - Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Av. Miraflores s/n, Tacna, Tacna, Tacna, Perú. scerror@unjbg.edu.pe. ID ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7359-3503>.

<sup>b</sup>Laboratorio de Operaciones Unitarias Escuela de Ingeniería en Industrias Alimentarias – Facultad de Ciencias Agropecuarias – Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Av. Miraflores s/n, Tacna, Tacna, Tacna, Perú. ID ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1717-8318>.

dependent variable as well as the following independent variables: a) storage/sampling time: 15, 52, and 90 days; b) amber, green, and colorless containers with permanent lighting of 470 lux/m<sup>2</sup>; and c) pH 3, 3.5, and 4. In crowns, 12.98 mg/g of total anthocyanins were found, including 4.94 mg/g of cyanidin-3-glucoside, and 3.38 mg/g of cyanidin-3-(6"-malonylglucoside). Extracts mostly contained 93.56 µg/mL of cyanidin-3-glucoside, and 48.15 µg/mL of cyanidin-3-(6"-malonylglucoside). Variables had a significance level of  $p < 0.05$ . At 90 days, both cyanidins were degraded: cyanidin-3-glucoside (69.63%, amber, pH 3; 79.05%, colorless, pH 4), and of cyanidin-3-(6"-malonylglucoside) (91.61%, amber, pH 3; 95.35%, colorless, pH 4).

**Keywords:** anthocyanins, cyanidin-3-glucoside, corn cobs, "INIA 615", purple corn.

## INTRODUCCIÓN

En el Perú es común la producción y consumo de chichas, refrescos y postres elaborados a partir de maíz morado (*Zea mays* L), teniendo esta tradición desde tiempos pre incas, por lo que se conocen distintas variedades de maíz morado que difieren entre sus características como el color de la planta, la dimensión de la coronta, el número de hileras de granos, hasta el color del grano y de la mazorca, siendo esta disparidad consecuente a la presencia de genes mayores y menores en los cromosomas que posee cada variedad<sup>1</sup>, observándose en las corontas de la variedad "INIA 615" conocido como Negro Canaán que tienen forma cilíndrica, delgada, color morado oscuro.

Actualmente, existe el incremento del interés científico por la obtención de antocianinas y sus procedimientos de extracción a partir de recursos vegetales, debido a que su inclusión en la dieta diaria tendría un alto potencial de reducción de la oxidación celular<sup>2</sup>, ya que la antocianina mayoritaria presente en el maíz morado es la cianidin-3-glucósido siendo esta la que previene el daño hepático producido por la ingesta de bebidas alcohólicas o por una inapropiada alimentación. Esto tiene relación con los beneficios a la salud que trae el consumo de cereales o alimentos funcionales adicionados con pigmentos coloreados, provenientes de antocianinas, manifestándose así en efectos anticancerígenos, regulatorios de la glucosa, de neuroprotección y retardo del envejecimiento en el organismo humano<sup>3</sup>.

Cabe resaltar la existencia de estudios que han encontrado una significativa influencia del pH, la luz, temperatura y estructura en condiciones ácidas sobre la perdurabilidad del color en las antocianinas<sup>4</sup>. Además, el efecto de la luz<sup>5</sup> incidiría en la estabilidad de las antocianinas y otros componentes del vino tinto, siendo el tipo de color del envase de vidrio (transparente, verde y marrón) el factor determinante. No obstante, existe una escasa investigación sobre la conservación y estabilidad de bebidas en forma de extractos de maíz morado conservados en envases de vidrio en condiciones de anaquel.

De tal manera que en la presente investigación se buscó, empleando el método del pH diferenciado, identificar y cuantificar por la técnica de Cromatografía Líquida de Ultra Rendimiento (UPLC), las principales antocianinas y sus derivados presentes en extractos de

maíz morado "INIA 615", procesados a valores de pH 3, 3,5 y 4 conservados ambientalmente en envases de vidrio colores ámbar, verde e incoloro hasta por 90 días con luz de fluorescentes que emitían 470 luxes/m<sup>2</sup>.

## PARTE EXPERIMENTAL

### 1. Material

Las corontas secas de maíz morado (*Zea mays* L.) INIA 615, fueron obtenidas del Instituto de Innovación Agraria (INIA) siendo producidas en su Estación Experimental de Uraca – Corire (429 msnm) parte baja del valle del río Majes, Provincia de Castilla, Región Arequipa, sur del Perú.

### 2. Molienda, tamizado de coronta y preparación de solventes

Se utilizaron 5,0 kg de corontas de maíz morado "INIA 615" que fueron masados en balanza Ohaus Corporation, USA; luego fueron molidas en un molino de martillos marca PeruMinox modelo MM4. Se masaron 2,5 Kg que fueron pasados por los tamices N° 18 (1,00 mm), 20 (0,85 mm) y 140 (0,106 mm) marca W S Tyler, USA Standard Testing Sieve, descartándose las partículas del último tamiz. Las corontas de maíz presentaron una humedad de 8%. La muestra fue pulverizada y homogenizada con solución microbicida combinada de benzoato de sodio y sorbato de potasio grado alimentario cada uno al 0,05% diluidas en 0,5 L de etanol 70 % vol. rebajado a 20 % vol, de Laboratorio Alkofarma EIRL, Perú y envasada en bolsas de polietileno Z-ploc de 100 g, puestas en congelación a -18 °C por ocho días para mantenerla preservada de microorganismos e insectos hasta el inicio de la fase experimental.

**2.1. Acidificación del agua para extracción:** Las soluciones acuosas ácidas de pH 3, 3,5 y 4 fueron logradas con diluciones en agua destilada de 0,3256, 0,0610 y 0,0120 g/L de ácido cítrico grado alimentario y controlado con pH-metro marca Ohaus tipo ST 20.

**2.2. Dilución de coronta – agua y homogenizado:** La relación coronta molida – agua fue de 1:25 partes<sup>6</sup>.

### 3. Extracción de pigmentos de antocianina en baño maría

El volumen del extracto a pH 3 fue repartido en seis beakers de 600 mL de capacidad. Igual distribución se realizó con el extracto a pH 4. En el caso del pH 3.5, se usaron dos beakers de 600 mL. Los 14 vasos de extracción se colocaron en dos equipos de baño maría marca GFL, tipo 1032 para un proceso en caliente con valores de temperatura controlada<sup>7</sup> de 75 °C y durante 150 minutos<sup>1</sup>. Se realizó agitación manual constante.

### 4. Filtrado y conservación

Los extractos fueron filtrados usando papel Watman N° 1 y embudo Büchner, con ayuda de una bomba de vacío. Para la estabilidad microbiológica de los extractos se adicionó benzoato de sodio y sorbato de potasio cada uno en solución al 0,05 %.

## 5. Envasado y sellado

El envasado manual en caliente se realizó en envases de vidrio incoloro de capacidad de 300 mL con tapas twist off, envases de color verde de capacidad de 250 mL con tapas pilfer y envases de color ámbar de capacidad de 330 mL con tapas corona. Al término se procedió al sellado.

## 6. Almacenaje en anaquel

El almacenaje de los extractos en anaquel se realizó en ambiente cerrado, amplio, ventilado, anexo al Laboratorio de Operaciones Unitarias, Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann en Tacna, durante los meses de abril a junio, en condiciones ambientales de temperatura ( $9,1\text{ }^{\circ}\text{C} - 27,9\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) y humedad ( $68,2\% - 97,4\%$ )<sup>8</sup>. La iluminación fue con cuatro pantallas y ocho tubos fluorescentes de luz blanca (320 watts) suspendidas a 1,10 m sobre las muestras que generaban una iluminación de 470 luxes/m<sup>2</sup> durante 24 horas hasta por 90 días. Las muestras fueron retiradas en tres lotes a los 15, 52 y 90 días de almacenaje.

## 7. Preparación y envío de muestras al laboratorio

Cumplidos los tiempos de almacenaje en anaquel, según el diseño factorial experimental, se retiraron 15 mL de las muestras seleccionadas y se envasaron asépticamente en tubos plásticos con tapa siendo puestos en congelación a  $-18^{\circ}\text{C}$  por 48 horas para su conservación. Luego se empacaron con bolsitas congelantes en una caja isotérmica (cooler) y enviadas vía aérea al Instituto de Biotecnología (IBT) de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM) en Lima, Perú.

## 8. Identificación y cuantificación de antocianinas empleando UPLC

Para los análisis cromatográficos de identificación y cuantificación el Instituto de Biotecnología (IBT) de la UNALM empleó un sistema de clase H de Cromatografía Líquida de Ultra Rendimiento (UPLC) aplicando un método de análisis adaptado<sup>9</sup>.

Las antocianinas fueron separadas utilizando una columna analítica Acquity UPLC BEH C18 (100 x 2,1 mm i.d., tamaño de partícula de 1,7  $\mu\text{m}$ , Waters) y protegido con una pre columna Absty UPLC BEH C18 Van Guard (5 x 2,1 mm i.d., tamaño de partícula de 1,7  $\mu\text{m}$ , Waters). El volumen de inyección en las corridas fue de 2  $\mu\text{L}$ . Los solventes fueron: Milli Q (5% ácido fórmico) [A] y Acetonitrilo 100% [B]. La Marca del equipo es Acquity de Waters, Milford, Mass., U.S.A., equipado con un detector de matriz de diodos (PDA), una bomba cuaternaria, un muestreador automático y controlado por el software Empower III (Waters). El flujo y tiempo de corrida: 0,15 mL/min. Temperatura de columna:  $30^{\circ}\text{C}$  y de la muestra:  $5^{\circ}\text{C}$ . La columna fue Acquity UPLC BEH C18 1.7  $\mu\text{m}$  (2,1 x 100 mm) con matriz de fotodiodos (PDA).

En cuanto a la cuantificación de antocianinas el Laboratorio (IBT) de la UNALM disponía de los patrones necesarios con los cuales preparó soluciones a diferentes concentraciones para construir curvas de calibración que sirvieron de referencia para contrastar con los resultados de las corridas cromatográficas de las muestras analizadas.

## 9. Diseño experimental y análisis estadístico

Fue empleado el Diseño Factorial Fraccionado de Variables Mixtas  $3 \times 2^2$  con dos puntos centrales haciendo un total de 14 tratamientos. Las variables independientes fueron: tiempo de almacenaje y muestreo (15, 52 y 90 días); envases de vidrio colores ámbar, verde e incoloro; pH 3, 3,5 y 4. Variable dependiente las antocianinas identificadas, cuantificadas y degradadas en almacenaje. Las variables relacionadas con dos antocianinas fueron evaluadas por Análisis de Varianza con un grado de significancia  $p < 0,05$ . El análisis estadístico fue desarrollado utilizando el software Statgraphics Centurión XVII y para las figuras se utilizaron las herramientas gráficas del software Microsoft Excel.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 1. Antocianinas en coronta de maíz morado

Los análisis de cromatografía UPLC en coronta de maíz morado "INIA615" revelaron la presencia de ocho antocianinas como se observa en la Tabla 1. La cianidina-3-glucósido fue el componente principal y peonidina-3-(6"etilmalonilglucósido) fue el minoritario. Según la literatura consultada,<sup>1,10</sup> la presencia de antocianinas en diferentes vegetales puede variar en función de la materia prima, su variedad, la relación soluto-solvente, los solventes utilizados, procesos y parámetros de extracción, tiempo y condiciones de almacenaje.

**Tabla 1.** Identificación y contenido de antocianinas en coronta de "INIA 615" determinado por UPLC.

N°	Antocianinas	Contenido (mg/g)
1	Cianidina-3-glucósido	4,94
2	Pelargonidina-3-glucósido	1,07
3	Peonidina-3-glucósido	1,38
4	Cianidina-3-(6"malonilglucósido)	3,38
5	Pelargonidina-3-(6"malonilglucósido)	1,22
6	Peonidina-3-(6"malonilglucósido)	0,87
7	Pelargonidina-3-(6"etilmalonilglucósido)	0,07
8	Peonidina-3-(6"etilmalonilglucósido)	0,05
Antocianinas totales		12,98

Otros investigadores<sup>14</sup>, indican que las antocianinas son abundantes en vegetales, pero los valores más altos se presentan en maíces y camotes morados llegando hasta los 1 400 mg/100 g, siendo este valor similar al obtenido en esta investigación para la coronta de maíz morado. Por otra parte, se reportaron 6 altas concentraciones de antocianinas monoméricas (290-

1325 mg/100 g MS) en mazorcas de 10 muestras de maíces morados peruanos siendo las principales detectadas la cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido, peonidina-3-glucósido, cianidina-3-(6"malonilglucósido) y otros derivados más. Estos resultados también concuerdan con los resultados obtenidos.

## 2. Antocianinas en extractos

En la Tabla 2 observamos las antocianinas y sus derivados detectados por cromatografía UPLC en los extractos de coronta de maíz morado "INIA 615" durante el almacenaje y según el diseño experimental empleado.

**Tabla 2.** Identificación y contenido de antocianinas y derivados por UPLC en extractos de coronta de maíz morado (*Zea mays* L) "INIA 615".

Ensayo	Tiempo	Envase	pH	Cianidina-3 glucósido	Pelargonidi na-3 glucósido	Peonidina -3- glucósido	Cianidina3 (6"malonil glucósido)	Pelargonidi na-3 (6"malonil glucósido)
N°	Días	Color*	Unidad	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL
1	52	2	3,5	69,39	13,25	17,2	18,66	1,09
2	52	2	3,5	58,96	9,74	13,1	15,83	0,98
3	90	3	4	41,41	10,26	3,5	6,28	1,56
4	15	1	3	93,56	22,63	18,1	48,15	13,30
5	15	3	4	75,89	16,49	12,1	36,31	8,41
6	90	1	4	59,02	15,85	6,5	10,42	2,44
7	15	3	3	84,53	17,09	15,8	43,60	11,67
8	52	1	3	79,47	15,34	21,5	23,30	2,27
9	15	1	4	85,21	20,58	15,2	39,78	9,59
10	52	1	4	68,38	11,18	17,1	18,72	1,53
11	90	1	3	60,00	16,25	7,5	11,34	2,56
12	52	3	3	57,04	8,83	13,2	17,27	1,03
13	52	3	4	52,36	7,77	11,4	14,80	9,10
14	90	3	3	45,72	11,32	4,8	8,38	2,46

\* Colores de envases: 1 ámbar; 2 verde; 3 incoloro.

Respecto de las bajas concentraciones de antocianinas obtenidas en los extractos acuosos acidulados de la experimentación, coinciden con otros investigadores<sup>11</sup>. Ellos hicieron extracciones de antocianinas y compuestos fenólicos en mazorcas de maíz morado ceroso de Tailandia asistida por ultrasonido utilizando como solventes agua pura, etanol-agua (50-50%) y etanol (100%). En el extracto con agua pura obtuvieron tan solo 37,095 µg/g muestra seca.

Además, en la Tabla 2 se observa que la C-3-G y su derivado C-3-(6''mg) fueron los dos principales constituyentes en los extractos de coronta de maíz morado "INIA 615" conservados en envases de vidrio ámbar e incoloro ambos a pH 3 y 4. Los extractos en envases verdes, según modelo experimental, sólo fueron dos muestras a 45 días.

Habiéndose encontrado que la cianidina-3-glucósido y la cianidina-3-(6''malonilglucosido) fueron las de mayor presencia, tanto en la materia prima como en los extractos, se decidió enfocar el estudio en estas dos determinando así su degradación nominal y porcentual durante el almacenaje en anaquel ambiental. Los resultados se observan en las Figuras 1 y 2.

### 3. Análisis de varianza de antocianinas en extractos

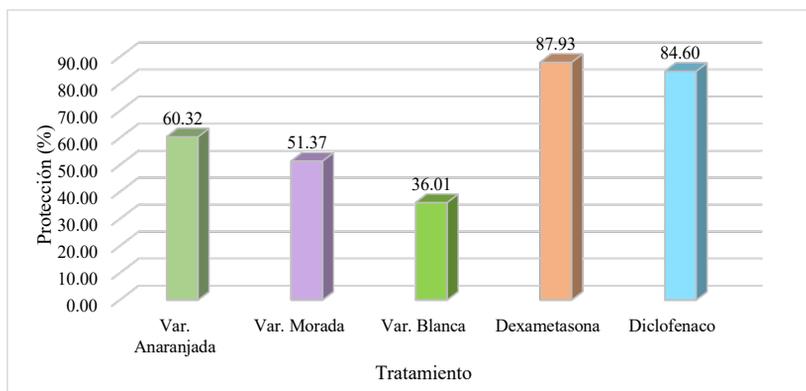
En las Tablas 3 y 4 se muestran los análisis de varianza para las dos principales antocianinas detectadas en los extractos siendo el tiempo de almacenaje, color del envase de vidrio y valor de pH las variables más influyentes ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 3.** Análisis de varianza de cianidina-3-glucósido.

Factor	Suma de Cuadrados	Df	Cuadrado medio	F- Relación	P-Valor
A: Tiempo	0,00221246	1	0,00221246	132,72	0,0000
B: Color de envase	0,00065549	1	0,00065549	39,32	0,0008
C: pH	0,00012065	1	0,00012065	7,24	0,0360
AA	5,2171E-05	1	5,21709E-05	3,13	0,1273
AB	2,2916E-05	1	2,29164E-05	1,37	0,2854
AC	1,7111E-05	1	1,71113E-05	1,03	0,3501
BC	6,49E-07	1	6,49E-07	0,04	0,8501
Total error	0,00010002	6	1,66703E05		
Total (corr.)	0,00318147	13			

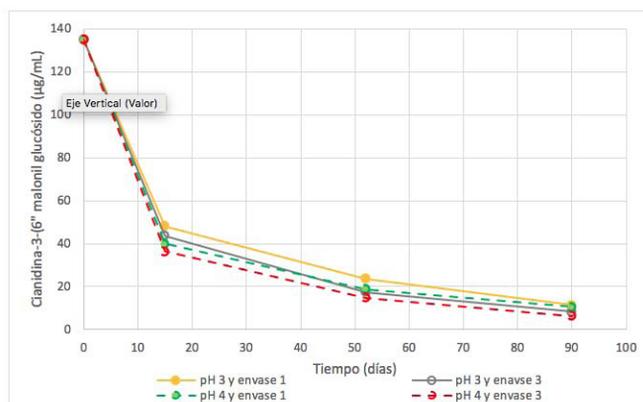
**Tabla 4.** Análisis de varianza de cianidina-3-(6''malonilglucosido).

Factor	Suma de Cuadrados	Df	Cuadrado medio	F-Relación	P-Valor
A: Tiempo	0,0021589	1	0,0021589	1376,05	0,0000
B: Color de envase	0,0000523754	1	0,0000523754	33,38	0,0012
C: pH	0,0000551694	1	0,0000551694	35,16	0,0010
AA	0,000189554	1	0,000189554	120,82	0,0000
AB	1,058E-7	1	1,058E-7	0,07	0,8038
AC	0,0000199712	1	0,0000199712	12,73	0,0118
BC	3,36675E-7	1	3,36675E-7	0,21	0,6595
Total error	0,00000941348	6	0,00000156891		
Total (corr.)	0,00248583	13			



**Figura 1.** Degradación de cianidina-3-glucósido ( $\mu\text{g/mL}$ ) en extractos a pH 3 y 4 y envases ámbar (1) e incoloro (3) en condiciones de anaquel.

En el caso de la cianidina 3 glucósido (Figura 1), partiendo de una concentración inicial de  $197,6 \mu\text{g/mL}$  a 90 días de almacenaje en condiciones de anaquel ambiental con luz blanca permanente de fluorescentes ( $470 \text{ lux/m}^2$ ), se observa que su contenido fue disminuyendo en un rango de  $60,0 \mu\text{g/mL}$  a  $41,41 \mu\text{g/mL}$  generando una pérdida por degradación del  $69,63 \%$  para envase ámbar y pH 3, hasta  $79,05\%$  para envase incoloro y pH 4.



**Figura 2.** Degradación de cianidina-3-(6''malonilglucósido) ( $\mu\text{g/mL}$ ) en extractos a pH 3 y 4 y envases ámbar (1) e incoloro (3) en condiciones de anaquel.

En la Figura 2, para el caso de la cianidina-3-(6''malonilglucósido) presente en los extractos procesados y conservados en los mismos envases, pH y condiciones, se observa disminución, desde un valor inicial de 135,2  $\mu\text{g/mL}$  hasta 11,34-6,28  $\mu\text{g/mL}$  representando degradaciones entre el 91,61% para el envase ámbar y pH 3, hasta 95,35% en envase incoloro y pH 4. En relación con el análisis de varianza para ambos componentes (Tablas 3 y 4), bajo condiciones de conservación en anaquel descritos, las variables tiempo, protección del color de envase ante la luz y pH, tuvieron un notable nivel de significancia ( $p < 0,05$ ) siendo, en ese orden, las que influyeron en la inestabilidad de las antocianinas.

Existen investigaciones sobre la degradación<sup>12</sup> de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante *in vitro* de vinos tintos Syrah y Moscatel almacenados durante un periodo máximo de doce meses en botellas de vidrio colores verde, ámbar y transparente. Los principales resultados fueron la modificación de la tonalidad, disminución de catequinas y más acentuada la antocianina malvidina-3-glucósido, provocados por el tiempo de almacenaje y no por el color de las botellas. En esa misma línea de producto, otros investigadores<sup>5</sup> evaluaron la estabilidad de vino tinto almacenado seis meses en botellas transparentes, marrones y verdes con y sin luz artificial reportando diferencias significativas de carácter químico en pigmentos rojos, antocianinas, fenoles totales y mayor envejecimiento para los vinos en botellas transparentes y efectos no significativos para los vinos en botellas marrones y verdes.

Siguiendo con el tema de la disminución o pérdida de antocianinas y compuestos fenólicos ya sea debido a factores de procesamiento y/o de almacenaje, pero esta vez en néctares de agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz), una baya morada con altos contenidos polifenólicos. Se reportó<sup>13</sup> que a pH 3 se produce una reducción importante ( $p < 0,005$ ) en el contenido de antocianinas originado primeramente por la pasteurización, coincidiendo en esto con otros investigadores<sup>14</sup>, de que dicho proceso generó una pérdida de 28,5% en la concentración de antocianinas en jugos de arándanos. Además, se detectó desde el primer día de almacenaje y hasta el día 42, una pérdida constante de antocianinas de 64,28 %-70,80 %. Estos valores encontrados fueron similares a los de la presente investigación y concuerdan también con lo reportado acerca de que el factor tiempo<sup>15</sup> y condiciones de almacenaje, afectan la estabilidad de antocianinas. Adicionalmente y con respecto a los efectos del factor luz<sup>5, 16</sup> (ultravioleta) sobre las antocianinas, se han reportado casos en que aun empleando co-pigmentos protectores en la cianidina-3-glucosido, esta llegaba a degradarse en el tiempo.

## CONCLUSIONES

Se confirmó la presencia y se cuantificó la cianidina-3-glucósido y su forma glucosilada y acilada, la cianidin-3-(6''malonilglucósido) tanto en corontas secas como en sus extractos acuosos así como presencia de peonidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido y sus derivados. Las variables tiempo de almacenaje, color de envase y pH tuvieron un nivel de significancia  $p < 0,05$ .

Bajo condiciones ambientales de conservación en anaquel hasta un periodo de 90 días, la cianidina-3-glucósido mostró una degradación entre 69,63% (envase ámbar, pH 3) y 79,05% (envase incoloro, pH 4), mientras que su derivado malónico cianidina-3-(6''malonilglucósido), bajo las mismas condiciones, reportó una degradación del 91,61% (ámbar, pH 3) y 95,35% (incoloro, pH 4). Los envases color ámbar ofrecieron una relativa protección de las antocianinas frente al tiempo y condiciones de almacenaje con iluminación.

### AGRADECIMIENTO

Los investigadores agradecen al Dr. Efrén Chaparro-Montoya por la revisión del artículo y al Vice Rectorado de Investigación de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann de Tacna, por haber seleccionado y financiado esta investigación. Así mismo, a los asistentes administrativo y de laboratorio Bch. Pamela Toledo-Merma y Bch. Néstor Tintaya-Landeo.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alarcón C. Optimización de parámetros de extracción de antocianinas del maíz morado (*zea mayz* L.) por el método de superficie de respuesta y verificación experimental [Tesis de Maestría]. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2015.
2. Zhou Y, Wang S, Wan T, Huang Y, Pang N, Jiang X, et al. Cyanidin-3-O- $\beta$ -glucoside inactivates NLRP3 inflammasome and alleviates alcoholic steatohepatitis via SirT1/NF- $\kappa$ B signaling pathway. *Free Radic Biol Med.* 2020; 160: 334-341.
3. Zhu F. Anthocyanins in cereals: Composition and health effects. *Food Res Int.* 2018; 109: 232-49.
4. Khoo HE, Azlan A, Tang ST, Lim SM. Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food Nutr Res.* 2017; 61: 1361779. doi: 10.1080/16546628.2017.1361779
5. Guerrini L, Pantani O, Politi S, Angeloni G, Masella P, Calamai L, et al. Does bottle color protect red wine from photo-oxidation? *Packag Technol Sci.* 2019; 32(5): 259-265.
6. Jing P, Noriega V, Schwartz S, Giusti M. Effects of Growing Conditions on Purple Corn cob (*Zea mays* L.) Anthocyanins. *J Agric Food Chem.* 2007; 55(21): 8625-8629.
7. Gorriti-Gutierrez A, Arroyo-Acevedo J, Negrón-Ballarte L, Jurado-Teixeira B, Purizaca-LLajaruna H, Santiago-Aquise I, et al. Antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante de las corontas de maíz morado (*Zea mays* L.): Método de extracción. *BLACPMA.* 2009; 8(6): 509-518.
8. Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología (SENAMHI). Promedio de temperatura normal para Tacna [Internet]. 2019 [Consultado el 23 Sep 2021]. Disponible en: <https://www.senamhi.gob.pe/main.php?dp=tacna&p=pronostico-detalle>
9. De Pascual-Teresa S, Santos-Buelga C, Rivas-Gonzalo J. LC-MS analysis of anthocyanins from purple corn cob. *J Sci Food Agric.* 2002; 82(9): 1003-1006.

10. Santos-Buelga C, González-Paramás A. Anthocyanins. En: Encyclopedia of Food Chemistry [Internet]. 2019 [Consultado el 28 Sep 2021]. p. 10–21. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21609-0>
11. Muangrat R, Pongsirikul I, Blanco P. Ultrasound assisted extraction of anthocyanins and total phenolic compounds from dried cob of purple waxy corn using response surface methodology. *J Food Process Preserv.* 2018; 42(2): e13447. doi: 10.1111/jfpp.13447
12. De Souza J, de Souza Nascimento A, Linhares M, Dutra M, dos Santos Lima M, Pereira G. Evolution of phenolic compound profiles and antioxidant activity of syrah red and sparkling moscatel wines stored in bottles of different colors. *Beverages.* 2018; 4(4): 89. doi: 10.3390/beverages4040089
13. Franco YN, Rojano B, Alzate AF, Restrepo CE, Rivero DM, Maldonado ME. Efecto del tiempo de almacenamiento sobre las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes de pulpa congelada y liofilizada del fruto de agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz). *Vitae.* 2016; 23(3): 184–193.
14. Zapata L, Castagnini J, Quinteros C, Carlier E, Jimenez-Veuthey M, Cabrera C. Estabilidad de antocianinas durante el almacenamiento de jugos de arándanos. *Vitae.* 2016; 23(3): 173–183.
15. Morais H, Ramos C, Forgács E, Cserháti T, Oliviera J. Influence of storage conditions on the stability of monomeric anthocyanins studied by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B.* 2002; 770(1–2): 297–301.
16. Bąkowska A, Kucharska AZ, Oszmiański J. The effects of heating, UV irradiation, and storage on stability of the anthocyanin–polyphenol copigment complex. *Food Chem.* 2003; 81(3): 349–355.

## COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *Citrus paradisi*, *Juglans neotropica* DIELS, *Schinus molle* Y *Tagetes elliptica* SMITH

Julio Reynaldo Ruiz Quiroz<sup>1</sup>\*, María Elena Salazar Salvatierra<sup>1</sup>

### RESUMEN

La composición química y el efecto antibacteriano de los aceites esenciales de *Citrus paradisi*, *Juglans neotropica* Diels, *Schinus molle* L. y *Tagetes elliptica* Smith) fueron determinados por cromatografía de gases/espectrometría de masas (CG/EM) y microdilución en placa respectivamente. En *Citrus paradisi*, se encontraron 21 componentes, siendo los principales el D-Limoneno (83,45%), octanal (8,68%) y  $\beta$ -mirceno (2,48%); en *Juglans neotropica* Diels se encontraron 36 componentes, siendo los principales el  $\alpha$ -pineno (39,88%), cariofileno (27,66%) y  $\beta$ -pineno (11,00%); en *Schinus molle* se encontraron 37 componentes, siendo los principales  $\alpha$ -felandreno (19,59%), canfeno (19,10%) y  $\alpha$ -pineno (16,56%); y en *Tagetes elliptica* Smith se encontraron 33 componentes, siendo los mayoritarios  $\beta$ -mirceno (63,49%), cis-lanaloól óxido (10,07%) y 2-tujeno (7,77%). Las concentraciones mínimas inhibitorias (CMIs) para los aceites esenciales de *Citrus paradisi*, *Juglans neotropica* Diels, *Schinus molle* L. y *Tagetes elliptica* Smith fueron menores a 2,5  $\mu$ L/mL para *Staphylococcus aureus*, y para *Staphylococcus epidermidis* fueron menores de 5  $\mu$ L/mL, con excepción de *Juglans neotropica* Diels que fue  $> 40 \mu$ L/mL; y todos los aceites fueron inactivos contra *Pseudomonas aeruginosa*. Los resultados encontrados corroboran el gran potencial antibacteriano de los aceites esenciales estudiados.

**Palabras clave:** antibacteriano, *Citrus paradisi*, *Juglans neotropica*, *Schinus molle*, *Tagetes elliptica*, aceite esencial

## CHEMISTRY COMPOSITION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF THE ESSENTIAL OILS OF *Citrus paradisi*, *Juglans neotropica* Diels, *Schinus molle* Y *Tagetes elliptica* SMITH

### ABSTRACT

The chemical composition and the antibacterial effect of the essential oils of *Citrus paradisi*, *Juglans neotropica* Diels, *Schinus molle* L. and *Tagetes elliptica* Smith) were determined

<sup>1</sup> Instituto de Química Biológica, Microbiología y Biotecnología "Marco Antonio Garrido Malo". Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú. Jr. Puno 1002. Jardín Botánico. Lima- Perú. \*jruiq@unmsm.edu.pe

for gas chromatography/Mass spectrometry (GC/MS) and plate microdilution respectively were studied. In *Citrus paradisi*, 21 components were found, the main ones being D-Limonene (83,45%), octanal (8,68%) and  $\beta$ -myrcene (2,48%); in *Juglans neotropica* Diels 36 components were found, the main ones being  $\alpha$ -pinene (39,88%), caryophyllene (27,66%) and  $\beta$ -pinene (11,00%); 37 components were found in *Schinus molle*, the main  $\alpha$ -phelandrene (19,59%), camphene (19,10%) and  $\alpha$ -pinene (16,56%); and in *Tagetes elliptica* Smith found 33 components, with the majority being  $\beta$ -myrcene (63,49%), cis-linalool oxide (10,07%) and 2-tujene (7,77%). The minimum inhibitory concentration (MIC) for the essential oils of *Citrus paradisi*, *Juglans neotropica* Diels, *Schinus molle* L. and *Tagetes elliptica* Smith were less than 2.5  $\mu$ L/mL for *Staphylococcus aureus*, and for *Staphylococcus epidermidis* were less than 5  $\mu$ L/mL, with the exception of *Juglans neotropica* Diels which was  $> 40 \mu$ L/mL; and all the oils were inactive against *Pseudomonas aeruginosa*. The results found corroborate the great antibacterial potential of the essential oils studied.

**Key words:** antibacterial, *Citrus paradisi*, *Juglans neotropica*, *Schinus molle*, *Tagetes elliptica*, essential oil

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas causan gran morbilidad y mortalidad por lo que se consideran un problema de salud pública, y aquellas que están asociadas a microorganismos resistentes a antimicrobianos pueden causar 700 000 muertes al año debido principalmente a la falla terapéutica. Se dice que para el año 2050 si no se toman medidas adecuadas para controlar la multidrogorresistencia podrían ocasionar 10 millones de fallecimientos<sup>1,2</sup>.

El año 2017, la OMS publicó una lista de patógenos prioritarios para la investigación y desarrollo de nuevos antibióticos. En esta lista figuran entre otros en prioridad crítica *Pseudomonas aeruginosa* (resistente a carbapenémicos), y en prioridad elevada *Staphylococcus aureus* (resistente a meticilina y resistente a vancomicina)<sup>3</sup>. Ambos patógenos también pertenecen al grupo conocido como ESKAPE, junto con *Enterococcus faecium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, y *Enterobacter*, y representan una amenaza mundial para la salud humana<sup>4</sup>.

Los productos naturales, como las plantas y sus derivados, son una alternativa frente al poco avance en el desarrollo de nuevos antimicrobianos. La OMS, el año 2019 identificó sólo 6 antibióticos innovadores, de un grupo de 32, que estaban en fase de desarrollo clínico<sup>5</sup>. Ante este panorama, los aceites esenciales (AEs) son una alternativa como fuente de antimicrobianos. Los AEs son una mezcla compleja de compuestos orgánicos volátiles (compuestos fenólicos, terpenoides, aldehídos, éteres, cetonas, etc.) que se sintetizan como parte del metabolismo secundario de las plantas<sup>6</sup>. Desde la antigüedad, los AEs se han usado para diferentes propósitos, en la medicina, agricultura, cosmetología, etc.<sup>7</sup>.

El Perú es un país megadiverso, con una costumbre ancestral del uso de plantas medicinales. El género *Citrus* es conocido por ser una importante fuente de AEs, considerados una rica fuente de compuestos químicos de interés para la industria de alimentos y perfumes<sup>8</sup>. El género *Juglans* tiene 21 especies, entre las que se encuentra *Juglans neotropica* Diels<sup>9</sup>, cuyas hojas en la medicina popular se usan para el tratamiento de dermatitis, insuficiencia venosa y úlceras<sup>10</sup>. *Schinus molle* L. se ha utilizado en medicina popular como antibacteriano, antiviral, antiséptico tópico, antifúngico, antioxidante, antiinflamatorio, y analgésico<sup>11</sup>. Las especies del género *Tagetes* se usan en el Perú en gastronomía, pero también se han demostrado sus propiedades antimicrobianas<sup>12,13</sup>. En este sentido, el propósito del estudio fue evaluar la composición química y la actividad antibacteriana de los AEs de la cáscara de *Citrus paradisi* (toronja), y de las hojas de *Juglans neotropica* Diels (nogal), *Schinus molle* (molle) y *Tagetes elliptica* Smith (Chincho), frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, y *Staphylococcus epidermidis*.

## PARTE EXPERIMENTAL

El estudio de investigación fue de tipo analítico, cuasi-experimental y prospectivo. Las plantas fueron recolectadas entre noviembre y febrero del 2018, en los departamentos de Amazonas (nogal), Lima (molle y chincho), y Piura (toronja). El material vegetal utilizado fueron las hojas de *Juglans neotropica* Diels (nogal), *Schinus molle* L. (molle) y *Tagetes elliptica* Smith (chincho) y cáscara *Citrus paradisi* (toronja).

### Obtención de aceites esenciales

La extracción de los AEs de las muestras se realizó por el método de hidrodestilación, a partir de 6,6 Kg de cáscara de *Citrus paradisi*, 4,85 Kg de hojas de *Juglans neotropica* Diels, 4,12 Kg de hojas de *Schinus molle* y 4,87 Kg de *Tagetes elliptica* Smith. Una vez obtenidos los aceites, estos fueron desecados con sulfato de sodio anhidro y posteriormente guardado en un frasco de vidrio ambar en refrigeración<sup>14</sup>.

### Análisis preliminar y fisicoquímico

Se realizó la determinación de las características organolépticas (color, olor, sabor y aspecto) y la densidad<sup>15</sup>.

### Cromatografía de gases/ espectrometría de masas (CG/EM)

Los análisis de los AEs fueron realizados mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG/EM) usando un cromatografo de gases Shimadzu GC-2010 plus, equipado con automuestrador Shimadzu AOC-600 y un detector de espectrometría de masas Shimadzu GCMS-QP210 Ultra, provisto de una columna Restek RTX-5MS, 30 m x 0,25 mm ID x 0,25 µm df. Serial: 1346249. Las condiciones operativas fueron las siguientes: temperatura inicial 50°C, temperatura final 110°C, temperatura de inyección 220°C, volumen de inyección 200 µL, el gas portador fue helio con una tasa de flujo total de 18,4 mL/min. El tiempo de corrida fue de 52, 70, 65 y 60 minutos para los AEs de toronja, nogal, molle y chincho respectivamente. Las condiciones de espectrometría de masas fueron las siguientes:

la energía de ionización fue de 70 eV y la temperatura de detección fue de 200 °C. Los componentes fueron identificados por análisis comparativo de los espectros de masa frente a la base de datos NIST14s.lib, y el contenido relativo de los mismos fueron estimados por comparación de su área con las áreas totales<sup>16</sup>.

### **Microorganismos y condiciones de crecimiento**

Las cepas utilizadas fueron *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, y fueron proporcionadas por el Instituto de Química Biológica, Microbiología y Biotecnología “Marco Antonio Garrido Malo” de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM.

Las cepas fueron reactivadas 24 h antes de su uso, sembradas en agar tripticasa soya (Merck) a 35°C.

### **Evaluación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)**

La determinación de la CMI se realizó por el método de microdilución en placa, siguiendo el protocolo CLSI M07-A10, con modificaciones<sup>17,18</sup>. El experimento se realizó en microplacas de poliestireno (Brand) estériles de 96 pocillos. Las muestras se prepararon en el rango de concentraciones de 0,078 – 40 µL/mL, usando como diluyente el caldo Mueller Hinton (CMH) (Merck) y tween 80. El CMH sólo se usó como control de esterilidad y el CMH más bacteria como control positivo, y como antimicrobiano de referencia se usó ciprofloxacino a concentraciones de 0,125-64 µg/mL. Todas las pruebas se realizaron por triplicado. Luego las microplacas se llevaron a incubación a 37°C por 18-24 h. Para la determinación del CMI, se consideró la mínima dilución en la que no se produjo el cambio de color de púrpura a rosado o incoloro. El promedio de tres valores fue calculado.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Análisis preliminar y fisicoquímico**

Resultados del análisis organoléptico y fisicoquímico preliminar se presentan en la tabla 1.

**Tabla 1.** Análisis organoléptico y densidad de las plantas del estudio.

Características	Aceite esencial			
	<i>Citrus paradisi</i> (C)	<i>Juglans neotropica</i> Diels (H)	<i>Schinus molle</i> L. (H)	<i>Tagetes elliptica</i> Smith (H)
Rendimiento (%V/P)	0,15	0,00008	1,1	0,041
Olor	Aroma agradable	Sui generis	Picante	Sui generis
Sabor	Picante fresco	N.D.	Amargo	Picante astringente
Color	Ligeramente amarillento	Amarillo	Ambar	Anaranjado
Aspecto	Líquido fluido y transparente	Viscoso	viscoso	Líquido translúcido y viscoso
Densidad (20°C)	0,852	N.D.	0,8720	0,7800

N.D.: No determinado, C: cáscara, H: hojas

El rendimiento del AE de *Citrus paradisi* de 0,15% (V/P) es similar al reportado por Villa<sup>19</sup>, pero menor al reportado por Miya *et al.*, que oscilan entre 0,34-0,57 %<sup>20</sup>. El rendimiento del aceite esencial de hojas de *Schinus molle* de 1,1%, fue mayor que los reportados en otros estudios, que van desde 0,1154 - 0,214 %<sup>21,22</sup>. El rendimiento del aceite esencial de hojas de *Tagetes elliptica* Smith fue de 0,041%, menor al obtenido por López<sup>23</sup>. Las diferencias en el rendimiento se deben probablemente a las distintas condiciones de extracción de los AEs, además de las diferentes condiciones edafológicas de las plantas.

### Composición química

El análisis de CG-MS del AE de cáscara de *Citrus paradisi*, reveló 21 compuestos volátiles (tabla 2), de los que 3 representan 94,61 % (D-Limoneno con 83,45 %, Octanal con 8,68% y beta-mirceno con 2,48 %). Los resultados son similares a otros estudios respecto a la concentración de limoneno (20,24,25), pero difieren en concentración de otros compuesto como alfa-pineno, beta-pineno y linalol<sup>24,25</sup>.

**Tabla 2.** Composición química del aceite esencial de cáscara de *Citrus paradisi*.

Número	Componente	TR <sup>a</sup> (min)	% en la muestra <sup>b</sup>
1	5-clorovalérico ácido	4,375	0,01
2	2-pentanona, 4-methyl-, oxima	4,608	0,28
3	Butano, 1-fluoro	4,799	0,09
4	Heptanal	9,716	0,23
5	$\alpha$ -pineno	12,081	1,41
6	$\beta$ -felandreno	16,271	2,21
7	$\beta$ -mirceno	19,056	1,15
8	$\beta$ -mirceno	19,085	1,33
9	Octanal	21,136	5,33
10	Octanal	21,217	3,35
11	D-limoneno	25,400	21,21
12	D-limoneno	25,587	8,89
13	Ciclohexano, 1-metil-4-(1-metiletetil)-1-, (S)-	25,960	23,32
14	Ciclohexano, 3-metil-6-(1-metiletetil)-1-, (3R-trans)-	26,022	3,65
15	D-limoneno	26,134	7,93
16	D-limoneno	26,210	5,39
17	D-limoneno	26,373	14,06
18	1,3,6-Octatrieno, 3,7-dimetil-, (Z)-	30,074	0,16
19	$\gamma$ -terpineno	31,495	0,09
20	trans-Linalool oxido (furanoide)	33,949	0,05
21	1-octanol	34,780	0,25
22	Linalool	37,968	0,27
23	Nonanal	38,460	0,10
24	Citronelal	42,866	0,04
25	Terpinen-4-ol	44,332	0,03
26	$\alpha$ -terpineol	45,413	0,03
27	Decanal	46,685	0,06
28	2,6-octadienal,3,7-dimetil-,(Z)-	48,814	0,03
29	Citral	50,583	0,03
			100,00

Componentes listados en orden de elución de una columna

<sup>a</sup> TR, Tiempo de retención (min) calculados en la columna<sup>b</sup> Porcentaje del área relativa (área de pico relativa al área del pico total en el cromatograma)

**Tabla 3.** Composición química del aceite esencial de hojas de *Juglans neotropica* Diels.

Número	Componente	TR <sup>a</sup> (min)	% en la muestra <sup>b</sup>
1	Hexano, 2,4-dimetil-	5,042	0,18
2	Biciclo[3.1.0]hex-2-eno,2-metil-5-(1-metiletil)-	11,582	0,34
3	$\alpha$ -pineno	12,145	39,88
4	Biciclo[3.1.1]heptano, 6,6-dimetil-2-metileno-,(1S)-	16,425	11,00
5	$\beta$ -mirceno	18,993	5,09
6	1,3-ciclohexadieno, 1-metil-4-(1-metiletil)-	22,474	0,37
7	o-cimeno	23,961	0,44
8	D-limoneno	24,643	3,47
9	1,3,6-Octatrieno, 3,7-dimetil-, (Z)-	29,844	0,90
10	$\gamma$ -terpineno	31,363	1,01
11	Ciclohexano, 1-metil-4-(1-metiletilideno)-	35,954	0,22
12	Biciclo[3.1.1]hep-3-en-2-ona, 4,6,6,-trimetil	37,660	0,20
13	Nonanal	38,448	0,20
14	Geranil nitrilo	39,680	3,28
15	6-metil-3,5-heptadieno-2-ona	45,660	0,10
16	Benceno, 2-metoxi-4-metil-1-(1-metietil)-	48,461	0,10
17	Benceno, 1-metoxi-4-metil-2-(1-metietil)-	48,982	0,22
18	Linalil acetato	49,781	0,28
19	Trisulfuro, di-2-propenil	51,913	0,13
20	Timol	52,050	0,04
21	3,9-dodecadiina	53,105	0,03
22	$\alpha$ -cubebeno	54,544	0,28
23	$\alpha$ -cubebeno	55,802	1,26
24	Ciclohexano, 1-etnil-1-metil-2,4-bis(1-metiletenil)-,[1S-(1. $\alpha$ .,2. $\beta$ .,4. $\beta$ .)]-	56,617	0,03
25	Biciclo[7.2.0]undec-4-eno, 4,11,11-trimetil-8-metileno	57,262	0,04
26	Cariofileno	57,933	27,66
27	$\alpha$ -guaieno	58,733	0,75
28	$\alpha$ -cubebeno	59,236	0,15
29	Humuleno	59,366	1,40
30	Naftaleno, 1,2,4a,5,8,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-, (1. $\alpha$ .,4a. $\beta$ .,8a. $\alpha$ .)-(+/-)-	60,278	0,03
31	Biciclo[4.4.0]dec-1-eno,2-isopropil-5-metil-9-metil	61,036	0,03
32	Azuleno, 1,2,3,5,7,8,8a-octahidro-1,4-dimetil-7-(1-metiletenil)-, [1S-(1. $\alpha$ .,7. $\alpha$ .,8a. $\beta$ .)]-	61,656	0,29
33	$\alpha$ -farneseno	61,756	0,16
34	Naftaleno, 1,2,3,5,6,8a-hexahidro-4,7,dimetil-1-(1-metiletil)-, (1S-cis)-	62,383	0,33
35	Naftaleno, 1,2,3,4,4a,7-hexahidro-1,6,dimetil-4-(1-metiletil)-	62,740	0,06
36	Oxido de cariofileno	64,900	0,04
			100,00

Componentes listados en orden de elución de una columna

<sup>a</sup> TR, Tiempo de retención (min) calculados en la columna<sup>b</sup> Porcentaje del área relativa (área de pico relativa al área del pico total en el cromatograma)

**Tabla 4.** Composición química del aceite esencial de hojas de *Schinus molle*.

Número	Componente	TR <sup>a</sup> (min)	% en la muestra <sup>b</sup>
1	Tolueno	4,246	0,12
2	Hexano,2,4-dimetil-	4,986	0,08
3	1-heptano,2,6-dimetil-	8,336	0,05
4	Triciclo[2.2.1.0(2,6)]heptano,1,7,7-trimetil-	11,110	4,34
5	Biciclo[3.1.0]hex-2-eno,2-metil-5-(1-metiletil)-	11,634	0,18
6	$\alpha$ -pineno	12,338	16,56
7	Camfeno	13,716	19,10
8	Beta-pineno	16,640	8,85
9	$\beta$ -mirceno	19,066	1,53
10	$\alpha$ -felandreno	21,043	19,59
11	o-cimeno	24,297	3,11
12	3-(4-metilbenzoil)-2-thioxo-4-thiazolil 4-metilbenzoato	24,374	0,92
13	o-cimeno	24,525	1,85
14	1-pentanona,1-(4-metilfenil)-	24,598	0,92
15	o-cimeno	24,619	1,53
16	$\beta$ -felandreno	25,415	15,16
17	$\gamma$ -terpineno	25,459	1,53
18	D-limoneno	25,547	4,04
19	1,3,6-octatrieno,3,7-dimetil-,(Z)-	29,932	0,19
20	Ciclohexano, 1-metil-4-(1-metiletilideno)-	35,962	0,05
21	Terpinen-4-ol	44,329	0,01
22	2-ciclohexen-1-ona, 4-(1-metiletil)-	44,954	0,01
23	Biciclo[3.1.0]hexan-3-ol, 4-metileno-1-(metiletil)-, (1. $\alpha$ .,3. $\alpha$ .,5. $\alpha$ .)-	46,141	0,01
24	Bornil acetato	51,305	0,02
25	Ciclohexano, 1-etetil-1-metil-2,4-bis(1-metiletenil)-,[1S-(1. $\alpha$ .,2. $\beta$ .,4. $\beta$ .)]-	56,615	0,01
26	1H-Cicloprop[e]azuleno, 1a,2,3,4,4a,5,6,7b-octahidro-1,1,4,7-tetrametil-	57,394	0,02
27	Cariofileno	57,823	0,04
28	Humuleno	59,360	0,01
29	$\gamma$ -muuroloeno	60,400	0,00
30	Germacreno D	60,578	0,02
31	Ciclohexano, 1-etetil-1-metil-2-(metiletenil)-4-(1-metiletilideno)-	61,262	0,07
32	$\alpha$ -muuroloeno	61,438	0,01
33	Naftaleno, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahidro-7-metil-4-metileno-1-(1-metiletil)-	61,995	0,01
34	Naftaleno, 1,2,4a,5,8,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-	62,395	0,04
35	Ciclohexanemetanol, 4-etetil-, $\alpha$ ., $\alpha$ .,4-trimetil-3-(1-metiletenil)-	63,459	0,01
36	(2E,4S,7E)-4-Isopropil-1,7-dimetilciclodecano-2,7-dienol	64,566	0,01
37	1H-Cicloprop[e]azuleno-7-ol, decahidro-1,1,7-trimetil-4-metileno-	64,695	0,01
			100,00

Componentes listados en orden de elución de una columna

<sup>a</sup> TR, Tiempo de retención (min) calculados en la columna<sup>b</sup> Porcentaje del área realtiva (área de pico relativa al área del pico total en el cromatograma)

**Tabla 5.** Composición química del aceite esencial de hojas de *Tagetes elliptica* Smith.

Número	Componente	TR <sup>a</sup> (min)	% en la muestra <sup>b</sup>
1	Furan, 2-etil	3,089	0,02
2	Metil isobutil cetona	3,673	0,07
3	Isopropilideno-	5,032	0,02
4	Ácido butanoico, 2-metil, etil ester	6,878	0,14
5	Ácido hexánico, metil ester	11,589	0,17
6	$\alpha$ -pineno	12,069	0,23
7	2(10)-Pinene	16,405	1,44
8	$\beta$ -mirceno	19,907	54,90
9	2-Tujeno	19,992	7,77
10	$\beta$ -mirceno	20,072	8,59
11	cis,cis-Linoleico ácido	22,523	0,07
12	2,8-decadieno	23,776	0,08
13	D-limoneno	24,838	3,17
14	Trans-,beta.-Ocimeno	27,924	3,73
15	beta.-cis-Ocimeno	29,934	0,03
16	Ácido pentanoico, 2-propenil ester	31,204	3,81
17	Terpinoleno	35,965	0,02
18	2,2-dimetil-3-heptanona	36,175	0,59
19	Cis-Linalool oxido	37,463	10,07
20	Linalool	38,010	0,04
21	Amil isovalerato	38,541	0,04
22	2,6-Dimetil-8-(tetrahidropirano-2-iloxi)-octa-2,6-dien-1-ol	39,068	0,03
23	Alilciclohexano	39,539	0,05
24	2-octen-4-ol	39,880	3,87
25	Ácido octanoico, metil ester	40,700	0,07
26	trans-Tagetona	42,204	0,46
27	$\beta$ -Linalool	42,493	0,22
28	1,2:5,6-Diepoxiciclooctano	43,030	0,01
29	8-Hidroxilinalool	43,286	0,03
30	1,1'-Bicicloheptil	44,223	0,05
31	p-Mentano-8-ol	45,476	0,05
32	Decanal	46,683	0,04
33	Verbenona	48,224	0,08
34	Cis-Linalool oxido	50,600	0,01
35	Cariofileno	57,826	0,04
			100,00

Componentes listados en orden de elución de una columna

<sup>a</sup> TR, Tiempo de retención (min) calculados en la columna<sup>b</sup> Porcentaje del área realtiva (área de pico relativa al área del pico total en el cromatograma)

Este es el primer reporte de la composición química del AE de hojas de *Juglans neotropica* Diels, en el análisis de CG-MS se observaron 36 compuestos volátiles (tabla 3), siendo los más abundantes alfa-pineno (39,88 %), cariofileno (27,66 %) y beta-pineno (11,0 %), beta-mirceno (5,09 %), D-limoneno (3,47 %), geranil-nitrilo (3,28 %), alfa-cubeneno (1,69 %), humoleno (1,40 %) y gamma-terpineno (1,01 %). Los compuestos beta-pineno, cariofileno y D-limoneno también son mayoritarios en el aceite esencial de hojas de *Juglans regia* L.<sup>26-28</sup>.

El análisis de la composición química del AE de las hojas de *Schinus molle* reveló 37 compuestos volátiles (tabla 4). Los principales compuestos encontrados fueron: alfa-felandreno (19,59%), canfeno (19,10%), alfa-pineno (16,56%), beta pineno (8,85%), o-cimeno (6,53%), tricicleno (4,24%), D-limoneno (4,04%), y gamma-terpineno (1,53%). Los resultados son similares a los reportados en otros estudios<sup>11,29-31</sup>, con algunas diferencias como la presencia de elemol y beta-mirceno<sup>11,31</sup>.

El análisis de la composición química del AE de las hojas de *Tagetes elliptica* Smith reveló 35 compuestos (tabla 5), con predominancia de beta-mirceno (63,49%), cis-linalool óxido (10,07%), 2-tujeno (7,77%), 2-octen-4-ol (3,87%), ácido pentanoico, 2 propenil ester (3,81%), trans-beta-ocimeno (3,73%), D-limoneno (3,17%), beta-pineno (1,44%), y trans-tagenona (0,46%). El resultado es similar en algunos componentes (beta-mirceno, pineno) al reportado por López<sup>23</sup>. Limoneno, beta-pineno, beta-mirceno, y tagenona se encuentran en AEs de hojas del género *Tagetes*<sup>12,32</sup>.

### Actividad antibacteriana

Los resultados de la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) por el método de microdilución colorimétrico de los AEs de las plantas en estudio contra las siguientes cepas *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 se observan en la tabla 6.

El AE de la cáscara de *Citrus paradisi* no presentó actividad frente a *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* (CMIs > 40 µL/mL), pero sí contra *Staphylococcus epidermidis* con una CMI de 5 µL/mL. Por otro lado Denkova *et al.*<sup>25</sup> reportaron una CMI de 600 ppm del aceite contra *S. aureus*, y Mantilla<sup>33</sup> demostró actividad con el aceite al 25% frente a la misma cepa. Ou MC *et al.*, halló una débil actividad (20 mg/mL) del aceite de *C. paradisi* frente a *Pseudomonas aeruginosa*<sup>34</sup>. La actividad presentada por el aceite esencial estudiado se atribuye probablemente a la presencia de los hidrocarburos monoterpenos o sesquiterpenos y sus derivados oxigenados, entre los cuales se tiene a D-limoneno, linalol o citral<sup>25</sup>. Otras actividades reportadas para el aceite esencial de *C. paradisi* son contra *Streptococcus mutans*<sup>19</sup> y contra *Candida albicans*<sup>24</sup>.

**Tabla 6.** Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria de los aceites esenciales.

Aceite esencial	Concentración Mínima Inhibitoria ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ )		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Citrus paradisi</i>	> 40	5	> 40
<i>Juglans neotropica</i> Diels	> 40	> 40	> 40
<i>Schinus molle</i>	20	0,3125	> 40
<i>Tagetes elliptica</i> Smith	5	0,3125	> 40

El aceite esencial de las hojas de *Juglans neotropica* Diels, no mostró ninguna actividad frente a las cepas estudiadas, con CMI > 40  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . No hay reportes en la literatura científica sobre la actividad antibacteriana del aceite mencionado, sin embargo si está reportado la actividad de la infusión de las hojas contra *Candida albicans*<sup>35</sup>. Por otro lado la literatura reporta actividad contra *Pseudomonas aeruginosa* (31,25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), *Staphylococcus epidermidis* (15,62  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) y *Staphylococcus aureus* (15,62  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) del aceite esencial de las hojas de *Juglans regia*<sup>28</sup>.

El aceite esencial de las hojas de *Schinus molle* presentó muy buena actividad frente a *Staphylococcus epidermidis* (CMI= 0,3125  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ), actividad moderada frente a *Staphylococcus aureus* (CMI= 20  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ), y no tuvo actividad contra *Pseudomonas aeruginosa* (CMI > 40  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ). Los resultados encontrados concuerdan con los reportados por otros autores<sup>11,36</sup>, (11,36), con la diferencia de que reportan actividad frente a *Pseudomonas aeruginosa*, pero a una concentración mayor a la trabajada en el presente trabajo de investigación<sup>36</sup>.

El análisis de la actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Tagetes elliptica* Smith demostró una excelente actividad frente a *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus*, con CMI de 0,3125  $\mu\text{L}/\text{mL}$  y 5  $\mu\text{L}/\text{mL}$  respectivamente. Por otro lado el aceite no mostró actividad contra *Pseudomonas aeruginosa* (CMI > 40  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ). Un estudio empleando el mismo aceite, encontró actividad significativa contra para *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*<sup>13</sup>.

## CONCLUSIONES

Se logró identificar los principales compuestos de los aceites esenciales de la cáscara de *Citrus paradisi*, y hojas de *Juglans neotropica* Diels, *Schinus molle* y *Tagetes elliptica* Smith. Los componentes más abundantes fueron D-limoneno (83,45%), alfa-pineno (39,88), alfa-felandreno (19,59%), y beta-mirceno (63,49%) para cada uno de los aceites respectivamente. Respecto a la actividad antibacteriana, los aceites esenciales de *Schinus molle* y *Tagetes elliptica* Smith demostraron actividad contra *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, de otro lado el aceite esencial de *Citrus paradisi* sólo tuvo actividad frente a *Staphylococcus epidermidis*. El aceite esencial de *Juglans neotropica* Diels no mostró

actividad frente a ninguna de las bacterias estudiadas, y además ninguno de los aceites esenciales estudiados presentaron actividad contra *Pseudomonas aeruginosa*.

## AGRADECIMIENTOS

Al Vicerrectorado de Investigación y Posgrado de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por el financiamiento de tesis de Posgrado. Código: A17040394b

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Christaki E, Marcou M, Tofarides A. Antimicrobial Resistance in Bacteria: Mechanisms, Evolution, and Persistence. *J Mol Evol.* 2020;88(1):26-40.
2. O'Neill J. Antimicrobial resistance : tackling a crisis for the health and wealth of nations / the Review on Antimicrobial Resistance [Internet]. Wellcome Collection. 2014 [citado 15 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://wellcomecollection.org/works/rdpck35v/items>
3. OMS. La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos [Internet]. 2017 [citado 10 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
4. De Oliveira DMP, Forde BM, Kidd TJ, Harris PNA, Schembri MA, Beatson SA, et al. Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Clin Microbiol Rev.* 17 de junio de 2020;33(3):e00181-19. doi: 10.1128/CMR.00181-19.
5. OMS. Resistencia a los antimicrobianos [Internet]. 2020 [citado 28 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
6. Wani AR, Yadav K, Khursheed A, Rather MA. An updated and comprehensive review of the antiviral potential of essential oils and their chemical constituents with special focus on their mechanism of action against various influenza and coronaviruses. *Microb Pathog.* 2021;152:104620. doi: 10.1016/j.micpath.2020.104620.
7. Wińska K, Mączka W, Łyczko J, Grabarczyk M, Czubaszek A, Szumny A. Essential Oils as Antimicrobial Agents-Myth or Real Alternative? *Mol Basel Switz.* 2019;24(11):2130. doi: 10.3390/molecules24112130.
8. González-Mas MC, Rambla JL, López-Gresa MP, Blázquez MA, Granell A. Volatile Compounds in *Citrus* Essential Oils: A Comprehensive Review. *Front Plant Sci.* 2019;10:12. doi: 10.3389/fpls.2019.00012.
9. Ramírez F, Kallarackal J. The phenology of the endangered Nogal (*Juglans neotropica* Diels) in Bogota and its conservation implications in the urban forest. *Urban Ecosyst.* 2021;24(6):1327-1342.
10. Huachaca L. Actividad gastroprotectora y antisecretora de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Juglans neotropica* Diels "nogal". Ayacucho 2017 [Tesis]. Ayacucho: Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga; 2017.

11. Martins MDR, Arantes S, Candeias F, Tinoco MT, Cruz-Morais J. Antioxidant, antimicrobial and toxicological properties of *Schinus molle* L. essential oils. *J Ethnopharmacol.* 2014;151(1):485-492.
12. Salehi B, Valussi M, Morais-Braga MFB, Carneiro JNP, Leal ALAB, Coutinho HDM, et al. *Tagetes* spp. Essential Oils and Other Extracts: Chemical Characterization and Biological Activity. *Mol Basel Switz.* 2018;23(11): 2847. doi: 10.3390/molecules23112847.
13. Segovia I, Suárez L, Castro A, Suárez S, Ruiz J. Composición química del aceite esencial de *Tagetes elliptica* Smith “chincho” y actividades antioxidante, antibacteriana y antifúngica. *Cienc Investig.* 2010;13(2):81-86.
14. Cerpa Chávez MG. Hidrodestilación de aceites esenciales: modelado y caracterización [Tesis doctoral]. Valladolid: Universidad de Valladolid; 2007.
15. AOAC. Association of Official Analytical Chemist. Official methods of Analysis. 16th ed. Washington: AOAC International; 2000. 1319 p.
16. Gurbuz B, Bagdat RB, Uyanik M, Rezaeieh KAP. Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) cultivation studies under Ankara ecological conditions. *Ind Crops Prod.* 2016;88:12-16.
17. Ruiz J, Roque M, Salazar ME, Gamarra G, Arias G, Whu D, et al. Actividad antiestafilocócica y antibiopelícula de los extractos de *Juglans neotropica* Diels, *Piper lineatum* Ruiz & Pav. y *Terminalia catappa* L. *Cienc Investig.* 16(1):32-37.
18. Liu M, Seidel V, Katerere DR, Gray AI. Colorimetric broth microdilution method for the antifungal screening of plant extracts against yeasts. *Methods.* 2007;42(4):325-329.
19. Villa Gonzales GF. Composición química del aceite esencial de *Citrus paradisi* “Toronja”, actividad antioxidante y determinación de la actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2017.
20. Miya G, Nyalambisa M, Oyedeji O, Gondwe M, Oyedeji A. Chemical Profiling, Toxicity and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils from Three Grapefruit Cultivars from KwaZulu-Natal in South Africa. *Mol Basel Switz.* 2021;26(11):3387. doi: 10.3390/molecules26113387.
21. López de la Cruz RP, Caso Orihuela NV. Rendimiento y composición química de aceites esenciales de *Eucalyptus archeri* y *Schinus molle* - Valle del Mantaro [Tesis de título]. Huancayo: Universidad Nacional del Centro; 2015.
22. Palacios A, Castillo W. Modelamiento de extracción del aceite esencial de *Aloysia citriodora* y *Schinus molle*. *Ing Cienc Tecnol e Innov.* 2015;2(2):14-24.
23. López Aguilar EB. Estudio de aceites esenciales en la especie *Tagetes elliptica* Smith (Chinche) [Tesis de título]. Lima: Universidad Nacional de Ingeniería; 2010.
24. Silva RA da, Antonietti FMPM, Röder DVD de B, Pedrosa RDS. Essential Oils of *Melaleuca*, *Citrus*, *Cupressus*, and *Litsea* for the Management of Infections Caused by *Candida* Species: A Systematic Review. *Pharmaceutics.* 2021;13(10):1700. doi: 10.3390/pharmaceutics13101700.
25. Denkova-Kostova R, Teneva D, Tomova T, Goranov B, Denkova Z, Shopska V, et al. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oils from tangerine (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.), lemon (*Citrus lemon*

- L.) and cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume). *Z Naturforschung C J Biosci.* 2021;76(5-6):175-185.
26. Panth N, Paudel KR, Karki R. Phytochemical profile and biological activity of *Juglans regia*. *J Integr Med.* 2016;14(5):359-373.
  27. Pereira JA, Oliveira I, Sousa A, Valentão P, Andrade PB, Ferreira ICFR, et al. Walnut (*Juglans regia* L.) leaves: Phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. *Food Chem Toxicol.* 2007;45(11):2287-2295.
  28. Rather MA, Dar BA, Dar MY, Wani BA, Shah WA, Bhat BA, et al. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the leaf essential oil of *Juglans regia* L. and its constituents. *Phytomedicine Int J Phytother Phytopharm.* 2012;19(13):1185-1190.
  29. St-Gelais A, Mathieu M, Lévassieur V, Ovando JF, Escamilla R, Marceau H. Preisocalamendiol, shyobunol and related oxygenated sesquiterpenes from Bolivian *Schinus molle* Essential Oil. *Nat Prod Commun.* 2016;11(4):547-550.
  30. Elshafie HS, Ghanney N, Mang SM, Ferchichi A, Camele I. An In Vitro Attempt for Controlling Severe Phytopathogens and Human Pathogens Using Essential Oils from Mediterranean Plants of Genus *Schinus*. *J Med Food.* 2016;19(3):266-273.
  31. Simsek M, Eke B, Demir H. Characterization of carboxymethyl cellulose-based antimicrobial films incorporated with plant essential oils. *Int J Biol Macromol.* 2020;163:2172-2179.
  32. Ccoñas Antezana W. Extracción y caracterización de aceite esencial de chikchimpanay (*Tagetes terniflora* H.B.K.). [Tesis de título]. Huancavelica: Universidad Nacional de Huancavelica; 2012.
  33. Mantilla Rodríguez CE. Determinación del efecto antibacteriano del aceite esencial del fruto *Citrus paradisi* (“tangelo”) frente a *Staphylococcus aureus in vitro* [Tesis de grado]. Huacho: Universidad Alas Peruanas; 2018.
  34. Ou M-C, Liu Y-H, Sun Y-W, Chan C-F. The Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities of Cold-Pressed and Distilled Essential Oils of *Citrus paradisi* and *Citrus grandis* (L.) Osbeck. *Evid-Based Complement Altern Med ECAM.* 2015;2015:804091. doi: 10.1155/2015/804091.
  35. Bardales Chuquilin AMT, Ureta Lumbe YMS. Actividad antifúngica con infusión de *Juglans neotropica* Diels (nogal) en colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231) [Tesis de título]. Cajamarca: Universidad Privada Antonio Guillermo Urrel; 2017.
  36. De Mendonça Rocha PM, Rodilla JM, Díez D, Elder H, Guala MS, Silva LA, et al. Synergistic antibacterial activity of the essential oil of aguaribay (*Schinus molle* L.). *Molecules.* 2012;17(10):12023-12036.

## ESTUDIO EXPERIMENTAL DE LA DEGRADACIÓN DEL PLAGUICIDA METOMILO EN AGUAS SUPERFICIALES APLICANDO PROCESOS AVANZADOS DE OXIDACIÓN

Grecia Quispe Suni<sup>a</sup>, Cynthia Medina Flores<sup>a</sup>, Andrea Villasante Aparicio<sup>a</sup>,  
Julian Rengifo Herrera<sup>b</sup>, Miriam Bernal de Arenas<sup>c\*</sup>

### RESUMEN

El uso intensivo de agroquímicos para la producción de alimentos en los países en desarrollo ha generado un problema de interés ambiental pues muchas de estas sustancias que suelen ser difíciles de biodegradar pueden alcanzar fuentes naturales generando su contaminación. Es por ello que la búsqueda de nuevas tecnologías para la eliminación de estos contaminantes ha surgido con mucho interés. Los procesos avanzados de oxidación (PAOs), cuya principal característica es la generación de especies altamente oxidantes como el radical hidroxilo, pueden lograr la modificación química del contaminante generando subproductos que pueden ser menos dañinos con el medio ambiente. En este trabajo se evaluó la degradación de metomilo, un insecticida altamente utilizado en la región de Arequipa, Perú, utilizando diferentes PAOs como la ozonización en medio alcalino, UV-C/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y procesos foto-Fenton a pH ácido. Se evaluó a escala de laboratorio el efecto de matriz de aniones como bicarbonatos, fluoruros y nitratos y posteriormente en aguas naturales superficiales. Los resultados indican que la mayor eliminación de metomilo en agua real se logró en 99.38 % bajo UV-C/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> seguida del proceso fotofenton, con un 94.12 % de degradación y la ozonólisis a pH alcalino (pH 11) con un 40% de degradación, demostrando que los PAOs evaluados pueden ser una alternativa promisoriosa para eliminar agroquímicos de fuentes naturales.

**Palabras clave:** Ozonólisis, foto-Fenton, UV-C/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, metomilo, PAOs

## EXPERIMENTAL STUDY OF THE DEGRADATION OF THE PESTICIDE METOMIL IN SURFACE WATERS APPLYING ADVANCED OXIDATION PROCESSES

### ABSTRACT

The intensive use of agrochemicals for food production in developing countries has generated a problem of environmental concern since many of these substances, which are usually difficult to biodegrade, can reach natural sources, generating their contamination. That is why the search for new technologies for the elimination of these pollutants has arisen with great

---

<sup>a</sup> Facultad de Ingeniería de Procesos, Departamento de Ingeniería Metalúrgica y Ambiental, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, Av. Independencia S/N., Perú.

<sup>b</sup> Facultad de Ciencias Exactas, Departamento de Química, UNLP-CCT La Plata, Buenos Aires, Argentina

<sup>c</sup> Facultad de Ciencias Naturales y Formales, Departamento Académico de Química. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, Av. Independencia S/N. Perú, \*mbernal@unsa.edu.pe

interest. Advanced oxidation processes (AOP), whose main characteristic is the generation of highly oxidizing species such as the hydroxyl radical, can achieve the chemical modification of the pollutant, generating by-products that can be less harmful to the environment. In this work, the degradation of methomyl, a highly used insecticide in the Arequipa region, Peru, was evaluated using different PAOs such as ozonation in alkaline medium, UV-C/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and photo-Fenton processes at acid pH in natural surface waters. The effect of anion matrix such as bicarbonates, fluorides and nitrates were evaluated on a laboratory scale and later in natural surface waters. The results indicate that the highest methomyl removal in real water was achieved at 99.38% for UV-C/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> followed by the photofenton process, with 94.12% degradation and ozonolysis at alkaline (pH 11) with 40% degradation, demonstrating that the evaluated PAOs can be a promising alternative to eliminate agrochemicals from natural sources.

**Key words:** Ozonolysis, photo-Fenton, UV-C/ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, methomyl, AOP

## INTRODUCCIÓN

El metomilo (C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S) es un insecticida, perteneciente a la familia de los carbamatos y es muy utilizado en el Perú para el control de diversas plagas agrícolas<sup>1</sup>. Este insecticida posee características fisicoquímicas relacionadas a su solubilidad en agua (58 mg/L) y la toxicidad que puede causar fácilmente contaminación del agua en áreas agrícolas. Por otro lado, los procesos convencionales de biotratamiento presentan limitaciones para la remoción de metomilo en agua, aunque algunos trabajos han reportado el uso de cepas bacterianas específicas como *Paracoccus*, *Pseudomonas*, *Aminobacter*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Serratia*, *Novosphingobium*, y *Trametes*<sup>2</sup>.

Diferentes estudios sobre procesos para la remoción de metomilo se han concentrado en el uso de procesos avanzados de oxidación fotoquímicos y no fotoquímicos como el proceso Fenton, Foto-Fenton<sup>3,4</sup> y fotocatalisis con TiO<sub>2</sub><sup>5,6</sup>. El proceso fotofenton es un método que emplea un catalizador y sales de hierro que, bajo irradiación con luz ultravioleta o solar, facilitan su recuperación y reutilización, a la vez que reaccionan con peróxido de hidrógeno para la liberar OH, que oxidan a compuestos orgánicos. El proceso H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV se basa en la producción de un oxidante efectivo, el radical hidroxilo (•OH), a través de la irradiación del peróxido de hidrógeno con radiación ultravioleta, según la reacción 1<sup>7</sup>.



La descomposición fotoinducida del peróxido de hidrógeno en agua pura se racionaliza mediante el mecanismo de cadena radical Haber-Weiss, según el cual los radicales hidroxilos originados por el clivaje homolítico del enlace O-O inician una secuencia de reacciones caracterizadas por un paso de iniciación (reacción 1), seguido de un paso de propagación dado por las otras reacciones<sup>7</sup>. El proceso de Ozonización se basa en procesos fisicoquímicos que involucran la generación y uso de especies transitorias poderosas, principalmente el radical hidroxilo<sup>8</sup>. La ozonización ha sido exitosamente utilizada para la remoción de metomilo en agua Milli-Q.

El objetivo de la presente investigación es estudiar la degradación de metomilo en aguas reales provenientes de drenes agrícolas del Sector Uraca-Corire de la Provincia de Arequipa, utilizando tres Procesos Avanzados de oxidación: Ozonización, Foto Fenton y Peróxido de hidrógeno y luz ultravioleta; de modo que se verifique la eficiencia de cada uno de estos procesos para recomendar el proceso óptimo para el tratamiento del mencionado plaguicida.

## PARTE EXPERIMENTAL

### 1.1. Reactivos del proceso foto Fenton y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV y Ozonización

En todos los experimentos se utilizaron los siguientes reactivos: peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) PANREAC®, 30% (V/V), Metomilo (C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S); con una pureza  $\geq$  98 %, SIGMA-ALDRICH®, ácido sulfúrico, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 6N, hidróxido de sodio (NaOH), ácido clorhídrico HCl, sulfato ferroso heptahidratado, (FeSO<sub>4</sub> • 7H<sub>2</sub>O) HIMEDIA®, 99.5%, nitrato de sodio AR/ACS (NaNO<sub>3</sub>), de la marca Central Drug House (P) Ltd. con una pureza del 99,5-99,8 %, carbonato de calcio (CaCO<sub>3</sub>), de la marca Central Drug House (P) Ltd. con una pureza del 99,5 %, cloruro de sodio de marca Central Drug House (P) Ltd, Yoduro de potasio al 2%. KI Merck®

### 1.2. Sistemas de proceso Foto Fenton, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV y Ozonización

Para los tratamientos realizados con el proceso foto-Fenton y peróxido con UV, se dispuso de radiación artificial con lámparas tubulares fluorescentes de vapor de mercurio de baja presión Actinic BL TL TL-D marca Philips, 18W/10 1SL/25, las cuales se ubicaron en el interior de una cámara de acero inoxidable iluminando desde la parte superior, así mismo se contó con un sistema de sensores de temperatura y un protector anti-UV, traslucida en la cara anterior, un agitador magnético y un vaso reactor de cuarzo, que permite el paso de la luz hacia la solución (Figura 1).



**Figura 1.** Cámara real de reacción. Fuente Propia. Muestra del diseño real estructurado para las experimentaciones acoplado de un sistema de lámparas UV-A, Actinic BL TL-D 18W/10 1SL/25, marca PHILIPS.

El ozono se genera a partir de oxígeno comercial mediante un generador de ozono (Guolin, modelo CF-G-3-20g). El flujo del oxidante se dirige hacia un reactor de vidrio pyrex de 500mL que contiene la muestra a tratar donde se burbujeo continuamente el reactor por medio de un difusor de vidrio poroso. Posteriormente se dirige hacia un reactor posterior (trampa de ozono) que contiene una solución de yoduro de potasio al 2%. La concentración de ozono se ajustó mediante el método Indigo<sup>9</sup>. Para la experimentación se utilizó metomilo de marca Sigma-Aldrich. La experimentación fue llevada en tres etapas de acuerdo con el tipo de agua utilizada: agua destilada, agua simulada y agua real.

### 1.3. Determinación de concentraciones óptimas para la degradación de metomilo

Para los experimentos foto Fenton se desarrolló un diseño experimental de factores independientes para determinar la dosis óptima de las variables (tiempo, concentración de Fe+2 /H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y pH) a intervenir en la degradación del metomilo, para lo cual en cada experimentación se realizó el diseño experimental basado en la ecuación 2, donde “t” es la cantidad de tratamientos, “r” el número de repeticiones y “N” el número de análisis:

$$t \times r = N \quad (2)$$

Para los experimentos con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV, el diseño experimental que se desarrolló fue de factores independientes para la degradación de metomilo en agua destilada (condiciones óptimas), agua simulada y agua real muestra con el proceso peróxido de hidrógeno y luz ultravioleta (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV). En todos los experimentos se trabajó con una concentración inicial de 10 mg/L de metomilo, se comenzó con la determinación del tiempo óptimo teniendo en cuenta cinco tiempos en el último experimento (0, 1, 2, 4 y 8 min), seguido de la determinación de la concentración de peróxido de hidrógeno óptima considerando dos concentraciones 3 mg/L y 10 mg/L, para terminar, se hizo la determinación del tipo de radiación ultravioleta UV-C, UV-B y UV-A. Se realizaron tres repeticiones en todos los experimentos.

Para los experimentos con ozonización, se determinó las condiciones óptimas a través de un diseño experimental, (ver Tabla 1) para las variables pH y tiempo de contacto. Se estableció como un parámetro fijo el pH natural de las muestras de agua de los drenes objeto de estudio. Teniendo en cuenta que valores altos de pH aumenta la eficiencia en la degradación de los contaminantes orgánicos<sup>8</sup> se seleccionó un valor de pH de 11. En el caso donde se ajustó el pH, este se realizó con NaOH 0.1 M. Los niveles establecidos para el tiempo de contacto fueron seleccionados tomando en cuenta los resultados obtenidos en los ensayos preliminares. Los experimentos realizados a pH 8 utilizaron tiempos de contacto de 5, 10, 15, 30 min mientras que a pH 11 se establecieron intervalos de tiempo de 2, 4, 8, 10 min. La concentración de ozono que se utilizó está limitada por el equipo y corresponde a la mínima concentración alcanzada de 0.07 mg/L a un flujo constante de 0.5 L/min. La concentración inicial de Metomilo de estos experimentos fue de 10mg/L.

**Tabla 1.** Diseño experimental para pH 8 y pH 11.

Tratamientos	Concentración de Ozono (mg/L)	pH(unidades)	Tiempo (min)
1	0.07	Natural (8.0)	5
2	0.07	Natural (8.0)	10
3	0.07	Natural (8.0)	15
4	0.07	Natural (8.0)	30
5	0.07	Modificado (11.0)	2
6	0.07	Modificado (11.0)	4
7	0.07	Modificado (11.0)	8
8	0.07	Modificado (11.0)	10

#### 1.4. Caracterización fisicoquímica de las aguas reales de los drenes del sector de Uraca-Corire

Las aguas residuales caracterizadas provienen de los drenes agrícolas del valle de Majes, distrito de Uraca-Corire, provincia y departamento de Arequipa, Perú. Se establecieron 5 estaciones de muestreo (Tabla 2) para la caracterización de fisicoquímica de aniones; cloruros, fluoruros, sulfatos, fosfatos y carbonatos del agua real.

**Tabla 2.** Estaciones de muestreo de aguas superficiales en Uraca-Corire.

Código	Nombre de muestra	Coordenadas UTM WGS 84		
		Zona	Este	Norte
P-01	Efluente de la Zona 1	18 K	769974 m E	8206519 m S
P-02	Efluente de la Zona 2	18 K	770047 m E	8206452 m S
P-03	Confluente de la zona 3	18 K	769701 m E	8205290 m S
P-04	Efluente de la Zona 4	18 K	769977 m E	8205073 m S
P-05	Confluente de la zona 5	18 K	770585 m E	8200323 m S

La estación de muestreo P-05, colector final de los drenes, fue el punto para recolectar el agua para la experiencia con agua real.



Figura 2. Distribución geográfica de los puntos de monitoreo. Adaptado de Google Earth.

### 1.5. Metodología experimental para los ensayos Foto-Fenton, $H_2O_2$ /UV, y Ozonización

Para los ensayos Foto-Fenton se prepararon soluciones acuosas conteniendo 2.5 mg/L de Sulfato ferroso heptahidratado ( $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ) disponible de HIMEDIA, el cual fue utilizado como fuente de  $Fe^{2+}$  y una concentración de metomilo de 10 mg/L. El pH inicial de la solución fue ajustado a un valor de 3,6 utilizando HCl 0,1 M. Esta solución se colocó en un reactor de cuarzo con un volumen aproximado de 200 mL. Esta solución fue colocada en la cámara de irradiación agregando previamente una concentración de 10 mg/L de  $H_2O_2$  (30% v/v Panreac). La temperatura promedio durante los ensayos fue de 25° C; la solución se agitó magnéticamente a 700-750 RPM. Los ensayos con agua superficial simulado contenían concentraciones de iones Fluoruro  $[F^-]$  de 0.30 mg/L, Nitrato  $[NO_3^-]$  de 5 mg/L y Carbonato  $[CO_3^{2-}]$  de 20 mg/L.

Los experimentos de  $H_2O_2$ /UV se llevaron a cabo en un reactor Batch utilizando un recipiente de cuarzo de 235 mL. Las soluciones acuosas de metomilo (Sigma Aldrich) con una concentración de 10 mg/L a pH 5 se agitaron constantemente a 750 RPM por medio de un agitador magnético de cerámica (tipo SH-4C de AKMLAB) y fueron irradiadas en diferentes tiempos y diversas condiciones de concentración de peróxido de hidrógeno y tipo de radiación ultravioleta mediante el uso lámparas tubulares fluorescentes de radiación tipo UV-A, UV-B y UV-C y solución de  $H_2O_2$  al 30% v/v (PANREAC) llevada a una concentración de 10 mg/L para la realización de los ensayos. Todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente (25°C).

Los tratamientos fueron llevados en tres etapas de acuerdo con tipo de agua utilizada: agua destilada, agua simulada y agua real. En la etapa de trabajo con agua destilada se realizó la determinación del tiempo, concentración de peróxido de hidrógeno y tipo de irradiación

óptimos para posteriormente utilizar estos parámetros en los experimentos con agua simulada y agua real. En los tratamientos con agua simulada se trabajó con tres tipos diferentes de iones (carbonatos, nitratos y cloruros), con concentraciones de 20 mg/L, 5 mg/L y 60 mg/L respectivamente; con el fin de evaluar la existencia de alguna interferencia en la degradación de metomilo por parte de los aniones.

Las muestras de agua real recolectadas de los drenes agrícolas del distrito Uraca-Corire, fueron caracterizadas fisicoquímicamente tomando en cuenta los parámetros de temperatura, pH, oxígeno disuelto, conductividad eléctrica, carbonatos, cloruros, fluoruros, nitratos, sulfatos y fosfatos. Las muestras se enriquecieron con 10 ppm de metomilo y se sometieron al tratamiento de peróxido de hidrógeno y luz UV. Se realizaron dos experimentos control con el fin de determinar el efecto aislado del peróxido de hidrógeno y la radiación ultravioleta; y el efecto independiente de cada uno de los tipos de radiación (UV-A, UV-B, UV-C).

Para los ensayos de ozonización, se utilizó las condiciones óptimas obtenidas para realizar la experimentación en agua simulada. Se utilizó como matriz una solución de Metomilo a 10ppm (mg/L), en presencia de aniones: 60 ppm de Cloruros, 5 ppm de Nitratos, 20 ppm de Carbonatos, en agua simulada. Finalmente se utilizó como matriz, una solución de Metomilo a 10ppm (mg/L) en agua real proveniente de los drenes de agricultura del Sector de Uraca-Corire. Evaluando la degradación de metomilo por cromatografía líquida acoplada a un detector de masas (LC-MS/MS).

### **1.6. Análisis cromatográfico del metomilo**

Los análisis de residuos de plaguicidas se realizaron a través de Cromatografía Líquida y Cromatografía Gaseosa cada uno acoplado a un detector de Masas Triple Cuádruplo (GC - MS/MS y LC - MS/MS). En diferentes intervalos de tiempo se extrajeron muestras para la cuantificación del metomilo residual, posteriormente se envió las muestras al laboratorio AGQ PERÚ SAC, con acreditación estándar ISO/IEC 17025:2005. El metomilo se analiza por la técnica de cromatografía líquida. La determinación de residuos de plaguicidas se basa en una extracción haciendo uso de la metodología QuEChERS<sup>10</sup>. Este método combina dos etapas, una de extracción de la muestra con acetonitrilo y diferentes sales. La columna utilizada es Columna C18 de 100 mm x 2'1 mm x 1'8 μm, las fases móviles están compuestas por Fase A: Agua (0.05% ácido fórmico + 2 molar formiato amónico) Fase B: Metanol (0.05% ácido fórmico); el volumen de inyección fue de 3 uL para todas las muestras analizada con un flujo de 400 uL/min. El detector usado es el EvoQ MS- Triple Cuádrupolo.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **2.1. Caracterización del agua real**

La caracterización fisicoquímica del agua real (Tabla 3), muestra que el agua del Valle de Majes se caracteriza por tener un pH entre 7.88 a 8.99 (agua alcalina), con una conductividad entre 109 a 700 uS/cm, una concentración de oxígeno disuelto entre 7.93-8.38 y una temperatura entre 18.6 – 20. Las mediciones para pH muestran que los puntos de muestreo

P-01, P-02 y P-04, no cumplen con el Estándar Nacional de calidad del agua para la categoría 3, debido a la presencia de especies carbonatadas, que elevan el pH.

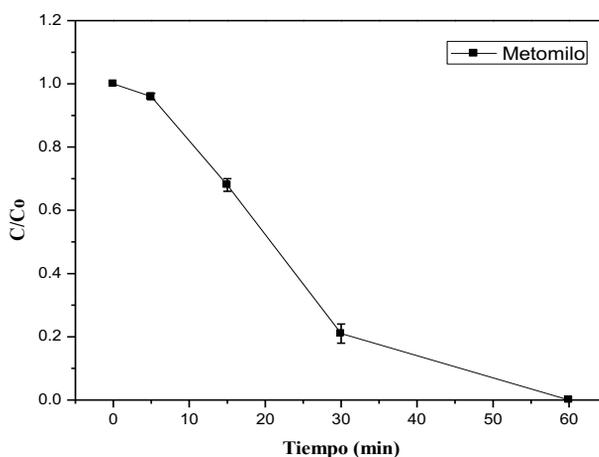
**Tabla 3.** Caracterización fisicoquímica de aguas provenientes de Uraca-Corire.

Zona	Parámetros de campo				Aniones mg/L					
	OD (mg/L)	CE (µs/cm)	pH	Temp (°C)	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	Cl <sup>-</sup>	F <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>
P-01	8.36	700	8.93	19.7	37	57.0	0.59	3.2	156.9	0.80
P-02	8.34	698.5	8.99	20.0	33.5	55.8	0.34	2.6	143.8	0.58
P-03	7.93	878	8.12	19.5	9	63.5	0.25	5.3	0.56	197.3
P-04	8.06	830	8.51	19.9	18.5	63.8	0.27	4.2	185.5	0.79
P-05	8.23	1097	7.90	18.6	10	81.0	0.26	8.4	259.8	0.67

En el análisis de aniones interferentes se muestra una concentración de Carbonatos (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) entre 9-33.7 mg/L, Cloruros (Cl<sup>-</sup>) entre 5.8-81 mg/L, Fluoruros (F<sup>-</sup>) entre 0.25-0.59 mg/L, Nitratos (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) entre 2.6-8.4 mg/L, Sulfatos (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) entre 0.56-259.8 mg/L y Fosfatos (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) entre 0.58 – 197.3 mg/L, todos los valores presentan diferencias entre punto y punto de muestreo.

## 2.2. Degradación de metomilo en agua destilada proceso foto-fenton

Para determinar el tiempo de reacción óptimo, la cinética de reacción se inicia con [Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]= 2.5/10 mg/L, pH=3.6, e irradiación UV-A. Se evaluó el progreso de la degradación en tiempos de 0, 5, 15, 30 y 60 minutos para determinar la relación entre la concentración final de metomilo frente a la concentración inicial (Figura 3).

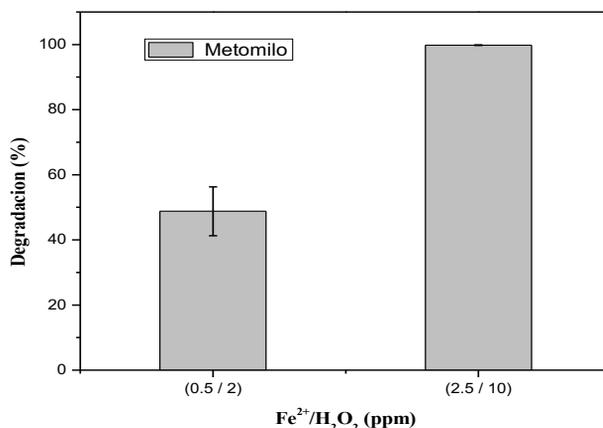
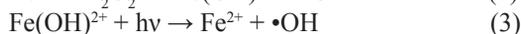
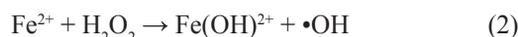


**Figura 3.** Relación de la concentración final frente a la concentración inicial de metomilo degradado por fotodegradación en el tiempo, bajo condiciones experimentales [pH = 3.6, Fe<sup>2+</sup> = 2.5 ppm, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = 10 ppm].

Se determino la relación óptima de la  $[Fe^{2+}/H_2O_2]$  a través de experimentos con las relaciones de  $[Fe^{2+}/H_2O_2]$  de (0.5/2) mg/L y (2.5/10) mg/L, en presencia de radiación UV-A y en un tiempo de 60 minutos.

La relación  $[Fe^{2+}/H_2O_2] = 2.5/10$  ha degradado casi el doble del porcentaje que la relación  $[Fe^{2+}/H_2O_2] = 0.5/2$  (Figura 4), esto a causa de la disponibilidad de concentración inicial del catalizador hierro y de peróxido de hidrógeno. Tal como lo demuestra Tolba *et al.*, 2019<sup>11</sup>, la ausencia de peróxido de hidrógeno retrasa la reacción alcanzando solo un 37.5% de degradación; en cuanto se aumenta las dosis de 1 mg/L a 1.5 mg/L a 2 mg/L la eficiencia incrementa directamente, sin embargo, se confirmó que la dosis 2 mg/L, es un excedente que no mejoro la eficacia del proceso.

Por ello, una relación estequiométrica directa entre la concentración inicial de metomilo y la de  $H_2O_2$  tal como se desarrolla en la presente investigación, ha efectuado una degradación eficiente del metomilo, sin tener la necesidad de incrementar la concentración de peróxido de hidrógeno. En tanto la fotoreducción del  $Fe^{3+}$  y la formación de radical  $\bullet OH$  se da con la irradiación de luz, acelerando el proceso como muestra la ecuación 2 y 3<sup>12</sup>.



**Figura 4.** Determinación de la relación de  $Fe^{2+}/H_2O_2$  Óptima para la degradación de metomilo, bajo condiciones experimentales [pH = 3.6,  $H_2O_2 = 10$  ppm, t=60 min].

En la determinación del pH optimo, se evaluó la degradación de metomilo en medio ácido y neutro, durante un tiempo óptimo de 60 minutos, con la relación de  $[Fe^{2+}/H_2O_2]=2.5/10$  mg/L y en presencia de radiación UV-A.

Buitrago et al., 2000<sup>13</sup> reporta que el proceso foto-Fenton trabaja mejor a pH ácido, ya que bajo estas condiciones se generan acuacomplejos férricos altamente fotoactivos bajo radiación UV-A, siendo esta una variable significativa para el proceso, verificado en la presente investigación (Figura 5), en la que se utilizó un pH de 3.6 y obtuvo una degradación del 100%, demostrando que este pH puede ser el óptimo para la degradación de metomilo bajo estas condiciones experimentales. En tanto se ha demostrado en los resultados que a pH 7, solo se pudo degradar un 3.68% de metomilo, esto se debe a que se forman óxidos de hierro que no son fotoactivos<sup>14</sup>.

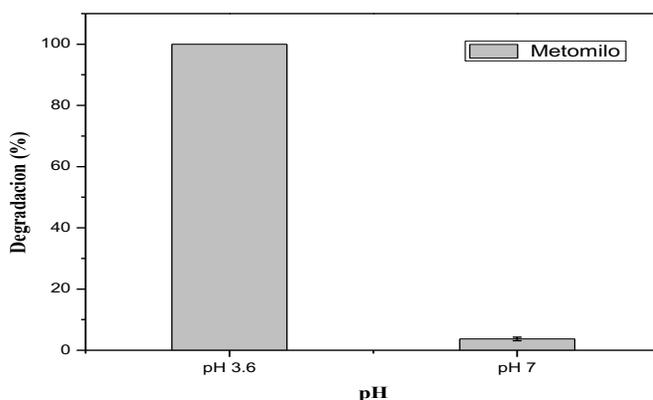


Figura 5. Determinación del pH óptimo para la degradación de metomilo.

### Proceso $H_2O_2/UV$

El tiempo de irradiación óptimo se determinó mediante el registro de la degradación de metomilo bajo irradiación UV-C, usando una solución de  $H_2O_2$  10 mg/L (Figura 6). Los resultados obtenidos revelan una rápida degradación del insecticida luego de 4 minutos de radiación.

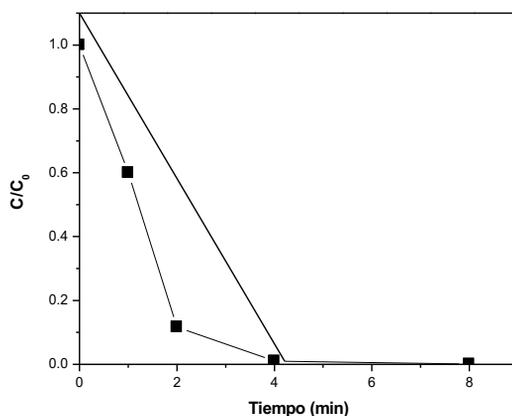
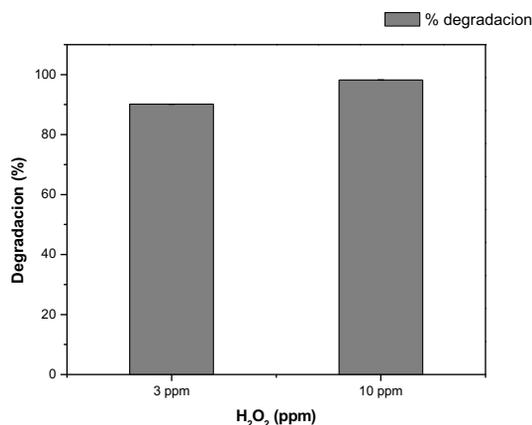


Figura 6. Gráfico C/C<sub>0</sub> de metomilo vs tiempo en el último experimento de tiempo para la determinación del tiempo de irradiación.

Los resultados de la determinación de la concentración de peróxido de hidrógeno, donde se consideraron las concentraciones de 3 mg/L y 10 mg/L (Tabla 4) revelan que a mayor concentración de  $H_2O_2$ , mayor degradación del ingrediente activo. Para este montaje experimental, la concentración de  $H_2O_2$  que logro mayor degradación fue de mg/L. Es posible lograr una mayor degradación a mayores concentraciones de  $H_2O_2$ , sin embargo, es importante considerar el incremento de costos, así como los efectos ambientales probables.

**Tabla 4.** Resultados del experimento para la determinación de la concentración de peróxido de hidrógeno.

$H_2O_2$	Tiempo (min)	Concentración de metomilo residual (mg/L)	Degradación
3 ppm	5	0.3	90.99%
10 ppm	5	0.06	98.20%

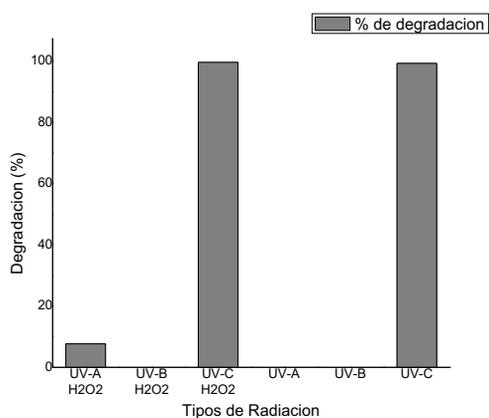


**Figura 7.** Comparación de la degradación de metomilo con dos diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno.

Sobre la influencia del tipo de radiación ultravioleta dentro del proceso  $H_2O_2$ /UV, se realizaron experimentos con tres tipos de radiación ultravioleta UV-A, UV-B y UV-C (Tabla 5). El experimento de control de fotólisis del metomilo bajo luz UV-A y UV-B (en ausencia de peróxido de hidrogeno) reveló una baja degradación debido a que el metomilo presenta un máximo de absorción de luz a 235 nm (luz UV-C). Mientras que bajo radiación UV-C si se observó una degradación del insecticida del 99.57% debido a procesos de fotólisis de la molécula. En presencia de peróxido de hidrogeno (10 mg/L) y radiación UV-A, se observó una leve degradación producida probablemente a una incipiente del  $H_2O_2$ , mientras que bajo UV-B no se observó mejora alguna. En condiciones de radiación con UV-C, se evidenció una rápida cinética de degradación debido al efecto de procesos altamente efectivos de fotólisis del  $H_2O_2$  y de la molécula del pesticida.

**Tabla 5.** Resultados del sexto experimento para la determinación del tipo de irradiación.

Radiación	Tiempo	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (ppm)	Metomilo (ppm)	Degradación
Sin UV	0	0	10	0.00%
UV-A	5	10	9.23	7.67%
UV-B	5	10	10	0.00%
UV-C	5	10	0.043	99.57%



**Figura 8.** Comparación de la degradación de metomilo con diferentes tipos de radiación ultravioleta vs controles sin peróxido de hidrógeno.

### Proceso de Ozonización

Se determinó la concentración de ozono alcanzando valores de 0.07 y 0.08 mg O<sub>3</sub>/L en los primeros 30 y 40 minutos respectivamente y estabilizándose en 0.1 mg O<sub>3</sub>/L luego de 50 minutos.

**Tabla 6.** Concentración de ozono en diferentes tiempos.

Tiempo (min)	Concentración (mg/L)
10	0.07
20	0.07
30	0.07
40	0.08
50	0.10

Para determinar las condiciones óptimas de pH y tiempo en la ozonización para la degradación del metomilo, a través del equipo de ozonización se generó una concentración 0.07mg/L correspondiente a un flujo de 0.5 L min<sup>-1</sup> de oxígeno. Se adicionó un experimento control, para determinar el efecto de hidrolisis sobre la degradación de metomilo en los mismos tiempos de exposición del pH 11.

La degradación de metomilo en el proceso de ozonización a pH 8, en 30 min es del 0% (Tabla 7). A pH 11 por el contrario, se observó una rápida y total degradación del contaminante luego de 10 min de tratamiento. El experimento de control a pH 11 (en ausencia de ozono) reveló que no hubo participación alguna de procesos de hidrolisis en la degradación del metomilo, demostrando que la acción generadora de radicales hidroxilos por parte del proceso de ozonización a pH alcalino fue la responsable de la desaparición del agroquímico. La degradación de metomilo a pH 11 y control del pH 11, donde el experimento control a pH 11 es la degradación de metomilo sin someter al proceso de ozonización, muestra que no se tiene ningún efecto de hidrolisis de metomilo, y que el metomilo no es inestable o fácil de ser descompuesto en esos tiempos.

Se verifico que, en pH alcalino, el proceso de ozonización del metomilo es más eficiente como se aprecia en la Tabla 7. Se muestra que en el tiempo 4 min una concentración de 6.55 mg/L de metomilo, se alcanza una degradación de 34.5%. Se obtuvo una total degradación del metomilo cuando el tiempo de ozonización se prolongó a 10 min, teniendo una concentración de 0.4 mg/L, siendo degradado el 96%. La concentración de metomilo disminuye significativamente cuando el valor de pH aumenta a 11, debido a que en este pH el ozono disuelto es descompuesto para formar radicales hidroxilos y oxida el efluente<sup>8</sup>.

Al finalizar el experimento se concluyó que la ozonización es efectiva a pH 11 y tiempo de 10 min, ya que se observa una mayor degradación considerando estas las condiciones óptimas para aplicar la degradación del metomilo, tanto en agua simulada y real.

**Tabla 7.** Degradación de metomilo a pH 8, pH 11 y control para pH 11: flujo 0.5 L/min, [O<sub>3</sub>]=0.07mg/L.

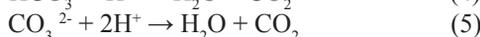
pH 8		pH 11		Control para pH 11	
Tiempo (min)	% Degradación	Tiempo (min)	% Degradación	Tiempo (min)	% Degradación
0	0	0	0	0	0
5	0	2	0	2	0
10	0	4	34.5	4	0
15	0	8	72.2	8	0
30	0	10	96.0	10	0

### 2.3. Degradación de metomilo en Agua Simulada

#### Proceso foto-Fenton

Para determinar el efecto de los iones en la degradación del metomilo, se usaron las condiciones óptimas de 3.6 de pH, así como 2.5 y 10 mg/L de Fe/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y tiempo de 60 minutos, obtenidas en el experimento realizado en agua destilada, por esta razón no se realizaron repeticiones con diferentes condiciones.

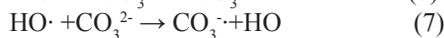
Para definir la acción de los aniones en la degradación de metomilo, se realizaron experimentos con el promedio de las concentraciones encontradas en el análisis de aguas provenientes de los drenes, considerando, Fluoruro [F<sup>-</sup>]= 0.30 mg/L, Nitrato [NO<sub>3</sub><sup>-</sup>]= 5 mg/L y Carbonato [CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>]= 20 mg/L, obteniendo los resultados de la degradación de metomilo (Tabla 8) en presencia de iones interferentes, indicando la concentración restante de metomilo y su porcentaje de degradación, durante el tiempo de 60 minutos, expuestos a radiación UV-A. Los resultados evidenciaron una reducción de metomilo cercana al 23.14% luego de 60 min de irradiación bajo concentraciones de ion ferroso y peróxido de hidrogeno de 2.5 y 10 mg/L. Tal como lo demuestra Andreozzi et al 1999<sup>15</sup> al considerar que las especies inorgánicas disueltas de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> y CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, aumentan la alcalinidad del agua:



Este fenómeno se debe a la sobresaturación del agua con iones carbonatos igual a 20 mg/L. Así mismo, Wang et al., 2019<sup>16</sup> determinó que el aumento del pH generó la precipitación del catalizador de hierro a hidróxido de hierro, limitando la reacción por la menor actividad, siendo este el caso que se presenta en la experimentación en agua simulada. Debido a que el agua de los drenes que se utilizó para la realización de estos experimentos contiene una concentración de aniones bicarbonato de aproximadamente 37 mg/L, se decidió realizar estos experimentos. Así mismo, algunas investigaciones<sup>17,18</sup> reportan que, en aguas con contenidos importantes de bicarbonato (>100 mg/L), este anión reacciona con radicales OH generando un radical menos oxidante (radical bicarbonato) pero igualmente capaz de participar en reacciones de oxidación. De esta manera, pudo confirmarse que a concentraciones inferiores de 100 mg/L de bicarbonato, este participa más como un secuestrador de radicales OH. La concentración generada de radical bicarbonato no es suficiente para generar un efecto positivo en la degradación.

Por otro lado, Devi et al., 2010<sup>19</sup> evaluó la interferencia de los aniones, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaCl, KNO<sub>3</sub> para determinar el comportamiento del peróxido de hidrógeno para generar radicales •OH, estableciendo que los aniones carbonato, bicarbonato y nitrate no tienden a formar complejos con el hierro, he ahí la influencia de estos aniones en la baja cinética de degradación, inclusive a mayores concentraciones, por lo que los iones CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> compiten por radicales hidroxilo junto con moléculas del sustrato orgánico a degradar.

Como se muestra en las siguientes reacciones, los aniones carbonato y bicarbonato actúan como secuestradores de radicales hidroxilo generando radicales carbonato con un potencial de oxidación menor<sup>15</sup>.



**Tabla 8.** Resultados de la degradación del metomilo en presencia de iones interferentes (carbonato (CO<sub>3</sub><sup>=</sup>), fluoruro (F<sup>-</sup>) y nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)).

pH 8		pH 11		Control para pH 11	
Tiempo (min)	% Degradación	Tiempo (min)	% Degradación	Tiempo (min)	% Degradación
0	0	0	0	0	0
5	0	2	0	2	0
10	0	4	34.5	4	0
15	0	8	72.2	8	0
30	0	10	96.0	10	0

### Proceso H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV

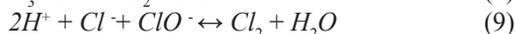
Los resultados de la aplicación del proceso H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV-C en agua simulada (Tabla 9) muestran que al cabo de un tiempo de irradiación de 5 minutos con una concentración de peróxido de hidrógeno de 10 mg/L, la concentración de metomilo se redujo en un 98,99%. De este modo, la degradación en agua simulada ocurre a pesar de tener la presencia de los iones carbonato, nitrato y cloruro que podrían haber causado interferencia en el proceso de degradación del metomilo. Como se demostró anteriormente, el metomilo sufre principalmente reacciones de fotólisis bajo irradiación UV-C en ausencia o presencia de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, de esta manera los iones podrían afectar poco su degradación.

**Tabla 9.** Resultados de la degradación de metomilo en agua simulada.

Tiempo (min)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (ppm)	Metomilo (ppm)	Degradación
0	10	20.67	0.00%
5	10	0.22	98.99%

### Proceso Ozonización

El resultado de la degradación de metomilo por el proceso de ozonización (Tabla 10) con las condiciones óptimas: concentración de ozono 0.07mg/L, pH 11 y tiempo de contacto de 10min, no muestra una degradación de metomilo en las condiciones óptimas, ya que esta agua simulada contiene aniones interferentes nitratos (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), carbonatos (CO<sub>3</sub><sup>=</sup>) y cloruros (Cl<sup>-</sup>), lo cual afecta en el proceso de ozonización. La existencia de cloruros conduce a un significativo retraso en la ozonización en pH ácidos (menores a 4), el cloro reacciona con el ozono en condiciones acidas como se muestra en las ecuaciones 8 y 9<sup>20</sup>.



Por lo tanto, a pH ácido, los iones cloruros pueden competir eficazmente con el ozono generando especies menos oxidantes<sup>20</sup>. Por otro lado, a un pH de 7 a más, es decir a pH alcalinos, baja la concentración de protones desactivando las reacciones anteriores y reduciendo la competencia del cloro con el ozono<sup>20</sup>. Entonces podemos asegurar que, a pH alcalino, la reacción del cloro con el ozono no interfiere en el proceso de ozonización.

También se puede evidenciar la existencia de carbonatos, lo cual afecta el proceso. Los iones carbonatos o bicarbonatos a valores de pH alcalinos son conocidos por su capacidad de secuestrar radicales •OH en el proceso ozonización reduciendo su eficiencia<sup>15,20</sup>.

**Tabla 10.** Tratamiento por Ozonización en Agua Simulada: pH 11, tiempo de 10min, flujo 0.5 L/min, [O<sub>3</sub>]=0.07mg/L.

Tiempo (min)	Concentración (mg/L)	% Degradación
0	10	0
10	10	0

## 2.4. Degradación de metomilo en Agua Real

### Proceso fotofenton

La muestra de agua obtenida en el dren del P-05, colector final, en el sector agrícola de Uraca-Corire (ARB1-Agua Real Bruta 1), no se encontró presencia de metomilo (< 0.01 mg/L, límite de detección de técnica cromatografía líquida MS/MS). Para poder realizar una determinación adecuada de metomilo en aguas reales, se dopó la muestra con una concentración inicial de 10 mg/L. La degradación de metomilo en la matriz de agua real simulado la presencia del ingrediente activo, mediante el proceso foto-Fenton, fue de 94.12 % bajo un pH de 3.6. La concentración final alcanzada es de 0.59 ± 0,13 mg/L de Metomilo residual.

### Proceso H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV

Bajo irradiación UV-C y presencia de 10 mg/L de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se observó una degradación del 99.38% de metomilo luego de 5 minutos de experimento (tabla 11), evidenciado que, a pesar de las condiciones complejas de la matriz, el proceso de degradación H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV es una tecnología efectiva para la degradación del contaminante. Probablemente la presencia de especies inorgánicas u orgánicas en estas aguas reales no absorben luz a longitudes de onda cercanas al máximo de absorción del pesticida (235 nm) evitando que se genere un efecto protector que evite la fotólisis de la molécula.

**Tabla 11.** Resultados de la degradación de metomilo en agua real.

TIEMPO	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (ppm)	METOMILO (ppm)	DEGRADACIÓN
0	10	27.33	0.00%
5	10	0.17	99.38%

### Proceso Ozonización

La degradación de metomilo en agua real por el proceso de ozonización con las condiciones óptimas: concentración de ozono 0.07 mgL<sup>-1</sup>, pH modificado 11 y tiempo de contacto de 10 min alcanzo una concentración de metomilo de 6 mgL<sup>-1</sup>, teniendo un 40% de degradación

en condiciones óptimas. En este tipo de agua no se alcanzó una mayor degradación por la presencia de carbonatos, que secuestra los radicales  $\bullet\text{OH}$  reduciendo la eficiencia del proceso de ozonización. Sin embargo, conociendo el complejo del agua real la degradación del metomilo se efectúa, es decir que el tratamiento mediante el proceso de ozonización en medio alcalino puede funcionar en agua reales.

**Tabla 12.** Tratamiento por Ozonización en Agua Simulada: pH 11, tiempo de 10min, flujo 0.5 L/min,  $[\text{O}_3]=0.07\text{mg/L}$ .

Tiempo (min)	mg/L	%Degradación
0	10	0
10	6	40

## CONCLUSIONES

La tasa de degradación para agua destilada fue de 100 % para el proceso Fotofenton, 99.57 % para el proceso UV-C/ $\text{H}_2\text{O}_2$  y 96 % para el proceso de ozonización. Para el agua simulada, se alcanzó una degradación máxima de 23.14 % para el proceso Fotofenton, 98.99 % para el proceso UV-C/ $\text{H}_2\text{O}_2$  y 0 % para el proceso de ozonización. Así mismo, para el agua real, se logró una degradación de 94.12 % para el proceso fotofenton, 99.38 % para el proceso UV-C/ $\text{H}_2\text{O}_2$  y 40 % para el proceso de ozonización. Los resultados reportados en este trabajo demuestran que los procesos avanzados de oxidación utilizados no fueron tan efectivos en la remoción de metomilo en aguas reales superficiales, principalmente, aquellos procesos en los que la generación de radicales hidroxilos fueron los más afectados por la presencia de la matriz de agua real. Dicha matriz evidenció la presencia de aniones bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) que pueden competir por los radicales  $\bullet\text{OH}$  fotogenerados generando un radical menos oxidante como lo es el radical carbonilo ( $\text{CO}_3\bullet$ ) afectando negativamente el proceso de degradación. Es importante considerar que en el proceso UV-C/ $\text{H}_2\text{O}_2$  también participó un rol importante los procesos vinculados a la fotólisis del metomilo. Por eso razón, la presencia de bicarbonato en el medio no mostró generar un efecto negativo en los procesos UV-C/ $\text{H}_2\text{O}_2$ . Por su parte, los procesos UV-C/ $\text{H}_2\text{O}_2$  parecieron inmunes a la presencia de matriz inorgánica u orgánica en las aguas reales. Esto se debió a que el metomilo bajo radiación UV-C mostró una fuerte reacción de fotólisis. La presencia del  $\text{H}_2\text{O}_2$  y su concomitante generación de radicales  $\bullet\text{OH}$  fotogenerados tuvo un efecto menor. De esta manera, la presencia de la matriz inorgánica que probablemente absorbe luz a longitudes de onda de mayor o menor energía que el metomilo no generó un efecto protector o de pantalla que evitara la degradación del pesticida.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa por el financiamiento brindado por fondos concursables, al cual la presente investigación ha sido seleccionada y ejecutada mediante N° de Contrato de Financiamiento IBA-0038-2017-UNSA

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Iannacone J, Alvarino L. Efecto ecotoxicológico del metomilo en *Corydoras Lacépède*, 1803 (Siluriformes: callichthyidae) y su caracterización leucocitaria. *Ecol Apl*. 2008;7(1–2):55–61.
2. Lin Z, Zhang W, Pang S, Huang Y, Mishra S, Bhatt P, Chen S. Current Approaches to and Future Perspectives on Methomyl Degradation in Contaminated Soil/Water Environments. *Molecules*. 2020;25(3):738. doi: 10.3390/molecules25030738.
3. Tomašević A, Kiss E, Petrović S, Mijin D. Study on the photocatalytic degradation of insecticide methomyl in water. *Desalination*. 2010;262(1–3):228–234.
4. Tony MA, Purcell PJ, Mansour SA. Photodegradation and Box-Behnken design optimization for methomyl using Fenton process based on synthesized CuO nanocrystals via facile wet chemical technique. *Chem Eng Commun*. 2020;208(3):349–363.
5. Tomašević A, Mijin D, Gašić S, Kiss E. The influence of polychromatic light on methomyl degradation in TiO<sub>2</sub> and ZnO aqueous suspension. *New pub Balaban*. 2014 [cited 2021 Aug 23];52(22–24):4342–4349.
6. Juang RS, Chen CH. Comparative study on photocatalytic degradation of methomyl and parathion over UV-irradiated TiO<sub>2</sub> particles in aqueous solutions. *J Taiwan Inst Chem Eng*. 2014;45(3):989–995.
7. Mierzwa JC, Rodrigues R, Teixeira ACSC. UV-Hydrogen Peroxide Processes. *Adv Oxid Process Wastewater Treat Emerg Green Chem Technol*. 2018;13–48.
8. Chang CC, Trinh C, Chiu CY, Chang CY, Chiang SW, Ji DR, et al. UV-C irradiation enhanced ozonation for the treatment of hazardous insecticide methomyl. *J Taiwan Inst Chem Eng*. 2015;49:100–104.
9. Bader H, Hoigné J. Determination of ozone in water by the indigo method. *Water Res*. 1981;15(4):449–56.
10. UNE. UNE-EN 15662:2009 Alimentos de origen vegetal. Determinación de residuos de plaguicidas utilizando GC-MS y/o LC-MS /MS seguido de extracción/división de acetonitrilo y método de purificación dispersiva SPE-QuEChERS [Internet]. Normalización Española. UNE; 2009 [citado 1 sep 2021]. Disponible en: <https://www.une.org/encuentra-tu-norma/busca-tu-norma/norma?c=N0043515>
11. Tolba A, Gar Alalm M, Elsamadony M, Mostafa A, Afify H, Dionysiou DD. Modeling and optimization of heterogeneous Fenton-like and photo-Fenton processes using reusable Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-MWCNTs. *Process Saf Environ Prot*. 2019;128:273–283.
12. Sreeja PH, Sosamony KJ. A Comparative Study of Homogeneous and Heterogeneous Photo-fenton Process for Textile Wastewater Treatment. *Procedia Technol*. 2016;24:217–223.
13. Buitrago JL, Sanabria J, Gutiérrez-Zapata HM, Urbano-Ceron FJ, García-Barco A, Osorio-Vargas P, et al. Photo-Fenton process at natural conditions of pH, iron, ions, and humic acids for degradation of diuron and amoxicillin. *Environ Sci Pollut Res*. 2019;27(2):1608–1624.
14. Vorontsov A V. Advancing Fenton and photo-Fenton water treatment through the catalyst design. *J Hazard Mater*. 2019;372:103–112.

15. Andreozzi R, Caprio V, Insola A, Marotta R. Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery. *Catal Today*. 1999;53(1):51–59.
16. Wang J, Zhang Q, Deng F, Luo X, Dionysiou DD. Rapid toxicity elimination of organic pollutants by the photocatalysis of environment-friendly and magnetically recoverable step-scheme SnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nano-heterojunctions. *Chem Eng J*. 2020;379:122264. doi: 10.1016/j.cej.2019.122264.
17. Alvear-Daza JJ, García-Barco A, Osorio-Vargas P, Gutiérrez-Zapata HM, Sanabria J, Rengifo-Herrera JA. Resistance and induction of viable but non culturable states (VBNC) during inactivation of *E. coli* and *Klebsiella pneumoniae* by addition of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to natural well water under simulated solar irradiation. *Water Res*. 2021;188:116499. doi: 10.1016/j.watres.2020.116499.
18. Gutiérrez-Zapata HM, Rojas KL, Sanabria J, Rengifo-Herrera JA. 2,4-D abatement from groundwater samples by photo-Fenton processes at circumneutral pH using naturally iron present. Effect of inorganic ions. *Environ Sci Pollut Res*. 2016;24(7):6213–6221.
19. Devi LG, Raju KSA, Kumar SG, Rajashekhar KE. Photo-degradation of di azo dye Bismarck Brown by advanced photo-Fenton process: Influence of inorganic anions and evaluation of recycling efficiency of iron powder. *J Taiwan Inst Chem Eng*. 2011;42(2):341–349.
20. Rao YF, Chu W. Degradation of linuron by UV, ozonation, and UV/O<sub>3</sub> processes—Effect of anions and reaction mechanism. *J Hazard Mater*. 2010;180(1–3):514–523.

## **EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD SINÉRGICA ENTRE QUITOSANO DE PLUMA DE POTA (*DOSIDICUS GIGAS*) Y ÁCIDO CÍTRICO EN EL PARDEAMIENTO DE LA PULPA DE CHIRIMOYA (*Annona Cherimola* MILL.)**

Freddy Quispe<sup>a</sup>, Yanina Villa<sup>a</sup>, Noemí Bravo<sup>a</sup>, Olivio Castro<sup>a</sup>, Julio Santiago<sup>a</sup>, Marco Guerrero<sup>a</sup>

### **RESUMEN**

El estudio de investigación consistió en tres etapas: primero obtener y caracterizar al quitosano extraído a partir de la pluma de pota, segundo seleccionar la variedad de chirimoya apropiada en función al rendimiento del fruto y tercero estudiar el efecto sinérgico entre el quitosano y ácido cítrico en el control del pardeamiento enzimático de la pulpa de chirimoya. En la caracterización del quitosano se obtuvo un valor de 846 kDa de peso molecular y 78,2% del grado de desacetilación. Empleando un Diseño Completamente al Azar (DCA) se evaluó tres variedades de chirimoya (Lisa, Impresa y Umbonata) seleccionando la variedad Lisa por el mayor rendimiento en pulpa; luego se empleó un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA) evaluando cuatro tratamientos (T) por triplicado en la pulpa estandarizada, el cuarto tratamiento (0,75% quitosano + 3% ácido cítrico) presentó la menor actividad de la polifenoloxidasas (70,80 unidades de PPO/min x g de muestra) y ralentizó la oxidación del contenido de polifenoles totales (28 mg de ácido gálico/100 g en peso de pulpa fresca) durante la evaluación. La proyección de vida útil en la pulpa se obtuvo empleando la ecuación de Arrhenius y la variación de color, presentando el cuarto tratamiento el mayor tiempo (254 días), evidencia de un efecto sinérgico que contribuye a retrasar el pardeamiento enzimático en la pulpa de la chirimoya.

**Palabras clave:** Quitosano; chirimoya; pulpa; pardeamiento enzimático; efecto sinérgico.

## **EVALUATION OF THE SYNERGISTIC ACTIVITY BETWEEN CHITOSAN FROM SQUID PLUME (*DOSIDICUS GIGAS*) AND CITRIC ACID IN THE BROWNING OF CUSTARD APPLE PULP (*Annona cherimola* Mill.)**

### **ABSTRACT**

The research study consisted of three stages: firstly, obtaining and characterizing the chitosan extracted from the squid plume, secondly selecting the appropriate variety of custard apple

<sup>a</sup> Facultad de Química e Ingeniería química, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Cercado de Lima 15081, Perú. freddy.quispe@unmsm.edu.pe.

based on the yield of the fruit, and thirdly, studying the synergistic effect between chitosan and citric acid on control of enzymatic browning of custard apple pulp. In the characterization of the chitosan a value of 846 kDa of molecular weight and 78.2% of the degree of deacetylation was obtained. Using a Completely Randomized Design (CRD), three cherimoya varieties (Lisa, Impresa and Umbonata) were evaluated, selecting the Lisa variety for the highest pulp yield; then a Completely Randomized Block Design (CRBD) was used evaluating four treatments (T) in triplicate in the standardized pulp, the fourth treatment (0.75% chitosan + 3% citric acid) presented the lowest polyphenoloxidase activity (70,80 PPO units/ min xg of sample) and slowed the oxidation of the total polyphenol content (28 mg of gallic acid/100 g by weight of fresh pulp) during the evaluation. The projection of useful life in the pulp was obtained using the Arrhenius equation and the color variation, with the fourth treatment presenting the longest time (254 days), evidence of a synergistic effect that contributes to delaying the enzymatic browning in the pulp of the custard apple.

**Keywords:** chitosan; cherimoya; pulp; browning; synergistic effect.

## INTRODUCCIÓN

El pardeamiento enzimático es la oxidación de compuestos fenólicos, catalizada principalmente por la enzima polifenoloxidasas (PPO), esta oxidación produce quinonas, las cuales se condensan y reaccionan rápidamente formando un conjunto de pigmentos oscuros indeseables (melaninas), causando una serie de cambios negativos en la calidad nutricional y sensorial, por ello, el pardeamiento enzimático ha sido preocupación importante en la industria y ciencia de los alimentos<sup>1</sup>.

Por otro lado, el quitosano es un producto natural, biodegradable y no tóxico, donde su principal característica es la capacidad de inducir mecanismos de resistencia en el fruto modificado, además se están realizando evaluaciones del efecto sinérgico entre el quitosano y otros productos de origen natural como posibles alternativas de control a los problemas de postcosecha y frutas procesadas<sup>2</sup>.

La chirimoya cultivada en Perú posee una alta aceptación en el mercado nacional e internacional debido a sus atributos sensoriales (sabor, textura, aroma, entre otros), sin embargo, el principal problema es el pardeamiento de la pulpa causado por la enzima polifenoloxidasas, que en la chirimoya, perteneciente al género *Annona*, solo se puede evitar con productos químicos, pues utilizar altas temperaturas provoca el desarrollo de sabores extraños, limitando la producción y posterior comercialización, por esta razón es considerado un cultivo de subsistencia a causa del bajo acceso a tecnología adecuada<sup>3</sup>, por consiguiente, se busca alternativas de conservación, con el fin de desarrollar tecnologías simples y económicas que retrasen los procesos de deterioro y mantengan la calidad e inocuidad microbiológica de los productos.

La industrialización de la pulpa de chirimoya logrará abrir nuevos mercados, tales como empresas de helados, pastelerías, entre otros, incrementando la demanda de este producto,

reduciendo las pérdidas causadas por el deterioro de la fruta durante la manipulación y el transporte, asimismo al producir pulpa de chirimoya se obtiene un producto con valor agregado, por tanto, una alternativa de solución al problema socioeconómico presente en las zonas rurales productoras de este fruto.

El presente trabajo de investigación radica en buscar nuevas alternativas para la conservación de la pulpa de chirimoya evaluando su potencial efecto sinérgico entre el quitosano (CS) y el ácido cítrico (AC), con la finalidad de ampliar la vida útil durante su almacenamiento en congelación, manteniendo las propiedades fisicoquímicas propias de la chirimoya fresca y a su vez conservar sus características sensoriales.

## **PARTE EXPERIMENTAL**

El desarrollo del procedimiento experimental se llevó a cabo en el “Laboratorio de Investigación y Desarrollo de Química Orgánica” y el “Laboratorio de Síntesis Orgánica” del departamento de Química Orgánica correspondiente a la Facultad de Química e Ingeniería Química de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

### **Materia prima e insumos**

Chirimoya procedente del pueblo anexo La Merced de Chaute, distrito de San Bartolomé, provincia de Huarochirí, región Lima, ubicada a 2491 msnm.

Quitosano obtenido de la quitina extraída a partir del residuo pluma de pota recolectada en el Terminal Pesquero del distrito de Ventanilla (Callao - Perú).

Ácido cítrico (E330) - Procedente de la empresa peruana Marva S.A.C.

### **Procedimiento experimental**

El presente trabajo de investigación comprende dos etapas:

Obtención del quitosano a partir de la pluma de pota (Figura 1). La pluma de pota recepcionada pasó por el proceso de lavado, picado, desproteización utilizando NaOH 10%, luego fue lavado consecutivamente hasta llegar a pH neutro para volver a ser atacado por NaOH 50% hasta lograr su desacetilación parcial del biopolímero, se lavó consecutivamente hasta llegar a pH neutro, finalmente fue llevado a estufa hasta su secado, siendo almacenado en un envase de vidrio.

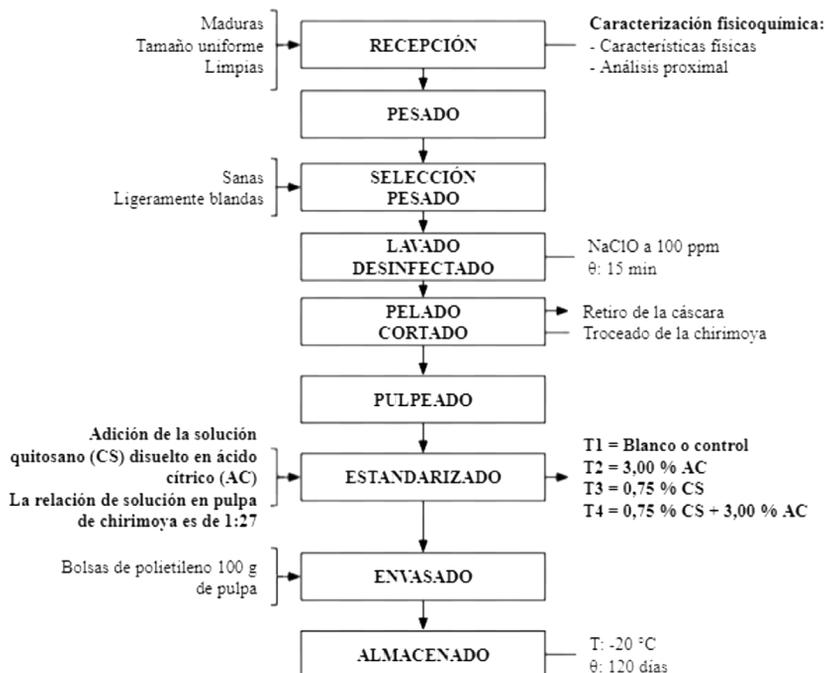


**Figura 1.** Proceso de extracción y obtención del quitosano a partir de la pluma de pota.

La obtención de la pulpa de chirimoya (Figura 2). Las chirimoyas se recibieron en el laboratorio, donde se seleccionaron las frutas maduras, sanas y de tamaño uniformes, luego se lavaron y desinfectaron, posteriormente se realizó el pelado, pulpeado y estandarizado con los diferentes tratamientos de quitosano y ácido cítrico. Las soluciones formadas fueron agitadas durante a 800 rpm, 70°C durante 4 h. Se formaron 4 soluciones:

- Tratamiento control o blanco (T1): Agua destilada
- Tratamiento 2 (T2): Solución de ácido cítrico al 3%
- Tratamiento 3 (T3): Solución de quitosano al 0,75%
- Tratamiento 4 (T4): Solución de quitosano al 0,75% y ácido cítrico al 3%

Las diferentes soluciones se añadieron a la pulpa de chirimoya en relación de 1/27 respectivamente. Las muestras de pulpas estandarizadas se envasaron y almacenaron en congelación hasta su posterior análisis.



**Figura 2.** Flujograma para la obtención, envasado y almacenamiento de la pulpa de chirimoya.

### Caracterización del quitosano obtenido

**Humedad.** Se colocaron 1,5 g de quitosano en estufa durante 48 h a 70 °C hasta obtener un peso constante. El porcentaje de humedad se obtiene a partir de la siguiente ecuación 1:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso muestra de quitosano}} \times 100\% \dots \dots \dots (1)$$

**Cenizas.** Se llevó a mufla 1,5 g de quitosano durante 8 h a 500 °C, luego se dejó enfriar en un desecador hasta llegar a temperatura ambiente. El porcentaje de cenizas se obtuvo a partir de la siguiente ecuación 2:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{\text{Peso del crisol} + \text{cenizas} - \text{Peso del crisol vacío}}{\text{Peso de la muestra seca}} \times 100\% \dots \dots \dots (2)$$

**Grado de desacetilación.** Se mezclaron 2 mg de quitosano con 98 mg de KBr, colocando la mezcla en el pastillador durante 30 min, por último, se colocó la pastilla formada en el equipo IR, mediante el software del equipo se obtuvo el espectro de la muestra, reportando las absorbancias para la frecuencia de 1320 cm<sup>-1</sup> y 1420 cm<sup>-1</sup>. El grado de desacetilación se calculó aplicando la siguiente ecuación 3:

$$\% \text{GD} = 87,8 - 31,92 \frac{A_{1320}}{A_{1420}} \dots\dots\dots (3)$$

Peso molecular. Mediante la ecuación 4 de Mark-Houwink se determinó el peso molecular del quitosano<sup>4</sup>.

$$[\eta] = K(\bar{M})^\alpha \dots\dots\dots (4)$$

Donde:

$\eta$ : Viscosidad intrínseca (ml/g).

$K, \alpha$ : Constantes que varían según el grado de desacetilación del polímero.

$M$ : Peso molecular (KDa).

Empleando las ecuaciones 5 y 6 se halló los valores de las constantes  $K$  y  $\alpha$  en función del porcentaje del grado de desacetilación<sup>4</sup>.

$$k = 1,64 \times 10^{-30} \times (\% \text{GD})^{14} \dots\dots\dots (5)$$

$$\alpha = 1,82 - 1,02 \times 10^{-2} \times (\% \text{GD}) \dots\dots\dots (6)$$

### Selección de la variedad de chirimoya

Rendimiento del fruto. Con el fin de determinar la proporción de cáscara, semillas y pulpa se separó las tres partes mencionadas para ser pesadas en una balanza de mesa, obteniendo el porcentaje de pepa, cáscara y pulpa para cada variedad.

### Estudio de la actividad sinérgica

Contenido de polifenoles totales. El contenido total de polifenoles se determinó aplicando el método de Folin Ciocalteu basado en la descripción de García *et al.*<sup>5</sup> con algunas modificaciones. Se pesó 2,5 g de pulpa de chirimoya y se añadió 5 ml de etanol puro, homogeneizando el contenido mediante agitación constante durante 2 min, luego se filtró el contenido con tela de organza recuperando el líquido sobrenadante, el cual contiene los compuestos polifenólicos presentes en la pulpa de chirimoya. En cada vial se añadió 3,9 ml de agua destilada, agregando 50  $\mu\text{L}$  de la extracción de los compuestos polifenólicos o de cada disolución patrón de ácido gálico, en seguida, se añadió 250  $\mu\text{L}$  del reactivo Folin Ciocalteu, dejando reposar todo el contenido durante 8 min en oscuridad. Transcurrido el tiempo, se le adicionó 750  $\mu\text{L}$  una solución de  $\text{Na}_2 \text{CO}_3$  al 7,5%, dejándolo reposar durante 2,5 h a temperatura ambiente y en oscuridad. Finalmente, la lectura del contenido total de polifenoles se cuantificó midiendo su absorbancia a una longitud de onda de 765 nm.

Actividad de la Polifenoloxidasa. Se utilizó el método espectrofotométrico, pesando 2,5 g de pulpa y homogeneizando con 10 ml de buffer McIlvaine ( $\text{pH}$  7,0) durante 30 s, luego se filtró desechando el residuo sólido, finalmente la solución filtrada se centrifugó a 2000 rpm durante 10 min, siendo el líquido sobrenadante el extracto que contiene la enzima polifenoloxidasa.

Se utilizó como sustrato al pirocatecol, en una cubeta se añadió 2,5 ml de pirocatecol a 0,01 M y 100 µL del extracto enzimático, como blanco se tomó 2,5 ml de pirocatecol y 100 µL del buffer McIlvaine (pH 7,0). Se realizaron lecturas de absorbancia a 400 nm cada 10 s durante 2 min en un espectrofotómetro UV - Vis. Una unidad de la enzima polifenoloxidasas, se define como la cantidad de extracto enzimático que causa un aumento en la absorbancia de 0,001 unidades por minuto.

Variación del color. La variación del color ( $\Delta E$ ) producido en la pulpa de chirimoya durante los 120 días de almacenamiento se registró utilizando el sistema CIE-Lab, donde se midió los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ . El parámetro  $L^*$  nos muestra valores de luminosidad u oscuridad, mientras que el parámetro  $a^*$  nos indica la variación del color rojo - verde, siendo positivo (+a) para el color rojo y negativo (-a) el color verde, mientras que los valores del parámetro  $b^*$  nos explica la variación del color amarillo - azul, donde valores positivos (+b) indica el color amarillo y valores negativos el color azul<sup>6</sup>. La variación del color ( $\Delta E$ ) se obtuvo luego de aplicar la ecuación 7, especificada en la norma europea EN 12878:

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}} \dots\dots\dots (7)$$

**Análisis de la información**

Durante el proceso de evaluación de la actividad sinérgica se recopilaron cada uno de los datos por triplicado, los cuales fueron mostrados como el promedio ± la desviación estándar empleando Hoja de Cálculo de Google Drive. Para el tratamiento estadístico en la selección de la variedad de chirimoya se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), en tanto para la evaluación de la actividad sinérgica presente en la pulpa de chirimoya, el Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA) con un arreglo factorial 2x2, cuyos datos fueron analizados mediante el software estadístico InfoStat versión 2019 realizando el análisis de varianza de los factores (ANOVA) con un nivel de significancia de 0,05 aplicando la prueba de comparaciones múltiples de Tukey para determinar si existe diferencia significativa entre los tratamientos evaluados.

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

**Caracterización del quitosano**

Debido a la importancia de los grupos aminos presente en la estructura química del quitosano, se realizó la caracterización de este biopolímero tomando en cuenta su porcentaje de humedad, contenido de cenizas, peso molecular y el grado de desacetilación, dichos resultados se detallan en la Tabla 1.

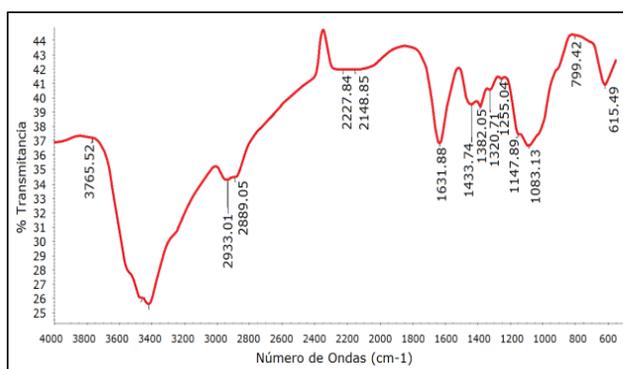
**Tabla 1.** Caracterización del quitosano.

<b>Humedad (%)</b>	<b>Cenizas (%)</b>	<b>Peso molecular (KDa)</b>	<b>Grado de desacetilación (%)</b>
10,52	0,35	846	78,2

Experimentalmente se determinó un valor de 0,35% de cenizas para el quitosano extraído de la quitina presente en la pluma de pota (*Dosidicus gigas*), siendo este un resultado muy bajo a comparación de los reportados por otros autores en la caracterización del quitosano proveniente de distintas fuentes de materia prima. Posiblemente, el bajo contenido de cenizas, se deba a las características y cualidades que presenta la quitina obtenida a partir del cartílago (pluma) del calamar gigante o pota, cuya fuente carece de material calcáreo y se ubica en el interior del cefalópodo, por lo que, no se lleva a cabo una bioacumulación directa de metales inorgánicos como el plomo (Pb), mercurio (Hg), arsénico (As), cadmio (Cd), cromo (Cr), Zinc (Zn) y Níquel (Ni) a diferencia de la quitina que se encuentra en el exoesqueleto de moluscos y crustáceos, donde la exposición con estos metales pesados, producto de la contaminación del mar peruano, ocurre de forma directa logrando obtener porcentajes de cenizas elevadas (>1 %), generando un gran impacto a la salud debido a su alta toxicidad de estos materiales inorgánicos<sup>4,7</sup>.

El contenido de humedad determinado fue de 10,52 %, cuyo valor es menor comparado con el 14 % de humedad que reportaron para el quitosano extraído a partir de la quitina de camarón<sup>8</sup>. Los diferentes contenidos de humedad que presentan los compuestos de quitosano se generan, principalmente, por las distintas fuentes de materias primas de obtención, además de los procesos físicos o de reacción bruscos al cual se somete la quitina durante el proceso de desacetilación, disminuyendo su contenido de agua, obteniendo polímeros con diferentes propiedades y características<sup>9</sup>.

El espectro infrarrojo (IR) obtenido para la muestra de quitosano se detalla en la Figura 3, cuyas bandas de absorción se obtuvieron luego de la interacción entre la energía producida por el espectro infrarrojo y la muestra de quitosano, estas fueron de 3414, 2889, 1433, 1632, 1382, 1321, 1255 y 1083  $\text{cm}^{-1}$ .



**Figura 3.** Espectro infrarrojo (IR) de la muestra de quitosano.

El pico formado alrededor de 1321 y 1433  $\text{cm}^{-1}$  se le atribuye a la vibración de flexión del enlace C - N presente en el grupo amida y amina respectivamente, las cuales son utilizadas como bandas de medición logrando determinar el porcentaje del grado de desacetilación debido a la posibilidad de hallar la relación que existe entre la cantidad de N-glucosamina y N-acetilglucosamina en el quitosano<sup>4</sup>. Aplicando la espectroscopía FTIR, el grado de desacetilación para el quitosano obtenido a partir de la pluma de pota fue de 78,2%, cuyo valor se encuentra por debajo de 85,47% del GD reportado por Moreno *et al.*<sup>10</sup>, a pesar que el quitosano proviene de la misma fuente de obtención (pluma de pota). Probablemente, esta diferencia de valores, comparando con nuestros resultados, se deba al cálculo de las áreas debajo de las bandas de absorción en 1321 y 1433  $\text{cm}^{-1}$ , las cuales se tomaron como referencia siguiendo la metodología propuesta por Castro<sup>4</sup>.

La obtención del grado de desacetilación es una propiedad determinante en la clasificación del polímero como quitina o quitosano, siendo considerado como quitina si presenta un valor menor del 50 % del grado de desacetilación<sup>4</sup>. Por los resultados obtenidos (78,2% del GD) y los grupos funcionales reconocidos en el espectro IR, se puede afirmar que el biopolímero obtenido a partir de la pluma de pota es clasificado como quitosano.

Otras de las evaluaciones muy recurrentes en la caracterización del quitosano es la determinación de su peso molecular, experimentalmente se obtuvo un peso molecular de 846 KDa, este resultado es menor comparado a lo obtenido por Moreno *et al.*<sup>10</sup>, quienes determinaron un peso molecular de 1055 KDa del quitosano proveniente de la misma materia prima.

### Selección de la variedad de chirimoya

En la Tabla 2 se indican los rendimientos (en porcentaje) para las diferentes variedades de la chirimoya. Siendo la variedad Lisa, la de menor rendimiento en cáscara (26,31%) y pepa (3,10%) a diferencia de las otras dos variedades (Impresa y Umbonata). Sin embargo, el rendimiento en pulpa de la variedad Lisa fue de 70,07%, resultado mayor a comparación de la variedad Impresa (63,74%) y Umbonata (66,37%).

**Tabla 2.** Valores promedio del rendimiento de cáscara, pepa y pulpa para las tres variedades de chirimoya.

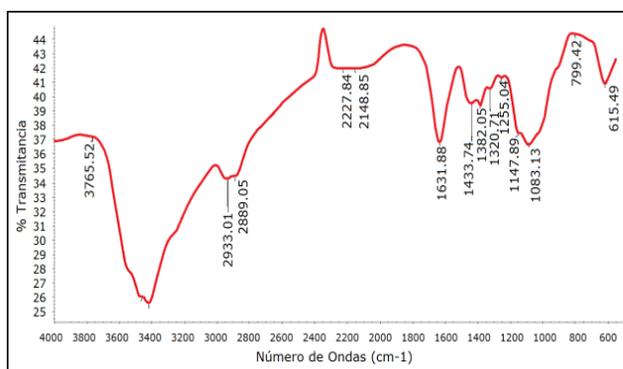
Variedad	Rendimiento de cáscara (%)	Rendimiento de pepa (%)	Rendimiento de pulpa (%)
Lisa	26,31 <sup>A</sup> ± 1,33	3,10 <sup>A</sup> ± 0,22	70,07 <sup>A</sup> ± 2,01
Impresa	28,65 <sup>B</sup> ± 0,77	7,16 <sup>C</sup> ± 0,41	63,74 <sup>B</sup> ± 2,96
Umbonata	29,23 <sup>B</sup> ± 1,34	6,26 <sup>B</sup> ± 0,49	66,37 <sup>AB</sup> ± 2,23

Nota. Los valores luego del signo  $\pm$  indican la desviación estándar. Las letras A, B o AB, situadas como superíndice en las medias, son una simbología práctica, donde la letra común no es significativamente diferente.

De los diferentes análisis estadísticos, se deduce que la chirimoya variedad Lisa es apropiada para procesar a nivel industrial, esto debido a los resultados en rendimiento de cáscara, pepa y pulpa, evidenciando el mayor aprovechamiento de la fruta a comparación de las otras dos variedades.

### Estudio de la actividad sinérgica entre quitosano y ácido cítrico en la pulpa de chirimoya

Con la finalidad de observar una posible acción sinérgica del quitosano junto al ácido cítrico para controlar el pardeamiento enzimático en la pulpa de chirimoya, se evaluó la variación de los compuestos fenólicos durante 120 días de almacenamiento a  $-20^{\circ}\text{C}$ , permitiendo estudiar la posible interdependencia entre el contenido de polifenoles totales y el desarrollo de este fenómeno enzimático. La Figura 4 muestra la variación en contenido de polifenoles totales para cada tratamiento estudiado, los resultados se expresan en mg de ácido gálico/100g de pulpa de chirimoya.



**Figura 4.** Variación del contenido de polifenoles totales con respecto a los días de almacenamiento de la pulpa de chirimoya.

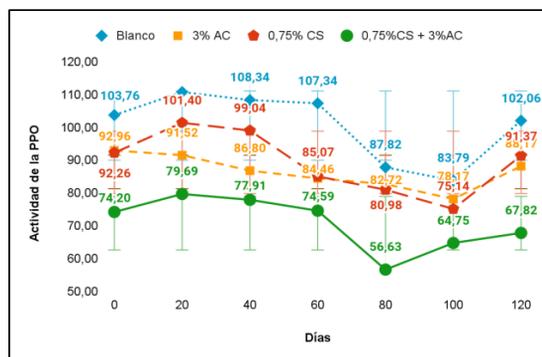
Durante los 120 días de evaluación, los cuatro tratamientos mostraron una caída de los compuestos polifenólicos, esto probablemente se deba a la degradación oxidativa que sufre estos compuestos al reaccionar con la enzima polifenoloxidasas en presencia del oxígeno provocando el pardeamiento enzimático en la pulpa<sup>11</sup>.

El tratamiento control o blanco (T1) presentó la mayor variación de estos compuestos, registrando una oxidación total de 49,4 mg de ácido gálico/100 g de muestra, sin embargo, el tratamiento T<sub>4</sub>, cuya solución está formada por la mezcla de quitosano y ácido cítrico, mostró un comportamiento antagónico con una disminución total de 28 mg de ácido gálico/100 g de pulpa, siendo este el tratamiento que presentó menor variación, asimismo los tratamientos T<sub>2</sub> y T<sub>3</sub> reportaron oxidaciones enzimáticas de 33,8 y 36,17 mg de ácido gálico/100 g de muestra respectivamente. La composición polifenólica que presenta la chirimoya es de gran relevancia en la comprensión de la rapidez del pardeamiento que sufre la pulpa, además en base a las investigaciones realizadas por Barea<sup>12</sup>, se afirma que la chirimoya presenta,

en su perfil polifenólico, cantidades notables de derivados del ácido hidroxicinámico (ácido cafeico, ácido ferúlico y el ácido cumárico), flavonoides y taninos, los cuales son degradados mediante oxidación enzimática produciendo compuestos muy reactivos llamadas quinonas, que al condensarse forman polímeros pardos conocidos como melaminas; por esta razón, el tratamiento control ( $T_1$ ) al no presentar algún agente antioxidante que ayude a controlar la oxidación enzimática, muestra un rápido pardeamiento debido a la alta velocidad de oxidación de los polifenoles presentes en la pulpa, caso contrario a los resultados obtenidos por los tratamientos  $T_4$  y  $T_3$ , formulados con soluciones de quitosano, debido a la capacidad antioxidante que presenta las soluciones de este biopolímero actuando como agente antioxidante secundario por su eficiencia de quelación contra iones metálicos, los cuales ralentizan el inicio de la oxidación<sup>13</sup>. La propiedad quelante, del quitosano en diferentes alimentos, se debe a la interacción entre el quitosano y iones metálicos de transición y postransición, como por ejemplo el  $\text{Cu}^{+2}$ , que forma parte del grupo prostético de la polifenoloxidasas dando inicio al pardeamiento enzimático; esta interacción se logra gracias a los grupos aminos e hidroxilos que presenta el quitosano en su estructura química, comportándose como un polielectrolito catiónico, que por debajo de un pH 6,5 presenta una alta densidad de carga formando quelatos con los iones metálicos<sup>14</sup>.

Además, un pH bajo puede retardar el crecimiento de microorganismos como las bacterias, así también, inactivar enzimas no deseables como la polifenoloxidasas, por esta razón, el ácido cítrico también mostró un efecto significativo con respecto a la variación de los polifenoles totales presentes en la pulpa de chirimoya, debido a su baja actividad por debajo de un pH 4, constituyendo una forma de control del pardeamiento enzimático<sup>15</sup>. La reducción de la actividad de la PPO provoca una disminución en las reacciones del pardeamiento enzimático, en consecuencia, la oxidación de compuestos polifenólicos a orto-quinonas se vería también reducido.

En la Figura 5 se observa las actividades de la PPO generadas por los tratamientos en estudio, donde  $T_4$  presentó la menor actividad enzimática durante toda la evaluación, seguido por los tratamientos  $T_2$  y  $T_3$ , sin embargo, el tratamiento control ( $T_1$ ) presentó la mayor actividad. Según Jiang *et al.*<sup>16</sup> afirman que una elevada actividad enzimática de la polifenoloxidasas afecta en la rapidez del pardeamiento de frutas que presentan concentraciones importantes de compuestos polifenólicos como es el caso de la chirimoya, entonces el tratamiento  $T_1$ , al poseer una elevada actividad enzimática a comparación del resto de tratamientos, presenta un rápido pardeamiento a causa de la mayor concentración de polímeros pardos producidos, este resultado se encuentra altamente relacionado con los cambios de color que se produce en la pulpa de la chirimoya y la rápida oxidación de sus polifenoles, mostrados en la Figura 4, generando indeseables cambios sensoriales y nutricionales<sup>3</sup>.



**Figura 5.** Variación de la actividad de la polifenoloxidasas con respecto a los días de almacenamiento de la pulpa de chirimoya.

La elevada actividad de la PPO, hallada experimentalmente, se puede deber al desorden celular que se genera al recibir daños mecánicos propios del pulpeado, esta explicación se ve reforzada por Morante *et al.*<sup>11</sup>, donde mencionan que los tejidos vegetales sin lesión e impacto mecánico, se encuentran en compartimentos diferentes, los sustratos polifenólicos en la vacuola y la enzima polifenoloxidasas en el cloroplasto, evitando una reacción oxidativa, sin embargo, procesamientos industriales como el triturado, cortado o pulpeado aplicados en frutas, puede generar desorganizaciones celulares de estos compartimentos, permitiendo un contacto directo entre la enzima y los mismos compuestos fenólicos.

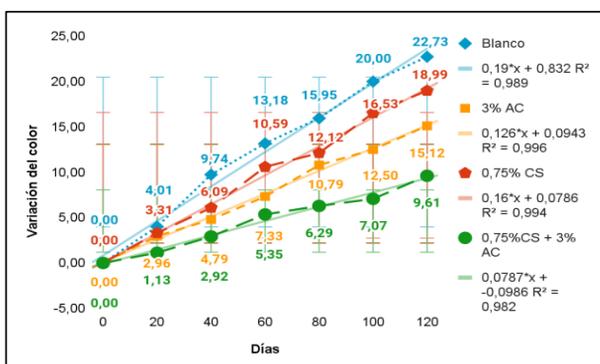
Los resultados muestran a la solución formulada por la combinación de quitosano (0,75 %) con ácido cítrico (3,0 %) como mejor tratamiento, evidenciando algún modo de interacción o entrecruzamiento entre ambos compuestos que ayudan a potencializar sus propiedades antioxidantes y quelantes obteniendo mejores resultados de inhibición y control del pardeamiento enzimático en la pulpa de chirimoya a comparación de emplear soluciones de quitosano o ácido cítrico independientemente<sup>17</sup>.

La disminución significativa en la actividad de la PPO tras aplicar una solución de ácido cítrico al 3%, tratamientos T<sub>2</sub> y T<sub>4</sub>, se puede deber a su capacidad acidulante generando ciertos cambios en el pH de la pulpa, por otro lado, Cob *et al.*<sup>18</sup> también indican el efecto que produce la variación del pH respecto a la disminución de la actividad enzimática, siendo la actividad reducida a valores de pH alrededor de 4. Respecto a la baja actividad hallada en la pulpa de chirimoya, para los tratamientos que presentan soluciones de quitosano como parte de su formulación (T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>), probablemente se explique por la interacción entre los grupos amina e hidroxilo reactivos del polímero con iones metálicos como el Cu<sup>+2</sup>, esta capacidad quelante del quitosano se ve afectada por la variación del pH modificando la densidad de carga del polímero<sup>14</sup>, en consecuencia, los tratamientos T<sub>3</sub> y T<sub>4</sub> mostraron una disminución de la actividad enzimática, esto posiblemente a los quelatos formados producto de la interacción

entre el biopolímero y el cobre. A pesar de las diversas propiedades que brinda el quitosano y el ácido cítrico en el control del pardeamiento, existen investigaciones donde se estudia un posible entrecruzamiento entre ambos compuestos, Chávez *et al.*<sup>17</sup> mencionan que esta reacción se puede dar mediante una esterificación o amidación. El entrecruzamiento por esterificación se obtiene mediante un enlace entre los grupos hidroxilos del quitosano y ácido cítrico, mientras que la reacción de amidación se logra mediante un enlace producido entre el grupo amino del quitosano con el grupo carboxílico del ácido cítrico formando un enlace amida luego de recibir calor. El tratamiento T<sub>4</sub>, cuya formulación esta compuesta por una solución de quitosano y ácido cítrico, fue agitada durante 4 h a 70°C produciendo, a esta temperatura, un entrecruzamiento entre estos dos compuestos mediante enlaces amida<sup>19</sup>.

Respecto a la cuantificación de los cambios de color ( $\Delta E$ ) producidos en la pulpa de chirimoya durante su almacenamiento, se registraron los valores para los cuatro tratamientos de estudio, donde se calculó en base a la ecuación especificada por la norma europea EN 12878 tomando en cuenta el sistema CIE-lab<sup>6</sup>.

De la Figura 6 se observa que todos los tratamientos presentaron un similar comportamiento respecto a los cambios del color producidos en la pulpa de chirimoya obteniendo rectas de pendientes positivas cuyas correlaciones lineales fueron adecuadas.



**Figura 6.** Variación de la actividad de la polifenoloxidasas con respecto a los días de almacenamiento de la pulpa de chirimoya.

El tratamiento T<sub>4</sub> presentó una correlación lineal de  $R^2 = 0,982$  obteniendo los menores cambios de color durante toda la evaluación, seguido por los tratamientos donde se involucra agentes antioxidantes de forma independiente, siendo el T<sub>3</sub> ( $R^2 = 0,994$ ) quien presentó una recta más pronunciada a comparación del T<sub>2</sub> ( $R^2 = 0,996$ ), esto nos indica que existe una mayor variación del color en la pulpa con solución de quitosano (0,75 %) en comparación a la tratada con ácido cítrico (3%), mientras el tratamiento control (T<sub>1</sub>) con un  $R^2 = 0,989$  registró el mayor cambio respecto al color inicial de la pulpa.

El tratamiento control  $T_1$  mostró la mayor diferencia total de 22,73 para el día 120, probablemente el rápido cambio de color se encuentra relacionado con la alta actividad de la polifenoloxidasas registrada para la pulpa de chirimoya que no presenta la adición de algún agente antipardeante, de forma antagónica el tratamiento cuya formulación presenta la mezcla entre la solución de quitosano y ácido cítrico ( $T_4$ ) mostró la menor variación total del color ( $\Delta E$ ), siendo esta diferencia de tan solo un 9,61 para el último día de evaluación. El efecto sinérgico entre ambos compuestos de estudio, generó una disminución en la actividad de la polifenoloxidasas, en consecuencia una lenta degradación oxidativa de los compuestos fenólicos de la fruta, esto evidenciaría un menor pardeamiento enzimático de la pulpa constatando la estrecha relación entre el cambio del color y el oscurecimiento enzimático oxidativo<sup>11</sup>, entre tanto, los tratamientos  $T_2$  y  $T_3$ , en donde se involucra la adición de soluciones independientes de ácido cítrico y quitosano respectivamente, consiguieron menores cambios del color a comparación del control ( $T_1$ ), pero mayor a la variación obtenida por el  $T_4$ , siendo esta diferencia total de 15,12 y 18,99 para la pulpa tratada con solución de ácido cítrico y quitosano respectivamente.

Ante la actual problemática sobre la oxidación enzimática de la chirimoya, causada por la polifenoloxidasas, cuando la fruta es procesada, además de los escasos trabajos de investigación realizados para contrarrestar el fenómeno de oscurecimiento en pulpa de chirimoya, se procedió a realizar un análisis de la cinética química, donde se observa estudios relacionados con la diferencia del color en diversas frutas debido a su relación con la pérdida de la calidad sensorial; la investigación realizado por Ibarz *et al.*<sup>20</sup> dejan abierta la posibilidad de aplicar la ecuación de Arrhenius en curvas o rectas que presenten un modelo cinético de primer orden u orden cero, al evaluar la rapidez del pardeamiento no enzimático a diferentes temperaturas encontraron un alto nivel de confianza (99%) con una variación lineal del color en zumos de frutas. Ante la similitud de los resultados y la elevada correlación lineal para cada una de los tratamientos, existe la probabilidad de pronosticar el tiempo de vida útil en función a los cambios de color que se produce en la pulpa durante el almacenamiento, siendo este valor un parámetro importante por ser considerado un indicador de pérdida de la calidad sensorial. La Figura 7 muestra imágenes del avance del oscurecimiento oxidativo durante las fechas de evaluación, siendo el tratamiento control el que mostró a los 100 días de almacenamiento un cambio de color ( $\Delta E = 20$ ) en el que se consideró un pardeamiento de la pulpa, perceptible por el ojo humano, con probabilidad de rechazo por parte del consumidor.

Día	Blanco	AC	CS	CS + AC
0				
20				
40				
60				
80				
100				
120				

**Figura 7.** Cambio del color producto del pardeamiento enzimático de la pulpa de chirimoya.

En base a la ecuación de Arrhenius se muestra el siguiente modelo:  $\Delta E = \Delta E^* + KT$  el cual obedece a la regla de correspondencia de la variación del color (Figura 6). Para lograr estimar la vida útil de los diferentes tratamientos se tomó, como índice final de calidad, la diferencia del color conseguido por el tratamiento control hasta el día 100 ( $\Delta E = 20$ ), este valor fue considerado como referencia debido a la evidencia del pardeamiento en la pulpa, de tal modo, el tratamiento ( $T_3$ ) obtuvo una vida útil de 125 días según el modelo cinético que lo rige ( $\Delta E = 0,16 + 0,0786T$ ), mientras el  $T_2$ , una vida útil de 158 días según la ecuación que rige ( $\Delta E = 0,126 + 0,0943T$ ), sin embargo, el tratamiento  $T_4$ , con un modelo cinético de  $\Delta E = 0,0787 + 0,0986T$ , lograría un tiempo de vida aproximado de 254 días en almacenamiento ( $-20^\circ\text{C}$ ), Concluyendo, en base a todos los resultados mostrados, que el tratamiento  $T_4$  retrasó el pardeamiento enzimático en la pulpa de chirimoya.

## CONCLUSIONES

El quitosano, extraído a partir de la pluma de pota, empleada en la presente investigación ostenta las siguientes características fisicoquímicas: 10,52% de humedad, 0,35% de cenizas, 846 kDa de peso molecular y 78,2% del grado de desacetilación.

La chirimoya de variedad Lisa es la mejor, debido a que obtuvo un 70,07%; 3,10% y 26,31% en rendimiento adecuado de pulpa, pepa y cáscara respectivamente.

El tratamiento cuatro (T<sub>4</sub>) cuya formulación presenta quitosano al 0,75% y ácido cítrico al 3% es el mejor, porque presentó la menor variación en el contenido de polifenoles totales, actividad de la enzima polifenoloxidasas y cambios de color, registrando valores de 28 mg de ácido gálico/100 g de pulpa en fresco, 70,80 Unidades de PPO/min x g de muestra y 9,61 de variación del color respectivamente. Los estudios cinéticos proyectan un tiempo de vida útil, para el tratamiento T<sub>4</sub>, hasta 254 días en almacenamiento a -20°C.

### AGRADECIMIENTOS

A nuestra alma mater, la Universidad Nacional Mayor de San Marcos “Decana de América”, por el prestigio y la calidad de enseñanza, en especial a nuestra querida E.P. de Ingeniería Agroindustrial, perteneciente a la Facultad de Química e Ingeniería Química, por ser el lugar donde recibimos los conocimientos necesarios para formarnos como profesionales. A la Química Marlene Velásquez Yucra y los profesores e investigadores Jose Francisco Román Ferreyra y José Manuel Churata Chávez, por las recomendaciones durante las evaluaciones fisicoquímicas en las pruebas preliminares, siendo de gran ayuda para la obtención de resultados correctos.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Guerrero CA. Inhibición de la actividad enzimática de la polifenoloxidasas extraída del banano (*Cavendish valery*) mediante sistemas bifásicos acuosos con isoespintanol y ácido ascórbico. [tesis de maestría]. Medellín: Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Ingeniería Agrícola y de Alimentos; 2009.
2. Bautista S, Hernández AN, Velásquez MG, Bosquez E, Sánchez D. Quitosano: una alternativa natural para reducir microorganismos postcosecha y mantener la vida de anaquel de productos hortofrutícolas. *Revista Iberoamericana De Tecnología Postcosecha*. 2015; 7 (1): 1-6.
3. Kobashigawa SS. Análisis de oportunidades comerciales en mercados exigentes de la chirimoya a partir del desarrollo de la cadena productiva en Huaura. [tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina.
4. Castro O. Investigación aplicada con quitina y quitosano. Lima, Perú: Editorial Académica Española; 2017.
5. García EM, Fernández I, Fuentes A. Determinación de polifenoles totales por el método Folin-Ciocalteu. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia, Departamento de Tecnología de Alimentos; 2015.
6. López A, Di Sarli AR. El modelo CIELab, las fórmulas de diferencia de color y el uso de la norma europea en 12878 en morteros y hormigones coloreados. *Ciencia y Tecnología de los Materiales*. 2016; (6): 41-53.

7. Reyes Y, Vergara I, Torres O, González EE. Contaminación por metales pesados: implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria. *Revista Ingeniería, Investigación y Desarrollo*. 2016; 16 (2): 66-77.
8. Martínez AG, Díaz GC, Ramírez RL. Estudio comparativo de obtención, caracterización y actividad antioxidante de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón estero y camarón de altamar. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 2019; 4: 1002-1013.
9. Espinoza EV. Propiedades físicas y biológicas de dos tipos de esponjas de quitosano, para su aplicación como biomaterial. [tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
10. Moreno E, Alfaro R, Guzmán V, Rimaycuna J, Cruz G. Efecto de la reducción del peso molecular de quitosano obtenido de plumas de pota (*Dosidicus gigas*) utilizando dos métodos de despolimerización sobre su capacidad antimicrobiana. *Revista de Investigación Científica Manglar*. 2016; 13 (1): 25-33.
11. Morante J, Agnieszka A, Bru-Martínez R, Carranza M, Pico R, Nieto E. Distribución, localización e inhibidores de las polifenoloxidasas en frutos y vegetales usados como alimento. *Ciencia y Tecnología*. 2014; 7(1): 23-31.
12. Barea M. Caracterización, capacidad antioxidante y perfil fenólico de frutas subtropicales producidas y comercializadas en la costa de Granada-Málaga [tesis postgrado]. Granada: Universidad de Granada; 2015.
13. García M. Potencialidades de la quitosana como agente antioxidante y antimicrobiano en la industria alimentaria. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 2015; 25(1): 69-76.
14. Mármol Z, Páez G, Rincón M, Araujo K, Aiello C, Chandler C, Gutiérrez E. Quitina y Quitosano polímeros amigables. Una revisión de sus aplicaciones. *Revista Tecnocientífica URU*. 2011; 1: 53-58.
15. Silveira A. Uso de aditivos y métodos físicos para mantener la calidad de los productos de IV gama o mínimamente procesados. *Agrociencia Uruguay*. 2017; 21(1): 1-6.
16. Jiang Y, Duan X, Zheng H. Browning: Enzymatic Browning. *Encyclopedia of Food and Health*. 2016: 508-514. doi:10.1016/b978-0-12-384947-2.00090-8
17. Chávez H, Acevedo S, Luzardo E, Valbuena A, Colina M. Obtención y caracterización de quitosano entrecruzado con ácido cítrico. *Revista Iberoamericana de Polímeros y Materiales*. 2018; 19 (5): 227 - 235.
18. Cob N, Tello J, Escamilla J, Vargas L, Tamayo, J. Actividad de la polifenoloxidasa en el gel de sábila (*Aloe vera* Mill). *Revista Iberoamericana de Tecnología Poscosecha*. 2010; 11 (2): 221-227.
19. Wade LG. Química orgánica. México: Pearson; 2012.
20. Ibarz A, Casero T, Miguelsanz R, Pagan J. Efecto de la temperatura en la cinética de pardeamiento no enzimático en zumos clarificados de pera con diferentes contenidos de sólidos solubles. *Agroquímica y Tecnología de Alimentos*. 1989; 29: 530-537.

## METALES DE VALOR AÑADIDO EN LOS RÍOS SALADO UBICADOS EN LAS CUENCAS SAMA Y LOCUMBA (REGIÓN DE TACNA - PERÚ) Y SU CORRELACIÓN CON ARSÉNICO Y BORO

Edgardo Avendaño Cáceres<sup>a</sup>, Margarita Briceño Toledo<sup>b</sup>, Lorena Cornejo Ponce<sup>c</sup>,  
Dante Morales Cabrerad, Neil I. Ward<sup>\*e</sup>

### RESUMEN

Los objetivos de la presente investigación fueron identificar y cuantificar metales con valor añadido potencialmente comercializables de ser recuperados o extraídos en dos ríos denominados Salado; uno ubicado en la cuenca hidrográfica de Locumba (Salado-Locumba) y el otro en la cuenca hidrográfica de Sama (Salado-Sama). Además, realizar un análisis de correlación de los contenidos de arsénico (As) y boro (B) presentes en 14 puntos de muestreo ubicados en diferentes fuentes de agua a lo largo de las dos cuencas. Se analizaron 49 elementos utilizando ICP-MS, en muestras de agua para determinar metales totales y disueltos. En los análisis de correlación, asociación y reducción de variables se aplicaron métodos estadísticos robustos. Los metales de valor añadido identificados fueron: Li, Rb, Cs y Ge en concentraciones de  $1,818\pm 0,415$  mg/L,  $0,248\pm 0,048$  mg/L,  $0,361\pm 0,104$  mg/L y  $0,005\pm 0,002$  mg/L en el río Salado-Locumba y  $1,950\pm 0,544$  mg/L,  $0,343\pm 0,090$  mg/L,  $0,401\pm 0,096$  mg/L y  $0,005\pm 0,002$  mg/L en el río Salado-Sama, respectivamente. Se determinó que la correlación entre las concentraciones de los elementos químicos de valor añadido Li, Rb, Cs y los elementos As y B presentes en 14 puntos de muestreo ubicados en diferentes fuentes de agua a lo largo de las dos cuencas, son estadísticamente significativos, positivos y altos ( $r>0,7$  y  $p<0,01$ ).

**Palabras clave:** metales de valor añadido, litio, rubidio, cesio y germanio.

<sup>a</sup> Departamento de Química e Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohman, Av. Miraflores s/n, Tacna, Perú. 23001.

\**eavendanoc@unjbg.edu.pe*

<sup>b</sup> Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Arturo Prat, Iquique, Chile.

<sup>c</sup> Departamento de Ingeniería Mecánica, Facultad de Ingeniería, Universidad de Tarapacá, Arica, Chile.

<sup>d</sup> Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohman,

<sup>e</sup> Department of Chemistry, FEPS, University of Surrey, Guildford, Surrey, United Kingdom.

## **ADDED-VALUE METALS IN THE SALADO RIVERS LOCATED IN THE SAMA AND LOCUMBA BASINS (TACNA REGION - PERU) AND THEIR CORRELATION WITH ARSENIC AND BORON**

### **ABSTRACT**

The objectives of this research were to identify and quantify potentially marketable added value metals, if recovered or extracted, in two rivers called Salado; one located in the Locumba basin (Salado-Locumba) and the other in the Sama basin (Salado-Sama). In addition, perform a correlation analysis of the arsenic (As) and boron (B) contents present in 14 sampling points located in different water sources throughout the two basins. Total and dissolved metals (49) in samples were analyzed using ICP-MS. Robust statistical methods were applied in the correlation, association and reduction analysis of variables. The identified value-added metals were: Li, Rb, Cs and Ge in concentrations of  $1,818 \pm 0,415$  mg/L,  $0,248 \pm 0,048$  mg/L,  $0,361 \pm 0,104$  mg/L and  $0,005 \pm 0,002$  mg/L in the Salado-Locumba river, and  $1,950 \pm 0,544$  mg/L,  $0,343 \pm 0,090$  mg/L,  $0,401 \pm 0,096$  mg/L and  $0,005 \pm 0,002$  mg/L in the Salado-Sama river, respectively. It was determined that the correlation between the concentrations of the added value chemical elements Li, Rb, Cs and the elements As and B present in 14 sampling points located in different water sources along the two basins the two basins, are statistically significant, positive and high ( $r > 0,7$  and  $p < 0,01$ ).

**Keywords:** *value added metals, lithium, rubidium, cesium and germanium*

### **INTRODUCCIÓN**

La principal forma de ingreso del arsénico, al cuerpo humano, es a través del agua o alimentos contaminados con dicho elemento<sup>(1)</sup>, por lo que una ingesta excesiva puede llegar a producir carcinogénesis. Algunos autores<sup>(2)</sup> mencionan que las concentraciones elevadas de arsénico encontradas en las fuentes destinadas para consumo humano en varios países a nivel mundial han causado un impacto importante en la salud pública; entre los países de América Latina con esta problemática tenemos a Argentina, Bolivia, Chile, México y Perú. En el mapa de distribución de acuíferos y cuerpos de agua superficiales con altos contenidos de arsénico disuelto en América Latina<sup>(2)</sup>, se ubican las zonas del Perú. La región de Tacna es una de las zonas descritas con esta problemática especificando, entre otras, el valle de Locumba, Sama Inclán y Sama Las Yaras (zonas que se encuentran ubicadas en las cuencas hidrográficas de Locumba y Sama localizadas en la zona rural de Tacna).

En la región de Tacna se han identificado dos tributarios de nombre Salado; uno ubicado en la cuenca hidrográfica Locumba (río Salado-Locumba) y el otro en la cuenca hidrográfica Sama (río Salado-Sama). En los resultados de los análisis fisicoquímicos ejecutados en época de estiaje por el monitoreo participativo de calidad de agua superficial en los años 2016, 2019 y 2020 en las cuencas hidrográficas de Sama y Locumba; proporcionados por la Autoridad

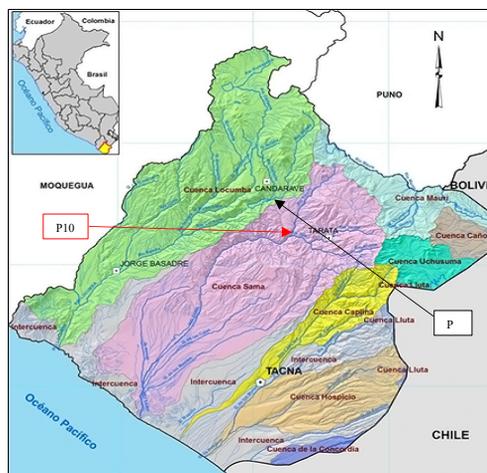
Nacional del Agua (ANA) a través de la Administración Local del Agua (ALA) Caplina-Locumba, en ambos ríos (Salado-Locumba y Salado-Sama) se ha identificado y cuantificado altos contenidos de As, B y Li, entre otros elementos, contribuyendo a incrementar la concentración de estos elementos en diferentes tributarios. Estos dos ríos se conforman por el tránsito de la precipitación y la actividad hidrotermal de la zona que ocurre en la parte alta de las dos cuencas. Normalmente las aguas de origen geotérmico en su composición muestran entre otros elementos adicionales a los antes mencionados, metales de valor añadido. Son elementos que al no encontrarse comúnmente en la corteza terrestre requieren métodos no convencionales para su extracción y presentan un alto valor en el mercado internacional. Adicionalmente, existe información de estudios, investigaciones, procesos y operaciones unitarias patentadas acerca de la recuperación de varios de estos elementos en agua de mar, agua de rechazo o salmueras de diversos procesos industriales<sup>(3)</sup>. Entre los más importantes para la presente investigación se encuentran el Rb, Cs, Ge y Li, de estos metales la ANA, durante sus monitoreos participativos anuales de calidad de agua, solamente reporta el monitoreo del Li en las fuentes superficiales de las cuencas hidrográficas de Locumba y Sama.

La presente investigación tiene como objetivo identificar y cuantificar los niveles de metales de valor añadido en los ríos Salado-Locumba y Salado-Sama, como potenciales metales comercializables, después de ser recuperados o extraídos. Además, realizar un análisis de correlación entre los contenidos de los metales de valor añadido y los elementos As y B presentes en los 14 puntos de muestreo ubicados en diferentes fuentes de agua a lo largo de las dos cuencas.

## **PARTE EXPERIMENTAL**

### **2.1 Área de estudio**

La figura 1 muestra las cuencas hidrográficas de Locumba y Sama con los colores verde y rosado respectivamente. La cuenca hidrográfica del río Sama tiene dos zonas diferenciadas: la cuenca alta, cuyos ríos principales son el Salado y el río Tala que es el resultado de la unión de los ríos Ticalaco, Pistala y el río de Estique-Tarucachi-Talabaya. La cuenca media y baja, está formada por el río Sama resultado de la unión de los ríos Salado y Tala. Esta cuenca tiene tres trasvases: Barroso hacia la cuenca Caplina, túnel Kovire al río Maure y finalmente Dique Cano-Salado hacia la cuenca Locumba. Es importante mencionar que el trasvase de Kovire beneficia en menor proporción de agua a la cuenca Sama y en una mayor proporción a la cuenca Locumba, siendo esta agua trasvasada a la laguna de Aricota ubicada en esta última cuenca<sup>(4)</sup>.



**Figura 1.** Cuencas hidrográficas de la región Tacna. Las cuencas hidrográficas Locumba y Sama están representadas por las áreas de color verde y rosado respectivamente. P4 (río Salado-Locumba antes de la unión con el río Callazas) y P10 (río Salado-Sama antes de la unión con el río Tala). Fuente: INGGEMMET<sup>(5)</sup>

El río Salado-Sama, es un río que se conforma por el tránsito de la precipitación y la actividad hidrotermal que se lleva a cabo en la subcuenca denominada Salado la misma que involucra al aporte de varias microcuencas como Ichicollo, Cano, Canocucho, Yabroco, Challahuaya entre otros. Este río se caracteriza por presentar actividad hidrotermal (aguas calientes con alto contenido de arsénico, boro y otros minerales disueltos), así mismo es una cuenca que presenta aportes hídricos de la derivación de la cuenca del río Maure específicamente del río Ancoaque, las mismas que se realizan mediante el túnel Kovire; recursos hídricos que en el dique Cano una parte son derivadas hacia la cuenca del río Sama por el río salado y la otra a la cuenca Locumba.

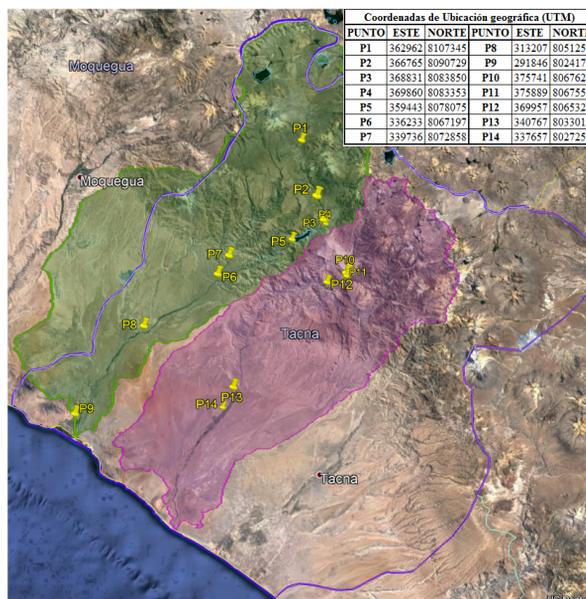
La cuenca hidrográfica del río Locumba tiene tres zonas diferenciadas: cuenca alta, inicia desde la laguna Suches y llega hasta la laguna, siendo conformada por los ríos Callazas, Matazas, Salado y Tacalaya. La cuenca Media, está conformada por los ríos Curibaya, Ilabaya y Cinto, hasta los límites de la población de Camiara; toda esta zona sería el valle de Locumba. La cuenca Baja, es la zona de Ite, conformada por la desembocadura en los humedales de la bahía del mismo nombre. Esta cuenca hidrográfica tiene los trasvases desde la cuenca alta del río Maure hacia la laguna de Aricota mediante el túnel Ichicollo. También tiene trasvases de recurso subterráneo y superficial de las lagunas Suches, Vizcachas y otros acuíferos asociados hacia las minas de Toquepala (subcuenca distinta) y Cuajone. Finalmente, la cuenca baja tiene el trasvase hacia la ciudad de Ilo (Moquegua)<sup>(4)</sup>.

El río Salado ubicado en la cuenca hidrográfica de Locumba confluye con el río Callazas para desembocar en la laguna de Aricota. Es resultado de la mezcla de las aguas que se transfieren de la cuenca Sama, a través del túnel Ichicollo a la cuenca hidrográfica de Locumba; estas son descargadas al río Jaruma, para luego en su transcurso mezclarse con el río Calientes para formar el río Salado. Las características fisicoquímicas del río Jaruma en cuanto al arsénico y otros elementos son debido a la naturaleza geológica y surgencias geotermales propias de la cuenca Calientes-Locumba<sup>(6)</sup>.

## **2.2 Selección de puntos de muestreo en los ríos Salado de las cuencas Sama y Locumba**

Para determinar los puntos de muestreo, se realizó una búsqueda sistemática de información de calidad fisicoquímica del agua correspondiente a los ríos Salado-Locumba y Salado-Sama. La información fue analizada de los resultados del monitoreo participativo de calidad de agua superficial en la cuenca Sama y Locumba durante los años 2016 – 2020, en temporada de estiaje (meses de mediados de junio a mediados de diciembre), proporcionados por la ANA-ALA-Caplina-Locumba. Los puntos de muestreo Salado-Locumba y Salado-Sama están identificados en la red de monitoreo de la ANA-ALA-Caplina-Locumba como: en la cuenca hidrográfica Sama 13158RSala2 (río salado antes de la confluencia con el río Tala, Localidad de Chucatamani, distrito Héroes Albarracín, provincia de Tarata, coordenadas UTM 8067623 Norte, 375741 Este) y en la cuenca hidrográfica Locumba 1316RSala1 (río salado antes de la confluencia con el río Callazas, Localidad y distrito de Quilahuani, provincia de Candarave, coordenadas UTM 369860 Este y 8083353 Norte).

Adicionalmente, se estableció puntos de muestreo complementarios en diferentes fuentes de agua a lo largo de las dos cuencas teniendo como referencia los puntos seleccionados por la ANA. Lo anterior, con el fin de tener un valor aproximado de la distribución de los metales de valor añadido a lo largo de las dos cuencas y hacer un análisis correlación de los mismos con los elementos arsénico y boro. Estos muestreos fueron realizados una sola vez y en las muestras de agua se analizaron metales totales. La ubicación de los muestreos se observa en la figura 2.



**Figura 2.** Puntos de muestreo (P) en diferentes fuentes de agua a lo largo de las cuencas hidrográficas Locumba (P1 a P9) y Sama (P10 a P14) en la región de Tacna. P4 y P10 corresponden a los ríos Salado-Locumba y Salado-Sama respectivamente. Fuente: Imagen Satelital extraída de Google Earth Pro.

### 2.3 Muestreo y análisis de laboratorio:

Se consideraron 14 puntos de muestreo a lo largo de las cuencas hidrográficas de Locumba y Sama distribuidos en 09 y 05, respectivamente. Para los muestreos se utilizó el protocolo Nacional de Monitoreo de la Calidad de los Recursos Hídricos Superficiales de la ANA<sup>(7)</sup>. Las muestras de agua fueron enviadas para su análisis al laboratorio acreditado SGS del Perú S.A.C., analizándose 49 elementos químicos utilizando para la determinación la técnica ICP-MS (modelo NEXION 300D marca Perking Elmer). Los parámetros de campo considerados fueron pH, conductividad eléctrica y temperatura, para lo cual se utilizó un multiparámetro (marca HANNA modelo HI98129), finalmente, para la ubicación de los puntos de muestreo se utilizó un equipo de posicionamiento global (GPS, marca Garmin modelo Montana 680). El método de ensayo utilizado para el análisis de metales totales y disueltos fue el EPA 200.8, Rev 5.4:1994. Para el análisis de metales solubles las muestras fueron filtradas inmediatamente después de su muestreo utilizando filtro de jeringa no estéril de Nylon de 25 mm, 0,45  $\mu$ m, marca Pall. El preservante utilizado para las muestras destinadas al análisis de metales totales y solubles fue HNO<sub>3</sub> al 1% (v/v), las muestras fueron mantenidas refrigeradas a 4°C en un cooler y enviadas para su análisis al laboratorio acreditado de SGS del Perú S.A.C.

Para la identificación y cuantificación de los metales de valor añadido en los ríos Salado de las cuencas hidrográficas Locumba y Sama se realizó dos tipos de análisis en las mismas muestras: un análisis de metales totales y otro análisis de metales solubles (las muestras se filtraron in situ utilizando filtros de jeringa de nylon de 0,45 µm). Se realizó 03 muestreos de metales totales por cada río Salado con diferencias aproximadamente de un mes (septiembre-diciembre del 2020), en dos de las tres campañas de muestreo se realizó los análisis de metales totales y solubles (meses de septiembre y diciembre). Para la determinación del porcentaje de la fracción insoluble de los metales; en cada una de las dos muestras se calculó la diferencia entre los valores que superaron el límite de cuantificación (LC) de los metales totales y los metales solubles; los dos resultados se promediaron y permitieron calcular el porcentaje de la fracción insoluble de los metales totales en los dos ríos Salado.

## 2.4 Procesamiento de datos

Para el análisis de correlación se descartó los elementos que mostraron más del 40% de sus datos con valores iguales al límite de cuantificación (LC). Posteriormente, se aplicaron las pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk. Los elementos cuyos valores no tuvieron una distribución normal se les aplicó la transformación de Box y Cox y fueron codificados anteponiendo la letra T, finalmente, al análisis conjunto de datos se aplicó la correlación de Pearson. En el caso de los análisis multivariados de agrupación y clasificación de los puntos de muestreo y sus elementos (individuos y variables) se utilizó el análisis de conglomerado jerárquico (HCA) con el comando “hcut” aplicando el método de Ward.D2 y la métrica de Manhattan para cuantificación de la similitud, permitiendo construir el dendograma. Como método de reducción de variables se aplicó el método de análisis de componentes principales robusto (ROBPCA – ROBust) utilizando el comando “PcaHubert”. Para el cálculo de la correlación robusta se utilizó el comando “CovOgk”. Los comandos hcut, PcaHubert y CovOgK se encuentran implementados en el software R.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Identificación y cuantificación de metales de valor añadido en los ríos Salado-Locumba y Salado-Sama

Se puede observar en las tablas 1 y 2 las características fisicoquímicas de las 14 fuentes diferentes de agua ubicadas a lo largo de las cuencas hidrográficas Locumba y Sama y los valores de los contenidos de los metales y metaloides que corresponden a metales totales. Los ríos Salado están identificados con código P4(Salado-Locumba) y P10(Salado-Sama) en ambos casos se muestra el promedio junto a su desviación estándar resultado de 03 campañas de muestreo (n=3). Los metales de valor añadido motivo de estudio Li, Rb, Cs y Ge alcanzaron valores promedio en el río Salado-Locumba (P4) de 1,818 mg/L, 0,2484 mg/L, 0,3606 mg/L y 0,0047 mg/L respectivamente. En el río Salado-Sama (P10) alcanzaron valores promedio de 1,9501 mg/L, 0,3427 mg/L, 0,4014 mg/L, y 0,0049 mg/L respectivamente. De los 14 puntos muestreados, los dos ríos Salado presentaron la mayor concentración de Li, Rb, Cs y Ge. La presencia de estos elementos es debido a que estos ríos al conformarse por el tránsito de la precipitación y la actividad hidrotermal pasan en su trayecto por zonas volcánicas propias de

la naturaleza geológica de las dos cuencas hidrográficas. Como también lo muestran otros estudios de aguas geotermales en diferentes países<sup>(8)(9)</sup>.

**Tabla 1.** Análisis fisicoquímico de las muestras de agua en la cuenca hidrográfica de Locumba.

Parámetros	Puntos de muestreo y fechas de muestreo								
	P1(n=1) 19/10/2020	P2(n=1) 17/12/2020	P3(n=1) 09/12/2020	P4(n=3) *	P5(n=1) 09/12/2020	P6(n=1) 20/10/2020	P7(n=1) 20/10/2020	P8(n=1) 31/10/2020	P9(n=1) 14/10/2020
T, °C	16,8	15,5	18,6	18,5±2,2	18,1	19,7	24,5	26,11	18,79
pH	8,13	6,94	8,52	8,28±0,05	8,57	8,18	8,47	8,43	8,3
CE, uS/cm	2174	1055	1308	2760±163	1784	1859	1417	2268	2274
Al, mg/L	1,116	<0,003	0,076	1,771±2,019	<0,003	0,068	0,044	0,336	1,096
As, mg/L	1,19581	0,53964	0,48219	1,52576±0,28293	0,64663	0,71569	0,09031	0,60067	0,53810
B, mg/L	3,979	0,027	5,576	11,149±1,454	8,396	8,841	4,037	9,235	6,293
Ba, mg/L	0,0187	0,0870	0,0226	0,0394±0,0064	0,0426	0,0377	0,0404	0,0484	0,0370
Ca, mg/L	36,950	62,996	69,85	103,61±2,62	153,835	112,000	133,000	146,000	131,085
Ce, mg/L	0,00051	<0,00024	0,00012	0,00064±0,00077	<0,00024	<0,00024	<0,00024	0,00083	0,00182
Co, mg/L	0,00043	0,00011	0,00015	0,00215±0,00223	0,00438	<0,00003	0,00014	0,00033	0,00057
Cs, mg/L	0,1327	0,0019	0,0306	0,3606±0,1036	0,1623	0,1710	0,0086	0,1236	0,0668
Cu, mg/L	0,00191	<0,00009	0,00045	<0,00009	<0,00009	0,00234	0,00419	0,00233	0,00338
Fe, mg/L	1,6316	<0,0013	0,0919	1,259±1,02	0,0037	0,0575	0,0541	0,3223	1,1078
Ga, mg/L	<0,00012	<0,00012	<0,00012	<0,00012	<0,00017	<0,00012	<0,00012	0,00017	0,00028
Ge, mg/L	0,0040	<0,0006	<0,0006	0,0047±0,0017	0,0009	0,0013	<0,0006	<0,0006	<0,0006
Hf, mg/L	0,00020	<0,00015	<0,00015	0,00041±0,00045	0,00839	0,00041	0,00040	<0,00015	<0,00015
K, mg/L	23,80	17,15	18,89	51,46±1,43	46,46	32,75	14,55	34,45	21,41
Li, mg/L	0,6172	0,2503	0,3678	1,818±0,415	1,3182	1,1370	0,2694	1,1070	0,7299
Mg, mg/L	13,800	19,170	29,298	36,669±3,19	27,390	33,600	33,550	39,900	36,255
Mn, mg/L	0,32742	<0,00010	0,00881	0,22456±0,06753	0,00303	0,01369	0,03428	0,06500	0,14755
Mo, mg/L	0,00516	0,00117	0,00332	0,00844±0,00245	0,00913	0,00832	0,00508	0,00955	0,00640
Na, mg/L	152,500	132,783	166,786	382,716±44,003	181,742	251,000	164,500	275,000	271,773
Ni, mg/L	0,0007	<0,0006	<0,0006	0,003±0,0032	<0,0006	<0,0006	<0,0006	0,0008	<0,0006
Rb, mg/L	0,1142	0,0107	0,0449	0,2484±0,0477	0,1521	0,1431	0,0333	0,1390	0,0891
Sb, mg/L	0,01560	0,00158	0,0027	0,06221±0,01375	0,03017	0,02000	<0,00013	0,01570	0,00728
Se, mg/L	<0,0013	<0,0013	<0,0013	0,0022±0,0014	<0,0013	0,0034	0,0021	0,0041	<0,0013
Si, mg/L	67,80	36,86	36,06	61,16±16,17	48,91	34,41	26,08	36,95	26,39
SiO <sub>2</sub> , mg/L	145,06	78,86	77,14	130,83±34,59	104,63	73,61	55,79	79,05	56,45
Sr, mg/L	0,2489	0,3699	0,4322	0,8411±0,0862	0,8881	0,7995	0,9130	1,0468	0,7942
Ti, mg/L	0,0103	0,0035	0,0041	0,0096±0,0041	0,0042	0,0055	0,0038	0,0182	0,0381
U, mg/L	0,000477	0,001668	0,001084	0,00025±0,000214	0,001640	0,001856	0,004993	0,003132	0,003231
V, mg/L	0,0075	0,0062	0,0086	0,006±0,0013	0,0023	0,0052	0,0078	0,0092	0,0093
W, mg/L	0,0071	<0,0006	<0,0006	0,015±0,0184	0,0038	0,0112	0,0200	0,0007	<0,0006
Yb, mg/L	0,00010	<0,00006	<0,00006	<0,00006	<0,00006	<0,00006	<0,00006	<0,00006	<0,00006
Zn, mg/L	0,0348	<0,0026	0,0027	0,0199±0,0223	<0,0026	0,0298	0,0145	0,0032	0,0041
Zr, mg/L	<0,00045	<0,00045	<0,00045	<0,00045	0,00393	<0,00045	<0,00045	<0,00045	0,00068

n: Número de muestreos realizados durante la investigación. La desviación estándar en P4 se determinó en base a 03 muestreos.

\*: 26/09/2020, 19/10/2020 y 09/12/2020 (fechas de muestreo)

**Tabla 2.** Análisis fisicoquímico de las muestras de agua en la cuenca hidrográfica de Sama.

Parámetros	Puntos de muestreo y fechas de muestreo				
	P10 (n=3) **	P11(n=1) 20/10/2020	P12(n=1) 09/12/2020	P13(n=1) 14/10/2020	P14(n=1) 14/10/2020
T, °C	21±1	21	22,3	18,17	19,5
pH	8,43±0,15	8,25	8,43	8,33	8,2
CE, uS/cm	2652±109	1406	2073	2211	2505
Al, mg/L	0,067±0,04	0,496	0,912	0,286	0,265
As, mg/L	1,2612±0,14663	0,03796	0,45061	0,34334	0,34249
B, mg/L	11,299±2,002	1,428	8,703	5,171	5,192
Ba, mg/L	0,0417±0,0085	0,0295	0,0278	0,0284	0,0288
Be, mg/L	<0,00006	0,00003	0,00013	<0,00006	<0,00006
Ca, mg/L	122,662±12,946	245,5	174,487	184,992	186,966
Ce, mg/L	<0,00024	0,00146	0,00147	0,00041	0,00034
Co, mg/L	0,00011±0,00008	0,00598	0,00282	0,00071	0,00055
Cs, mg/L	0,4014±0,0958	0,0032	0,1798	0,1009	0,1025
Cu, mg/L	<0,00009	0,00513	0,00365	<0,00009	<0,00009
Fe, mg/L	0,225±0,0242	0,5512	1,0125	0,4607	0,4033
Ga, mg/L	<0,00012	0,00006	0,00021	<0,00012	<0,00012
Ge, mg/L	0,0049±0,0016	<0,0006	0,0013	<0,0006	<0,0006
Hf, mg/L	<0,00015	0,00025	<0,00015	<0,00015	<0,00015
K, mg/L	57,02±4,45	6	25,35	17,63	18,31
Li, mg/L	1,9501±0,5445	0,1383	0,7884	0,7275	0,7427
Mg, mg/L	26,19±2,48	57	40,578	36,033	36,999
Mn, mg/L	0,3606±0,0502	0,28665	0,28043	0,12526	0,09386
Mo, mg/L	0,00322±0,00132	0,00264	0,00144	0,00321	0,00324
Na, mg/L	359,895±55,107	76,5	177,553	212,369	218,042
Ni, mg/L	<0,0006	0,0082	<0,0006	0,0014	0,0012
Rb, mg/L	0,3427±0,0903	0,0103	0,1376	0,1217	0,1254
Sb, mg/L	0,0342±0,0061	<0,00013	0,01254	0,00573	0,00573
Si, mg/L	61,38±12,79	31,17	37,90	29,81	30,40
SiO <sub>2</sub> , mg/L	131,32±27,37	66,69	81,09	63,77	65,04
Sr, mg/L	0,9115±0,1817	1,0223	0,7426	0,9026	0,9340
Ti, mg/L	0,0083±0,0014	0,0034	0,0146	0,0050	0,0049
U, mg/L	0,000417±0,000258	0,000586	0,000111	0,000907	0,000862
V, mg/L	0,0037±0,0003	0,0036	0,0036	0,0023	0,0026
W, mg/L	0,0061±0,0084	0,0108	<0,0006	<0,0006	<0,0006
Yb, mg/L	<0,00006	0,00012	0,00006	<0,00006	<0,00006
Zn, mg/L	<0,0026	0,0244	0,0216	0,0031	<0,0026

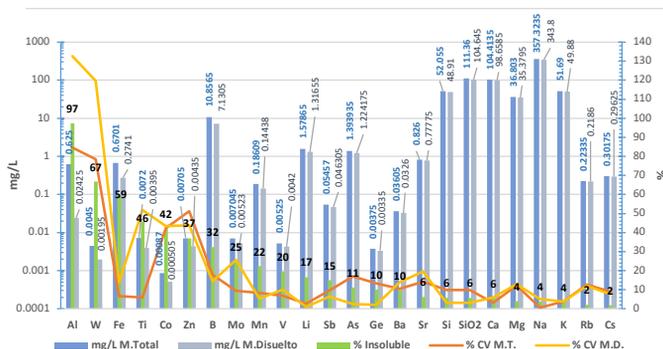
n: Número de muestreos realizados durante la investigación. La desviación estándar en P4 se determinó en base a 03 muestreos.

\*\* : 26/09/2020, 29/10/2020 y 09/12/2020 (fechas de muestreo)

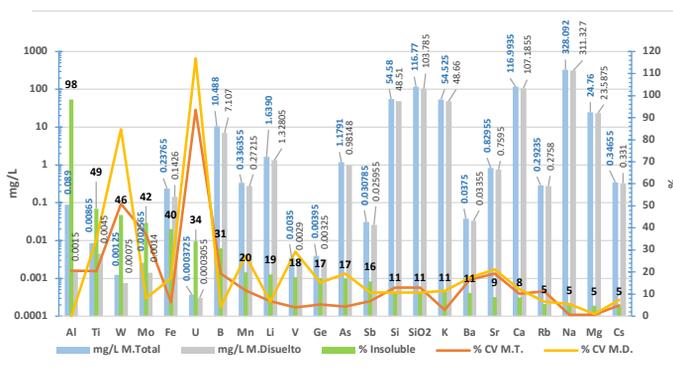
Los resultados obtenidos muestran que los elementos: Ag (<0,00001 mg/L), Bi (<0,00003 mg/L), Cd (<0,00003 mg/L), Hg (<0,00009 mg/L), La (<0,0015 mg/L), Lu (<0,00006 mg/L), Nb (<0,0015 mg/L), P (<0,047 mg/L), Sn (<0,00010 mg/L), Te (<0,003 mg/L) y Tl (<0,00006 mg/L), en los 14 puntos de muestreo, se encontraron bajo el límite de cuantificación (LC). Los elementos Pb (0,0011 mg/L), Cr (0,0069 mg/L) y Th (0,03045 mg/L) presentaron contenidos sobre el límite de cuantificación (LC), Pb (<0,0006 mg/L), Cr (<0,0003 mg/L) y Th (<0,00019 mg/L) en los puntos P9 (Pb) y P5 (Cr y Th). Los elementos Se (<0,0013 mg/L), Zr (<0,00045 mg/L) y Ta (<0,00021 mg/L) presentaron concentraciones bajo el límite

de cuantificación (LC) en la cuenca hidrográfica Sama. En la cuenca hidrográfica Locumba solamente los elementos Be (0,00022 mg/L) y Ta (0,0052 mg/L) en los puntos P1 y P5 presentaron valores sobre el límite de cuantificación (LC) Be ( $<0,0006$  mg/L) y Ta ( $<0,00021$  mg/L). Los límites de cuantificación (LC) para los otros elementos analizados fueron: As (0,00010 mg/L), B (0,006 mg/L), Ba (0,0003 mg/L), Ca (0,009 mg/L), Cs (0,0003 mg/L), K (0,13 mg/L), Li (0,0003 mg/L), Mg (0,003 mg/L), Mo (0,00006 mg/L), Na (0,019 mg/L), Rb (0,0009 mg/L), Si (0,13 mg/L), SiO<sub>2</sub> (0,27 mg/L), Sr (0,0006 mg/L), Ti (0,0006 mg/L), U (0,00001 mg/L) y V (0,0003 mg/L).

En las figuras 3 y 4 se presentan los resultados promedio de dos campañas de muestreo para el análisis de metales totales (mg/L M. Total), disueltos o solubles (mg/L M. Disuelto) y el porcentaje de metales insolubles (% Insoluble) realizados en las muestras de aguas de los dos ríos salados; uno a finales de septiembre y el otro a inicios de diciembre. Los ríos Salado (P4 y P10) muestran claramente que los metales de valor añadido Li, Ge, Rb y Cs se encuentran en forma predominantemente soluble correspondiendo a su parte insoluble porcentajes de 17%, 10%, 2% y 2% respectivamente para P4 y porcentajes de 19%, 17%, 5% y 5% respectivamente para P10. Estos resultados indican que un proceso único de microfiltración no sería suficiente para recuperarlos. Otros elementos como el Al, W, Fe, Ti, Co, Mo y Zn muestran, en los puntos P4 y P10, valores en su fracción insoluble en el rango de 98% a 37%, siendo valores importantes para hacer posible su separación o recuperación mediante un proceso de microfiltración. En el punto P4 los elementos Al, W, Ti, Co, Zn, Mo y Sr mostraron valores entre 135% a 20% en el porcentaje del coeficiente de variabilidad de metales disueltos (%CV M.D.) y en el punto P10 los elementos Ti, W, U, Mn, V y Sr mostraron valores de %CV M.D. en el rango de 118% a 20%; significando una variabilidad importante de estos elementos en los análisis realizados. En lo que respecta al As y B en los dos puntos P4 y P10 solamente es posible remover por un proceso de microfiltración un 14% de As y 32% de B. El comportamiento de los dos ríos salados (P4 y P10) muestran mayor estabilidad en el porcentaje del coeficiente de variación para metales totales (%CV M.T.) que en (%CV M.D.)



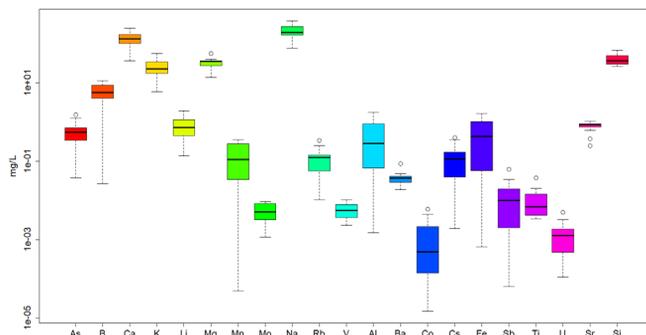
**Figura 3.** Concentraciones de metales totales (mg/L M. Total), disueltos (mg/L M. disuelto), porcentaje de metal Insoluble (% Insoluble), porcentaje coeficiente de variación metales totales (%CV M.T.) y porcentaje coeficiente de variación metales disueltos (%CV M.T.) en el río Salado-Locumba (P4).



**Figura 4.** Concentraciones de metales totales (mg/L M. Total), disueltos (mg/L M. disuelto), porcentaje de metal insoluble (% Insoluble), porcentaje del coeficiente de variación metales totales (%CV M.T.) y porcentaje coeficiente de variación metales disueltos (%CV M.T.) en el río Salado-Sama (P10).

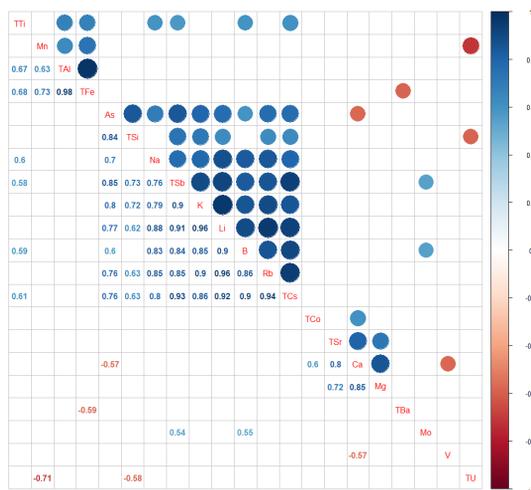
### 3.2 Correlación de los metales de valor añadido litio (Li), rubidio (Rb) y cesio (Cs) con los elementos Boro (B) y arsénico (As).

En la figura 5 se puede observar varios elementos con valores atípicos (As, Mg, Rb, Ba, Co, Cs, Sb, Ti, U y Sr). A los elementos cuyos datos no mostraron una distribución normal, se les aplicó la transformación de Box y Cox identificándolos anteponiendo la letra "T" (TAI, TBa, TCo, TCs, TFe, TSb, TTi, TU, TSr y TSi). Los elementos con distribución normal y valores atípicos fueron: Mg, As y Rb.

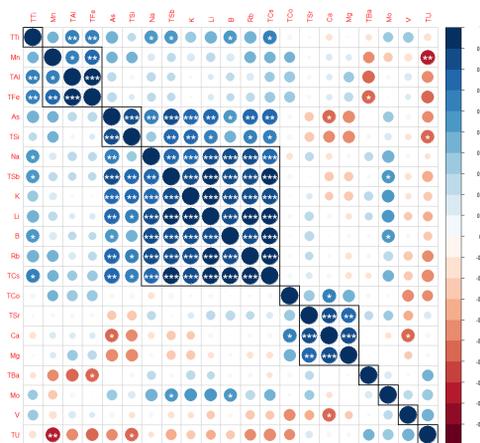


**Figura 5.** Gráfica de caja y bigotes para los elementos de los 14 puntos muestreados a lo largo de las cuencas hidrográficas Locumba y Sama.

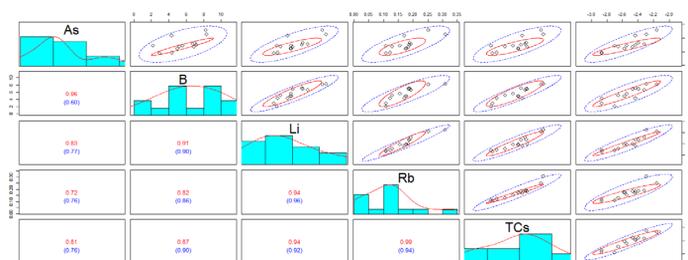
La figura 6 muestra el grado de correlación entre los elementos mediante tonalidades de colores con valores en un rango de -1 a +1. El nivel de significancia es mostrado en la figura 7 mediante el número de asteriscos (\*, \*\* y \*\*\* igual a  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  y  $p < 0,001$ ). Se puede observar que la correlación entre los elementos de valor añadido Li, Rb, Cs y los elementos As y B son estadísticamente significativos, positivos y altos ( $r > 0,7$  y  $p < 0,01$ ), el Ge no se consideró por mostrar valores bajo el límite de cuantificación (LC) en varios puntos del monitoreo. Debido a los valores atípicos mostrados por los elementos Rb y As, se realizó un análisis complementario aplicando una correlación robusta a los elementos de estudio.



**Figura 6.** Correlación de Pearson de los elementos analizados en los 14 puntos de muestreo a lo largo de las cuencas hidrográficas Locumba y Sama (para  $p < 0,05$ ).



**Figura 7.** Nivel de significancia de los elementos analizados en los 14 puntos de muestreo a lo largo de las cuencas hidrográficas Locumba y Sama. Donde el nivel de significancia: \*, \*\* y \*\*\* igual a  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  y  $p < 0,001$ .

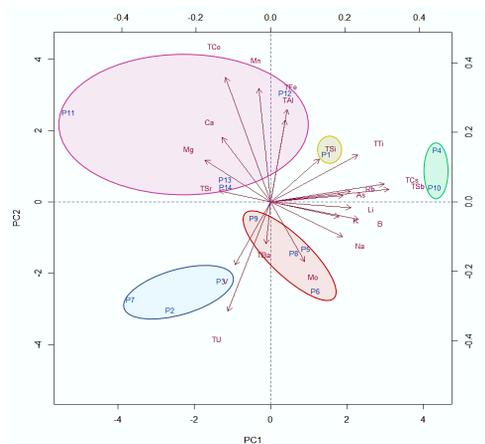


**Figura 8.** Correlación robusta de los elementos As, B, Li, Rb y Cs analizados en los 14 puntos de muestreo distribuidos a lo largo de las cuencas hidrográficas Locumba y Sama.

En la figura 8 se observan los valores de los coeficientes de correlación de Pearson (color azul), los coeficientes de correlación robustos (color rojo), distribución normal por elemento, elipses de color azul para el ámbito de la correlación de Pearson y color rojo para la correlación robusta. Para la correlación robusta, claramente, los valores atípicos se ubican fuera del área de las elipses rojas demostrando que existe un efecto de los mismos en los coeficientes de correlación de Pearson. La correlación robusta reduce el efecto de los valores atípicos mejorando, en general, el nivel de correlación entre los elementos seleccionados, siendo más evidente en los elementos Cs y As.

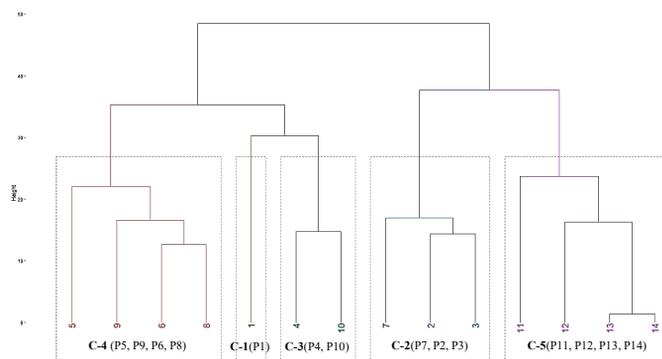
El análisis de componentes principales (PCA) se aplicó como complemento para la reducción del número de variables, análisis de correlación, determinación de diferencias y similitudes

entre los sitios de muestreo. Siendo el número de elementos (variables) mayor que el número de puntos de muestreo (observaciones) y evidente la existencia de valores atípicos, se aplicó un análisis de componentes principales robusto (RobPCA), determinándose tres componentes principales identificados como PC1, PC2 y PC3, contribuyendo cada componente a la varianza en 68%, 29% y 3% respectivamente, se graficó las primeras dos componentes que juntas representan un total de 97% de la varianza (ver figura 9).

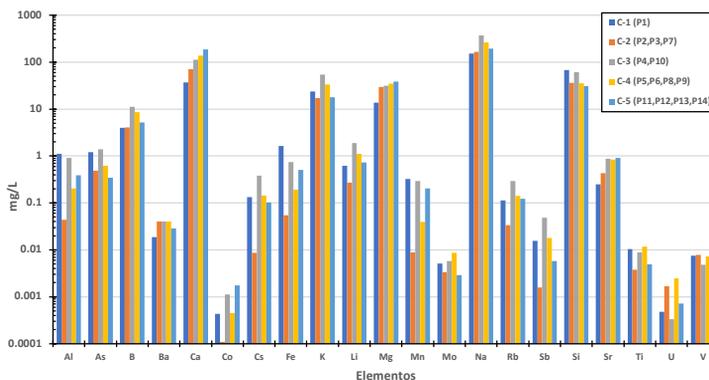


**Figura 9.** Biplot del análisis de componentes principales robusto (RobPCA) para los 14 puntos de muestreo a lo largo de las cuencas Locumba y Sama.

La figura 9 muestra los elementos representados por vectores. Ángulos cortos entre los vectores del grupo de elementos Rb, Cs y As y un mayor ángulo de éste con los vectores de los elementos Li y B, significando en el primer caso un elevado nivel de correlación y en el segundo un nivel de correlación medio. En la misma figura se ha agrupado los 14 puntos de monitoreo según características semejantes entre sus elementos, siendo 5 agrupamientos (conglomerados) que están señalados por elipses de colores. Esta clasificación ha sido realizada mediante el análisis de agrupamiento jerárquico (HCA) con métrica Manhattan y método de Ward, esta configuración permite mayor tolerancia a datos atípicos. Los resultados se resumen en el dendrograma de la figura 10; las agrupaciones (conglomerados) han sido identificados con números del 1 al 5, y conformadas por los puntos de muestreo: conglomerado C-1 (P1), conglomerado C-2 (P2, P3 y P7), conglomerado C-3 (P4 y P10), conglomerado C-4 (P5, P6, P8 y P9) y conglomerado C-5 (P11, P12, P13 y P14). Observándose la similitud en las características químicas de los puntos de muestreo P4 y P10 conformando el conglomerado C-3.



**Figura 10.** Dendrograma de los 14 puntos de muestreo a lo largo de las cuencas hidrográficas Locumba y Sama. Identificando los puntos de muestreo (P1 al P14) con similares características que integran los 05 conglomerados (C-1 al C-5).



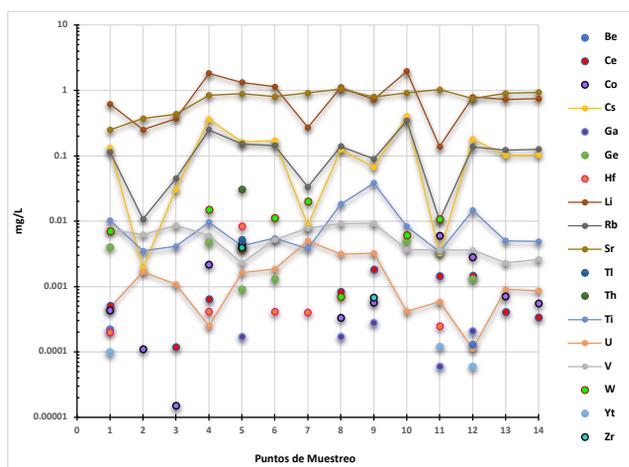
**Figura 11.** Distribución y mediana de la concentración en que se encuentran distribuidos en 05 conglomerados los elementos de los 14 puntos de muestreo a lo largo de las cuencas hidrográficas Locumba y Sama.

En la figura 11 es posible apreciar el valor de la mediana de los elementos químicos encontrados en los puntos de muestreo que conforman cada uno de los 05 conglomerados. Siendo posible identificar que los mayores valores para la mediana de la concentración de los elementos de valor añadido Li, Cs, y Rb se ubican en la barra de color gris de la figura 11, correspondiente al conglomerado C-3 integrado por los puntos de muestreo P4 y P10 (ríos Salado-Locumba y Salado-Sama). La figura 11 permite fácilmente determinar las características únicas de cada conglomerado como son los elementos que predominan en cada uno.

Al ser uno de los objetivos la identificación de los metales de valor añadido, se comparó con otros elementos traza en los 14 puntos de muestreo, observando que los metales Sr, Li, Rb, Cs, Ti, V y U fueron los más abundantes, tal como lo representa la figura 12.

En la figura 11 es posible apreciar el valor de la mediana de los elementos químicos encontrados en los puntos de muestreo que conforman cada uno de los 05 conglomerados. Siendo posible identificar que los mayores valores para la mediana de la concentración de los elementos de valor añadido Li, Cs, y Rb se ubican en la barra de color gris de la figura 11, correspondiente al conglomerado C-3 integrado por los puntos de muestreo P4 y P10 (ríos Salado-Locumba y Salado-Sama). La figura 11 permite fácilmente determinar las características únicas de cada conglomerado como son los elementos que predominan en cada uno.

Al ser uno de los objetivos la identificación de los metales de valor añadido, se comparó con otros elementos traza en los 14 puntos de muestreo, observando que los metales Sr, Li, Rb, Cs, Ti, V y U fueron los más abundantes, tal como lo representa la figura 12.



**Figura 12.** Identificación y concentración en que se encuentran todos los metales de valor añadido y otros elementos a nivel traza en los 14 puntos de muestreo ubicados en las cuencas hidrográfica Locumba y Sama.

En general no se ha encontrado un estudio que correlacione específicamente los elementos As y B con los metales de valor añadido Rb, Cs y Li. Como se mencionó estos elementos se encuentran normalmente en agua de origen geotermal que, al mezclarse con aguas superficiales, contribuyen a elevar la concentración de los mismos, como es el presente caso.

La calidad química de los 14 puntos de muestreo ubicados en diferentes fuentes de agua a lo largo de las cuencas hidrográficas Locumba y Sama, evidencian la presencia de estos elementos (figura 11 y 12). Las investigaciones realizadas<sup>(10)(11)</sup> en agua subterránea, encontraron una buena correlación entre el As total y los elementos traza F, V, Mo, B y Si. Así como la existencia de autocorrelación entre los elementos B, As y Sb. En la misma línea, la

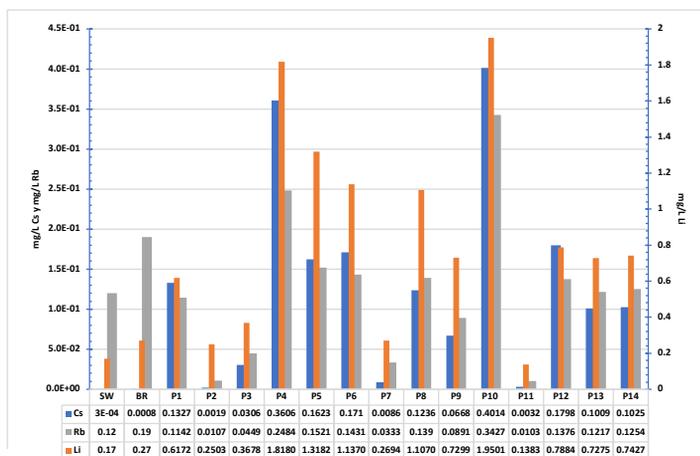
investigación realizada<sup>(12)</sup> reportó que, existe una buena autocorrelación entre los elementos As, Li, B y F presentes en agua geotermal. Es evidente que las investigaciones se plantean de acuerdo a un interés específico. Las investigaciones encontradas relacionadas con los elementos de estudio de la presente investigación, están orientadas al estudio hidrogeoquímico de aguas geotermiales o subterráneas donde el objetivo es distinto al presente estudio; que no se centra en determinar el origen de estos elementos sino en identificarlos y cuantificarlos para su potencial extracción y comercialización, así como encontrar el grado de correlación de los mismos con dos elementos indicadores de calidad importantes como son el As y B encontrados en los 14 puntos de muestreo seleccionados y que superan en la mayoría de los casos el valor de 0,01 mg/L y 0,05 mg/L respectivamente, recomendado por la Organización Mundial de la Salud (OMS).

### 3.3 Potenciales metales de valor añadido a extraer y comercializar

Con la finalidad de poder analizar los valores obtenidos se realiza una comparación con valores referenciales de otros estudios de donde normalmente son extraídos para su comercialización. En la Tabla 3 se observa la comparación entre la concentración de algunos elementos en la salmuera proveniente de la desalinización a través de plantas de osmosis inversa (RO) que tratan el agua del mar Mediterráneo<sup>(13)</sup> y los valores promedio encontrados en los ríos Salado (P4 y P10). Es evidente que las concentraciones de los metales Li, Rb, Cs y Ge en los ríos Salado-Locumba y Salado-Sama sin ningún tratamiento se encuentran en concentraciones superiores a los encontrados en la salmuera; mostrándose que se obtendría potencialmente concentraciones más elevadas de los elementos Li, Rb, Cs y Ge en la salmuera de rechazo, si se somete el agua de los ríos Salado-Locumba y Salado-Sama a un proceso de osmosis inversa u otro proceso de concentración.

**Tabla 3.** Promedio de concentración de algunos elementos presentes en la salmuera de rechazo proveniente de tratamiento de agua de mar por osmosis inversa y valores en el agua superficial de los ríos Salado-Locumba y Salado-Sama.

Metal	Concentración en salmuera de desalación de agua de mar <sup>(13)</sup> (mg/L)	Concentración mg/L en los ríos Salado-Locumba y Salado-Sama (P4 y P10) de las cuencas hidrográficas Locumba y Sama	
		Mar mediterráneo	P4
<b>Li</b>	0,27	1,818±0,415	1,9501±0,5445
<b>Rb</b>	0,19	0,2484±0,0477	0,3427±0,0903
<b>Cs</b>	0,0008	0,3606±0,1036	0,4014±0,0958
<b>Ge</b>	0,00006	0,0047±0,0017	0,0049±0,0016



**Figura 13.** Concentración de los elementos Cs, Rb y Li en los 14 puntos de muestreo, agua de mar (SW) <sup>(16)</sup> y en una salmuera (BR) <sup>(13)</sup> proveniente del agua de rechazo del tratamiento de osmosis inversa de agua de mar.

Los costos en el mercado internacional<sup>(14)</sup> de los metales de valor añadido identificados con potencial proyección de ser extraídos o recuperados para su comercialización, serían los siguientes: rubidio 5980 \$/kg (como RbCl), cesio 2072 \$/kg (como CsCl), germanio 920 \$/kg (GeO<sub>2</sub>) y litio 13 \$/kg (como Li<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). Algo que se advierte en los reportes internacionales<sup>(14)</sup> de costos de estos elementos, es que si bien algunos de ellos tienen altos valores en el mercado internacional, el problema que puede darse es que existan años en los que el mercado se encuentre saturado del metal valioso o su consumo sea bajo. Por otra parte, el precio dependerá de la forma en que se desee el producto, del tipo de sal que tiene como elemento base al metal de valor añadido y la pureza. Según los valores en dólares por kilogramo antes mencionado, los metales de valor añadido con mayor costo en el mercado internacional en orden descendente son Rb, Cs, Ge y Li. Los metales de valor añadido identificados, en esta investigación, para su potencial extracción Rb, Cs y Li se encuentran presente en los 14 puntos de muestreo. La figura 12 indica las concentraciones de estos metales en los 14 puntos de muestreo, los valores de estos elementos en un agua de mar (WR) <sup>(16)</sup> y en salmuera (BR) resultado del proceso de osmosis inversa de agua de mar <sup>(13)</sup>.

## CONCLUSIONES

Los metales de valor añadido identificados y cuantificados en los ríos Salado-Locumba(P4) y Salado-Sama(P10) fueron: Li, Rb, Cs y Ge en concentraciones de 1,818±0,415 mg/L, 0,2484±0,0477 mg/L, 0,3606±0,1036 mg/L y 0,0047±0,0017 mg/L para P4(Salado-Locumba)

y  $1,9501 \pm 0,5445$  mg/L,  $0,3427 \pm 0,0903$  mg/L,  $0,4014 \pm 0,0958$  mg/L y  $0,0049 \pm 0,0016$  para P10(Salado-Sama) respectivamente. Estos elementos por las concentraciones encontradas muestran potencial recuperación o extracción.

Se determinó que la correlación entre los elementos de valor añadido Li, Rb, Cs y los elementos As y B son estadísticamente significativos, positivos y altos ( $r > 0,7$  y  $p < 0,01$ ) en los 14 puntos de muestreo ubicados en diferentes fuentes de agua a lo largo de las dos cuencas hidrográficas. Lo que posibilita utilizar la misma, para calcular indirectamente los valores de la concentración de Cs y Rb a partir de las concentraciones de As, B y Li. Estos cálculos pueden ser aplicados para la construcción de valores históricos referenciales de Rb y Cs a partir de los valores históricos de los elementos As, B y Li determinados en los monitoreos de calidad de agua en las cuencas hidrográficas de Locumba y Sama desde el año 2011 al 2020. La ANA no muestra registro de los elementos Rb y Cs en su historial de calidad de agua, pero si valores para As, B y Li; haciendo posible construir y proyectar las concentraciones de Rb y Cs correspondientes.

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohman de Tacna por financiar a través de fondos de Canon, sobrecanon y regalías mineras esta investigación como parte del proyecto "*Estudio de las especies de arsénico y evaluación de los metales de valor añadido en las cuencas de Locumba y Sama de la región Tacna*".

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Srivastava S, editor. Arsenic in Drinking Water and Food. Arsenic in Drinking Water and Food. Singapore: Springer; 2020. 486 p.
2. Bundschuh J, Litter MI, Parvez F, Román-Ross G, Nicolli HB, Jean JS, et al. One century of arsenic exposure in Latin America: A review of history and occurrence from 14 countries. *Sci Total Environ.* 2012;429:2–35.
3. González Lope S. Diseño de una planta piloto para la evaluación de procesos de extracción de metales de valor añadido en agua de mar [Internet]. Barcelona: Universidad Politécnica de Cataluña; 2010. [Citado 15 jun 2021]. Disponible en: <http://upcommons.upc.edu/handle/2099.1/10043?locale-attribute=es>
4. ANA (Autoridad Nacional del Agua Perú). Plan de gestión de los recursos hídricos de la cuenca Caplina - Locumba [Internet]. 2015. 262 p. [Citado 12 jul 2021]. Disponible en: <http://repositorio.ana.gob.pe/handle/ANA/88>
5. Luque G. Zonas críticas por peligros geológicos en la región Tacna [Internet]. Instituto Geológico, Minero y Metalúrgico - INGEMMET. 2016. [Citado 22 jun 2021]. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12544/2028>
6. Consorcio Río Locumba. Estudio de los recursos hídricos superficiales y subterráneos e

- infraestructura hidráulica para el plan de aprovechamiento en la cuenca del río Locumba, en la región de Tacna: [Internet]. 2017; 09 [Citado 25 jun 2021]. Disponible en: <http://repositorio.ana.gob.pe/handle/ANA/3644>
7. ANA. Protocolo nacional para el monitoreo de la calidad de los recursos hídricos superficiales [Internet]. Autoridad Nacional del Agua. 2016. p. 85. [Citado 8 jun 2021]. Disponible en: <http://repositorio.ana.gob.pe/handle/20.500.12543/209>
  8. Hatipoğlu Temizel E, Gültekin F, Firat Ersoy A. Major, trace, and rare earth element geochemistry of the Ayder and İkizdere (Rize, NE Turkey) geothermal waters: Constraints for water–rock interactions. *Geothermics*. 2020;86:101810. doi:10.1016/j.geothermics.2020.101810
  9. Kaasalainen H, Stefánsson A. The chemistry of trace elements in surface geothermal waters and steam, Iceland. *Chem Geol*. 2012;330–331:60–85.
  10. Bhattacharya P, Claesson M, Bundschuh J, Sracek O, Fagerberg J, Jacks G, et al. Distribution and mobility of arsenic in the Río Dulce alluvial aquifers in Santiago del Estero Province, Argentina. *Sci Total Environ*. 2006;358(1–3):97–120.
  11. Quino-Lima I, Ramos-Ramos O, Ormachea-Muñoz M, Quintanilla-Aguirre J, Duwig C, Maity JP, et al. Spatial dependency of arsenic, antimony, boron and other trace elements in the shallow groundwater systems of the Lower Katari Basin, Bolivian Altiplano. *Sci Total Environ*. 2020; 719:137505. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.137505
  12. Yuan J, Guo Q, Wang Y. Geochemical behaviors of boron and its isotopes in aqueous environment of the Yangbajing and Yangyi geothermal fields, Tibet, China. *J Geochemical Explor*. 2014;140:11–22.
  13. Ortiz-Albo P, Torres-Ortega S, González Prieto M, Urriaga A, Ibañez R. Techno-Economic Feasibility Analysis for Minor Elements Valorization from Desalination Concentrates. *Sep Purif Rev*. 2019;48(3):220–241.
  14. U.S Geological Survey. Mineral Commodity Summaries 2020. Reston, Virginia: Department of the Interior, U.S. Geological Survey (USGS); 2020.
  15. TradeTech (Uranium prices & analysis since 1968) [Internet]. [citado 16 jun 2021]. Disponible en: [https://www.uranium.info/nuexco\\_exchange\\_value.php](https://www.uranium.info/nuexco_exchange_value.php)
  16. Herbelio P. Especiación de metales pesados mediante la formación de quelatos - Distribución de las especies inorgánicas de As y Cr en la Ría de Arousa [Internet]. Santiago de Compostela; 2007. [citado 18 jun 2021]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=108686>

## QUÍMICA VERDE – UNA ALTERNATIVA ECO-AMIGABLE EN LA OBTENCIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE $Ag^0$

Hugo Alarcón<sup>a</sup>, Macarena Tolmos<sup>a</sup>, Nelson Villacrés<sup>a</sup>, Emily Huarote<sup>a</sup>

### RESUMEN

El interés por las nanopartículas de plata (AgNPs) se debe a sus propiedades ópticas, catalíticas y antibacterianas; las cuales dependen de su tamaño, forma y estabilidad coloidal. Las AgNPs pueden ser obtenidas mediante técnicas químicas, físicas y biológicas; sin embargo, el enfoque de “Química Verde” promueve el desarrollo de investigaciones que no incluyan sustancias tóxicas o condiciones de costo elevado en la síntesis de nanopartículas, una alternativa es el uso de extractos de plantas, algas, hongos, bacterias y virus como agentes reductores y estabilizantes en el proceso de síntesis. Por tal motivo esta investigación emplea extractos etanólicos pétalos y hojas de *t* para la obtención de AgNPs con un tamaño de partícula menor a 50 nm. Mediante UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-MS-MS se identificaron los metabolitos secundarios mayoritarios presentes en los extractos etanólicos, las AgNPs fueron caracterizadas mediante UV-Vis, FTIR, DLS y FE-SEM.

**Palabras clave:** Nanopartículas, *Solanum grandiflorum*, Química Verde.

## GREEN CHEMISTRY - AN ECO-FRIENDLY ALTERNATIVE IN OBTAINING $Ag^0$ NANOPARTICLES

### ABSTRACT

Attentiveness in silver nanoparticles (AgNPs) is due to their optical, catalytic and antibacterial properties; which depend on its size, shape and colloidal stability. AgNPs can be obtained by chemical, physical and biological techniques; However, “Green Chemistry” approach promotes the development of research that does not include toxic substances or high-cost conditions in the synthesis of nanoparticles, an alternative is the use of extracts of plants, algae, fungi, bacteria and viruses as agents. reducers and stabilizers in the synthesis process. For this reason, this research employs ethanolic extracts of petals and leaves of *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav to obtain AgNPs with a particle size less than 50 nm. Using UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-MS-MS, the mayor secondary metabolites present in ethanolic extracts were identified, AgNPs were characterized by UV-Vis, FTIR, DLS and FE-SEM.

**Key words:** Nanoparticles, *Solanum grandiflorum*, Green Chemistry.

---

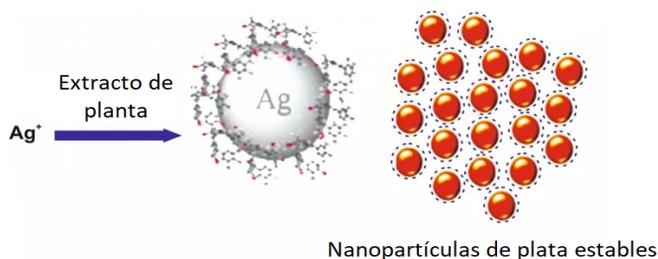
<sup>a</sup> Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Ingeniería, Av. Túpac Amaru 210, Rímac, Lima, Perú.  
halarcon@uni.pe

## INTRODUCCIÓN

Hoy en día la nanotecnología ocupa un lugar importante en el desarrollo científico debido a sus diferentes morfologías, tamaños y propiedades fisicoquímicas; en los últimos años las nanopartículas de plata (AgNPs) se han convertido en uno de los productos de mayor crecimiento en la industria de la nanotecnología, esto se debe a sus diversas propiedades antimicrobianas<sup>1</sup>, cicatrizantes, antivirales y funguicidas<sup>2</sup>.

Existen diversos métodos para realizar síntesis de nanopartículas, entre ellos se mencionan: sol-gel, reducción química, tecnología aerosol, litografía, etc. Sin embargo, estos requieren el uso de reactivos químicos peligrosos y altamente contaminantes al medio ambiente<sup>3</sup>. Un nuevo método es mediante Química Verde, la cual utiliza los extractos de las plantas para obtener metales cerovalentes a escala nanométrica, reduciendo el impacto generado por la síntesis convencional sobre el medio ambiente<sup>4</sup>, además el uso de extractos vegetales en la síntesis influye en la calidad, tamaño y morfología de las nanopartículas obtenidas<sup>5</sup>.

El uso de plantas en la síntesis de nanomateriales puede ser mediante biorremediación (técnica en la cual la planta extrae los metales del suelo y/o agua y fabrica nanopartículas metálicas, o mediante el uso de extractos de diversas partes de la planta, los cuales poseen metabolitos secundarios (terpenos, flavonoides, enzimas, proteínas y cofactores) que actúan como agentes reductores<sup>6</sup> (Figura 1). Los estudios del género *Solanum sp.* reportan diversos metabolitos secundarios entre ellos: glicoalcaloides esteroideos biológicamente activos, alcaloides esteroideos, saponinas, esteroides, flavonoides y alcaloides<sup>7</sup>. Dentro del género *Solanum sp.* se hace mención que la *Solanum grandiflorum Ruiz & Pav. (Solanum lycocarpum A. St.-Hill)*, contiene taninos, flavonoides, saponinas, cumarinas, terpenos/esteroles, alcaloides y esteroides<sup>8</sup>.



**Figura 1.** Representación esquemática de la síntesis de nanopartículas de plata<sup>16</sup>.

## PARTE EXPERIMENTAL

El proceso de obtención de AgNPs empleando extractos etanólicos de hojas y pétalos de *Solanum grandiflorum Ruiz & Pav.* se evidencia en la figura 2.

## 2.1. Obtención de extractos etanólicos

Las hojas y pétalos de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav. se lavaron y secaron a 30 °C; luego se pulverizaron y almacenaron en frascos ámbar. La extracción se realizó por maceración durante 5 días, empleando 0.5 g de hojas y pétalos pulverizadas con 50 mL de etanol 96° cada uno, (relación 1:100); los extractos obtenidos se almacenaron a 4 °C en frascos ámbar.

## 2.2. Análisis fitoquímico

1 gr de hojas y pétalos pulverizados, fueron analizadas con la prueba sal-gelatina (determinación de taninos), tricloruro férrico al 1% (determinación de flavonoides) y reactivo de Shinoda (determinación de polifenoles).

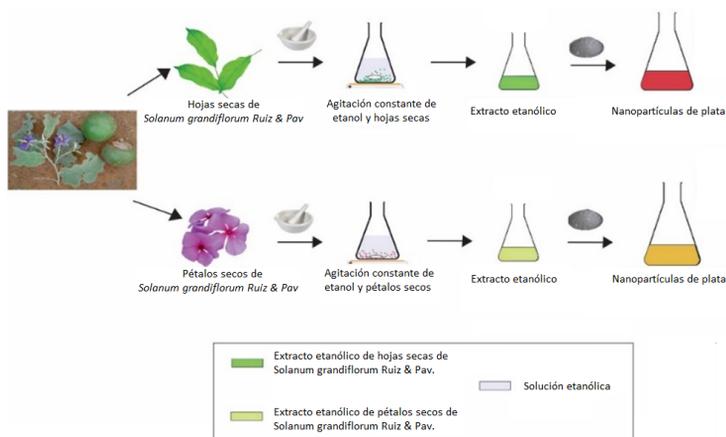
## 2.3. Análisis por UHPLC-ESI-Q-ORBITRAP-MS/MS

Los extractos etanólicos de hojas y pétalos de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav., fueron disueltos en metanol (grado HPLC) asistidos por ultrasonido y filtrados para ser analizados en el Ultra High Performance Liquid Chromatography- Electrospray ionization – Quadrupole -Orbitrap - Mass Spectrometry (UHPLC-ESI-Q-Orbitrap-MS-MS) de Fase reversa C-18, acoplado a un Espectrofotómetro Masas (THERMO Q-Exactive) con precursor de cuadrupolo, operado en modo de Electro-Spray con ionización positiva (ES+).

La separación cromatográfica de 10 µL fue en gradiente con las siguientes condiciones: caudal de la fase móvil – 1 mL min<sup>-1</sup> y tiempo de carrera 47 min.

## 2.4. Síntesis de AgNPs

1 ml de AgNO<sub>3</sub> (0.01 mol L<sup>-1</sup>) con 4 mL de extracto etanólico (relación 1:4), a pH 9 (KOH - 1 M), se agitó durante 60 min. El cambio de color indica la formación de AgNPs. Finalmente, las AgNPs sintetizadas fueron lavadas a 10 000 rpm por triplicado.



**Figura 2.** Obtención de AgNPs de extractos etanólicos de hojas y pétalos de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.

## 2.5. Caracterización de AgNPs

Las AgNPs obtenidas se caracterizaron mediante Microscopía Electrónica de Barrido de Emisión de Campo (FE-SEM) (SU8230, Hitachi), Espectroscopía Ultravioleta – Visible (UV-Vis) (Lambda 25, Perkin elmer), Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) (IR Prestige – 21, Shimadzu) y Dispersión Dinámica de Luz (DLS) (Brookhaven Big sizer 90 Plus).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1. Del análisis fitoquímico

En la tabla 1, se evidencia la presencia de polifenoles (flavonoides) y taninos presentes en hojas y pétalos *Solanum grandiflorum Ruiz & Pav.*

**Tabla 1.** Ensayos fitoquímicos.

Extractos	Sal-gelatina (Taninos)	FeCl <sub>3</sub> (Flavonoides)	Shinoda (Polifenoles)
Pétalos	-	+ (magenta)	+ (transparente → negro)
Hojas	+	- (verde)	+ (verde claro → verde marrón)

+: reacción positiva  
-: no reaccionó

### 3.2. Del análisis por UHPLC-ESI-Q-ORBITRAP-MS/MS

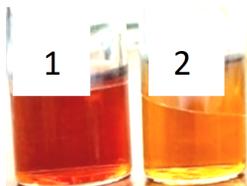
Esta técnica permitió identificar los compuestos orgánicos presentes en los extractos etnológicos de hojas y pétalos de *Solanum grandiflorum Ruiz & Pav.*, tal como se evidencia en la tabla 2. Los compuestos identificados presentan grupos -OH en su estructura, pertenecientes a compuestos fenólicos, los cuales presentan actividad antioxidante la cual reside en su capacidad para donar electrones o átomos de hidrógeno.

**Tabla 2.** Metabolitos secundarios presentes en extractos de hojas y pétalos.

Identificación	Partes de la planta	Composición elemental [M-H]	t <sub>r</sub> (min.)	Masa teórica (m/z)	Masa medida (m/z)	iones MS <sup>n</sup> (ppm)
Nicotiflorin (Kaempferol-3-rutinoside) <sup>9</sup>	Pétalos	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	15.48	593.5102	593.15143	255.02982 285.03848
1,3-Dicaffeoylquinic acid <sup>10</sup>	Pétalos y hojas	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	16.12	515.4429	515.11902	173.0449 135.04443
Chlorogenic acid <sup>10</sup>	Pétalos y hojas	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	13.71	353.3008	353.08780	
Quinic acid <sup>10</sup>	Pétalos y hojas	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	3.66	191.1586	191.05573	191.05560
N(2)-Malonyl-D-tryptophan <sup>11</sup>	Pétalos	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	4.08	290.275	290.08810	
3,4 Dicaffeoylquinic acid <sup>12</sup>	Pétalos y hojas	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	16.10	515.447	515.11914	173.04480 179.03450
4-caffeoylquinic acid <sup>12</sup>	Pétalos	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	14.39	353.303	353.08783	173.04482 191.05557
Esculetin <sup>12</sup>	Hojas	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	14.75	177.135	177.01897	135.04449
Caffeic acid <sup>13</sup>	Hojas	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	14.80	179.151	179.03448	135.04457

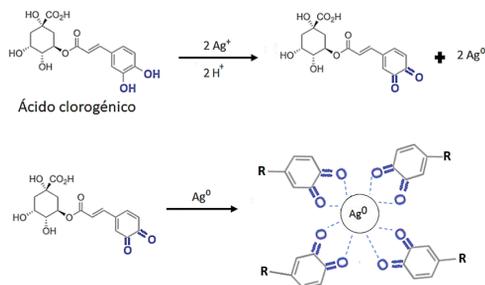
### 3.3. De la síntesis de AgNPs

La síntesis de AgNPs a partir de extractos etanólicos de hojas y pétalos de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav. con  $\text{AgNO}_3$ , genera un cambio de color de amarillo a rojo o naranja durante la reacción, tal como se evidencia en la figura 3.



**Figura 3.** AgNPs de extractos etanólicos de 1) pétalos, 2) hojas de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.

La reducción de iones plata a AgNPs se realiza empleando agentes reductores (compuestos fenólicos y flavonoides) enriquecidos con grupos funcionales hidroxilos presentes en los extractos etanólicos<sup>14</sup>, estas moléculas actúan como agentes reductores y estabilizadores de las nanopartículas, tal como se observa en la figura 4, realizando una combinación de reducción de iones  $\text{Ag}^+$  y oxidación de grupos  $\text{OH}^{18}$ .



**Figura 4.** Mecanismo de reducción de iones plata a AgNPs mediante el agente reductor fenólico (ácido clorogénico) presente en los extractos etanólicos de hojas y pétalos de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.

### 3.4. De la caracterización de AgNPs

Los resultados obtenidos de las diferentes técnicas de caracterización en las AgNPs se detallan a continuación:

#### 3.4.1. Espectroscopía Ultravioleta – Visible (UV-Vis)

En el espectro UV-Vis las AgNPs exhiben una absorción máxima en el rango de 400 a 500  $\text{nm}^{17}$ , tal como se observa en los espectros UV-Vis (ver figura 5) de las AgNPs sintetizadas a partir de los extractos etanólicos de pétalos y hojas de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav. con  $\text{AgNO}_3$ , los cuales presentan una absorción máxima a 412 nm y 418 nm, respectivamente.

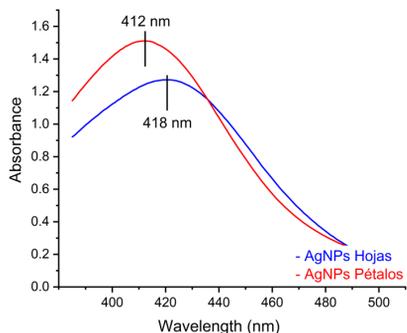


Figura 5. Espectros UV-Vis de las AgNPs obtenidas a partir de extractos etanólicos de hojas y pétalos.

### 3.4.2. Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

La figura 6 muestra el espectro FTIR de las AgNPs sintetizadas con extractos etanólicos de *Solanum grandiflorum Ruiz & Pav.* en el rango de 500 – 4000  $cm^{-1}$ . Los espectros FTIR de las AgNPs evidencian incremento en los picos cercanos a 3245  $cm^{-1}$  y 3288  $cm^{-1}$  pertenecientes al grupo OH, 1042  $cm^{-1}$  y 1028  $cm^{-1}$  enlace C-O, y a 2931  $cm^{-1}$  y 2097  $cm^{-1}$  correspondientes al enlace C-H de los alquenos aromáticos. Lo que indica una interacción ( $-C-O - - Ag^0$ ) de los grupos carbonilos cercanos a dobles enlaces conjugados de los compuestos fenólicos y flavonoides presentes en los extractos de hojas y pétalos *Solanum grandiflorum Ruiz & Pav.* y la plata reducida; estos metabolitos desempeñan un papel importante en la protección y estabilidad de las AgNPs15.

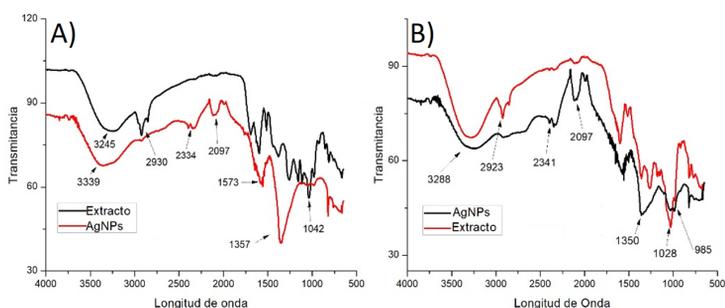


Figura 6. Espectros FTIR de las AgNPs obtenidas a partir de extractos etanólicos de A) hojas y B) pétalos.

### 3.4.3. Dispersión Dinámica de Luz (DLS)

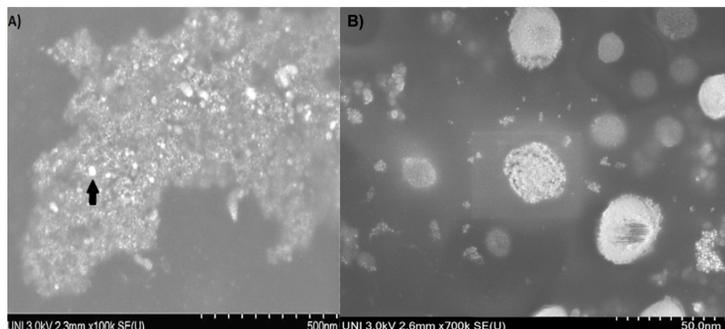
Empleando DLS se determinó el tamaño hidrodinámico de las AgNPs, los resultados obtenidos en la tabla 3, evidencian un incremento del diámetro hidrodinámico entre la primera y tercera semana después del proceso de síntesis, por lo que se presume un proceso de aglomeración entre nanopartículas según el tiempo.

**Tabla 3.** Estabilidad de AgNPs en las primeras tres semanas.

MUESTRA	Diámetro hidrodinámico promedio (nm)		
	1° Semana	2° Semana	3° Semana
AgNPs - Hojas	49.10	50.00	83.80
AgNPs - Pétalos	33.35	33.40	101.45

### 3.4.4. Microscopía Electrónica de Barrido de Emisión de Campo (FE-SEM)

La imagen FE-SEM, tal como se observa en la figura 7, proporciona características morfológicas de las AgNPs sintetizadas a partir de los extractos etanólicos de hojas y pétalos de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav. En la figura 7A se observa la forma esférica de las AgNPs las cuales están recubiertas por los metabolitos que participan en el proceso reducción – oxidación, y en la figura 7B la estabilización de las AgNPs recubiertas por los metabolitos a otra escala.



**Figura 7.** Imagen FE-SEM de las AgNPs obtenidas a partir de extracto etanólico de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.

## CONCLUSIONES

Los polifenoles presentes en los extractos etanólicos de las hojas y pétalos de *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav. permiten la síntesis de AgNPs con un tamaño de partícula menor a 50 nm. durante la primera semana, evidenciándose un crecimiento del tamaño de partícula en la tercera semana posterior a la síntesis, por lo cual esta metodología no permite la síntesis de AgNPs estables en solución coloidal.

## AGRADECIMIENTO

Agradecimiento al Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional de Ingeniería por el financiamiento al proyecto.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ávalos A, Haza A, Mateo D, Morales P. Nanopartículas de plata: aplicaciones y riesgos tóxicos para la salud humana y el medio ambiente. Rev Complut Cienc Vet. 2013; 7(2): 1-23.
2. Monge M. Nanopartículas de plata métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. Anales de Química. 2009; 105(1): 33-41.
3. Santos A, Troncoso C, Lamilla C, Llanquino V, Pavez M, Barrientos L. Nanopartículas sintetizadas por bacterias antárticas y sus posibles mecanismos de síntesis. J Morphol. 2017; 35(1): 26-33.
4. Sifontes Á. Biosíntesis de nanomateriales: hacia el avance de la nanotecnología verde. Mundo Nano. 2014; 7(13). doi: 10.22201/ceiich.24485691e.2014.13.48709.
5. Shah M, Fawcett D, Sharma S, Tripathy SK, Poinern GEJ. Green Synthesis of Metallic Nanoparticles via Biological Entities. Materials (Basel). 2015;8(11):7278-7308.
6. Irvani S. Green Synthesis of Metal Nanoparticles Using Plants. Green Chem. 2011; 13(10): 2638-2650.
7. Barros RP, da Cunha EV, Catão RM, Scotti L, Souza MS, Brás AA, et al. Virtual screening of secondary metabolites of the genus *Solanum* with potential antimicrobial activity. Rev Bras Farmacogn. 2018; 28(6): 686–691.
8. Pereira TM, Silva VD, Ribeiro Neto JA, Alves SN, Lima LA. Larvicidal activity of the methanol extract and fractions of the green fruits of *Solanum lycocarpum* (Solanaceae) against the vector *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). Rev Soc Bras Med Trop. 2014; 47(5): 646-648.
9. Slimestad R, Fossen T, Verheul MJ. The flavonoids of tomatoes. J Agric Food Chem. 2008;56(7):2436-41.

10. Daji G, Steenkamp P, Madala N, Dlamini B. Phytochemical Composition of *Solanum retroflexum* Analysed with the Aid of Ultra-Performance Liquid Chromatography Hyphenated to Quadrupole-Time-of-Flight Mass Spectrometry (UPLC-qTOF-MS). *J Food Qual.* 2018; 2018:3678795. doi:10.1155/2018/3678795.
11. Sade D, Shriki O, Cuadros-Inostroza A, Tohge T, Semel Y, Haviv Y, et al. Brotman, Metabolomics Comparative metabolomics and transcriptomics of plant response to Tomato yellow leaf curl virus infection in resistant and susceptible tomato cultivars. *Metabolomics.* 2015; 11(1): 81-97.
12. López-Cobo A. Caracterización de compuestos bioactivos en productos y subproductos vegetales mediante técnicas cromatográficas acopladas a espectrometría de masas. [Tesis doctoral]. Granada: Universidad de Granada; 2017.
13. Chideh S, Pilard S, Attoumbre J, Saguez R, Hassan-Abdallah A, Cailleu D, et al. 5-O -Caffeoylshikimic acid from *Solanum somalense* leaves: Advantage of centrifugal partition chromatography over conventional column chromatography. *J Sep Sci.* 2014; 37(17): 2331-2339.
14. Terenteva EA, Apyari VV, Dmitrienko SG, Zolotov YA. Formation of plasmonic silver nanoparticles by flavonoid reduction: A comparative study and application for determination of these substances. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2015;151:89-95.
15. Gentle AA, Omogbolahan SQ, Godwin JO. Characterization of Biosynthesized Silver Nanoparticles using UV-Visible and FTIR Spectroscopy. *Afr J Environ Nat Sci Res.* 2020; 3(5): 21-26.
16. Selvaraj V, Sagadevan S, Muthukrishnan L, Johan MR, Podder J. Eco-friendly approach in synthesis of silver nanoparticles and evaluation of optical, surface morphological and antimicrobial properties. *J Nanostructure Chem.* 2019; 9: 153-162.
17. Tripathi RM, Kumar N, Shrivastav A, Singh P, Shrivastav BR. Catalytic activity of biogenic silver nanoparticles synthesized by *Ficus panda* leaf extract. *J Mol Catal B Enzym.* 2013; 96: 75-80.
18. B Aziz S, Hussein G, Brza MA, J Mohammed S, T Abdulwahid R, Raza Saeed S, Hassanzadeh A. Fabrication of Interconnected Plasmonic Spherical Silver Nanoparticles with Enhanced Localized Surface Plasmon Resonance (LSPR) Peaks Using Quince Leaf Extract Solution. *Nanomaterials (Basel).* 2019 Nov 2;9(11):1557. doi: 10.3390/nano9111557.



**XXX CONGRESO PERUANO DE QUÍMICA**  
**“Dra. Olga Lock Sing de Ugaz”**  
**I CONGRESO IBERO LATINOAMERICANO DE NANOTECNOLOGÍA,**  
**NANOCIENCIAS Y APLICACIONES**  
**“Dra. Catalina Ruiz Pérez”**  
**Del 18 al 20 de octubre 2021**