



Pontificia Universidad
Católica del Ecuador

8(2)

ISSN 2477-8788
eISSN 2602-8344

infoANALÍTICA

REVISTA ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS





Pontificia Universidad
Católica del Ecuador

8(2)

ISSN 2477-8788
eISSN 2602-8344

infoANALÍTICA

REVISTA ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

Dr. Fernando Ponce León S.J.

Rector

Dra. Fabiola Jarrín

Directora General Académica

Mtr. Santiago Vizcaino

Director del Centro de Publicaciones

Dr. Renato Valencia Reyes

Decano de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Dr. José Luis Piñeiros

Coordinador Escuela de Ciencias Química

Editora

Lorena Meneses Olmedo, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.

Miembros del Comité Editorial

Lenys Fernández Martínez, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.

Julio Vinuela Galárraga, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.

Leadina Sánchez Barboza, Universidad Politécnica Salesiana, Quito, Ecuador.

Rafael Uribe Soto, Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador.

Yolanda López Franco, Centro de Investigación en Alimentos y Desarrollo, CIAD, C., Hermosillo, México

Elizabeth Pabón Gelvez, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Medellín, Colombia.

Maria Luisa Valenzuela, Universidad Autónoma de Chile, Santiago, Chile

Franklin Méndez, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México.

Tatiana Garrido Reyes, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

José Luis Paz, Universidad Simón Bolívar, Caracas, Venezuela.

Secretaria

Fátima Tasiguano Morales (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)

Autores

Artículos de Revisión

Marco Vinicio Carrón V. (Universidad Internacional SEK, Quito, Ecuador)

Fernanda Pilaquinga F. (Universidad Internacional SEK, Quito, Ecuador; Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito Ecuador)

Artículos Científicos

Johanna Alvarado-Ortiz (Universidad Central del Ecuador, Quito Ecuador)

Lorena Meneses O. (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)

Fabio Idrovo-Espin (Universidad Central del Ecuador, Quito Ecuador)

José Luis Paz (Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador)

Eleana Ruiz-Hinojoza (Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador)

Ysaías Alvarado (Laboratorio de Caracterización Molecular y Biomolecular (LCMB), IVIC, Zulia, Venezuela)

Luis Lascano (Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador)

Cesar Costa-Vera (Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador)

Stalin Bermúdez-Puga (Universidad Regional Amazónica IKIAM, Tena, Napo, Ecuador)

Génesis Romero-Zambrano (Universidad Regional Amazónica IKIAM, Tena, Napo, Ecuador)

Maria Peña-Mora (Universidad Regional Amazónica IKIAM, Tena, Napo, Ecuador)

Amanda Cevallos-Vallejo (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)

Juan Romero-Benavides (Universidad Técnica Particular de Loja Sección, Loja, Ecuador)

Luis Guamán O. (Universidad Técnica Particular de Loja, Loja, Ecuador)

Pablo Cisneros-Pérez (Universidad Regional Amazónica IKIAM, Tena, Napo, Ecuador)

David Chuquer S. (Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador; Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)

Darío Torres (Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador)

Edgar González V. (Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador)

Jorge Moncayo (Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador)

Diana Astorga (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)

Christian Alcivar (Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador)

Jesús González-Laprea (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)

Carlos Durante R. (Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela)

José Darías G. (Universidad Simón Bolívar, Caracas, Venezuela)

José Rosero (Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador)

Martha Suárez (Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador)

Stephanie Mora (Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador)

Bryan Achig (Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador)

Adriana Chamba (Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador)

Alex Anrango (Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador)

Paúl Hidalgo (Universidad Técnica Particular de Loja, Loja, Ecuador)

Maria López (Pontificia Universidad Católica del Ecuador-Sede Ibarra, Ibarra, Ecuador)

Moraima Mera (Pontificia Universidad Católica del Ecuador-Sede Ibarra, Ibarra, Ecuador)

Luz Cañamar (Pontificia Universidad Católica del Ecuador-Sede Ibarra, Ibarra, Ecuador)

Omar Malagón (Universidad Técnica Particular de Loja, Loja, Ecuador)

Arany Borja-Urzola (Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México)

Marisela Bernal-González (Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México)

Rolando García-Gómez (Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México)

Ronny Flores-Ortega (Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador)

Maria Durán-Domínguez-de-Bazúa (Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México)

Felipe Gallegos P. (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)

Yolanda López F. (Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C, Hermosillo, Sonora, México)

Ricardo Borja (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)

Lenys Fernandez (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)
Patricio JEspinoza-Montero (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)

Curiosidades de la Química

Samantha García (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)
Doménica Vásconez (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)
Andrea Jaramillo (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)
Melissa Nasevilla (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)
Eugenia Pérez (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)
Pablo M. Romero (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador)

ISSN 2477-8788
eISSN 2602-8344

Diagramación e impresión

PPL Impresores
pplimpresores@gmail.com

Quito, julio de 2020

Centro de Publicaciones
Av. 12 de Octubre 10-76 y Roca
Telf.: (593-2)2991711

Contenido

Presentación	13
Editorial	17
ARTÍCULOS DE REVISIÓN	19
NANOTECNOLOGÍA APLICADA EN MATERIALES REFRACTARIOS: UNA REVISIÓN	
NANOTECHNOLOGY APPLIED IN REFRACTORY MATERIALS: A REVIEW	
Marco Vinicio Carrión V. & Fernanda Pilaquinga F.	21
Resumen	21
Introducción	23
Resultados	31
Conclusión	38
Agradecimientos	38
Lista de referencias	39
ARTÍCULOS CIENTÍFICOS	47
ORIGEN PROBABLE Y TRANSMISIÓN ENTRE ESPECIES DEL SARS-CoV-2	
PROBABLE ORIGIN AND CROSS-SPECIES TRANSMISSION OF SARS-CoV-2	
Johanna Alvarado-Ortiz, Lorena Meneses O. & Fabio Idrovo-Espín	49
Resumen	49
Introducción	51
Materiales y Métodos	55
Resultados	56
Discusión	59
Conclusión	62
Lista de referencias	63
EFFECTOS DEL ACOPLAMIENTO INTRAMOLECULAR EN LAS RESPUESTAS ÓPTICAS DE SISTEMAS DE DOS NIVELES	
INTRAMOLECULAR COUPLING EFFECTS IN OPTICAL RESPONSES OF TWO-LEVEL SYSTEMS	
José Luis Paz, Eleana Ruiz-Hinojoza, Ysaías Alvarado, Luis Lascano & Cesar Costa-Vera	69

Resumen	69
Introducción	71
Metodología	72
Resultados	76
Discusión	78
Conclusión	79
Lista de referencias	80

CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA Y ELUCIDACIÓN ESTRUCTURAL DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE PICRAMNIA SP. EN LA AMAZONÍA ECUATORIANA

PHYTOCHEMICAL SCREENING AND STRUCTURAL ELUCIDATION
OF SECONDARY METABOLITES FROM PICRAMNIA SP.
IN THE ECUADORIAN AMAZON

Stalin Bermúdez-Puga, Génesis Romero-Zambrano,
María Peñuela-Mora, Amanda Cevallos-Vallejo,
Juan Romero-Benavides, Luis Guamán O. & Pablo Cisneros-Pérez 83

Resumen	84
Introducción	85
Materiales y Métodos	86
Resultados	89
Discusión	92
Conclusión	93
Agradecimientos	94
Lista de referencias	94

MONITOREO DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA DE DESECHOS DEL CENTRO DE FAENAMIENTO DE QUITO

MONITORING OF ANAEROBIC WASTE DIGESTION
AT QUITO SLAUGHTERHOUSE

David Chuquer S., Darío Torres, Edgar González V.,
Jorge Moncayo, Diana Astorga & Christian Alcívar 97

Resumen	97
Introducción	99
Materiales y Métodos	100
Resultados	104
Discusión	109
Conclusión	112
Agradecimiento	113
Lista de referencias	113

**USO DE FUNCIONES DE GUMBEL
PARA EL AJUSTE Y DECONVOLUCIÓN**

DE TERMOGRAMAS DE ANÁLISIS TÉRMICO DIFERENCIAL

USE OF GUMBEL DISTRIBUTION FUNCTIONS FOR THE FITTING
AND DECONVOLUTION OF DIFFERENTIAL THERMAL ANALYSIS
THERMOGRAMS

Jesús González-Laprea, Carlos Durante R. & José Darías G.

117

Resumen	118
Introducción	119
Materiales y Métodos	122
Resultados	124
Discusión	131
Conclusión	132
Lista de referencias	133

**OBTENCIÓN DE QUITINA A PARTIR DEL EXOESQUELETO DE CAMARÓN
(*Litopenaeus vannamei*)**

COMO COAGULANTE – FLOCULANTE EN AGUAS DE BAJA TURBIDEZ

OBTAINING CHITIN FROM THE SHRIMP (*Litopenaeus vannamei*)
EXOSKELETON AS COAGULANT - FLOCCULANT
IN WATERS OF LOW TURBIDITY

José Rosero, Martha Suárez, Stephanie Mora, Bryan Achig,

Adriana Chamba & Alex Anrango

135

Resumen	136
Introducción	137
Materiales y Métodos	139
Resultados	142
Discusión	143
Conclusión	149
Lista de referencias	149

USO ETNOBOTÁNICO Y PRINCIPIOS

ACTIVOS DE *Monnina crassifolia* KUNTH; POLYGALACEAE

ETHNOBOTANICAL USE AND ACTIVE INGREDIENTS
OF *Monnina crassifolia* KUNTH; POLYGALACEAE

Paúl Hidalgo, María López, Moraima Mera, Luz Cañamar &

Omar Malagón

153

Resumen	153
Introducción	155
Materiales y Métodos	157

Resultados	162
Discusión	174
Conclusión	175
Lista de referencias	177

**ADSORCIÓN DE TRIAZINAS POR QUITOSANA
OBTENIDA DE RESIDUOS DE CAMARÓN EMPLEANDO UNA MEZCLA
DE CLORURO DE CALCIO/METANOL/AGUA COMO DISOLVENTE**

TRIAZINES ADSORPTION BY CHITOSAN OBTAINED FROM
SHRIMP WASTE BY A CALCIUM CHLORIDE/METHANOL/WATER
MIXTURE AS A SOLVENT

Arany Borja-Urzola, Marisela Bernal-González,
Rolando García-Gómez, Ronny Flores-Ortega
& María Durán-Domínguez-de-Bazúa

181

Resumen	182
Introducción	183
Materiales y Métodos	184
Resultados	187
Discusión	195
Conclusión	199
Lista de referencias	200

**ANÁLISIS POR ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJOS (FTIR)
DEL EXUDADO DEL ÁRBOL DE ALGARROBO *Prosopis juliflora*
(FABACEAE)**

INFRARED SPECTROSCOPY (FTIR) ANALYSIS OF THE CAROB TREE
EXUDATE *Prosopis juliflora* (FABACEAE)

Felipe Gallegos P., Yolanda López F. & Lorena Meneses O.

207

Resumen	207
Introducción	209
Materiales y Métodos	210
Resultados	211
Discusión	217
Conclusión	218
Lista de referencias	219

**CUANTIFICACIÓN DE PLOMO EN CERVEZA ARTESANAL
MEDIANTE VOLTAMETRÍA DE REDISOLUCIÓN ANÓDICA CON PULSO
DIFERENCIAL SOBRE ELECTRODO DE DIAMANTE DOPADO CON BORO**

LEAD CUANTIFICATION ON CRAFT BEER BY DIFFERENTIAL PULSE
ANODIC STRIPPING VOLTAMMETRY ON BORON-DOPED
DIAMOND ELECTRODE

Ricardo Borja, Lenys Fernandez, & Patricio Espinoza-Montero 223

Resumen 223

Introducción 225

Materiales y Métodos 227

Resultados 229

Discusión 233

Conclusión 236

Lista de referencias

CURIOSIDADES DE LA QUÍMICA 241

Instructivo para publicar artículos en InfoANALÍTICA 257

PRESENTACION

La Escuela de Ciencias Químicas de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, con la colaboración del Centro de Publicaciones, edita este octavo volumen, n° 2 de su Revista infoANALITICA, con la participación de profesionales de universidades amigas que participan conjuntamente en proyectos de investigación, investigadores y estudiantes de las carreras de Ciencias Químicas con mención en Química Analítica y de Química.

En tiempo del *homo sapiens* (hace 250 000 años), se consigue el dominio sobre el fuego, que se utilizó como protección contra los predadores y permitió optimizar el uso de los alimentos. La interacción entre el manejo del fuego, los primeros Brujos e Iluminados y la química, llevó al desarrollo de productos como la pólvora, producto de mezclar el salitre, el azufre y el carbón, que, de acuerdo al Tratado de la pólvora, editado en Segovia, en el año 1847, provenían de los países del este de Asia como China. El dominio del fuego fue muy necesario para el futuro desarrollo de la metalurgia, la cerámica, el vidrio y la mayoría de los procesos Químicos.

El filósofo griego Aristóteles pensaba que las sustancias estaban formadas por cuatro elementos: tierra, aire, agua y fuego. Paralelamente circulaba la corriente sobre el atomismo del filósofo griego Demócrito de Abdera.

Entre los siglos III a.C. y el siglo XVI d.C, la química estaba dominada por la alquimia. Uno de sus objetivos más conocido era la búsqueda de la piedra filosofal, un método capaz de transformar los metales en oro.

La química como tal comienza a desarrollarse entre los siglos XVI y XVII. Se estudió el comportamiento y propiedades de los gases, estableciéndose técnicas de medición. Se desarrolló el concepto de elemento como una sustancia que no podía descomponerse en otras.

A partir del siglo XVIII, la química adquiere definitivamente las características de una ciencia experimental. Se desarrollaron métodos de medición cuidadosos, que permiten un mejor conocimiento de algunos fenómenos, como el de la combustión de la materia.

El químico ruso Dimitri Ivanovich Mendeleyev desarrolló una tabla periódica de los elementos según el orden creciente de sus masas atómicas, cuando llegaba a un elemento que tenía propiedades semejantes a las de otro elemento empezaba otra columna.

A lo largo del siglo XIX, la química consideraba la teoría atómica de John Dalton. Svante Arrhenius había investigado la estructura interna de los átomos proponiendo su teoría de la ionización. Su trabajo fue seguido por Ernest Rutherford, quien abrió las puertas al desarrollo de los primeros modelos de átomos que desembocarían en el modelo atómico de Niels Bohr.

Al finalizar la segunda guerra mundial, cambia la principal fuente de energía de carbón a petróleo, básicamente debido a la facilidad de su manejo, además de poder ser transformado en innumerables subproductos, esto impulsó al desarrollo de la Petroquímica.

En la actualidad, la Química está presente en todas las actividades humanas, impulsado una mejor calidad de vida para los seres humanos.

El gran desafío que tenemos como profesionales de la Química es cumplir con la encíclica papal “*Laudato Sí*”, una manera de hacerlo es entender y aplicar los 12 principios de La Química Sostenible o Verde, enunciados por Paul Anastas de la EPA, cuyo objetivo principal es mantener un desarrollo sostenible y acorde con el medio ambiente, mitigando y resolviendo los problemas ambientales generados por procesos químicos, residuos contaminantes y productos desechados. Respetando así a toda la biota en el único mundo que disponemos, la Tierra.

Como Coordinador de la Escuela de Ciencias Químicas, quiero dejar mi profundo agradecimiento a las autoridades de la PUCE, por su apoyo incondicional en la realización y financiamiento de proyectos de investigación en la Escuela de Ciencias Químicas, así como también el permitirnos difundir los resultados a través de esta Revista infoANALITICA. Así también agradecer a los investigadores de otras universidades y organismos, que han colaborado con el desarrollo de este número de InfoANALITICA, por su valioso aporte en este octavo volumen, n° 2.

También debo expresar mi infinita gratitud a la Dra. Lorena Meneses O. como coordinadora del Comité Editorial de nuestra Escuela, así como también a sus miembros por la colaboración brindada: Dra. Lenys Fernández y Dr. Julio Vinuesa de la PUCE, Dra. Leadina Sánchez de la Universidad Politécnica Salesiana, Dr. Rafael Uribe de la Escuela Politécnica Nacional, Dra. Yolanda López del Centro de Investigación en Alimentos y Desarrollo CIAD de México, Dra. Elizabeth Pabón de la Universidad Nacional de Colombia, Dra. María Luisa Valenzuela de la Universidad Autónoma de Chile, Dr. Franklin Méndez de la Universidad Nacional Autónoma de México, Dra. Tatiana Garrido de la Universidad de Chile y Dr. José Luis Paz de la Universidad Simón Bolívar de Venezuela.

Estoy seguro que este aporte científico redundará en futuras investigaciones que contribuyan y mejoren el conocimiento y las prácticas educativas e incentiven la experiencia de esta encantadora ciencia llamada Química.

Dr. José Luis Piñeiros Mendoza

Coordinador de la Escuela de Ciencias Químicas

EDITORIAL

La Revista infoANALÍTICA, en su volumen 8 número 2, presenta importantes novedades de contenido. La pandemia no nos ha detenido, al contrario, nos ha fortalecido para continuar con el proceso editorial de nuestra Revista, con el aporte de investigadores de la PUCE, de otras Universidades del Ecuador y de varias Universidades y Centros de Investigación internacionales, lo que le ha dado un carácter muy innovador al presente número de la Revista.

El cumplimiento de rigurosas características de calidad de una revista electrónica, de acuerdo con los requerimientos internacionales que deben cumplir las publicaciones científicas de acceso abierto, ha permitido que ya estemos indexados en Latindex, DOAJ, PKP, AmeliCA y Dialnet Plus, y en las bases de datos Academia y Google Scholar. Seguimos aunando esfuerzos para que la Revista infoANALÍTICA sea reconocida a nivel nacional e internacional como un portal de difusión de las ciencias químicas.

En este número nuevamente hemos incluido la sección de Artículos de revisión, además de las tradicionales secciones de Artículos científicos y de Notas científicas.

En el presente número, se ha publicado un artículo de revisión sobre nanotecnología aplicada a materiales refractarios. En la sección de artículos científicos se presenta cuál sería el origen y la posible manera de transmisión del virus Sars-Cov-2; los efectos del acoplamiento intramolecular en respuestas ópticas; la elucidación estructural de los metabolitos secundarios de *Picramnia* de la provincia de Napo; el monitoreo del proceso de digestión de desechos de un centro de faenamiento; el uso de funciones de Gumbel en termogramas de análisis térmico diferencial; el uso como floculante de quitina obtenida de camarón; el uso etnobotánico de *Monnina crassifolia* de la provincia de Imbabura;

la adsorción de triazinas por medio de quitosana obtenida de camarón; el análisis del exudado del árbol de Algarrobo y la cuantificación de plomo en cerveza artesanal mediante métodos electroquímicos.

Invitamos a nuestros lectores a explorar este número de la revista, donde encontrarán información de actualidad y relevancia científica.

Dra. Lorena Meneses Olmedo

Editora

ARTÍCULOS DE REVISIÓN

NANOTECNOLOGÍA APLICADA EN MATERIALES REFRACTARIOS: UNA REVISIÓN

NANOTECHNOLOGY APPLIED IN REFRACTORY MATERIALS: A REVIEW

Marco Vinicio Carrión V.^{1*} & Fernanda Pilaquinga F.^{1,2}

Recibido: 19 de marzo 2020 / Aceptado: 2 de junio 2020 /

Publicado en línea: 8 de junio de 2020

DOI: 10.26807/ia.v8i2.141

Palabras claves: materiales refractarios, nanomateriales, grafeno, titanio, óxido férrico, magnesita, zirconia, sílice y alúmina

Keywords: refractory materials, nanomaterials, graphene, titanium, ferric oxide, magnesite, zirconia, alumina, silica

RESUMEN

Los materiales refractarios son de gran importancia para la humanidad, debido a su capacidad de resistir altas temperaturas. Son empleados en la industria del cemento, cerámica, vidrio, metalúrgica, siderúrgica y petroquímica. La mayor preocupación a nivel industrial es que los materiales refractarios son sometidos a varios mecanismos de desgaste durante el proceso de producción, tales como:

1 Universidad Internacional SEK, Maestría en Diseño Industrial y Procesos, Quito, Ecuador (*correspondencia: mvcarrion.mdin@uisek.edu.ec; maria.pilaquinga@uisek.edu.ec)

2 Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Escuela de Ciencias Químicas, Quito, Ecuador (mfpilaquingaf@puce.edu.ec)

ataque químico, mecánico, termomecánico y carga térmica. Si el material no cuenta con las propiedades adecuadas, su durabilidad se verá afectada, y por ende los costos de producción. En este sentido la combinación de los nanomateriales, se convierte en una importante alternativa para mejorar las propiedades de los materiales refractarios, proporcionándoles mejor densidad, baja porosidad, resistencia a la erosión, baja conductividad térmica, entre otras. El presente artículo realiza una revisión de varios trabajos de investigación, acerca de la evolución de los nanomateriales aplicados a los materiales refractarios, entre los que se mencionan el uso de grafeno, dióxido de titanio, óxido férrico, magnesita, zirconia, alúmina y sílice, para mejorar las propiedades físicas de los materiales refractarios. De manera general, los estudios demuestran que el uso de los nanomateriales, provee a los materiales refractarios mejores propiedades, en rangos de concentración específicos. Sin embargo, todos los estudios han sido realizados a nivel de laboratorio, por lo que sería promisorio su uso a nivel industrial.

ABSTRACT

Refractory materials are of great importance for humanity, due to their ability to resist high temperatures. They are used in cement, ceramics, glass, metallurgical, steelmaker, and petrochemical industry. The biggest concern at the industrial level is that the refractory materials are subjected to various wear mechanisms during the production process, such as chemical, mechanical, thermomechanical, and thermal loading. If the material does not have the properties, its durability will be affected, and therefore the production costs. In this way the combination of the nanomaterials, becomes an important alternative to improve the properties of the refractory materials providing them with a better density, low porosity, resistance to erosion, low thermal conductivity, among others. The present article makes a review of several research papers about the evolution of the nanomaterials applied on the refractories, including the use of graphene, titanium dioxide, ferric oxide, magnesite, zirconia, alumina, and silica, to improve the physical properties of the refractory materials. In general, studies showed that the use of nanomaterials provides to the refractories better properties, in a specific concentration ranges. However, all the studies have been carried out at the laboratory level so their use at the industrial level would be promising.

INTRODUCCIÓN

Los materiales refractarios son ampliamente utilizados, y en grandes volúmenes en las industrias del acero, aluminio, cemento, vidrio, siderúrgica y petroquímica (Dehsheikh, Ghasemi-Kahrizsangi, Karamian, & Nemati, 2019). La búsqueda para mejorar las propiedades mecánicas de los materiales refractarios, relacionada con los costos de producción, ha visto en la nanotecnología una alternativa. La nanotecnología es considerada como la principal iniciativa tecnológica a nivel industrial (Al-Nemrawi, AbuAlSamen, & Alzoubi, 2019). La nanotecnología permite obtener nuevos materiales con mayor rendimiento y durabilidad (Alivisatos, 1996). Los nanomateriales inorgánicos se presentan con mayor interés, como materia prima de nuevos materiales (Chandra, Kumari, Bontempi, & Yadav, 2020; Jamkhande, Ghule, Bamer, & Kalaskar, 2019). Es por ello que en presente estudio, se analizan investigaciones recientes respecto al uso de diferentes nanomateriales, para mejorar las propiedades mecánicas de los materiales refractarios, empleados a nivel industrial.

Los materiales refractarios se definen como compuestos inorgánicos “no metálicos”, que pueden soportar ambientes de trabajo con temperaturas superiores a los 538 °C, sin sufrir alteraciones en sus propiedades físicas o químicas (Roy, Chandra, & Maitra, 2019). Este tipo de materiales, químicamente inertes, presentan un elevado punto de fusión debido a las fuertes interacciones de sus enlaces iónicos y covalentes. Sin embargo, son frágiles a temperatura ambiente y presentan una baja resistencia a la tensión (Hancock, Homfray, Porton, Todd, & Wynne, 2018). La industria del acero, hierro, cemento, y vidrio emplea el uso de refractarios como parte importante en el recubrimiento de reactores, su estructura es policristalina y sus propiedades dependen de su microestructura (Moreno, 2008). Los materiales refractarios tienen una composición definida, se clasifican como: refractarios de arcilla, sílice, básicos y especiales. En la Tabla 1, se presenta la composición química de diferentes materiales refractarios comerciales (William D. Callister, 2002).

El comportamiento de los materiales refractarios depende principalmente de su composición y su uso puede variar dependiendo de la necesidad industrial. Los sectores industriales donde se emplea los materiales refractarios son (Güeto, 2010):

- Cemento: hornos rotativos, intercambiadores de calor y enfriadores.
- Cerámica: hornos túnel y de cámara
- Vidrio: hornos de fusión y temple, y baños de estaño.
- Acero: hornos eléctricos, desgaseificación y laminación.
- Metalúrgica: hornos de fusión de cobre y aluminio, y torres fusoras.
- Siderúrgica: altos hornos, estufas, baterías de horno cok y mezclador de arrabio.

- Petroquímica: Hornos de nafta y cracking.

Es evidente que gran parte de los materiales refractarios son utilizados como revestimiento de hornos, ya que permiten mantener las temperaturas de operación estables. El sector industrial que más emplea materiales refractarios, es la siderúrgica con un 60 %. La elevada demanda de este tipo de materiales, ha generado una rápida evolución en los últimos años, debido a las exigencias impuestas por los nuevos procesos industriales, que han provocado un mayor control de materias primas, mejoramiento en los procesos fabricación e investigaciones en las propiedades fisicoquímicas de los materiales (Fu, Gu, Huang, Zhang, & Wu, 2020).

Tabla 1. Composición de refractarios comerciales (William D. Callister, 2002)

Tipos de refractario	Composición (%p/p)						
	TiO ₂	Fe ₂ O ₃	MgO	SiO ₂	Al ₂ O ₃	CaO	Cr ₂ O ₃
Arcilla refractaria	1-2	0-1	0-1	70-50	25-45	0-1	
Arcilla refractaria con alto contenido de alúmina					90-50		
Periclasa	1-4	0-1	0-1	10-45		0-1	
		3	90	3	1	2,5	0,3
Sílice			0,6	96,3	0,2	2,2	

El uso de la nanotecnología aplicada a los materiales refractarios, inició en el año 1999 (Khoroshavin & Perepelitsyn, 1999). La evolución histórica de las publicaciones referentes al desarrollo de los nanomateriales en

aplicaciones refractarias, revela una tendencia creciente en el tiempo, obtenida de la página Web of Science (WoS), tal como se muestran en la Figura 1.

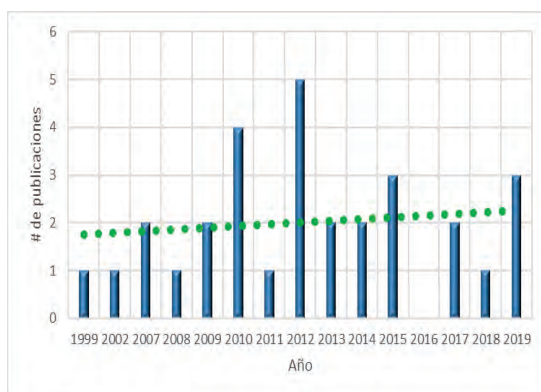


Figura 1. Evolución histórica de publicaciones de nanomateriales en refractarios
(WoS, Clarivate Analytics)

Desde otra óptica, el estudio de materiales refractarios evidencia que los países asiáticos lideran el desarrollo de los nanomateriales en este campo, y llama la atención la mínima participación de países como: Italia, Reino Unido, y, Estados Unidos, como se muestra en la Figura 2.

Los diferentes autores utilizan un nanomaterial específico, para mejorar las propiedades de un material re-

fractario base, generalmente compuesto por óxido de magnesio o también conocido como magnesia (MgO), dióxido de silicio o sílice (SiO_2), y óxido de aluminio o alúmina (Al_2O_3). Los nanomateriales que generalmente se usan para mejorar las propiedades de los materiales refractarios son: nanopartículas de grafeno, dióxido de titanio, óxido férrico, magnesia, zirconia, alúmina y sílice.

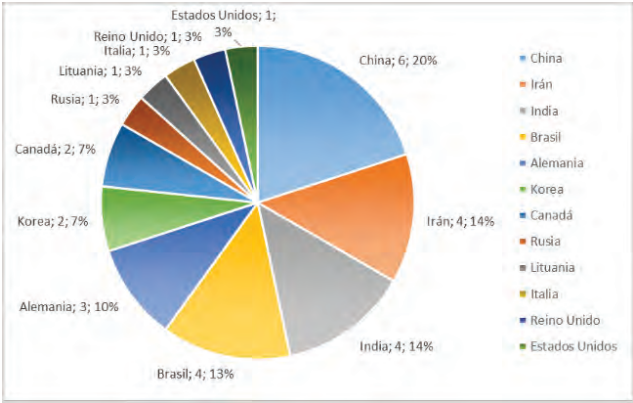


Figura 2. Artículos científicos publicados por país

Grafeno

El grafeno es un material constituido por pequeñas partículas de carbono, agrupadas en forma de láminas muy finas que forman celdas hexagonales (Pham et al., 2020). En la Figura 3, se observa la disposición espacial de los átomos de grafeno.

Este material es único, ya que cada átomo de carbono está unido a otro por medio de una nube electrónica. El grafeno, se obtiene de una fuente natural, como es el grafito, empleado en industrias tales como la: automotriz, telefónica, aeronáutica, informática, entre otras (X. Li & Zhi, 2018; Pham et al., 2020; Wu et al., 2020).

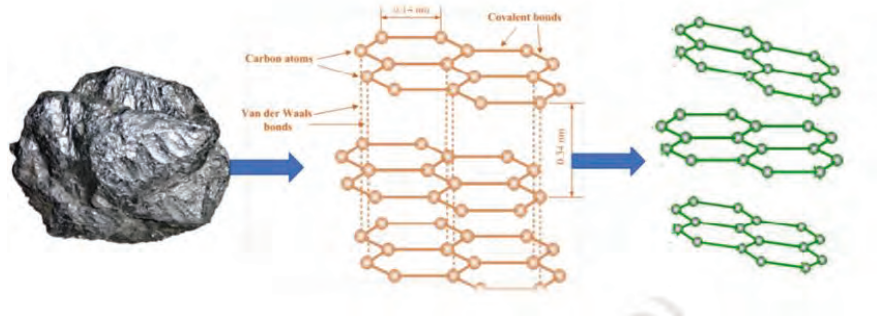


Figura 3. Disposición espacial del grafeno
(Tiwari, Sahoo, NannanWang, & Huczko, 2020)

El grafeno presenta una elevada área en relación a su volumen (Al-Nemrawi et al., 2019). El grafeno prístino, tiene un área de 2630 m²/g, el grafeno negro de humo 850-900 y los nanotubos de carbono 100-1000 m²/g respectivamente.

El grafeno en combinación con materiales refractarios, mejora su tenacidad y resistencia (García, 2016).

Nanopartículas de dióxido de Titanio (TiO₂)

El dióxido de titanio (TiO₂) es un mineral natural que se puede encontrar en forma de rutilo, anatasa y brookita (Figura 4). Cuando las estructuras de la anatasa y la brookita son sometidas a calor, éstas se convierten en rutilo, que es una estructura más estable a un rango más amplio de temperaturas.

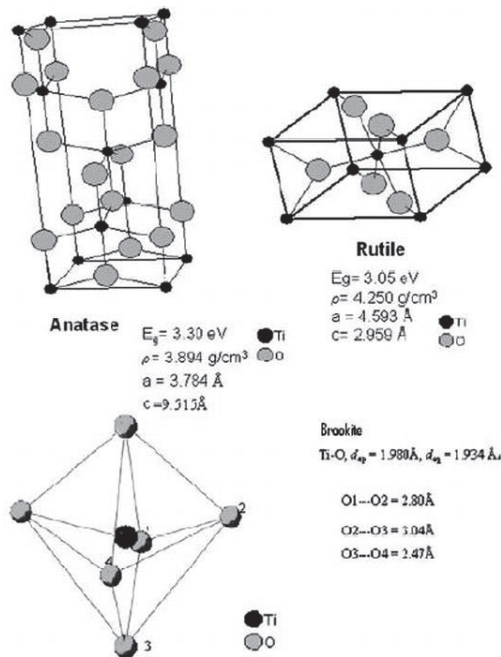


Figura 4. Minerales de TiO₂

(Nyamukamba, Okoh, Mungondori, Taziwa, & Zinya, 2018)

El TiO_2 presenta propiedades elevadas de índice de refracción, no es fotodegradable, es químicamente inerte y presenta estabilidad térmica (H. Kim et al., 2019). El rutilo, por ejemplo, tiene un índice de refracción de 2,6 a 2,8; punto de fusión de 1825 °C y punto de ebullición de 2500 a 3000 °C. Las nanopartículas de TiO_2 aprovechan y repotencian las propiedades del material macro. Su propiedad fotocatalítica se emplea en celdas solares, semiconductores, tratamiento de aguas contaminadas, etc. (Thakur, Kumar, & Kumar, 2019).

Nanopartículas de óxido férrico (Fe_2O_3)

Las nanopartículas de óxido férrico (Fe_2O_3), presentan interesantes pro-

piedades magnéticas (Al-Nemrawi et al., 2019; Bouafia & Laouini, 2020). Presentan tamaños menores a 100 nm y una forma esférica, además de una elevada capacidad de reacción por intercambio iónico, adsorción o precipitación iónica. En la Figura 5, se muestra el núcleo de una nanopartícula de hierro. Se puede observar que el núcleo, presenta hierro con valencia cero, mientras que en la superficie tiene iones de diferente número de oxidación. Las nanopartículas de Fe_2O_3 en materiales refractarios, mejoran la dureza, resistencia térmica y eléctrica (X. Q. Li, Elliott, & Zhang, 2006).

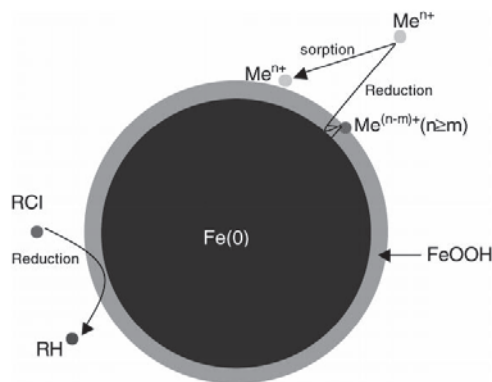


Figura 5. Nanopartículas de hierro
(X. Q. Li et al., 2006)

En la Figura 6, se puede apreciar la imagen obtenida de un microscopio de transmisión electrónica (TEM, por sus siglas en inglés) de las nanopartículas de Fe_2O_3 .

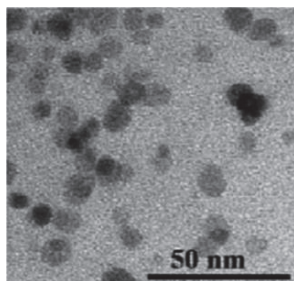


Figura 6. Imagen TEM de nanopartículas de Fe_2O_3
(Menon et al., 2017)

Nanopartículas de magnesia (MgO)

Los materiales de magnesia convencionales poseen muy buenas propiedades refractarias, tales como alta resistencia a la compresión en frío ($400\text{--}800\text{ kg/cm}^2$) y a temperatura elevada ($1500\text{ }^\circ\text{C}$, bajo carga de 2 kg/cm^2), y alta resistencia al ataque en medio básico (Alvarez, Criado, & Baudin, 1992).

Las nanopartículas de óxido de magnesio (MgO) tienen tamaño entre $50\text{--}70\text{ nm}$ (Bhattacharya, Swain, Giri, & Neogi, 2019). Se pueden emplear en

electrónica, catálisis, cerámica, productos petroquímicos, recubrimientos y muchos otros campos (Zou et al., 2014).

En la Figura 7, se puede apreciar la imagen TEM de nanopartículas de zinc con nanopartículas de óxido de magnesio como refractario.

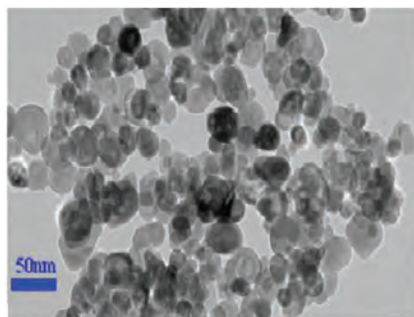


Figura 7. Material refractario de nanopartículas de zinc con MgO
(Ghasemi-Kahrizsangi, Barati Sedeh, Gheisari Dehsheikh, Shahraki, & Faroooghi, 2016)

Nanopartículas de zirconia (ZrO_2)

El óxido de zirconio o zirconia (ZrO_2), es un material con diferentes estructuras cristalinas dependiendo de la temperatura, esto quiere decir que es polimórfico (Zakaria et al., 2019). La zirconia, es de elevada resistencia mecánica y a la fracturación (Serve, Boreave, Cartoixa, Pajot,

& Vernoux, 2019). Además, presenta elevada resistencia a la corrosión, excelentes propiedades eléctricas, es químicamente inerte y gran estabilidad térmica (Roberts, Dodson, Carpinone, & Hagelin-Weaver, 2015; Sigwadi, Mokrani, & Dhlamini, 2019). En la Figura 8, se muestra las estructuras cristalinas que del ZrO_2 : monoclinica, tetragonal y cúbica.

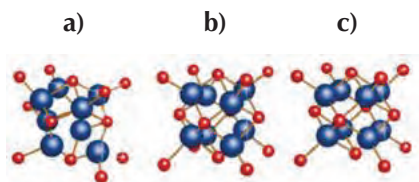


Figura 8. Estructuras del ZnO_2 a) monoclinica, b) tetragonal y c) cúbica
(Andrade-Guel, Cabello-Alvarado, & Ávila-Orta, 2019)

La estructura monoclinica del ZnO_2 es generada a la temperatura ambiental hasta los 1170 °C, la tetragonal se obtiene en el rango de 1170-2370 °C y la cúbica a temperaturas de 2650 °C. Muchos materiales cerámicos están basados en el ZnO_2 , ya que beneficia las propiedades de dureza, térmicas y químicas (Efaw et al., 2020).

Nanopartículas de alúmina (Al_2O_3)

Las nanopartículas de óxido de aluminio o alúmina (Al_2O_3), son consi-

deradas como un material prome-
tedor para el desarrollo de nuevas es-
tructuras a nivel industrial (B. Kim,
Song, Kim, Hwang, & Park, 2019).
Este nanomaterial presenta algunas
ventajas como: elevada resistencia y
dureza, alto punto de fusión, resis-
tencia a la corrosión y capacidad aislan-
te (Sezavar, Zebadjad, & Sajjadi, 2015).
La estabilidad mecánica de la alú-
mina es un factor importante para el
desarrollo de nuevas estructuras, ya
que proporciona alta compactibili-
dad y resistencia a la contracción
(Khalilpourazary & Salehi, 2019). Los
materiales que se usan como soporte
para las nanopartículas Al_2O_3 , mejo-
ran la estabilidad térmica, reducen su
desgaste y aumentan el nivel de ais-
lamiento térmico. (Khalilpourazary &
Salehi, 2019). En la Figura 9, se
puede observar la imagen TEM de las
nanopartículas de Al_2O_3 .

Este tipo de nanopartículas han lla-
mado la atención de los científicos
debido a sus prometedoras propieda-
des físicas y químicas, resaltando su
biocompatibilidad, resistencia mecá-
nica, estabilidad química y su versa-
tilidad para ser sintetizadas (Zamani,
Jafari, Mousavii, & Darezereshki,
2020).

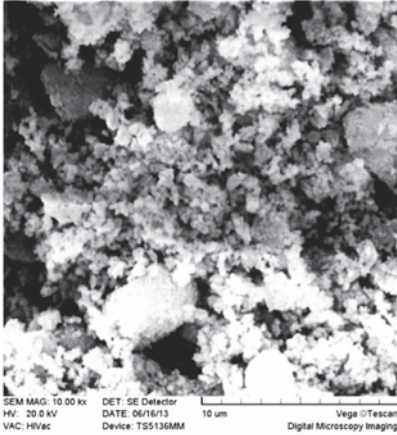


Figura 9. Imagen TEM de las nanopartículas de Al_2O_3 (Khalilpourazary & Salehi, 2019)

Nanopartículas de sílice (SiO_2)

Estos nanomateriales se caracterizan por tener un soporte de sílice con poros entre un rango de tamaño de 2

a 50 nm, generando una superficie externa y otra al interior de los poros, de allí su versatilidad para ser utilizada en el campo de la biotecnología y la ciencia de materiales (Morales, Castán, Ortega, & Ruiz, 2019). A continuación, en la Figura 10, se presenta la estructura y una micrografía de las nanopartículas de sílice mesoporosa.

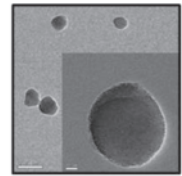
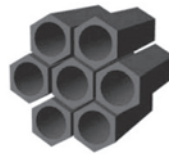


Figura 10. Nanopartículas de sílice mesoporosa (Morales et al., 2019)

RESULTADOS

Los resultados de los estudios realizados, conducen a una tendencia creciente del uso de nanopartículas en materiales refractarios. En su análisis, se corroboran las diferencias de comportamiento a nivel macro y na-

nométrico. En la Tabla 2, se muestran los diferentes tipos de nanomateriales que se han empleado en materiales refractarios, para mejorar diferentes propiedades físicas, mecánicas, térmicas o termomecánicas.

Tabla 2. Nanomateriales empleados en materiales refractarios

Tipo de nanopartícula	Matriz	Propiedad mejorada	Limitación	Referencias
Grafeno	MgO-C	Refractariedad		(Bag, Adak, & Sarkar, 2012)
		Dispersabilidad Resistencia a la oxidación		(Wang et al., 2014) (W. Kim, Oh, & Shon, 2015) (Kumar, Singh, & Datta, 2017)
		Moldeabilidad		(Liu, Yan, Reece, & Jiang, 2012)
TiO ₂	MgO-C	Resistencia a la oxidación		(Aneziris, Hubáľková, & Barabás, 2007) (Manivasakan et al., 2010)
SiO ₂		Densidad aparente Expansión térmica reversible		(Carlucci et al., 2015)
Fe ₂ O ₃	Mg-Cr	Sinterizado		(Azhari, Golestani-Fard, & Sarpoolaky, 2009)
Al ₂ O ₃	Al ₂ O ₃ -C	Esfuerzo mecánico Resistencia choque térmico		(Roungos & Aneziris, 2012) (Ghasemi-Kahrizsangi, Gheisari Dehsheikh, Karamian, Ghasemi-Kahrizsangi, & Vahid Hosseini, 2017)
	Bauxita	Cristalización	Reduce la densidad aparente	
Coloides a base de Al ₂ O ₃ y SiO ₂		Secado rápido Sinterizado Estabilidad volumétrica Aglomeración Esfuerzo mecánico Refractariedad		(Nouri-Khezrabad, Braulio Pandolfelli, Golestani-Fard, & Rezaie, 2013)

Respecto al uso de grafeno, Bag et al. (2012), desarrollaron el estudio del comportamiento de los refractarios

de magnesita carbón MgO-C, en presencia de nanopartículas de grafeno. Encontraron que su adición permite

reducir la oxidación del carbono de la matriz refractaria, lo que a su vez se refleja en un mejor aislamiento térmico del proceso metalúrgico (metalurgia primaria en horno de arco eléctrico, metalurgia secundaria en horno cuchara), reduciendo las pérdidas de calor en el metal líquido, y, finalmente, favoreciendo a la reducción del consumo de energía eléctrica, que representa alrededor del 28 % de los costos de transformación del acero y el 56 % en su balance energético.

Las nanopartículas de grafeno (Wang et al., 2014) presentan una alta dispersabilidad en la matriz cerámica de los refractarios de alúmina, y, a su vez, aceleran la formación de las ramificaciones del cristal cerámico.

Kim et al. (2015), en su investigación acerca de como mejorar la resistencia a la oxidación de un refractario de magnesita carbón MgO-C, determinaron que al lograr inhibir o reducir la oxidación del carbono, se podía reducir la velocidad de oxidación del material refractario en general. Para este proceso emplearon un recubrimiento de nanopartículas de grafeno. La función del recubri-

miento con grafeno, es su reacción con el oxígeno y así evitar la oxidación del carbono presente en el material refractario. En la Figura 11, se muestran imágenes comparativas entre los grados de oxidación de un refractario MgO-C sin recubrimiento (a), y con recubrimiento de grafeno (b).

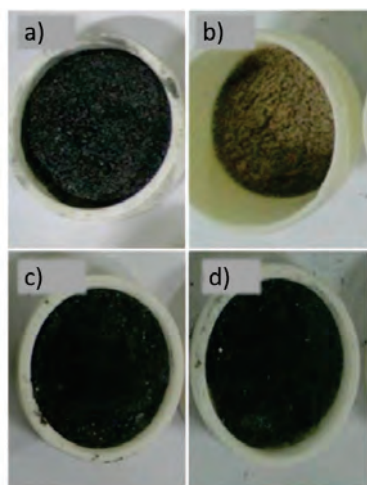


Figura 11. Material refractario de MgO-C sin partículas de grafeno (a y b), y con partículas de recubrimiento (c y d)
(E. H. Kim, Cho, Lim, Byeun, & Jung, 2015)

Adicionalmente, respecto a las nanopartículas de grafeno, se ha desarrollado un estudio para mejorar las propiedades de moldeabilidad de los concretos monolíticos, debido a este

nanomaterial puede humectarse en agua (Kumar et al., 2017). En la Figura 12, se muestran los de humectabilidad del grafeno a diferentes concentraciones. Liu et al. (2012); respecto al uso del grafeno en materiales refractarios, determinaron que este nanomaterial presenta excelente dispersión en la matriz cerámica, y, además, no presenta daños al ser sometido a la temperatura de sinterización.

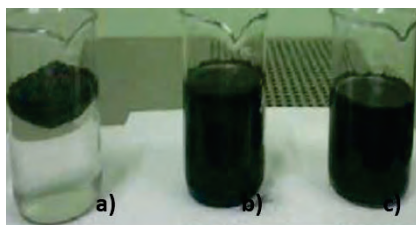


Figura 12. Gráfico natural (a), 10% grafeno (b) y 15% grafeno (c)
(Kumar et al., 2017)

Al analizar el uso de nanopartículas de TiO_2 , Aneziris et al. (2007), desarrollaron un trabajo de investigación acerca de la influencia en la microestructura en ladrillos refractarios de magnesita y carbón (MgO-C), modificado con partículas de TiO_2 . Su principal aporte fue la mejora en la resistencia a la oxidación. Además, determinaron que a medida que dis-

minuye el tamaño a nanopartícula de TiO_2 , esta propiedad mejora significativamente. En la Figura 13, se muestra un ladrillo refractario de MgO-C con nanopartículas de TiO_2 (A) y sin nanopartículas (B).

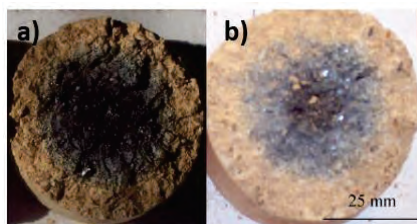


Figura 13. Ladrillo refractario de MgO-C (a) con nanopartículas de TiO_2 y (b) sin nanopartículas
Aneziris et al., 2007)

Manivasakan y Venkatachalam (2010), emplearon nanopartículas de TiO_2 a partir de mineral ilmenita proveniente de la India, y las aplicaron en ladrillos refractarios de sílice, obteniendo como resultado principal una mejora en la densidad aparente, lo cual incide directamente en la reversibilidad de su expansión térmica. En la Tabla 3, se muestran la variación de las propiedades con la aplicación de las nanopartículas de TiO_2 , sobre un ladrillo refractario de sílice.

Tabla 3. Propiedades con/sin nano TiO₂
(Manivasakan y Venkatachalam,
2010)

Parámetro	Ladrillo de sílice	
	Sin nano TiO ₂	Con nano TiO ₂
Densidad aparente (Kg/m ³)	1,80 +/- 0,10	1,92 +/- 0,01
Expansión térmica reversible a 1000 °C	1,35 +/- 0,01	1,15 +/- 0,01

Carlucci et al. (2015) aportaron al estudio del efecto del TiO₂ en la matriz

refractaria de sílice, indicando que disminuye la porosidad del material. En la Figura 14, se muestran cuatro micrografías obtenida por microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés), donde se pueden apreciar las diferencias entre el material sin nanopartículas de TiO₂ que presenta porosidades y grietas (A y C), y el material modificado (B y D), a diferentes escalas de medida (500 y 200 µm respectivamente).

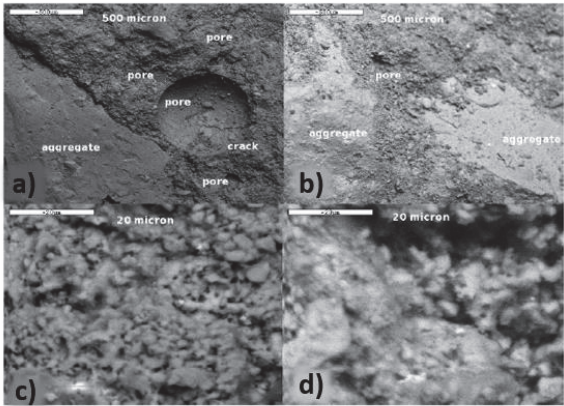


Figura 14. Micrografías SEM de un material refractario de sílice (a y b) sin partículas y con partículas de TiO₂ (b y c).
(Carlucci et al., 2015)

Usando nanopartículas de Fe₂O₃, Azhari et al. (2009) estudiaron el efecto de la inclusión de nanopartículas de óxidos de hierro en la microestruc-

tura de una matriz de ladrillos refractarios magnesia-cromo Mg-Cr. El estudio encontró que la presencia de nanopartículas de óxido férrico

(Fe_2O_3), favorece a la formación de espinela magnesio ferrítica (MgAl_2O_4) a bajas temperaturas, mejorando el proceso de sinterizado de la matriz del material refractario.

Por otro lado, al emplear nanopartículas de MgO , Braulio et al. (2008), estudiaron los mecanismos de expansión de la espinela de magnesita (MgAl_2O_4) en un cuerpo refractario, a través de la adición de nanopartículas de MgO , con el objetivo de: anticipar la temperatura de reacción que da inicio a la formación de la espinela, y a la vez reducir su expansión, brindando mejores características térmicas al material. La adición de las nanopartículas de MgO debe ser máximo del 3 % en peso, debido a que en mayores cantidades no se encuentran beneficios en términos del control de la expansión de la espinela.

Al utilizar nanopartículas de ZrO_2 , Chen et al. (2007) realizaron un estudio de las propiedades de una matriz refractaria de magnesita calcita MgO-CaO sinterizando polvos de zirconita ZrO_2 a 1600°C . El estudio evidenció un notable incremento en la densificación de la matriz MgO-CaO , cuando el tamaño de las partículas

de ZrO_2 fue llevado a escala nano. En la Figura 15, se muestra una comparación entre el peso de ZrO_2 (%) vs la densidad aparente y el porcentaje de porosidad. Claramente se puede observar que la densidad aparente se incrementa con el porcentaje en peso de ZrO_2 , mientras que la porosidad tiene un comportamiento inverso, siendo mayor el efecto cuando el tamaño de la partícula es a escala nano.

Con nanopartículas de alúmina Al_2O_3 , Roungos y Aneziris (2012) estudiaron el comportamiento de las nanopartículas de polvo de alúmina, espinela y carbón en una matriz refractaria de alúmina y carbón $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-C}$, y determinaron que existe una mejora en el esfuerzo mecánico tanto a temperatura ambiente como a 1400°C (temperatura de trabajo), así como también en la resistencia al choque térmico.

Ghasemi et al. (2017), en su estudio referente al efecto de las nanopartículas de Al_2O_3 , al ser incorporadas en un concreto de bajo cemento de matriz bauxítica, modifican sus propiedades físicas y mecánicas. Determinaron que la adición de las nano-

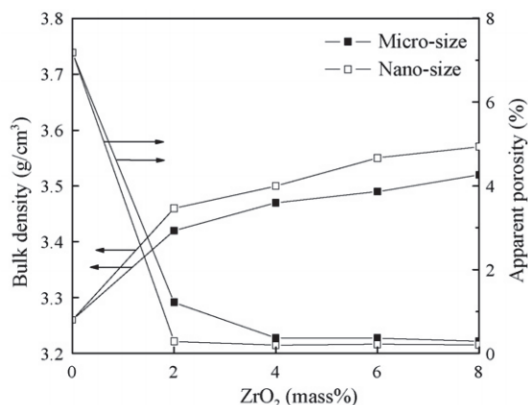


Figura 15. Porcentaje (%p/p) de ZrO_2 vs densidad aparente y porosidad
(Chen, Lu, & Yu, 2007)

partículas de Al_2O_3 en cantidades inferiores a 1 % en peso, favorecen la formación de compuestos cristalinos planos y tipo aguja, que se incrustan en los límites de grano de las partículas de bauxita, mejorando sus propiedades como aislante térmico, así como, su resistencia mecánica. Sin embargo, el efecto negativo se vio en la reducción de la densidad aparente del material.

Finalmente, Khezrabad et al. (2013), estudiaron el uso de la alúmina y sílica nanométrica coloidal, como ele-

mentos ligantes en reemplazo del cemento calcio aluminato. Luego de la investigación se llegó a determinar que el uso de los coloides de sílica y alúmina mejoran propiedades como: secado rápido, alta sinterabilidad, estabilidad volumétrica, aglomeración, esfuerzo mecánico, y propiedades termomecánicas a altas temperaturas. En la Figura 16, se muestran ejemplos de los perfiles de erosión de muestras refractarias con: cemento calcio aluminato, alúmina hidratable, nanosílica coloidal y nanoalúmina coloidal.

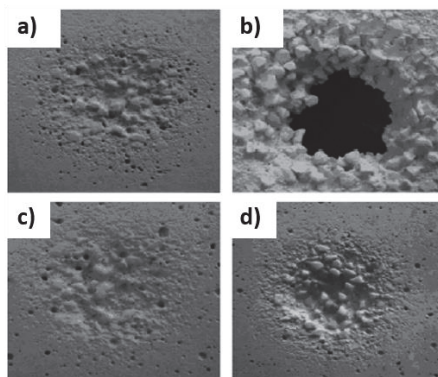


Figura 16. Erosión de cemento calcio aluminato sin nanopartículas coloidales (a y b) y con nanopartículas de sílice y alúmina (c y d) (Ghasemi-Kahrizsangi et al., 2017). Se puede observar que las muestras con suspensiones nanocoloidales presentan una menor erosión.

CONCLUSIÓN

El uso de nanomateriales para mejorar las propiedades físicas, mecánicas, térmicas y termomecánicas de los materiales refractarios, se ha podido notar en el resultado de las investigaciones analizadas. Es importante considerar la proporción de la mezcla del material y nanomaterial, ya que cuando se superan los valores

límites, algunas de las propiedades se ven afectadas y por lo tanto las características del material final. Todos los estudios han sido llevados a cabo a nivel de laboratorio, y sería un gran aporte para la industria, que se tome como base el desarrollo de las publicaciones científicas.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue realizado como proyecto final de la asignatura de Nanotecnologías y Materiales Funcionales para Diseño, de la Maestría en Dise-

ño Industrial y de Procesos de la Universidad Internacional SEK del Ecuador, a cargo de la Ph. D. (c) Fernanda Pilaquinga.

LISTA DE REFERENCIAS

- Al-Nemrawi, N. K., AbuAlSamen, M. M., & Alzoubi, K. H. (2019). Awareness about nanotechnology and its applications in drug industry among pharmacy students. *Currents in Pharmacy Teaching and Learning*, 0–1. <https://doi.org/10.1016/j.cptl.2019.12.003>
- Alivisatos, A. P. (1996). Semiconductor clusters, nanocrystals, and quantum dots. *Science*, 271(5251), 933–937. <https://doi.org/10.1126/science.271.5251.933>
- Alvarez, C., Criado, E., & Baudin, C. (1992). Refractarios de magnesita-grafito. In BOL. SOC. ESP. CERAM. VIDR (Vol. 31).
- Andrade-Guel, M. L., Cabello-Alvarado, C. J., & Ávila-Orta, C. A. (2019). Dióxido de zirconio: alternativas de síntesis y aplicaciones biomédicas. Retrieved February 9, 2020, from CienciaUAT website: <http://www.revistaciencia.uat.edu.mx/index.php/CienciaUAT/article/view/1152/591>
- Aneziris, C. G., Hubálková, J., & Barabás, R. (2007). Microstructure evaluation of MgO-C refractories with TiO₂- and Al-additions. *Journal of the European Ceramic Society*, 27(1), 73–78. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2006.03.001>
- Azhari, A., Golestani-Fard, F., & Sarpoolaky, H. (2009). Effect of nano iron oxide as an additive on phase and microstructural evolution of Mag-Chrome refractory matrix. *Journal of the European Ceramic Society*, 29(13), 2679–2684. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2009.03.032>
- Bag, M., Adak, S., & Sarkar, R. (2012). Study on low carbon containing MgO-C refractory: Use of nano carbon. *Ceramics International*, 38(3), 2339–2346. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2011.10.086>
- Bhattacharya, P., Swain, S., Giri, L., & Neogi, S. (2019). Fabrication of magnesium oxide nanoparticles by solvent alteration and their bactericidal applications. *Journal of Materials Chemistry B*, 7(26), 4141–4152. <https://doi.org/10.1039/c9tb00782b>

- Bouafia, A., & Laouini, S. E. (2020). Green synthesis of iron oxide nanoparticles by aqueous leaves extract of *Mentha Pulegium* L.: Effect of ferric chloride concentration on the type of product. *Materials Letters*, 265, 127364. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2020.127364>
- Carlucci, C., Conciauro, F., Scremin, B. F., Antico, A. G., Muscogiuri, M., Sibillano, T., ... Ciccarella, G. (2015). Properties of aluminosilicate refractories with synthesized boron-modified TiO₂ nanocrystals. *Nanomaterials and Nanotechnology*, 5(1), 1–7. <https://doi.org/10.5772/60204>
- Chandra, H., Kumari, P., Bontempi, E., & Yadav, S. (2020). Medicinal plants: Treasure trove for green synthesis of metallic nanoparticles and their biomedical applications. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 101518. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101518>
- Chen, M., Lu, C., & Yu, J. (2007). Improvement in performance of MgO–CaO refractories by addition of nano-sized ZrO₂. *Journal of the European Ceramic Society*, 27(16), 4633–4638. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2007.04.001>
- Dehsheikh, H. G., Ghasemi-Kahrizsangi, S., Karamian, E., & Nemati, A. (2019). Recent Advancement in monolithic refractories via application of Nanotechnology “A review Paper”. *Journal of Nanoanalysis*, 6(1), 1–20. <https://doi.org/10.22034/jna.2019.664385>
- Efaw, C. M., Vandegrift, J. L., Reynolds, M., Jaques, B. J., Hu, H., Xiong, H., & Hurley, M. F. (2020). Characterization of zirconium oxides part II: New insights on the growth of zirconia revealed through complementary high-resolution mapping techniques. *Corrosion Science*, 108491. <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2020.108491>
- Fu, L., Gu, H., Huang, A., Zhang, M., & Wu, J. (2020). Fabrication of CaO–MgO–Al₂O₃ materials from metallurgical waste industrial residue and their potential usage in MgO–C refractories. *Ceramics International*, 46(1), 959–967. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.09.057>
- García, D. (2016). Estudio del daño por contacto de materiales compuesto cerámica/grafeno.

- Ghasemi-Kahrizsangi, S., Barati Sedeh, M., Gheisari Dehsheikh, H., Shahraki, A., & Farrooghi, M. (2016). Densification and properties of ZrO₂ nanoparticles added magnesite–dolomite refractories. *Ceramics International*, 42(14), 15658–15663. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2016.07.021>
- Ghasemi-Kahrizsangi, S., Gheisari Dehsheikh, H., Karamian, E., Ghasemi-Kahrizsangi, A., & Vahid Hosseini, S. (2017). The influence of Al₂O₃ nanoparticles addition on the microstructure and properties of bauxite self-flowing low-cement castables. *Ceramics International*, 43(12), 8813–8818. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2017.04.013>
- Güeto, J. M. (2010). Tecnología de los materiales cerámicos. Retrieved February 8, 2020, from Google Libros website: <https://books.google.com.ec/books?id=4H6OXgN1w6wC&printsec=frontcover&dq=material+refractarios+pdf&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwiLueeUscPnAhWro1kKHUJIAb8Q6AEIMjAB#v=onepage&q&f=false>
- Hancock, D., Homfray, D., Porton, M., Todd, I., & Wynne, B. (2018). Refractory metals as structural materials for fusion high heat flux components. *Journal of Nuclear Materials*, 512, 169–183. <https://doi.org/10.1016/j.jnucmat.2018.09.052>
- Jamkhande, P. G., Ghule, N. W., Bamer, A. H., & Kalaskar, M. G. (2019, October 1). Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, Vol. 53. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.101174>
- Khalilpourazary, S., & Salehi, J. (2019). How alumina nanoparticles impact surface characteristics of Al7175 in roller burnishing process. *Journal of Manufacturing Processes*, 39, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.jmapro.2019.01.027>
- Khoroshavin, L. B., & Perepelitsyn, V. A. (1999). On the nanotechnology of refractories. *Refractories and Industrial Ceramics*, 40(11–12), 553–557. <https://doi.org/10.1007/BF02762640>
- Kim, B., Song, J., Kim, J. Y., Hwang, J., & Park, D. (2019). The control of particle size distribution for fabricated alumina nanoparticles using a thermophoretic separator. *Advanced Powder Technology*, 30(10), 2094–2100. <https://doi.org/10.1016/j.appt.2019.06.023>

- Kim, E. H., Cho, G. H., Lim, H. T., Byeun, Y. K., & Jung, Y. G. (2015). Development of MgO-C refractory having high oxidation resistance by metal coating process. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 15(1), 514–517. <https://doi.org/10.1166/jnn.2015.8338>
- Kim, H., Jeon, D., Oh, S., Nam, K. S., Son, S., Chan Gye, M., & Shin, I. (2019). Titanium dioxide nanoparticles induce apoptosis by interfering with EGFR signaling in human breast cancer cells. *Environmental Research*, 175, 117–123. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.05.001>
- Kim, W., Oh, H. S., & Shon, I. J. (2015). The effect of graphene reinforcement on the mechanical properties of Al₂O₃ ceramics rapidly sintered by high-frequency induction heating. *International Journal of Refractory Metals and Hard Materials*, 48, 376–381. <https://doi.org/10.1016/j.ijrmhm.2014.10.011>
- Kumar, K., Singh, R. K., & Datta, R. (2017). Water wettable graphite through nanotechnology and its application in refractories. *InterCeram: International Ceramic Review*, 66(1–2), 30–35. <https://doi.org/10.1007/bf03401199>
- Li, X. Q., Elliott, D. W., & Zhang, W. X. (2006). Zero-valent iron nanoparticles for abatement of environmental pollutants: Materials and engineering aspects. *Critical Reviews in Solid State and Materials Sciences*, 31(4), 111–122. <https://doi.org/10.1080/10408430601057611>
- Li, X., & Zhi, L. (2018, May 7). Graphene hybridization for energy storage applications. *Chemical Society Reviews*, Vol. 47, pp. 3189–3216. <https://doi.org/10.1039/c7cs00871f>
- Liu, J., Yan, H., Reece, M. J., & Jiang, K. (2012). Toughening of zirconia/alumina composites by the addition of graphene platelets. *Journal of the European Ceramic Society*, 32(16), 4185–4193. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2012.07.007>
- Manivasakan, P., Rajendran, V., Rauta, P. R., Sahu, B. B., Sahu, P., Panda, B. K., ... Jegadesan, S. (2010). Effect of TiO₂ nanoparticles on properties of silica refractory. *Journal of the American Ceramic Society*, 93(8), 2236–2243. <https://doi.org/10.1111/j.1551-2916.2010.03727.x>

- Menon, P. K., Sharma, A., Lafuente, J. V., Muresanu, D. F., Aguilar, Z. P., Wang, Y. A., ... Sharma, H. S. (2017). Intravenous Administration of Functionalized Magnetic Iron Oxide Nanoparticles Does Not Induce CNS Injury in the Rat: Influence of Spinal Cord Trauma and Cerebrolysin Treatment. In *International Review of Neurobiology* (Vol. 137, pp. 47–63). <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2017.08.005>
- Morales, M. E., Castán, H., Ortega, E., & Ruiz, M. A. (2019). Silica Nanoparticles: Preparation, Characterization and Applications in Biomedicine. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 53(4), 329–336. <https://doi.org/10.1007/s11094-019-02001-3>
- Moreno, L. M. V. (2008). *Materiales industriales. Teoría y aplicaciones*. Retrieved February 8, 2020, from Google Libros website: [https://books.google.com.ec/books?id=VSdtMx8Oj8wC&pg=PA131&dq=material+refractarios+pdf&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwiLueUscPnAhWro1kKHUJIAb8Q6AEIOzAC#v=one-page&q=material refractarios pdf&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=VSdtMx8Oj8wC&pg=PA131&dq=material+refractarios+pdf&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwiLueUscPnAhWro1kKHUJIAb8Q6AEIOzAC#v=one-page&q=material%20refractarios%20pdf&f=false)
- Nouri-Khezrabad, M., Braulio, M. A. L., Pandolfelli, V. C., Golestani-Fard, F., & Rezaie, H. R. (2013). Nano-bonded refractory castables. *Ceramics International*, 39(4), 3479–3497. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2012.11.028>
- Nyamukamba, P., Okoh, O., Mungondori, H., Taziwa, R., & Zinya, S. (2018). Synthetic Methods for Titanium Dioxide Nanoparticles: A Review. In *Titanium Dioxide - Material for a Sustainable Environment*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.75425>
- Pham, M. H., Khazaeli, A., Godbille-Cardona, G., Truica-Marasescu, F., Peppley, B., & Barz, D. P. J. (2020). Printing of graphene supercapacitors with enhanced capacitances induced by a leavening agent. *Journal of Energy Storage*, 28. <https://doi.org/10.1016/j.est.2020.101210>
- Roberts, S. J., Dodson, J. J., Carpinone, P. L., & Hagelin-Weaver, H. E. (2015). Evaluation of nanoparticle zirconia supports in the thermochemical water splitting cycle over iron oxides. *International Journal of Hydrogen Energy*, 40(46), 15972–15984. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2015.09.109>
- Roungos, V., & Aneziris, C. G. (2012). Improved thermal shock performance of Al₂O₃-C refractories due to nanoscaled additives. *Ceramics International*, 38(2), 919–927. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2011.08.011>

- Roy, J., Chandra, S., & Maitra, S. (2019). Nanotechnology in castable refractory. *Ceramics International*, 45(1), 19–29. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.09.261>
- Serve, A., Boreave, A., Cartoixa, B., Pajot, K., & Vernoux, P. (2019). Synergy between Ag nanoparticles and yttria-stabilized zirconia for soot oxidation. *Applied Catalysis B: Environmental*, 242, 140–149. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2018.09.069>
- Sezavar, A., Zebarjad, S., & Sajjadi, S. (2015). A Study on the Effect of Nano Alumina Particles on Fracture Behavior of PMMA. *Technologies*, 3(2), 94–102. <https://doi.org/10.3390/technologies3020094>
- Sigwadi, R., Mokrani, T., & Dhlamini, M. (2019). The synthesis, characterization and electrochemical study of zirconia oxide nanoparticles for fuel cell application. *Physica B: Condensed Matter*. <https://doi.org/10.1016/j.physb.2019.411842>
- Thakur, B. K., Kumar, A., & Kumar, D. (2019). Green synthesis of titanium dioxide nanoparticles using *Azadirachta indica* leaf extract and evaluation of their antibacterial activity. *South African Journal of Botany*, 124, 223–227. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.05.024>
- Tiwari, S. K., Sahoo, S., NannanWang, & Huczko, A. (2020). Graphene Research and their Outputs: Status and Prospect. *Journal of Science: Advanced Materials and Devices*. <https://doi.org/10.1016/j.jsamd.2020.01.006>
- Wang, Q., Li, Y., Luo, M., Sang, S., Zhu, T., & Zhao, L. (2014). Strengthening mechanism of graphene oxide nanosheets for Al 2O3-C refractories. *Ceramics International*, 40(1 PART A), 163–172. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2013.05.117>
- William D. Callister. (2002). *Introducción a la ciencia e ingeniería de los materiales*. Retrieved February 8, 2020, from Google libros website: <https://books.google.com.ec/books?id=gnfPV1txXiUC&pg=PA445&dq=MATERIAL+REFRACTARIOS&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjWmZSdhsDnAhWRnFKkHlJb50Q6AEIMTAB#v=onepage&q&f=false>
- Wu, D. Y., Zhou, W. H., He, L. Y., Tang, H. Y., Xu, X. H., Ouyang, Q. S., & Shao, J. J. (2020). Micro-corrugated graphene sheet enabled high-performance all-solid-state film supercapacitor. *Carbon*, 160, 156–163. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2020.01.019>

- Zakaria, M. B., Malgras, V., Nagata, T., Kim, J., Bando, Y., Fatehmulla, A., ... Lin, J. (2019). Gold nanoparticles anchored on mesoporous zirconia thin films for efficient catalytic oxidation of carbon monoxide at low temperatures. *Microporous and Mesoporous Materials*, 288. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2019.05.055>
- Zamani, H., Jafari, A., Mousavii, S. M., & Darezereshki, E. (2020). Biosynthesis of silica nanoparticle using *Saccharomyces cerevisiae* and its application on enhanced oil recovery. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 107002. <https://doi.org/10.1016/j.petrol.2020.107002>
- Zou, L., Guo, J., Liu, J., Zou, Z., Akins, D. L., & Yang, H. (2014). Highly alloyed PtRu black electrocatalysts for methanol oxidation prepared using magnesia nanoparticles as sacrificial templates. *Journal of Power Sources*, 248, 356–362. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2013.09.086>

ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

ORIGEN PROBABLE Y TRANSMISIÓN ENTRE ESPECIES DEL SARS-CoV-2

PROBABLE ORIGIN AND CROSS-SPECIES TRANSMISSION OF SARS-CoV-2

Johanna Alvarado-Ortiz¹, Lorena Meneses O.² & Fabio Idrovo-Espín^{1*}

Recibido: 17 de marzo 2020 / Aceptado: 6 de abril 2020 /

Publicado en línea: 8 de abril de 2020

DOI: 10.26807/ia.v8i2.142

Palabras claves: Coronavirus, transmisión entre especies, secuencias.

Keywords: Coronavirus, cross-species transmission, sequences.

RESUMEN

A finales del año pasado se reportaron casos de pacientes con neumonía atípica en Wuhan, Provincia de Hubei, China. La mayoría de pacientes iniciales trabajaban, vivían o eran consumidores de productos del mercado mayorista de mariscos, lo que sugirió un posible contagio de un patógeno de origen animal al ser humano. Posteriormente, se determinó que el responsable fue un coronavirus, que se llamó SARS-CoV-2, cuya rápida propagación produjo la pandemia de la enfermedad coronavirus disease 19 (COVID-19). La enfermedad es actualmente motivo de preocupación e intensa investigación a nivel mundial.

¹ Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Químicas, Quito Ecuador (jaalvarado@uce.edu.ec, *correspondencia: fmidrovo@uce.edu.ec)

² Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Escuela de Ciencias Químicas, Quito Ecuador (lmmeneses@puce.edu.ec)

Se han postulado teorías sobre el origen del coronavirus, siendo la más aceptada que el virus proviene del pangolín malayo. Con la finalidad de reforzar esta teoría, en la presente investigación, a partir de secuencias nucleotídicas de dominio público, se seleccionaron fragmentos de secuencias nucleotídicas que codifican para la espícula glicoprotéica superficial de coronavirus en algunos organismos hospederos infectados por diferentes cepas de coronavirus incluyendo el SARS-CoV-2. De la filogenia y análisis de secuencias de amino ácidos de la espícula glicoprotéica del coronavirus se encontró posibles eventos de transmisión entre especies del virus responsable de la enfermedad incluyendo el ser humano.

ABSTRACT

At the end of last year, were reported cases of patients with atypical pneumonia in Wuhan, Hubei Province, China. Most of the initial patients worked, lived or were consumers of products from the wholesale seafood market, which suggested a possible transmission of a pathogen of animal origin to humans. Later, it was determined that the culprit was a coronavirus, named SARS-CoV-2, whose rapid spread caused the pandemic of coronavirus disease 19 (COVID-19). The disease is currently a cause for concern and intense research worldwide. Theories on the origin of the coronavirus have been postulated, being the most widely accepted that the virus comes from the Malay pangolin. With the intention of reinforce this theory, in this research, from nucleotide sequences in the public domain, were selected Fragments of nucleotide sequences encoding the coronavirus surface spike glycoprotein from some host organisms infected by different coronavirus strains including SARS-CoV-2. From phylogeny and acid amino acid sequence analysis were found possible cross-species transmission of the virus responsible of the disease including humans.

INTRODUCCIÓN

La aparición de un nuevo virus tiende a afectar de forma local a la población. La propagación, dependiendo de las características del virus, puede en cambio repercutir a nivel mundial afectando la economía, el sistema de salubridad de los países involucrados

y el estado de ánimo de la población. A lo largo de la historia de la humanidad, esta se ha enfrentado a múltiples epidemias que han causado grandes pérdidas de vidas humanas y colapsado la economía mundial (Tabla 1).

Tabla 1. Principales epidemias virales y bacterianas de la historia

Nombre	Características	Referencia
Peste antonina o plaga de Galeno	Viral, probablemente viruela. Originaria de Mesopotamia, distribuida en el Imperio Romano entre el 164 al 182 d.C. Entre medio millón a un millón de fallecidos	Sabbatani, y Fiorino (2009)
Plaga de Justiniano	Bacteriana (<i>Yersinia pestis</i>). Considerada como "La primera pandemia"; sin embargo, se expandió en el Mediterráneo y Europa entre el. 541 y 750 d.C. La cifra de fallecidos no está bien definida.	Mordechai, Eisenberg, Newfield, Izdebski y Poinar (2019)
Muerte negra	Bacteriana (<i>Yersinia pestis</i>). Originaria de Asia central se dispersó en el Medio Oriente y el norte de África entre 1347 y 1351. Los fallecidos fueron entre el 30 y 50% de la población total.	Monecke, Monecke y Monecke, (2009); Dewitte, (2010)
Gripe rusa	Viral. Se dispersó por vía terrestre y marítima a través de Europa y luego a América del Norte entre 1889 y 1890. Alrededor de un millón de fallecidos.	Saunders-Hastings y Krewski, (2016)
Gripe española	Viral. Mundial. Entre 1918 y 1919. Alrededor de 50 millones de fallecidos.	Martini, Gazzaniga, Bragazzi y Barberis, (2019)
Sida	Viral. Mundial. Originaria del África. El subtipo B es probablemente originario del Caribe (1967) para posteriormente transmitirse a Estados Unidos en los primeros años de la década de los 70. Alrededor de 32 millones de fallecidos desde el inicio de la pandemia.	Worobey et al., (2016); GHO, (2020)
SARS (Severe acute respiratory syndrome)	Viral. Contagios en 30 países. El brote inició en la Provincia de Guangdong en China. De origen animal, 774 fallecidos entre 2002 y 2003.	Vijayanand, Wilkins, y Woodhead, (2004)
H1N1	Viral. Aviar, de origen Euroasiático. El brote originado en México es una nueva cepa encontrada en cerdos. Afectó a América del Norte y Central, Europa y algunos países asiáticos en el 2009 con un saldo de 20 fallecidos.	Mena et al., (2016)

La propagación de un patógeno animal a un humano, se conoce como transmisión entre especies o “*spillover*”. Este es un proceso complejo no comprendido del todo, que involucran muchos factores, ambientales, geográficos, sanitarios etc. (Plowright et al., 2017). Los virus son responsables directos de enfermedades en mamíferos entre ellos se encuentran los coronavirus. Estos forman parte de una familia cuyo genoma está compuesto por RNA monocatenario positivo. Se encuentran distribuidos en todo el mundo y son altamente infecciosos por naturaleza, causan enfermedades entéricas, respiratorias y en algunos casos neurológicas en una amplia variedad de animales y en humanos (Lai y Holmes, 2001; Gorbalenya et al., 2020). Entre los coronavirus de origen animal que se transmitieron al ser humano y provocaron epidemias se incluye el de Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS-CoV), el coronavirus del Síndrome Respiratorio del Medio Oriente (MERS-CoV) y el recientemente identificado SARS-CoV-2 (Huang et al., 2020).

En los últimos días de diciembre de 2019, se detectó alrededor de 99

casos atípicos de neumonía en la ciudad Wuhan, provincia de Hubei en China; 49 de estos casos se relacionaron con el mercado mayorista de mariscos de Huanan entre consumidores, habitantes y trabajadores del mercado (Chen et al., 2020). Los casos siguieron aumentando y se emitió una alerta a los sistemas sanitarios del país asiático. Para el primero de enero del presente año, se descubrió el foco inicial del virus en el mercado de Huanan, lugar donde se vendía pescado y animales silvestres vivos como aves de corral, murciélagos, marmotas y serpientes (Lu, Stratton y Tang, 2020; Wu y McGookan, 2020). En ese mismo mes, un grupo de científicos chinos secuenciaron el genoma del “*Aislado del virus de la neumonía del mercado de mariscos de Wuhan (Wuhan-Hu-1)*”. El grupo identificó que el virus era un coronavirus y reportó la secuencia de nucleótidos en la base de datos del NCBI (1988) con el número de acceso NC_045512.2.

El SARS-CoV-2 comenzó a propagarse de forma descontrolada. A mediados de enero se registró el primer caso fuera de China, se aisló la ciudad de Wuhan y posteriormente 15

ciudades chinas más. La curva epidémica tuvo un crecimiento muy elevado y la enfermedad presentó una tasa de mortalidad del 2,3 %. Para el 30 de enero del 2020 la Organización Mundial de la Salud (WHO, por sus siglas en inglés) catalogó al SARS-CoV-2 como una “emergencia de salud pública de preocupación internacional” (Wu y McGoogan, 2020) y para el 11 de marzo, declaró la pandemia de COVID-19. Desde esa fecha el número de contagios progresó de forma sostenida a nivel mundial (Figura 1). La información sobre personas contagiadas, recuperadas y fallecidas en todo el mundo se actualizó en bases de datos públicas todos los días en tiempo real (Gardner, 2020; WHO, 2020).



Figura 1. Número de personas afectadas por la infección de COVID-19 en 184 de 194 países totales
(Basada en WHO, 2020)

El primer caso en el Ecuador se registró el 29 de febrero y se inició el crecimiento exponencial de contagiados en función del tiempo (Figura 2), convirtiéndose desde entonces en un problema de salud pública sumamente serio en nuestro país.

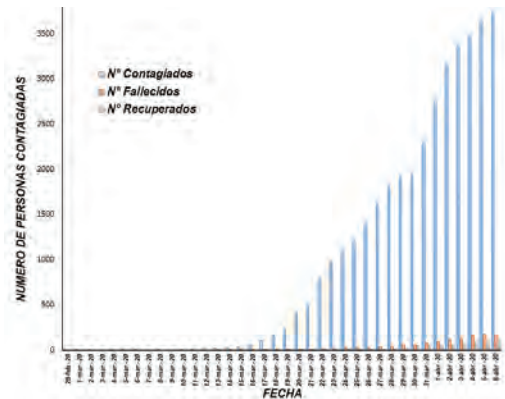


Figura 2. Número de personas afectadas por la infección de COVID-19 en el Ecuador
(Basada en WHO, 2020)

De acuerdo con Newman et al., (2006) los viriones o partículas virales (unidad estructural de los virus con capacidad de infección) del coronavirus son esféricos con un diámetro aproximado de 125 nm. En la superficie del virión se encuentra una estructura trimérica denominada espí-

cula glicoprotéica (Figura 3), esta es necesaria para la replicación del coronavirus ya que se une a receptores celulares de superficie de las células hospederas. El rango de hospederos del coronavirus depende de la afinidad entre ellos.

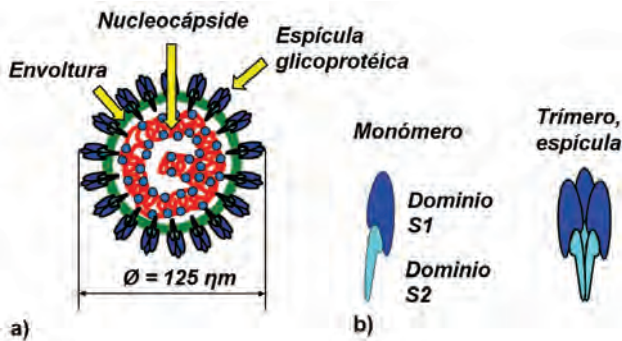


Figura 3. Estructura básica del coronavirus

a) virión n-Cov b) espícula glicoprotéica

(Basada en Newman et al., 2006; Belouzard, Millet, Licitra, y Whittaker, 2012)

De acuerdo con Song, Gui, Wang y Xiang, (2018), algunos coronavirus se unen a la enzima convertidora de angiotensina 2 del receptor celular (ACE2) y media la fusión de las membranas del coronavirus y la célula promoviendo el ingreso del virus por endocitosis para posteriormente liberar la nucleocápside viral dentro del citoplasma de la célula e iniciar la replicación del virus (Figura 4).

Adicionalmente a los estudios de la función, estructura de la espícula glicoprotéica y sus reordenamientos conformacionales para promover la entrada del virus (Song, Gui, Wang y Xiang, 2018) también se encuentran disponibles las secuencias de nucleótidos que codifican para las espículas glicoprotéicas de coronavirus en diferentes especies (Kan et al., 2005; Hu et al., 2017; Liu et al., 2019).

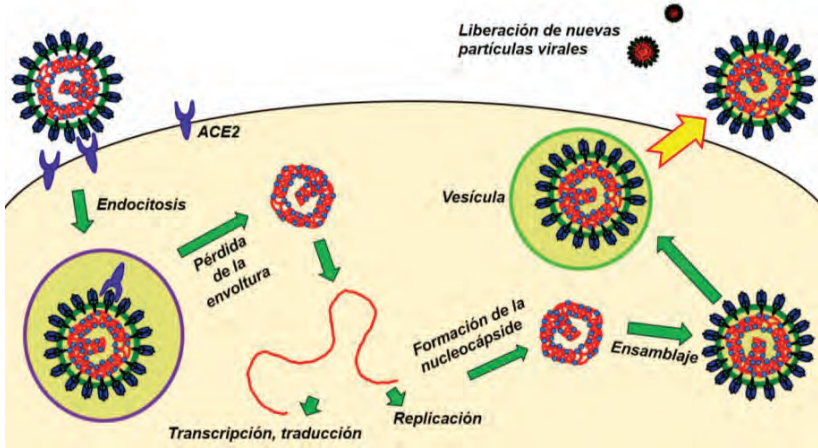


Figura 4. Mecanismo de replicación del coronavirus
(Basada en Belouzard, Millet, Licitra y Whittaker, 2012;
Song, Gui, Wang y Xiang, 2018)

De lo antes expuesto, con la información genómica disponible, en el presente estudio, se plantea definir el origen más probable del SARS-CoV-2 y

así contribuir a fortalecer el conocimiento sobre este nuevo virus y las enfermedades derivadas del mismo

MATERIALES Y MÉTODOS

Considerando el gen que codifica para la espícula glicoprotéica de coronavirus, se utilizó fragmentos (48 pb de longitud) de 32 secuencias correspondientes a cepas reportadas por Kan et al., (2005), un fragmento de la secuencia viral del murciélago rufo de herradura (*Rhinolophus sin-*

cus) con número de accesoión MG772933.1 descrita por Hu et al., (2018) y un fragmento homólogo a partir del genoma de SARS-CoV-2 (Sequence ID: NC_045512.2) responsable del COVID-19. Con la secuencia AY687357 se realizó una búsqueda mediante blast (Basic Local

Alignment Search Tool referido por Altschul, Gish, Miller, Myers y Lipman, 1990) de nucleótidos contra las secuencias de pangolín malayo (*Manis javanica*) del proyecto PRJNA573298 (Liu, Chen y Chen (2019)). De las secuencias resultantes del blast se seleccionaron aquellas que presentaran porcentajes de identidad cercanos al 100 %, se depuró las secuencias y se trabajó finalmente con aquellas que fueron homólogas al fragmento de 48 pb.

Con las secuencias se realizó un alineamiento, un modelo y se obtuvo el

árbol filogenético mediante MEGAX. 10.1.7 (Kumar, Stecher, Li, Knyaz y Tamura, 2018). Se utilizó la secuencia At1g24610 como outgroup.

La traducción a proteína de las secuencias genómicas se realizó mediante la plataforma ExPASy (Gasteiger et al., 2003) y se verificó que correspondieran a la espícula glicoprotéica mediante blastp (Altschul et al., 1990). Para visualizar la composición de aminoácidos (aa) en las secuencias de cada clado y subclado se generaron figuras tipo logo mediante WebLogo (Crooks et al., 2004).

RESULTADOS

Del genoma NC_045512.2, se determinó que la secuencia de nucleótidos AAAAAGAGTTGATTTTTGTGG AAAGGGCTATCATCTTATGTCCTT CCC codifica para la espícula glicoprotéica del SARS-CoV-2 (identificada en este trabajo como H. Sapiens SARS-CoV-2)

De las secuencias de pangolín malayo, 122 presentaron porcentajes de identidad adecuados y de estas 37 fueron homólogas y tenían la misma

longitud que el fragmento referido en la publicación de Kan et al., (2005).

Mediante la información genómica disponible se elaboró un alineamiento con 71 secuencias (no se muestra este resultado) y un árbol filogenético por del método HKY con un bootstrap de 1000 y distribución gamma de 5. En el árbol (Figura 5) se observó dos grupos monofiléticos principales, el primero comprendido por la secuencia de pangolín malayo gnl| SRA

|SRR10168377.9857580.2:2-150, referida como Sec1 en este estudio y

un gran grupo monofilético con las 69 secuencias restantes.

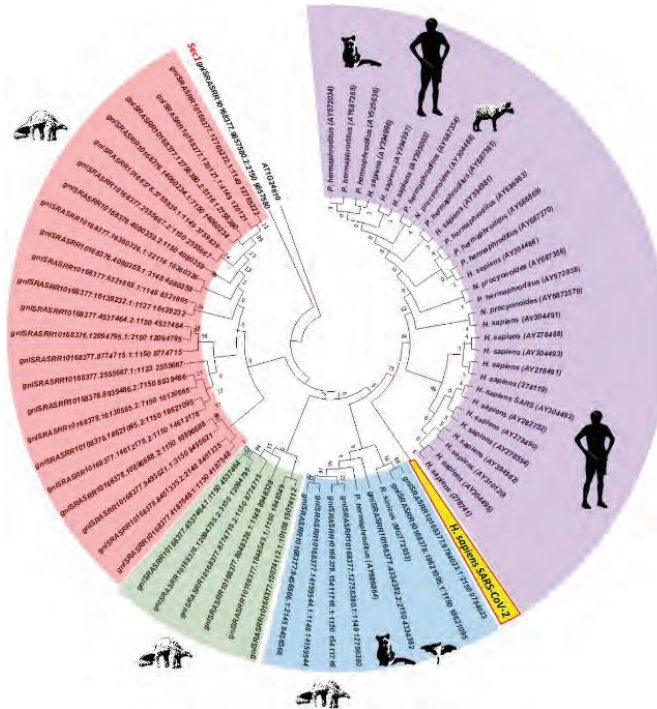


Figura 5. Árbol filogenético de secuencias genómicas que codifican para la espícula glicoprotéica de coronavirus en diferentes especies hospederas. Las secuencias cuyos nombres empiezan con el prefijo gnlSRASRR10168377 son de pangolín malayo y corresponden al proyecto PRJNA573298

(Liu, Chen y Chen 2019)

Dentro del grupo monofilético mayor, se observan un grupo comprendido por 23 (clado rojo) y otro grupo con las secuencias restantes (subclados verde, azul, amarillo y violeta). El clado rojo y el subclado verde se

componen exclusivamente de secuencias de pangolín malayo, indicativo de que diferentes cepas de coronavirus circulaban dentro de individuos de esta especie. En el siguiente grupo monofilético se

encuentra un clado con 40 secuencias, conformado a su vez por subclados (amarillo, azul y violeta). La disposición de las secuencias dentro del subclado azul indicaría 2 eventos de transmisión entre especies del virus por tanto de la enfermedad, el primero desde el pangolín malayo hacia el murciélago rufo de herradura y el segundo desde el pangolín malayo hacia la civeta de la palma asiática. El subclado amarillo, es una nueva bifurcación de la cual derivó la secuencia viral *H. sapiens* SARS-CoV-2 (responsable del COVID-19), es probable que esta cepa haya surgido antes que las cepas responsables de la epidemia de SARS (subclado violeta) cuyo origen fue la civeta de la palma asiática (Wang et al., 2005). Finalmente en el subclado violeta se encontró secuencias virales homólogas en la civeta de la palma asiática, mapache japonés y el ser humano lo que indicaría un nuevo evento de transmisión entre especies de la enfermedad.

Al realizar la traducción de cada secuencia de nucleótidos, que codifican para la espícula glicoprotéica de coronavirus se observó variaciones en cada clado y subclado que se resumen en una figura tipo logo (Figura 6). La secuencia Sec1 es la más divergente de todas, a partir de esta se observó la variación de los residuos de aminoácidos en cada posición (1 a 14). Siguiendo el sentido probable de la transmisión del coronavirus entre especies, las secuencias se vuelven menos divergentes conforme se establece en un grupo de especies en particular. Es así, que al llegar al subclado violeta la secuencia de la espícula glicoprotéica de diferentes cepas de coronavirus es exactamente la misma para el mapache japonés, la civeta de la palma asiática y el ser humano. Si bien la secuencia de nucleótidos que codifica para la espícula glicoprotéica del *H. sapiens* SARS-CoV-2 (subclado amarillo) es diferente, es exactamente la misma a nivel de residuos de aminoácidos (Figura 6).

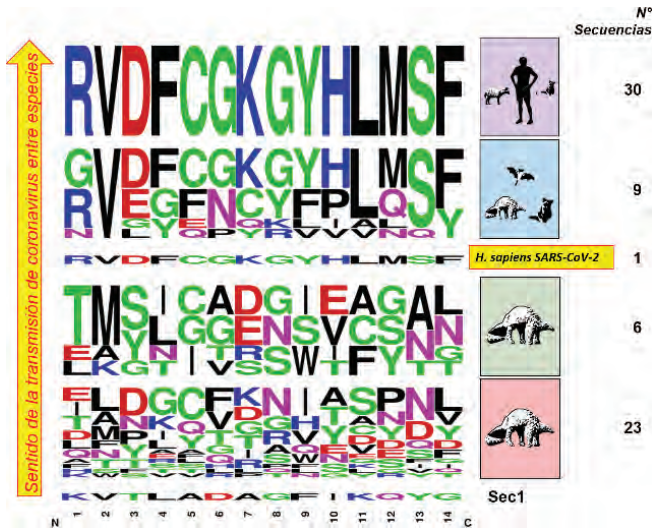


Figura 6. Logo de secuencias predichas de aa correspondientes a la espícula glicoprotéica de coronavirus en las especies estudiadas. Se indica el posible sentido de la transmisión de coronavirus. La secuencia predicha de aa para las secuencias de los subclados amarillo y violeta es la misma RVDFCGKGYHLMSF

DISCUSIÓN

De la filogenia obtenida en este estudio se observa que las cepas virales se desarrollaron inicialmente en pangolines malayos, las cuales fueron mutando y provocaron la transmisión del virus entre diferentes especies de mamíferos. Aun así, con este árbol filogenético no es posible aseverar que el pangolín malayo es el responsable directo de la transmisión del SARS-CoV-2 al ser humano, ya que los árboles filogenéticos indican las rela-

ciones evolutivas más probables entre secuencias (o especies). Adicionalmente, cualquier otro mamífero que se vendía en el mercado de Huanan pudo ser el reservorio viral de la cepa que se transfirió al ser humano. Al inicio de la epidemia se pensó que el origen más probable del SARS-CoV-2 era la serpiente, al considerar la maquinaria traduccional de *Bungarus multicinctus* y *Naja atra* y el sesgo en el uso de codones de estas

dos especies (Ji, Wang, Zhao, Zai y Li 2020). Sin embargo, la evidencia posterior fue orientando al origen del virus en el pangolín malayo.

Además, existe la posibilidad de contagio con un mamífero que no esté en cautiverio. Los murciélagos son reservorios de coronavirus y su capacidad para volar les confiere la posibilidad de ocupar un amplio hábitat a nivel mundial y dispersar enfermedades (Woo et al., 2012; Hu et al., 2017, Tao et al., 2017; Luo et al., 2018).

Retomando nuevamente la filogenia, se observa que la secuencia viral H. sapiens SARS-CoV-2 probablemente haya aparecido antes que las cepas de SARS de la epidemia del 2003 (subclado violeta) y la cepa de origen animal SARS-CoV-2 haya estado presente en algún mamífero hospedero como el mapache japonés o la civeta de la palma asiática (subclado azul) hasta que infectó a cualquiera de los 99 pacientes iniciales del COVID-19 reportados por Chen et al. (2020). De todo lo expuesto anteriormente, se aprecia que para entender la enfermedad y desarrollar posibles vacunas se requieren más ensayos, secuenciaciones y análisis genómico de cepas

virales de hospederos infectados para poder elucidar completamente el camino mediante el cual el virus SARS-CoV-2 infectó el ser humano.

Según Geoghegan y Holmes (2008), la evolución de la virulencia es un tema no resuelto aún y los estudios experimentales referidos a los determinantes de esta enfermedad, dentro de un marco filogenómico, contribuirán a la comprensión integral de su evolución. Es importante mencionar que las infecciones por SARS-CoV-2, se presentarán de forma recurrente. La enfermedad se volvió estacional y se espera que afecte con mayor intensidad en países templados de América del Norte (Neher et al., 2020); sin embargo, estos modelos pueden fallar al estimar el comportamiento de una epidemia y es probable que el Ecuador vuelva a presentar focos infecciosos en el futuro.

Debido al profundo impacto de esta pandemia la información genómica del SARS-CoV-2 se actualiza todos los días de forma vertiginosa y puede ser consultada libremente en bases de datos especializadas como el NCBI (NCBI Resource Coordinators, 2018) o ViPR (Pickett et al., 2012). Vigorosos esfuerzos se realizan a nivel mundial

para contener al virus y buscar una posible cura.

Respecto a la traducción predicha de secuencias, es evidente que el código genético, al ser degenerado permite la codificación de un aa por más de un triplete; lo interesante en nuestro análisis es que las secuencias de nucleótidos que codifican para la espícula glicoprotéica del *H. sapiens* SARS-CoV-2 y las del subclado violeta (encontrada en pacientes de la epidemia de SARS del 2003) son diferentes, pero, a nivel de la traducción proteica, son las mismas motivo por el cual el *H. sapiens* SARS-CoV-2 consiguió infectar las células en el ser humano.

Recientemente Zhou et al., (2020) determinaron que las proteínas ACE2 humanas son los receptores celulares a través del cual ingresa el virus SARS-CoV-2, justo como ocurre con la cepa Urbani de SARS-CoV común en Asia (Li et al., 2003), este estudio coincide con nuestro resultado ya que las espículas glicoprotéicas (idénticas en la secuencia de aa predicha) ingresan a las células a través de los mismos receptores celulares.

De acuerdo a nuestros resultados, nuevamente ha quedado en evidencia el enorme riesgo de interactuar con especies silvestres que son reservorios virales. Las especies silvestres no deberían formar parte de la cadena alimenticia del ser humano ni destinarse a la domesticación, recreación o compañía.

Según el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades de Estados Unidos (CDC, 2013), la epidemia de SARS del 2003 se desarrolló en 29 países, contagió a 8096 con alrededor de 774 decesos. En esta ocasión enfrentamos una pandemia sumamente peligrosa, se debería endurecer la legislación a nivel local y mundial para regular estas actividades.

Debido a que existen costumbres arraigadas en diferentes culturas, al menos se deberían seguir las normativas internacionales como las de la OPS (2015), que especifican que los animales expendidos en mercados, destinados a la alimentación deben manejarse con prácticas de higiene análogas e igual de exigentes a las de un alimento procesado, con la finalidad de garantizar la inocuidad del

producto final y proteger a los consumidores. Paralelamente se deben proseguir con las investigaciones referidas a virus de origen animal y la transmisión entre especies de acuer-

do con las recomendaciones de Hu et al., (2018), Lu, Stratton y Tang (2020) y Zhou et al., (2020) entre otros.

CONCLUSIÓN

Existe evidencia que respalda el origen más probable del SARS-CoV-2 en el pangolín malayo, a partir de las secuencias nucleotídicas que codifican para la espícula glicoprotéica de este coronavirus.

Los ensayos que se están realizando a nivel mundial ayudarán a definir con mayor exactitud el origen y comportamiento del virus así como el eventual tratamiento de la enferme-

dad en esta pandemia y en rebrotes.

Se requieren medidas legales drásticas para evitar la interacción con animales silvestres, posibles reservorios de virus infecciosos para el ser humano. Cuando los animales se destinan al consumo humano deben respetarse al menos las normativas de manejo de alimentos para garantizar la higiene e inocuidad de los mismos.

LISTA DE REFERENCIAS

- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of molecular biology*, 215(3), 403–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Belouzard, S., Millet, J. K., Licitra, B. N., & Whittaker, G. R. (2012). Mechanisms of coronavirus cell entry mediated by the viral spike protein. *Viruses*, 4(6), 1011–1033. <https://doi.org/10.3390/v4061011>
- Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades de Estados Unidos. (2013). CDC SARS Response Timeline. Recuperado de: <https://www.cdc.gov/about/history/sars/timeline.htm>
- Chen, N., Zhou, M., Dong, X., Qu, J., Gong, F., Han, Y., Qiu, Y., Wang, J., Liu, Y., Wei, Y., Xia, J., Yu, T., Zhang, X., & Zhang, L. (2020). Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a Descriptive study. *Lancet*, 395(10223), 507–513. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30211-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30211-7)
- Crooks, G. E., Hon, G., Chandonia, J. M., & Brenner, S. E. (2004). WebLogo: a sequence logo generator. *Genome research*, 14(6), 1188–1190. <https://doi.org/10.1101/gr.849004>
- Dewitte S. N. (2010). Age Patterns of Mortality During the Black Death in London, A.D. 1349-1350. *Journal of archaeological science*, 37(12), 3394–3400. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2010.08.006>
- Gardner, L. Mapping 2019-nCoV (2020). Recuperado de: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html> (accedido el 04/04/2020).
- Gasteiger, E., Gattiker, A., Hoogland, C., Ivanyi, I., Appel, R. D., & Bairoch, A. (2003). ExPASy: The proteomics server for in-depth protein knowledge and analysis. *Nucleic acids research*, 31(13), 3784–3788. <https://doi.org/10.1093/nar/gkg563>

- Geoghegan, J. L., & Holmes, E. C. (2018). "The phylogenomics of evolving virus virulence". *Nature reviews. Genetics*, 19(12), p. 756–769. <https://doi.org/10.1038/s41576-018-0055-5>
- Gorbalenya, A., Baker, S., Baric, R., de Groot, R., Drosten, C., ... Ziebuhr, J. (2020). The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol*, 5, 536–544. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z>
- Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., Zhang, L., Fan, G., Xu, J., Gu, X., Cheng, Z., Yu, T., Xia, J., Wei, Y., Wu, W., Xie, X., Yin, W., Li, H., Liu, M., Xiao, Y., ... Cao, B. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*, 395(10223), 497–506. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)
- GHO (2020). Global Health Observatory (CH), World Health Organization HIV/AIDS (Recuperado de: <https://www.who.int/gho/hiv/en/> (accedido el 22/03/2020).
- Hu, B., Zeng, L. P., Yang, X. L., Ge, X. Y., Zhang, W., Li, B., Xie, J. Z., Shen, X. R., Zhang, Y. Z., Wang, N., Luo, D. S., Zheng, X. S., Wang, M. N., Daszak, P., Wang, L. F., Cui, J., & Shi, Z. L. (2017). Discovery of a rich gene pool of bat SARS-related coronaviruses provides new insights into the origin of SARS coronavirus. *PLoS pathogens*, 13(11), e1006698. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006698>
- Hu, D., Zhu, C., Ai, L., He, T., Wang, Y., Ye, F., Yang, L., Ding, C., Zhu, X., Lv, R., Zhu, J., Hassan, B., Feng, Y., Tan, W., & Wang, C. (2018). "Genomic characterization and infectivity of a novel SARS-like coronavirus in Chinese bats". *Emerging microbes & infections*, 7(1), 154. <https://doi.org/10.1038/s41426-018-0155-5>
- Ji, W., Wang, W., Zhao, X., Zai, J., & Li, X. (2020). Cross-species transmission of the newly identified coronavirus 2019-nCoV. *Journal of medical virology*, 92(4), 433–440. <https://doi.org/10.1002/jmv.25682>

- Kan, B., Wang, M., Jing, H., Xu, H., Jiang, X., Yan, M., Liang, W., Zheng, H., Wan, K., Liu, Q., Cui, B., Xu, Y., Zhang, E., Wang, H., Ye, J., Li, G., Li, M., Cui, Z., Qi, X., Chen, K., ... Xu, J. (2005). "Molecular evolution analysis and geographic investigation of severe acute respiratory syndrome coronavirus-like virus in palm civets at an animal market and on farms". *Journal of virology*, 79(18), p. 11892–11900. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.18.11892-11900.2005>
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). "MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms". *Molecular biology and evolution*, 35(6), pp. 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Lai, M., y Holmes, K. (2001). "Coronaviridae: the viruses and their replication". En: Knipe, D. M. y Howley, P. M. (Eds.). *Fields Virology* (p. 1163–1185). Philadelphia, EUA: Lippincott Williams & Wilkins.
- Li, W., Moore, M. J., Vasilieva, N., Sui, J., Wong, S. K., Berne, M. A., Somasundaran, M., Sullivan, J. L., Luzuriaga, K., Greenough, T. C., Choe, H., & Farzan, M. (2003). Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*, 426(6965), 450–454. <https://doi.org/10.1038/nature02145>
- Liu, P., Chen, W., y Chen, J. P. (2019). "Viral Metagenomics Revealed Sendai Virus and Coronavirus Infection of Malayan pangolin (*Manis javanica*)". *Viruses*, 11(11), 979. <https://doi.org/10.3390/v11110979>
- Lu, H., Stratton, C. W., & Tang, Y. W. (2020). Outbreak of pneumonia of unknown etiology in Wuhan, China: The mystery and the miracle. *Journal of medical virology*, 92(4), 401–402. <https://doi.org/10.1002/jmv.25678>
- Luo, Y., Li, B., Jiang, R. D., Hu, B. J., Luo, D. S., Zhu, G. J., Hu, B., Liu, H. Z., Zhang, Y. Z., Yang, X. L., & Shi, Z. L. (2018). Longitudinal Surveillance of Betacoronaviruses in Fruit Bats in Yunnan Province, China During 2009–2016. *Virologica Sinica*, 33(1), 87–95. <https://doi.org/10.1007/s12250-018-0017-2>
- Martini, M., Gazzaniga, V., Bragazzi, N. L., & Barberis, I. (2019). The Spanish Influenza Pandemic: a lesson from history 100 years after 1918. *Journal of preventive medicine and hygiene*, 60(1), E64–E67. <https://doi.org/10.15167/2424248/jpmh.2019.60.1.1205>

- Mena, I., Nelson, M. I., Quezada-Monroy, F., Dutta, J., Cortes-Fernández, R., Lara-Puente, J. H., Castro-Peralta, F., Cunha, L. F., Trovão, N. S., Lozano-Dubernard, B., Rambaut, A., van Bakel, H., & García-Sastre, A. (2016). Origins of the 2009 H1N1 influenza pandemic in swine in Mexico. *eLife*, 5, e16777. <https://doi.org/10.7554/eLife.16777>
- Mordechai, L., Eisenberg, M., Newfield, T. P., Izdebski, A., Kay, J. E., & Poinar, H. (2019). The Justinianic Plague: An inconsequential pandemic?. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(51), 25546–25554. <https://doi.org/10.1073/pnas.1903797116>
- Monecke, S., Monecke, H., & Monecke, J. (2009). Modelling the black death. A historical case study and implications for the epidemiology of bubonic plague. *International journal of medical microbiology*, 299(8), 582–593. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2009.05.003>
- NCBI Resource Coordinators (2018). “Database resources of the National Center for Biotechnology Information”. *Nucleic acids research*, 46(D1), D8–D13. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1095>
- NCBI. (1988). National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information Recuperado de: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/NC_045512.2 (accedido el 27/02/2020).
- Neuman, B. W., Adair, B. D., Yoshioka, C., Quispe, J. D., Orca, G., Kuhn, P., Milligan, R. A., Yeager, M., & Buchmeier, M. J. (2006). Supramolecular architecture of severe acute respiratory syndrome coronavirus revealed by electron cryomicroscopy. *Journal of virology*, 80(16), p. 7918–7928. <https://doi.org/10.1128/JVI.00645-06>
- Neher, R. A., Dyrda, R., Druelle, V., Hodcroft, E. B., & Albert, J. (2020). Potential impact of seasonal forcing on a SARS-CoV-2 pandemic. *Swiss medical weekly*, 150, w20224. <https://doi.org/10.4414/smww.2020.20224>
- OPS. (2015). Organización Panamericana de la Salud Recuperado de: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10562:2015-principios-generales-de-higiene-de-los-alimentos-del-codex&Itemid=41271&lang=es (accedido el 23/03/2020).

- Pickett, B. E., Sadat, E. L., Zhang, Y., Noronha, J. M., Squires, R. B., Hunt, V., Liu, M., Kumar, S., Zaremba, S., Gu, Z., Zhou, L., Larson, C. N., Dietrich, J., Klem, E. B., & Scheuermann, R. H. (2012). "ViPR: an open bioinformatics database and analysis resource for virology research". *Nucleic acids research*, 40, D593–D598.
- Plowright, R. K., Parrish, C. R., McCallum, H., Hudson, P. J., Ko, A. I., Graham, A. L., & Lloyd-Smith, J. O. (2017). Pathways to zoonotic spillover. *Nature reviews. Microbiology*, 15(8), 502–510. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.45>
- Sabbatani, S., & Fiorino, S. (2009). La peste antonina e il declino dell'Impero Romano. Ruolo della guerra partica e della guerra marcomannica tra il 164 e il 182 d.c. nella diffusione del contagio [The Antonine Plague and the decline of the Roman Empire]. *Le infezioni in medicina*, 17(4), 261–275
- Saunders-Hastings, P. R., & Krewski, D. (2016). Reviewing the History of Pandemic Influenza: Understanding Patterns of Emergence and Transmission. *Pathogens*, 5(4), 66. <https://doi.org/10.3390/pathogens5040066>
- Song, W., Gui, M., Wang, X., & Xiang, Y. (2018). Cryo-EM structure of the SARS coronavirus spike glycoprotein in complex with its host cell receptor ACE2. *PLoS pathogens*, 14(8), e1007236. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007236>
- Tao, Y., Shi, M., Chommanard, C., Queen, K., Zhang, J., Markotter, W., Kuzmin, I. V., Holmes, E. C., & Tong, S. (2017). Surveillance of Bat Coronaviruses in Kenya Identifies Relatives of Human Coronaviruses NL63 and 229E and Their Recombination History. *Journal of virology*, 91(5), e01953-16. <https://doi.org/10.1128/JVI.01953-16>
- Vijayanand, P., Wilkins, E., & Woodhead, M. (2004). Severe acute respiratory syndrome (SARS): a review. *Clinical medicine*, 4(2), 152–160. <https://doi.org/10.7861/clin-medicine.4-2-152>
- Wang, M., Yan, M., Xu, H., Liang, W., Kan, B., Zheng, B., Chen, H., Zheng, H., Xu, Y., Zhang, E., Wang, H., Ye, J., Li, G., Li, M., Cui, Z., Liu, Y. F., Guo, R. T., Liu, X. N., Zhan, L. H., Zhou, D. H., ... Xu, J. (2005). SARS-CoV infection in a restaurant from palm civet. *Emerging infectious diseases*, 11(12), 1860–1865. <https://doi.org/10.3201/eid1112.041293>

- WHO (2020). World Health Organization (CH), Coronavirus disease (COVID-19) outbreak situation Dashboard Recuperado de: <https://experience.arcgis.com/experience/685d0ace521648f8a5beeee1b9125cd> (accedido el 04/04/2020).
- Worobey, M., Watts, T. D., McKay, R. A., Suchard, M. A., Granade, T., Teuwen, D. E., Koblin, B. A., Heneine, W., Lemey, P., & Jaffe, H. W. (2016). 1970s and 'Patient 0' HIV-1 genomes illuminate early HIV/AIDS history in North America. *Nature*, 539(7627), 98–101. <https://doi.org/10.1038/nature19827>
- Woo, P. C., Lau, S. K., Lam, C. S., Lau, C. C., Tsang, A. K., Lau, J. H., Bai, R., Teng, J. L., Tsang, C. C., Wang, M., Zheng, B. J., Chan, K. H., & Yuen, K. Y. (2012). Discovery of seven novel Mammalian and avian coronaviruses in the genus deltacoronavirus supports bat coronaviruses as the gene source of alphacoronavirus and betacoronavirus and avian coronaviruses as the gene source of gammacoronavirus and deltacoronavirus. *Journal of virology*, 86(7), 3995–4008. <https://doi.org/10.1128/JVI.06540-11>
- Wu, Z., & McGoogan, J. M. (2020). Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*, 10.1001/jama.2020.2648. Advance online publication. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.2648>
- Zhou, P., Yang, X. L., Wang, X. G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., Si, H. R., Zhu, Y., Li, B., Huang, C. L., Chen, H. D., Chen, J., Luo, Y., Guo, H., Jiang, R. D., Liu, M. Q., Chen, Y., Shen, X. R., Wang, X., Zheng, X. S., ... Shi, Z. L. (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 579(7798), 270–273. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>

EFFECTOS DEL ACOPLAMIENTO INTRAMOLECULAR EN LAS RESPUESTAS OPTICAS DE SISTEMAS DE DOS NIVELES

INTRAMOLECULAR COUPLING EFFECTS IN OPTICAL RESPONSES OF TWO-LEVEL SYSTEMS

José Luis Paz^{1*}, Eleana Ruiz-Hinojoza¹, Ysaías Alvarado², Luis Lascano¹ &
Cesar Costa-Vera¹

Recibido: 21 de febrero 2020 / Aceptado: 27 de abril 2020

Publicado en línea: 28 de abril 2020

DOI: 10.26807/ia.v8i2.137

Palabras claves: Acoplamiento Intramolecular, Adiabático, Diabático,
Ecuaciones de Bloch ópticas

Keywords: Intramolecular Coupling, Adiabatic, Diabatic,
Optical Bloch equations

RESUMEN

Se evaluaron los efectos del acoplamiento intramolecular en las propiedades ópticas no lineales de colorantes orgánicos inmersos en un reservorio térmico empleando espectroscopia de mezcla de cuatro ondas. Se modeló la molécula

¹ Escuela Politécnica Nacional, Departamento de Física, Quito, Ecuador (*correspondencia: jlpaz@usb.ve; jose.pazr@epn.edu.ec, angyruizh@yahoo.es, luis.lascano@epn.edu.ec, cesar.costa@epn.edu.ec)

² Laboratorio de Caracterización Molecular y Biomolecular (LCMB), Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Zulia, Venezuela (alvaradoysaia@gmail.com)

aislada como curvas de energía Born-Oppenheimer consistiendo de dos estados electrónicos descritos como potenciales armónicos, con mínimos desplazados en coordenadas nucleares y energía. Inclusión de un Hamiltoniano residual de correlación electrónica y/o spin orbita, genera la separación de las dos curvas de acuerdo a las reglas de cruce evitado. Se evaluaron los momentos dipolares, tanto permanentes como de transición, como función de los parámetros del acoplamiento. Se usaron ecuaciones de Bloch ópticas convencionales para el cálculo de las polarizaciones inducidas en la aproximación tensorial, y con ellas las propiedades ópticas no lineales. Los resultados muestran atenuación de la intensidad en las respuestas ópticas y modificaciones en su topología, consecuencia del acoplamiento intramolecular y tipo de transición óptica. Amplificaciones paramétricas y posibilidad de Suiches en las propiedades ópticas, surgen como consecuencia de la inserción de acoplamientos intramoleculares.

ABSTRACT

In this work, the effects of the vibronic coupling on the nonlinear optical properties of organic dyes immersed in a thermal bath with the use of the Four-Wave mixing spectroscopy are evaluated. The isolated molecule is modeled as energy curves of Born-Oppenheimer, consisting of two-electronic states described by harmonic potentials, with minima displaced in energy and nuclear coordinates. Inclusion of a residual Hamiltonian of electronic correlation and/or spin-orbit generates the separation of the two curves according to the rules of avoided crossing. The permanent and transition dipole moments as function of the intramolecular coupling parameters are evaluated. We use the conventional optical Bloch equations, for the calculation of the polarizations induced in the tensorial approach and with them, the nonlinear optical properties. The results show attenuation of the intensity in the optical responses and modifications in their topology, as a consequence of the intramolecular coupling and type of optical transition. Parametric amplifications and the possibility of Switches in the optical properties, arise as a consequence of the insertion of intramolecular couplings.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo teórico de las propiedades ópticas no lineales, permite establecer la relación entre las características del material (estructura, composición química, etc.) y las de la radiación incidente, facilitando la interpretación y la predicción de mediciones ópticas en función de otras propiedades del sistema (Christodoulides et al., 2010; Guangjun, 2013). Por ejemplo, el coeficiente de absorción y el índice de refracción no lineales, dependen de la susceptibilidad del sistema. Ésta a su vez es función del momento dipolar eléctrico (Boyd, 2008) del mismo, entre otros parámetros. Esto juega un papel importante en los procesos de producción de colorantes (Christodoulides et al., 2010; Kajzar et al., 1994) y en el diseño de nuevos materiales (Guangjun, 2013). Pese a su importancia, varios autores (Squitiери et al., 1994; Paz et al., 2016a) han estimado valores de respuestas ópticas no lineales con base en momentos dipolares eléctricos constantes, cuando éstos son fuertemente influenciados por fenómenos como el acoplamiento intramolecular (Castro et al., 2004; Dunn et al., 2015). El acopla-

miento intramolecular, es la interacción entre el movimiento nuclear y el movimiento electrónico en un sistema poliatómico, lo que produce un desplazamiento de los niveles de energía de los estados electrónicos del material, y en consecuencia su distribución electrónica se ve afectada (Bersuker, 2006; Di Bartolo & Goldberg, 1980; Azumi & Matsuzaki, 1977). El acoplamiento intramolecular corrige las funciones de onda de la aproximación Born-Oppenheimer BO que describen el sistema alterando el momento dipolar eléctrico. Así, la polarización macroscópica del sistema se modifica (Castro et al., 2004; Cusati et al., 2004; Paz et al., 1994), lo que implicaría que existe un efecto medible del acoplamiento intramolecular en las propiedades ópticas del sistema. Las investigaciones relacionadas con el acoplamiento intramolecular, han explicado fenómenos como la aparición de las denominadas transiciones electrónicas “prohibidas” por simetría en espectros de absorción, o la inestabilidad molecular de sistemas con configuraciones en estados electrónicos degenerados a través del efecto Jahn-Teller (Bersu-

ker, 2006). El campo de trabajo ha abarcado temas como la influencia del acoplamiento en la interpretación de imágenes de microscopía de efecto túnel de aniones de Fullerenos (Squitieri et al., 1994), y de espectroscopia de efecto túnel de electrones inelásticos (Walczak, 2006), su relación con el potencial químico y como éste mejora la transferencia de carga intermolecular, así como el diseño de moléculas de spin alto (Iwahara et al., 2011). En el presente trabajo, se estudió la influencia del acoplamiento intramolecular en la intensidad y topología de las propiedades ópticas

no lineales de sistemas moleculares, en presencia de un reservorio térmico e interactuando con señales de mezcla de cuatro ondas MCO no degenerada. De los resultados obtenidos se evidencian atenuaciones importantes de las propiedades ópticas, así como modificaciones topológicas con respecto a los parámetros que caracterizan el acoplamiento inducido. Los estudios realizados pretenden una mayor comprensión de los procesos multifotónicos desde la perspectiva de análisis de los momentos dipolares derivados en los estados adiabáticos.

METODOLOGÍA

Se considera un sistema de dos niveles con estructura interna vibracional en presencia de un reservorio térmico y de radiación intensa de acuerdo con una interacción de tipo dipolar-eléctrica y siguiendo una dinámica de acuerdo al formalismo de Liouville. Con teoría cuántica de relajación, se derivaron las ecuaciones maestras generalizadas para los elementos de la matriz de densidad sujeta a la aproximación Markoviana. Bajo consideraciones fenomenológicas, se generaron las ecuaciones ópticas de

Bloch EOB (Boyd, 2008), las cuales permiten describir la dinámica de coherencias y de diferencias poblacionales en los estados electrónicos considerados. Empleando estas ecuaciones, el sistema molecular aislado se trató como potenciales armónicos desplazados en energías y coordenadas nucleares. A través de Hamiltonianos residuales se inducen las adiabaticidades y con ellas se calculan los momentos dipolares permanentes y de transición en la base no-acoplada (García-Sucre et al., 1970; Fulton &

Gouterman, 1964; Teller, 1937). Se resuelven las ecuaciones de coherencia y de población, bajo tratamientos perturbativos, haciendo uso de transformaciones de Fourier. Para la espectroscopia de MCO se calcularon las polarizaciones inducidas y con ellas las susceptibilidades a tercer orden, evaluadas bajo consideraciones locales (Paz et al., 2013). Las propiedades ópticas se calcularon a través de las susceptibilidades no lineales (Bavli et al., 1990; Jagatap & Meath, 2002). El estudio se realizó a través de modificaciones en la saturación del haz intenso incidente, parámetros de acoplamiento, magnitudes de los momentos dipolares permanentes y de transición y finalmente, consideraciones en el tipo de transición óptica entre los estados electrónicos adiabáticos.

Teoría

Acoplamiento intramolecular

Se describe la molécula aislada como un sistema de dos niveles referidos a estados electrónicos, cuyas curvas de energía potencial son representadas por osciladores armónicos desplazados en coordenadas nucleares $-Q_0$ y energía V_0 (Figura 1).

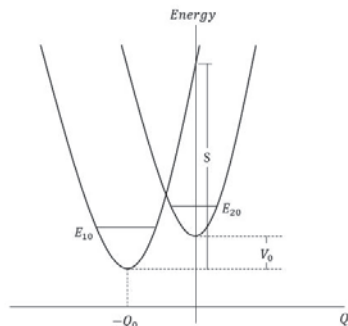


Figura 1. Representación diabática

Un Hamiltoniano residual de perturbación de correlación electrónica, o de tipo spin orbita, $\tilde{H}$ acopla estos dos estados electrónicos. Las curvas previas pueden ser separadas de acuerdo con las reglas de cruzamiento evitado (Figura 2).

El Hamiltoniano asociado con el sistema molecular en presencia del acoplamiento intramolecular se define como $H = H_0 + H(r)$, donde H_0 representa los dos osciladores desacoplados con estados vibracionales definidos, mientras que $\tilde{H}(r)$ corresponde al término residual de perturbación. Las autofunciones de H_0 son $|\psi_1\rangle$ y $|\psi_2\rangle$, con $H_0|\psi_1\rangle = E_{1j}|\psi_1\rangle$ y $H_0|\psi_2\rangle = E_{2k}|\psi_2\rangle$; $\{1, 2\}$ representan los estados electrónicos y $\{j, k\}$ los estados vibracionales.

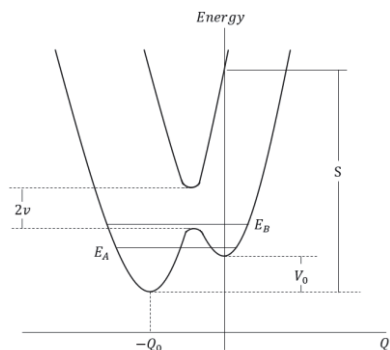


Figura 2. Representación adiabática

La inclusión de $\tilde{H}(r)$ en el Hamiltoniano total hace $H|\Psi_A\rangle = E_A|\Psi_A\rangle$ y $H|\Psi_B\rangle = E_B|\Psi_B\rangle$. En la BO se tiene $|\Psi_A\rangle = |\chi_{1j}\psi_1\rangle$ y $|\Psi_B\rangle = |\chi_{2k}\psi_2\rangle$. El acoplamiento intramolecular se representa por los elementos no diagonales del operador residual, dado por:

$$\langle \chi_{1j} \psi_1 | \tilde{H} | \chi_{2k} \psi_2 \rangle = W_{12} = v \langle \chi_{1j} | \chi_{2k} \rangle \quad (1)$$

y $v = \langle \psi_1 | \tilde{H} | \psi_2 \rangle$, definido como el coeficiente de acoplamiento, siendo $\langle \chi_{1j} | \chi_{2k} \rangle$ la integral de solapamiento. Resolviendo variacionalmente las energías de los estados adiabáticos, tenemos:

$$E_B = \frac{1}{2} \left\{ (E_{1j} + E_{2k}) + \left[(E_{1j} - E_{2k})^2 + 4v^2 \langle \chi_{1j} | \chi_{2k} \rangle^2 \right]^{1/2} \right\} \quad (2)$$

$$E_A = \frac{1}{2} \left\{ (E_{1j} + E_{2k}) - \left[(E_{1j} - E_{2k})^2 + 4v^2 \langle \chi_{1j} | \chi_{2k} \rangle^2 \right]^{1/2} \right\}$$

y para las funciones de onda de H, tenemos:

$$\begin{aligned} |\Psi_B\rangle &= |\Psi_B(r, Q)\rangle = C_{1j}^B \left[\psi_1(r; Q) \chi_{1j}(Q) + A_{jk}^B \psi_2(r; Q) \chi_{2k}(Q) \right] \\ |\Psi_A\rangle &= |\Psi_A(r, Q)\rangle = C_{1j}^A \left[\psi_1(r; Q) \chi_{1j}(Q) - A_{jk}^A \psi_2(r; Q) \chi_{2k}(Q) \right] \end{aligned} \quad (3)$$

donde r, Q representan las coordenadas electrónicas y nucleares, respectivamente.

$$E_{1j} = (j+1/2)\hbar\omega_0; \quad E_{2k} = (k+1/2)\hbar\omega_0 + V_0$$

$$C_{1j}^A = (1 + A_{jk}^A)^{-1/2}; \quad C_{1j}^B = (1 + A_{jk}^B)^{-1/2};$$

$$A_{jk}^A = (E_{1j} - E_A) / \langle \chi_{1j} | \chi_{2k} \rangle v;$$

$$A_{jk}^B = (E_{1j} - E_B) / \langle \chi_{1j} | \chi_{2k} \rangle v.$$

La frecuencia de Bohr es

$\omega_0 = (E_{2k} - E_{1j}) / \hbar$. En la base adiabática, se tiene los momentos dipolares de transición y permanentes de forma:

$$\begin{aligned} \hat{\mu}_{AB} &= -C_{1j}^A C_{1j}^B \left[A_{jk}^A A_{jk}^B m_{22}(0) + m_{11}(-Q_0) \right] \\ &- C_{1j}^A C_{1j}^B m_{12}(-Q_0) \langle \chi_{1j} | \chi_{2k} \rangle (A_{jk}^B + A_{jk}^A) \end{aligned} \quad (4.a)$$

$$\begin{aligned} \hat{\mu}_{\pi} &= (C_{1j}^r)^2 \left[(A_{jk}^r)^2 m_{22}(0) + m_{11}(-Q_0) \right] - \\ &2(C_{1j}^r)^2 m_{12}(-Q_0) \langle \chi_{1j} | \chi_{2k} \rangle (A_{jk}^r) \end{aligned} \quad (4.b)$$

con $r = A, B$ y donde m_{11} y m_{22} representan los momentos dipolares permanentes asociados a la base en la aproximación diabática. De la ecuación (4) es importante resaltar que el

elemento no diagonal del momento dipolar diabático, es evaluado en $-Q_0$, de acuerdo con el principio de Franck-Condon (Guseinov et al., 2006). Podemos definir:

$$m_{ij}(Q) = \int \psi_i^*(r; Q) \hat{m} \psi_j(r; Q) d^3 r \quad (5)$$

El factor de solapamiento de los estados vibracionales $\langle \chi_{1j} | \chi_{2k} \rangle$ se define por la fórmula de Pekarian, (Di Bartolo & Goldberg, 1980), así:

$$\langle \chi_{1j} | \chi_{2k} \rangle = \frac{(-1)^k}{(k!)^{1/2}} S^{k/2} \exp\left(-\frac{S}{4}\right) 2^j$$

para $j = 0$

Ecuaciones dinámicas ópticas de Bloch

Para la interacción sistema-baño térmico, consideramos mecanismos de relajación en la aproximación Markoviana, mientras la interacción radiativa dipolar eléctrica, la consideramos de la forma:

$$\partial_t \rho = M(t) \rho + R \quad (6)$$

donde ρ es la matriz densidad, $M(t)$ la matriz radiativa y R la correspondiente a la relajación.

$$\rho = \begin{pmatrix} \rho_{AB} \\ \rho_{BA} \\ \rho_D \end{pmatrix}, \quad R = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ \frac{1}{T_1} \rho_D^{(0)} \end{pmatrix}, \quad d = \mu_{BB} - \mu_{AA},$$

$$M(t) = \begin{pmatrix} 0 & f(v) & \frac{i}{\hbar} \mu_{AB} E \\ f^*(v) & 0 & -\frac{i}{\hbar} \mu_{BA} E \\ -\frac{2i}{\hbar} \mu_{AB} E & \frac{2i}{\hbar} \mu_{BA} E & -\frac{1}{T_1} \end{pmatrix},$$

con $f(v) = i\tilde{\omega}_0 - \frac{1}{T_2} - \frac{i}{\hbar} dE$; T_1 y T_2 son los tiempos de relajación longitudinal y transversal, respectivamente; el superíndice (0) indica los valores de equilibrio de la diferencia de población; E es la amplitud del campo total, d es la diferencia de momentos dipolares permanentes. La ecuación (6) se resuelve en el espacio de Fourier, considerando la mezcla de cuatro ondas. Dada la presencia de momentos dipolares permanentes de los estados adiabáticos, es necesario no considerar en los cálculos, aproximaciones de onda rotante (Paz et al. 1990). Este proceso de MCO implica la interacción de dos haces de frecuencias ópticas ω_1 y ω_2 , y con direcciones de propagación $\vec{k}_1$ y $\vec{k}_2$. La señal de MCO se observa a la frecuencia $\omega_3 = 2\omega_1 - \omega_2$ (Paz et al.,

2013). Para efectos del cálculo de polarización $P(\omega_3)$ son necesarias las componentes de Fourier de coherencia $\rho_{BA}(\omega_3)$ y $\rho_{AB}(\omega_3)$, y poblaciones en los estados adiabáticos $\rho_{AA}(\omega_3)$ y $\rho_{BB}(\omega_3)$, dada por

$$P^{(3)}(\omega_3) = N \left[\rho_{AB}^{(3)}(\omega_3) \mu_{BA} + \rho_{BA}^{(3)}(\omega_3) \mu_{AB} + d\rho_{BB}^{(3)}(\omega_3) + \mu_{AA} \right] \quad (7)$$

N es la concentración química de moléculas absorbentes y el superíndice (3) denota el orden de perturbación total. La ecuación (7) en términos de la susceptibilidad en la aproximación tensorial, se expresa como:

$$P^{(3)}(\omega_3) = \epsilon_0 \chi^{(3)}(\omega_3) E_1^2 E_2^* \quad (8)$$

donde ϵ_0 es la constante dieléctrica del material mientras que $\chi^{(3)}(\omega_3)$ es la susceptibilidad (compleja) de respuesta óptica. En este trabajo nos in-

teresa la absorción como atenuación de la señal de MCO al propagarse en el medio. Considerando aproximaciones de envolvente suave para los campos clásicos, la ecuación de onda electromagnética en el presente tratamiento adquiere la forma:

$$2ik\partial_z E - k^2 E + \omega^2 / c^2 E = -\mu_0 \omega^2 P \quad (9)$$

Considerando aspectos propios de la electrodinámica clásica, es posible obtener el coeficiente de absorción, dado por:

$$\alpha(\omega_3) = \frac{2\pi\omega_3}{\eta(\omega_3)c} \text{Im}\chi^{(3)}(\omega_3) \quad (10)$$

$$\text{donde } \eta(\omega_3) = \left[\eta_0^2 + 4\pi \text{Re}\chi^{(3)}(\omega_3) \right]^{1/2} \quad (11)$$

es el índice de refracción no lineal, mientras η_0 es el índice de refracción del solvente puro.

RESULTADOS

La discusión del efecto causado por la interacción entre el movimiento nuclear y el electrónico, abarcará el empleo de transiciones entre niveles vibracionales distintos y una intensidad para el factor de acoplamiento

alterable. Seleccionamos como ejemplo ilustrativo del modelo, el colorante orgánico Cloruro Verde Malaquita, de gran utilidad en comunicaciones ópticas y diseño de dispositivos optoelectrónicos. Nuestro cálculo supone

un haz de bombeo a segundo orden de la MCO y por simplicidad, transiciones que se dan entre niveles vibracionales fundamentales.

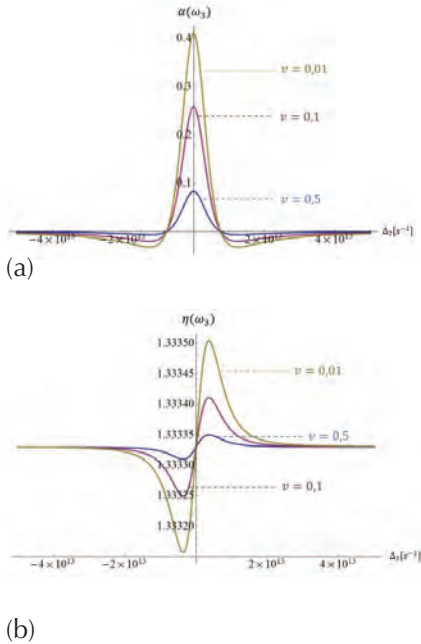


Figura 3. Perfiles de intensidad del coeficiente de absorción (a) e índice de refracción (b) del colorante orgánico Verde Malaquita con factores de acoplamiento $v=\{0,1-0,01-0,5\}$

La Figura 3(a) representa la variación del coeficiente de absorción no lineal, y Figura 3(b) la variación del índice de refracción, ambas como función del desintonizamiento en frecuencia del haz de prueba $\Delta_2 (s^{-1})$ pa-

rametrizada por los valores de acoplamiento, en el caso de sistemas moleculares con momentos dipolares nulos en sus estados adiabáticos. Las Figuras 4(a) y 4(b) representan las mismas propiedades ópticas, pero en casos de dipolos permanentes no nulos.

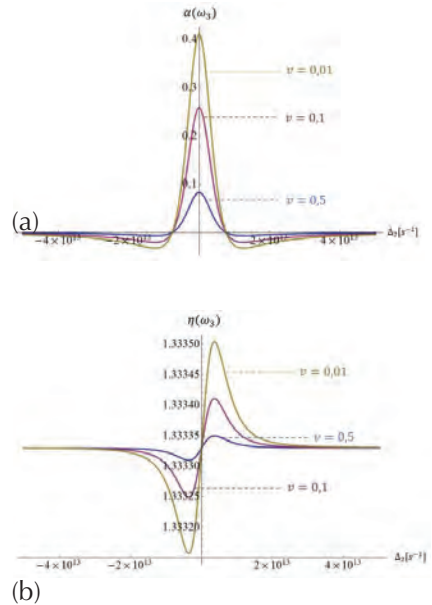


Figura 4. Perfiles de intensidad del coeficiente de absorción (a) e índice de refracción (b) del colorante orgánico Verde Malaquita con factores de acoplamiento $v=\{0,1-0,01-0,5\}$

En las Figuras 3 y 4, el perfil azul corresponde al sistema con $v=\{0,5\}$, el perfil rojo con $v=\{0,1\}$ y el perfil verde con $v=\{0,01\}$.

DISCUSIÓN

Los perfiles absorptivos (Figura 3(a) y Figura 4(a)), muestran la disminución de la intensidad de la propiedad óptica con el aumento del factor de acoplamiento, independientemente del valor de la diferencia de momentos dipolares permanentes. Sin embargo, en el perfil dispersivo, aumentos en el valor de acoplamiento, implica disminución en la intensidad de la propiedad óptica sólo en casos de momentos dipolares permanentes nulos. Comprendido, en el caso de momentos dipolares permanentes no nulos, la intensidad de la propiedad óptica (dispersión) pasa por un máximo localizado para el valor intermedio del acoplamiento intramolecular. Al comparar los dos perfiles absorptivos, en el caso de valor no nulo para la diferencia de dipolos permanentes, la propiedad óptica alcanza un mayor valor de intensidad para un factor de acoplamiento mínimo. En ambos casos, valores de momentos dipolares permanentes nulos y no nulos, se nota en regiones cercanas a la resonancia un valor negativo de la absorción, consecuencia posiblemente de un proceso de amplificación paramétrica sintonizable

con el colorante orgánico. A medida que el factor de acoplamiento, ν , se aproxima a cero, menor es el acoplamiento entre los movimientos nuclear y electrónico de las moléculas en sus propiedades macroscópicas. Se conoce que ν juega un papel fundamental en la emisión de luz de una molécula al estimular transiciones no radiativas. Por tanto, un factor de acoplamiento pequeño, está relacionado con la anulación de estas transiciones. El factor ν , además está asociado a las desviaciones geométricas en una molécula, lo que se conoce como el efecto pseudo-Jahn-Teller (Grochala & Hoffmann, 2000). Es importante destacar que en la Figura 3(b) para un valor de factor de acoplamiento $\nu=0,01$ con $d=0$ y en la Figura 4(b) con factores de acoplamiento $\nu=0,1$ con valores de $d \neq 0$, los perfiles de dispersión son muy semejantes, y alcanzan valores equivalentes. Sin embargo, lo importante a detallar en estos casos de acoplamiento y en sus respectivos valores de " d ", que pequeñas variaciones en la desintonización del haz de prueba, conllevan a cambios muy fuertes en la respuesta óptica, lo que permite

suponer que estamos en presencia de un “suiche” óptico. Se nota en las propiedades dispersivas en la región de resonancia de prueba $\Delta_2(s^{-1})=0$, su valor coincidente con el del solvente puro, (en este caso, agua) independientemente de la magnitud del factor de acoplamiento y de la diferencia de momentos dipolares permanentes. Las propiedades tanto absorptivas como dispersivas mostradas, se corresponden con la misma transición de frecuencia entre estados adiabáticos. Un valor no nulo de la diferencia de momentos dipolares permanentes en los estados adiabáticos significa que por lo menos uno de los estados no tiene paridad definida, lo que se traduce en la presencia de elementos diagonales en el

operador de momento dipolar. La existencia de estos elementos diagonales en el Hamiltoniano de interacción altera las propiedades ópticas no lineales de un sistema molecular en la intensidad de sus respuestas, y ocasiona la aparición de transiciones multifotónicas antes no permitidas, así como dispersión Raman o absorción de dos fotones. En moléculas polares como la empleada, el rol de estos momentos dipolares permanentes (Kmetc and Meath, 1985; Bavli et al., 1990; Jagatap & Meath, 2002) es importante, dado que los mismos están involucrados en los mecanismos de excitación de dos fotones y cuantifican la transferencia de carga intramolecular durante la excitación electrónica (Jagatap & Meath, 2002).

CONCLUSIÓN

La inserción del acoplamiento intramolecular en los tratamientos de respuestas ópticas no es muy común en la literatura. La forma del Hamiltoniano residual dependerá mucho de la naturaleza de la estructura molecular de estudio. Cuanto más acoplado sean estos movimientos electrónicos y nucleares, menor será la intensidad de la respuesta óptica. Estos estudios

preliminares de consideración del acoplamiento intramolecular en todos los aspectos dinámicos de la matriz densidad, polarizaciones y susceptibilidades ópticas, permiten reconocer que en regiones de resonancia entre los haces incidentes del tratamiento MCO, conllevan a posibles construcciones de “suiches” ópticos en la propiedad refractiva, y de posibles

amplificaciones paramétricas sintonizables con los colorantes orgánicos, en la propiedad absorbitiva. El resultado que mostramos en casos de nulidad de valores de “d”, pueden referirse a la no existencia de momentos dipolares permanentes de la molécula en cada estado adiabático o que en ambos estados el valor de los mismos, sea exactamente igual.

Finalmente, las expresiones asociadas a los momentos dipolares de transición ecuación (4.a) y permanentes ecuación 4(b) en los estados adiabáticos, son de singular importancia para interpretaciones en los procesos de absorción de dos fotones y consideración explícita de la aproximación de onda rotante en los tratamientos del modelaje cuántico.

LISTA DE REFERENCIAS

- Azumi, T. & Matsuzaki, K. (1977). What does the term “vibronic coupling” mean? *Photochemistry and Photobiology*, 25(3), 315-326.
- Bavli, R., Heller, D. & Band, Y. (1990). Nonlinear optical properties of two-level systems with permanent dipole moments. *Physical Review A*. 41(7), 3960-3968.
- Bersuker, I. (2006). *The Jahn-Teller Effect*. University Press Cambridge.
- Boyd, R.W. (2008). *Nonlinear optics*: Academic Press, USA.
- Castro, J., Yépez, E. & Soto, J. (2004). No adiabaticidad en moléculas y el efecto Jahn-Teller. *Revista Mexicana de Física* 50(2), 123-131.
- Christodoulides, D., Khoo, I., Salamo, G, Stegeman, G Van Stryland, E. (2010). Nonlinear refraction and absorption: mechanism and magnitudes. *Advances in Optics and Photonics*, 2(1), 60-200.
- Cusati, T., Paz, J.L. & Hernández, A. (2004). Effects of the dipole moments behavior on a vibronic coupling model for the Four-Wave Mixing signal. *International Journal of Quantum Chemistry*, 98(5), 425-433

- Di Bartolo., B y Foldberg, V. (1980). *Radiationless Processes*, Berlin, Springer.
- Dunn, J., Alqannas, H. & Lakin, A. (2015). Jahn-Teller effects and surface interactions in multiply-charged fullerene anions and the effect on scanning tunneling microscopy images. *Chemical Physics*, 460, 14-25.
- Fulton, R. & Gouterman, M. (1964). Vibronic coupling II. Spectra of dimers. *The Journal of Chemical Physics*, 41(8), 2280-2286.
- García-Sucre, M., Goychman, F. & Lefebvre, R. (1970). Adiabatic corrections in a simple model of two interacting electronic-potential curves. *Physical Review A* 2(5), 1738-1745
- Grochala, W. & Hoffmann, R. (2000). Chemistry of vibronic coupling. How one might maximize off-diagonal dynamic vibronic coupling constants for intervalence charge-transfer (ivct) states in an aba system (a,b) alkali metal, h, halogen. *The Journal of Physical Chemistry A*, 104(43), 9740-9749
- Guangjun, T. (2013) *Electron- vibration coupling and its effects on optical and electronic properties of single molecule*. PhD Thesis. Department of theoretical Chemistry and Biology, Royal Institute of Technology, UK
- Guseinov, I., Mamedov, B. & Ekenoglu, A. (2006). Analytical evaluation of two-center Franck-Condon overlap integrals over harmonic oscillator wave function. *Journal of Physical Sciences*, 61(3-4), 141-145.
- Iwahara, N., Sato, T. & Tanaka, K. (2011). Molecular design for high-spin molecules in view of vibronic couplings. *Polyhedron*, 30(18), 3048-3053.
- Jagatap, B. & Meath, W. (2002). Contributions of permanent dipole moments to molecular multiphoton excitation cross sections. *Journal of the Optical Society of America B*, 19(11), 2673-2681.
- Kajzar, E, Charra, F., Nunzi, J., Raymond, P., Idiart, E. y Zagorska (1994). Third order nonlinear optical properties and functionalized polymers. En N. Paras (ED.) *Frontiers of Polymers and Advanced Materials* (11, pp 141-153). Berlin: Springer

- Kmetc, M. & Meath, W. (1985). Permanent dipole moments and multiphoton resonances. *Physics Letters A*, 108(7), 340-343
- Paz, J.L., García-Sucre, M., Squitieri, E. & Mujica, V. (1994). The effect of intramolecular coupling on the optical susceptibilities of a two-level molecule. *Chemical Physics Letters*, 217(3), 333-341.
- Paz, J.L., Mastrodomenico, A., Cárdenas, J., Rodríguez, L. y Costa-Vera, C. (2016a). En Lin, S.H., Villaeys, A.A. y Fujimura, Y. (ED). *Advances in Multiphoton processes and Spectroscopy* (23, pp 211-248). Londres: World Scientific Publishing.
- Paz, J.L., Mastrodomenico, A., Costa-Vera, C., Cárdenas-García, J. & Rodríguez, L.G (2015). Rotating wave approximation effects on the Nonlinear Optical responses of complex molecular systems Using a Four-Wave mixing signal. *Journal of Modern Optics* 62, 403-411.
- Paz, J.L., Mastrodomenico, A. & Izquierdo, M. (2013). Symmetry properties in the study of the Rayleigh-Type Optical Mixing signal in presence of a thermal bath. *Journal of Nonlinear Optical Physics and Materials*, 22(1), 1-13
- Squitieri, E., García-Sucre, M., Paz, J.L. & Mujica, V. (1994). Refractive index in a dilute solution of molecules with intramolecular coupling up to third order in the external field. *Molecular Physics*, 82(1), 227-234.
- Teller, E. (1937). The crossing of potential surfaces. *The Journal of Physical Chemistry*, 431 (1), 109-116.
- Walczak, K. (2006). The influence of vibronic coupling on the shape of transport characteristics in inelastic tunneling through molecules. *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures*, 33(1), 110-115.

CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA Y ELUCIDACIÓN ESTRUCTURAL DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE PICRAMNIA SP. EN LA AMAZONÍA ECUATORIANA

PHYTOCHEMICAL SCREENING AND STRUCTURAL ELUCIDATION OF SECONDARY METABOLITES FROM PICRAMNIA SP. IN THE ECUADORIAN AMAZON

Stalin Bermúdez-Puga¹, Génesis Romero-Zambrano¹,
María Peñuela-Mora¹, Amanda Cevallos-Vallejo²,
Juan Romero-Benavides³, Luis Guamán O.³ & Pablo Cisneros-Pérez^{1*}

Recibido: 16 de enero 2020 / Aceptado: 18 de mayo 2020

Publicado en línea: 2 de junio 2020

DOI: 10.26807/ia.v8i2.129

Palabras claves: Antioxidantes, antimicrobianos, antraquinonas,
Napo, *Picramnia*.

Keywords: Antioxidants, antimicrobial, anthraquinones,
Napo, *Picramnia*.

¹ Universidad Regional Amazónica Ikiam, Tena, Napo, Ecuador (stalin.bermudez@est.ikiam.edu.ec; genesis.romero@est.ikiam.edu.ec; mariacristina.penuela@ikiam.edu.ec; *correspondencia: pablo.cisneros@ikiam.edu.ec).

² Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Escuela de Ciencias Químicas, Quito, Ecuador (ascevallosv@puce.edu.ec)

³ Universidad Técnica Particular de Loja, Sección Departamental Química Básica y Aplicada, Departamento de Química y Ciencias Exactas, Loja, Ecuador (jcromerob@utpl.edu.ec, limguaman@utpl.edu.ec).

RESUMEN

Las especies del género *Picramnia* se encuentran a lo largo de América tropical, evidenciando una amplia distribución. Además, se han descrito los metabolitos secundarios que presentan algunas de ellas. En la provincia de Napo, ubicada en la Amazonía ecuatoriana, se encuentra una de las especies de este género, cuyos metabolitos aún no han sido elucidados. En el presente trabajo se estableció como objetivo extraer y aislar metabolitos secundarios de esta planta, así como caracterizarlos mediante técnicas espectroscópicas. Se recolectaron las partes aéreas de la planta *Picramnia* sp. en la Reserva Biológica Jatun Sacha. Las hojas secas y molidas fueron maceradas consecutivamente en diferentes solventes, y algunos de los extractos obtenidos fueron particionados y/o purificados por cromatografía en columna flash. Tanto a las hojas secas como a los extractos obtenidos se les realizó pruebas cualitativas para determinar la presencia de los metabolitos de interés. Se comprobó la presencia de antraquinonas, taninos, terpenoides, fenoles y flavonoides. Finalmente, se identificaron β -sitosterol y crisofanol en fracciones purificadas, las cuales fueron elucidadas usando una combinación de espectroscopía de RMN ^1H , RMN ^{13}C y espectrometría de masas. Se conoce que ambas moléculas cuentan con diversas actividades farmacológicas, dentro de las cuales destaca su actividad antimicrobiana.

ABSTRACT

The species of the genus *Picramnia* are found throughout tropical America, evidencing a wide distribution. In addition, secondary metabolites that some of them exhibit have been described. In the province of Napo, located in the Ecuadorian Amazon, one of the species of this genus is found, whose metabolites have not yet been elucidated. In the present work, the objective was to extract and isolate secondary metabolites from this plant, as well as to characterize them using spectroscopic techniques. For this, the aerial parts of the *Picramnia* sp. were collected in the Jatun Sacha Biological Reserve. The dried and ground leaves were then macerated consecutively in different solvents, and some of the obtained extracts were partitioned and / or purified by Flash Column Chro-

matography. Both the dried leaves and the obtained extracts were subjected to qualitative tests to determine the presence of the metabolites of interest. The presence of anthraquinones, tannins, terpenoids, phenols and flavonoids was verified. Finally, β -sitosterol and chrysophanol were identified in purified fractions, which were elucidated using a combination of ^1H NMR, ^{13}C NMR spectroscopy and mass spectrometry. It is known that both molecules have various pharmacological activities, among which their antimicrobial activity stands out.

INTRODUCCIÓN

El género *Picramnia*, perteneciente a la familia *Picramniaceae*, contiene 39 especies distribuidas lo largo de América tropical (Jacobs, 2003). Este género se caracteriza fitoquímicamente por la presencia de antraquinonas y derivados antracénicos (Alves et al., 2014), aunque también se han descrito ácidos grasos y terpenoides (Jacobs, 2003). En algunas especies tales como *Picramnia sellowii* (Aponte et al., 2008; Balderrama et al., 2001), *Picramnia latifolia* en Perú (Díaz et al., 2004) y *Picramnia hirsuta* en México (Hernández-Medel, López-Marquez, Santillán, & Trigos, 1996) se han caracterizado metabolitos como nataloemodina, crisofaneína y mayosida, que presentan actividad anticancerígena. *Picramnia magnifolia*, por su parte, a pesar de

no haber sido caracterizada fitoquímicamente, ha evidenciado actividad antimicrobiana en los extractos etanólicos y acuosos de las hojas al inhibir bacterias como *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Bacillus cereus* y *Staphylococcus aureus*. (Andoque et al., 2009). Adicionalmente, los autores mencionan que las hojas de esta planta han sido usadas tradicionalmente para el tratamiento de afecciones cutáneas (Andoque et al., 2009).

Desde mediados del siglo XX se ha originado una variedad enorme de antibióticos, los cuales han permitido combatir efectivamente infecciones bacterianas por décadas. Sin embargo, el mal uso de los mismos ha conducido a la resistencia bacteriana, complicando así el tratamiento

de ciertas enfermedades incluso aquellas que anteriormente podían tratarse con facilidad. Se estima que en Europa mueren 25 000 personas al año por la resistencia bacteriana a los medicamentos (Zaman et al., 2017). Este alarmante aumento de resistencia antibiótica en la que el repertorio de tratamientos es limitado resalta la importancia de la búsqueda de compuestos con actividad antimicrobiana.

Con el objetivo de conocer los metabolitos secundarios de especies de este género en Ecuador, se realizó un estudio a una especie del género *Picramnia* colectada en la provincia de Napo.

Los metabolitos de interés incluyen fenoles, flavonoides y taninos, a los cuales se les ha atribuido propiedades curativas previamente (Cabrera-Carrión et al., 2017). Además, se ha evidenciado actividad antioxidante, antimutagénica, antimicrobiana y antiinflamatoria asociada a este tipo de moléculas (Balasundram, Sundram, & Samman, 2006; Luengo, 2002). Por su parte, los terpenoides y las antraquinonas, además de ser característicos del género en estudio, se sabe que han sido usados ampliamente en la industria farmacéutica por sus propiedades medicinales (Jiang, Kempinski, & Chappell, 2016; Locatelli, 2011).

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección y tratamiento de muestras

Se recolectaron las partes aéreas de la planta *Picramnia* sp. ubicada en las coordenadas 18M 0208827, en la Reserva Biológica Jatun Sacha, Napo, Ecuador. Los raquis se separaron de las hojas y se descartaron. Las hojas se cortaron en cuadros 1 x 1 cm y se secaron en fundas de papel a 40 °C

hasta peso constante. El material seco fue molido en un molino de café Oster® BVSTBMH23, en el modo de molienda fina.

Reactivos químicos

Los reactivos químicos utilizados fueron éter etílico (Merck, Alemania), diclorometano (Merck, Alemania), metanol (Sigma-Aldrich, USA), éter de

petróleo (Sigma-Aldrich, USA) y acetato de etilo (Sigma-Aldrich, USA), todos de grado analítico. Gel de Sílice grado técnico (tamaño de poro 60 Å, malla de 230-400) (Supelco). Placas de TLC con matriz de gel de Sílice (tamaño de poro de 60 Å) con indicador fluorescente (Sigma-Aldrich).

Extracción y purificación de metabolitos secundarios

Se utilizaron dos muestras de hojas secas y molidas de 70 g cada una para la obtención de los extractos A, B, C, D, D1, D2, D3, E, F, F1, F2 y F3. El proceso de obtención de los mismos se detalla en la Figura 1. Los extractos fueron comparados a través de perfiles cromatográficos en TLC, utilizando como fase móvil éter de petróleo: acetato de etilo 60:40 y revelados bajo luz UV de 365 nm. El extracto D1, por haber sido el que presentó menos manchas en el perfil cromatográfico, fue purificado mediante cromatografía en columna flash. Para esto se usó una fase estacionaria de gel de sílice y como eluyente la mezcla de éter de petróleo y acetato de etilo en relación creciente del segundo disolvente hasta alcan-

zar una relación 75:25. Se recolectó 12 fracciones, las cuales fueron nombradas desde D1.1 hasta D1.12.

Análisis cualitativo

Para todos los tests incluidos, se siguió la metodología propuesta por Harborne (1984) para el análisis cualitativo de extractos y hojas.

Tests para extractos

Flavonoides y compuestos fenólicos

A 5 mg de cada extracto disuelto en 2 mL de agua, se le agregó 3 gotas de FeCl_3 al 4 %.

Si la disolución desarrolla una coloración negro-azulada indica la presencia de fenoles y si desarrolla una coloración verde indica la presencia de flavonoides. Este test se aplicó en los extractos A, B, C, D1, D2, D3, E, F1, F2 y F3.

Flavonoides

A 5 mg de cada extracto disuelto en 2 mL de agua, se le agregó 3 gotas de NaOH al 2 %.

Si la disolución desarrolla una coloración amarilla intensa que desapa-

rece al añadir HCl diluido, revela la presencia de flavonoides. Este test se

aplicó en los extractos A, B, C, D1, D2, D3, E, F1, F2 y F3.

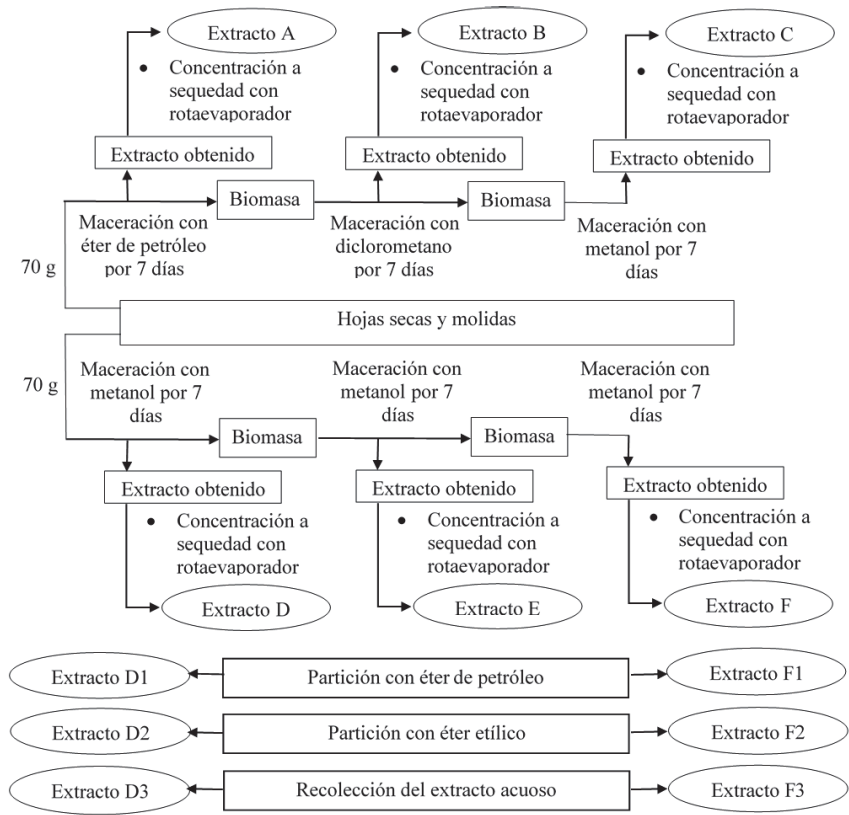


Figura 1. Proceso de extracción a partir de hojas secas y molidas de *Picramnia sp.* en la provincia de Napo, Ecuador

Terpenoides

A 2 mg de cada extracto disuelto en CHCl_3 , se le adicionó 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado. La for-

mación de un anillo rojo en la interfase muestra terpenoides. Este test se aplicó en los extractos A, B, C, D1, D2, D3, E, F1, F2 y F3.

Tests para hojas

Taninos

La mezcla de 500 mg de hojas secas y 20 mL de agua fue calentada hasta ebullición y filtrada. Se adicionó 5 gotas de FeCl_3 0,1 %. La coloración de café verdoso a negro azulado, muestra la presencia de taninos.

Antraquinonas

Se agitó 6 g de hojas molidas en 10 mL de tolueno durante 10 minutos. La mezcla se filtró y se adicionó 10 mL de NH_4OH al 10 %. La coloración rosa muestra la presencia de antraquinonas.

Identificación de metabolitos

De las fracciones obtenidas a partir

de la purificación del extracto D1, se analizaron las más puras por RMN ^1H , RMN ^{13}C y espectrometría de masas.

Los espectros de RMN ^1H fueron obtenidos a 400 MHz en un espectrómetro Varian NMR System y fueron referenciados al pico del disolvente residual en 7,26 ppm (CDCl_3). Los espectros de RMN ^{13}C fueron obtenidos a 100 MHz en un espectrómetro Varian NMR System y fueron referenciados respecto al pico del disolvente residual en 77 ppm (CDCl_3). Los espectros de masas fueron registrados por un cromatógrafo de gases Agilent 7890 acoplado a un espectrómetro de masas y un detector de ionización de llama. Las masas obtenidas se compararon con la biblioteca del equipo.

RESULTADOS

En la Tabla 1, se describe los extractos obtenidos a partir de las hojas con su respectivo porcentaje de acuerdo a la biomasa inicial utilizada. La maceración con tres porciones de metanol, generó una mayor cantidad de extracto en comparación con la realizada con los tres disolventes. Otra diferencia, es que la cantidad de ex

tracto se redujo de maceración a maceración cuando solo se utilizó metanol.

Los perfiles cromatográficos, en TLC de gel de Sílice para los tres primeros extractos mostraron semejanzas entre los extractos A y B, y se caracterizaron por presentar compuestos de alta

polaridad (eluyen en mezclas éter de petróleo:acetato de etilo relación 60:40). Sin embargo, estos extractos a diferencia del extracto de metanol C también presentaron compuestos de baja polaridad. El extracto de metanol C, presentó manchas con Rf similares a los extractos A y B correspondientes a compuestos de alta polaridad, pero con mayor intensidad. Los perfiles cromatográficos para los extractos D, E y F presentaron un número de manchas y Rf similares. Además, se observó mayor intensidad en las manchas del ex-

tracto F. Los extractos D y F fueron sometidos a partición con Éter de Petróleo (D1 y F1) y Éter Etílico (D2 y F2). El extracto E fue conservado como control.

El análisis fitoquímico realizado directamente sobre las hojas secas mostró la presencia de antraquinonas y taninos. Por otro lado, las pruebas realizadas a los diferentes extractos demostraron la existencia de fenoles en los extractos D2, D3, F2 y F3; flavonoides en el extracto A y terpenoides en los extractos C y D1.

Tabla 1. Resumen de cada uno de los extractos obtenidos de hojas de *Pricamnia* sp en la provincia de Napo, Ecuador

Código de extracto	Descripción extracto	% (m/m)
A	Maceración con Eter de petróleo ^a	1
B	Maceración con Diclorometano ^a	2,01
C	Maceración con MeOH ^a	7
D	Maceración con Metanol-1 ^b	5,50
D1	Partición EP del macerado MeOH-1 ^b	0,59
D1.1	Fracción 1 de la columna del extracto EP de MeOH-1 ^b	0,03
D1.2	Fracción 2 de la columna del extracto EP de MeOH-1 ^b	0,02
D1.3	Fracción 3 de la columna del extracto EP de MeOH-1 ^b	0,08
D1.4	Fracción 4 de la columna del extracto EP de MeOH-1 ^b	0,05
D1.5	Fracción 5 de la columna del extracto EP de MeOH-1 ^b	0,01
D1.6	Fracción 6 de la columna del extracto EP de MeOH-1 ^b	0,01
D1.7	Fracción 7 de la columna del extracto EP de MeOH-1 ^b	0,02
D1.8	Fracción 8 de la columna del extracto EP de MeOH-1 ^b	0,02
D1.9	Fracción 9 de la columna del extracto EP de MeOH-1 ^b	0,01

D1.10	Fracción 10 de la columna del extracto EP de MeOH-1 ^b	0,01
D1.11	Fracción 11 de la columna del extracto EP de MeOH-1 ^b	0,01
D1.12	Fracción 12 de la columna del extracto EP de MeOH-1 ^b	0,01
D2	Partición EE del macerado MeOH-1 ^b	0,53
D3	Residuo Acuoso Partición MeOH-1 ^b	3,74
E	Maceración con MeOH-2 ^b	5,13
F	Maceración con MeOH-3 ^b	4,11
F1	Partición EP del macerado MeOH-3 ^b	0,40
F2	Partición EE del macerado MeOH-3 ^b	0,23
F3	Residuo Acuoso Partición MeOH-3 ^b	2,85

^a Maceración consecutiva muestra 1. ^b Maceración consecutiva muestra 2.

EE: Éter etílico EP: Éter de petróleo

A partir de la columna cromatográfica del extracto D1 se aislaron; de la fracción D1.2 crisofanol, y de la fracción D1.5 β -sitosterol (Figura 2)

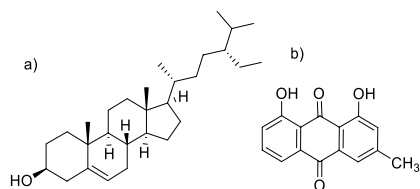


Figura 2. a) β -sitosterol y b) crisofanol, metabolitos secundarios aislados de *Picramnia* sp.

Crisofanol: 15mg fracción **D1.2** (22-33) de la partición del éter de petróleo del extracto metanólico 1.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 12,12 (1H, s, -OH), 12,02 (1H, s, -OH), 7,80 (1H, d $J_1 = 8,00$ Hz), 7,72–7,69 (1H, dd, $J_1 = 6,0$ Hz; $J_2=3,6$), 7,54–

7,52 (1H, dd, $J_1 = 6,0$ Hz; $J_2=3,6$), 7,30 (1H, d, $J_1 = 8,0$ Hz), 7,10 (1H, s), 2,47 (3H, s); RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ : 192,7, 182,2, 162,9, 162,6, 149,5, 137,1, 133,6, 132,6, 124,7, 123,5, 121,5, 120,0, 116,0, 113,9, 23,1. IE-EM m/z : 254 [M]⁺. Estos datos son similares a los reportados en la literatura para la molécula Crisofanol (Khan & Armes, 1999) (Guo et al., 2011).

β -sitosterol: 10 mg fracción **D1.5** (55) de la partición del éter de petróleo del extracto metanólico 1.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 5,35 (1H, bd, $J_1=5,1$,); 3,41–3,59 (1H, m); 0,59–2,34 (48H, m); RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ : 140,8, 121,7, 71,8, 56,8, 56,1, 50,1, 45,8, 42,3, 42,2, 39,8, 37,3, 36,5, 36,1, 34,0, 31,9,

31,7, 29,2, 28,3, 26,1, 24,1, 23,3, 21,1, 19,8, 19,4, 19,0, 18,8, 12,2, 12,0. Estos datos son similares en-

contrados en la literatura para la molécula β -sitosterol (McCarthy et al., 2005).

DISCUSIÓN

Los metabolitos secundarios con estructuras novedosas como son las oxantronas C-glicosiladas (Figura 3) han sido aislados de los extractos metanólicos de las especies *P. hirsuta* (Hernandez-Medel et al., 1996), *P. antidesma* (Hernandez-Medel et al., 1999) y *P. latifolia* (Diaz et al., 2004). Considerando que estas oxantronas C-glicosiladas son inherentemente polares, la principal ventaja del primer método de maceración es que se obtiene un extracto metanólico, con menor número de productos apolares, lo que permitiría una purificación más fácil de este tipo de moléculas.

La mayor intensidad en las manchas del extracto F podría ser indicativo de una mayor concentración de metabolitos. Esto también muestra que el extracto de la tercera maceración en metanol está enriquecido en productos que absorben luz UV, como las antraquinonas y compuestos fenóli-

cos y las mismas oxantronas C-glicosiladas. Por otro lado, los extractos D y E podrían estar enriquecidos en compuestos que no absorben luz UV como los terpenos y alcoholes.

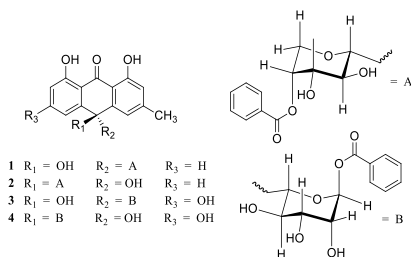


Figura 3. Oxantronas C-glicosiladas

Al comparar los perfiles cromatográficos de los cuatro extractos de partición (D1, D2, F1 y F2), se observó que D1 tenía menos manchas, lo que se interpretó como el extracto de menor dificultad de purificación por cromatografía en columna flash.

La identificación del crisofanol, una antraquinona muy común en esta familia de plantas (Balderrama et al.,

2001; Diaz et al., 2004; Hernandez-Medel et al., 1999) confirma el análisis cualitativo de las hojas secas que dio positivo para antraquinonas. Se ha reportado que esta molécula presenta efectos neuroprotectores (dos Santos, Silva & de Freitas, 2011). Además, ha evidenciado actividad contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas (Coopoosamy & Magwa, 2006), e incluso contra *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (Hatano et al., 1999).

De la misma manera, la molécula β -sitosterol ha sido ampliamente estudiada desde el punto de vista farmacológico debido a sus actividades anti-inflamatorias, inductoras de apoptosis en células cancerígenas, analgésicas, antimutagénicas, antioxidantes, neuroprotectoras e inmunomoduladoras (Saeidnia, Manayi, Gohari & Abdollahi, 2014). Adicionalmente, este compuesto cuenta con una actividad antimicrobiana comparable al antibiótico Gentamicina (Sen, Dhavan, Shukla, Singh, & Tejavathi, 2012).

CONCLUSIÓN

En la especie *Picramnia* sp. se encontraron dos metabolitos secundarios presentes en otras especies de plantas de la familia Picramniaceae, los cuales cuentan con múltiples propiedades medicinales reportadas. En futuras investigaciones se espera analizar la actividad biológica de los extractos para aislar y caracterizar metabolitos secundarios de una forma bioguiada.

En el lugar de colecta se encuentran *P. magnifolia*, *P. hirsuta* y *P. sellowii*. Mediante claves botánicas y la comparación con muestras de herbarios, se descartó que *P. sellowii* correspondiera a la especie de estudio en este trabajo, por lo que es posible realizar estudios comparativos entre las dos especies restantes.

AGRADECIMIENTOS

A la Ing. Roxana Llive por su colaboración en la ejecución de experimentos en la Universidad Regional Amazónica Ikiam. A la Srta. Linda Jácome por su aporte en el trabajo de

campo, y al Ministerio del Ambiente del Ecuador por extender el permiso de investigación para este proyecto bajo el Contrato Marco MAE-DNB-CM-2017-0062-IKIAM.

LISTA DE REFERENCIAS

- Alves, I. A., Miranda, H. M., Soares, L. A., & Randau, K. P. (2014). Simaroubaceae family: botany, chemical composition and biological activities. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 24(4), 481-501. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2014.07.021>
- Andoque, H., Andoque, D., Andoque, M., & Andoque, H. (2009). *Plantas medicinales de la Gente de Hacha*. Universidad Nacional de Colombia-Sede Amazonia.
- Aponte, J. C., Vaisberg, A. J., Rojas, R., Caviedes, L., Lewis, W. H., Lamas, G., Hammond, G. B. (2008). Isolation of Cytotoxic Metabolites from Targeted Peruvian Amazonian Medicinal Plants. *Journal of Natural Products*, 71(1), 102–105. <https://doi.org/10.1021/np070560c>
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191–203. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.042>
- Balderrama, L., Braca, A., Garcia, E., Melgarejo, M., Pizza, C., & De Tommasi, N. (2001). Triterpenes and anthraquinones from *Picramnia sellowii* Planchon in Hook (Simaroubaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 29(3), 331-333.

- Cabrera-Carrión, J. L., Jaramillo-Jaramillo, C., Dután-Torres, F., Cun-Carrión, J., García, P. A., & Rojas De Astudillo, L. (2017). Variación del contenido de alcaloides, fenoles, flavonoides y taninos en *Moringa oleífera* Lam en función de su edad y altura. *Bioagro*, 29(1), 53–60.
- Coopoosamy, R. M., & Magwa, M. L. (2006). Antibacterial activity of chrysophanol isolated from *Aloe excelsa* (Berger). *African Journal of Biotechnology*, 5(16), 1508–1510. <https://doi.org/10.4314/ajb.v5i16.43147>
- Díaz, F., Chai, H. B., Mi, Q., Su, B. N., Vigo, J. S., Graham, J. G., ... Kinghorn, A. D. (2004). Anthrone and Oxanthrone C-Glycosides from *Picramnia latifolia* Collected in Peru. *Journal of Natural Products*, 67(3), 352–356. <https://doi.org/10.1021/np030479j>
- Guo, S., Feng, B., Zhu, R., Ma, J., & Wang, W. (2011). Preparative isolation of three anthraquinones from *Rumex japonicus* by high-speed counter-current chromatography. *Molecules*, 16(2), 1201–1210. <https://doi.org/10.3390/molecules16021201>
- Harborne, J. B. (1984). *Phytochemical Methods* (Second).
- Hatano, T., Uebayashi, H., Ito, H., Shiota, S., Tsuchiya, T., & Yoshida, T. (1999). Phenolic constituents of cassia seeds and antibacterial effect of some naphthalenes and anthraquinones on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. <https://doi.org/10.1248/cpb.47.1121>
- Hernandez-Medel, M. D. R., Ramirez-Corzas, C. O., Rivera-Dominguez, M. N., Ramirez-Mendez, J., Santillan, R., & Rojas-Lima, S. (1999). Diastereomeric C-glycosyloxanthrones from *Picramnia antidesma*. *Phytochemistry*, 50(8), 1379–1383. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(98\)00354-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(98)00354-9)
- Hernandez-Medel, M., Lopez-Marquez, O., Santillan, R., & Trigos, A. (1996). Mayoside, an oxanthrone from *Picramnia hirsuta*. *Phytochemistry*, 43(1), 279–282. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0031-9422\(96\)00160-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0031-9422(96)00160-4)
- Jacobs, H. (2003). Comparative phytochemistry of *Picramnia* and *Alvaradoa*, genera of the newly established family Picramniaceae. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31(1), 773–783. [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(02\)00268-5](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(02)00268-5)

- Jiang, Z., Kempinski, C., & Chappell, J. (2016). Extraction and analysis of terpenes/terpenoids. *Current Protocols in Plant Biology*, 1(2), 345-358. <https://doi.org/10.1002/cppb.20024>
- Khan, M. a, & Armes, S. P. (1999). Synthesis and characterization of micrometer-sized poly(3,4 ethylenedioxythiophene)-coated polystyrene latexes. *Langmuir*, 15(16), 3469–3475.
- Locatelli, M. (2011). Anthraquinones: analytical techniques as a novel tool to investigate on the triggering of biological targets. *Current Drug Targets*, 12(3), 366-380. <http://dx.doi.org/10.2174/138945011794815338>
- Luengo, M. T. L. (2002). Flavonoides. *Offarm: farmacia y sociedad*, 21(4), 108-113.
- McCarthy, F. O., Chopra, J., Ford, A., Hogan, S. A., Kerry, J. P., O'Brien, N. M., Maguire, A. R. (2005). Synthesis, isolation and characterisation of β -sitosterol and β -sitosterol oxide derivatives. *Organic and Biomolecular Chemistry*, 3(16), 3059–3065. <https://doi.org/10.1039/b505069c>
- dos Santos RN, Silva MGV, de Freitas RM (2011) Crysophanol Effects on Lipid Peroxidation Levels and Catalase Activity in Mice Hippocampus after Pilocarpine-induced Seizures. *J Cell Sci Ther* 2:104. <https://doi.org/10.4172/2157-7013.1000104>
- Saeidnia, S., Manayi, A., Gohari, A. R., & Abdollahi, M. (2014). The story of beta-sitosterol-a review. *European Journal of Medicinal Plants*, 4(5), 590-609. <https://doi.org/10.9734/EJMP/2014/7764>
- Sen, A., Dhavan, P., Shukla, K. K., Singh, S., & Tejovathi, G. (2012). Analysis of IR, NMR and Antimicrobial Activity of β -Sitosterol Isolated from Momordica charantia. *Sci Secure J Biotech*.
- Zaman, S. B., Hussain, M. A., Nye, R., Mehta, V., Mamun, K. T., & Hossain, N. (2017). A review on antibiotic resistance: alarm bells are ringing. *Cureus*, 9(6), e1403. doi: 10.7759/cureus.1403

MONITOREO DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA DE DESECHOS DEL CENTRO DE FAENAMIENTO DE QUITO

MONITORING OF ANAEROBIC WASTE DIGESTION AT QUITO SLAUGHTERHOUSE

**David Chuquer S.^{1,2*}, Darío Torres¹, Edgar González V.¹,
Jorge Moncayo¹, Diana Astorga² & Christian Alcívar¹**

Recibido: 19 de marzo 2020 / Aceptado: 8 de junio 2020

Publicado en línea: 16 de junio 2020

DOI: 10.26807/ia.v8i2.136

Palabras claves Biogás, desechos de camal, digestión anaerobia, FTIR.

Keywords: Biogas, slaughter waste, anaerobic digestion, FTIR.

RESUMEN

La materia orgánica proveniente de centros de faenamiento, puede aprovecharse mediante digestión anaerobia para producción de biogás y de un fertilizante rico en nutrientes. El monitoreo de la concentración de metano, propano y butano son parámetros relevantes que evidencian la eficiencia de digestión. En el presente estudio, se desarrolló una metodología para la medición de estos

1 Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Químicas, Quito, Ecuador. (*correspondencia: dschuquer@uce.edu.ec; datorresb1@uce.edu.ec; epgonzalez@uce.edu.ec; jemoncayo@uce.edu.ec; cdalcivar@uce.edu.ec)

2 Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Quito, Ecuador, (dchuquer295@puce.edu.ec; dastorga199@puce.edu.ec)

hidrocarburos, utilizando espectrofotometría infrarroja de transformadas de Fourier (FTIR) y la asistencia de cálculos químico-cuánticos, que permitieron la asignación de bandas de absorción de cada hidrocarburo en el biogás. Los límites de cuantificación fueron de 0,36 %V/V para propano y butano y 1,47 %V/V para metano. Se realizaron pruebas de biodigestión con desechos del centro de faenamiento municipal del Distrito Metropolitano de Quito, obteniéndose que una mezcla de rumen y estiércol bovino, sometida a 50 °C, generó biogás enriquecido hasta en un 65,4 %V/V de metano posterior a 15 días de biodigestión. Adicionalmente, se produjo digestado sólido y líquido que cumplen con las normativas internacionales para su posible aplicación en el suelo. Los resultados demostraron la potencialidad del método de seguimiento de biodigestión y la posible transformación de desechos de camal en una fuente de energía renovable.

ABSTRACT

Organic matter from slaughterhouses can be used through anaerobic digestion to produce biogas and a nutrient-rich fertilizer. Monitoring the concentration of methane, propane, and butane are relevant parameters that show the efficiency of digestion. In the present study, a methodology for the measurement of these hydrocarbons was developed, using Fourier transform infrared spectrophotometry (FTIR) and the assistance of chemical-quantum calculations, which allowed the assignment of absorption bands of each hydrocarbon in biogas. The quantification limits were 0.36 %V/V for propane and butane and 1.47 %V/V for methane. Digestion tests were carried out with waste from the municipal slaughter center of the Metropolitan District of Quito, obtaining that a mixture of rumen and bovine manure, subjected to 50 °C, generated enriched biogas up to 65.4 %V/V after 15 days of digestion. Additionally, solid and liquid digestate produced met with international regulations for possible application in the soil. The results demonstrate the potential of the digestion monitoring method and the possible transformation of litter waste into a renewable energy source.

INTRODUCCIÓN

La industria de procesamiento de carne es una de los mayores del mundo (43,7 kg/año per cápita) (FAO, 2018) y utiliza alrededor del 24 % del agua consumida por la industria de alimentos (Bustillo-Lecompte & Meh-rvar, 2015). En Ecuador, hasta el 2018, el ganado bovino, porcino y ovino contabilizo 5,696 millones de cabezas de ganado y 151,683 millones de aves en planteles avícolas (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, 2018). Adicionalmente, en el país se registran 277 mataderos bajo inspección oficial que siguen procedimientos normalizados por la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonosanitario (AGROCALIDAD), que basándose en la Resolución DAJ-20134B4-0201.0247 buscan el aseguramiento de la calidad de los productos cárnicos (Agrocalidad, 2013, 2018).

Los desechos generados en centros de faenamiento son aguas residuales, material sólido y emisiones gaseosas. Respecto a los desechos sólidos, en base a su origen y carga orgánica, se emplean como mejoradores de suelos favoreciendo la producción orgánica

de alimentos (Peñañiel & Ticona, 2015) y mediante un tratamiento anaerobio la generación de energía sustentable, por lo que su aprovechamiento puede convertir el problema de su disposición final en una oportunidad. Existe una variedad de microorganismos presentes en los desechos de camal los cuales constituyen un riesgo para la salud humana, salud animal y al medio ambiente. En este sentido, trabajadores expuestos a desechos de camal tienen alto riesgo de contaminación con *Salmonella spp*, *Streptococcus suis*, *Campylobacter*, *Leptospirosis*, *Toxoplasmosis* y una gran variedad de virus (Djeffal et al., 2018; Kozdruń et al., 2015; Soares et al., 2015).

Tomando en cuenta la toxicidad de los desechos provenientes de centros de faenamiento, su potencialidad dado su alto contenido en materia orgánica y la necesidad de fuentes de energía renovables debido al agotamiento progresivo de los combustibles fósiles, en las últimas décadas se ha desarrollado las tecnologías de digestión anaerobias para la producción de biogás a partir de estiércol de

diversos tipos de ganado (Afazeli et al., 2014). El biogás generado está compuesto principalmente por metano – CH_4 (40-70 %) y dióxido de carbono – CO_2 (30-50 %) (Accettola et al., 2008). Hagos (2017) indica que los residuos provenientes de mataderos poseen un alto contenido orgánico y de sólidos volátiles. Los ácidos volátiles de alto peso molecular se convierten durante la fermentación anaerobia en CH_4 , CO_2 y ácidos orgánicos de cadena corta. Sin embargo, este tipo de desechos posee un alto contenido proteico que por degradación microbiana libera amoníaco, el cual puede inhibir la actividad metanogénica y conducir a

una inestabilidad del proceso (Hagos et al., 2017). Para contrarrestar esto se debe regular la proporción C/N (30/1) así como los niveles de pH. En este sentido, el seguimiento del proceso es clave para maximizar la obtención de biogás.

Tomando en cuenta estos antecedentes, el estudio presentado tiene como objetivos desarrollar un procedimiento para el seguimiento de un proceso de biodigestión anaerobia (metano- CH_4 , propano- C_3H_8 y butano- C_4H_{10}) y evaluar el proceso de biodigestión de desechos provenientes del centro de faenamiento del Distrito Metropolitano de Quito.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se desarrolló una metodología para el análisis de CH_4 , C_3H_8 y C_4H_{10} mediante análisis infrarrojo. Para ello se utilizó un espectrofotómetro FTIR Varian 660 con una Short-Path HT Gas Cell marca PIKE Technologies, de 100 mm de longitud con ventanas de bromuro de potasio de 25x4 mm de la misma marca. Para la calibración

se utilizó dos gases estándares trazables a NIST con las características detalladas en la Tabla 1. Para la dilución de los gases se utilizaron jeringas plásticas de 50 mL y bolsas Tedlar de 2 L. La limpieza de la celda se realizó con aire ambiente con una bomba de vacío Millipore WP6111580.

Tabla 1. Gases estándares de calibración

Rango Alto (RA)	Rango Bajo (RB)
Airgas X05NI93CP580000	Airgas X05NI99CP580002
30000 mL m ⁻³ CH ₄	250 mL m ⁻³ CH ₄
21000 mL m ⁻³ C ₃ H ₈	250 mL m ⁻³ C ₃ H ₈
18000 mL m ⁻³ C ₄ H ₁₀	250 mL m ⁻³ C ₄ H ₁₀

Se estableció el siguiente protocolo de trabajo: se limpió la bolsa Tedlar con aire ambiente por un minuto, utilizando la bomba de vacío. Posteriormente, se homogenizó la bolsa Tedlar con estándar. Luego, se agregó 0,3 L de estándar. Seguido, se preparó las diluciones con la jeringa bajo el esquema establecido en la Tabla 2. Se inyectó 50 mL de muestra en la celda del FTIR y se finalmente se obtuvo el espectro IR realizando 4 barridos espectrales entre 4000 a 400 cm⁻¹.

El espectro experimental IR del biogás, en fase gaseosa fue correlacionado con espectros vibracionales de CH₄, C₃H₈ y C₄H₁₀, determinados por cálculos teóricos químico-cuánticos y generados con el programa Gaussian 09, utilizando el nivel de teoría HF/3-21G con un factor de escalamiento de las frecuencias vibra-

cionales calculadas de 0,906 (Irikura et al., 2005). Los espectros calculados se superpusieron, para contrastar la localización y el perfil de bandas de absorción con el espectro experimental (Figura 2), con la finalidad de realizar una asignación tentativa de los principales modos vibracionales.

Con las concentraciones definidas en la Tabla 2, se determinó la precisión inter-día realizando tres repeticiones de las lecturas de cada estándar, en tres días diferentes, ejecutándose en total cuarenta y cinco ensayos. La linealidad se determinó mediante mínimos cuadrados entre absorbancia versus concentración del gas, ajustando una ecuación que coincidió con el origen. Adicionalmente se establecieron los límites de confianza de la curva calculando la desviación estándar de la correlación (Sr) y aplicando la *t de student* para un 95 %

de confianza (1,96). Con el mismo Sr, se calcularon los límites de detección (LD) y cuantificación (LC) (Miller et al., 2018).

Tabla 2. Diluciones de estándares

Patrón	Dilución	CH ₄ (mL m ⁻³)	C ₃ H ₈ (mL m ⁻³)	C ₄ H ₁₀ (mL m ⁻³)
Aire	1	0	0	0
RB	1	250	250	250
RA	10	3000	2100	1800
RA	2,5	12000	8400	7200
RA	1	30000	21000	18000

Para la repetibilidad y reproducibilidad se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) de factores totalmente anidados y homogéneos obteniéndose el porcentaje de desviación debida a la repetibilidad y reproducibilidad (Maroto et al., 1999).

Las pruebas de biodigestión de desechos de camal se realizaron bajo el esquema detallado en la Figura 1. Para mantener las muestras a 50 °C, se utilizó un baño térmico Memmert W270.

Se recolectaron muestras compuestas de lodos de planta de tratamiento de

aguas residuales (M1), rumen (M2) y una mezcla de rumen y estiércol (M3) en el camal del Distrito Metropolitano de Quito, entidad adscrita a la Empresa Pública Metropolitana de Rastro de Quito. El muestreo se realizó siguiendo la norma NTE INEN-ISO 10381-2 que especifica las técnicas de muestreo de suelo, tomando submuestras en 10 zonas del reservorio que contenía el material y formando una sola muestra compuesta, la cual fue procesada y analizada según el esquema detallado en la Figura 1.

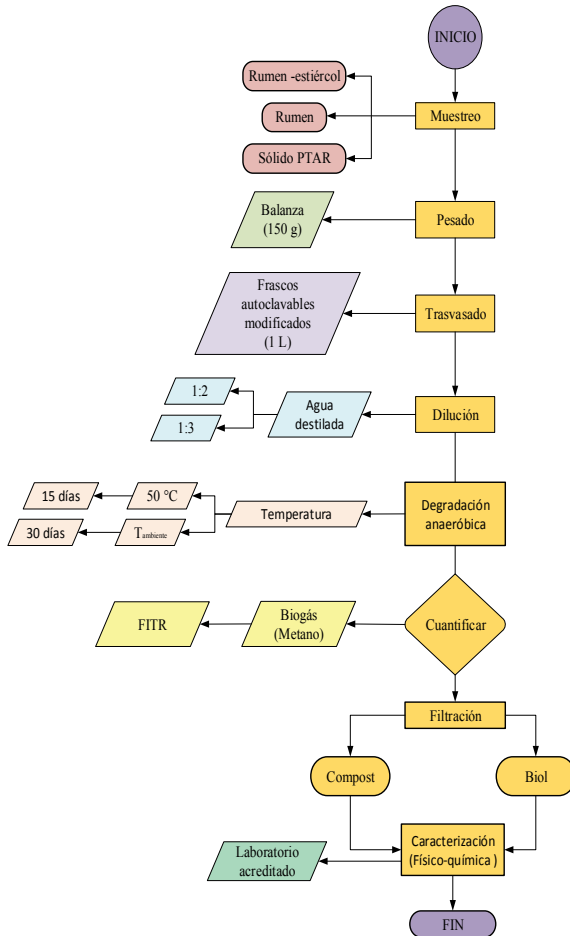


Figura 1. Metodología de digestión anaerobia de muestras

Se realizó un muestreo el 04 de enero de 2019 para determinar las condiciones iniciales del sustrato y se realizó otro muestreo el 08 de agosto de 2019 para evaluar la composición del digestado sólido y líquido. Se agregó agua destilada tipo 2 en pro-

porciones 1:2 y 1:3 (desecho:agua). Posteriormente, se realizó la biodigestión anaerobia en frascos autoclavables Boeco, adaptando un tapón de caucho en la tapa original para recolectar el biogás.

RESULTADOS

Las asignaciones realizadas con la asistencia de cálculos químico-cuánticos, permitieron establecer un método de cuantificación (Comeford & Gould, 1961; Pele et al., 2011). Las bandas de absorción experimentales en el IR asignadas con la asistencia de cálculos teóricos fueron 1303 cm^{-1} para CH_4 y 2964 cm^{-1} para C_3H_8 -

C_4H_{10} , con la finalidad de monitorizar la producción de dichos gases durante la biodigestión anaerobia (Figura 2). Las curvas de calibración de absorbancia versus concentración de los gases a ambos números de ondas (ν) presentaron relaciones lineales, cuyos parámetros se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3. Parámetros de linealidad

Parámetro	CH_4	$\text{C}_3\text{H}_8\text{-C}_4\text{H}_{10}$
$\nu(\text{cm}^{-1})$	1303	2964
Recta	$A=6,7711 \times 10^{-6} \cdot C_m$	$A=3,0566 \times 10^{-5} \cdot C_{pb}$
R^2	0,9921	0,9997
LD (mL m^{-3})	4399	1065
LC (mL m^{-3})	14665	3551

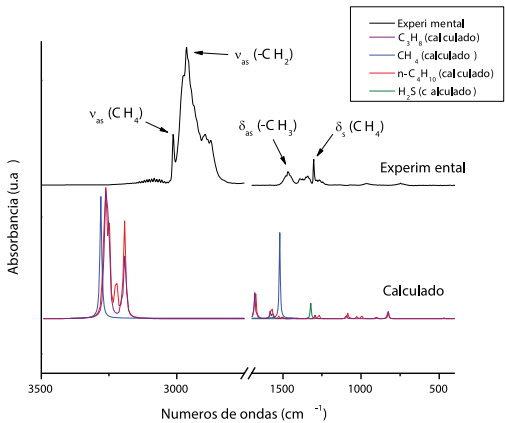


Figura 2. Espectro FTIR experimental en fase de gas y calculado

En las tablas 4 y 5 se reportan los resultados del análisis de repetibilidad y reproducibilidad aplicando el ANOVA. Se indica el porcentaje de variación debido a la repetibilidad (%Cvr) y reproducibilidad (CVR), así como la F de Fischer con un 95 % de

confianza y el coeficiente de Horwitz (%CVh) para cada nivel de concentración (Miller et al., 2018). El criterio de aceptabilidad para la repetibilidad fue $0,5*\%CVh > \%Cvr$ y para la reproducibilidad $0,67*\%CVh > \%CVR$.

Tabla 4. Repetitibilidad y reproducibilidad para la calibración de CH₄

CH ₄ (mL m ⁻³)	Cvr (%)	CVR (%)	F _{calculado} *	CVh (%)
250	19,7	48,2	16,0	7,0
3000	6,8	11,3	6,4	4,8
12000	1,0	8,9	234,0	3,9
30000	0,3	7,3	1501,0	3,4

*F_{crítico}=5,143 para 3 repeticiones de cada estándar en tres días diferentes

Tabla 5. Repetibilidad y reproducibilidad para la calibración de C₃H₈-C₄H₁₀

C ₃ H ₈ -C ₄ H ₁₀ (mL m ⁻³)	Cvr (%)	CVR (%)	F _{calculado} *	CVh (%)
500	3,1	9,2	24,5	6,3
3900	5,3	4,9	0,5	4,6
15600	0,9	1,4	5,5	3,7
39000	0,3	0,3	0,6	3,3

*F_{crítico}=5,143 para 3 repeticiones de cada estándar en tres días diferentes

Posteriormente, se realizó la digestión anaerobia de tres muestras de desechos de camal: M1, M2 y M3. La Figura 3 muestra la producción de

CH₄ durante 24 días a temperatura ambiente y a 50 °C, con una relación desechos : agua de 1:2 y 1:3.

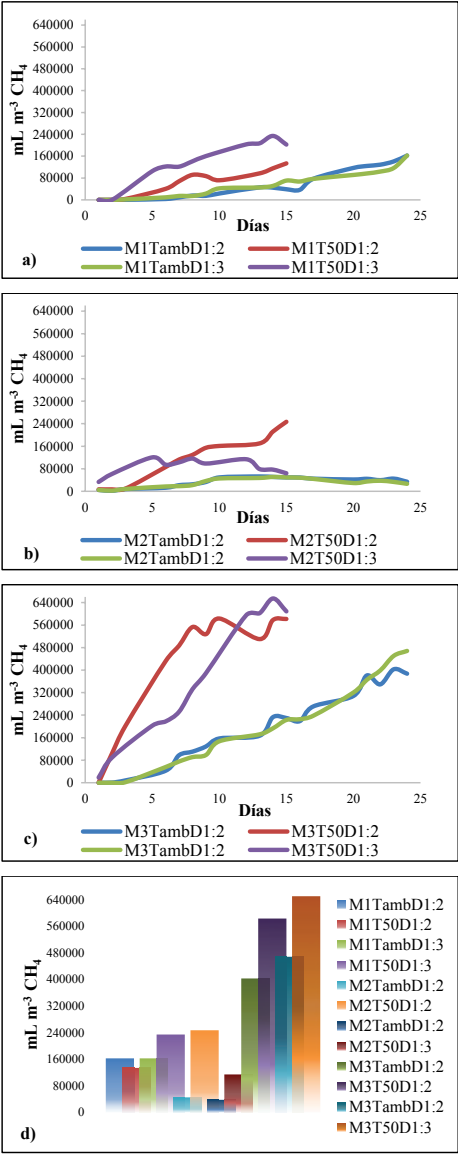


Figura 3. Concentración de CH_4 durante biodigestión para a) M1, b) M2, c) M3 y d) CH_4 máximo de cada serie de experimentos

La caracterización fisicoquímica y microbiológica del biol y digestado fue realizada en un laboratorio acreditado (ALS-global) y se detallan en la Tabla 6.

El análisis estadístico para determinar la influencia de las variables en la biodigestión fue realizado en Stat-

graphics® mediante un diseño factorial 3x2x2 y se muestra en la Tabla 7. Existió un efecto estadístico significativo entre las variables de diseño en la concentración de CH₄ (función respuesta) cuando el parámetro p < 0,05 para un nivel de confianza del 95%.

Tabla 6. Composición de sustrato, biol y digestado sólido

Parámetros	Unidades	Método	M1	M2	M3	Digestado M3T50d1:3	Unidades	Biol M3T50d1:3
Nitrógeno Total Kjendahl	mg kg ⁻¹	SM 4500-Norg Cl	13691,3	17383,7	17381,2	10300,2	mg L ⁻¹	371
Potasio	mg kg ⁻¹	USEPA 3050 B, 7610	4022,6	4776	11122	1532,3	mg L ⁻¹	195
Carbono orgánico	%	WALKLEY & BLACK, 1934	25,37	36,65	30,85	35,38	-	-
Calcio	mg kg ⁻¹	USEPA 3010 A, 3050 B	15515,8	2149,2	2669,3	8427,8	mg L ⁻¹	225
Fósforo	mg kg ⁻¹	SM 4500-P B y 4500-P C	621,7	201,5	576,7	1214,9	mg L ⁻¹	160,75
Magnesio	mg kg ⁻¹	USEPA 3010 A, 3050 B	637,6	529,2	567,2	395,3	mg L ⁻¹	17,66
Potencial de Hidrógeno	U pH	USEPA 9045 D	8,29	7,69	7,48	7,16	mg L ⁻¹	7,24
Sólidos Totales	%	USEPA 160.3	23,66	12,25	12,57	10,28	mg L ⁻¹	8306
Sulfatos	mg kg ⁻¹	USEPA 375.4 SO4	77,4	58	91,6	<50	mg L ⁻¹	171
Sólidos Suspendidos Totales	%	USEPA 160.3	23,35	12,2	12,49	-	-	-

Demanda Química de Oxígeno	mg kg ⁻¹	WALKLEY & BLACK, 1934	253700	366500	308500	-	-	-
Sólidos Disueltos Totales	%	USEPA 160.3	0,31	0,05	0,08	-	-	-
Humedad	%	NMX-AA-1984	16-77,27	87,43	90,92	89,72	-	-
Sólidos Secos	%	NMX-AA-16-1984	22,73	12,57	9,08	10,28	-	-
Cobre	mg kg ⁻¹	USEPA 3010 A, 3050 B, EPA 7210	5,1	<5,0	5,8	26,8	mg L ⁻¹	0,24
Níquel	mg kg ⁻¹	USEPA 3010 A, 3050 B	6,9	7,2	6,2	9,2	mg L ⁻¹	0,06
Arsénico	mg kg ⁻¹	SM 3114 B	0,3	0,3	0,29	<0,10	µg L ⁻¹	<2,00
Bario	mg kg ⁻¹	USEPA 3010 A, 3050 B	36,8	54	46,3	53,2	mg L ⁻¹	0,99
Cadmio	mg kg ⁻¹	USEPA 3010 A, 3050 B	2,76	2,29	2,14	1,53	mg L ⁻¹	<0,02
Mercurio	mg kg ⁻¹	USEPA 7471 B	0,1	<0,1	0,1	<0,10	µg L ⁻¹	<2,0
Plata	mg kg ⁻¹	USEPA 3050 B, 7760 A	2,5	<2,5	2,5	<2,5	mg L ⁻¹	0,07
Plomo	mg kg ⁻¹	USEPA 3010 A, 3050 B	12,4	13,9	12,9	13,8	mg L ⁻¹	0,17
Zinc	mg kg ⁻¹	USEPA 3010 A, 3050 B	9,7	23,4	7,1	44,1	mg L ⁻¹	1,1
Cromo Total	mg kg ⁻¹	USEPA 3010 A, 3050 B	12	14,8	14,7	3,8	mg L ⁻¹	0,09
Molibdeno	mg kg ⁻¹	USEPA 3010 A, 3050 B	12,5	<12,5	12,5	<12,5	mg L ⁻¹	<0,25
Selenio	mg kg ⁻¹	SM 3120 B, USEPA 3050 B	0,1	<0,100	0,1	<0,1	mg L ⁻¹	<0,010
Coliformes Fecales	NMP g ⁻¹	SM 9221 B, E, F	1400	7000	7000	0	NMP/100mL	2
Coliformes Totales	NMP g ⁻¹	SM 9221 B, E, F	2800	210000	93000	0	NMP/100mL	13

Huevos de Helminfos	Huevos g ⁻¹	NMX-AA-113-SCFI-2012	1	<1	1	<1	Huevos mL ⁻¹	0
Salmonella	UFC g ⁻¹	3M PETRIFILM®	0	0	0	0	UFC mL ⁻¹	0

SM= Standard Methods, USEPA= United States Environmental Protection Agency, NMX=Norma Mexicana

Tabla 7. ANOVA para CH₄

Parámetros	Razón -F	Valor-p
A: Desecho	20845,71	0,00
B: Temperatura	10339,58	0,00
C: Dilución	6,67	0,02
AB	1963,84	0,00
AC	342,21	0,00
BC	2,98	0,11
ABC	386,36	0,00

DISCUSIÓN

La espectroscopia vibracional IR brinda la ventaja de ser una técnica no destructiva, de rápida y fácil utilización. La ventaja de cuantificar varios gases como CH₄, CO₂, C₄H₁₀ y C₃H₈ en mezclas complejas de gases (Hepburn et al., 2015), promovió su utilización, la cual se fundamenta en la identificación de los modos de vibración característicos de cada molécula y se asiste en la asignación por cálculos teóricos químico-cuánticos. La Tabla 3 muestra la proporcionalidad de las relaciones absorbancia versus concentración de CH₄ y de

C₃H₈-C₄H₁₀ con coeficientes de correlación (R²) cercanos a 1.

En base a los resultados obtenidos, el rango lineal de mediciones directas de biogás se sitúa entre los 14665 mL m⁻³ (1,47 %V/V) y 30000 mL m⁻³ (3,00 %V/V) de CH₄ y entre los 3551 mL m⁻³ (0,36 %V/V) y 40000 mL m⁻³ (4,00 %V/V) de C₃H₈-C₄H₁₀. Las diluciones de las muestras de biogás (hasta FD=25) han permitido evaluar concentraciones de hasta el 65,4 % V/V de CH₄.

Los límites de detección y cuantificación obtenidos en este trabajo, permitirán aplicar este procedimiento en la determinación de concentraciones de CH_4 en biodigestores donde las proporciones de estos gases superan el 1,5 %V/V incluso en las primeras etapas de la biodigestión anaerobia de residuos sólidos (Deublein & Steinhauser, 2008). Si bien es cierto, existen sensores electroquímicos con límites de detección más bajos (entre 16 y 170 mL m^{-3}) (Honeycutt et al., 2019), la saturación de estos sensores se da a concentraciones superiores al 5 %V/V de CH_4 , por lo cual se usan principalmente en la detección de explosividad y dosis letal en ambiente cerrados. Los métodos de análisis más usados para la cuantificación de CH_4 en concentraciones encima del 5 %V/V son los métodos de infrarrojo no dispersivo (NDIR) y las cámaras infrarrojas (Reinelt et al., 2017). Respecto a la precisión del método, es necesaria su calibración cada vez que se vaya a realizar los análisis. El método desarrollado en este trabajo presenta una precisión para CH_4 descrita en la Tabla 4, que es similar en el rango lineal a la de los sensores NDIR (entre el 7,3 y 19,8 %) (Pham et al., 2013).

La Figura 3 muestra las curvas de generación de biogás para M1, M2 y M3, así como los valores máximos de CH_4 generados en la biodigestión. El tratamiento M3T50D1:3 (Mezcla rumen-estiércol a 50 °C y dilución 1:3) es la opción que genera un biogás más enriquecido en CH_4 (65,4%) después de 15 días de digestión acorde a los procesos termófilicos (Lagrange, 1979). Es remarcable que el aumento de temperatura en el proceso provoca cambios sustanciales en la velocidad de generación del CH_4 , mostrando resultados similares a otros estudios reportados (Accettola et al., 2008; Varnero-Moreno, 2011).

La Tabla 7 muestra los resultados del diseño experimental aplicado, teniendo la concentración de CH_4 como función respuesta y tomando como factores de proceso el tipo de desecho (M1, M2 y M3), la temperatura (ambiente y 50°C) y la relación desecho:agua (1:2 y 1:3). Se evidenció que todas las variables influyen significativamente en la producción de CH_4 . Adicionalmente, la prueba de rangos múltiples mostro que la generación de CH_4 con M1 y M2 no tiene diferencias significativas, por lo que el estiércol en la mezcla con el

rumen favorece la producción de un biogás más enriquecido en CH_4 . Los resultados mostraron que la temperatura es la variable que aporta la mayor influencia en la producción de CH_4 . Las bacterias metanogénicas prefieren un medio con temperaturas mayores a 30°C . Valores debajo de los 15°C disminuyen la producción de CH_4 por reducción de la población metanogénica y aumenta la disolución de gases en el agua. A temperaturas mayores a 15°C , la solubilidad de los gases disminuye, siendo un efecto positivo para los microorganismos ya que disminuye el riesgo a ser expuestos a gases tóxicos. Sin embargo, gases como el CO_2 que proporciona alcalinidad al medio también disminuye, lo que provoca un aumento del pH generando efectos de inhibición en ambientes con altas concentraciones de amoníaco. Los microorganismos necesitan que el pH y la temperatura sean controlados y constantes en cada etapa metabólica, tal es el caso que, si existen cambios de temperatura de $\pm 0,5^\circ\text{C}$, el proceso de biodigestión se desestabiliza (Tezel et al., 2011).

Si bien la dilución del desecho afecta al proceso, esta variable puede ser

excluida dependiendo del tipo de desecho como lo detallan los resultados óptimos de concentración de CH_4 en M1 y M2. La actividad anaerobia opera en mejores condiciones con un nivel de sólidos totales entre el 8 y 12 % en digestores semicontínuos y entre un 40 y 60 % en digestores discontinuos (MINENERGIA et al., 2011).

Finalmente, en la Tabla 6 se evidencia que las muestras de desechos de camal reunieron las condiciones adecuadas de pH, sólidos totales y la relación C/N (30/1), para realizar el proceso de degradación anaerobia, obteniendo resultados favorables en la producción de biogás. La literatura reporta que el uso de biol y digestado sólido obtenido por digestión anaerobia mejora la calidad de los suelos debido al aumento de biomasa microbiológica y la introducción de fósforo y nitrógeno así como la reducción de la densidad del suelo y el aumento de la conductividad hidráulica (Nkoa, 2014).

El contenido de macronutrientes en el digestado sólido, obtenido de la muestra M3T50D1:3, fue comparado con estándares alemanes sobre la

composición de fertilizantes orgánicos (al menos de 0,5 % de N, 0,3 % de P y 0,4 % de K), mostrando que el digestado sólido requiere la adición de fertilizantes minerales para ejercer una influencia significativa en el suelo. El nivel de metales pesados en el digestado sólido y el biol cumplen con los límites permisibles de biosólidos aplicables como acondicionantes de suelo expuestos en normativas norteamericanas (CFR-US, 1993). Respecto a los parámetros microbiológicos se logró una reducción del

99,9 % de coliformes fecales y totales en el biol y digestado sólido de la muestra M3T50D1:3, por lo que la biodigestión termofílica tiene un efecto significativo en la disminución de patógenos.

Con estos resultados se puede decir que tanto el biol como el digestado sólido pueden ayudar a mejorar las características fisicoquímicas de los suelos y disminuir el uso de fertilizantes sintéticos

CONCLUSIÓN

El método desarrollado, mediante espectroscopia FTIR, para la cuantificación de CH_4 y $\text{C}_3\text{H}_8\text{-C}_4\text{H}_{10}$ en muestras de biogás es satisfactorio, sin embargo, su utilización está restringida a la calibración cada vez que se vaya a ejecutar la determinación experimental.

El proceso de digestión anaerobia de desechos del camal del DMQ tiene la potencialidad de generar biogás. El tipo de desecho y la temperatura son factores fundamentales que mejoran el rendimiento, obteniéndose que una mezcla de rumen-estiércol bo-

vino, sometida a una temperatura de 50 °C pueda generar biogás enriquecido hasta en un 65,4 % V/V posterior a 15 días del inicio de la biodigestión.

Mediante el análisis fisicoquímico y microbiológico del digestado sólido y biol obtenido, se determinó que estos productos cumplen con los lineamientos relacionados a biosólidos para su posible aplicación como acondicionantes de suelo y fertilizantes con la ayuda de otros fertilizantes minerales.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen el financiamiento de la U.C.E. mediante el proyecto No. 24 “Convocatoria 2016”.

LISTA DE REFERENCIAS

- Accettola, F., Guebitz, G. M., & Schoeftner, R. (2008). Siloxane removal from biogas by biofiltration: biodegradation studies. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 10(2), 211–218. <https://doi.org/10.1007/s10098-007-0141-4>
- Afazeli, H., Jafari, A., Rafiee, S., & Nosrati, M. (2014). An investigation of biogas production potential from livestock and slaughterhouse wastes. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 34, 380–386. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.03.016>
- Agrocalidad. (2013). *Manual de procedimientos para la inspeccion y habilitacion de mataderos* (Resolución DAJ-20134B4-0201.0247). <http://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2015/07/Manual-procedimiento-inspeccion-y-habilitacion-Mataderos-DAJ-20134B4-0201.0247.pdf>
- Agrocalidad. (2018). *Listado de mataderos bajo inspección oficial - MABIO*. <http://www.agrocalidad.gob.ec/documentos/inocuidad/listado-de-mataderos-mabio-a-abril-2018.pdf>
- Bustillo-Lecompte, C. F., & Mehrvar, M. (2015). Slaughterhouse wastewater characteristics, treatment, and management in the meat processing industry: A review on trends and advances. *Journal of Environmental Management*, 161, 287–302. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.07.008>
- CFR-US. (1993). *Standards for the use or disposal of sewage sludge*. <https://www.law.cornell.edu/cfr/text/40/part-503>

- Comeford, J. J., & Gould, J. H. (1961). Infrared spectra of solid hydrocarbons at very low temperatures. *Journal of Molecular Spectroscopy*, 5(1–6), 474–481. [https://doi.org/10.1016/0022-2852\(61\)90110-2](https://doi.org/10.1016/0022-2852(61)90110-2)
- Djeffal, S., Mamache, B., Elgroud, R., Hireche, S., & Bouaziz, O. (2018). Prevalence and risk factors for Salmonella spp. contamination in broiler chicken farms and slaughterhouses in the northeast of Algeria. *Veterinary World*, 11(8), 1102–1108. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.1102-1108>
- FAO. (2018). *Food Outlook*. Biannual Report on Global Food Markets. <http://www.fao.org/3/ca2320en/CA2320EN.pdf>
- Hagos, K., Zong, J., Li, D., Liu, C., & Lu, X. (2017). Anaerobic co-digestion process for biogas production: Progress, challenges and perspectives. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 76, 1485–1496. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.11.184>
- Hepburn, C. A., Vale, P., Brown, A. S., Simms, N. J., & McAdam, E. J. (2015). Development of on-line FTIR spectroscopy for siloxane detection in biogas to enhance carbon contactor management. *Talanta*, 141, 128–136. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.03.063>
- Honeycutt, W. T., Ley, M. T., & Materer, N. F. (2019). Precision and Limits of Detection for Selected Commercially Available, Low-Cost Carbon Dioxide and Methane Gas Sensors. *Sensors*, 19(14), 3157. <https://doi.org/10.3390/s19143157>
- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. (2018). *Estadísticas Agropecuarias*. ESPAC 2018. <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/estadisticas-agropecuarias-2/>
- Irikura, K. K., Johnson, R. D., & Kacker, R. N. (2005). Uncertainties in Scaling Factors for ab Initio Vibrational Frequencies. *The Journal of Physical Chemistry A*, 109(37), 8430–8437. <https://doi.org/10.1021/jp052793n>
- Kozdruń, W., Czekaj, H., & Styż, N. (2015). Avian zoonoses – a review. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 59(2), 171–178. <https://doi.org/10.1515/bvip-2015-0026>
- Lagrange, B. (1979). *Biomethane. Principes, Techniques, Utilisation*. Vol.2 (Edisud (ed.)).

- Maroto, A., Riu, J., Boqué, R., & Xavier Rius, F. (1999). Estimating uncertainties of analytical results using information from the validation process. *Analytica Chimica Acta*, 391(2), 173–185. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(99\)00111-7](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(99)00111-7)
- Miller, J., Miller, J., & Miller, L. (2018). *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry* (7th ed.). Harlow: Pearson Education Limited.
- MINENERGIA, PNUD, FAO, & GEF. (2011). *Manual de Biogás*. <http://www.fao.org/3/as400s/as400s.pdf>
- Nkoa, R. (2014). Agricultural benefits and environmental risks of soil fertilization with anaerobic digestates: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 34(2), 473–492. <https://doi.org/10.1007/s13593-013-0196-z>
- Pele, L., Šebek, J., Potma, E. O., & Benny Gerber, R. (2011). Raman and IR spectra of butane: Anharmonic calculations and interpretation of room temperature spectra. *Chemical Physics Letters*, 515(1–3), 7–12. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2011.09.015>
- Peñafiel, W., & Ticona, D. (2015). Ruminal De Bovino - Matadero Municipal De La Paz. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 87–90.
- Pham, C. H., Triolo, J. M., Cu, T. T. T., Pedersen, L., & Sommer, S. G. (2013). Validation and Recommendation of Methods to Measure Biogas Production Potential of Animal Manure. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 26(6), 864–873. <https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12623>
- Reinelt, T., Delre, A., Westerkamp, T., Holmgren, M. A., Liebetrau, J., & Scheutz, C. (2017). Comparative use of different emission measurement approaches to determine methane emissions from a biogas plant. *Waste Management*, 68, 173–185. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.05.053>
- Soares, T. C. S., Gottschalk, M., Lacouture, S., Megid, J., Ribolla, P. E. M., Pantoja, J. C. de F., & Paes, A. C. (2015). *Streptococcus suis* in employees and the environment of swine slaughterhouses in São Paulo, Brazil: Occurrence, risk factors, serotype distribution, and antimicrobial susceptibility. *Canadian Journal of Veterinary Re-*

search = *Revue Canadienne de Recherche Veterinaire*, 79(4), 279–284.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26424907>

Tezel, U., Tandukar, M., & Pavlostathis, S. G. (2011). Anaerobic Biotreatment of Municipal Sewage Sludge. In *Comprehensive Biotechnology* (pp. 447–461). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-088504-9.00329-9>

Varnero-Moreno, M. T. (2011). *Manual de Biogás*. <http://www.fao.org/3/as400s/as400s.pdf>

Walkley, A., & Black, I. A. (1934). An Examination of the Degtjareff Method for Determining Soil Organic Matter, and a Proposed Modification of the Chromic Acid Titration Method. *Soil Science*, 37(1), 29–38. <https://doi.org/10.1097/00010694-193401000-00003>

USO DE FUNCIONES DE GUMBEL PARA EL AJUSTE Y DECONVOLUCIÓN DE TERMOGRAMAS DE ANÁLISIS TÉRMICO DIFERENCIAL

USE OF GUMBEL DISTRIBUTION FUNCTIONS FOR THE FITTING AND DECONVOLUTION OF DIFFERENTIAL THERMAL ANALYSIS THERMOGRAMS

Jesús González-Laprea^{1*}, Carlos Durante R.² & José Darías G.³

Recibido: 6 de febrero 2020 / Aceptado: 12 de junio 2020

Publicado en línea: 19 de junio 2020

DOI: 10.26807/ia.v8i2.131

Palabras claves: Ajuste de datos experimentales, Análisis Térmico Diferencial (ATD), deconvolución de señales, funciones de Gumbel, transiciones de fase.

Keywords: Experimental data fitting, Differential Thermal Analysis (DTA), Gumbel functions, phase transitions, signal deconvolution.

1 Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Escuela de Ciencias Físicas y Matemáticas, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito, Ecuador. (*correspondencia: jegonzalezl@puce.edu.ec)

2 Laboratorio de Ciencia de Materiales, Departamento de Física, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela. (durincarlos@gmail.com)

3 Laboratorio de Óptica y Fluidos, Universidad Simón Bolívar, Caracas, Venezuela. (jrdarias@usb.ve)

RESUMEN

Se presenta una propuesta para el ajuste empírico de curvas correspondientes a transiciones de fase en mediciones obtenidas por Análisis Térmico Diferencial (ATD). La familia de funciones que se plantean para el ajuste se conoce como funciones Gumbel; estas funciones tienen características de asimetría que se asemejan a las de los picos típicos de ATD, a diferencia de funciones simétricas usualmente utilizadas para el ajuste de picos, como Gaussianas o Lorentzianas. El proceso de ajuste se llevó a cabo con mediciones de ATD realizadas en muestras de compuestos $\text{In}_x\text{Mn}_{(1-x)}\text{Sb}$, los cuales exhiben la presencia de dos fases; InSb y MnSb , en las que dependiendo del valor de x se observan transiciones de fase que pueden ser o no simultáneas en temperatura. Al trabajar con curvas de transiciones de fase individuales, las funciones de Gumbel ajustan las curvas con coeficientes de correlación lineal (R^2) superiores a 0,98, tanto para transiciones de fusión como para transiciones de solidificación, lo que evidencia el correcto ajuste de los datos experimentales. Se demuestra la valía de este tipo de ajustes al ser empleados en un sistema donde existen transiciones de fase simultáneas en temperatura, en este caso se muestra cómo, con las funciones de Gumbel, es posible separar estas señales superpuestas. Una vez separadas se podría tener acceso a información como la temperatura de transición o a la entalpía de transformación de cada uno de los compuestos presentes en la mezcla, algo que actualmente es muy complicado de hacer para señales simultáneas de ATD.

ABSTRACT

We present a proposal for the empirical fit of curves corresponding to phase transitions in measurements obtained using Differential Thermal Analysis (DTA). The family of functions for fit is known as the Gumbel functions. These functions have asymmetrical characteristics that resemble those of typical DTA peaks, different from the symmetrical functions usually used for the adjustment of peaks (such as Gaussian or Lorentzian). The adjustment process was performed with DTA measurements carried out with samples of $\text{In}_x\text{Mn}_{(1-x)}\text{Sb}$ compounds, which

show the presence of two phases, InSb and MnSb. In these phases, depending on the value of x , phase transitions are observed that may or may not be simultaneous in temperature. When working with individual phase transition curves, Gumbel functions fits the curves with linear correlation coefficients (R^2) higher than 0.98 –for both fusion and solidification transitions– which demonstrates the experimental data's proper fit. This type of fit's value is demonstrated by its use in a system where there are simultaneous phase transitions in temperature. In this case it is shown how, with the Gumbel functions, it is possible to separate these superimposed signals. These independent signals may provide access to information such as the phase transition temperature and the enthalpy of transformation for each of the compounds present in the mixture, something presently difficult to attain in simultaneous DTA signals.

INTRODUCCIÓN

El Análisis Térmico Diferencial (ATD) es una técnica de amplio uso para la caracterización de materiales sólidos, se basa en la comparación entre las temperaturas de la muestra en estudio y un material referencial inerte con una capacidad calórica similar, mientras ambas experimentan un proceso de intercambio de calor (Akash & Rehman, 2020; Školáková, Průša, & Novák, 2020). Cuando la muestra experimenta alguna reacción o transformación, y la tasa a la que se modifica su temperatura es alterada, la diferencia entre las dos temperaturas es evidenciada como una señal en el termograma obtenido. Así, si se

produce un proceso endotérmico durante el calentamiento de la muestra (una fusión, por ejemplo), ésta reducirá su velocidad de calentamiento mientras ocurre dicho proceso, generando un pico de ATD. Un cambio en la capacidad calórica o la conductividad térmica del material producirá cambios en la pendiente de la señal (Akash & Rehman, 2020; Charsley et al., 2019; Kramer, 1992).

Este último elemento es definitorio para las señales de ATD; si la muestra, a lo largo del proceso de calentamiento o enfriamiento, experimenta cambios de fase, la capacidad caló-

rica de ésta, muy probablemente será diferente antes y después del proceso, por lo que normalmente los picos asociados tienden a ser marcadamente asimétricos, presentando pendientes diferentes en cada uno de sus flancos (Akash & Rehman, 2020; Janssen, Nicasio, Dudley, Xia, & Simonson, 2020; Kramer, 1992).

La función principal de un análisis por ATD es identificar procesos térmicos; en procesos endotérmicos (fusión, vaporización, sublimación, desorción o cambios de fase cristalina), la temperatura de la muestra será inferior a la de la referencia, por lo que se observarán picos hacia abajo en la señal, mientras que para procesos exotérmicos (absorción, nucleación, cristalización, o cambios en fases metaestables), se observarán picos hacia arriba (Akash & Rehman, 2020; Charsley et al., 2019; Kramer, 1992; Verma, Devi, Sharma, & Jensen, 2011). En cualquiera de los casos, el área bajo la curva temperatura – tiempo para cada una de estas señales estará dada por la entalpía de transformación correspondiente al proceso suscitado (Akash & Rehman, 2020; Borchardt & Daniels, 1957; Charsley et al., 2019).

Cuando la muestra en estudio consiste en la mezcla de dos o más fases, los termogramas de ATD suelen exhibir un número igual o menor de señales, correspondientes a las transformaciones (químicas o físicas) ocurridas en cada una de ellas. Dado que muchas veces estas señales ocurren en intervalos de temperatura similares, se recurre a reducir considerablemente la velocidad de calentamiento y así lograr que las transiciones no se superpongan entre sí.

Esta metodología trae consigo dos limitantes; en primer lugar, está demostrado que al incrementar la velocidad de calentamiento el desfase entre la temperatura de la referencia y la temperatura de la muestra se incrementa, mejorando la señal en el ATD, por lo que al reducir la rapidez del calentamiento se puede perder información. Esto crea un compromiso al momento de escoger la tasa de calentamiento adecuada para el estudio (Akash & Rehman, 2020; Kramer, 1992).

La segunda limitante está en la naturaleza intrínseca del compuesto, en donde las fases pueden estar íntimamente ligadas (como por ejemplo en mezclas eutécticas de sistemas bina-

rios con miscibilidad total en las fases líquida y sólida) donde es imposible obtener señales independientes para las transformaciones ocurridas (Jansen et al., 2020; Kramer, 1992).

La función de distribución de Gumbel

La función de distribución de Gumbel (Gumbel, 1954) es una distribución de densidad de probabilidad, comúnmente utilizada para el estudio de la distribución de valores extremos dentro de un conjunto de datos (Chang, 2015; Hershfield, 1973), se utiliza, por ejemplo, para el estudio de picos de pluviosidad o niveles máximos de ríos, tamaños extremos en una población o valores mínimos o máximos en análisis financieros, entre muchas otras aplicaciones (Chang, 2015; Gorgoso-Varela & Rojo-Alboreca, 2014; Gumbel, 1954; Hershfield, 1973; Nadarajah, 2006). Dado que es una función que estudia valores extremos, se caracteriza por su alta asimetría (Chang,

2015), como sería de esperar para valores extremos, se obtienen distribuciones de colas largas hacia la izquierda y caídas abruptas a la derecha para distribuciones de valores mínimos (Figura 1) y, el caso opuesto (colas largas a la derecha y una caída rápida a cero para la derecha) para las distribuciones de valores máximos (Chang, 2015; Gorgoso-Varela & Rojo-Alboreca, 2014; Gumbel, 1954).

La función de densidad de probabilidad de Gumbel está dada por la ecuación (1):

$$f(x) = y_0 + \frac{1}{\beta} \exp \left\{ \exp \left[- \left(\frac{x - \alpha}{\beta} \right) \right] + \left(\frac{x - \alpha}{\beta} \right) \right\} \quad (1)$$

donde α y β son respectivamente los parámetros de localización y escala de la función, y_0 es un parámetro de ajuste vertical. En la Figura 1, se puede observar cómo se modifica la forma de la curva ajustando los valores de estos parámetros.

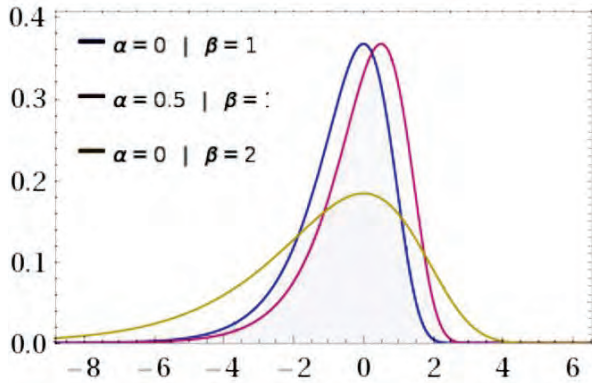


Figura 1. Función de Gumbel para distribución de mínimos (generada en Wolfram Alpha), tomando tres valores diferentes de los parámetros α y β . Se puede observar la asimetría de la función en su cola larga hacia la izquierda y cómo se puede ajustar su centro ajustando el parámetro α .

El objetivo del presente trabajo es utilizar las características de asimetría de las funciones de Gumbel, para realizar ajustes empíricos de los picos correspondientes a señales de análisis térmico diferencial (ATD). De esta forma se pueden deconvolucionar

picos de mezclas de sustancias que presenten transiciones de fase en intervalos similares de temperaturas, y así se podría suministrar información de lo que ocurre individualmente en cada uno de los constituyentes de la muestra en estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para implementar las funciones Gumbel en el ajuste de picos de ATD, se realizaron medidas sobre una muestra de InSb con incrustaciones de MnSb en dos proporciones diferentes: $\text{In}_{0,80}\text{Mn}_{0,20}\text{Sb}$ y $\text{In}_{0,90}\text{Mn}_{0,10}\text{Sb}$.

La inserción de Mn en semiconductores de la familia III-V (como el InSb) se ha ido desarrollando en los últimos años, con la intención de fabricar semiconductores con propiedades magnéticas para aplicaciones en es-

pintrónica, dirigidos principalmente a su uso en computación cuántica, para la cual se están desarrollando semiconductores magnéticos diluidos (DMS por sus siglas en inglés) de alta temperatura de Curie (TC) (Awshalom, Loss, & Samarth, 2013; Katayama-Yoshida & Sato, 2003). Justamente es la alta TC de estos materiales ($TC = 173\text{ K}$), lo que los hace especialmente útiles para aplicaciones como comunicación satelital o circuitos integrados (Liu, Li, & Zeng, 2010).

Las muestras fueron preparadas a partir de una mezcla de elementos respetando las proporciones estequiométricas del compuesto deseado y utilizando las cantidades para obtener un lingote de 4 g. Se utilizó indio (In) en trozos con un grado de pureza de 99,999 %, antimonio (Sb) en granos con un grado de pureza de 99,9999 % y manganeso (Mn) con un grado de pureza de 99,99 %. Los materiales fueron colocados en una cápsula de cuarzo con calidad para semiconductores, tratada adecuadamente para evitar la presencia de impurezas. Las paredes internas de la cápsula fueron cubiertas con grafito para evitar la presencia de fracturas

en el lingote por la adhesión de éste al cuarzo. Los elementos se agregaron en la capsula grafitada para colocarla en un sistema de alto vacío ($\sim 10^{-6}$ torr) por 24 horas antes de ser sellada. Para la elaboración del programa de síntesis se tomó en cuenta los puntos de fusión de los elementos constituyentes y las transiciones de fase en el proceso de enfriamiento controlado. Se calentó desde la temperatura ambiente ($\sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$) hasta $1150\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $10\text{ }^{\circ}\text{C/h}$, manteniéndose esta temperatura por 36 horas, agitando la capsula varias veces mientras transcurría este periodo de tiempo, para que los elementos ya fundidos (In y Sb) se mezclaran adecuadamente y se forme antimoniuro de indio en fase líquida. A pesar de que la temperatura a la cual es llevada la muestra inicialmente no alcanza el punto de fusión del manganeso ($\sim 1260\text{ }^{\circ}\text{C}$) éste es incorporado a la muestra mediante difusión, terminando así la etapa de calentamiento. Se enfrió el horno hasta $500\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $5\text{ }^{\circ}\text{C/h}$ pasando así por las posibles transiciones de fase que pudiera presentar el compuesto ya formado. Una vez que el horno llega a $500\text{ }^{\circ}\text{C}$, se realizó un recocido térmico (annealing) durante 96 horas.

Para verificar la presencia de ambas fases se realizó un estudio de difracción de rayos X sobre las muestras; se realizó difracción de rayos X en polvo a temperatura ambiente, llevada a cabo en un difractómetro PANalytical X'Pert PRO con ánodo de cobre ($\lambda = 1,54060 \text{ \AA}$) y geometría Bragg-Brentano. La medida se realizó en el intervalo de 2θ entre 5° y 100° con un paso de $0,0170^\circ$, mientras que el tiempo de toma de medidas fue de $1,9050 \text{ s/paso}$.

Para el análisis térmico diferencial se empleó un equipo marca Shimadzu,

modelo DTA-50, dotado con termopares tipo Pt-Pt/10 %Rh, controlado por un computador por medio del Software TA-60WS. La muestra triturada es introducida en una cápsula de cuarzo sellada al vacío ($\sim 10^{-6}$ torr), con el fin de minimizar la oxidación y la pérdida de material al momento de monitorear la muestra. Se tomaron las previsiones para obtener el mejor contacto térmico posible entre el termopar y el portamuestra. Como referencia inerte se utilizó polvo de alúmina (Al_2O_3) de alta pureza, encapsulado en condiciones idénticas a las anteriores.

RESULTADOS

Análisis de rayos X

En el análisis del patrón de difracción de rayos X en polvo (Figura 2), se utilizó el programa WinPLOT (Roisnel & Rodríguez-Carvajal, 2001) para leer las posiciones 2θ de los picos y obtener los índices de Miller, la es-

tructura cristalina y las figuras de mérito.

La indexación mostró una fase mayoritaria con estructura cúbica tipo zincblenda (ZnS). Otras fases fueron encontradas (Figura 2, $2\theta = 29$ y 45 grados) correspondiendo a MnSb .

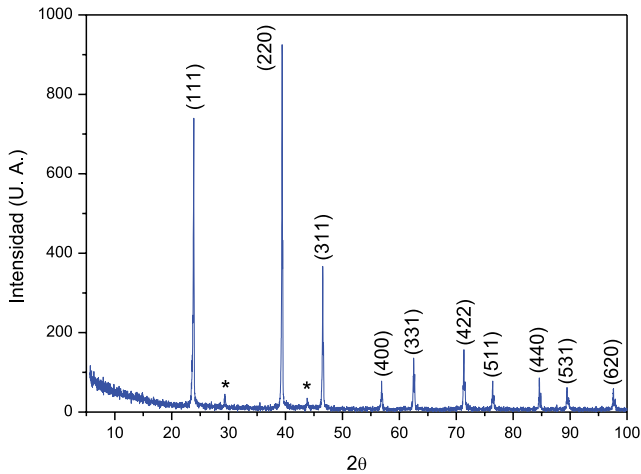


Figura 2. Difractograma mostrando los índices de Miller (hkl) de las reflexiones del compuesto InSb dopado con Mn en el lingote de InSb/MnSb. Los picos marcados con * corresponden a MnSb rico en Sb

Mediciones de ATD

Las medidas de ATD se realizaron en corridas de 15 °C/min para el $\text{In}_{0,80}\text{Mn}_{0,20}\text{Sb}$ y 10 °C/min para el $\text{In}_{0,90}\text{Mn}_{0,10}\text{Sb}$. La Figura 3 muestra las señales de ATD para los dos compuestos empleados. En la Figura 3a, que representa el termograma para para el $\text{In}_{0,80}\text{Mn}_{0,20}\text{Sb}$, se pueden observar las transiciones de fase tanto en calentamiento (fusión) como en

enfriamiento (solidificación) para ambos compuestos (InSb y MnSb), ubicándose como pares de picos tanto en la región de temperatura ascendente como en la descendente. Por el contrario, en la Figura 3b ($\text{In}_{0,90}\text{Mn}_{0,10}\text{Sb}$), se observa un solo pico en la región de calentamiento, mientras que en la de enfriamiento se observan los dos picos, pero mucho más cercanos en comparación con la Figura 3a.

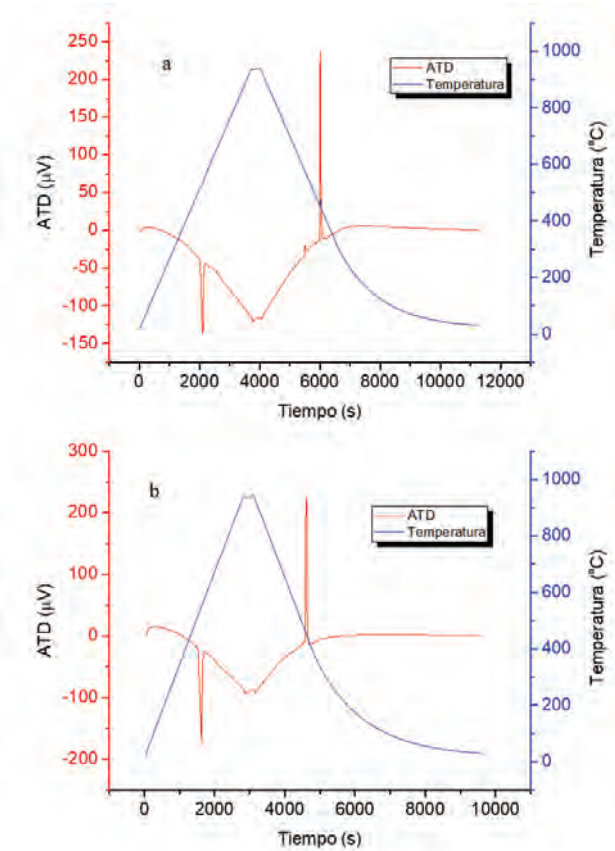


Figura 3. Señales de ATD para $In_{0.80}Mn_{0.20}Sb$ (a) y $In_{0.90}Mn_{0.10}Sb$ (b). La línea azul corresponde al valor de temperatura en la cámara y la roja a la señal diferencial

Cuando se sospecha de la presencia de picos superpuestos, como es el caso de la Figura 3 (tanto a como b), la opción experimental consiste en reducir la velocidad del barrido térmico. Esto, como se mencionó en la introducción, permite separar este tipo de señales a expensas de la cali-

dad de éstas. En la Figura 3b, se muestra el ensayo con la menor tasa de calentamiento/enfriamiento posible. Se puede observar cómo, para el $In_{0.90}Mn_{0.10}Sb$, aun cuando se estudia a muy baja velocidad de barrido es imposible lograr separar señales que sí están evidentemente separadas

en el caso del $\text{In}_{0,80}\text{Mn}_{0,20}\text{Sb}$, aun cuando es corrido a una velocidad mayor. Es en estas situaciones donde la propuesta del presente trabajo gana valor.

Para verificar si en el pico de calentamiento del $\text{In}_{0,90}\text{Mn}_{0,10}\text{Sb}$ (Figura 3b) se está dando una transición de

fase simultánea para ambos compuestos, se estudia la derivada de la señal de ATD, la cual puede ser observada en la Figura 4, donde se presenta en detalle la sección correspondiente al calentamiento de la muestra (Figura 4b), observándose la presencia de un doble pico en la derivada temporal de la señal.

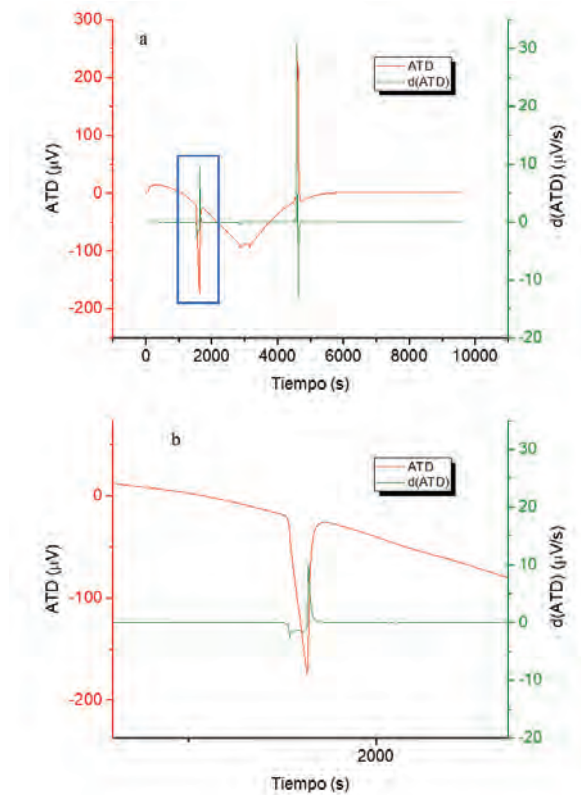


Figura 4. (a) Señal de ATD para el $\text{In}_{0,90}\text{Mn}_{0,10}\text{Sb}$. La línea verde representa la derivada temporal de la señal de ATD ($d(ATD)$). La Figura 4b muestra el detalle marcado en el rectángulo azul en (a)

Ajustes por funciones de Gumbel

Valiéndose de que los picos correspondientes a las transiciones de fase de los dos materiales se encuentran claramente diferenciados para el $\text{In}_{0,80}\text{Mn}_{0,20}\text{Sb}$ (Figura 3a), se emplearon funciones de Gumbel para ajustar estos picos y probar la efectividad

de éstas para tal fin. La Figura 5 presenta un pico en la transición de fusión (calentamiento, Figura 5a) y uno en la transición de solidificación (enfriamiento, Figura 5b) para el ATD correspondiente al $\text{In}_{0,80}\text{Mn}_{0,20}\text{Sb}$, cada uno con su respectivo ajuste empleando una función de Gumbel.

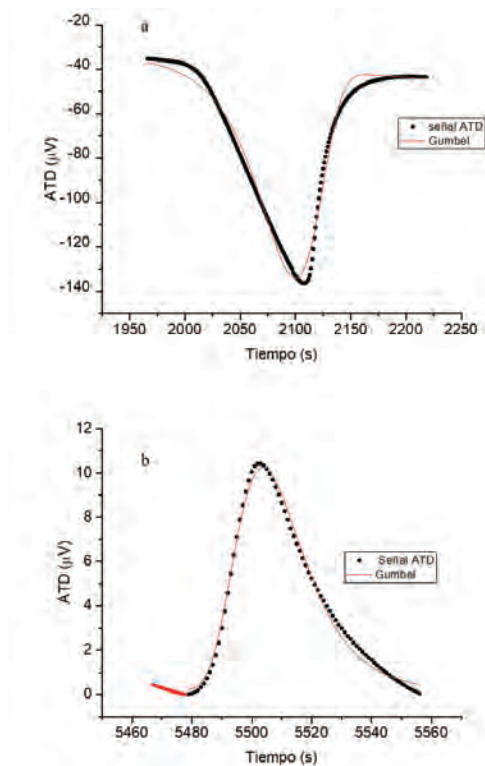


Figura 5. Detalle de los picos correspondientes a una transición de fase única de calentamiento (a), y de enfriamiento (b), para el $\text{In}_{0,80}\text{Mn}_{0,20}\text{Sb}$.

Los puntos corresponden a datos experimentales, la línea roja corresponde al ajuste realizado con funciones de Gumbel, para (a), $\alpha = 118 \text{ s}$, $\beta = 27,38 \text{ s}^{-1}$, $R^2 = 0,984$, y para (b), $\alpha = 5504 \text{ s}$, $\beta = 11,24 \text{ s}^{-1}$, $R^2 = 0,993$

Como ya se ha mencionado, las mediciones de ATD no son solo útiles para determinar procesos térmicos en un material, sino que, a partir del área bajo la curva de estos picos, y disponiendo de estándares de alta pureza para la calibración del equipo, es posible determinar la entalpía de fusión (solidificación) de los materiales en estudio (Borchardt & Daniels, 1957). Esta información es de particular interés si se desea, por ejemplo, estimar costos de producción en procesos industriales. Al conocer la energía necesaria para inducir la transformación deseada de cada gramo de material, se puede tener idea del costo en energía (y por tanto en dinero) que conllevará su producción en masa. En este punto gana importancia la utilización de las funciones de Gumbel, ya que partiendo de que las señales correspondientes a los cambios de fase (superpuestas) siguen este comportamiento, se podrán identificar los dos picos superpuestos y posteriormente determinar las respectivas áreas. La Figura 6 muestra el resultado de aplicar las funciones de Gumbel para ajustar el

pico obtenido experimentalmente en la transición de calentamiento para el $\text{In}_{0.90}\text{Mn}_{0.10}\text{Sb}$, el cual contiene de forma superpuesta la contribución de las señales del InSb y el MnSb , permitiendo obtener información acerca de las dos transiciones de fase por separado.

Para poder determinar entalpías de fusión de los compuestos (ΔH), se emplea el modelo de Borchardt-Daniels (Borchardt & Daniels, 1957), en el cual, si se considera que no hay cambios en la capacidad calorífica de los materiales durante el cambio de fase, la entalpía de fusión de un material será proporcional al área bajo la curva del pico correspondiente durante el proceso de transformación, esto se resume en la ecuación (2):

$$\Delta H = -K \int_{t_0}^{t_f} \Delta T dt = -KA \quad (2)$$

donde A será el área bajo la curva y K una constante de calibración para el equipo de ATD utilizado, que depende del valor de temperatura máxima del pico.

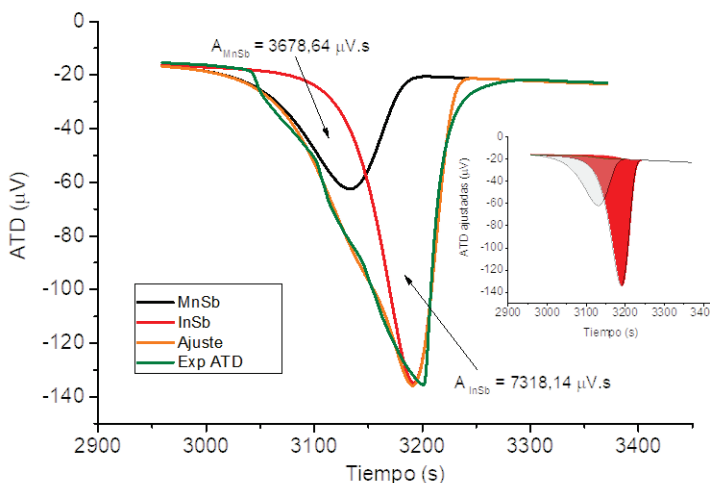


Figura 6 Detalle del pico de calentamiento para el $In_{0,90}Mn_{0,10}Sb$, donde ya se ha detectado las transiciones de fase simultáneas. La línea verde corresponde a los datos experimentales de ATD, las líneas roja y negra corresponden a las dos señales separadas $InSb$ y $MnSb$ respectivamente y, la naranja a la suma de estos dos ajustes ($R^2 = 0,992$). En el inserto se detallan las áreas consideradas para cada señal aislada

Partir de que el material no cambia su capacidad calórica durante el cambio de fase es un supuesto no necesariamente cierto, para subsanar esto se implementó el método propuesto por Cavallera y colaboradores (Clavaguera, Clavaguera-Mora, & Fontana, 1998) en el que, a partir de un método iterativo, plantea la sustracción a la señal de una línea base que depende de la fracción de material transformado (y que ha cambiado su capacidad calórica).

A partir de la información de temperatura en el ATD y la deconvolución lograda por medio de los ajustes, se pueden determinar las temperaturas a las cuales se obtienen los picos para el $MnSb$ y el $InSb$, obteniéndose respectivamente: $T_{MnSb} = 509 \text{ } ^\circ C$ y $T_{InSb} = 528 \text{ } ^\circ C$. Finalmente siguiendo el método antes propuesto para compensar el cambio en la capacidad calórica (Clavaguera et al., 1998), se determinaron las líneas base y se calcularon las áreas bajo las curvas utilizando métodos discretos implemen-

tados en Python. Las áreas determinadas, con sus respectivas líneas base pueden ser observadas en el inserto

de la Figura 6, donde se obtuvo para el InSb, $A_{\text{InSb}} = 7318,14 \mu\text{V}\cdot\text{s}$ y para el de MnSb, $A_{\text{MnSb}} = 3678,64 \mu\text{V}\cdot\text{s}$.

DISCUSIÓN

Análisis de rayos X

En la Figura 2 se muestran los índices de Miller de las reflexiones indexadas, correspondientes al InSb dopado con Mn. Se obtuvo una figura de mérito $M(10) = 680$ (Razeghi, 2004; Verma et al., 2011). Las reflexiones no indexadas pueden ser atribuidas al MnSb rico en antimonio (Novotortsev et al., 2011).

Señales de ATD simultáneas

El doble pico para la derivada de la señal de ATD (Figura 4b) evidencia dos tasas cambio diferentes en la velocidad de calentamiento de la muestra, lo que indica la presencia de dos transiciones de fase, donde una de mayor intensidad (asociada a la fusión del InSb) apantalla la señal de la segunda (asociada a la fusión de los agregados de InMn).

Ajustes por funciones de Gumbel

Para el pico de calentamiento presentado en la Figura 5a, la curva de datos es ajustada con un coeficiente de correlación $R^2 = 0,984$, mientras que para la curva de enfriamiento presentada en la Figura 5b el ajuste arrojó un coeficiente de correlación $R^2 = 0,993$. Ambos valores del coeficiente de correlación indican que las funciones de Gumbel son bastante adecuadas para modelar la forma de los picos de ATD, esto también se evidencia en los dos gráficos de la Figura 5, donde las líneas de ajuste se ciñen a los datos experimentales.

En la Figura 6 se pueden evidenciar dos picos de tamaño muy diferente (altura y área), lo que sugiere la presencia de un material en mayor proporción que otro, resultado que era de esperar a partir de la información obtenida de la Figura 3, donde los picos estaban claramente separados, o si simplemente se considera la pro-

porción mayor en que se encuentra el InSb frente al MnSb. Todo esto sugiere que los picos deconvolucionados, a partir de las funciones de Gumbel sí son representativos de lo que ocurre en el material durante el proceso de transformación (fusión en este caso).

No es intención de este trabajo explorar los valores para las entalpías de los compuestos en estudio, ya que estos son utilizados únicamente como modelos para demostrar las bondades del uso de las funciones de

Gumbel en el análisis de picos de ATD, adicionalmente, analizar este tipo de resultados implicaría un conocimiento más profundo de las características químicas y estructurales de cada compuesto y, de cómo sus diferentes fases interactúan entre sí, lo que requeriría del análisis por otras técnicas que provean información adicional, como microscopía electrónica con técnicas como barridos convencionales o electrones retrodispersados, lo cual se desvía del objetivo principal de este trabajo.

CONCLUSIÓN

Se ha encontrado que la función de Gumbel ajusta correctamente la forma con gran asimetría de las curvas de ATD obtenidas para las aleaciones estudiadas. Esto permite la separación de procesos simultáneos y el cálculo de valores asociados a cada proceso. Los coeficientes de correlación lineal (R^2) obtenidos son superiores a 0,98, estos altos valores obtenidos para R^2 indican que las funciones representan muy bien matemáticamente el contorno de los picos de ATD trabajados.

Al disponer de una forma matemática adecuada para representar los picos de ATD, se pueden emplear estas funciones para deconvolucionar señales de ATD que sean producto de múltiples transiciones de fase, que ocurran en intervalos de temperatura simultáneos y que normalmente son enmascaradas unas con otras. Esto permite obtener información, como las áreas de los picos o la temperatura de cambio de fase de cada compuesto, información que actualmente es de muy difícil acceso en el caso de compuestos mezclados con transiciones de fase simultáneas.

LISTA DE REFERENCIAS

- Akash, M. S. H., & Rehman, K. (2020). *Differential Thermal Analysis Essentials of Pharmaceutical Analysis* (pp. 207-213): Springer.
- Awschalom, D. D., Loss, D., & Samarth, N. (2013). *Semiconductor spintronics and quantum computation*: Springer Science & Business Media.
- Borchardt, H. J., & Daniels, F. (1957). The application of differential thermal analysis to the study of reaction kinetics¹. *Journal of the American Chemical Society*, 79(1), 41-46. doi: 10.1021/ja01558a009
- Clavaguera, N., Clavaguera-Mora, M., & Fontana, M. (1998). Accuracy in the experimental calorimetric study of the crystallization kinetics and predictive transformation diagrams:
Application to a Ga–Te amorphous alloy. *Journal of Materials research*, 13(3), 744-753. doi: 10.1557/JMR.1998.0094
- Chang, K.-H. (2015). Chapter 10 - Reliability Analysis. In K.-H. Chang (Ed.), *e-Design* (pp. 523-595). Boston: Academic Press.
- Charsley, E., Price, D., Hunter, N., Gabbott, P., Kett, V., Gaisford, S., . . . Scowen, I. (2019). *Principles of thermal analysis and calorimetry*: Royal society of chemistry.
- Gorgoso-Varela, J. J., & Rojo-Alboreca, A. (2014). Use of Gumbel and Weibull functions to model extreme values of diameter distributions in forest stands. *Annals of forest science*, 71(7), 741-750. doi: 10.1007/s13595-014-0369-1
- Gumbel, E. J. (1954). Statistical theory of extreme values and some practical applications. *NBS Applied Mathematics Series*, 33.
- Hershfield, D. M. (1973). On the probability of extreme rainfall events. *Bulletin of the American Meteorological Society*, 54(10), 1013-1018. doi: 10.1016/j.ejrh.2015.06.007

- Janssen, Y., Nicasio, J., Dudley, K., Xia, B., & Simonson, J. (2020). Development of in-situ differential thermal analysis for crystal growth experiments. *Bulletin of the American Physical Society*.
- Katayama-Yoshida, H., & Sato, K. (2003). Spin and charge control method of ternary II–VI and III–V magnetic semiconductors for spintronics: theory vs. experiment. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 64(9-10), 1447-1452. doi: 10.1016/S0022-3697(03)00126-4
- Kramer, E. (1992). *Materials Science and Technology: A Comprehensive Treatment (Vol. 5: Phase Transformations in Materials)*.
- Liu, C., Li, Y., & Zeng, Y. (2010). Progress in antimonide based III-V compound semiconductors and devices. *Engineering*, 2(08), 617. doi: 10.4236/eng.2010.28079
- Nadarajah, S. (2006). The exponentiated Gumbel distribution with climate application. *Environmetrics: The official journal of the International Environmetrics Society*, 17(1), 13-23. doi: 10.1002/env.739
- Novotortsev, V., Kochura, A., Marenkin, S., Fedorchenko, I., Drogunov, S., Lashkul, A., & Lähderanta, E. (2011). Synthesis and magnetic properties of the InSb–MnSb eutectic. *Russian Journal of Inorganic Chemistry*, 56(12), 1951-1956. doi: 10.1134/S0036023611120400
- Razeghi, M. (2004). *Antimony Based Materials for Electro-Optics Semiconductor Nanostructures for Optoelectronic Applications*.
- Roisnel, T., & Rodríguez-Carvajal, J. (2001). WinPLOTTR: a windows tool for powder diffraction pattern analysis. Paper presented at the Materials Science Forum.
- Školáková, A., Průša, F., & Novák, P. (2020). Thermal analysis of FeAl intermetallic compound sintered at heating rate of 300° C/min. *Journal of Alloys and Compounds*, 819, 152978. doi: 10.1016/j.jallcom.2019.152978
- Verma, U., Devi, N., Sharma, S., & Jensen, P. (2011). Spin-polarized first-principles study of ferromagnetism in zinc-blende In 1– x Mn x Sb. *The European Physical Journal B*, 81(4), 381-386. doi: 10.1140/epjb/e2011-20047-8

OBTENCIÓN DE QUITINA A PARTIR DEL EXOESQUELETO DE CAMARÓN (*Litopenaeus vannamei*) COMO COAGULANTE – FLOCULANTE EN AGUAS DE BAJA TURBIDEZ

OBTAINING CHITIN FROM THE SHRIMP (*Litopenaeus vannamei*) EXOSKELETON AS COAGULANT - FLOCCULANT IN WATERS OF LOW TURBIDITY

José Rosero^{1*}, Martha Suárez², Stephanie Mora³, Bryan Achig²,
Adriana Chamba² & Alex Anrango¹

Recibido: 4 de agosto 2019 / Aceptado: 10 de junio 2020

Publicado en línea: 22 de junio 2020

DOI: 10.26807/ia.v8i2.113

Palabras clave: biopolímero, exoesqueleto de camarón, coagulante,
floculante, quitina, turbidez

Keywords: biopolymer, shrimp exoskeleton, coagulant, flocculant,
chitin, turbidity.

¹ Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ingeniería Ciencias Físicas y Matemáticas. Carrera de Ingeniería Civil. Quito, Ecuador. (*correspondencia: jarosero@uce.edu.ec; anrango.alex@yahoo.es)

² Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Químicas. Carrera de Química. Quito, Ecuador. (masuarez@uce.edu.ec; andresmh2801@hotmail.com; aechamba@uce.edu.ec)

³ Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Químicas. Carrera de Química Farmacéutica. Quito, Ecuador. (stepha_tai_13@hotmail.com)

RESUMEN

Se obtuvo quitina a partir del exoesqueleto de camarón, con un rendimiento del 27,5 %, identificándose los valores promedio para desmineralización y desproteinización $97,80 \pm 3,13$ % (p/p) y $32,18 \pm 0,14$ % (p/p), respectivamente. El biopolímero obtenido se caracterizó por espectroscopia infrarroja con la presencia de bandas de estiramiento de los enlaces --OH a 3386 cm^{-1} , --NH a 3124 cm^{-1} , --C=O a 1644 cm^{-1} además de las absorciones características de enlaces $\text{--C}_{\text{sp}^3}\text{H}$ de la cadena carbonada, mismas que coinciden con la estructura de la unidad repetitiva del biopolímero. La quitina se obtuvo como un sólido de color blanco en forma de láminas, insoluble en agua y en ácidos diluidos, soluble en ácido clorhídrico concentrado y con un peso molecular de $202,978 \pm 1,235\text{ g/mol}$. El polímero, se comporta como coagulante–floculante de sólidos suspendidos en agua, produciendo reducción en los niveles de turbidez. Con concentraciones experimentales entre 0,15–0,45 ppm de quitina, se observan descensos en la turbidez que de acuerdo a los correspondientes cálculos teóricos se encuentran entre 7,55–50,27 %; obteniéndose el valor máximo de 55,84 % en el descenso de turbidez con 0,37 ppm de quitina. Así, este biopolímero se comporta como coagulante–floculante y produce reducción en los niveles de turbidez, esta característica lo convierte en una alternativa válida para disminuir el uso de compuestos de probada toxicidad en el tratamiento de aguas superficiales para consumo humano.

ABSTRACT

Chitin was obtained from shrimp exoskeleton, with a yield of 27.5 %, identifying the average values for demineralization and deproteinization with a weight percentage of 97.80 ± 3.13 % and 32.18 ± 0.14 % respectively. The biopolymer obtained was characterized by infrared spectroscopy with the presence of link stretch bands --OH at 3386 cm^{-1} , --NH at 3124 cm^{-1} , --C = O at 1644 cm^{-1} in addition to the characteristic absorptions of bonds $\text{--C}_{\text{sp}^3}\text{H}$ of the carbon chain, which match the structure of the repeating unit of the biopolymer. Chitin was obtained as a white solid in the form of sheets, insoluble in water and diluted

acids, soluble in concentrated hydrochloric acid and with a molecular weight of 202.978 ± 1.235 g/mol. The polymer behaves as a coagulant-flocculant of solids suspended in water, producing a reduction of turbidity levels. In experimental concentrations between 0.15-0.45 ppm of chitin, decreases in turbidity are observed, which according to the corresponding theoretical calculations are between 7.55-50.27 %; obtaining the maximum value of 55.84 % in the decrease of turbidity with 0.37 ppm of chitin. Thus, this biopolymer behaves as coagulant-flocculant and produces reduction in turbidity levels; this characteristic makes it a valid alternative to reduce the use of compounds of proven toxicity in the treatment of surface waters for human consumption.

INTRODUCCIÓN

La industria camaronera de Ecuador procesa el camarón de tal manera que utiliza únicamente las colas para su exportación. La parte desechada es el cefalotórax. En promedio la composición del cefalotórax de camarón contiene quitina 27 %, proteína 40 %, carbonato de calcio 30 % y carotenos 3 %. Todos estos elementos son considerados materias primas renovables con un amplio potencial industrial, principalmente la quitina (Figura 1) que es el segundo polímero natural más abundante después de la celulosa y está formado por unidades de N-acetil-D-glucosamina (Restrepo & Guarín, 2004).

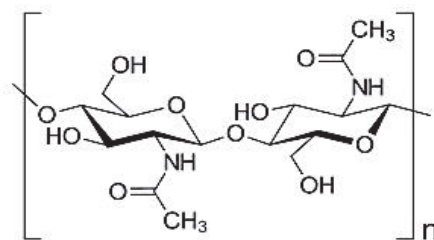


Figura 1. Unidades repetitivas de quitina

(Velásquez, 2003)

El proceso de obtención de quitina consiste en lograr la desmineralización-desproteínización del exoesqueleto de camarón, después de lo cual se obtiene una amida insoluble en agua y en ácidos diluidos (Wade, 2012).

La caracterización de la quitina se realiza mediante la determinación de su peso molecular medio y del contenido de nitrógeno; así como también mediante la identificación de las bandas de absorción de los grupos amido mediante espectroscopia infrarroja.

A partir de la quitina se pueden obtener derivados solubles en agua como: acetatos, cloruros y sulfatos, por tratamiento de ésta con ácidos (López, 2012), los mismos que podrían ser utilizados en procesos de potabilización de agua para consumo humano (Velásquez, 2003).

El peso molecular de la quitina está directamente relacionado con el tamaño del biopolímero, –aspecto que facilitará su sedimentación en agua– mientras que el contenido de nitrógeno se relaciona con la posibilidad de generar puntos catiónicos en la molécula, los cuales desestabilizan la carga superficial de los coloides.

El proceso central en el tratamiento de aguas crudas para consumo humano –en su mayoría aguas superficiales– consiste en la remoción de materiales de naturaleza coloidal

tales como arcilla, limo y lodos. La eliminación de los materiales remanentes se logra con la utilización de coagulantes, así como de coadyuvantes de floculación.

Tradicionalmente los productos que se han usado con mayor frecuencia son sales metálicas tales como sulfato de aluminio, cloruro férrico y sulfato ferroso.

La coagulación es el método que permite la remoción de partículas coloidales y suspendidas, durante el proceso de clarificación, además de que reduce la turbidez del agua, genera una reducción parcial de color, de la carga bacteriana (Matilainen et al., 2010) y de un cierto rango de virus (Kelderman & Kruis, 2001).

Actualmente, el coagulante más utilizado para tratamiento del agua superficial es el sulfato de aluminio multihidratado (Solis et al., 2012). Se utilizan diferentes concentraciones de la sal de aluminio que posibilitan la reducción rápida de la turbidez. La Organización Mundial de la Salud (OMS), recomienda el uso de sales de aluminio en función de las diferentes necesidades generadas por las

diversas calidades de agua cruda, especificándose para plantas pequeñas el uso de hasta 0,2 mg/L (Organización Mundial de la Salud, 2003). El uso de sales de aluminio, ha generado problemas que varían desde el alto costo de operación de las plantas –el costo del uso de aluminio varía entre el 55 % y 60 % del costo total del tratamiento– (Nieves & Ramón, 2014), hasta la presencia de residuos de aluminio en el agua tratada que representan riesgos para la salud del consumidor (Tostado, 2014).

En el agua, las partículas coloidales están cargadas negativamente, razón por la cual, para su remoción se procede a la adición de iones cargados positivamente como Al^{3+} con lo que se rompe la repulsión existente entre ellas. Una vez desestabilizadas las partículas comienzan a aglomerarse

hasta formar flóculos, que pueden sedimentarse fácilmente. Es en este momento cuando conviene agregar polímeros orgánicos, sintéticos o naturales, para fortalecer la formación de flóculos (Breemen, 2001). En esta etapa del proceso el uso de biopolímeros como la quitina es una opción conveniente, debido a su insolubilidad en agua (Mármol et al., 2011) y su capacidad de producir floculación.

De esta manera, es importante definir el rango de concentración de quitina que permita la mayor disminución de los niveles de turbidez, como consecuencia del aporte del biopolímero a la floculación; así como también definir la posibilidad de que la quitina sea utilizada en las dos etapas de eliminación de los sólidos: coagulación y floculación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tratamiento preliminar de la muestra

Se limpió manualmente el exoesqueleto de camarón retirando toda la materia orgánica adherida, se lavó con agua destilada tipo I. La muestra

fue escaldada por tres minutos y secada en una estufa de convección BINDER a 40 °C, hasta lograr consistencia frágil. El sólido seco se molió y tamizó en malla 20. Se extrajo la fase lipídica con una mezcla ace-

tona:agua (9:1) (v/v), hasta lograr la decoloración total.

Obtención de quitina

El sólido desengrasado se desmineralizó con agitación constante, a reflujo con ácido clorhídrico en una relación muestra: ácido 1:10 (p/v). Se analizaron los efectos de los factores: tiempo de calentamiento (t), temperatura (T) y concentración de ácido

clorhídrico (C), sobre la disminución de la concentración de calcio. Se utilizó un diseño experimental 2³, con réplica de diseño completo al 95 % de confianza. Los experimentos fueron aleatorizados en el programa JMP Analytical Discovery®. Los niveles de los factores de estudio se detallan en la Tabla 1. Para estimar los efectos de los factores sobre las variables respuesta se utilizó el algoritmo de Yates (Box et al., 2005)

Tabla 1. Niveles de los factores de estudio para desmineralización de exoesqueleto de camarón

Factores	Simbología	Niveles	
		-1	+1
Tiempo	t (min)	30	60
Temperatura	T (°C)	22	25
Concentración HCl	C (eq/L, Normalidad)	0,5	1,0

El análisis del contenido de calcio en las muestras desmineralizadas se realizó por absorción atómica en un espectrofotómetro PERKIN ELMER 100.

Utilizando igual metodología se definieron los efectos sobre el porcen-

taje de disminución de proteína en las muestras desmineralizadas. Los parámetros experimentales se definieron utilizando un diseño experimental 2² aleatorizado, al 95 % de confianza. Los niveles de los factores de estudio se detallan en la Tabla 2.

Tabla 2. Niveles de los factores de estudio para desproteínización del exoesqueleto de camarón

Factores	Simbología	Niveles	
		-1	+1
Tiempo	t (min)	60	120
Concentración NaOH	C (%)	3,5	4,0

La desproteínización se realizó a reflujo con hidróxido de sodio en una relación muestra:base 1:10 (p/v). El contenido de proteína remanente fue analizado mediante el método Kjeldahl. El sólido obtenido se neutralizó por lavados sucesivos con agua y se decoloró con peróxido de hidrógeno 0,1% (v/v). La quitina obtenida se caracterizó mediante: su solubilidad en agua y en ácido clorhídrico a diferentes concentraciones, el contenido de nitrógeno determinado en un equipo de análisis elemental cuantitativo VARIAN MICROCUBE, las bandas de absorción de infrarrojo obtenidas en un equipo FT-IR JASCO-4600 utilizando un ATR de Zn-Se, el peso molecular fue calculado a partir de mediciones de viscosidad intrínseca del polímero utilizando como solvente ácido clorhídrico 0,3 mol/L – cloruro de sodio 0,2 mol/L a una temperatura de 25 °C (Costa et al., 2015) utilizando un viscosímetro capilar.

Coagulación – Floculación de sólidos en agua.

A diferencia del tratamiento tradicional, se decidió probar directamente con diversas concentraciones de quitina como biopolímero coagulante y floculante, para luego contrastar los resultados obtenidos con los niveles de reducción de turbidez ocasionada con el uso de sulfato de aluminio, $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$. Se determinó la turbidez de una suspensión acuosa de 800 ppm preparada con zeolita comercial molida y tamizada en malla 100, la suspensión se dejó decantar por 12 horas y se utilizó el sobrenadante, con una turbidez de 54 NTU.

Las pruebas de jarras se realizaron en siete equipos de agitación magnética THERMO Scientific. Utilizando un volumen constante de agua preparada, se añadieron volúmenes variables de una solución de 200 ppm de

quitina en ácido clorhídrico MERCK grado analítico 6 % (v/v). Se agitó el agua con el biopolímero, por un minuto a 360 rpm y por 20 minutos a 60 rpm; se dejó en reposo por 30 minutos y se midió la turbidez de las muestras de agua tratadas en un turbidímetro HACH-2100Q. Se calculó

la disminución de turbidez del agua preparada, contrastada con el blanco constituido por el sobrenadante del agua preparada con una turbidez de 54 NTU. Igual metodología se utilizó para el tratamiento del agua, con sulfato de aluminio grado analítico ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ Fisher Scientific).

RESULTADOS

Obtención de quitina

La desmineralización se verificó mediante la disminución de calcio. El análisis del diseño experimental definió que a 22 °C, con un tiempo de reflujo de 30 minutos y utilizando HCl 1N, se obtiene el mayor porcentaje de desmineralización, con una disminución de calcio respecto del contenido original del exoesqueleto de camarón de 97,80 % (p/p).

En el caso de la desproteización, las variables analizadas, así como su interacción no tienen significancia

estadística; por tanto, se utilizaron los niveles más bajos de los factores 3,5 % (p/v) de NaOH y 60 min de reflujo, con una disminución del porcentaje de proteína de $(32,18 \pm 0,14 \%)$, respecto del contenido original.

La quitina se obtuvo como un sólido de color blanco en forma de láminas, insoluble en agua y en ácido clorhídrico diluido, soluble en ácido clorhídrico concentrado y con un peso molecular de $202,978 \pm 1,235$ g/mol. El espectro infrarrojo para la quitina obtenida experimentalmente, se presenta en la Figura 2.

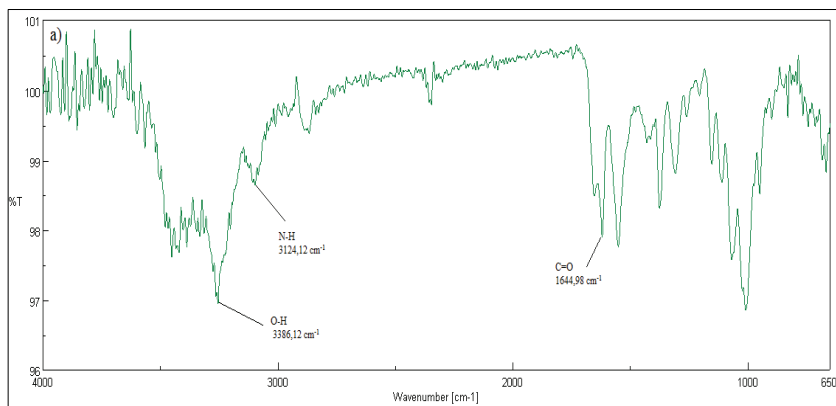


Figura 2. Espectro infrarrojo de quitina

Coagulación – Floculación de sólidos en agua.

Los resultados de las pruebas de jaras, se presentan en la Tabla 3, y están definidos como el cambio en la

turbidez contrastada con el blanco; considerando que en el blanco (descrito en la metodología), únicamente se producen efectos de sedimentación de sólidos debido a la gravedad y al proceso de agitación.

DISCUSIÓN

Con la aplicación de diseño experimental detallado y la selección de las condiciones experimentales, se obtuvieron valores promedio para desmineralización y desproteínización del exoesqueleto de camarón $97,80 \pm 3,13$ % (p/p) y $32,18 \pm 0,14$ % (p/p), respectivamente; con un porcentaje de rendimiento de quitina de 27,50 % (p/p); mayor que el que obtuvieron

Mármol et al (2011), que fue de 24,06 % (p/p).

El efecto diferencial en la coagulación -floculación de sólidos en el agua, se explica por el uso de productos de diferente naturaleza (uno de ellos el biopolímero), pero a la misma concentración. Los resultados obtenidos tanto para el sulfato de alu-

minio como para la quitina, se aprecian como el cambio de la turbidez (NTU), como se registra en la tercera y quinta columna de la Tabla 3. Se puede apreciar también como a una misma concentración se obtienen

cambios positivos o negativos según se trata de la aplicación de sulfato de aluminio o de quitina, como se registra para las determinaciones dos y tres en la Tabla 3.

Tabla 3. Cambios de turbidez de agua tratada con sulfato de aluminio y quitina

Determinación	Conc. $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ (ppm)	Cambio de turbidez (NTU)	Conc. Quitina (ppm)	Cambio de turbidez (NTU)
1	0,1755	1,00	0,1755	4,10
2	0,3510	-12,00	0,3510	27,50
3	0,5265	-18,00	0,5265	27,23
4	0,7020	2,00	0,7020	24,25
5	0,8775	13,00	0,8775	22,50
6	10,530	6,00	10,530	31,10

De acuerdo a su estructura química, la quitina presenta solubilidad en ácido clorhídrico concentrado debido a la presencia de nitrógenos amídicos en los cuales, la resonancia de los electrones libres del nitrógeno, con el oxígeno del grupo acetilo disminuye las características básicas de éste (Wade, 2012). El peso molecular obtenido para el biopolímero se calculó con la ecuación de Mark Houwink-Sakurada (Costa et al., 2015) y es menor que el reportado por otros autores (Cortizo & Cortizo, 2011), lo

cual se puede explicar por la variabilidad de las condiciones de obtención del biopolímero y el solvente utilizado en las determinaciones de viscosidad. El espectro infrarrojo de la Figura 2, define la presencia de bandas de estiramiento de los enlaces $-\text{OH}$ a 3386 cm^{-1} , $-\text{NH}$ a 3124 cm^{-1} , $-\text{C}=\text{O}$ a 1644 cm^{-1} además de las absorciones características de enlaces $-\text{C}_{\text{sp}^3}\text{H}$ de la cadena carbonada (Wade, 2012), que coinciden con la estructura de la unidad repetitiva del biopolímero (Figura 1) (Velás-

quez, 2003) y son comparables con las del espectro infrarrojo de quitina reportado por Ramirez et al (2016) donde las bandas de absorción se presentan a: --OH a 3436 cm^{-1} , NH a 3198 cm^{-1} , --C=O a 1661 cm^{-1} .

Se definió una metodología experimental en la que se estableció que, de acuerdo a los valores de los efectos, el porcentaje de disminución de calcio se ve afectado fundamentalmente por los cambios de concentración del ácido clorhídrico utilizado, teniendo un decremento del porcentaje de calcio de $-2,16$ unidades cuando la concentración de ácido cambia de -1 a $+1$ en la zona experimental. Las variables tiempo, temperatura y su interacción provocan efectos de incremento en el porcentaje de calcio. De acuerdo al planteamiento de Montgomery & Ruger (2002), estos resultados influyen directamente sobre la variable respuesta.

Los resultados para desproteinización indicaron que las variables tiempo (t) y concentración de hidróxido de sodio (C) no tienen significancia estadística en la zona experimental analizada, por lo que se seleccionaron para la implementación de la me-

todología los valores de concentración y tiempo más bajos.

La definición de la concentración de quitina óptima para la coagulación – floculación de sólidos en aguas de baja turbidez, debe definirse en función de la reducción elevada en la turbidez a bajas concentraciones de quitina, considerando la importancia económica que se deriva del uso de menor cantidad de biopolímero para producir este efecto. Por tanto, se utilizaron concentraciones de quitina entre $0,15 - 1,00$ ppm.

De acuerdo a la Figura 3, se puede establecer que los cambios de turbidez en función de la concentración de quitina en el agua analizada, tienen un comportamiento no lineal, debido a la baja correlación existente entre las variables ($R=0,650$). Se observa que a bajas concentraciones de quitina (entre $0,15 - 0,30$ ppm), se tiene un efecto brusco en la disminución de la turbidez del agua, el mismo que tiene un comportamiento cambiante a medida que crece la concentración de biopolímero, explicable debido a que a más altas concentraciones de biopolímero, la capacidad de coagulación es menor.

El punto mínimo de la curva que representa el valor más bajo para la tur-

bidez, se encuentra entre 0,30 – 0,45 ppm de quitina.

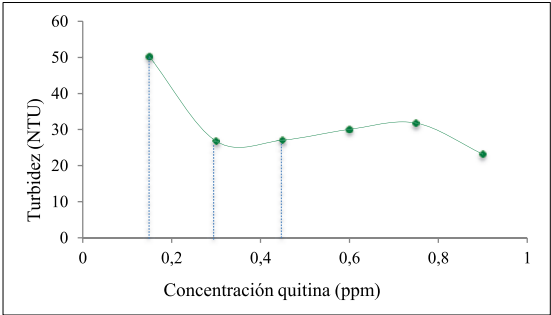


Figura 3. Turbidez del agua tratada con quitina a diferentes concentraciones

Para evidenciar el punto mínimo de la curva presentada en la Figura 3, se graficó la reducción de turbidez respecto del blanco vs la concentración de quitina entre 0,15 – 0,45 ppm, que se presenta en la Figura 4. Así, se obtiene una curva que se ajusta a una regresión polinomial de segundo gra-

do, con un coeficiente de correlación $R=1$, en la cual se puede observar que la máxima reducción en la turbidez se produce cuando se utiliza concentraciones de quitina entre 0,35 – 0,40 ppm, zona de los máximos de la curva (Figura 4).

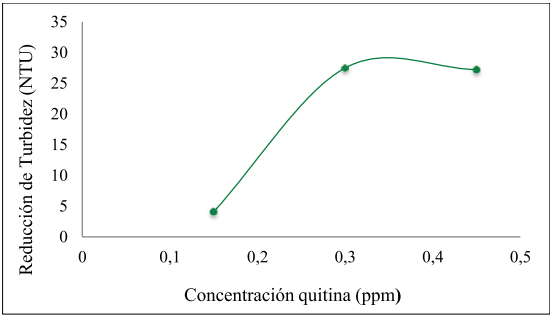


Figura 4. Reducción de turbidez del agua tratada con quitina a diferentes concentraciones

Este resultado es comparable con lo observado en la literatura técnica internacional disponible, la misma que registra que la dosis óptima, para tratamiento de agua para consumo humano con quitina, se ubica alrededor de los 40 ppm, y que los resultados obtenidos después del tratamiento con quitina a la dosis óptima mencionada reflejan valores de turbidez entre 0,39 y 0,69 NTU (Fuentes et al., 2018).

Por otro lado, a partir de los datos obtenidos en esta investigación, se pudo determinar mediante cálculo teórico, que cuando la concentración de quitina es 0,37 ppm, se alcanza la má-

xima reducción en la turbidez del agua analizada, hasta 30,32 NTU. Sin embargo, si se analiza el comportamiento del sulfato de aluminio (Figura 5) en el mismo rango de concentraciones que se estableció para quitina (Figura 3), se puede observar que en el rango entre 0,15–0,60 ppm, los valores en la reducción de la turbidez son negativos, notándose que la turbidez del agua se incrementa en este segmento de la curva; efecto contrario al observado para quitina. Solamente se tiene un efecto de reducción en la turbidez del agua cuando las concentraciones de sulfato de aluminio superan las 0,70 ppm.

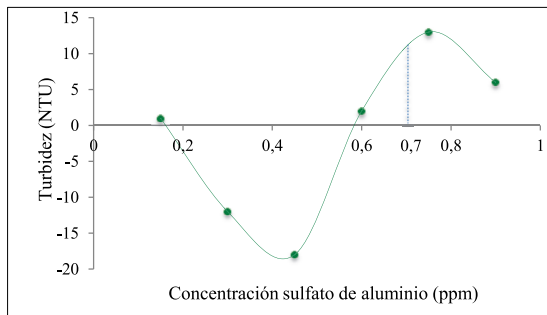


Figura 5. Turbidez del agua tratada con sulfato de aluminio a diferentes concentraciones

De esto se desprende que el ajuste polinomial de segundo grado para sulfato de aluminio en el rango de concentración (0,15 – 0,45 ppm) utilizado para quitina, no presenta utilidad en la disminución de la turbidez, ya que se tiene una curva con valores negativos. Sin embargo, conforme aumenta la concentración, esta gráfica se interpreta como una sucesión de incrementos progresivos de turbidez hasta alcanzar los valores que se encuentran cercanos al rango entre 0,4 – 0,5 ppm de quitina.

Además, el ajuste polinomial presenta una baja correlación ($R=0,930$).

Por otro lado, mientras que para quitina el rango de concentración donde se evidencia la mayor disminución de turbidez, se encuentra entre 0,15 – 0,45 ppm; con sulfato de aluminio para este mismo rango de concentración se obtiene una función negativa que representa el incremento de turbidez, como puede observarse en la Figura 6.

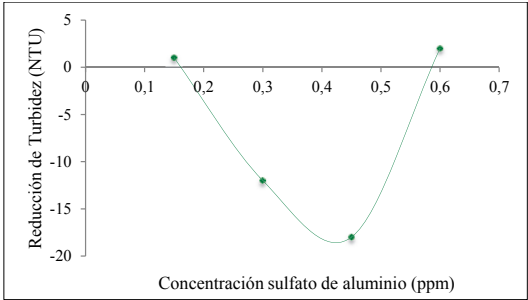


Figura 6. Reducción de turbidez del agua tratada con sulfato de aluminio a diferentes concentraciones

Con concentraciones experimentales entre 0,15 – 0,45 ppm de quitina, se observan descensos en la turbidez que de acuerdo a los cálculos teóri-

cos se encuentran entre 7,55 – 50,27 %; teniéndose el valor máximo de 55,84 % en el descenso de turbidez con 0,37 ppm de quitina.

Con sulfato de aluminio, se tiene el efecto de descenso de turbidez cuando su concentración supera las 0,70 ppm, es decir la concentración eficaz de sulfato de aluminio duplica las de quitina, para generar el mismo efecto de reducción de turbidez. En

el rango de 0,15 – 0,45 ppm la quitina alcanza la mayor disminución de turbidez, mientras que el sulfato de aluminio produce el efecto inverso es decir ocasiona el incremento de la turbidez.

CONCLUSIÓN

Se obtuvo quitina por decoloración, desmineralización y desproteinización del exoesqueleto de camarón. El biopolímero obtenido se comporta como coagulante–floculante de sólidos suspendidos en agua, produ-

ciendo reducción en los niveles de turbidez, característica que la convierte en una alternativa válida para disminuir el uso de compuestos de probada toxicidad en el tratamiento de agua para consumo humano.

LISTA DE REFERENCIAS

- Breemen, V. (2001). *Water Treatment Conventional an advance Treatmet Methods*. Holanda: International Institute for Infrastructural, Hidraulic and Environmental Engineering.
- Box, G., Hunter, J., & Hunter, W. (2005). *Statistics for experiments design, innovation and discovery*. New Jersey, USA: Wiley Interscience.
- Costa, C., Teixeira, V., Delpech, M., Souza, J., & Costa, M. (2015). *Viscometric study of chitosan solutions in acetic acid/sodium acetate and acetic acid/sodium chloride*. *Carbohydrate Polymers*, 245-250.

- Cortizo, M. S., & Cortizo, A. M. (2011). *Desarrollo y caracterización de matrices compuestas quitosano/polímero sintético para regeneración de tejido óseo*. Universidad de La Plata, Ciencias Biológicas. La Plata: Universidad de la Plata.
- Fuentes, L., Mendoza, I., Chávez, A., & Cedeño, O., (2018). Evaluación de quitina como coagulante para potabilización de aguas con alta turbidez. *Impacto Científico*, 12 (1)
- Kelderman, & Kruis. (2001). *Laboratory Course Aquatic Chemistry and its Applications in Enviromental Engineering*. Holland: Enviromental Engineering International Institute for Infrastructural Hydraulic and Enviromental Engineering.
- López, M. A. (2012). *Obtención y caracterización de quitosanos modificados: ingredientes funcionales con aplicaciones tecnológicas y biológicas en la industria alimentaria*. Tesis Doctoral, Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Madrid.
- Mármol, Z., Páez, G., Rincón, M., Araujo, K., Aiello, C. C., & Gutiérrez, C. (2011). Quitina y Quitosano polímeros amigables. Una revisión de sus aplicaciones. *Revista Tecnocientífica URu*, 53 - 57.
- Matilainen, A., Vepsäläinen, M., & Sillanpää, M. (2010). Eliminación de materia orgánica natural por coagulación durante el tratamiento de agua potable: una revisión. *Avances en coloides y ciencia de interfaz* , 159 (2).
- Montgomery, D., & Ruger, G. (2002). *Applied Statistics and Probability for Engineers*. The USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Nieves, T., & Ramón, J. (2014). *Análisis del costo de producción de agua potable y de agua por pérdidas no contabilizadas en las plantas de producción de Tomebamba y Machángara*. Tesis Maestría, Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca.
- Organización Mundial de la Salud. (2003). Aluminium in drinking water. *Guías de la OMS para la calidad del agua potable*. Ginebra.

- Ramirez, A., Benítez, J., Rojas de Astudillo, L., & Gascué, B. (2016). Polymers materials type hydrogels: Review of their characterization by FTIR, DSC, SEM and TEM. *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales*.
- Restrepo, A., & Guarín, S. (2004). *Valorización de residuos*. Universidad de Antioquia, Escuela de Ingeniería Ambiental, Envigado.
- Solis, R., Laines, J., & Hernandez, J. (2012). Mezclas con potencial coagulante para clarificar aguas superficiales. *Revista Interamericana de Contaminación Ambiental* (28), 229 -236.
- Tostado, E. (2014). *Neurotoxicidad de los metales pesados: plomo, mercurio y aluminio*. Tesis maestría, Universidad de Valladolid, Facultad de Medicina, Valladolid.
- Velásquez, C. L. (2003). Algunos usos del quitosano en sistemas acuosos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 94.
- Wade, L. (2012). *Química Orgánica* (Vol. 2). México, México: PEARSON.

USO ETNOBOTÁNICO Y PRINCIPIOS ACTIVOS DE *Monnina crassifolia* KUNTH; POLYGALACEAE

ETHNOBOTANICAL USE AND ACTIVE INGREDIENTS OF *Monnina crassifolia* KUNTH; POLYGALACEAE

Paúl Hidalgo¹, María López^{2*}, Moraima Mera², Luz Cañamar² &
Omar Malagón¹

Recibido: 28 de diciembre 2019 / Aceptado: 19 de junio 2020

Publicado en línea: 29 de junio 2020

DOI: 10.26807/ia.v8i2.128

Palabras clave: cromatografía, etnobotánica, metabolitos,
valor de importancia

Keywords: chromatography, ethnobotany, metabolites, importance value

RESUMEN

Ecuador es uno de los países con mayor diversidad biológica y cultural, la etnobotánica representa una aproximación al uso y manejo de los recursos naturales; los usos medicinales juntamente con el alimenticio juegan un papel

¹ Universidad Técnica Particular de Loja. Departamento de Química y Ciencias Exactas. Loja, Ecuador. (pahidalgo@utpl.edu.ec; omalagon@utpl.edu.ec)

² Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra. Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales. Ibarra, Ecuador. (*correspondencia: mflopez2@pucesi.edu.ec; mmera@pucesi.edu.ec; lcanamar@pucesi.edu.ec)

primordial en el bienestar de la población rural. Los estudios etnobotánicos ayudan a identificar, cómo se relacionan e influyen las plantas en el desarrollo de las culturas, tal es el caso de la Comunidad de Angochagua en donde se utiliza la medicina ancestral como un modo de vida. El objetivo de esta investigación fue conocer el índice de valor de uso, conocimiento relativo de la especie y el nivel de uso significativo de las especies botánicas en las comunidades de Angochagua, Provincia de Imbabura. Una vez establecida la especie más vulnerable en cuanto a la pérdida del uso ancestral *Monnina crassifolia* Kunth, se utilizaron técnicas cromatográficas para el aislamiento e identificación de los metabolitos secundarios teniendo como resultado una posible saponina triterpenoídica esterificada con ácido benzoico. Las sustancias aisladas fueron probadas frente a bacterias Gram + y Gram –, al igual que frente a los sistemas enzimáticos MAO-A y MAO-B sin mostrar una actividad biológica significativa.

ABSTRACT

Ecuador is one of the countries with the greatest biological and cultural diversity, ethnobotany represents an approach to the use and management of natural resources; medicinal uses together with food uses play a major role in the well-being of the rural population. Ethnobotanical studies help to identify how plants are related and influence the development of cultures; such is the case of the Angochagua Community where ancestral medicine is used as a way of life. The objective of this investigation was to know the index of use value, relative knowledge of the species and the level of significant use of botanical species in the communities of Angochagua, Imbabura Province. Once the most vulnerable species in terms of loss of ancestral use *Monnina crassifolia* Kunth was established, chromatographic techniques were used for the isolation and identification of secondary metabolites, resulting in a possible triterpenoid saponin esterified with benzoic acid. The isolated substances were tested against Gram + and Gram - bacteria, as well as against the MAO-A and MAO-B enzyme systems without showing significant biological activity.

INTRODUCCIÓN

El uso etnobotánico busca el conocimiento ancestral y el saber botánico tradicional, relacionado al uso de las especies vegetales, siendo un pilar fundamental en países en vía de desarrollo ya que les proporciona una alternativa en la asistencia médica.

Las plantas medicinales cumplen una función importante en el sistema de salud de comunidades indígenas, ya que son usadas de manera frecuente por la mayoría de sus pobladores, Ecuador posee una alta diversidad biológica y cultural por lo que se encuentra descrito como uno de los países con un gran potencial en el uso tradicional de las especies vegetales, ya que estas, proporcionan beneficios curativos en diferentes comunidades del país, tal es el caso de la Parroquia de Angochagua en la cual se mantienen rasgos ancestrales en el manejo y utilización de la medicina tradicional.

En Ecuador, la etnobotánica es una herramienta útil para el rescate y revalorización del conocimiento ancestral sobre el uso del recurso vegetal, además es el campo cientí-

fico que estudia las interacciones que se establecen entre el hombre y las plantas a través del tiempo. En Ecuador, los pocos estudios de plantas medicinales y etnobotánica se han desarrollado en la zona andina enumerando las plantas que conoce y usa la gente de las comunidades indígenas.

El uso de la medicina tradicional en el tratamiento de enfermedades, es una práctica que se ha llevado a cabo desde tiempos ancestrales y ha demostrado que es una de las mejores opciones beneficiando a las personas y comunidades que mantienen y conservan el uso de plantas medicinales, caso particular es el área de estudio la Parroquia de Angochagua donde se utiliza este recurso, manteniendo su valor y uso cultural.

La capacidad económica en las comunidades indígenas es reducida, siendo difícil acceder a los medicamentos modernos por lo que es más fácil utilizar la medicina tradicional mediante el uso de sustancias derivadas de las plantas medicinales.

El conocimiento ancestral de la medicina tradicional en el área rural de la Parroquia de Angochagua puede estar disminuyendo con el paso del tiempo, debido al salto generacional de su población y a la existencia de un menor interés o preocupación por parte de los jóvenes de mantener estos valores ancestrales, tal es el caso de la especie *Monnina crassifolia*, la cual ha sido utilizada para la limpieza capilar evitando la caída del cabello, canas y caspa, lamentablemente esta especie ha disminuido el uso en los jóvenes de la Parroquia de Angochagua.

El género *Monnina* pertenece a la familia Polygalaceae que comprende 21 géneros y alrededor de 800-1000 especies distribuidas en las regiones tropicales y subtropicales a nivel mundial (Eriksen & Persson, 2007). Existe una gran variedad de metabolitos secundarios presentes en la familia Polygalaceae. De acuerdo a investigaciones fitoquímicas realizadas, los productos químicos predominantes son las saponinas, xantonas y oligosacáridos esterificados (Lepore et al., 2011).

En la actualidad la especie *M crassifolia* no ha sido estudiada y no se han

encontrado reportes sobre metabolitos secundarios aislados a partir de esta especie, sin embargo se ha tomado como referencia el estudio de otras especies del mismo género, principalmente de *M sylvatica* en donde se ha comprobado la actividad antifúngica de bifenilos y xantonas en el extracto lipofílico de las raíces (Bashir, Hamburger, Gupta, Solis, & Hostettmann, 1992), además del género *M obtusifolia* su extracto de n-BuOH ha demostrado que sus hojas inhiben los factores de crecimiento endotelial vascular (VEGF –A) o la interacción con el factor de crecimiento placentario con Flt- 1 (VEGF receptor 1) (Lepore et al., 2011).

Por lo antes mencionado, el objetivo del presente estudio es establecer el estado actual del conocimiento ancestral en cuanto al uso de plantas medicinales en especial de la especie *Monnina crassifolia* en la Parroquia de Angochagua, Provincia de Imbabura, Ecuador, así como también aislar e identificar metabolitos secundarios por medio de técnicas cromatográficas y espectroscópicas, para contribuir con el estudio para la conservación y aprovechamiento de especies vegetales de interés medicinal en el Ecuador.

MATERIALES Y MÉTODOS

Trabajo de campo

Para el estudio etnobotánico, se llevaron a cabo conversaciones con habitantes de la comunidad rural para informarlos acerca de los objetivos del estudio.

Para la determinación del tamaño de la muestra de informantes se empleó la cartográfica temática del Instituto Geográfico Militar (IGM) a una escala 1:50000 con referencia a capas de delimitación y geo distribución de las viviendas dentro de la comunidad ubicando un total de 225 viviendas a visitar.

Para la selección de las viviendas a encuestar, se utilizó el método del centroide y distribución sistemática a través de la generación de una rejilla de 1000 m x 1000 m, donde se seleccionaron las cercanas a la intercepción de los ejes, sumando un total de 45 domicilios a muestrear que corresponde al 19,5 % dentro del área rural.

Se obtuvo una muestra representada por 22 hombres y 37 mujeres, con

conocimientos sobre plantas medicinales. El rango de edad de los informantes hombres fue de 15 a 85 años, mientras que las mujeres estuvieron en un rango de edad de 21 a 78 años. Se aplicaron entrevistas semiestructuradas en las que se indagó sobre las plantas empleadas para tratar alguna enfermedad, los usos medicinales tradicionales, métodos de preparación, vía de administración y partes de la planta. Además, se obtuvo información sobre aspectos socioculturales tales como la edad y sexo.

Se utilizó una prueba de Chi-cuadrado (χ^2) para determinar las diferencias significativas en la importancia de las partes de las plantas usadas por la comunidad (hojas, tallo, raíz, flor, fruto, cristal, corteza, planta completa), el tipo de preparación (infusión, emplasto, jugo, cocción, macerado, triturado), la vía de administración (bebida, comida, baños, uso externos), y el conocimiento de las especies por rangos de edad (rango I: entre 15 y 35 años, $n = 25$; rango II: entre 36 y 85 años, $n = 25$) y sexo de las personas entrevistadas.

Colecta de muestra botánica

Para la colecta, secado, deshidratado y almacenamiento de la muestra se utilizaron los protocolos del Herbario de la PUCE-SI:

- a) Recolección: Se realizaron tres colectas de corteza de raíz de *Monnina crassifolia* en la Comunidad de Angochagua, localizada coordenadas geográficas 0° 16' 47" de latitud Sur y 78° 02' 10".

La Comunidad de Angochagua posee una población total al 2015 de 3017 Habitantes, con una extensión de 12392 ha (123 km²), sus límites son al norte: Ibarra y La Esperanza, cantón Ibarra, provincia de Imbabura, al sur: parroquia Olmedo, cantón Cayambe, provincia de Pichincha. Al este: parroquia San Pablo del Lago y González Suárez, cantón Otavalo, provincia de Imbabura.



Figura 1. Mapa de Ubicación de la Comunidad de Angochagua.

(Sandoval, 2017)

- b) Secado: las muestras en el Herbario de la PUCE-SI se desinfectaron rociando alcohol potable al 96 %, luego se prensó la planta en papel periódico, papel filtro y tablas triplex. A continuación, se envolvió el paquete prensado en funda plástica para ingresar a cuarentena en el cuarto frío por un período de 48 horas a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- c) Deshidratado: Transcurrida la cuarentena se procedió a secar la planta por cuatro horas aproximadamente a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, tomando en cuenta que las hojas debían presentar una textura suave al terminar el secado. La humedad determinada en la planta fue de 78,37 %.

Una vez separada cada parte de la muestra se sometió al deshidratador de marca TERMOKOOL por 20 minutos.

- d) Almacenamiento: Finalmente se pulverizó la muestra vegetal en un triturador de marca RETSCHGM 200 durante un minuto a 4500 revoluciones por minuto, resultando un peso de 270 g.

Análisis de datos etnobotánicos.

La información etnobotánica proporcionada por los habitantes del área de estudio, fue organizada en una base de datos empleando una hoja de cálculo de Microsoft Office Excel 2018.

Los porcentajes y frecuencias de las citaciones de las plantas medicinales asociadas al conocimiento tradicional, fueron utilizados para el análisis etnobotánico. Se emplearon 3 índices para determinar la importancia de las diferentes especies identificadas en el área de estudio.

*** Índice de valor de uso de especies.**

Este índice expresa la importancia o valor cultural de una especie determinada para todos los informantes entrevistados. Para estimar el índice de valor de uso general de cada especie para todos los informantes (IVUs) se utilizó la fórmula:

$$IVUs = \frac{\sum iVUis}{Ns}$$

Donde: VUis= valor de uso de la especie por cada informante, y Ns es el número de informantes para cada especie.

* **Conocimiento relativo de la especie por varios encuestados (RVU).** Se utilizó la siguiente formula:

$$RVU = \frac{\sum \frac{VUis}{IVUs}}{Nsp}$$

Donde: VUis = valor de uso de la especie por cada informante, IVUs = es el índice de valor de uso de la especie, y Nsp = es el número de especies.

* **Nivel de uso significativo Tramil (UST).** Para estimar el nivel de uso significativo para cada especie y verificar su aceptación cultural, se utilizó la metodología propuesta por (Germosén, 1995).

Esta metodología, expresa que aquellos usos medicinales que son citados con una frecuencia superior o igual al 20 %, por las personas encuestadas que usan plantas como primer recurso para un determinado problema de salud, pueden considerarse significativos desde el punto de vista de su aceptación cultural y, por lo tanto, merecen su evaluación y validación científica. El UST se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$UST = \frac{Uso\ especie(s)}{Nis} \times 100$$

Donde: Uso especie (s) = número de citaciones para cada especie, y Nis = número de informantes encuestados.

Obtención de extractos

A partir de 250 g de la raíz de *Monnina crassifolia*, se procedió a macerar por triplicado con disolventes de polaridad creciente, iniciando con éter etílico durante 5 horas con 1000 mL de solvente, seguido de acetato de etilo, metanol y agua.

Posteriormente se filtró al vacío y se concentró el extracto por rotaevaporación a presión reducida. El extracto acuoso se concentró mediante el equipo de liofilización LABCONCO serie 77608.

Separación por partición del extracto metanólico

A partir de 5 g de extracto metanólico se efectuó la partición con n-butanol y agua destilada relación (1:1) efectuando tres lavados, que fueron concentrados en rotaevaporación a

presión reducida, obteniendo la fase de n-butanol 3,84 g mientras que la fase de agua un total de 1,2 g.

Fraccionamiento del extracto metanólico (fase butanólica)

Del extracto butanólico obtenido se efectuó el fraccionamiento por cromatografía en columna, en relación 1:100 tomando 3,84 g de extracto con 385 g de sílica gel 60 (Merck 0.0015-0040 mm). La fase móvil utilizada se preparó con disolventes en orden de polaridad creciente iniciando con acetato de etilo-metanol-agua 90:10:2,5, disminuyendo el acetato de etilo paulatinamente hasta llegar a 60:10:2,5 y finalmente metanol al 100 %, obteniendo un total de 391 fracciones de 8 mL.

Cromatografía en capa fina

Se realizó cromatografía en capa fina (TLC, por sus siglas en inglés) de todas las fracciones obtenidas de la columna cromatográfica, utilizando placas de sílica gel 60 F254 (fase directa). Los disolventes para la fase móvil fueron acetato de etilo-metanol-agua en relación 8:1:0,25 (v/v), para la unión de acuerdo a la separa-

ción y similitud de compuestos, la visualización se la realizó en luz UV 254 y 365 nm, y reveladas con ácido sulfúrico al 5 % y vainillina. Posteriormente se unieron las fracciones con igual factor de retención (Rf).

Purificación de la fracción MC028

La purificación de la fracción MC028 fue a partir de 111,8 mg, en columna cromatográfica con 11 g de sílica gel 60 (Merck 0,0015-0040 mm) en relación 1:100, utilizando como disolvente en relación acetato de etilo-metanol-agua 7:1,3:1.

Determinación de la actividad antimicrobiana (CMI) de las fracciones obtenidas

La determinación de la concentración mínima inhibitoria de las dos fracciones obtenidas se realizó por medio de la técnica de microdilución en caldo, utilizando cinco bacterias Gram-negativas: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella typhimurium* (LT2), *Proteus vulgaris* (ATCC 8427), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 8427), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 9997), y una bacteria Gram-positiva: *Staphylococcus aureus* (ATCC 28185).

Ensayo de inhibición de monoamina oxidasa (MAO) de las fracciones obtenidas

Las soluciones mitocondriales (MAO-A y MAO-B) se suspenden en PBS y DMSO a diferentes concentraciones, se dividen en pequeñas alícuotas y almacenan a una temperatura de -80 °C. Se trabajó con 1mg en las dos muestras a una solución de 10 mg/mL de DMSO.

El procedimiento para la medición de la actividad selectiva de MAO-A y MAO-B consiste en la adición de las siguientes soluciones:

Vehículo (DMSO + molécula) + Fracción mitocondrial (MAO-A y MAO-B) + Sustrato no selectivo (Kynuramine) + CLO (Inhibidor selectiva MAO-A) o DEP (Inhibidor selectivo MAO-B).

RESULTADOS

Inventario etnobotánico

En el área estudiada se obtuvo registros de un total de 75 especies de plantas medicinales identificadas hasta nivel de especie, distribuidas en 22 familias y 32 géneros.

Las familias con mayor número de especies medicinales en todo el estudio fueron Asteraceae, seguida por Lamiaceae, Apiaceae, Crassulaceae, Fabaceae, Poaceae y Rutaceae, finalmente la Poligalaceae.

En cuanto a la forma de obtención del recurso vegetal la mayoría de encuestados (92 %) acceden a las plan-

tas medicinales mediante cultivos en huertos caseros, y el resto de entrevistados acceden a estas a través de la compra en mercados locales.

Plantas utilizadas para la medicina

Después del análisis de las encuestas realizadas en la comunidad de Angochagua se evidenció que las hojas son las estructuras más utilizadas en la preparación de la medicina, representando el 80,7 % del total de menciones, seguido por la utilización del tallo (11,0 %), la raíz (4,0 %), toda la planta (2,7 %), flores, cristales, corteza y fruto (1,6 % cada uno). La prueba de χ^2 muestra que existen di-

ferencias significativas en la importancia de las partes usadas por la comunidad ($X^2_{cal} = 350,5$, $X^2_{th} = 13,07$, $gl = 7$, $p < 0,001$).

Clasificación de formas de crecimiento vegetal

Se pudo evidenciar que del total de plantas medicinales mencionadas ($n = 75$), las hierbas representas por 48 especies (64 %), mientras que los árboles, arbustos, y epífitos están representados por 14 (18,66 %), 8 (10,66 %) y 5 (6,66 %) especies respectivamente.

Vía de administración más empleada

La vía de administración más empleada es la bebida con un 79,0 %, seguida del uso externo con un 10,3 %, la comida con 8,0 % y el baño con 2,7 %.

El análisis de la prueba de χ^2 muestra que existen diferencias significativas en las vías de administración de las plantas medicinales por la comunidad ($X^2_{cal} = 160,80$, $X^2_{th} = 6,90$, $gl = 2,9$, $p < 0,001$).

Conocimiento de las especies de acuerdo al sexo y rango de edad de los informantes

En relación con la información recopilada de acuerdo al sexo de las personas de la comunidad encuestadas se registró un total de 64 especies mencionadas por las mujeres y 60 especies por los hombres. La prueba de χ^2 muestra que no existen diferencias significativas en el conocimiento de hombre y mujeres en el número de plantas de uso medicinales conocidas ($X^2_{cal} = 0,001$, $X^2_{th} = 2,74$, $gl = 1$, $p = 1,0$).

Por rangos de edad se encontró que las personas más jóvenes (rango 1) conocen 22 especies de uso medicinal, una menor cantidad que las personas de mayor edad (rango 2) que conocen 53 especies. La prueba de χ^2 muestra que no existen diferencias significativas en el conocimiento entre los dos rangos de edad en el número de plantas de uso medicinales conocidas ($X^2_{cal} = 0,373$, $X^2_{th} = 3,84$, $gl = 1$, $p = 0,541$).

Preparación, vía de administración y categorías de uso de las plantas medicinales

Las formas de preparación para el uso de las plantas medicinales en la comunidad de Angochagua son variadas, la mayoría de las preparaciones son realizadas en forma de infusión (80,5 %), seguido del triturado con un porcentaje de (11,0 %) y en forma de emplasto, jugo, cocción y macerado con un porcentaje de 9,3 % cada una (Figura 3).

La prueba de χ^2 muestra que existen diferencias significativas en las formas de preparación de las plantas medicinales por la comunidad ($X^2_{cal} = 2898,15$, $X^2_{th} = 10,08$, $gl = 4$, $p < 0,001$). En relación con la información recopilada las personas de la comunidad de Angochagua utilizan principalmente plantas frescas en el momento del preparado.

Conocimiento relativo de las especies por los informantes

El índice de conocimiento relativo de las especies por varios encuestados (RVU, por sus siglas en inglés) y el nivel de uso significativo (UST, por

sus siglas en inglés) permitieron identificar la importancia de cada una de las 75 especies de plantas medicinales reportadas para esta investigación.

Las especies más importantes para los pobladores de la Comunidad de Angochagua de acuerdo a los índices antes mencionados fueron: la hierba luisa (*Cymbopogon citratus*; RVU: 0.65; UST: 53 %), el orégano (*Origanum vulgare*; RVU:0,60; UST: 50 %), la hierba buena (*Mentha sativa*; RVU: 0.56; UST: 48 %), la menta (*Mentha rotundifolia*; RVU:0,45; UST: 38 %), el toronjil (*Melissa officinalis*; RVU: 0,30; UST: 32 %).

Entre las especies importantes en conocimientos ancestrales y que han perdido su uso tradicional se tiene al Ivilán (*Monnina crassifolia*; RVU: 0,15; UST: 10 %), siendo esta la especie a estudiar en cuanto a sus principios activos para revalorizar su conocimiento ancestral.

Descripción morfológica y taxonómica de la *Monnina crassifolia*

La familia Polygalaceae es utilizada en la medicina herbal, como expec-

torante estimulante, diurético y diaforético. Debido a un alto contenido de saponinas y propiedades antifúngicas, varias especies de *Monnina* a menudo se han utilizado como champú anticaspa en América tropical (Eriksen & Persson, 2007). Como ejemplo, la especie africana *Securidaca longepedunculata*, perteneciente a la familia Polygalaceae, tiene hasta 100 propiedades médicas, destacando principalmente la inhibición selectiva de la replicación del VIH (Mahmood et al., 1993).

El género *Monnina* perteneciente a la subfamilia Polygaleae fue bautizado por los botánicos españoles Ruiz y Pavón sobre un grupo de plantas de Perú y Chile (Ruiz, López, & Pavón, 1798). Para la descripción del género *Monnina* se tomó como referencia a especies descritas por la revista del Instituto Botánico Darwinion en Argentina, detallando al género como plantas con hojas simples, alternas, brevemente pecioladas. Inflorescencia en racimo simple, espiciforme. Flores pequeñas, blanco-amarillentas, o rosado-verdosas, con cinco sépalos de prefloración quincuncial, dos externos, uno interno y dos laterales. Fruto una sámara 1-2 semi-

nada, generalmente reticulada, a lada o sin alas, glabra o pubescente. Raíz generalmente perpendicular, ramificada y cilíndrica de color castaño oscuro o claro, marrón oscura y amarillo. Semillas piriformes, comprimidas o no, con tegumento tenue y delgado rostro en el ápice (Grondona, 1945).

Este género es únicamente americano y se extiende desde el Sur de Estados Unidos hasta el centro de Chile y la Plata. En el Ecuador el género *Monnina* tiene especies arbustivas que comprende unas 150 especies. Se encuentran unas 32 variedades, mejor representadas en la zona andina; sobre los 2400 m se han registrado 24 especies arbustivas.

Existe una gran variedad de usos en el género, dentro del cual cabe recalcar la especie *Monnina obtusifolia*, la cual se utiliza en la medicina tradicional de Ecuador como un antifúngico, antitumoral, antiséptico, anti-periodontitis y limpiador de piel (Pinto, Fuzzati, Chiriboga, & Hostettmann, 1994).

Monnina crassifolia es un arbusto que mide hasta 1,5 m de alto. Las hojas son alternas, lanceoladas, miden

hasta 6 cm de largo, siendo gruesas. La inflorescencia tiene numerosas flores, miden hasta 6 cm de largo, tienen la forma de mariposa, de color azul o azul-morado, uno de los pétalos llamado “quilla” tiene la punta amarilla. Los frutos son carnosos, con forma de elipse o de fréjol, miden hasta 8 mm de largo, de color vino morado y verde en la base cuando están inmaduros, de color negro-morado cuando están maduros (Eriksen, 1993).

Tiene uso medicinal como antibacteriano al utilizarse como jabón y medioambiental debido a que la planta se usa como cerca viva o para hacer leña.

Principios activos de *Monnina crassifolia*

Luego de realizar un screening fitoquímico de la muestra en estudio

(corteza de la raíz del Ivilán), se obtuvieron resultados positivos para saponinas, triterpenos y aceites fijos. Los resultados negativos fueron para: Alcaloides, taninos, flavonoides, esteroides y aceites esenciales.

Tabla 1. Screening fitoquímico

Alcaloides	Negativo
Saponinas	Positivo
Taninos	Negativo
Flavonoides	Negativo
Triterpenos	Positivo
Esteroides	Negativo
Aceites Fijos	Positivo
Aceites esenciales	Negativo

El estudio de interés por la aplicación ancestral de la raíz de Ivilán, se centró en el contenido de Saponinas, por lo que se realizó una prueba semicuantitativa de su contenido.

Tabla 2. Determinación semi-cuantitativa del contenido de saponinas en la corteza de raíz de Ivilán

Muestra	Corresponde	Masa (g)	Altura (cm)	Concentración de Saponinas (%)
M1R1	Colecta 1	0,5034	3,5	0,4
M1R2	Colecta 1	0,5033	4,0	0,5
M2R1	Colecta 2	0,4983	6,7	0,6
M2R2	Colecta 2	0,4964	6,7	0,8

De las muestras analizadas la concentración media fue del 0,6 % aproximadamente

Extractos obtenidos de la especie *Monnina crassifolia*

En la Tabla 3 se describen los pesos y rendimientos obtenidos del extracto de la raíz con los solventes éter etílico, acetato de etilo, metanol y agua.

Tabla 3. Rendimiento de los extractos.

Extracto	Peso inicial planta seca (g)	Peso final (g)	Rendimiento (%)
Éter etílico	250	0,663	0,27
Acetato de etilo		2,328	0,94
Metanol		30,167	12,07
Agua		3,181	1,27

Fuente: (Hidalgo, 2017)

Mediante TLC en fase directa de los extractos obtenidos, representados en la Figura 2, se observó la abundancia de los diferentes compuestos presentes en la especie.

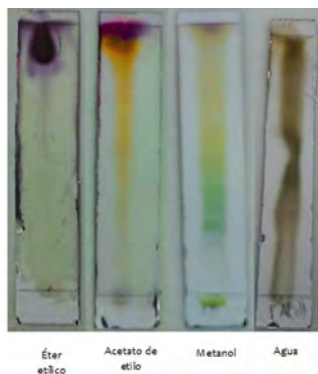


Figura 2. TLC de los diferentes compuestos presentes en la especie.
(Hidalgo, 2017)

Fraccionamiento del extracto de metanol

Se fraccionaron 3,84 g del extracto metanólico obteniéndose 392 mues-

tras, las cuales se unificaron según criterios del factor de retención (R_f) en TLC dando un total de 30 fracciones (MC001-MC030) descritas en la Tabla 4.

Tabla 4. Fraccionamiento cromatográfico del extracto total de metanol.

Fracciones	Muestras	Proporción	Mezcla de disolvente	Peso (mg)
MC001	0			8,3
MC002	1 a 5			5,8
MC003	6 a 13			40,80
MC004	16 a 22			41,40
MC005	23 a 40			59,10
MC006	41 a 58		AcOEt-	386,10
MC007	59 a 66	9:1:0,25	MeOH-	25,40
MC008	67 a 75		H ₂ O	33,10
MC009	76 a 84			34,10
MC010	85 a 89			26,40
MC011	90 a 99			63,70
MC012	100,00			5,90
MC013	101 a 106			35,80
MC014	107 a 128		AcOEt-	116,00
MC015	129 a 136	8:1:0,25	MeOH-	27,70
MC016	137 a 164		H ₂ O	90,30
MC017	165 a 181			48,20
MC018	182 a 213		AcOEt-	84,3
MC019	214 a 229	7:1:0,25	MeOH-	12,30
MC020	230 a 256		H ₂ O	18,00
MC021	257 a 264			44,40
MC022	265 a 276			10,50
MC023	277 a 284			18,4
MC024	285 a 328		AcOEt-	10,9
MC025	329 a 337		MeOH-	80,5
MC026	338 a 363	6:1:0,25	H ₂ O	8,5
MC027	364 a 372			16,5
MC028	373 a 379			111,8
MC029	380 a 391			24,6
MC030	392	1	MeOH	69,8

Fuente: (Hidalgo, 2017)

La cromatografía en capa fina (TLC) se realizó utilizando como fase móvil la mezcla acetato de etilo-metanol-agua 8:1:1, observándose la riqueza

de metabolitos secundarios de las 30 fracciones obtenidas (Figuras 3 y 4), para su posterior purificación.

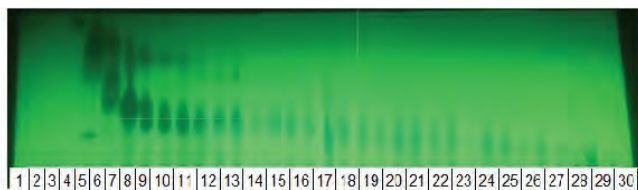


Figura 3. TLC luz UV 254 nm

(Hidalgo, 2017)

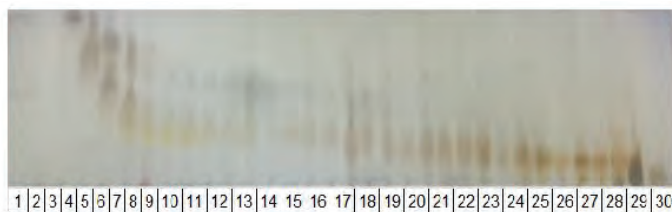


Figura 4. TLC revelada en relación 8:1:0,25 acetato de etilo-metanol-agua

(Hidalgo, 2017)

Fracción MC028

Por medio de una microcolumna cromatográfica se efectuó la purificación de la fracción MC028 (111,8 mg) en 11 g de sílica gel en relación acetato de etilo-metanol-agua 7:1,3:1.

Del fraccionamiento se obtuvieron 49 muestras que luego se unieron de acuerdo al perfil TLC y R_f dando un total de 8 fracciones descritas a continuación:

Tabla 5. Separación cromatográfica de la fracción MC028

Fracciones	Muestras	Proporción	Mezcla de disolvente	Peso (mg)
F28-1	0-6			1,7
F28-2	7			1,4
F28-3	8			5,6
F28-4	9-10	7:1,3:1	AcOEt-	15
F28-5	11		MeOH-	5,2
F28-6	12-13		H ₂ O	6,4
F28-7	14-48			14,2
F28-8	49			6,3

Fuente: (Hidalgo, 2017)

Cromatografía preparativa de la fracción F28-4

A través de TLC preparativa fase reversa (RP-18), utilizando una placa con una dimensión de 20X10 cm, se realizó la siembra de la muestra F28-4 de 15 mg, siendo la fase móvil metanol: agua 9:1. El revelado se realizó con la ayuda de la luz UV 254 nm y 360 nm, observando una mancha de color azul oscuro y un color morado (Figura 5 y 6), las cuales fueron raspadas y recuperado el metabolito adsorbido.



Figura 5. TLC luz UV 254 nm
(Hidalgo, 2017)

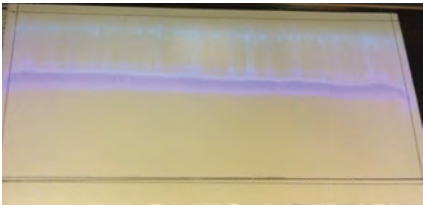


Figura 6. TLC luz UV 365 nm
(Hidalgo, 2017)

Se obtuvieron dos fracciones (MC028-03 y MC028-04) con peso de 3,8 mg y 2,4 mg, se procedió a realizar TLC fase directa en relación 7:1,3;1 acetato de etilo-metanol-agua, en sílica gel de 9 cm de longitud.

Observando en la luz UV de 365 nm un color azul brillante, que luego al revelarla con ácido sulfúrico al 5 % y vainillina, se observó un color amarillo intenso, presentando Rf de 0,38 y 0,35.

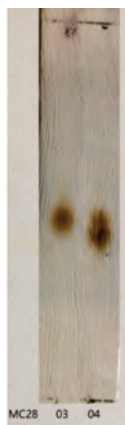


Figura 7. TLC revelada MC028-03 y MC028-04

(Hidalgo, 2017)

Posteriormente se realizó el análisis por elucidación química de las fracciones MC028-03 y MC028-04 en

RMN en un equipo Varian N° de serie 21953 operando a 400 MHz para ^1H y 100 MHz para ^{13}C . Usando como disolvente metanol deuterado (CD_3OD).

Resonancia Magnética Nuclear de las fracciones obtenidas.

Mediante microcolumna con polaridad acetato de etilo-metanol-agua (7:1,3:1) de la fracción 373 a 379 se obtuvieron 15 mg, por medio de TLC preparativa fase reversa, se obtuvieron dos fracciones de peso 3,8 mg y 2,4 mg, con un color blanco, y solubles en metanol.

Los espectros de ^1H y ^{13}C de la fracción MC028-03 tienen similitud con la fracción MC028-04, considerándose que la fracción MC028-04 está compuesta por una fracción de la sustancia presente en MC028-03 y otra sustancia desconocida. Por tal motivo, en el presente trabajo se analizó únicamente el espectro de ^1H y ^{13}C de la fracción MC028-03, que asemeja una fracción más pura.

Por tanto, se establece la presencia de un benzoato (Figura 8), en la estructura molecular de la fracción MC028-03.

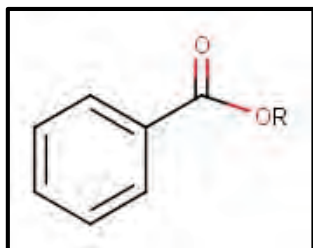


Figura 8. Estructura molecular del Benzoato

Se realizó una interpretación del espectro obtenido de las fracciones MC028-03 por RMN en un equipo Varian N° de serie 21953 operando a 100 MHz para ^{13}C disuelta en metanol deuterado (CD_3OD), identificando lo siguiente:

De acuerdo al análisis del espectro obtenido de ^{13}C , se observan picos con valores altos correspondientes a la estructura carbonílica del benzoato y acetato en 175 y 172 ppm, así mismo la presencia de un grupo carbonilo en 216,18, que se ubica presumiblemente en el carbono 3 de un triterpeno

Al observar el espectro en un rango de 129,6 a 130,8, se aprecian los picos correspondientes a 4 de los carbonos aromáticos, que se identifican con los carbonos de la unidad de ácido benzoico. En el resto de la fracción estudiada se observan la posible

presencia de los carbonos olefínicos y los carbonos aromáticos restantes. A campos entre 35 y 108 se pueden observar los carbonos que presumiblemente pertenecen al esqueleto triterpénico y a los azúcares, incluidos los anoméricos a campos más bajos.

Finalmente, a campos altos (15 – 30 ppm) se encuentran los picos de los radicales metilo pertenecientes a una posible estructura terpénica. La pequeña cantidad de sustancia obtenida no permitió realizar estudios espectrales más profundos.

Ensayo para la determinación de la actividad antimicrobiana de las fracciones MC028-03 y MC028-04

Se emplearon las cinco bacterias Gram-negativas: *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, y una bacteria Gram-positiva: *Staphylococcus aureus*. Tomando como referencia el peso de las fracciones se trabajó con una disolución 10 veces la proporción con Dimetilsulfóxido (DMSO), 1mg/100uL DMSO, siendo la más alta en el ensayo de 250 ug/mL, obteniendo los resultados mostrados en la Tabla 6.

Tabla 6. Concentración mínima inhibitoria (CMI) de las fracciones F1 y F2

Bacterias Gram - y Gram +	CMI de las fracciones obtenidas	
ATB (Ec. S.t y S.a 3,906 µg/mL; P.v y P.a 15,625 µg/mL; K.p 1,953 µg/mL)	F1	F2
<i>Escherichia coli</i> (Ec.)	NA	NA
<i>Salmonella typhimurium</i> (S.t)	NA	NA
<i>Proteus vulgaris</i> (P.v)	NA	NA
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (P.a)	NA	NA
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (K.p)	NA	NA
<i>Staphylococcus aureus</i> (S.a)	NA	NA

(NA): No activo, a la dosis más alta probada

Fuente: (Hidalgo, 2017)

Ensayo para la determinación de la actividad de inhibición de monoamina oxidasa (MAO) en las fracciones MC028-03 y MC028-04.

Los compuestos ensayados fueron las fracciones MC028-03 y MC028-04 en una solución de DMSO de 10 mg/mL, obteniendo los resultados mostrados en la Tabla 7.

Tabla 7. Concentraciones inhibitoras de MAO-A y MAO-B

Endpoint 316-357, 0-177.5min, 50ug/ml	Promedio	Forma estándar	% actividad residual MAO-B	% actividad residual MAO-A
DMSO vs MAO-A 0% - MAO-B 0% (+CLO+DEP)	1 %	0 %	0	0
DMSO vs MAO-A+B	100 %	3 %	100	100
DMSO vs MAO-B (+CLO 500nM)	54 %	2 %	100	0
DMSO vs MAO-A (+DEP 1000nM)	42 %	1 %	0	100
MC28-03 vs MAO-A+B	97 %	3 %		
MC28-03 vs MAO-B	50 %	1 %	93	
MC28-03 vs MAO-A	39 %	1 %		93
MC28-04 vs MAO-A+B	97 %	3 %		
MC28-04 vs MAO-B	49 %	1 %	90	
MC28-04 vs MAO-A	38 %	1 %		89

Fuente: (Hidalgo, 2017)

El ensayo demostró que no hay inhibición sobre MAO-A y MAO-B de las

fracciones obtenidas MC28-03 y MC28-04.

DISCUSIÓN

Las plantas han sido la base de los sistemas de medicina tradicional que han existido desde hace miles de años. Incluso en los tiempos modernos, los sistemas basados en plantas siguen desempeñando un papel esencial en el cuidado de la salud (Chivian, 2002).

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), el 11 % de fármacos básicos y esenciales son exclusivamente de origen vegetal obtenidos a partir de precursores naturales (Rates, 2001).

Según la misma organización, alrededor del 65-80 % de la población mundial en los países en desarrollo, debido a la pobreza y la falta de acceso a la medicina moderna, depende esencialmente de las plantas para su atención primaria de salud. Sin embargo, algunas plantas han sido estudiadas científicamente para la evaluación de su calidad, seguridad y eficacia (Calixto, 2005).

América Latina, ofrece una gran diversidad de plantas y cultivos estacionales únicos debido principalmente a la presencia de áreas naturales como la cordillera de los Andes, la selva amazónica y los bosques tropicales y subtropicales de América Central. Varios informes científicos han señalado el potencial terapéutico de ciertas plantas y alimentos de esta área (Ranilla, Kwon, Apostolidis, & Shetty, 2010).

La Comunidad de Angochagua es una de las comunidades que guarda sus conocimientos ancestrales en la Sierra Norte del Ecuador teniendo como resultado un total de 75 especies de plantas medicinales reportadas como el índice de conocimiento relativo de las especies por varios encuestados (RVU) y el nivel de uso significativo (UST) permitieron identificar la importancia de cada una de las en esta investigación.

Entre las especies importantes en conocimientos ancestrales y que han perdido su uso tradicional se tiene al

Ivilán (*Monnina crassifolia*; RVU:0,15; UST: 10 %), siendo esta la especie a estudiar en cuanto a sus principios activos para revalorizar su conocimiento ancestral.

La producción de estos compuestos a menudo es baja (menos de 1 % de peso seco) y depende mucho del estado fisiológico y de desarrollo de la planta (Rao & Ravishankar, 2002). El aislamiento dirigido a los principios activos de la planta se continúa realizando en muchas áreas académicas, gubernamentales, y laboratorios. A partir de extractos que presentan una actividad biológica particular de interés se purifican estos principios por cromatografía, guiados por evaluación periódica con uno o más sistemas de bioensayo, lo que resulta en el eventual aislamiento de uno o más constituyentes biológicamente activos (Kinghorn, 1992).

La elucidación estructural realizada sobre la fracción MC28-03 permite comparar los reportes obtenidos sobre saponinas triterpénicas citotóxicas en las raíces de *Symplocos chinensis*, donde se ha obtenido un compuesto denominado *symplocoside K*, 3 β -O- [(β -D-glucopyranosyl (1–2))[(α -L- arabinofuranosyl)(1–4)]-

β -O-[(3-O-acetyl-6-methyl)-glucuronopyranosyl] -21 β -O-[(2Z)3,7-dimethyl-2,6-octadienoyl]-22 α -O-benzoyl]-R1-barrigenol, Figura 9, este tipo de estructuras se caracterizan por la presencia de siete grupos metilos terciarios entre δ 0,90 y 1,51 ppm, y un doble enlace típicas por ^{13}C en RMN a δ 125,8 y 142,9 ppm, revelando olean-12-ene - triterpeno (Olugbade, Ogundaini, Birlirakis, País, & Martin, 2000), la parte azucarada corresponde a tres tipos: ácido glucurónico, glucosa y arabinosa, presentes como tres protones anoméricos en δ 4,89, 5,10 y 5,88 y con la relación de ^{13}C -RMN en δ 110,6, 104,9 y 104,8. Finalmente, la unión de la unidad de benzoilo en C-22 de la aglicona que se representa entre el protón de δ 6,53 y el espectro de ^{13}C -RMN en δ en 166,9 (Cioffi et al., 2006; Fu, Wang, Gao, Tang, & Yu, 2005).

Sin embargo, por la poca cantidad obtenida no se puede efectuar un análisis completo de RMN tanto en ^1H , ^{13}C , DEPT, COSY, HMBC y HSQC, que permita una identificación absoluta de la estructura molecular de mezcla MC028-03.

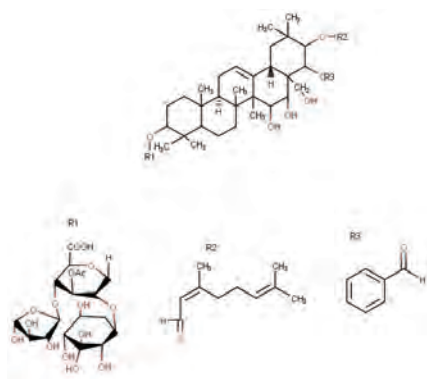


Figura 9. Estructura symlocoside K.
(Fu et al., 2005)

Dentro de la actividad biológica de algunas saponinas triterpénicas, se ha demostrado que presentan actividad

citotóxica principalmente para tres líneas celulares tumorales, que comprenden J774.A1 (Monocíticas / macrófagos murinos), HEK - 293 (Células epiteliales humanas de riñón) y WEHI 164 (Células de fibrosarcoma murino) (Cioffi et al., 2006), además se le atribuye actividades antialérgicas, antibacterianas, anti-inflamatorias y anti-hepatotóxicas (Lu et al., 2000). En el caso en estudio la sustancia MC28-03 no mostró actividad antibacteriana ni inhibitoria de la MAO-A y MAO-B, lo cual no implica que pueda contar con otro tipo de actividad biológica.

CONCLUSIÓN

En la Comunidad de Angochagua, el índice de diversidad de cultivos tiene un valor 2,4 siendo un valor alto comparado con otras zonas del planeta que oscila entre 1,5 y 2,0.

En relación con la información recopilada, de acuerdo con el sexo de las personas de la comunidad encuestadas se muestra que no existen diferencias significativas en el conocimiento de hombre y mujeres en el número de plantas de uso medicinal conocidas ($X^2_{cal} = 0,001$, $X^2_{th} = 2,74$, $gl = 1$, $p=1,0$).

Monnina crassifolia es la especie que más ha perdido el uso tradicional teniendo como resultado RVU: 0,15; UST: 10 %, siendo esta la especie a estudiar en cuanto a sus principios activos para revalorizar su conocimiento ancestral.

Se obtuvieron extractos en orden de polaridad ascendente de la raíz de la especie *Monnina crassifolia*. Los extractos obtenidos revelan la existencia de compuestos sobre todo de media y alta polaridad.

A partir del extracto metanólico, por medio de cromatografía TLC preparativa fase reversa, se obtuvieron dos fracciones de peso 3,8 mg y 2,4 mg, identificando por medio de los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C , que corresponden presumiblemente a una saponina triterpénica, con una fracción benzoato y otro acetato.

Los ensayos de actividad biológica (antibacterianos y de inhibición enzimática de MAO-A y MAO-B) en las fracciones MC028-03 y MC028-04, proporcionaron resultados negativos.

LISTA DE REFERENCIAS

- Bashir, A., Hamburger, M., Gupta, M. P., Solis, P., & Hostettmann, K. (1992). Biphenyls and a xanthone from *Monnina sylvatica*. *Phytochemistry*, 31(9), 3203-3205.
- Calixto, J. B. (2005). Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal view. *Journal of ethnopharmacology*, 100(1), 131-134.
- Cioffi, G., Dal Piaz, F., De Caprariis, P., Sanogo, R., Marzocco, S., Autore, G., & De Tommasi, N. (2006). Antiproliferative Triterpene Saponins from *Entada africana*. *Journal of Natural Products*, 69(9), 1323-1329.
- Chivian, E. (2002). Biodiversity: its importance to human health. Center for Health and the Global Environment, Harvard Medical School, Cambridge, MA.
- Eriksen, B. (1993c). A revision of *Monnina* subg. *Pterocarya* (Polygalaceae) in northwestern South America. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 191-207.

- Eriksen, B., & Persson, C. (2007). Polygalaceae. Flowering Plants. Eudicots, 345-363.
- Fu, G.-M., Wang, Y.-H., Gao, S., Tang, M.-J., & Yu, S.-S. (2005). Five new cytotoxic triterpenoid saponins from the roots of *Symplocos chinensis*. *Planta medica*, 71(07), 666-672.
- Grondona, E. M. (1945). Las especies argentinas del género *Monnina* (Polygalaceae). *Darwiniana*, 7(1), 1-37.
- Germosén-Robineau L. (1995) Hacia una farmacopea vegetal caribeña. Edición TRAMIL 7. Enda - Caribe, UAG & Universidad de Antioquia. Santo Domingo; (4-5)
- Hidalgo, P. (2017), Aislamiento e identificación de metabolitos secundarios a partir de la raíz de la especie *Monnina crassifolia* (Ivilán) (tesis de pregrado). Universidad Técnica Particular de Loja. Loja, Ecuador
- Kinghorn, A. D. (1992). Plants as sources of medicinally and pharmaceutically important compounds *Phytochemical Resources for Medicine and Agriculture* (pp. 75-95): Springer.
- Lepore, L., Malafronte, N., Condero, F. B., Gualtieri, M. J., Abdo, S., Dal Piaz, F., & De Tommasi, N. (2011). Isolation and structural characterization of glycosides from an anti-angiogenic extract of *Monnina obtusifolia* HBK. *Fitoterapia*, 82(2), 178-183.
- Lu, Y., Umeda, T., Yagi, A., Sakata, K., Chaudhuri, T., Ganguly, D., & Sarma, S. (2000). Triterpenoid saponins from the roots of tea plant (*Camellia sinensis* var. *assamica*). *Phytochemistry*, 53(8), 941-946.
- Mahmood, N., Moore, P., De Tommasi, N., De Simone, F., Colman, S., Hay, A., & Pizza, C. (1993). Inhibition of HIV infection by caffeoylquinic acid derivatives. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, 4(4), 235-240.
- Olugbade, T. A., Ogundaini, A., Birlirakis, N., Païs, M., & Martin, M.-T. (2000). Petersaponins III and IV, triterpenoid saponins from *Petersianthus macrocarpus*. *Journal of Natural Products*, 63(5), 716-719.

- Pinto, D. C., Fuzzati, N., Chiriboga, X., & Hostettmann, K. (1994). Xanthone and antifungal constituents from *Monnina obtusifolia*. *Phytochemistry*, 37(3), 875-878.
- Sandoval, H., (2017). Plan de desarrollo Territorial de la Parroquia de Angochagua. Ecuador, Gobierno Autónomo Descentralizado de la Parroquia Rural de Angichagua. 11-20.
- Ranilla, L. G., Kwon, Y.-I., Apostolidis, E., & Shetty, K. (2010). Phenolic compounds, antioxidant activity and in vitro inhibitory potential against key enzymes relevant for hyperglycemia and hypertension of commonly used medicinal plants, herbs and spices in Latin America. *Bioresource technology*, 101(12), 4676-4689.
- Rao, S. R., & Ravishankar, G. (2002). Plant cell cultures: chemical factories of secondary metabolites. *Biotechnology advances*, 20(2), 101-153.
- Rates, S. M. K. (2001). Plants as source of drugs. *Toxicon*, 39(5), 603-613.
- Ruiz, H., López, H. R., & Pavón, J. (1798). *Systema vegetabilium florum peruviana et chilensis: Typis Gabrielis de Sancha*.

ADSORCIÓN DE TRIAZINAS POR QUITOSANA OBTENIDA DE RESIDUOS DE CAMARÓN EMPLEANDO UNA MEZCLA DE CLORURO DE CALCIO/METANOL/AGUA COMO DISOLVENTE

TRIAZINES ADSORPTION BY CHITOSAN OBTAINED FROM
SHRIMP WASTE BY A CALCIUM CHLORIDE/METHANOL/WATER
MIXTURE AS A SOLVENT

Aranys Borja-Urzola^{1*}, Marisela Bernal-González¹,
Rolando García-Gómez¹, Ronny Flores-Ortega²
& María Durán-Domínguez-de-Bazúa¹

Recibido: 14 de marzo 2020 / Aceptado: 26 de junio 2020

Publicado en línea: 2 de julio 2020

DOI: 10.26807/ia.v8i2.138

Palabras claves: Disolvente MAC-141©, quitosana, residuos de camarón,
triazinas

Keywords: Chitosan, MAC-141© solvent, shrimp waste, triazines

¹ Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química, Departamento de Ingeniería Química, Laboratorios de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental, México D.F., México (*correspondencia: araborurz@hotmail.com marisela_bernal2000@yahoo.com.mx; rolandoga2000_a@yahoo.com; mcduran@unam.mx)

² Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Químicas, Laboratorio de Química Ambiental y Sostenible. Quito, Ecuador (raflores@uce.edu.ec)

RESUMEN

En este estudio se evaluó la capacidad de adsorción de la quitosana obtenida de residuos de camarón previamente caracterizada frente a herbicidas de la familia de las triazinas. La extracción de quitina y la obtención de quitosana se realizó empleando: un disolvente patentado por la Universidad Nacional Autónoma de México, el disolvente MAC-141© (este disolvente es una mezcla estequiométrica de 1 mol de metanol, 4 moles de agua y 1 mol de cloruro de calcio), ultrasonido y temperatura. La caracterización del compuesto final se realizó por análisis elemental, espectroscopía infrarroja, microscopía electrónica de barrido, análisis termogravimétrico y resonancia magnética nuclear. El uso del disolvente MAC-141©, permitió obtener quitosana con un porcentaje de desacetilación en un rango del 40-44 %, mientras que la caracterización química mostró que se obtuvo un sólido estable a temperaturas inferiores a los 280 °C, con poros en la superficie. La quitosana adsorbió las triazinas disueltas en agua a un pH de 3,6 y concentraciones cercanas a 1 mg/L.

ABSTRACT

The adsorption capacity of chitosan obtained from shrimp residues against herbicides of the triazine family was evaluated. The extraction of chitin and its transformation into chitosan was carried out using: the solvent MAC-141© patented by Universidad Nacional Autónoma de México (which consists of 1 mole of methanol, 4 moles of water, and 1 mole of calcium chloride) ultrasound and temperature. The characterization of the final compound was carried out by applying elemental analysis, infrared spectroscopy, scanning electron microscopy, thermogravimetric analysis, and nuclear magnetic resonance. The chitosan obtained had a percentage of deacetylation in a range of 40-44 %, while the chemical characterization showed that it was possible to obtain a stable compound at temperatures lower than 280 °C and with pores on the surface. Chitosan was able to adsorb triazines dissolved in water and the process was favored at a pH of 3.6 and concentrations close to 1 mg/L.

INTRODUCCIÓN

La quitosana es un polímero natural que se obtiene por desacetilación de la quitina (Barbosa et al., 2011). La quitina es el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza después de la celulosa (Leceta et al., 2013). Las características químicas sobresalientes que posee la quitosana son: gran área superficial, biocompatibilidad, biodegradabilidad, facilidad de regeneración superficial, hidrofobicidad, capacidad de adsorción, etc. (Cao et al., 2015; Peng et al., 2016) hacen que sea un adsorbente alternativo para retener diversos contaminantes como plaguicidas, metales pesados e hidrocarburos (Naing et al., 2016). La interacción de los compuestos y los centros de sorción de la quitosana ocurren por la presencia de los grupos amino ($-NH_2$) e hidroxilo ($-OH$) en su estructura química. Actualmente, la principal fuente de quitina procesada a nivel industrial son residuos de las industrias de procesamiento de alimentos marinos, principalmente caparzones de crustáceos, como camarones, cangrejos y kril (Mojarrad et al., 2007). La extracción de la quitosana a partir de residuos de crustáceos es una prác-

tica que se ha realizado desde hace mucho tiempo. Sin embargo, estas metodologías utilizan tratamientos ácidos y alcalinos en condiciones extremas de temperatura con la finalidad de obtener quitosana con un grado de desacetilación mayor al 60 % (Naing et al., 2016; Peng et al., 2016). La obtención de quitina se realiza generalmente aplicando dos métodos de extracción: el método químico y el método biológico. El método químico para la extracción de quitina implica el uso de ácidos y NaOH. Para el proceso de desacetilación el NaOH se utiliza en concentraciones de 50-80 %, altas temperaturas (90-120 °C) y tiempos de reacción relativamente largos (10-15 horas) (Sagheer et al., 2009; Yen et al., 2009). Cuando la quitina se somete al proceso de desacetilación con NaOH concentrado, el grupo acetamida se convierte en un grupo amino lo cual da lugar a la quitosana.

La extracción con ácidos y bases fuertes tiene implicaciones negativas (Dhillon et al., 2012; Kaur & Dhillon, 2015), como la alteración de las propiedades fisicoquímicas de la qui-

tina/quitosana, contaminación de aguas y alto costo en el proceso de purificación de la mezcla quitina/quitosana. Por lo tanto, métodos de extracción verde son empleados debido a su naturaleza respetuosa con el ambiente. Dentro de este grupo se encuentran los procesos de extracción enzimáticos (Lopes et al., 2017; Younes et al., 2014) y procesos donde el uso de ácidos y álcalis son remplazados por solventes menos drásticos (Flores et al., 2007; Tolesa et al., 2019). En este sentido, Barrera-Rodríguez et al. (2011) y Flores-Ortega et al. (2006, 2007), obtuvieron películas y esponjas de quitina a partir de residuos de camarón usando un disolvente compuesto por metanol, agua y cloruro de calcio para sustituir el uso de HCl y NaOH en los procesos de desmineralización y desproteínización. La metodología propuesta

por Flores-Ortega et al. (2007), permitió obtener quitina evitando el uso de HCl y NaOH. Aunque la mezcla de cloruro de calcio, metanol y agua se ha empleado para obtener quitina, no hay reportes que muestren su aplicación para obtener quitosana. Por lo anterior expuesto, la presente investigación reporta un método diferente de obtención de quitosana utilizando el disolvente propuesto por Flores-Ortega et al., (2007), bajo tratamiento con ultrasonido y temperatura. Asimismo, se evalúa la capacidad de la quitosana para adsorber desetilatrazina, atrazina, simazina y terbutilazina; herbicidas de la familia de las triazinas que son considerados contaminantes ambientales por su persistencia en aguas superficiales y subterráneas (Chen et al., 2014; Zhao et al., 2011).

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de la harina de residuos de camarón

Los residuos de camarón fueron adquiridos en la Zona de Pescados y Mariscos en el Mercado “Nueva Viga” en la Central de Abastos de la

Ciudad de México (CDMX), México. Los residuos de camarón se lavaron con agua para eliminar la materia orgánica presente. Los residuos (cáscaras y cabezas) se licuaron con agua en una proporción 1:2 (agua: residuos). La mezcla se filtró y se secó a

60 °C por 18 horas. Una vez secos, se molieron en un molino para granos de café (Black & Decker, México) y se tamizaron en una malla de 149 µm.

Preparación del disolvente MAC-141©

La preparación del disolvente MAC-141© se realizó siguiendo las indicaciones de Flores-Ortega (2004, 2008).

Paso 1: Mezcla de reactivos

En un balón de destilación de 500 mL se agregaron 99 mL de CH₃OH, 180 mL de agua destilada y 277,5 g de CaCl₂.

Paso 2: Sistema de reflujo

La mezcla de los reactivos se colocó en un sistema de reflujo a temperatura moderada, menor a 60 °C, evitando la evaporación del metanol.

Extracción de quitina y obtención de quitosana y caracterización química de productos

En la Tabla 1, se muestran las condiciones de ultrasonido y temperatura en las que se realizó el proceso de extracción para obtener quitosana

con un porcentaje de desacetilación mayor al 20 %. A los cuatro productos obtenidos en los experimentos de la Tabla 1, se les realizaron pruebas de solubilidad con ácidos concentrados y diluidos (HCl(c), HCl 2 %, H₂SO₄ (c), H₂SO₄ 2 %, HCOOH (c), HCOOH 2 %, CH₃COOH (c), CH₃COOH 2 %), análisis elemental (AE) y análisis infrarrojo (IR).

Tabla 1. Condiciones de reacción para el proceso de extracción de quitina y la obtención de quitosana

Producto	Tiempo de ultrasonido (min) /temperatura(°C)	Temperatura (°C) y /tiempo de secado (h)
QnExt1a	10/60	100/18
QnExt2a	30/60	100/18
QnExt1b	10/60	150/22
QnExt2b	30/60	150/22

QnExt (quitosana extraída o experimental)

Solamente a la muestra “QnExt1b” se le realizó resonancia magnética nuclear (RMN), análisis termogravimétrico (TGA, en inglés), microscopía electrónica de barrido (SEM, en inglés) y análisis de fisisorción con Nitrógeno (método BET) ya que fue el compuesto que presentó el mayor porcentaje de desacetilación.

Capacidad adsorbente del material obtenido

La capacidad de adsorción de la quitosana extraída fue evaluada aplicando cuatro plaguicidas de las familias de las triazinas: desetilatrazina (DEA), atrazina (ATZ), simazina (SIM) y terbutilazina (TAZ). Se evaluaron los efectos del pH y la concentración inicial sobre el proceso de adsorción. Se prepararon mezclas acuosas de DEA, SIM, ATZ y TAZ a 1 mg/L y a valores de pH de 3,6, 7 y 10, así como a 1, 5 y 10 mg/L a un pH de 3,6. Las soluciones se colocaron en un agitador orbital a 300 rpm a temperatura ambiente (20 ± 2 °C). Se tomó 1 mL de muestra a diferentes tiempos (15, 30, 40, 60, 80 y 90 min) y se llevaron a sequedad completa utilizando un evaporador rotatorio al vacío. Para su análisis mediante cromatografía de gases, se reconstituyeron con acetonitrilo.

Para cuantificar la capacidad de adsorción del *adsorbente* con respecto al compuesto adsorbido (conocido coloquialmente como *adsorbato* por el anglicismo) se cuantificó la diferencia de concentración del componente adsorbido en la solución, antes

de entrar en contacto con el sólido y después de que se alcanzó el equilibrio (Naing et al., 2016). Este procedimiento se llevó a cabo a una temperatura constante o con intervalos de variaciones considerados despreciables. Esta distribución se expresa como la cantidad de soluto por unidad de masa del adsorbente (q), siendo función de la concentración del soluto (q_e) o del tiempo (q_t), a una temperatura fija (Sakkayawong et al., 2005). En la Ecuación 1 se expresa la forma de determinar q_e :

$$q_e = \frac{(C_o - C_e) * V}{W} \quad (1)$$

donde:

- q_e :** cantidad de componente adsorbido adherido al adsorbente en el equilibrio (mg/g)
- C_o :** concentración inicial de soluto en la solución (mg/L)
- C_e :** concentración de soluto en el equilibrio (mg/L)
- V :** volumen de la solución de adsorbato (L)
- W :** masa de adsorbente adicionada (g)

El porcentaje de adsorción se determina por medio de la Ecuación 2:

$$\%ads = \frac{C_o - C_e}{C_o} * 100 \quad (2)$$

donde:

C_o: concentración inicial de soluto en la solución (mg/L)

C_e: concentración de soluto en el equilibrio (mg/L)

RESULTADOS

Caracterización química

Los resultados de la prueba de solubilidad con diferentes ácidos concentrados y diluidos se muestran en la Tabla 2.

Se realizó la prueba de solubilidad a la quitosana comercial Sigma-Aldrich, *QnCom*, con un porcentaje de desacetilación cercano al 70 % para establecer un patrón de comparación con las muestras obtenidas.

En términos generales, las muestras presentaron un comportamiento diferente a la referencia. Sin embargo, la *QnExt 1b* fue la que se solubilizó en la mayoría de los disolventes ácidos evaluados (Tabla 2).

Para determinar el % DD a partir de datos del análisis elemental (carbono y nitrógeno) se utilizó la Ecuación 3 (Dos Santos et al., 2009; Kumari et al., 2015).

$$\%DD = \frac{6,861 - C/N}{6,861 - 5,14} \quad (3)$$

Tabla 2. Resultados de las pruebas de solubilidad

No.	Disolvente	QnCom	QnExt 1a	QnExt 2a	Qn Ext 1b	QnExt 2b
1	HCl(c)	S	P.S	P.S	S	P.S
2	HCl 2 %	P.S	P.S	I	P.S	P.S
3	H ₂ SO ₄ (c)	I	S	S	S	S
4	H ₂ SO ₄ 2 %	I	P.S	I	S	I
5	HCOOH (c)	S	I	I	P.S	I
6	HCOOH 2 %	S	S	I	S	I
7	CH ₃ COOH (c)	I	I	I	I	I
8	CH ₃ COOH 2 %	I	I	I	I	I

Donde: QnCom=Quitosana comercial Sigma-Aldrich; QnExt: Quitosana experimental; S: soluble; I: insoluble; P.S: parcialmente soluble

La determinación del % DD utilizando el IR se hizo utilizando la Ecuación 4 (Baxter et al., 1992; Domszy & Roberts, 1985).

$$\%DD = 100 - \left[\frac{A_{1655}}{A_{3450}} * \frac{100}{1,33} \right] \quad (4)$$

Los resultados obtenidos para cada una de las muestras se observan en la Tabla 3.

Tabla 3. Resultados del análisis elemental para 2,5 mg de cada muestra

Muestra	% C	% N	% H	C/N	% DD
QnCom	41,262	7,324	7,738	5,63	71,57
QnExt 1a	17,659	2,756	5,487	6,40	26,65
QnExt 2a	13,098	2,109	5,647	6,21	37,74
QnExt 1b	22,193	3,621	3,940	6,12	42,99
QnExt 2b	18,326	2,922	3,090	6,27	34,24

Donde: QnCom=Quitosana comercial Sigma-Aldrich; QnExt:Quitosana experimental

En la Tabla 4, se muestran los resultados de % DD obtenidos después de

analizar los espectros infrarrojos (Figura 1).

Tabla 4. Porcentajes de desacetilación encontrados por medio de espectroscopia infrarroja y análisis elemental

Muestra	%DD(IR)	Tiempo de ultrasonido (min) /temperatura(°C)	Temperatura (°C) y /tiempo de secado (h)
QnCom	71,08	-	-
QnExt 1a	28,08	10/60	100/18
QnExt 2a	31,64	30/60	100/18
QnExt 1b	42,85	10/60	150/22
QnExt 2b	36,01	30/60	150/22

El % DD calculado fue diferente para cada una de las muestras, lo que in-

dica que las condiciones del método de extracción influyen en el porcen-

taje de desacetilación de la quitosana. La muestra *QnExt 1b* fue la que presentó un % DD mayor (42,99 % por análisis elemental y 42,85 % por análisis infrarrojo) y la Figura 2 mues-

tra su espectro de RMN. Se observa que las señales obtenidas para los protones no son intensas. Esto se debe a que la solubilidad del compuesto fue parcial en D_2O a pH=2.

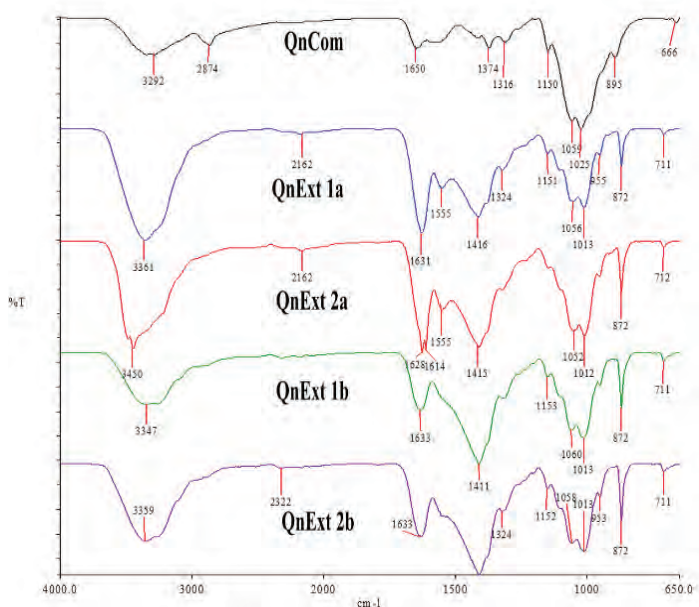


Figura 1. Espectros infrarrojos de la quitosana Sigma Aldrich y de las quitosanas obtenidas

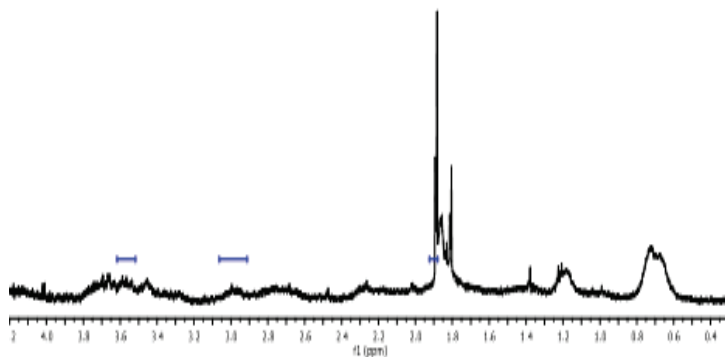


Figura 2. H+ RMN de la muestra Qn Ext 1b

Fue posible determinar el porcentaje de desacetilación aplicando la Ecuación 5 si se integra en la región de las señales características (Hirai et al., 1991).

$$\%DA = \frac{(Acetilo/3)}{\frac{H2_{quitosana} + H2-H2}{6}} \quad (5)$$

Se observa la señal de los protones del grupo acetil a un desplazamiento químico de 2,0 ppm, la señal del H₂

(quitosana) a 3,1 ppm y en la mitad del espectro (3,5–4,0 ppm) las señales de los protones H3–H6 (quitosana) y H2–H6 (quitina). El porcentaje de desacetilación obtenido aplicando la Ecuación 5 fue de 47 %.

La Figura 3 muestra el termograma realizado en un intervalo de temperaturas de 50–400 °C. Se observa dos etapas de descomposición a 280 °C y 323 °C.

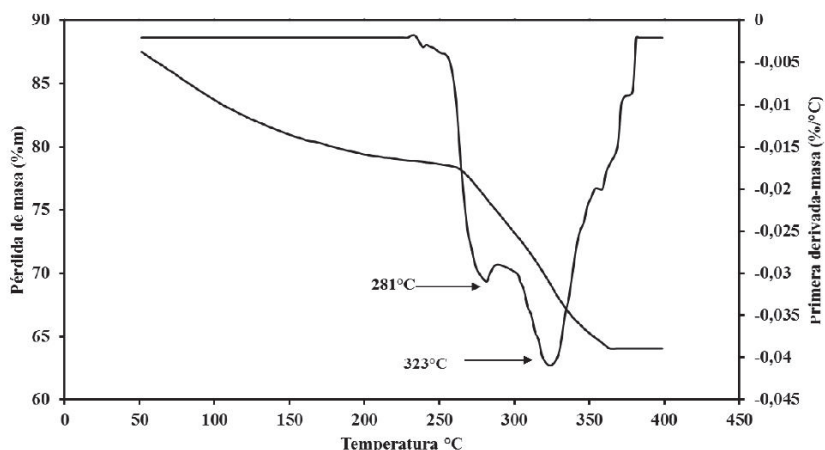


Figura 3. Análisis termogravimétrico de la quitosana QnExt 1b

En la Figura 4 se observan las micrografías obtenidas para la Qn Ext 1b. Se aprecia en ellas que la superficie

del sólido obtenido no es homogénea y posee material particulado de diferentes tamaños.

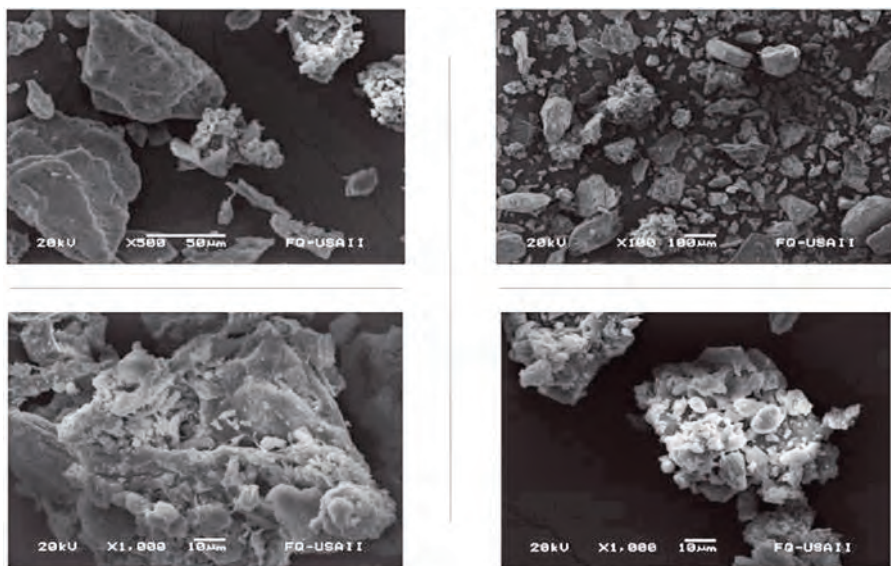


Figura 4. Morfología de la muestra Qn Ext 1b (Microscopías electrónicas)

Las partículas grandes tienen una superficie lisa mientras que las pequeñas forman aglomeraciones de partículas con un tamaño menor a 10 μm . Las partículas pequeñas presentan poros, similar a lo reportado por otros autores (Marei et al., 2016; Yen et al., 2009).

El análisis de fisisorción con N_2 arrojó que la Qn Ext 1b presentó un área superficial de 2,285 m^2/g , un volumen de poro de 0,003 cm^3/g y un radio de 18,328 Å. Relacionando estos resultados con la clasificación

de poros de la IUPAC, la Qn Ext 1b presenta micro poros en su superficie (menores a 20 Å).

Capacidad de adsorción

En la Figura 5 se observan las gráficas de q_e (mg/g) con respecto al tiempo para cada uno de los plaguicidas evaluados a diferentes valores de pH. Se observa que, a medida que aumenta el tiempo de contacto, también aumenta la capacidad de adsorción. Se puede apreciar que la capacidad de adsorción de la quitosana fue mayor

a pH 3,6, con excepción de la atrazina, que presentó la mayor capaci-

dad de adsorción a pH 10.

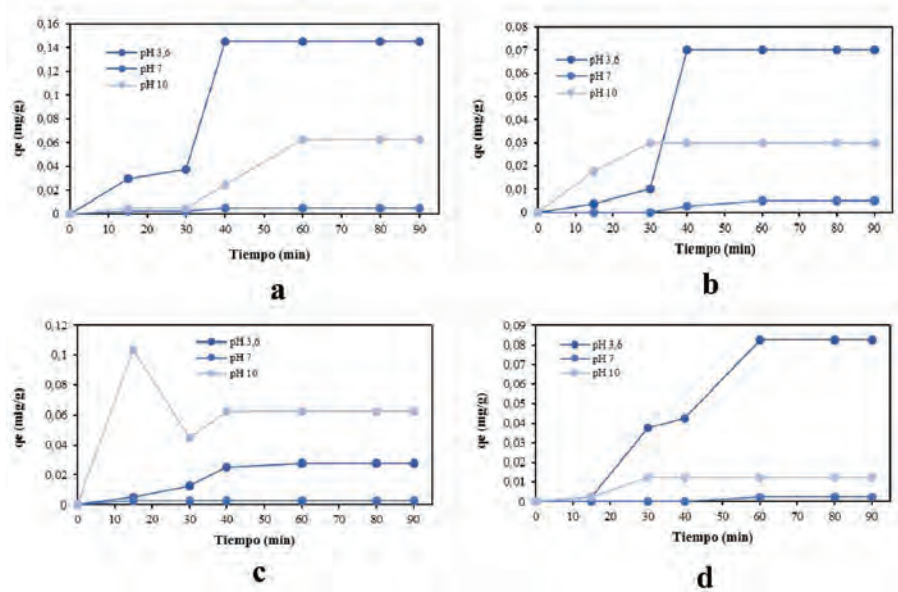


Figura 5. Variación de la adsorción de la a) DEA; b) SIM; c) ATZ y d) TAZ con el tiempo a diferentes valores de pH y concentración inicial de 1 mg/L

En la Figura 6 se muestra el efecto de la concentración inicial de la muestra a un pH de 3,6, permitiendo determinar la q_e (mg/g).

Se observa que, en términos generales, a medida que aumenta la concentración inicial (mg/L), la capacidad de adsorción también se incrementa para cada uno de los compuestos estudiados.

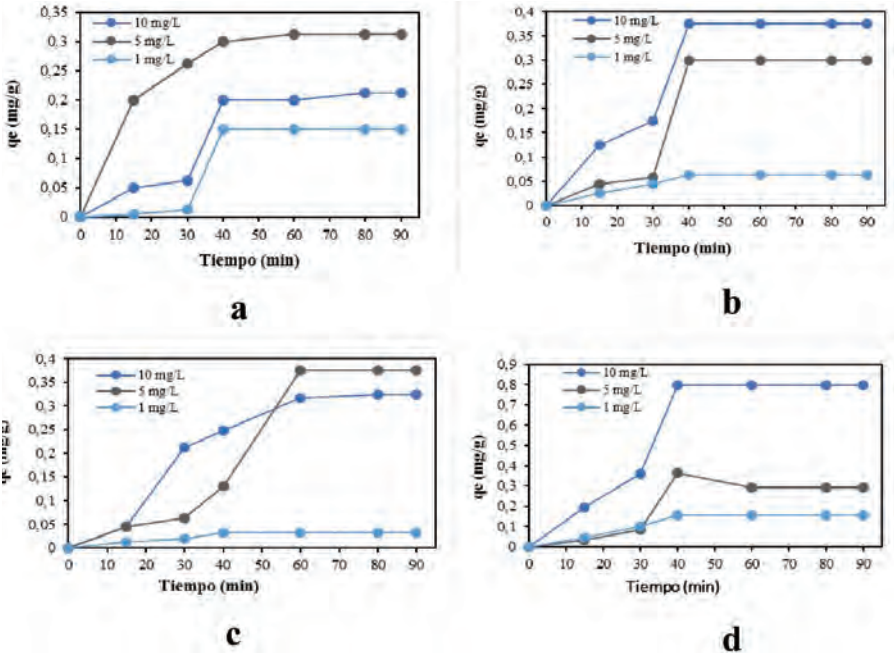


Figura 6. Variación de la adsorción de a) DEA b) SIM c) ATZ y d) TAZ con el tiempo a diferentes valores de concentración inicial y pH 3

En la Figura 7 se presenta una gráfica de la variación de la q_e con respecto de la concentración inicial para cada uno de los compuestos. Se observa que la mayor capacidad de adsorción obtenida la presentó la terbutilatrazina (0,795 mg/g) a una concentración de 10 mg/L. En la Figura 8 se muestran los porcentajes de adsorción de los compuestos para cada una de las concentraciones evalua-

das y, a diferencia de la Figura 6, los valores máximos de adsorción se obtuvieron para una concentración de 1 mg/L.

Los valores máximos de q_e fueron obtenidos para las concentraciones mayores, pero los porcentajes de adsorción presentaron su máximo a 1 mg/L para la terbutilazina (63 %).

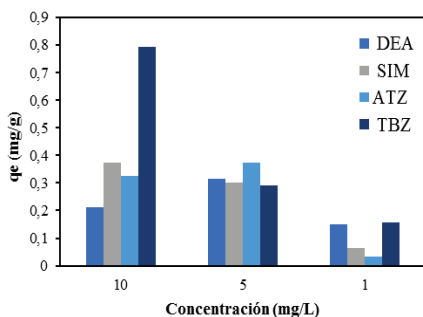


Figura 7. Variación de q_e (mg/g) con respecto a la concentración inicial para cada uno de los compuestos estudiados

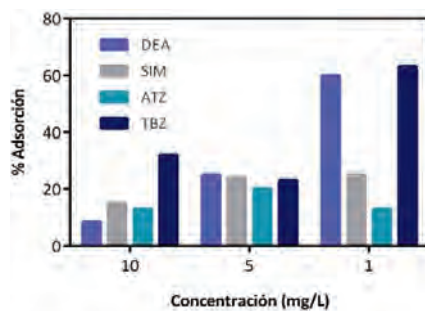


Figura 8. Porcentajes de adsorción para cada uno de los compuestos evaluados a diferentes concentraciones

DISCUSIÓN

En los espectros infrarrojos de la Figura 1 se observa que la *Qn Ext 1b* presenta las bandas de adsorción características de la quitosana en la región de $3350\text{--}3290\text{ cm}^{-1}$ que se atribuyen a modos vibracionales de estiramiento -N-H y -OH. La *QnExt 2a* presenta el desdoblamiento de la señal correspondiente a la amida I (1630 y 1620 cm^{-1}) asignada al estiramiento -C=O. Esto concuerda con otros autores (Antonino et al., 2017; Cárdenas et al., 2004) y es característico de la α -quitina. La señal de 1550 cm^{-1} , que corresponde a la amida II, solamente se ve definida en la *Qn Ext 1a* y *2a* mientras que en las otras

muestras se encuentra ausente. De acuerdo con Abdel-Rahman et al. (2015) esto se debe a que se obtiene un producto desacetilado. Las bandas que aparecen de $1060\text{--}1012\text{ cm}^{-1}$ corresponden al anillo de piranosa y al enlace glucosídico (-C-O-C). La banda intensa que aparece en 1410 cm^{-1} en las muestras, así como en la quitosana comercial a 1374 cm^{-1} es característica del grupo acetamida (-NHCOCH₃), lo que indica que una parte del producto obtenido es quitina. También es importante destacar la banda en 824 cm^{-1} , la cual corresponde al carbonato de calcio (Espínola-Cortés et al., 2017; Mohammed

et al., 2013). Esto indica que el tratamiento con el disolvente MAC-141© permite la obtención de quitosana mineralizada. El % DD fue diferente para cada uno de los compuestos obtenidos. Si bien, cada uno de los productos proviene de un proceso de extracción bajo condiciones diferentes, es correcto pensar que el % DD depende del proceso utilizado y, sobre todo, de la temperatura y tiempo empleados para llevar a cabo el proceso de secado de los sólidos ya que esta es la única diferencia en el proceso de extracción entre la *Qn Ext 1a* (% DD, 28,08) y la *Qn Ext 1b* (% DD 42,99) con la *Qn Ext 2a* (% DD 37,74) y la *QnExt 2b* (% DD 34,24) extraídas a 100 °C durante 18 horas y a 150 °C durante 22 horas, respectivamente). Sin embargo, no es posible suponer con certeza cuál de todos los factores es el que influye directamente en el % DD por lo que se hace necesario optimizar las condiciones del método y evaluar por medio de un diseño estadístico de superficie de respuesta la influencia de cada uno de los factores respecto al % DD.

De acuerdo con el análisis termogravimétrico de la Figura 3, el com-

puesto *Qn Ext 1b* solamente presentó dos etapas de descomposición térmica. Paulino et al. (2006) reportaron la presencia de tres etapas de descomposición para la quitosana. La primera etapa (50-110 °C) es atribuida a la evaporación del agua residual en la molécula. Sin embargo, en el TGA de la *QnExt 1b* no se observó esta etapa de descomposición, indicando que la temperatura utilizada para secar el sólido después del proceso de extracción permite evaporar una mayor cantidad de agua y de metanol que pudieran quedar por el uso del disolvente MAC-141©. Lo anterior también se corrobora por la ausencia de la banda característica de agua en los espectros infrarrojos. Los dos picos de descomposición a 280 y 323 °C son atribuidos a la degradación de la parte de la molécula de quitina que fue desacetilada (Kumari et al., 2017; Ziegler-Borowska et al., 2015).

Las micrográficas de barrido de la Figura 4 indican que el método de extracción aplicado permite obtener quitosana en forma sólida con poros en su superficie. Sin embargo, se hace necesario mejorar el método de extracción para obtener un sólido

con una superficie homogénea y porosa que mejore la capacidad de adsorción de la quitosana como, por ejemplo, una etapa de secado y de pulverización menos drástica, como el secado por aspersión.

Capacidad de adsorción

La capacidad de adsorción, q_e , del compuesto *QnExt 1b* (Figura 5) aumenta a medida que lo hace el tiempo de contacto. Esto se debe a la disponibilidad de los sitios activos en el compuesto y al equilibrio de adsorción, que para todos los compuestos se alcanza después de los 40 min.

También se puede apreciar que la capacidad de adsorción de la quitosana fue mayor a pH 3,6, con excepción de la atrazina, que presentó la mayor capacidad de adsorción a pH 10 (Figura 6).

Muchas de las propiedades características de la quitosana se deben a su naturaleza de polielectrolito catiónico (Kasaai et al., 2000; Rinaudo, 2008). La quitosana se protona a pH inferiores de 6,5 ($pK_a = 6,5$) y, dependiendo de la naturaleza del componente adsorbido, pueden ocurrir

diferentes mecanismos de adsorción, por ejemplo: interacciones electrostáticas, de formación de complejos, puentes de hidrógeno, etc. Un factor determinante en la capacidad de adsorción de la quitosana es el porcentaje de los grupos aminos en el polímero, ya que de él depende el número de cargas positivas o protonaciones y de la distribución de estas cargas en el polímero. A un pH de 3,6 la quitosana se encuentra protonada y las triazinas evaluadas se encuentran en su forma neutra. Por lo que no puede ocurrir adsorción por medio de interacciones electrostáticas y es posible que la adsorción se lleve a cabo por interacciones polares. Por el valor de pK_a de las triazinas (1,7 para la ATZ y SIM, 3,79 para la DEA y 2,0 para la TAZ) se esperaba que a este valor de pH las fuerzas de repulsión electrostáticas fueran mayores y, por ende, disminuyera la capacidad de adsorción. Sin embargo, este no fue el comportamiento observado. Es posible que el % DD del compuesto (42,85 %) y la pureza de este interfieran en el proceso de adsorción. En otras palabras, solamente es posible la protonación del 42,85 % del polímero y esto puede estar afectado por la presencia del carbo-

nato de calcio y, por eso, no hubo repulsiones entre la quitosana y las triazinas y se obtuvo una mayor capacidad de adsorción a un valor de pH de 3,6.

La capacidad de adsorción a pH 7 es casi nula para todos los compuestos. Este comportamiento podría atribuirse a que, a este valor de pH, la quitosana y las triazinas se encuentran en forma molecular y es posible que la formación de puentes de hidrógeno se vea afectadas por la ausencia de protones en el medio.

A medida que aumenta la concentración inicial, la capacidad de adsorción del compuesto Qn Ext 1b también aumenta para cada uno de los compuestos (Figura 6), lo que indica que existen suficientes sitios activos en el adsorbente para interaccionar con los compuestos.

De los plaguicidas evaluados, la TAZ es la que presenta mayor volumen molecular, debido a la presencia del grupo isobutil en su estructura. Esto indica que los sitios activos en el adsorbente podrían ser el factor que limita la capacidad de adsorción de la quitosana. A mayor concentración

del plaguicida, hay una saturación de los sitios activos disponibles y, por ende, disminuye la capacidad de adsorción de la quitosana (compuesto Qn Ext 1b). Estas pruebas de adsorción de desetilatrazina, atrazina, simazina y terbutilazina en quitosana no tienen antecedentes en la bibliografía, por lo que, los resultados obtenidos en esta investigación son, tal vez, algunos de los primeros reportes referentes al tema. La capacidad de adsorción de la quitosana ha sido evaluado principalmente frente a metales pesados (Niu et al., 2017), colorantes (Yuan et al., 2016) y glifosato (Carneiro et al., 2015). Naturalmente, la quitosana combinada con otros componentes tiene otros usos, incluso, para fines médicos: Algunos autores usan a la quitosana para dopar catalizadores con objeto de decomponer las triazinas mediante fotocátalisis o para objetivos médicos, especialmente en el cáncer, produciendo nanopartículas donde la quitina es un componente (Qiu et al., 2014; Wu y Zhang, 2018; Yuan et al., 2010, en Singh et al., 2020), aunque estos usos no están relacionados con el objetivo de esta investigación.

CONCLUSIÓN

La caracterización química indicó que el compuesto obtenido a partir de los residuos de camarón fue quitosana, con un % DD promedio del 44,28 %, con poros en su superficie y partículas aglomeradas en la superficie que posiblemente sean carbonato de calcio. Por tanto, sí es posible la obtención de quitosana aplicando el disolvente MAC-141©. Sin embargo, se hace necesario el estudio de más variables para mejorar el proceso de extracción y la morfología del polímero. El método propuesto es una alternativa al método químico convencional.

La capacidad de adsorción de la quitosana con respecto de los plaguicidas triazínicos se vio afectada por la concentración inicial y el pH de las muestras. Es posible que el % DD y la pureza del compuesto afecte el

proceso de adsorción y por eso hay una mejor capacidad de adsorción a pH ácido (3,6) que a pH neutro. También es posible que la presencia del carbonato de calcio interfiera en la protonación de la quitosana a pH inferiores a su valor de pKa (6,5).

Es posible optimizar estos factores en experimentos futuros, a fin de obtener un material idóneo para la extracción de contaminantes a bajas concentraciones. La quitosana obtenida presentó la capacidad de adsorber la atrazina, la desetilatrastina, la terbutilazina y la simazina en soluciones acuosas. Esta capacidad de adsorción se vio favorecida a una concentración de 1 ppm y a un pH de 3,6, donde las condiciones del medio son adecuadas para que ocurra la adsorción de los compuestos en la superficie de la quitosana.

LISTA DE REFERENCIAS

- Abdel-Rahman, R.M., Hrdina, R., Abdel-Mohsen, A.M., Fouda, M., Soliman, A.Y., Mohamed, F.K., Mohsin, K., & Pinto, T.D. (2015). Chitin and chitosan from Brazilian Atlantic Coast: Isolation, characterization and antibacterial activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 80, 107-120.
- Antonino, R.S.C.M.D.Q., Fook, B.R.P.L., Lima, V.A.D.O., Rached, R.Í.D.F., Lima, E.P.N., Lima, R.J.D.S., Covas, C.A.P., & Fook, M.V.L. (2017). Preparation and characterization of chitosan obtained from shells of shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone). *Marine Drugs*, 15, 1–12.
- Barbosa, M.A., Pêgo, A.P., & Amaral, I.F. (2011). Chitosan. In: *Comprehensive Biomaterials*. Ed. Ducheyne, P. Elsevier, Oxford, pp.221–237.
- Barrera-Rodríguez, S., Flores-Ortega, R., Shirai-Matsumoto, C.K., & Durán-de-Bazúa, C. (2011). Extracción de quitina del cefalotórax de camarón para la elaboración de películas / Chitin extraction from shrimp cephalothorax and exoskeleton for films preparation. Vol. 10, Serie: TECNOLOGÍAS más LIMPIAS. Pub. AMCATH y Laboratorios 301, 302, 303 de Ing. Quím. Amb. y de Quím. Amb. Facultad de Química, UNAM. ISBN 978-607-7807-08-0. 75 pags. México D.F. México. 1ª y 2ª Eds. Disco compacto (2006, 2007). 3ª Ed. Mejorada. Disco compacto (2011).
- Baxter, A., Dillion, M., Taylor, K., & Roberts, G. (1992). Improved method for I.R. determination of the degree of acetylation of chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, 14, 166–169.
- Cao, W., Hu, S.S., Ye, L.H., Cao, J., Xu, J. J., & Pang, X.Q. (2015). Trace-chitosan-wrapped multi-walled carbon nanotubes as a new sorbent in dispersive micro solid-phase extraction to determine phenolic compounds. *Journal of Chromatography A*, 1390, 13–21.

- Cárdenas, G., Cabrera, G., Taboada, E., & Miranda, S.P. (2004). Chitin characterization by SEM, FTIR, XRD, and ^{13}C cross polarization/mass angle spinning NMR. *Journal Applied Polymer Science*, 93, 1876–1885.
- Carneiro, R., Taketa, T., Gomes Neto, R., Oliveira, J., Campos, E., de Moraes, M., da Silva, C., Beppu, M., & Fraceto, L. (2015). Removal of glyphosate herbicide from water using biopolymer membranes. *Journal of Environmental Management*, 151, 353–360.
- Chen, P.-S., Haung, W.-Y., & Huang, S.-D. (2014). Analysis of triazine herbicides using an up-and-down-shaker-assisted dispersive liquid-liquid microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 955–956, 116–123.
- Dhillon, G.S., Kaur, S., Brar, S.K., & Verma, M. (2012). Green synthesis approach: Extraction of chitosan from fungus mycelia. *Critical Reviews in Biotechnology*, 33(4), 379–403.
- Domszy, J.G., & Roberts, G.A.F. (1985). Evaluation of infrared spectroscopic techniques for analysing chitosan. *Macromolecular Chemistry*, 186, 1671–1677.
- Dos Santos, Z.M., Caroni, A.L.P.F., Pereira, M.R., da Silva, D.R., & Fonseca, J.L.C. (2009). Determination of deacetylation degree of chitosan: A comparison between conductometric titration and CHN elemental analysis. *Carbohydrate Research*, 344(18), 2591–2595.
- Espíndola-Cortés, A., Moreno-Tovar, R., Bucio, L., Gimeno, M., Ruvalcaba-Sil, J.L., & Shirai, K. (2017). Hydroxyapatite crystallization in shrimp cephalothorax wastes during subcritical water treatment for chitin extraction. *Carbohydrate Polymers*, 172, 332–341.

- Flores, R., Barrera-Rodríguez, S., Shirai, K., & Durán-de-Bazúa, C. (2007). Chitin sponge, extraction procedure from shrimp wastes using green chemistry. *Journal of Applied Polymer Science*, 104, 3909–3916.
- Flores, R., Barrera-Rodríguez, S., Shirai-Matsumoto, C.K., & Durán-de-Bazúa, C. (2006). Obtención de esponjas de quitina a partir de cefalotórax de camarón para empaques. *AlimenPack*, 2(4):26-28. ISSN 1870-5782.
- Flores-Ortega, R.A. (2004). Formación de películas de quitina a partir de desechos de camarón por métodos ecológicos. Tesis de Maestría en Ciencias. Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas (Orientación: Química Ambiental). UNAM. Defensa: Agosto 20. Ciudad de México. México.
- Flores-Ortega, R.A. (2008). Obtención y caracterización de esponja de quitina a partir de cefalotórax de camarón. Tesis de Doctorado en Ciencias. Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas. UNAM. Defensa: Abril 25. Ciudad de México. México.
- Flores-Ortega, R.A., Barrera-Rodríguez, S., & Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.C. (2004). Extracción ecológica de quitina y subproductos. Patente Núm. 264482. Solicitud de Registro: Octubre 1, 2004. UNAM, Facultad de Química. Instituto Mexicano para la Protección Industrial, IMPI. PA/a/2004/009517. Otorgada el 12 de febrero de 2009, México.
- Hirai, A., Odani, H., & Nakajima, A. (1991). Determination of degree of deacetylation of chitosan by ^1H NMR spectroscopy. *Polymer Bulletin*, 26(1), 87–94.
- Kasaai, M., Arul, J., & Charlet, G. (2000). Intrinsic viscosity — Molecular weight relationship for chitosan intrinsic viscosity – molecular weight relationship for chitosan. *Journal of Polymer Science Part B Polymer Physics*, 38, 2591–2598.

- Kaur, S., & Dhillon, G.S. (2015). Recent trends in biological extraction of chitin from marine shell wastes: A review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 35(1), 44–61.
- Kumari, S., Rath, P., Kumar Annamareddy, S.H., & Tiwari, T.N. (2015). Extraction and characterization of chitin and chitosan from fishery waste by chemical method. *Environmental Technology and Innovation*, 3, 77–85.
- Kumari, S., Kumar Annamareddy, S.H., Abanti, S., & Kumar Rath, P. (2017). Physicochemical properties and characterization of chitosan synthesized from fish scales, crab and shrimp shells. *International Journal of Biological Macromolecules*, 104, 1697–1705.
- Leceta, I., Guerrero, P., & De La Caba, K. (2013). Functional properties of chitosan-based films. *Carbohydrate Polymers*, 93(1), 339–346.
- Lopes, C., Antelo, L.T., Franco-Uría, A., Alonso, A., & Pérez-Martín, R. (2018). Chitin production from crustacean biomass: Sustainability assessment of chemical and enzymatic processes. *Journal of Cleaner Production*, 172, 4140–4151.
- Marei, N.H., El-Samie, E.A., Salah, T., Saad, G.R., & Elwahy, A.H.M. (2016). Isolation and characterization of chitosan from different local insects in Egypt. *International Journal of Biological Macromolecules*, 82, 871–877.
- Mohammed, M.H., Williams, P.A., & Tverezovskaya, O. (2013). Extraction of chitin from prawn shells and conversion to low molecular mass chitosan. *Food Hydrocolloids*, 31, 166–171.
- Mojarrad, J.S. Nemati, M., Valizadeh, H., Ansarin, M., & Bourbour, S. (2007). Preparation of glucosamine from exoskeleton of shrimp and predicting production yield by response surface methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(6), 2246–2250.

- Naing, N., Li, S., & Lee, H. (2016). Application of porous membrane-protected chitosan microspheres to determine benzene, toluene, ethylbenzene, xylenes and styrene in water. *Journal of Chromatography A*, 1448, 42–48.
- Niu, Y., Ying, D., Li, K., Wang, Y., & Jia, J. (2017). Adsorption of heavy-metal ions from aqueous solution onto chitosan-modified polyethylene terephthalate (PET). *Research on Chemical Intermediates*, 43, 4213–4225.
- Paulino, A.T., Simionato, J.I., Garcia, J.C., & Nozaki, J. (2006). Characterization of chitosan and chitin produced from silkworm crysalides. *Carbohydrate Polymers*, 64(1), 98–103.
- Peng, L.-Q., Li, Q., Chang, Y.-X., An, M., Yang, R., Tan, Z., Hao, J., Cao, J., Xu, J.-J. & Hu, S.-S. (2016). Determination of natural phenols in olive fruits by chitosan assisted matrix solid-phase dispersion microextraction and ultra-high performance liquid chromatography with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1456, 68–76.
- Rinaudo, M. (2008). Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. *Polymer International*, 57, 397–430.
- Sagheer, F., Al-Sughayer, M.A., Muslim, S., & Elsabee, M.Z. (2009). Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf. *Carbohydrate Polymers*, 77(2), 410–419.
- Sakkayawong, N., Thiravetyan, P., & Nakbanpote, W. (2005). Adsorption mechanism of synthetic reactive dye wastewater by chitosan. *Journal of Colloid and Interface Science*, 286, 36–42.
- Sarabia-Bañuelos, P. (2011). Aprovechamiento integral de residuos de crustáceos: obtención de quitina y quitosana del cefalotórax de camarón por métodos ecológicos. Tesis de Maestría en Ciencias. Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas. UNAM. Defensa: Noviembre 18. Ciudad de México. México.

- Singh, S., Kumar, V., Datta, S., Singh, S., Dhanjal, D.S., Garg, R., Kaur, P., Sharma, K., & Singh, J. (2020). Challenges and future perspectives of nanotoxicology. En Siddhardha, B., Dyavaiah, M., Kasinathan, K., eds. *Model organisms to study biological activities and toxicity of nanoparticles*. Springer Nature, Singapur. P. 454.
- Tolesa, L.D., Gupta, B.S., & Lee, M.J. (2019). Chitin and chitosan production from shrimp shells using ammonium-based ionic liquids. *International Journal of Biological Macromolecules*, 130, 818–826.
- Yen, M.T., Yang, J.H., & Mau, J.L. (2009). Physicochemical characterization of chitin and chitosan from crab shells. *Carbohydrate Polymers*, 75(1), 15–21.
- Younes, I., Hajji, S., Frachet, V., Rinaudo, M., Jellouli, K., & Nasri, M. (2014). Chitin extraction from shrimp shell using enzymatic treatment. Antitumor, antioxidant and antimicrobial activities of chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, 69, 489–498.
- Yuan, B., Qiu, L.Q., Su, H.Z., Cao, C.L., & Jiang, J.H. (2015). Schiff base – Chitosan grafted I-monoguluronic acid as a novel solid-phase adsorbent for removal of Congo red. *International Journal of Biological Macromolecules*, 82, 355–360.
- Zhao, G., Song, S., Wang, C., Wu, Q., & Wang, Z. (2011). Determination of triazine herbicides in environmental water samples by high-performance liquid chromatography using graphene-coated magnetic nanoparticles as adsorbent. *Analytica Chimica Acta*, 708, 155–159.
- Ziegler-Borowska, M., Chelminiak, D., & Kaczmarek, H. (2015). Thermal stability of magnetic nanoparticles coated by blends of modified chitosan and poly(quaternary ammonium) salt. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 119, 499–506.

ANÁLISIS POR ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJOS (FTIR) DEL EXUDADO DEL ÁRBOL DE ALGARROBO *Prosopis juliflora* (FABACEAE)

INFRARED SPECTROSCOPY (FTIR) ANALYSIS OF THE CAROB TREE EXUDATE *Prosopis juliflora* (FABACEAE)

Felipe Gallegos P.¹, Yolanda López F.² & Lorena Meneses O^{1*}

Recibido: 5 de mayo 2020 / Aceptado: 30 de junio 2020

Publicado en línea: 2 de julio de 2020

DOI: 10.26807/ia.v8i2.168

Palabras claves: *Acacia senegal*, algarrobo, FTIR, goma de algarrobo, goma arábica, *Prosopis juliflora*.

Keywords: *Acacia senegal*, arabic gum, carob tree, carob tree gum, FTIR, *Prosopis juliflora*.

RESUMEN

La goma de algarrobo es un exudado proveniente de las ramas y troncos de los árboles del género *Prosopis*, tiene una semejanza a la goma arábica y posee potenciales aplicaciones en el área farmacéutica, de alimentos, industria cos-

1 Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Escuela de Ciencias Químicas, Quito, Ecuador (edfelipe28@gmail.com; *correspondencia: lmmeneses@puce.edu.ec).

2 Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C., Hermosillo, Sonora, México (lopezf@ciad.mx)

mética, etc. El algarrobo se encuentra en regiones secas y semi secas del Ecuador. En el presente trabajo se analizaron por espectroscopia FTIR, tres muestras de goma de algarrobo y una muestra de goma arábica grado alimenticio, para la obtención y comparación de espectros. Las muestras provenientes del árbol *Prosopis juliflora*, fueron recolectadas en tres áreas de la provincia de Manabí-Ecuador: Bahía de Caráquez (Zona 1), Portoviejo (Zona 2) y Puerto López (Zona 3). Se obtuvieron espectros FTIR de cada una de las muestras y se compararon con espectros de la bibliografía. Los espectros de infrarrojos presentaron semejanza entre los dos tipos de gomas, algarrobo y arábica, así como con los de la bibliografía; se efectuó una comparación analítica entre los dos tipos para la obtención de porcentajes de correlación, estos fueron de 80,37; 79,83 y 79,66 % para las zonas 1, 2 y 3 respectivamente. Los resultados obtenidos abren una línea de investigación para la posible utilización de la goma de algarrobo ecuatoriana como una nueva y accesible alternativa al uso de la goma arábica.

ABSTRACT

Carob tree gum is an exudate obtained from the stems and branches of *Prosopis* trees. It is a natural product with potential applications in food, pharmaceutical, cosmetic industry, etc. It is found in dry and semi dry regions of Ecuador. In the present work, samples originated from *Prosopis juliflora* tree, collected from three zones of Manabí, province of Ecuador: Bahía de Caráquez (Zone 1), Portoviejo (Zone 2) and Puerto López (Zone 3), and one sample of arabic gum, food grade from *Acacia senegal* tree used as reference, were analyzed by infrared spectroscopy, to obtain and compare the spectrums of the each one of the samples. Infrared spectrums of both gums were obtained and compared with bibliography. The FTIR spectra exhibited a good correlation between the two types of gums and with the literature; an analytical comparison was made to obtain the correlation percentage between both gums. The results were 80.37, 79.83 and 79.66 % for 1, 2 and 3 zones, respectively. Thus, a research line is open for the possible use of carob gum, as a new alternative and accessible, instead of arabic gum.

INTRODUCCIÓN

Se denomina exudado vegetal a toda aquella sustancia, goma, látex o resina, que es producida y expulsada en estado líquido por una planta ya sea por estrés natural o daños físicos (Goswami y Naik, 2014).

La goma de algarrobo y la goma arábiga se definen como exudaciones gomosas de leguminosas, presentes en áreas áridas y semiáridas. La primera es obtenida a partir de la corteza y ramas del árbol *Prosopis juliflora*, o especies relacionadas al género *Prosopis*, procedente de América del Norte. La segunda, a partir de los árboles de *Acacia senegal* o *seyal*, originarias de África del Norte (Vernon, Beristain y Pedroza, 2000).

Las gomas naturales cumplen diferentes funciones en diversas áreas de la química. En el área de alimentos se emplea en la fabricación de caramelos y como emulsificante, en la encapsulación de saborizantes y como estabilizante en bebidas, además, en la industria farmacéutica en la elaboración de pastillas, como medio de transporte de algunos fármacos o como aglutinante, entre otras (López, Goycoolea, Wang, 2009).

En las gomas se encuentran compuestos fenólicos, que son sustancias con anillos bencénicos en su estructura. Estos compuestos ayudan al correcto funcionamiento del sistema vegetal y actúan como mecanismos de defensa ante agentes patógenos. Así mismo, el consumo de productos con alto contenido fenólico favorece al cuerpo humano, al actuar como antioxidantes y como parte de la defensa en el sistema inmune. La ingesta diaria reduce la incidencia de enfermedades cardiovasculares, diabetes, cáncer y alergias; los polifenoles actúan como inhibidores de radicales libres en la sangre protegiendo el ADN e inactivando enzimas involucradas en procesos degenerativos (Ozcan, Akpınar, Ersan y Delikanlı, 2014).

La goma de algarrobo tiene un alto reconocimiento en México y se conoce como goma de mezquite. Ha contribuido económicamente a muchas comunidades del centro norte de México y sur de Estados Unidos, por lo que actualmente la goma de mezquite ha ganado un alto interés en el uso industrial (Vernon et al., 2000).

Para el caso ecuatoriano, la comercialización de la goma de algarrobo es nula. En la provincia de Manabí existe un cierto reconocimiento, por los lugareños, de que esta exudación permite combatir afecciones estomacales.

El Ecuador posee amplias regiones áridas y semiáridas ubicadas en su mayoría en la región costa, con una extensión aproximada de 9593,82 km² (Verbist, Santibañez, Gabriels y Soto, 2010). Burghardt, Brizuela, Pía, Albán y Palacios (2010), estudiaron la presencia del género *Prosopis* en las costas de Ecuador y Perú, hallando varias especies de *Prosopis* en Manabí, Guayas y El Oro, y también en la zona de Loja.

El aprovechamiento de estas especies para la obtención de goma de algarrobo y la evaluación de ésta como

posible sustituto de la goma arábica, debe ser puesto en consideración. Lo anterior fomentaría la implementación de bosques de algarrobo en las zonas semiáridas y áridas del país, además del uso de las zonas actuales.

Debido a la semejanza, tanto de estructura química y fisicoquímica, entre la goma arábica y la goma de algarrobo, ésta última supone una nueva forma de satisfacer la demanda de este tipo de aditivos ante el crecimiento industrial que se vive en los últimos años (Armijos, 2016). En el presente estudio se propone analizar soluciones metanólicas de goma o exudado de algarrobo (*Prosopis juliflora*) ecuatoriana y comparar con la goma arábica (*Acacia senegal*), por medio de espectroscopia de infrarrojos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de Muestras

Tres zonas ecuatorianas fueron muestreadas: Bahía de Caráquez (Zona 1), Portoviejo (Zona 2) y Puerto López (Zona 3). La recolección de muestras

de goma algarrobo se efectuó según las metodologías propuestas por Hassan (2008), Yebeyen, Lemenih y Feleke (2009), Kauther y Hussien (2018) y Sibaja (2015); para ello se eligieron al azar 20 árboles de cada

zona que presentaron evidencia física de goma. Las gomas fueron limpiadas, trituradas y almacenadas. Además, se adquirió una muestra de goma arábica grado alimenticio.

Análisis por espectroscopia IR

La caracterización por espectroscopia FTIR, fue realizada en los laboratorios de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

Se llevó a cabo una extracción metanólica de cada una de las muestras de goma, siguiendo las metodologías descritas por Mohammedelnour, et. al (2017).

Se pesaron 5 g de cada una de las muestras de goma de algarrobo triturada y arábica, en una balanza analítica marca Mettler Toledo ML204. Se disolvieron en 50 mL de metanol

absoluto (Sigma Aldrich). Se maceró por 48 horas a oscuras evitando el contacto con la luz. Las soluciones fueron filtradas a vacío con papel filtro cuantitativo (MN 640 m). Las soluciones resultantes se concentraron a 40 °C en una estufa, marca Binder ED 115, hasta eliminar completamente el metanol.

Se empleó un equipo de espectroscopia de infrarrojos Perkin Elmer BX, ATR miracle. Mediante el software Sprettrum se leyó el espectro de fondo y seguido se realizaron las lecturas de los extractos de cada una de las muestras de goma. Se obtuvieron los espectros infrarrojos en transmitancia %T. Finalmente, se transformaron los espectros a unidades de absorbancia (U.A) para una mejor apreciación de bandas y posterior comparación con espectros reportados en la literatura.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se presentan las tres zonas de muestreo seleccionadas para este estudio, así como algunas

características geográficas de cada una de ellas.

Tabla 1. Ubicación de las zonas de muestreo en la provincia de Manabí para la obtención de la goma de algarrobo

N°	Ubicación	Coordenadas	Rango de Temperatura (junio-julio)	Promedio de lluvia (junio-julio)
Zona 1	Bahía de Caráquez, San Vicente.	Latitud:0°36'16.45"S Longitud:80°23'58.71"O	23,0 – 30,0 °C	0,0 – 1,1 mm
Zona 2	Portoviejo, Jardín Botánico de la Universidad Técnica de Portoviejo	Latitud:1° 2'32.24"S Longitud:80°27'10.99"O	17,0 – 32,0 °C	0,0 – 0,4
Zona 3	Puerto López, Bosque seco de Algarrobo	Latitud:1°31'52.61"S Longitud: 80°44'32.41"O	21,0 – 31,0 °C	0,0 – 0,5 mm

Se programaron las fechas de recolección, en la provincia de Manabí, entre los meses junio y julio del 2018. Cabe recalcar que las edades de los árboles de la zona 1 y zona 2 fueron similares, de 5 a 10 años, mientras que la zona 3 contiene árboles de edades jóvenes de 3 a 5 años; esto con el objetivo de observar diferencias de composición entre las gomas (Inamhi, 2018).

Análisis por espectroscopia IR

Las Figuras 1 a 4 muestran los espectros de infrarrojo obtenidos a partir del análisis de los extractos de tres muestras de goma de algarrobo y de goma arábica. Cada una de ellas está representada por absorbancia versus el número de onda (cm⁻¹), en los cuales se identifican las bandas más significativas.

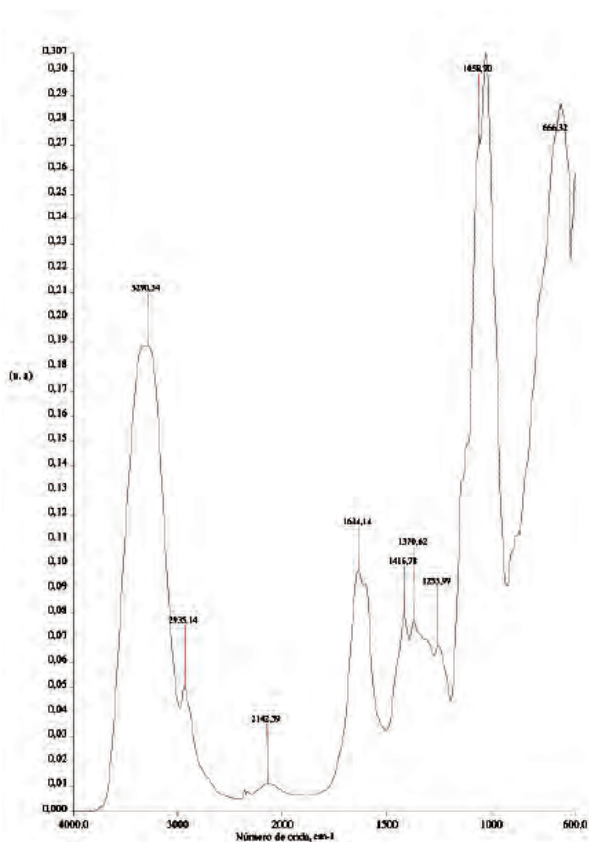


Figura 1. Espectro infrarrojo, absorbancia versus longitud de onda, para la goma de algarrobo de la zona 1, Bahía de Caráquez

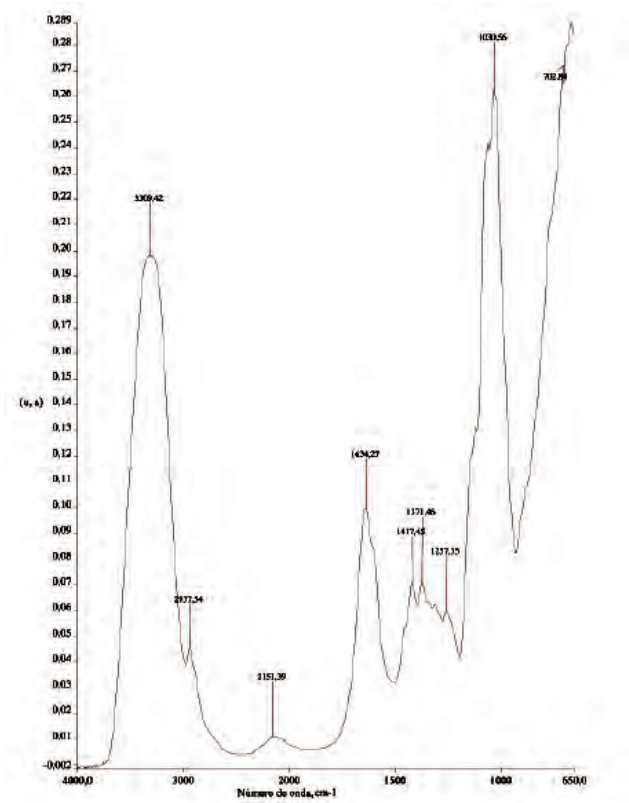


Figura 2. Espectro infrarrojo, para la goma de algarrobo de la zona 2, Portoviejo

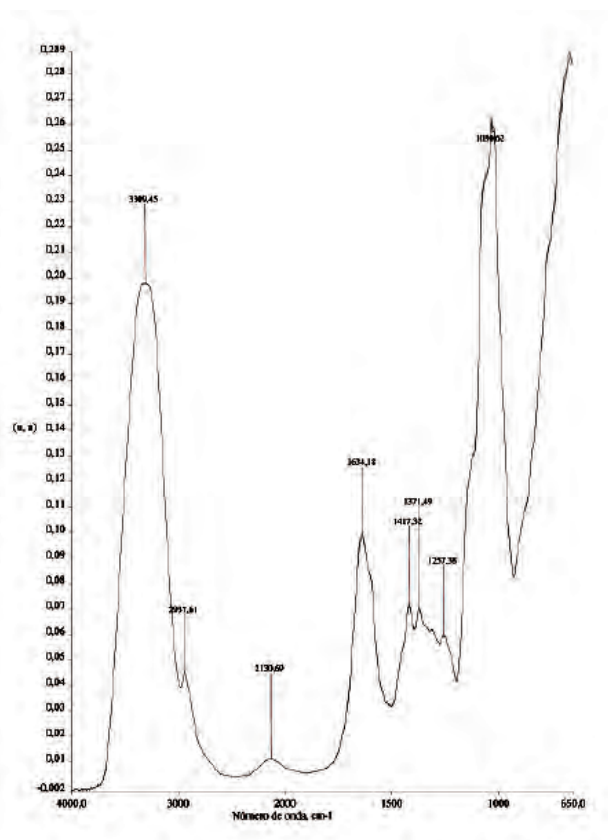


Figura 3. Espectro infrarrojo, para la goma de algarrobo zona 3, Puerto López

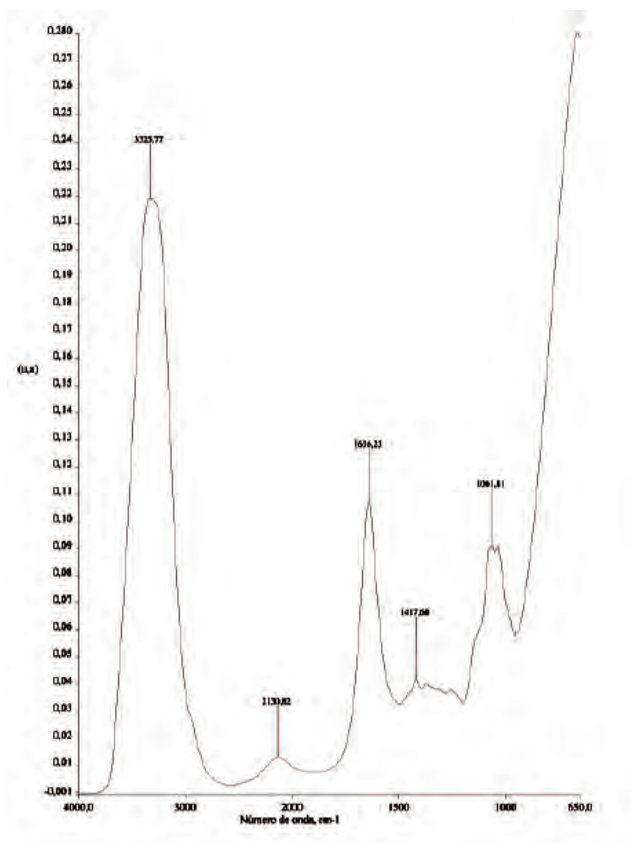


Figura 4. Espectro infrarrojo, para la goma arábiga grado alimenticio

DISCUSIÓN

En el presente trabajo se analizaron los compuestos fenólicos encontrados en los extractos de goma arábica y algarrobo. Entre los picos sobresalientes y relacionados en bibliografía, están los grupos fenólicos a $3210 \sim 3320 \text{ cm}^{-1}$ (Vasile, Romero, Judis y Mazzobbre, 2016). Otra banda característica es la del grupo de los alcanos, en este caso polímeros de carbohidratos, con frecuencias de $2939 \sim 2946 \text{ cm}^{-1}$ encontrado en todas las gomas de algarrobo, menos en la muestra de goma arábica (López, Córdova, Goycoolea, Valdez, Onofre y Mendoza, 2012). Esto se debe a la presencia de moléculas de agua en la mezcla, lo que usualmente genera una expansión de la señal del grupo O-H solapando otras absorciones de importancia (Palencia, 2018). La aplicación de la segunda derivada ayuda a la separación de picos solapados, sin embargo al ser un procedimiento matemático este posee limitaciones, lo cual podría resultar en una distorsión del espectro (Rieppo, Saarakkala, Närhi, Helminen, Jurvelin y Rieppo. 2012). Los picos $1629 \text{ a } 1663 \text{ cm}^{-1}$ demuestran la presencia de flavonoides y grupos carbonilo (Vasile et al., 2016). Los

picos entre los 1300 y los 1400 cm^{-1} también son equiparables con bibliografía, representando a los enlaces C-C para aromáticos y alcanos (Udo, Odoemelam y Okon, 2017). La banda a 1014 cm^{-1} , indica estiramientos en enlaces C-O (Bashir y Haripriya, 2016).

Bashir y Haripriya, (2016) señalan que los picos a 1400 cm^{-1} son debido a ácidos urónicos y residuos de ácidos carboxílicos; de igual manera establecen que los picos correspondientes a 1014 cm^{-1} podrían ser descritos como moléculas de arabinogalactanas.

La comparación analítica de espectros, entre los tres extractos de las muestras de goma de algarrobo contra el de la muestra de goma arábica comercial, presentó un porcentaje de correlación de 80,37 % para la goma de la zona 1, 79,83 % para la goma de la zona 2 y 79,66 % para la goma de la zona 3. La baja de resolución de los picos y la falta del pico entre $2939 \sim 2946 \text{ cm}^{-1}$ en la goma arábica generaron una disminución en el porcentaje de correlación. De igual

forma, los espectros entre la goma de algarrobo joven, zona 3, y la goma de algarrobo madura, zonas 1 y 2, fueron similares, por lo que se puede decir que su estructura química es semejante. De este modo, la composición orgánica no varía con el tiempo de vida del árbol, si no que varía la cantidad de agua y minerales con la cual es exudada, los cuales son aprovechados para el crecimiento del árbol.

La buena correlación entre los espectros de los extractos de goma arábica y goma de algarrobo, demuestran una estructura química y de composición similares. De igual manera, al comparar los espectros de goma de algarrobo con trabajos relacionados, se puede encontrar una similitud tanto para goma arábica como para goma de algarrobo (López et al., 2012; Vasile et al., 2016; Elbadawi, Alsabab, y Abuelhassan, 2018).

Por otro lado, se debe mencionar que las disoluciones acuosas de goma de algarrobo presentaron una coloración más oscura que la de goma arábica. La coloración está relacionada con la cantidad de taninos condensados en las gomas, los cuales provienen de las proantocianidinas. A mayor intensidad, mayor el contenido (Sibaja, 2015). Del mismo modo el trabajo propuesto por Vasile, Romero, Judis, Mattalloni, Virgolini, y Mazzobre, (2019) demostraron un alto contenido de taninos respecto a la goma arábica. Las proantocianidinas son compuestos fenólicos o polímeros de flavonoides encontrados en gran variedad de plantas. Son las responsables de otorgar propiedades antioxidantes y consecuentemente una coloración café-rojiza (IBQ, 2014). En base a este estudio, se deduce que la goma de algarrobo posee un mayor contenido fenólico en relación a la goma arábica.

CONCLUSIÓN

El estudio por espectroscopia de infrarrojos demostró que los espectros de las tres muestras de goma de algarrobo y de la goma arábica grado alimenticio son comparables, por lo

que comparten una estructura química similar. Los porcentajes de correlación demuestran un valor de alrededor del 80 %, considerado relativamente elevado.

La variación de edad de los árboles, entre 3 a 10 años, no influye en la estructura química de la goma de algarrobo, los espectros de las gomas de las zonas 1, 2 y 3 fueron semejantes entre ellos.

De igual forma los espectros y la identificación de picos, obtenidos experimentalmente, fueron comparables con espectros encontrados en bibliografía para la goma de algarrobo y goma arábica.

Los resultados obtenidos representan una línea base para el desarrollo de conocimiento en relación a las posibles aplicaciones de la goma de algarrobo, como alternativa de uso de la goma arábica comercial. Esto generaría beneficio para la comunidad ecuatoriana, además de fomentar el aprovechamiento de los recursos que existen en las regiones áridas y semi-áridas del país.

LISTA DE REFERENCIAS

- Armijos, S. (2016). Bebidas. El sector se inclina a lo natural. Vistazo, Proyectos Especiales Industrias. Recuperado de: <http://anfab.com/wp/wp-content/uploads/2016/08/SUPLEMENTO-REVISTA-VISTAZO-agosto-2016-386.pdf>
- Bashir, M. y Haripriya, S. (2016). Assessment of physical and structural characteristics of almond gum. *International Journal of Biological Macromolecules*. 93, 476-482.
- Burghardt, A., Brizuela, M., Pía, M., Albán, L. y Palacios, R. (2010). Análisis numérico de las especies de *Prosopis* L. (Fabaceae) de las costas de Perú y Ecuador. *Revista Peruana de Biología*. 17(3), 317-323.
- Elbadawi, A., Alsabab, Y. y Abuelhassan, H. (2018). Physical and Electrical Properties of Gum Arabic. En A. Abdalbasit (Ed.). *Gum Arabic: Structure, Properties, Application and Economics* (pp. 75-89). London: Academic Press. Elsevier.

- Goswami, S. y Naik, S. (2014). Natural gums and its pharmaceutical application. *Journal of Scientific and Innovative Research*. 3(1), 112-121.
- Hassan, M. (2008). Comparison of the Physiochemical Properties of Gum Arabic (Acacia Senegal L.) Produced in Sandy and Gardude soils in Sudan. (Tesis de Maestria). Universidad de Gezira. Egipto.
- Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología Ecuador, Inamhi. (2018). Anuarios Meteorológicos. Inamhi. Recuperado de: http://www.serviciometeorologico.gob.ec/docum_institucion/anuarios/meteorologicos/
- Instituto Químico Biológico, IBQ. (2014). Proantocianidinas. IBQ España. Recuperado de: <http://www.iqb.es/monografia/fichas/proantocianina.htm>
- Kauther, A. y Hussien, D. (2018). Physicochemical and Funcional Properties of the Gum Arabic from Acacia Senegal. *Annals. Food Science and Technology*. 19(1), 27-34.
- López, Y., Córdova, R., Goycoolea, F., Valdez, M., Onofre, J. y Mendoza, J. (2012). Classification and physicochemical characterization of mesquite gum (*Prosopis* spp.). *Food Hydrocolloids*. 26, 159-166.
- López, Y., Goycoolea, F. y Wang, W. (2009). Other exudates: tragacanth, karaya, mesquite gum and larchwood arabinogalactan. En G. Phillips y P. Williams (Ed.). *Handbook of Hydrocolloids* (pp. 495-534) Cambridge: Woodhead Publishing.
- Mohammedelnour, A., Mirghani, M., Kabbashi, N., Alam, Z., Musa, H. y Abdullah, A. (2017). Effect of solvent types on phenolics content and antioxidant activities of Acacia polyacantha gum. *International Food Research Journal*. 24, 369-377.
- Ozcan, T., Akpınar, A., Ersan, L. y Delikanli, B. (2014). Phenolics in Human Health. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*. 5(5), 393-396.
- Palencia, M. (2018). Functional transformation of Fourier-transform mid-infrared spectrum for improving spectral specificity by simple algorithm based on wavelet-like functions. *Journal of Advanced Research*. 14, 53-62.

- Rieppo, L., Saarakkala, S., Närhi, T., Helminen, H., Jurvelin, J. y Rieppo, J. (2012). Application of second derivative spectroscopy for increasing molecular specificity of Fourier Transform infrared spectroscopic imaging of articular cartilage. *Osteoarthritis Research Society International*. 20(5), 451-459.
- Sibaja, R. (2015). *Propiedades Fisicoquímicas y Funcionales de las Gomas de Acacia cochliacantha y Acacia farnesiana*. (Tesis de Doctorado). Instituto Politécnico Nacional. México.
- Udo, I., Odoemelam, S. y Okon, E. (2017). Physicochemical and FTIR studies on Acacia senegal and Anacardium occidentale blends. *Journal of Industrial and Environmental Chemistry*. 1(1), 31-35.
- Vasile, F., Romero A., Judis, M. y Mazzobre, M. (2016). Prosopis alba exudate gum as excipient for improving fish oil stability in alginate–chitosan beads. *Food Chemistry*. 190, 1093-1101.
- Vasile, F., Romero, A., Judis, M., Mattalloni, M., Virgolini, M. y Mazzobre, M. (2019). Phenolics composition, antioxidant properties and toxicological assessment of *Prosopis alba* exudate gum. *Food Chemistry*. 285, 369-379.
- Verbist, K., Santibañez, F., Gabriels, D. y Soto, G. (2010). *Atlas de zonas áridas de América Latina y el Caribe*. Recuperado de <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000216333>
- Vernon, E., Beristain, C. y Pedroza, R. (2000). Mesquite gum (Prosopis gum). *Developments in Food Science*. 41, 217-238.
- Yebeyen, D., Lemenihb, M. y Feleke, S. (2009). Characteristics and quality of gum arabic from naturally grown Acacia senegal (Linne) Willd. trees in the Central Rift Valley of Ethiopia. *Food Hydrocolloids*. 23, 175-180.

CUANTIFICACIÓN DE PLOMO EN CERVEZA ARTESANAL MEDIANTE VOLTAMETRÍA DE REDISOLUCIÓN ANÓDICA CON PULSO DIFERENCIAL SOBRE ELECTRODO DE DIAMANTE DOPADO CON BORO

LEAD CUANTIFICATION ON CRAFT BEER BY DIFFERENTIAL PULSE ANODIC STRIPPING VOLTAMMETRY ON BORON-DOPED DIAMOND ELECTRODE

Ricardo Borja¹, Lenys Fernandez^{1,*} & Patricio Espinoza-Montero^{1,*}

Recibido: 30 de abril 2020 / Aceptado: 30 de junio 2020

Publicado en línea: 17 de julio 2020

DOI: 10.26807/ia.v8i2.166

Palabras Clave: Cerveza Artesanal; DPASV; FAAS; Plomo

Key Words: Craft Beer, DPASV; FAAS; Lead

RESUMEN

Se reporta el estudio del contenido de Pb(II) en seis marcas de cervezas artesanales de la ciudad de Quito-Ecuador, utilizando Voltametría de Redisolución

¹ Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Escuela de Ciencias Químicas, Quito, Ecuador (ricardo-1395@hotmail.com; *correspondencia: pespinoza646@puce.edu.ec; lmfernandez@puce.edu.ec)

Anódica con Pulso Diferencial (DPASV, por sus siglas en inglés), diamante dopado con boro (BDD, por sus siglas en inglés) como electrodo de trabajo y buffer de acetato como solución electrolítica. La caracterización del BDD se llevó a cabo mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM, por sus siglas en inglés) y Voltamperometría Cíclica (VC). Los resultados por SEM mostraron que la superficie de electrodos de BDD es rugosa y granular, la cual presentó una baja corriente capacitiva y una respuesta electroquímica quasi-reversible frente al par redox Ferri/Ferrocianuro de potasio. El método se optimizó en un rango lineal entre 0,3-1,3 mg L⁻¹, se obtuvo repetibilidad con un RSD del 4,56 %, reproducibilidad del 9,19 % y límite de detección de 0,020 mg L⁻¹. Las cervezas analizadas fueron etiquetadas como A, B, C, D, E y F, preservando así la identidad de las marcas que participaron en el estudio. Las muestras de cerveza B, C, D y E cumplen con la normativa NTE INEN 2262 para Pb(II) con una concentración por debajo de su límite máximo permitido de 0,1 mg L⁻¹; mientras las muestras A y F exceden del límite máximo permisible. El método se validó mediante la comparación de los resultados obtenido por DPASV y Espectroscopia de Absorción Atómica por Llama (FAAS, por sus siglas en inglés), donde pruebas *t-student* indican que no hay diferencia significativa para la determinación del Pb(II) entre los métodos. Se concluye que la técnica de DPASV es una alternativa efectiva para la determinación de Pb(II) en cervezas artesanales.

ABSTRACT

Lead content was determined in six brands of craft beers from Quito-Ecuador, using Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry (DPASV), boron-doped diamond (BDD) as working electrode and acetate buffer as electrolytic solution. BDD was characterized using Scanning Electron Microscopy (SEM) and Cyclic Voltammetry (CV). The SEM results showed that its surface is rough and granular, where it presented a low capacitive current and a quasi-reversible electrochemical response against the Potassium Ferri/Ferrocyanide redox pair. The method was optimized with defined electrochemical signals from the analyte, a linear range between 0.3 - 1.3 mg L⁻¹, repeatability with RSD of 4.56 %, reproducibi-

lity with RSD of 9.19 % and a detection limit of 0.020 mg L⁻¹. The analyzed beers were labeled A, B, C, D, E and F, to preserve the brand identity for this study. Samples B, C, D and E comply with the NTE INEN 2262 norm for lead, whose value is below its maximum allowed limit of 0.1 mg L⁻¹; while samples A and F exceed that limit. The method was validated by comparing results with respect to Flame Atomic Absorption Spectrophotometry (FAAS), where the t-student test indicates that there was no significant difference for both methods. It is concluded that the DPASV technique is an effective alternative for the determination of lead in craft beers.

INTRODUCCIÓN

La cerveza artesanal es una de las bebidas más consumidas en el mundo; preparada de manera casera, a partir de la cebada, lúpulo, agua y levadura. Se ha incrementado su producción en los últimos años, debido a que es posible obtenerla manualmente, es decir, sin procesamiento industrial. Sin embargo, su buena calidad puede verse afectada por la presencia de metales pesados en su contenido (Passaghe et al., 2015; Corro y Vásquez, 2010).

Particularmente, el plomo, en ese contenido, puede provenir de la contaminación de la materia prima de esta bebida. El plomo es un metal pesado que puede actuar como neuro-

toxina, produciendo graves e irreversibles daños a la salud humana. Sus signos y síntomas de contaminación en seres humanos se reflejan en problemas de comportamiento, anemia y daño renal que puede ocasionar la muerte (Fennema et al., 2010).

Se han reportado varios métodos de análisis para la determinación de estos metales pesados en cervezas, tales como: Espectrofotometría de Absorción Atómica (AAS) (Bellido et al., 2000), Espectrofotometría de Emisión Atómica (AES), Espectrofotometría de Emisión Óptica – acoplado al Plasma Inducido (ICP-OES) (Matsushige y de Olivera, 1993), Espectrofotometría de Absorción Atómica con

Horno de Llama de Termospray (TS-FF-AAS) y Cromatografía Iónica (IC) (Michalski et al., 2009). Sin embargo, estas técnicas son muy costosas debido a la instrumentación compleja que las constituyen y la poca portabilidad que pueden ofrecer. Como una técnica de análisis alternativa, se utiliza de Voltametría de Redisolución Anódica (ASV, por sus siglas en inglés), la cual consiste en la aplicación de un potencial para medir la señal de corriente del analito, acumulado previamente sobre la superficie del electrodo de trabajo mediante un paso de pre-concentración potencioestático.

En el presente estudio, para obtener la señal que corresponde al analito, se utilizó voltametría de pulso diferencial (DPV, por sus siglas en inglés), en la cual se aplican pulsos de potencial que permiten medir la corriente farádica, sin interferencia de la corriente capacitiva de acumulación de carga en la superficie del electrodo (Skoog *et al.*, 2014).

Anteriormente, para la determinación electroanalítica de metales pesados, se utilizaba electrodos de trabajo de gota de mercurio (HMDE); debido a

que ofrecían la redisolución rápida del metal a partir de su superficie, amplia ventana de potencial de reducción (potenciales negativos) y bajas corrientes de fondo (corriente capacitiva) para la determinación de los analitos a escala de traza (Zapata et al., 2016). Sin embargo, su uso ya no es recomendable en estos días, debido a que el mercurio es muy tóxico. Debido a la problemática con el mercurio, se han planteado electrodos de trabajo alternativos, tales como: bismuto, materiales carbonáceos como grafito, carbón vítreo, pastas de carbono, carbono impreso y BDD. Este último es un material que contiene carbono sp^2 , generado como contaminante del carbono sp^3 del diamante al momento de doparlo con boro. El boro se inyecta durante la síntesis del diamante mediante deposición con vapor químico (CVD, por sus siglas en inglés), este se establece en la estructura cristalina del diamante, tomando el nombre BDD. Al contrario que el diamante el BDD es conductor y apropiado para ser utilizado como electrodo (Liu et al., 2016; Xu et al., 1997).

En este trabajo se reporta la cuantificación de Pb(II) en cerveza artesanal

mediante DPASV utilizando un electrodo de trabajo de BDD. Hasta el

momento no existe reportes de este tipo de estudios.

MATERIALES Y MÉTODOS

Instrumentación

Microscopio de barrido de electrones (SEM Phenom Pure) con detector de electrones secundarios; plancha de calefacción MTOP MS100 (HP 100), baño de ultrasonido Branson 3800; Potenciostato PGSTAT204 de Autolab Metrohm, celda electroquímica en forma de corazón, BDD como electrodo de trabajo, Ag/AgCl como electrodo de referencia y mina de grafito como contraelectrodo; Espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer AAnalyst 400; y pH - metro Melter Toledo.

Reactivos

Cloruro de potasio, 99,99 % (Fischer; Grado Analítico); ácido clorhídrico, 37 % (Fischer; Grado Analítico); ácido nítrico, 69,2 % (Fischer; Grado Analítico); ácido acético glacial, 99,99 % (Merck, Grado Analítico); acetato de sodio (Loba Chemie, Grado Reactivo); y ferrocianuro de potasio, 99,99 % (Merck, Grado Analítico).

Toma de muestras

Las muestras de cerveza artesanal se obtuvieron mediante un muestreo aleatorio, de bares y locales de consumo, de tres diferentes sectores de Quito-Ecuador: La "Y", La Foch y La Pradera. Las diferentes marcas de cervezas analizadas fueron etiquetadas como: A, B, C, D, E y F, preservando así la identidad de las marcas que participaron en el estudio.

Caracterización superficial del electrodo de trabajo

La superficie del electrodo de diamante dopado con boro (BDD) fue caracterizado mediante SEM, aplicando un voltaje de resolución de 15 kV para la obtención de la imagen de su topología.

Caracterización electroquímica del electrodo BDD mediante voltamperometría cíclica

La caracterización del electrodo se

realizó mediante voltamperometría cíclica, se empleó como electrolito de soporte de KCl 0,1 mol L⁻¹, un electrodo de referencia de Ag/AgCl (con KCl 3 mol L⁻¹) y un contraelectrodo de grafito.

La ventana de potencial de trabajo del electrodo fue determinada por medio de un barrido de potencial cíclico, a una velocidad de 0,1 V s⁻¹.

Se determinó la capacitancia de doble capa con el electrolito soporte en un rango de velocidad de barrido entre 0,025 – 0,125 V s⁻¹. Además, se estudió el comportamiento de transferencia de electrones del par redox Ferri/Ferro a través de la constante de velocidad de intercambio (k^0), calculado a partir de la ecuación (ec. 1) y el método de Nicholson (Nicholson, 1965); para ello se utilizó una solución de ferrocianuro de potasio 4 mmol L⁻¹ en KCl 0,1 mol L⁻¹ en un rango de velocidad de barrido de 0,01 a 0,1 V s⁻¹.

$$k^0 = \frac{\psi(\pi D_0 F \nu)^{1/2}}{(RT)^{1/2}} \quad (1)$$

Donde, k^0 es la constante de velocidad de intercambio de electrones, ψ es la función de la constante hetero-

génea de velocidad del electrón, D_0 es la constante de la especie química que realiza el proceso redox, ν es la velocidad de barrido, F es constante de Faraday, R es la constante universal de los gases y T es la temperatura (25 °C).

Validación de la determinación de Pb(II) por DPASV

Se construyó una curva de calibración de Pb(II), en un rango de concentraciones de 0,25 a 1,25 mg L⁻¹. Se determinó el rango lineal, límite de detección y cuantificación, repetibilidad, reproducibilidad y exactitud.

Tratamiento de las muestras reales

Se realizó una digestión ácida abierta, para eliminar la posible presencia de especies interferentes en las muestras de cerveza artesanal. Para esto, se tomaron alícuotas de 25 mL de la muestra, se desgasificaron mediante baño de ultrasonido, se mezclaron con HNO₃ al 67 %, se calentaron lentamente en una plancha calefactora, se aforaron a 50 mL con buffer de acetato 0,1 mol L⁻¹, a pH de 4,5; y se diluyeron en el buffer de acetato con un factor de dilución de 1:50.

Todas las muestras fueron fortificadas con soluciones estándar de Pb, a concentración conocida, de manera independiente y dentro del rango lineal establecido para este estudio (Nascentes *et al.*, 2005).

Determinación electroanalítica de Pb(II) mediante DPASV y FAAS

Las muestras fueron analizadas por DPASV y por FAAS. Los resultados obtenidos fueron comparados mediante pruebas de *t-student* para varianzas desiguales.

La detección de Pb(II) por DPASV se realizó a potencial de pulso y amplitud de 0,01 y 0,05 V respectivamente, y a tiempo de modulación e intervalo de 0,05 y 0,5 s respectivamente. En el caso de la detección por FAAS se utilizó una lámpara de cátodo hueco multielemental, a una longitud de onda de 217 nm, Slit de 0,5 a 2 mm y con flujo de aire comprimido–acetileno en proporción 10:2

RESULTADOS

Caracterización superficial del electrodo

En la Figura 1 se observa la imagen del electrodo BDD, obtenida por SEM.

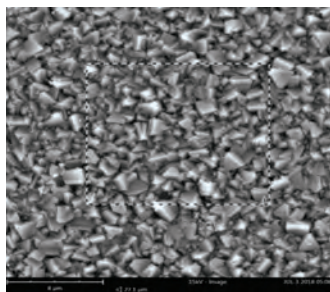


Figura 1. Imagen SEM de un electrodo de BDD

Caracterización electroquímica del electrodo

En la Figura 2, se muestra el comportamiento voltamperométrico del BDD en el medio electrolítico, con una ventana de potencial de -1,2 a 1,2 V

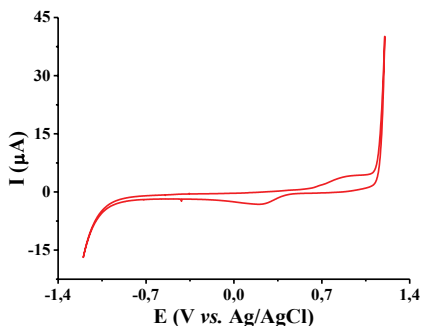


Figura 2. Voltamperograma cíclico del BDD en KCl 0,1 mol L⁻¹, a velocidad de barrido de 100 mV s⁻¹

La Figura 3 muestra una serie de voltamperogramas cíclicos sobre el electrodo de BDD, en KCl 0,1 mol L⁻¹, a diferentes velocidades de barrido y en su inserto se observa la curva de densidad de corriente vs. velocidad de barrido de los voltamperogramas anteriores.

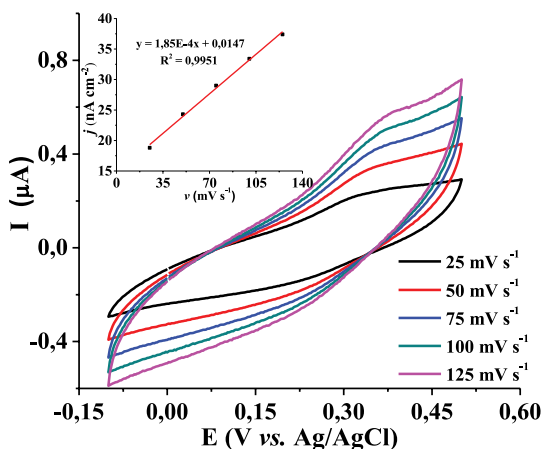


Figura 3. Voltamperogramas cíclicos del BDD en KCl mol L⁻¹ pH = 1, a distintas velocidades de barrido. Inserto, curva j vs. v , tomada a 0,16 V

La Figura 4, muestra los voltamperogramas cíclicos del electrodo BDD en solución de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ 4 mmol L⁻¹ en KCl 0,1 mol L⁻¹. A partir de esta fi-

gura se construyó la curva Intensidad de corriente vs. la raíz cuadrada de la velocidad de barrido (inserto).

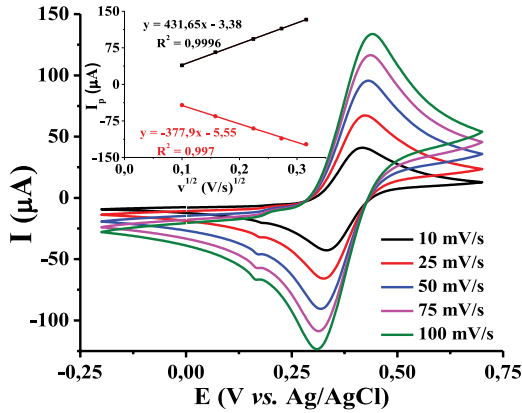


Figura 4. Comportamiento del $K_3Fe(CN)_6$ 4 mmol L^{-1} en BDD, KCl mol L^{-1} , pH = 1, a distintas velocidades de barrido. Inserto, curvas de I_p vs. $v^{1/2}$

Determinación electroanalítica de Pb(II) sobre BDD mediante DPASV

La Figura 5, muestra la señal de redisolución del Pb(II) por DPASV y en el

inserto se detalla la curva de calibración respectiva. La Figura 6 indica el estudio del efecto matriz, a partir de curvas de calibración construidas con y sin fortificación.

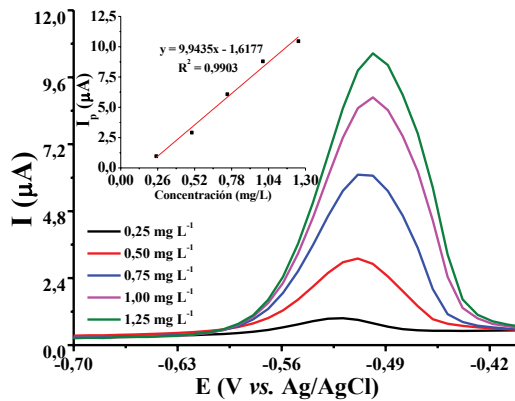


Figura 5. Voltamperograma de pulso diferencial de Pb(II) en Buffer ácido acético/acetato de sodio 0,1 M a pH = 4,5. Inserto, curva de calibración

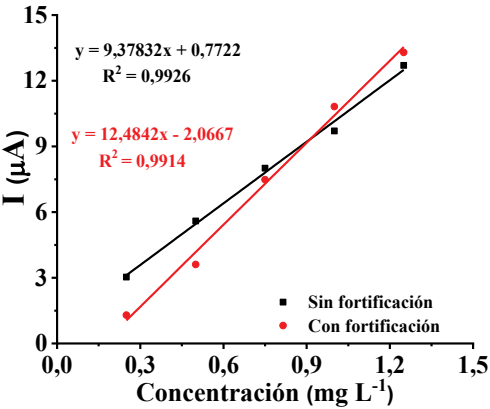


Figura 6. Curvas de calibración para Pb(II), sin y con fortificación de la muestra, por DPASV en BDD

La información de la Tabla 1, resume el comportamiento redox del $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ sobre el electrodo BDD.

Las figuras de mérito obtenidas en la evaluación del método de detección de Pb(II) por DPASV se muestran en

la Tabla 2. Mientras que en la Tabla 3, se presenta el contenido de Pb(II) analizado por DPASV y FAAS para cada muestra analizada, con el límite máximo permisible según la norma NTE INEN:2262 y su cumplimiento.

Tabla 1. Resumen de los datos de la Voltamperometría Cíclica del $K_3Fe(CN)_6$ en el electrodo de BDD

v ($mV s^{-1}$)	$E_{p/2}$ (mV)	ΔE_p (mV)	$E_{p,ox}$ (mV)	$I_{p,ox} / I_{p,red}$	k° ($cm s^{-1}$)
10	362,5	107	416	0,92	$1,52 \times 10^{-3}$
25	376,0	102	425	0,99	$2,41 \times 10^{-3}$
50	373,5	115	427	0,97	$3,41 \times 10^{-3}$
75	372,5	123	436	1,03	$2,92 \times 10^{-3}$
100	375,0	139	395	1,08	$2,41 \times 10^{-3}$

Tabla 2. Parámetros analíticos para el Pb(II), medidos por DPASV (n = 3)

Parámetro	Pb(II)
Rango lineal (mg L ⁻¹)	0,25 – 1,25
Coefficiente de correlación (R ²)	0,9903
Límite de Detección (este trabajo) (mg L ⁻¹)	0,020
Límite de Detección (FAAS, Nascentes <i>et al.</i> , 2005) (mg L ⁻¹)	0,046
Límite de Cuantificación (este trabajo) (mg L ⁻¹)	0,066
Límite de Cuantificación (FAAS, este trabajo)	0,153
Repetibilidad concentraciones bajas (%RSD) (mg L ⁻¹)	10,53
Repetibilidad concentraciones altas (%RSD)	4,56
Reproducibilidad (%RSD)	9,19

Tabla 3. Contenido de Pb(II) obtenido en diferentes marcas de cerveza artesanal

Marca	DPASV (mg L ⁻¹)	% RSD	FAAS (mg L ⁻¹)	% RSD	Lím. máx. Permitido (mg L ⁻¹)	Cumple con la norma INEN 2262 (*)
A	0,2740	4,82	0,0672	5,36	0,1000	No
B	0,0663	5,86	0,0785	3,89	0,1000	Sí
C	0,0843	4,18	0,0635	5,06	0,1000	Sí
D	0,0959	4,06	0,0955	5,43	0,1000	Sí
E	0,0448	5,6	0,0642	4,67	0,1000	Sí
F	0,1615	6,12	0,0650	5,69	0,1000	No

*El criterio expuesto se realizó al comparar con los resultados obtenidos mediante la técnica de DPASV

DISCUSIÓN

La morfología del electrodo BDD no presenta fisuras en su superficie, lo que sugiere que es apto para las determinaciones electroquímicas. El co-

lor oscuro de los cristales de diamante se asocia al dopado con boro durante su construcción y a la presencia de carbono sp², Figura 1

(Macpherson, 2015). La Figura 2 presenta una ventana de potencial de trabajo de 1,20 a -1,20 V, la cual es más estrecha que la reportada por Show *et al.* (Show *et al.*, 2003), y por Xu *et al.* para el BDD de alta calidad (Xu *et al.*, 1997). Además, se observa la señal el potencial de evolución de oxígeno a 1,2 V y la señal de desorción de oxígeno de la superficie del electrodo, a 0,3 V (Sartori *et al.*, 2018). En la Figura 3, la densidad de corriente incrementó linealmente con la velocidad de barrido con un factor de correlación de 0,9951 (inserto de la figura), se obtuvo un valor de capacitancia del electrodo es de 0,0002 $\mu\text{F cm}^{-2}$, siendo este menor al valor reportado por Dejmikova *et al.*, de 15,2 $\mu\text{F cm}^{-2}$; esta diferencia se puede asociar a la resistencia capacitiva y a la baja concentración de C-sp² que podría presentar el electrodo de BDD utilizado en el análisis (Dejmikova *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2016; Kim *et al.*, 2013). Los picos, anódico y catódico (Figura 4), son bien definidos y el potencial de oxidación y reducción varían en aproximadamente 0,1 V al incrementar la velocidad de barrido, lo que indica que no hay complicaciones cinéticas en el proceso redox del par ferri-ferro

(Fe(CN)₆^{3-/4-}) sobre la interfase del BDD (Yu *et al.*, 2012). La variación lineal de la corriente, tanto anódica como catódica, con respecto a la raíz cuadrada de la velocidad de barrido (inserto de la Figura 4), indica que la reacción redox sobre la superficie del BDD, es química y electroquímicamente reversible, y está controlada por la difusión lineal semi-infinita del Fe(CN)₆^{3-/4-} (Show *et al.*, 2002). Debido a que el comportamiento redox del Fe(CN)₆^{3-/4-} está gobernado por un proceso de transferencia de electrones de esfera interna, la fracción expuesta de carbono C-sp² sobre el BDD lo hace un electrodo muy sensible a la limpieza, no obstante, el comportamiento obtenido, sugiere que el BDD utilizado respondió efectivamente al proceso electroquímico sometido (Show *et al.*, 2002). El aumento ligeramente con el incremento de la velocidad de barrido (Tabla 1), indicando un control adecuado de la caída óhmica (resistencia del electrodo) y la ausencia de complicaciones cinéticas ocasionadas por reacciones químicas que pudiesen ocurrir en el medio electrolítico, la presencia de oxígeno o modificaciones superficiales del electrodo a niveles microscópicos (García – Jareño *et al.*, 1998;

Swain, 2004). Los valores de k° varían ligeramente al incrementar la velocidad de barrido, lo cual es característico de electrodos rugosos como el BDD (Fischer et al., 2004; Alehashem et al., 1995). Estos valores están dentro del rango de 1×10^{-6} a $1 \times 10^{-2} \text{ cm s}^{-1}$, particular del BDD de alta calidad frente al sistema redox $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ (Granger et al., 2000). La Figura 5 muestra la señal de redisolución del plomo por PDV, donde se observa una señal simétrica que aumenta con la concentración de plomo en solución, con un factor de correlación de 0,9903 y una sensibilidad de $9,9 \text{ mA/mg L}^{-1}$ (inserto de la figura), lo que demuestra un comportamiento lineal favorable de la señal medida con la concentración de Pb en solución. En el estudio de efecto matriz, Figura 6, se encontró que hay poca influencia de la matriz, donde se encuentra la cerveza, sobre las medidas, ya que no hay diferencia significativa en la sensibilidad de la curva de calibración cuando la muestra se encuentra en presencia de los estándares fortificados a cuando se está en ausencia de ellos (Pretty et al., 1990; Brooksh y Kovalski, 1994). De acuerdo con estos resultados, se utilizó la ecuación de la curva con

fortificación para la cuantificación de las muestras. El LD y LC obtenido por DPASV, son más bajos con respecto a la técnica de FAAS, Tabla 2 (Nascentes et al., 2005). En los estudios de repetibilidad y reproducibilidad del método, para un análisis por triplicado, se encontró que la señal es repetible (RSD de 4,56 %) sólo a concentraciones altas de la curva de calibración (curva optimizada) y reproducible para la detección en cerveza, a concentración de $0,875 \text{ mg L}^{-1}$, con un RSD de 9,19 %. La Tabla 3, muestra que cervezas etiquetadas como B, C, D y E cumplen con la normativa NTE INEN 2262, ya que no exceden el límite máximo permisible por esta norma, sugiriendo que el tratamiento de la muestra fue efectivo para la eliminación de la matriz orgánica (Matusiewicz y Kopras, 1997). Por otro lado, las cervezas A y F exceden del límite máximo permitido de Pb(II) para esta normativa. Sin embargo, debemos destacar que el valor permisible para Pb(II) en la norma NTE INEN 2262 es menor con respecto a la normativa mundial del Office International de la Vigne et du Vin (OIV, 2014; Ghanjaoui et al., 2011), el cual se establece de $0,2 \text{ mg L}^{-1}$. De acuerdo a la prueba estadís-

tica *t-student*, no hay diferencia significativa en la comparación de los resultados obtenidos por DPASV con

respecto a lo obtenido por FAAS, en la determinación de contenido del Pb(II) en cerveza artesanal.

CONCLUSIÓN

La caracterización superficial y electroquímica del electrodo de BDD sugieren que éste es un electrodo apto para su empleo en la determinación de Pb en muestras de cervezas artesanales. La DPASV sobre electrodos de BDD, es una técnica alternativa, innovadora y apropiada para la determinación de Pb(II) en muestras de cerveza artesanal de la ciudad de Quito, Ecuador. Los resultados obtenidos con el método optimizado por

DPASV no mostraron diferencia significativa con resultados obtenidos por FAAS. Las muestras de cerveza B, C, D y E cumplen con la normativa NTE INEN 2262 para Pb(II) al tener un valor por debajo del límite máximo permitido por esta norma. Mientras, las muestras A y F no cumplen con la normativa ecuatoriana, pero si con la normativa internacional.

LISTA DE REFERENCIAS

- Bellido, D., Moreno, J. y Hernández, M. (2000) Differentiation and classification of beers with flame atomic spectrometry and molecular absorption spectrometry and sample preparation assisted by microwaves. *Spectrochimica Acta Part B* 55, 855 – 864.
- Booksh, K. S., y Kowalski, B. R. (1994). Theory of analytical chemistry. *Analytical Chemistry*, 66(15), 782A–791A. doi: 10.1021/ac00087a001
- Corro, M. y Vásquez, V. (2010) Control automático con lógica difusa de la producción de cerveza artesanal en las etapas de maceración y cocción. *Scientia Agropecuaria (1)* 125 – 137.

- Dejmkova, H., Scampicchio, M., Zima, J., Barek, J., y Mannino, S. (2009). Determination of Total Phenols in Foods by Boron Doped Diamond Electrode. *Electroanalysis*, 21(9), 1014–1018. doi:10.1002/elan.200804508
- El Tall, O., Jaffrezic-Renault, N., Sigaud, M., y Vittori, O. (2007). Anodic Stripping Voltammetry of Heavy Metals at Nanocrystalline Boron-Doped Diamond Electrode. *Electroanalysis*, 19(11), 1152–1159. doi:10.1002/elan.200603834
- Garcia-Jareno, J. J., Benito, D., Navarro-Laboulais, J. y Vicente, F. (1998). Electrochemical Behavior of Electrodeposited Prussian Blue Films on ITO Electrode: An Attractive Laboratory Experience. *Journal of Chemical Education*, 75(7), 881. <https://doi.org/10.1021/ed075p881>
- Ghanjaoui, M., Srji, M., Hor, M. Serdaoui, F. y El Rhazi, M. (2012). Fast procedure of lead determination in alcoholic beverages. *J. Mater Envriron. Sci.* 3 (1), 85–90.
- Izah, S.; Inyang, I.; Angaye, T. y Okowa, T. (2016) A Review of Heavy Metal Concentration and Potential Health Implications of Beverages Consumed in Nigeria. *Toxics*. 5, 1.
- Liu, D., Gou, L., Xu, J., Gao, K., y Kang, X. (2016). Investigations on etching resistance of undoped and boron doped polycrystalline diamond films by oxygen plasma etching. *Vacuum*, 128, 80–84. doi: 10.1016/j.vacuum.2016.03.012
- Lukinac, J., Mastanjević, K., Mastanjević, K., Nakov, G., y Jukić, M. (2019). Computer Vision Method in Beer Quality Evaluation—A Review. *Beverages*, 5(2), 38. doi:10.3390/beverages5020038
- Macpherson, J. V. (2015). A practical guide to using boron doped diamond in electrochemical research. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 17(5), 2935–2949. doi:10.1039/c4cp04022h
- Magnusson, B. y Oenemark, U. (Eds.) (2014) *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics* (2da Edición).

- Matsushigue, I. y de Oliveira, E. (1993) Determination of trace elements in Brazilian beers by ICP-AES. *Food Chemistry* 47, 205 – 207.
- Matusiewicz, H., & Kopras, M. (1997). Methods for Improving the Sensitivity in Atom Trapping Flame Atomic Absorption Spectrometry: Analytical Scheme for the Direct Determination of Trace Elements in Beer. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 12(11), 1287–1291. doi:10.1039/a704407k
- Michalski, R. (2009). Applications of Ion Chromatography for the Determination of Inorganic Cations. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 39(4), 230–250. doi:10.1080/10408340903032453
- Nascentes, C., Kamogawa, M., Fernandes, K., Arruda, M., Nogueira, A. y Nobrega, J. (2005). Direct determination of Cu, Mn, Pb and Zn in beer by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta part B*. 60, 749 – 753.
- NTE INEN 2262:2003, Bebidas alcohólicas, Cerveza, Requisitos.
- Organisation Internationale de la Vigne et du Vin (OIV) (2014), Annexe C - Limites maximales acceptables de divers éléments contenus dans le vin, OIV-MA-C1-01, Volume 2, Paris, France
- Passaghe, P., Bertoli, S., Tubaro, F., y Buiatti, S. (2015). Monitoring of some selected heavy metals throughout the brewing process of craft beers by inductively coupled plasma mass spectrometry. *European Food Research and Technology*, 241(2), 199–215. doi:10.1007/s00217-015-2445-7
- Pretty, J. R., Evans, E. H., Blubaugh, E. A., Shen, W.-L., Caruso, J. A., y Davidson, T. M. (1990). Minimisation of sample matrix effects and signal enhancement for trace analytes using anodic stripping voltammetry with detection by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry and inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 5(6), 437. doi:10.1039/ja9900500437

- Sartori, A., Orlando, S., Bellucci, A., Trucchi, D., Abrahimi, S., Boehme, T. y Buijnsters, J. G. (2018). Laser-Induced Periodic Surface Structures (LIPSS) on Heavily Boron-Doped Diamond for Electrode Applications. *ACS Applied Materials & Interfaces*.doi:10.1021/acsami.8b15951
- Show, Y., Witek, M. A., Sonthalia, P., y Swain, G. M. (2003). Characterization and electrochemical responsiveness of boron-doped nanocrystalline diamond thin-film electrodes. *Chemistry of Materials*, 15(4), 879–888. <https://doi.org/10.1021/cm020927t>
- Skoog, D. West, D., Holler, F. y Crouch, S. (2014). *Fundamentals of Analytical Chemistry*. 9na Edición. Cengage Learning. Estados Unidos
- Swain, G. M. (2004). Chapter 4 Electroanalytical applications of diamond electrodes. Semiconductors and Semimetals, 121–148.doi:10.1016/s0080-8784(04)80016-4
- Xu, J., Granger, M. C., Chen, Q., Strojek, J. W., Lister, T. E., y Swain, G. M. (1997). Peer Reviewed: Boron-Doped Diamond Thin-Film Electrodes. *Analytical Chemistry*, 69(19), 591A–597A. doi:10.1021/ac971791z
- Yú, Z., Wang, J., Wei, Q., Meng, L., Hao, S., y Long, F. (2013). Preparation, characterization and electrochemical properties of boron-doped diamond films on Nb substrates. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 23(5), 1334–1341. doi:10.1016/s1003-6326 (13)62601-1
- Zapata, E.; Gazcón, N. y Flores, L. (2016) A direct method for the determination of lead in beers by differential pulse polarography-anodic stripping voltammetry. *J. Mater. Environ. Sci* 7 (12), 4467–4470

CURIOSIDADES DE LA QUÍMICA

COLOREA TU ROPA CON QUÍMICA

Samantha García & Doménica Vásconez

En los últimos años, la innovación en el campo textil se ha venido manifestando, dentro del ámbito científico, siendo la química un eje importante para el desarrollo de esta. La química se ha utilizado desde siempre en esta industria, a fin de lograr mayor resistencia en los productos, durabilidad, suavidad o simplemente para evitar que se decoloren las prendas con el uso o por acción de agentes externos como el sol (IndustriaALL Global Union, 2013). Pero ¿cuál es el trasfondo científico por el cual el color de una camiseta, mochila o de un accesorio cambie por la acción del sol?

Ciertas marcas como “Del Sol” (Del sol, 2019) han implementado la tecnología espectro-cromática, incorporando cristales espectro-crómicos orgánicos dentro y fuera de los textiles, los cuales contienen “colores ocultos” que funcionan como sensores de protección solar. Los cristales espectro-crómicos orgánicos (Salantino, 2004), revelan colores tras el efecto de la radiación, debido a su interacción con las ondas electromagnéticas que componen los rayos de luz. En estos cristales, que pueden ser diseñados químicamente, se produce un cambio de energía debido a esta interacción, lo que trae como consecuencia que el color del tinte sea visible al ojo humano.

Los cristales espectro-crómicos, poseen la característica de “desplazamiento molecular”, basada en el cambio del rango de las longitudes de onda del espectro electromagnético, producto de los cristales espectro-crómico que los revela al ojo humano en un rango de visibilidad que va desde los 400 nm hasta los 700 nm. ¿Qué longitud de onda causa este fenómeno? Las investigaciones muestran, que en un textil solo se produce cambio de color en presencia de la radiación en el rango ultravioleta y aunque cada cristal espectrocrómico opera a una longitud de onda ligeramente diferente, la longitud de onda óptima se encuentra alrededor de 365 nm. Para corroborar esta afirmación, se realizó un simple experimento en el Laboratorio de Óptica de la Escuela de Ciencias Fís-

sicas y Matemáticas, de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador. En dicha experiencia, se sometió a un textil, fabricado por la empresa “Del Sol”, a una radiación utilizando diferentes fuentes de excitación provenientes de LEDs (diodos emisores de luz, por sus siglas en inglés). En las Figuras 1, 2 y 3; se muestra el textil bajo excitación de LEDs azul (450 nm), verde (540 nm) y rojo (650 nm), respectivamente (Borrero, 2019). Se puede observar que, con ninguno de estos LEDs, se logró coloración sobre el textil (ver, Figura 4). Sin embargo, si se irradia el textil con un LED de longitud de onda ultravioleta (385 nm), Figura 5, en pocos segundos se observa un cambio de color, Figura 6.

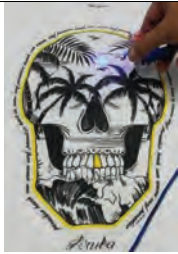


Figura 1. LED azul
(450 nm)

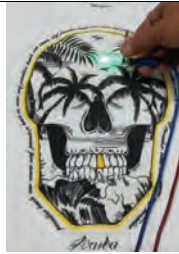


Figura 2. LED verde
(540 nm)

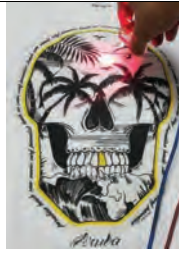


Figura 3. LED rojo
(650 nm)

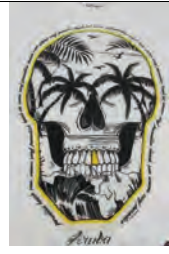


Figura 4. Resultados
con LEDs azul,
rojo y verde

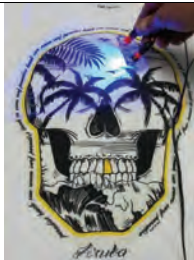


Figura 5. LED ultravioleta
(385 nm)

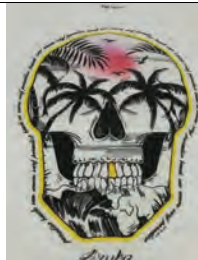


Figura 6. Resultados
con LED ultravioleta



Figura 7. Textil bajo luz solar

En la figura 7, se muestra el cambio de color en el textil bajo la incidencia de luz solar; resultado que corrobora lo expuesto en el párrafo anterior. La luz ultravioleta, proveniente del Sol, induce cambios de color sobre el textil y no la luz visible, comportamiento asociado a los cristales espectrocrómicos contenidos en el textil.

El estudio de materiales espectro-crómicos es de gran importancia, debido a su potencial aplicación como sensores de protección solar. Los cambios de color que se producen debido a la interacción de estos cristales con el espectro electromagnético, permiten alertar sobre la presencia de los dañinos rayos ultravioleta. Por lo que, indudablemente podemos decir que la química es un instrumento en la industria textil que potencia la generación de productos innovadores de interesante utilidad para el consumidor, aunque el mismo no esté enterado de los procesos químicos responsables de tan atractivos productos.

Bibliografía

- Borrero, L. (2019, Noviembre 20). Experimento con fuentes LEDs en la camiseta de la compañía “Del Sol”. Quito, Ecuador.
- Del sol. (2019, Septiembre 28). Delsol.com. Recuperado de: Delsol.com: <https://www.delsol.com/>
- IndustriaALL Global Union. (2013, Mayo 18). 1. ¡Lo logramos! – Avance mundial al firmar las marcas de minoristas el Acuerdo sobre seguridad de las fábricas en Bangladesh.
- Salantino, A. (2004). La sabiduría de los cristales . Buenos Aires: KIER (Argentina).

EL PARTICULAR LENGUAJE DE LOS INSECTOS SOCIALES

Andrea Jaramillo

Los insectos son artrópodos, que pertenecen a la clase Insecta, en la que están incluidos varios órdenes, muchos de ellos viven en forma solitaria y otros en grupos llamados colonias. A estos últimos se los denomina insectos sociales. Los insectos se comunican de una forma particular, no hablan y aunque pueden emitir sonidos, existe otra forma de comunicación entre ellos, la comunicación química. Entonces, ¿cómo logran los insectos intercambiar información entre ellos utilizando la química? La respuesta a esta pregunta está en unas sustancias llamadas Feromonas, que son compuestos químicos que sirven para que los insectos puedan enviar y recibir señales de distintos tipos.

Los órganos de los insectos que se encargan de la recepción química son las antenas pues están vinculadas con la regulación del comportamiento social, así captan señales que permiten a cada individuo cumplir un rol en la colonia como el reconocer a sus congéneres, reproducirse, buscar alimento, huir o enfrentarse a peligros (Fioravanti, 2017). A las feromonas se las puede clasificar en dos grupos, feromonas de alarma y feromonas de pista (Guerrero, 1988).

Las feromonas de alarma tienen un tiempo de percepción corto y se segregan en situaciones de perturbación. Son muy diversas respecto a su estructura química. En hormigas son muy comunes las metil y etil cetonas; algunos formícidos utilizan el ácido fórmico como alarma y veneno; éste varía por subfamilias y especies. En las termitas, las feromonas de alarma están constituidas generalmente por hidrocarburos monoterpénicos tales como el limoneno, 3-careno, etc. Los compuestos químicos que segregan las abejas son muy variados, ésteres, cetonas, alcoholes, etc; la abeja de la miel, *Apis mellifera*, en su glándula mandibular produce una cetona llamada 2-heptanona que “junto a la 2-nonona y a sus correspondientes alcoholes, actúa como excitante de las abejas *Trigona mexicana*”(Guerrero, 1988).

Las feromonas de pista, a diferencia de las feromonas de alarma, son utilizadas para cumplir diversos roles, como encontrar congéneres, utilizar fuentes de alimento o mantener la integridad de la colonia durante una migración. La presencia de feromonas de pista depende de varios factores como la volatilidad del compuesto, cantidad y grado de continuidad en la deposición del compuesto, naturaleza del sustrato, etc. Están presentes solo en ciertos insectos tales como termitas, hormigas, larvas de lepidópteros y algunos coleópteros (Guerrero, 1988).

La estructura química de las feromonas es muy variada. En termitas, feromonas para identificar congéneres son el neo-cembreno y ácido n-hexanoico; una feromona que se encuentra en el hongo *Lenzites trabea*, el (Z, Z, E)-3,6,8-dodecatrien-1-ol, es utilizada por varias especies de *Reticulitermes* que les indica donde hay alimento, puesto que dicho hongo se encuentra en madera en descomposición la cual es utilizada por estas termitas como sustento. En hormigas del género *Atta*, una interesante feromona de seguimiento es el pirrol, posee un umbral de seguimiento muy alto tanto que “0,33 mg serían suficientes para dejar un rastro alrededor del mundo” (Guerrero, 1988).

Tanto feromonas de pista como de alarma tienen una alta especificidad, así, incluso poblaciones de la misma especie pueden presentar diferencias en la composición. Estas diferencias pueden ser útiles a la hora de las clasificaciones taxonómicas. La especificidad puede darse por la pureza enantiómera del compuesto, por ejemplo, dos enantiómeros pueden pertenecer a dos especies distintas o dentro de una misma especie, puede darse que solo uno de los enantiómeros sea activo (Guerrero, 1988).

La comunicación química de los insectos es una de las diversas formas en las que la química se hace presente en la naturaleza. La curiosidad ha llevado a entomólogos, químicos y aficionados a descubrir las feromonas y su amplia diversidad en el universo de los insectos. Estos descubrimientos han ampliado las posibilidades de estudio e identificación taxonómica, así como las perspectivas en el estudio de las ciencias químicas.

Bibliografía

Fioravanti, C. (2017). *El lenguaje químico de los insectos. Pesquisa*, 20 (2), 38-41.

Guerrero. A. (1988). *La comunicación química en insectos sociales: feromonas de alarma y de pista. Ecología*, 2, 321-331.

HELIO, EL SÚPER-FLUIDO DE INCREÍBLE COMPORTAMIENTO

Melissa Nasevilla & Eugenia Pérez

¡El helio puede trepar por las paredes, extraño pero cierto!

Con el pasar del tiempo, el helio ha sorprendido a varios científicos por su peculiar comportamiento, debido a que si se enfría solo unos pocos grados por debajo de su punto de ebullición ($-269\text{ }^{\circ}\text{C}$), presenta características útiles en la práctica que otros fluidos no poseen. El Helio (He) puede gotear a través de las moléculas o pequeñas grietas, fluir sin fricción, trepar por los lados de un plato y permanecer inmóvil cuando se hace girar el recipiente que lo contiene. Pero la pregunta sería ¿Por qué el helio puede lograr tan peculiar comportamiento?

Esta pregunta conlleva una respuesta muy sencilla, el secreto del He, para ser un súper-fluido, es que permanece en estado líquido a temperaturas del cero absoluto ($-273,15\text{ }^{\circ}\text{C}$). A esta temperatura los átomos, en general, dejan de moverse, pero, los átomos de helio no lo hacen porque son tan ligeros y están tan débilmente atraídos entre sí, que aún en el cero absoluto presenta leves impulsos debido al principio de incertidumbre cuántica, es otras palabras el helio nunca llega a adquirir un estado sólido.

A través de un experimento, el extraño comportamiento de súper-fluido del He es visible a simple vista; esto se demostró en 1930 (Minkel, 2009), donde utilizando un contenedor con He líquido, que enfriaron a temperatura de súper-fluido, hallaron que después de un tiempo el contenedor estaba vacío; resultando que el helio había escalado por las paredes del contenedor y se había derramado. El He súper-fluido hace cosas que se consideran imposibles: desafía a la gravedad, produce una fuente sin fricción, es decir, es un fluido que jamás deja de fluir (Minkel, 2009).

Gracias al He y a sus propiedades especiales, científicos han logrado tres premios Nobel y aún pueden obtenerse más del mismo. El primer premio Nobel fue para el físico holandés Heike Kamerlingh Onnes en 1913. Onnes licuó el isótopo de He^4 y observó que empezó a conducir calor por debajo de los $-290,92\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Onnes, 1913). El segundo premio Nobel fue para el físico ruso Pyotr Kapitsa (Kapitsa 1978), cuyo trabajo consistió en medir por debajo del cero absoluto un flujo de He a través de un par de discos de vidrios unidos por medio de un émbolo y un tubo de vidrio largo y delgado observando que la densidad era extremadamente baja. Kapitsa fue quien denominó al He como súper-fluido y en el año de 1996 David M. Lee, Douglas D. Os Heroff y Robert C. Richardson, enfriaron el He^3 a $-273,15\text{ }^{\circ}\text{C}$. A diferencia de lo que se pensaba, este isótopo adquirió características de súper-fluido a una temperatura superior al cero absoluto (Lee et al., 1996).

De todo lo anterior, cabe recalcar que el He nos puede seguir sorprendiendo en tiempos futuros; en la actualidad docenas de laboratorios investigan al He como un posible súper-sólido, pudiendo compartir características de un estado líquido y un estado sólido, es decir como si fuera consistente y líquido a la vez (Moreno, 1996). Los investigadores señalan que estarían de acuerdo en que el súper-sólido es un nuevo estado de la materia, otorgando a quien lo demuestre el cuarto premio Nobel gracias al He.

Bibliografía

BBC Ciencia. (2020). *¿Es el súper-sólido un nuevo estado de la materia.?*. BBC Mundo, Ciencia. Obtenido de: <https://www.bbc.com/mundo/noticias/2015/06/150611_ciencia_supersolido_nuevo_estado_materia_lv>.

Kapitsa P. (1978). *Plasma and the controlled thermonuclear reaction*. Nobel Prize. Obtenido de: <https://www.nobelprize.org/prizes/physics/1978/kapitsa/facts/>

Lee D., Osheroff D. & Richardson R. (1996). *For their discovery of superfluidity in he*

- Minkel, J. (2009). *Strange But True: Superfluid Helium Can Climb Walls*. Scientific American. Obtenido de: <https://www.scientificamerican.com/article/superfluid-can-climb-walls/>
- Moreno, R. (1996). *El helio súper-fluido y una nueva molécula de carbono ganan los Nobel de Física y Química*. El país. Obtenido de: https://elpais.com/diario/1996/10/10/sociedad/844898414_850215.html Nobel Prize. Obtenido de: <https://www.nobelprize.org/prizes/physics/1996/summary/>.
- Onnes H. (1913). *For his investigations on the properties of matter at low temperatures which led, inter alia, to the production of liquid helium*. Nobel Prize. Obtenido de: <https://www.nobelprize.org/prizes/physics/1913/summary/>.

LA ELECTROQUÍMICA, UNA DE LAS PUERTAS HACIA UN FUTURO MEJOR

Pablo M. Romero

Una de las características más destacables del ser humano es su constante búsqueda de nuevos conocimientos, impulsada por una intrínseca dosis de curiosidad. Es, gracias a este impulso, que nuestra sociedad ha evolucionado mediante el descubrimiento y el manejo de fenómenos que de una u otra forma han permitido la elaboración de artilugios con el objeto de facilitar, cada vez un poco más, nuestro diario vivir.

Lograr comprender lo que ocurre en nuestro alrededor ha sido la meta común que comparten las distintas ramas del conocimiento. La Biología busca entender al ser vivo; la Física, al universo, y la Química, a la materia. En varias ocasiones, estas ramas científicas se unen para comprender sucesos que por sí solas no lo podrían hacer. De esta forma, nacen nuevas disciplinas que son capaces de otorgar herramientas modernas para resolver cuestionamientos modernos. Una de estas disciplinas, objeto de este escrito, es la Electroquímica, disciplina de la Química con una aplicabilidad casi ilimitada y que sin duda ha significado un gran aporte para la ciencia.

La Electroquímica, se puede definir como el estudio de la conversión de la energía química a energía eléctrica y viceversa. Debe su origen a una serie de observaciones realizadas por investigadores como Galvani, Volta y Cavendish quienes descubrieron que la electricidad presentaba un curioso comportamiento con respecto a cambios químicos (Skoog, West, Holler, & Crouch, 2015).

En la naturaleza se ha observado la capacidad que presentan algunos animales acuáticos de provocar rápidas separaciones de carga y, por lo tanto, una diferencia de potencial a través de sus membranas con el objetivo de aturdir o matar a sus presas. Una vez que se logró entender este fenómeno, los científicos

han sido capaces de diseñar procesos de separación de cargas mecánicos, metalúrgicos y químicos con el fin de crear celdas, baterías y otros dispositivos. (Douglas A. Skoog, 2008)

A partir de este punto, se llegó a conocer que en un cierto tipo de reacciones de carácter redox, en las que ocurrían procesos de reducción y oxidación, presentaban una estrecha relación, interacción, con la electricidad. El entendimiento de este fenómeno dio paso a una gran variedad de métodos y técnicas en las que se tiene un completo control sobre este tipo de reacciones mediante el uso de la electricidad.

Gracias a ello es que los métodos electroquímicos, al presentar una infinidad de aplicaciones, han sido implementados para actividades como: tratamiento de aguas, análisis cualitativos, análisis cuantitativos, producción de polímeros conductores, galvanizados, análisis clínicos y varias más (Cabrera, 2014).

Una de las aplicaciones más llamativas de la Electroquímica es en la manufactura de joyas, donde mediante la electrodeposición es posible mejorar la estética de un metal “ordinario” para aumentar su valor y resistencia. Esta técnica permite oxidar al metal que se va a emplear como recubrimiento y oxidar al metal que será cubierto. Los iones del metal oxidado se depositan sobre el metal reducido, por atracción electroestática, y se logra formar una capa protectora sobre el metal reducido. Esta técnica es la responsable de que sea posible la manufactura de joyería de oro y de plata a bajo costo, ya que al ser usados como cubierta se requiere menor cantidad de estos (Lincot, 2005).

La amplia aplicabilidad de estos métodos es solo uno de los motivos por el cual la Electroquímica es tan valorada actualmente. Cabe destacar que, en la mayoría de los procesos analíticos, la implementación de métodos electroquímicos ha significado un aumento de eficiencia, disminución de costos, disminución de tiempo, menor impacto ambiental y mayor simplicidad en comparación con métodos analíticos clásicos. Esto se observa en la síntesis de nanoestructuras, al emplear métodos voltamperométricos se logra sintetizar nanopartículas de

una manera más controlada y con menor impacto ambiental ya que no es necesario el uso de solventes orgánicos (Blandón, Vázquez, Boannini, & Ballarin, 2015). Se podría decir que la simplicidad, elegancia y conveniencia propias de la Electroquímica, hacen que se pueda considerar como el camino para optimizar, innovar, procesos (Martínez & Hernández, 2004).

La Electroquímica es una de las ramas de la Química más generosas, que ha significado un gran aporte para la ciencia, no solo porque permitió entender fenómenos antes considerados como indescifrables, sino que también ha sido medio para optimizar, mejorar, métodos y técnicas con el fin de simplificar el camino para alcanzar nuestros objetivos. Si bien aún le queda un largo camino al ser humano para lograr comprender todo lo que le rodea, no cabe duda de que mediante la aplicación de la Electroquímica aceleró su paso hacia su destino.

Bibliografía

- Blandón, L., Vázquez, M. V., Boannini, E., & Ballarin, B. (2015). Síntesis electroquímica de nanopartículas de plata en presencia de un surfactante neutro. *Afinidad*, 71, 48–52
- Cabrera, A. (2014). Aplicaciones Industriales de La Electroquímica Electroquímica Redox . Recuperado el 30 de abril de 2020, Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/230382257/Aplicaciones-Industriales-de-La-Electroquimica>
- Douglas A. Skoog. (2008). *Principios de Análisis Instrumental* (6ta ed.; S. Gonzales Cervantes, Ed.). México D.F.: Cengage Learning.
- Lincot, D. (2005). Electrodeposition of semiconductors. *Thin solid films*, 487(1-2), p. 40-48.
- Martínez, Y., & Hernández, R. (2004). *Electroquímica Energía y Ambiente VII Escuela Venezolana para la Enseñanza de la Química*.

Skoog, D. A., West, D. M., Holler, J., & Crouch, S. R. (2015). Fundamentos de Química Analítica. En *Fundamentos de química analítica* (9na ed.). México D.F.: Cengage Learning.

Instructivo para publicar artículos en infoANALÍTICA

INSTRUCTIVO PARA PUBLICAR ARTÍCULOS EN infoANALÍTICA

Datos Generales

La Revista infoANALÍTICA es una publicación semestral de la Escuela de Ciencias Químicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, cuyo objetivo es dar a conocer los resultados y análisis, fruto de la investigación en áreas relacionadas con la Química. Los artículos deberán cumplir con los siguientes parámetros para su aprobación y publicación:

1. Exigencia de originalidad: los artículos publicados en la *Revista infoANALÍTICA* deben ser originales e inéditos, y no pueden estar publicados en ninguna otra revista ya sea virtual o impresa. Para asegurar este apartado, los autores deben firmar un documento de originalidad y ceder el derecho de autor. De esta manera, los autores se comprometen a respetar la información académica de otros autores, y a ceder los derechos de autor a la *Revista infoANALÍTICA*, para que el artículo pueda ser editado, publicado y distribuido.
2. En la *Revista infoANALÍTICA* se publicarán trabajos de docentes e investigadores de la PUCE, así como de autores externos a la Universidad.
3. Los artículos deberán estar escritos en español.
4. Los artículos no podrán tener menos de 5 páginas ni más de 10 con gráficas incluidas, con un total máximo de 25.000 caracteres.
5. El artículo a publicarse debe ser remitido con una carta al editor de la revista, en formato Word y PDF, en CD y en impreso.
6. En caso de ser un autor externo, enviar una carta de solicitud y el artículo en digital vía e-mail.
7. Para asegurar la calidad científica de los artículos presentados para su publicación, se realiza un proceso de revisión por pares ciegos.

Portada

Título del artículo con letras mayúsculas, formato Times New Roman número 14, en negrita y centrado con espacio 1,5 de párrafo. El título debe ir tanto en español como en inglés.

Debajo del título y centrado poner los nombres de cada autor, en formato Times New Roman número 12, con espacio 1,5 de párrafo, de la siguiente manera: José Dávila P., Carla Casas L. & Francisco Chiriboga J.

Al final del nombre de cada autor, poner un superíndice e indicar a pie de página la afiliación del autor, es decir, lugar de trabajo, país, ciudad y dirección de correo elec-

trónico de la siguiente manera: José Dávila P ¹, Carla Casas L. ² & Francisco Chiriboga J.³, y a pie de página indicar de la siguiente manera: Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Escuela de Ciencias Químicas, Quito Ecuador (jdavila@hotmail.com).

Palabras clave

Debajo del nombre del autor/res, Incluir de 4 a 6 palabras clave, en orden alfabético, que se refieran al tipo de contenido del artículo, para que faciliten la búsqueda. Estas palabras clave deben constar primero en español y luego en inglés (Keywords) y deberán ir alineadas a la izquierda.

Resumen / Abstract

Se deberá presentar un resumen de todo el contenido: claro y conciso, este resumen debe estar tanto en español como en inglés. El contenido del resumen será en un solo párrafo y sin divisiones de columna.

Se colocará el resumen en español y luego el Abstract.

Texto

El texto deberá estar escrito en formato Word, letra Times New Roman número 12, como fuente de texto, con espacio 1,5 de párrafo y dividido en dos columnas.

Los subtítulos como introducción, materiales y métodos, resultados, entre otros, deberán ir en mayúsculas con negrita y alineados a la izquierda.

Las tablas y gráficos deben ser ubicados entre el texto, para ayudar a explicar más sobre lo que se está refiriendo el autor.

Se recomienda mantener el orden del artículo como: título en español, título en inglés, nombre del autor, palabras clave, keywords, resumen, abstract, introducción, materiales y métodos, resultados, discusión, conclusiones y lista de referencias.

Citas en el texto

La forma de citar en los artículos se ha basado en el método APA (American Psychological Association) sexta edición.

Las citas se usarán de la siguiente manera: (Aguirre, 2007) en el caso de un solo autor, para dos autores (Aguirre & Pérez, 2007) y para más de dos autores (Aguirre et al.,2007). Estas citas irán entre el texto y a pie de página sólo se marcarán citas de internet y también datos explicativos sobre términos, autores, entre otros.

Lista de referencias

Consideraciones generales: Orden alfabético por la primera letra de la referencia. En caso de usar artículos o libros del mismo autor, éste debe tener un orden cronológico desde el más antiguo al más nuevo. Cada referencia tiene el formato de párrafo francés (hanging indent).

Para documentos electrónicos: no hay que incluir el nombre de la base de datos donde se encontró el artículo, pero sí en el caso de las tesis y los libros electrónicos. No se incluye la fecha en que se recuperó el artículo. No se escribe punto después de la dirección web (URL).

El formato para escribir la literatura citada será usada siguiendo el modelo APA (American Psychological Association) sexta edición.

Libro con un autor

Apellido del autor, inicial del nombre del autor. (año de publicación). Nombre del libro en cursiva. Ciudad: Editorial. Ejemplo:

Flores de Fernández, R. (1965). *Historia de la enfermería en Chile: Síntesis de su evolución educacional*. Santiago: Universidad de Chile.

Libro con más de un autor y edición

Apellido del autor, inicial del nombre y Apellido del segundo autor, inicial del nombre. (fecha de publicación). Nombre del libro en cursiva (número de la edición). Ciudad: Editorial. Ejemplo:

Hoffman, C.P. y Lipkin, G.B. (1981). *Simplified nursing* (19. ed.). Philadelphia: J.B. Lippincott.

Libro sin autor o editor

Título del libro en cursiva (número de edición) (año de publicación). Ciudad: Editorial. Ejemplo:

Merriam-Webster's collegiate dictionary (10. ed.) (1993). Springfield: Merriam-Webster.

Parte o capítulo de un libro

Apellido del autor, inicial del nombre y Apellido del segundo autor, inicial del nombre (año de publicación). Título del capítulo del libro. En, apellido del autor del libro, inicial del nombre. Título del libro en cursiva (número de edición, páginas). Ciudad: Editorial. Ejemplo:

O'Neil, J.M. y Egan, J. (1992). Men's and women's gender role journeys; Methaphor for healing, transition and transformation. En B.R. Wainrib (Ed.). *Gender issues across the life cycle* (4. ed., pp.107-123). Nueva York: Springer.

Artículo de revista científica con un autor

Apellido del autor, inicial del nombre del autor, (año de publicación). Título del artículo. Nombre de la revista en cursiva, número de la revista (volumen), páginas. Ejemplo: Prieto, A. (2001). Instrumento de evaluación de campos clínicos para la enseñanza profesional de enfermería (ECCE). *Horizonte de Enfermería*, 12 (1), 11-21.

Artículo de revista científica con más de un autor

Apellido del autor, inicial del nombre, apellido del segundo autor, inicial del nombre, apellido del tercer autor, inicial del nombre, y apellido del cuarto autor, inicial del nombre. (año de publicación). Título del artículo. Nombre de la revista en cursiva, número de la revista (volumen), páginas. Ejemplo:

Kernis, M.H., Cornell, D.P., Sun, C.R., Berry, A., & Harlow, T. (1993). There's more to self-esteem than whether it is high or low: The importance of stability of self-esteem. *Journal of Personality and Social Psychology*, 65 (6), 1190-1204.

Si necesita el modo de cómo citar otro tipo de documento visite:

http://www.frvt.utn.edu.ar/pdfs/Citas_Bibliogr%C3%A1ficas_-_Normas_APA.pdf; ahí encontrará la forma adecuada de citar los documentos no explicados en este texto; sin embargo, no se olvide de revisar el instructivo de publicación de artículos en la revista PUCE, ya que el Centro de Publicaciones ha realizado ciertas modificaciones al manual del APA, para facilitar a los autores el manejo de citas y referencias bibliográficas.

Figuras y Tablas

- Las Tablas deben llevar el texto explicativo en la parte superior y con letra en negrita.
- Las Figuras deben llevar el texto en la parte inferior y con letra en negrita.
- Ubicar las Tablas y Figuras en la posición del texto donde sean explicativas dentro del contexto que se está refiriendo el autor.
- Los Cuadros y Tablas deben estar en formato Word y las figuras pueden estar en formato JPG o Word.
- Para Tablas, Cuadros, Gráficos, etc., se usarán palabras completas y se numerará en orden; ejemplo:
Tabla 1. Características fisicoquímicas de la muestra de anís analizada.
- Si las imágenes son obtenidas de publicaciones anteriores, deben ser citadas.
- Las imágenes por ningún motivo podrán ser modificadas en Photoshop, Illustrator o cualquier otro software de diseño, la única modificación posible de realizar es el aumento o reducción del color y contrastes.



ISSN 2477-8788



9 772477 878000