

REVISTA *de la* SOCIEDAD
QUÍMICA
de MÉXICO

(Rev. Soc. Quím. Méx.)



REVISTA *de la* SOCIEDAD
QUÍMICA
de MÉXICO

FUNDADOR

Q. José I. Bolívar Goyanes†

EDITOR

Dr. Guillermo Delgado Lamas

CONSEJO EDITORIAL

Dr. Francisco Bolívar Zapata • Dra. Guillermina Burillo Amezcua
Dr. Eduardo Díaz Torres • Dr. Carl Djerassi • Dr. Ernest L. Eliel • Dr. Nikolaus H. Fischer
Dr. Federico García Jiménez • Dr. Francisco Javier Garfias y Ayala
Dr. Angel Guzmán Sánchez • Dr. Pedro Joseph-Nathan • Dr. Eusebio Juaristi Cosío
Dr. Jaime Keller Torres • Dr. Víctor Manuel Loyola Vargas • Dr. José Luis Mateos Gómez
Dr. Javier A. Padilla Olivares • Dr. Joaquín Palacios Alquisira • Dr. Héctor Salgado Zamora
Dra. Elvira Santos de Flores • Dr. Ratnasamy Somanathan Ramasamy
Dr. Joaquín Tamariz Mascarúa • Dr. Hugo Torrens Miquel
Dr. Francisco Yuste López

EDITOR TÉCNICO

Fís. Arturo Sánchez y Gándara

TIPOGRAFÍA

Eric Sánchez Romero

ASISTENCIA SECRETARIAL

Rosa Jaime Cerón • Raquel Feregrino Curiel • Lidia Hernández García

La Revista de la Sociedad Química de México publica preferentemente contribuciones originales de investigación en todas las ramas de la teoría y práctica de esta ciencia. Los artículos son sometidos a proceso de arbitraje del cual depende la aceptación del manuscrito para su publicación.

REVISTA *de la* SOCIEDAD
QUÍMICA
de MÉXICO

CONTENIDO

Investigación

Resolución microbiológica de 1-fenil-1-propanol
y de 1-(4-toluil)-1-etanol con *Nocardia corallina* B-276
Herminia I. Pérez, Héctor Luna,*
Norberto Manjarrez y Aida Solís
43-46

Gibberellins in apple seeds and the transport of [³H]-GA₄
Homero Ramírez, Gordon V. Hoad,*
Adalberto Benavides and Eloy Rangel
47-50

Mecanismos de formación de cementita intergranular
de aceros sinterizados Fe-Cu-C
A. Bolarín, F. Sánchez, A. Luévanos,*
J. Coreño y A. Barba
51-55

New Bioactive Derivatives of Xanthorrhizol
María Isabel Aguilar, Guillermo Delgado*
and María Luisa Villarreal
56-59

Erionita premodificada con K⁺ y zeolita 4A
para la adsorción de propano y propileno
Gelacio Aguilar Armenta y María Eugenia Patiño Iglesias*
60-65

Contenido de vitaminas de algunos insectos
comestibles de México
Julieta Ramos-Elorduy y José M. Pino M.**
66-76

Lignin degradation products from corn
stalks enhance notably the radial growth
of basidiomycete mushroom mycelia
Miguel J. Beltrán-García, Aideé Orozco,
*Ivan Samayoa and Tetsuya Ogura**
77-81

Cálculo teórico y experimental del parámetro
termodinámico de interacción de Flory
del poli(adipato de etileno)
Martha L. Cecopieri-Gómez y Joaquín Palacios*
82-88

Comunicación Técnica

Propiedades físicas y químicas del aceite de aguacate
obtenido de puré deshidratado por microondas
Ma. Elena Jiménez, Ma. del Rosario Aguilar,*
Ma. de la Luz Zambrano y Eva Kolar
89-92

Historia de la Química

El origen de *Syntex*, una enseñanza histórica
en el contexto de ciencia, tecnología y sociedad
Felipe León Olivares
93-96

Fe de erratas

Obtención de la (*R*)- y (*S*)-6-acetiloxi-5-metil-2,3-
hexanodiona, ópticamente puras
Jesús Sandoval-Ramírez, Socorro Meza-Reyes,*
F. J. Meléndez y Guadalupe Hernández-Linares
97

La *Revista de la Sociedad Química de México* se encuentra indizada en Chemical Abstracts, Bioscience Information Service, Chemisches Zentralblatt, Sumario Actual de Revistas (España), Russian Institute of Scientific and Technical Information.

Las instrucciones para los autores aparecen publicadas en el número 1 de cada volumen.

*En los artículos con más de un autor, el asterisco indica a quién debe dirigirse la correspondencia.

El costo de la suscripción anual es de \$325.00 para la República Mexicana.

Se distribuye gratuitamente entre los socios de la *Sociedad Química de México*.

Fecha de publicación: Julio 2001

REVISTA *de la* SOCIEDAD QUÍMICA *de* MÉXICO

(*Rev. Soc. Quím. Méx.*)

ISSN 0583-7693

Publicación trimestral editada y distribuida por la **Sociedad Química de México, A.C.**, Barranca del Muerto 26 (esq. Hércules). Col. Crédito Constructor, Delegación Benito Juárez, C.P. 03940, México, D.F., Tels.: 5662-6823 y 5662-6837. Fax: 5662 6823.

Editor: Guillermo Delgado Lamas (E-mail: delgado@servidor.unam.mx)

Editor Técnico: Arturo Sánchez y Gándara (E-mail: syg@att.net.mx)

D.R. © Sociedad Química de México, A.C.

Se prohíbe la reproducción o impresión parcial o total sin la autorización por escrito del titular de los derechos.

Reserva del título número 158-67 (mayo de 1967) otorgado por la Dirección General de Derechos de Autor, SEP. Certificado de licitud número 3565 y de contenido número 3867 otorgados por la Comisión Calificadora de Publicaciones y Revistas Ilustradas de la Secretaría de Gobernación.

Publicación periódica. Registro número 0790 790. Características 2294 5112, autorizado por SEPOMEX, 23 de julio de 1990. Oficio número 317 Exp. 091.70/2485. Autorizada como correspondencia de segunda clase por la Dirección General de Correos con fecha 25 de agosto de 1967.

Edición e impresión: **S y G Editores S.A. de C.V.**, Calle Cuapinol 52, Col. Santo Domingo de los Reyes, Delegación Coyoacán, 04369 México, D.F., Tels.: 5619-5293, 5617-5610.

Investigación

Resolución microbiológica de 1-fenil-1-propanol y de 1-(4-toluil)-1-etanol con *Nocardia corallina* B-276

Herminia I. Pérez*, Héctor Luna, Norberto Manjarrez y Aida Solís

Departamento de Sistemas Biológicos, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Apartado Postal 23-81, México, D.F. Fax: 5483-7237. E-mail: hperez@cueyatl.uam.mx

Recibido el 21 de marzo del 2001; aceptado el 4 de mayo del 2001

Resumen. Se estudió la resolución microbiológica de alcoholes secundarios quirales con células completas de *Nocardia corallina* B-276. Los alquilaril carbinolos seleccionados fueron resueltos, de sus respectivos racematos, con buen rendimiento y excesos enantioméricos > 99 % del compuesto con configuración *R*. Las cetonas resultantes de la oxidación enantioselectiva, se aislaron con rendimientos del 38-42 % y pueden ser recicladas al proceso de bioseparación. Esta es una nueva aplicación de este microorganismo en química orgánica.
Palabras clave: Alcoholes quirales, cetonas, resolución, *Nocardia corallina*, oxidación.

Abstract. A microbial resolution of chiral secondary alcohols with whole cells of *Nocardia corallina* B-276 was studied. Racemic alkylaryl carbinols were resolved into the corresponding (*R*)-compounds in good yields with > 99% enantiomeric excess. This enantioselective oxidation gives ketones in 38-42 % yields and they could be recycled to the bioseparation process. This is a new application of this microorganism in organic chemistry.

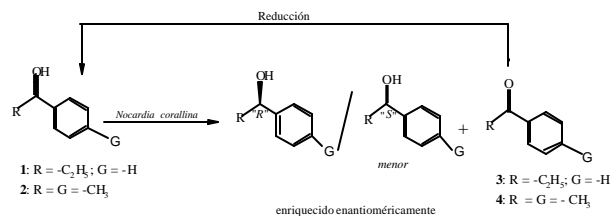
Key words: Chiral alcohols, ketones, resolution, *Nocardia corallina*, oxidations.

Introducción

Los alcoholes secundarios quirales son importantes intermedios para la síntesis de productos naturales, así como de compuestos con actividad biológica. Es innegable que su obtención, en los últimos años por la adición de compuestos orgánicos de zinc a aldehídos en presencia de cantidades catalíticas de un β-aminoalcohol quiral, es una vía de síntesis que ha sido extensivamente estudiada [1,2]. Se han reportado muy altos rendimientos en la reacción utilizando una variedad de aminoalcoholes como ligandos; sin embargo, se presenta el problema de que el ligando quiral debe ser fácilmente accesible o reciclable para poderse explotar a escala preparativa [3].

Una forma alternativa de enfrentar el problema es obtenerlos a partir del racemato correspondiente; tres métodos se conocen para la preparación de alcoholes ópticamente activos a partir de sus racematos: 1) resolución; 2) oxidación selectiva de uno de los enantiómeros; y 3) desracemización por métodos químicos o biológicos [4].

Nos pareció de interés desarrollar un enfoque biocatalítico para la obtención de alcoholes secundarios quirales, dado que algunas de estas moléculas poseen un alto valor agregado. Con base en nuestros resultados alcanzados con el microorganismo *Nocardia corallina* B-276 [5,6] seleccionamos, en primera instancia, la posibilidad de desarrollar un proceso de oxidación enantioselectiva de una mezcla racémica de estos substratos, lo que permitirá realizar una resolución microbiológica, pudiendo recuperar la cetona resultante, para reciclarla al proceso previa reducción no enantioselectiva (Esquema 1).



Esquema 1

Para desarrollar esta propuesta metodológica seleccionamos los siguientes ejemplos de aplicación. Se consideró al 1-fenil-1-propanol, **1**, por sus diversos usos, tales como: 1) agente terapéutico, colerético, 2) en perfumería, 3) como medio para transferencia de calor [7a] y 4) como reactivo quiral para la construcción de compuestos más complejos en síntesis orgánica; en este último caso con un alto valor comercial, p. ej. 183.40 USD por un mililitro del enantiómero *R* y 201.60 USD por la misma cantidad del isómero *S* [8]. También se consideró estudiar la obtención del (*R*)-1-(4-toluil)-1-etanol, un constituyente del aceite esencial de *Curcuma longa* L., (Zingiberaceae) y plantas relacionadas [7b]. En lo referente a su estructura, ambos son alcoholes secundarios quirales, en general alquilaril carbinolos. El estudio de estos substratos ampliarían nuestros resultados alcanzados en la oxidación microbiológica con *Nocardia corallina* B-276 de diaril carbinolos [9] y daría un marco más adecuado para caracterizar los alcances y limitaciones del método.

Resultados y discusión

Se estudió la biotransformación para separar **1** de su racemato; en primera instancia se seleccionó un tiempo de bioconversión de 8 h. Después del trabajo usual de aislamiento se analizó la mezcla por cromatografía de gases (CG), obteniéndose una relación de 22 % de propiofenona, **3**, y 78 % de la mezcla de alcoholes enantioméricamente enriquecida (Tabla 1). La columna G-TA separó los enantiómeros observándose un 10 % de exceso enantiomérico (*ee*), la rotación óptica presentada es dextrógira y con base en los datos de rotación informados en la literatura para el enantiómero (*S*): $[\alpha]_D = -46.7$ ($c = 5.1$, CHCl_3) [10]; se le asignó al enantiómero en exceso de nuestro caso, la configuración *R*. Se consideró necesario ampliar los tiempos de biotransformación encontrándose que a las 27 h se observa en el crudo una relación, por CG, cetona:alcohol de 69:31; el análisis del *ee* presenta sólo uno de los enantiómeros, para un porcentaje de *ee* mayor de 99, confirmándose por medio de la rotación óptica que es el isómero dextrógiro, con configuración *R*. La enantioselectividad que alcanza el microorganismo es destacable.

Se obtienen rendimientos de producto aislado del 42 % de la propiofenona, **3**, para reciclar al proceso de separación previa reducción. Así como un rendimiento del 36 % para el alcohol purificado *R*, **1**. Los productos se caracterizaron por IR, RMN ^1H y RMN ^{13}C . La mayor velocidad de oxidación del enantiómero *S* por el microorganismo, es similar a lo observado en nuestro estudio de diaril carbinoles quirales con sustituyentes en *para* [9], donde el enantiómero *R* es el producto mayoritario.

Al estudiar el alcohol secundario **2**, un isómero estructural de **1**, al contar con la misma masa molecular es más fácil relacionar los resultados para ir acotando los alcances de esta metodología. El reducir el tamaño de la cadena alquílica y ubicar un sustituyente ($-\text{CH}_3$) en la posición *para* del compuesto, deben incrementar las condiciones para favorecer la velocidad de biotransformación y la enantioselectividad del microorganismo [9]. Se ha estudiado que *Nocardia corallina* B-276 posee una enzima multicomponente para el proceso de epoxidación enantioselectiva de alquenos [11], donde predomina el enantiómero *R*. Consideramos que esas reacciones redox con transferencia de electrón también están involucradas en estos procesos de biotransformación, así como la estereoquímica del sitio reactivo de la enzima. Después de 8 h de bioconversión y el trabajo usual de aislamiento, se obtiene un crudo que por CG en la columna B-PH, presenta una relación cetona:alcohol, 41:59, el análisis del *ee* indica que sólo hay uno de los alcoholes enantioméricos, con un porcentaje de *ee* mayor a 99 (Tabla 1), confirmándose que es dextrógiro por determinación de la rotación óptica; para el enantiómero (*S*): $[\alpha]_D = -43.5$ ($c = 0.994$, CH_3OH) [12]; permitiendo asignar la configuración *R*. El análogo de acetofenona, **4**, presenta un rendimiento de bioconversión del 38 % y se recupera el 96 % del alcohol quiral.

Se estimó relevante el contar con dos métodos para la determinación del exceso enantiomérico del compuesto obte-

Tabla 1. Comparación de las biotransformaciones de racematos de los alquilaril carbinoles **1** y **2** con *Nocardia corallina* B-276.

Substrato	Tiempo (h)	Relación* cetona:alcohol	% de <i>ee</i> *	Configuración**
1	8	22 / 78	10	<i>R</i>
1	27	69 / 31	> 99	<i>R</i>
2	8	41 / 59	> 99	<i>R</i>
2	24	44 / 56	> 99	<i>R</i>

* Determinado por CG usando columnas quirales (Chiraldex G-TA y B-PH).

** La asignación de la configuración absoluta de alcohol enriquecido se realizó por comparación del signo de la rotación específica con datos en la literatura.

nido, para lo cual se seleccionó además de la CG el método de RMN ^1H , haciendo uso de reactivos de desplazamiento quiral para analizar los racematos, soportados en un equipo de RMN de 500 MHz. Así, el racemato problema se trató, en CDCl_3 , con tris-[3-(heptafluoropropilhidroximetileno)-*d*-alcanforato de europio (III), (+)-[Eu(hfc) $_3$], y se obtiene una buena resolución de la señal en 4.8 ppm del CH-OH de **2**, desplazándose a 8.02 y 7.93 ppm respectivamente. Al repetir el experimento con el producto aislado de la biotransformación, sólo se observa una señal, para un porcentaje de *ee* mayor de 99.

El alargamiento de los tiempos de bioconversión, hasta 24 h, se reflejó en rendimientos menores de producto aislado, asumiéndose que el microorganismo degrada o puede incorporar al sustrato a su metabolismo.

Con base en estos resultados, se puede afirmar que el proceso de resolución microbiológica de racematos de alquilaril carbinoles quirales con *Nocardia corallina* B-276, es altamente enantioselectivo y es un método alternativo para la preparación de este tipo de compuestos, lo que es una nueva aplicación de este microorganismo en el campo de las biotransformaciones.

Parte experimental

Los alcoholes secundarios seleccionados se prepararon por adición de reactivos de Grignard al aldehído correspondiente, siguiendo el método general informado [13]. Los espectros IR se determinaron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer 1600FT, los de RMN ^1H y RMN ^{13}C se obtuvieron en un espectrómetro Bruker DMX500, los desplazamientos químicos están en ppm (δ) respecto al TMS. Las rotaciones específicas fueron medidas en un polarímetro Perkin-Elmer 341 con el disolvente indicado. El análisis por cromatografía de gases fue realizado en un cromatógrafo Hewlett Packard serie 6890, equipado con detector de ionización de flama y columnas quirales Chiraldex B-PH (30 m) y G-TA (30 m). Las purificaciones en columna flash se realizaron con sílica gel, malla 230-400, empleando disolventes purificados en el laboratorio por los métodos estándares.

La bacteria *Nocardia corallina* B-276 (ATCC 31338) se activó a 30 °C en placas de agar, con la siguiente composición: 3.0 g / L, extracto de carne; 5.0 g / L, peptona; 15.0 g /

L, agar; a pH = 6.8. La incubación de los cultivos líquidos fue realizada en un agitador orbital. El medio de cultivo se preparó de la siguiente manera: Solución A: 0.05 g FeSO₄ × 7H₂O / L; 1.74 g K₂HPO₄ / L; 2.0 g (NH₄)₂SO₄ / L; 1.0 g extracto de levadura / L. Solución B: 1.5 g MgSO₄ / L. Solución C: 2.0 g glucosa / L. Cada solución se esterilizó por separado, y posteriormente se mezclaron bajo condiciones asépticas ajustando el pH final a 8.0 (± 0.5) con KOH al 50 %.

Procedimiento general para realizar las biotransformaciones

Precultivo I

Un matraz Erlenmeyer de 125 mL con 50 mL del medio de cultivo estéril fue inoculado con las células contenidas en una placa de agar (con crecimiento o desarrollo por más de 72 h), e incubado a 28-30 °C con agitación orbital (200 rpm) por 24 h.

Precultivo II

El contenido del matraz de la etapa del precultivo I fue asépticamente trasvasado a un matraz Erlenmeyer de 250 mL, el cual contenía 100 mL del mismo medio de cultivo estéril; el cual fue incubado a 28-30 °C con agitación orbital (200 rpm) por 24 h.

Oxidación microbiológica de 1-fenil-1-propanol, 1. Bajo condiciones asépticas el alcohol racémico **1**, 0.15 g (1.1 mmoles) fue adicionado al matraz conteniendo el Precultivo II utilizando 1 ml de *N,N*-dimetilformamida, seguido por la adición de *n*-octano (10 ml). La mezcla fue incubada a 28-30 °C en un agitador orbital (200 rpm) por 27 h. El progreso de la biotransformación fue monitoreado por cromatografía en capa fina. Al término de la reacción la mezcla fue saturada con NaCl y filtrada a través de celita; la propiofenona, **3**, y el alcohol **1**, enantioméricamente enriquecido, fueron extraídos con acetato de etilo (4 × 25 mL). Los productos fueron separados por cromatografía en columna flash (hexano:acetato de etilo, 85:15). Se obtuvieron 0.062 g de la propiofenona, **3**, para un 42 % de bioconversión; aceite amarillo pálido cuyos espectros de IR y RMN ¹H fueron idénticos a los publicados [14a, 15a]; y 0.027 g de **1**, para un 36 % de alcohol recuperado como un aceite amarillo pálido. [α]_D = + 46.1 (c = 0.2, CHCl₃), [lit. [α]_D = -46.7 (c = 5.1, CHCl₃), % ee >99, (S)] [10]. IR (película) ν_{max} 3358, 2966, 1683, 1453, 1014 cm⁻¹; RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) δ 7.36-7.24 (5H, m, aromáticos), 4.58 (1H, t, J = 6.8 Hz, CH-O), 2.08 (1H, s, OH), 1.90-1.68 (2H, m, CH₂), 0.90 (3H, t, J = 6.8 Hz, CH₃); RMN ¹³C (CDCl₃, 125 MHz) δ 144.56 (C-1 del anillo), 128.34 (C-3 del anillo), 127.43 (C-4 del anillo), 125.93 (C-2 del anillo), 75.95 (CH-OH), 31.82 (CH₂), 10.07 (CH₃).

Determinación del exceso enantiomérico (ee), de (R)-1-fenil-1-propanol

Se realizó por CG utilizando una columna quiral G-TA, 0.3 mm X 30 m, 100 °C, N₂, 0.6 mL / min. Los tiempos de reten-

ción fueron: *t*_R = 27.0 min, *t*_S = 27.7 min. El alcohol enriquecido del proceso de separación enantioselectiva, dió un *t*_R = 27.3 min, para un % ee > 99.

Oxidación microbiológica de 1-(4-toluil)-1-etanol, 2. El alcohol racémico **2**, 0.10 g (0.73 mmoles) fue adicionado en condiciones asépticas al matraz conteniendo el Precultivo II utilizando 1 mL de *N,N*-dimetilformamida, seguido por la adición de *n*-octano (10 mL). La mezcla fue incubada a 28-30 °C en un agitador orbital (200 rpm) por 8 h. El progreso de la biotransformación fue monitoreado por cromatografía en capa fina. La mezcla fue saturada con NaCl y filtrada a través de celita; el producto, 4-metil acetofenona, **4**, y el alcohol enantioméricamente enriquecido, fueron extraídos con acetato de etilo (4 × 25 mL). Los productos fueron purificados por cromatografía en columna flash (hexano:acetato de etilo, 85:15). Se obtuvieron 0.037 g de la cetona, **4**, para un 38 % de bioconversión; aceite amarillo pálido cuyos espectros de IR y RMN ¹H fueron idénticos a los publicados [14b, 15b]; y 0.048 g del alcohol enriquecido, para un 96 % de alcohol recuperado como un aceite amarillo pálido. [α]_D = + 40.7 (c = 0.212, CH₃OH), [lit. [α]_D = -43.5 (c = 0.994, CH₃OH), % ee >99, (S)] [12]. IR (película) ν_{max} 3373, 2974, 1613, 1514, 1083 cm⁻¹; RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) δ 7.23 (d, 2H, H-3), 7.13 (d, 2H, H-2), 4.81 (t, 1H, J = 6.5 Hz, CH), 2.33 (s, 3H, Ar-CH₃), 2.03 (señal ancha, 1H, OH), 1.46 (d, 3H, J = 6.5 Hz, CH₃). RMN ¹³C (CDCl₃, 125 MHz) δ 142.9 (C-1 del anillo), 137.05 (C-4 del anillo), 129.09 (C-3 del anillo), 125.14 y 125.30 (C-2 del anillo), 70.14 (CH-OH), 25.01 (CH₃), 21.02 (CH₃-Ar).

Determinación del exceso enantiomérico (ee), de (R)-1-(4-toluil)-1-etanol

Se realizó por dos procedimientos:

- 1) Utilizando CG con una columna quiral B-PH, 0.3 mm X 30 m, 100 °C, N₂, 1.0 mL / min. Los tiempos de retención fueron: *t*_R = 42.1 min, *t*_S = 42.8 min. El producto de la separación enantioselectiva, dió, *t*_R = 42.1 min, para un % ee > 99.
- 2) Por RMN ¹H, comparando los datos del producto quiral obtenido con el correspondiente de los alcoholes racémicos **2**, en CDCl₃, referidos a la señal del espectro del hidrógeno de α-CH-OH, desplazándola con el reactivo quiral (+)-[Eu(hfc)₃]. Así la señal del α-CH-OH del racemato en 4.80 ppm, fue desplazada y resuelta con el reactivo indicado a: 8.02 y 7.93 ppm. El alcohol, producto de la separación presentó sólo una señal después de este tratamiento para un % ee > 99.

Agradecimientos

Agradecemos el apoyo otorgado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), Proyecto No. 28543N. También agradecemos al M. en C. Atilano Gutiérrez, adscrito a la Unidad Iztapalapa de la UAM, la realización de los espectros de RMN ¹³C y RMN ¹H.

Referencias

1. Okaniwa, M.; Yanada, R.; Ibuka, T. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 1047-1050 (y las referencias ahí citadas).
2. Dosa, P.I.; Ruble, J. C.; Fu, G. C. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 444-445.
3. Bae, S. J.; Kim, S. W.; Hyeon, T.; Kim, B. M. *Chem. Commun.* **2000**, 31-32.
4. Nakamura, K.; Inoue, Y.; Matsuda, T.; Ohno, A. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 6263-6266.
5. Pérez, H. I.; Luna, H.; Maldonado, L. A.; Sandoval, H.; Manjarrez, N.; Solís, A.; Sánchez, R. *Biotechnology Lett.* **1998**, *20*, 77-79.
6. Pérez, H. I.; Luna, H.; Manjarrez, N.; Solís, A.; Nuñez, M.A. *Biotechnology Lett.* **1999**, *21*, 855-858.
7. Budavari, S. *The Merck Index*, 11th ed. Merck & Co., Rahway, N.J., **1989**, a) 547; b) *Ibid* 472.
8. Aldrich: *Manual de productos químicos finos y equipo de laboratorio*. Ed. Aldrich Chemical, Milwaukee, **2000**, 1314.
9. Pérez, H. I.; Luna, H.; Manjarrez, N.; Solís, A.; Nuñez, M. A. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 4263-4268.
10. Prasad, K. R. K.; Joshi, N. N. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 3770-3771.
11. Gallagher, S. C.; Cammack, R.; Dalton, H. *Biochem. J.* **1999**, *339*, 79-85.
12. Nakamura, K., Matsuda, T. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 8957-8964.
13. Hilgetag, G., Martini, A. *Weyand / Hilgetag Preparative Organic Chemistry*. 4^a Ed. John Wiley & Sons, New York. **1972**, 878-883.
14. Pouchart, C. J. *The Aldrich Library of FT-IR Spectra*. Ed. Aldrich Chemical, Milwaukee, **1997**, a) **1**(2), 8C; b) *Ibid* **1**(2), 25B.
15. Pouchart, C. J.; Behnke, J. *The Aldrich Library of ¹³C and ¹H FT-NMR Spectra*. Ed. Aldrich Chemical, Milwaukee, **1992**, a) **1**(2), 802B; b) *Ibid* **1**(2) 818A.

Investigación

Gibberellins in apple seeds and the transport of [³H]-GA₄

Homero Ramírez,*¹ Gordon V. Hoad,² Adalberto Benavides¹ and Eloy Rangel¹

¹ Departamento de Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila, Tel.: (01) 8 4173-022, E-mail: homeror@infosel.net.mx

² AFRC Institute of Arable Crops Research, University of Bristol, Long Ashton Research Station, Bristol BS18 9AF, England

Recibido el 9 de enero del 2001; aceptado el 4 de mayo del 2001

Abstract. With the purpose of increasing the knowledge on the presence of endogenous gibberellins in apple tissue, immature seeds were collected during summer from developing fruits of Golden Delicious trees and analyzed using the gas chromatography-mass spectrometry technique. Gibberellins A₄, iso-A₇, A₉, A₁₂ and A₂₀ were identified. When [³H]-GA₄ was applied to the seeds of fruits, higher radioactivity was found in the bourse bud. These results are related to flower bud inhibition in apple trees.

Keywords: Gibberellins, apple seeds, [³H]-GA₄.

Resumen. Con el propósito de ampliar el conocimiento sobre la presencia de giberelinas endógenas en manzano, semillas inmaduras de frutos "Golden Delicious", fueron muestreadas durante el verano y analizadas mediante la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Se identificaron las giberelinas A₄, iso-A₇, A₉, A₁₂ y A₂₀. Cuando [³H]-GA₄ fue inyectada a semillas de frutos, se localizó mayor radioactividad en la yema del dardo de manzano. Los resultados se relacionan con la inhibición de la formación de yema floral.

Palabras clave: Giberelinas, semillas de manzana, [³H]-GA₄.

Introduction

The presence of fruits on apple trees is a decisive factor in subsequent flower bud formation. The general evidence is that seeded fruit, exert some inhibitory effect on the formation of flower buds [1]. This inhibitory effect is highly dependent on the amount of crop present on the tree. Williams [2] has demonstrated that in many fruit trees, flower formation tends to be reduced when the tree carries a heavy crop. Consequently, the next year crop is light and a cycle of biennial or periodic bearing may be induced.

It has been shown that exogenous applications of GA₃ reduces the formation of flowers in apple and other deciduous fruit species [3].

Immature apple seeds are exceptionally rich sources of gibberellins A₄ and A₇. They reflect their maximum level about 8-10 weeks after full bloom in some cultivars [4]. However, since it has been reported by Ramírez [5] that the inhibitory effect on flower formation by gibberellins could be more qualitative than quantitative, it is necessary to learn more about the presence of different gibberellins in apple seeds. Therefore, the purpose of this work was to find out the existence of endogenous gibberellins other than GA₄ and GA₇ in immature Golden Delicious apple seeds, to study the movement of applied [³H]-GA₄ out of the fruits, and to determine its location within the spur tissue.

Results and discussion

The gibberellins detected by GC-MS spectral analysis in immature Golden Delicious seeds were identified as GA₄, iso-GA₇, GA₉, GA₁₂ and GA₂₀. The structure of these hormones as their elution behaviour in EtOAc-*n*-hexane is shown in figure 1.

Table 1 shows the amount of radioactivity present in different spur tissues of Golden Delicious when [³H]-GA₄ was applied to seeds within the fruit. Radioactivity of this gibberellin previously confirmed with TLC analysis was present in all the tissues which were examined. However, the highest activity was detected in the bourse-bud samples.

If endogenous gibberellins produced in apple seeds are the main factors of flowering inhibition, it may be expected that differences in production of these hormones may be found. This proposal has been supported by Hoad [6], who found in biennial apple cultivars more gibberellins moving out of the fruit than in more regular cropping ones. However, this effect is not seen in other cultivars such as Golden Delicious [7]. These reports suggest that the qualitative seed gibberellin factor may play an important role in the inhibition of flower bud.

The identification in this work of gibberellins A₄, A₉, A₁₂, A₂₀ and iso-GA₇ (Fig. 1), suggests that the inhibition of flowering by gibberellins could be more complicated than has previously been supposed. On these basis, it is possible that specific gibberellins found in seeds may exert a direct effect on the inhibition process.

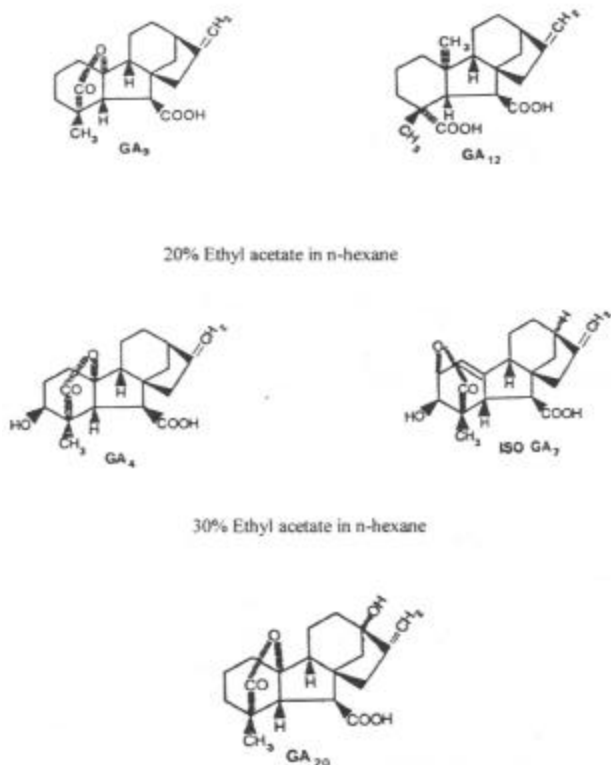


Fig. 1. Gibberellins identified by GC-MS in immature seeds of Golden Delicious. Eluted as indicated with EtoAc-*n*-hexane.

No evidence as to the identity of the endogenous gibberellins moving out of fruits has been obtained by using diffusates [8, 9], because not enough gibberellins come out of fruits for GC-MS analysis. However, on the basis of results obtained in the present work and previous data [10, 11], it is possible to speculate as to which gibberellins are involved in the inhibition of fruit-bud initiation. Feeding labelled gibberellins to intact fruit has shown that some degree of hydroxylation is necessary for movement. GA₉ is immobile [12], but GA₃ [13], and GA₄ (Table 1) both move from the fruit into spur tissue. Therefore, it is likely that gibberellins A₉ and A₁₂ are immobilized due to their lack of hydroxylation.

Also of interest is that [³H]-GA₄ moved out of fruits into the bourse-bud without being further hydroxylated (Table 1), indicating that metabolism of applied gibberellins in the tissues is not extensive.

The situation is different when the compound is applied directly to the spur as it has been shown by Looney [14], thus when [³H]-GA₄ were fed to spurs of Golden Delicious trees, there can be considerable metabolism of GA, and the more extensively this occurs the greater is the tendency for flower initiation to proceed. Thus on the basis of these results it seems that the more highly hydroxylated gibberellins such as GA₁, 15-βOH-GA₄ and 15-βOH-GA₇ [15] are not so important for inhibiting flowering as those with one hydroxyl group (Fig. 1).

The presence of a range of gibberellins in seed extracts opens further possibilities for explaining the way in which they exert their effect on the inhibition of flower bud in apple.

Table 1. Radioactivity in the spur tissue 48 h after the application of 0.5 μCi of [³H]-GA₄ to seeds of Golden Delicious fruits on July 19, 1999.

dpm / 100 mg d.w. ± s.e			
Leaves	Bourse-bud	Remaining spur tissue	Total
3061 ± 1512	12090 ± 5426	5392 ± 2201	20543

Conclusions

1. The hypothesis of flower bud inhibition in apple by gibberellins appears to be related to a qualitative effect of these hormones.
2. Gibberellins A₄, isoA₇, A₉, A₁₂ and A₂₀ should play an important role in fruit and flower bud physiology.
3. Labelled gibberellin A₄ move out of the fruit into the spur tissue, particularly to the bourse bud.
4. It is possible that specific gibberellins emanating from developing fruitlets may be involved in the inhibition of flowering and that the degree of hydroxylation of gibberellins is an important factor in the action of these hormones.

Experimental section

Seed samples (100 g dry weight) were collected on July 12, 1999 from developing fruits of 15 years old Golden Delicious / MM106 apple trees grown in a conventional plantation system and used for the identification of gibberellins by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The seeds were collected at the time when the highest levels of gibberellins activity occurred, *i.e.* about 10 weeks after full bloom. Removed seeds were frozen, freeze-dried and grounded. The extraction and purification procedure prior to GC-MS analysis is illustrated in figure 2. Purified extracts of immature apple seeds were dissolved in a few drops of methanol and methylated with diazomethane. A portion of the methylated extract was dissolved in pyridine and treated with trimethylchlorosilane and hexamethyldisilazane. Aliquots were examined using a Pye 104 GLC coupled through a silicone membrane separator to an AEI MS30 dual beam mass spectrometer. Silanized glass columns (213 × 0.2 cm) were packed with 2 % SE-33 on 80-100 Gas Chrom Q. The He-flow rate was 25 mL / min and the column temperature was programmed from 180 °C to 280 °C at 2° / min. The MS were determined at 24eV at a source temperature of 210 °C and a separator temperature of 190 °C with a scan speed of 6.5 s per mass decade. The spectra were recorded by a DEC Linc 8 computer. Identification of gibberellins was conducted by comparison of KRI and MS spectra of their methyl ester trimethylsilyl ether derivatives with those of authentic samples [15].

For the study of [³H]-GA₄ transport, three fruits carrying spurs from selected Golden Delicious / MM106 apple trees grown on the same plantation were used. The fruits were sli-

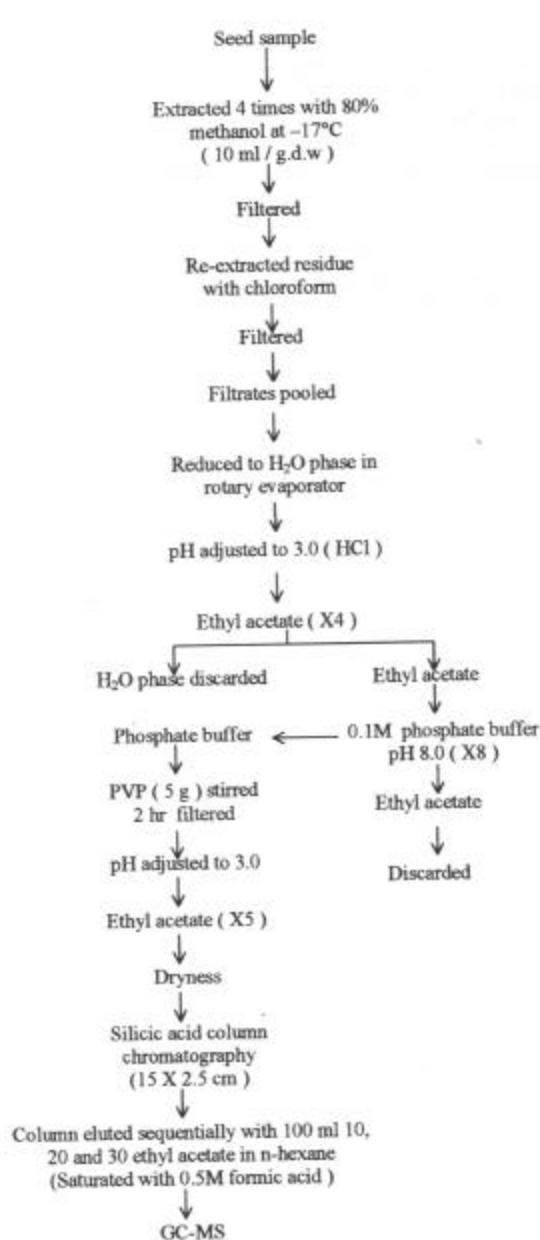


Fig. 2. Flow diagram outlining the procedure used for the extraction and purification of seed extracts for gibberellin analysis using GC-MS.

ced across the styler end just above the seeds. Thus the intact seeds, partly immersed in the flesh, became visible. A 5 μL drop of 50 % ethanolic solution containing 0.5 μCi of [^3H]-GA $_4$, was applied to the seeds of each fruit using a microsyringe; the top of the fruit was replaced and sealed in position using adhesive tape. The operation was performed on July 19, 1999 *e.g.* about the time when the peak of endogenous gibberellin activity in the seeds occurred. After a 48 h period, the spurs with the treated fruits were collected from the trees and the fruits removed from the spur. The spur was divided into leaves, bourse-bud and remaining spur tissue. Each tissue sample was freeze-dried and ground. The extraction and

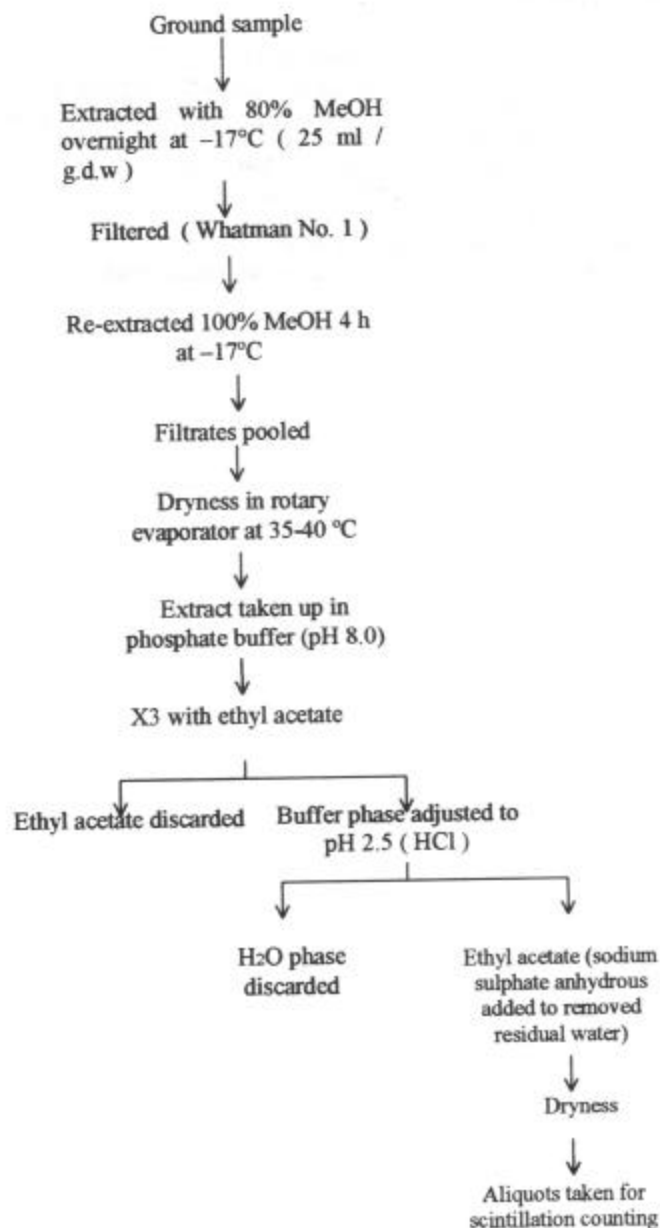


Fig. 3. Flow diagram outlining the procedure for the extraction and purification of [^3H]-GA $_4$ extracts of spur tissues of Golden Delicious prior to scintillation counting.

purification procedure for [^3H]-GA $_4$, is illustrated in figure 3. Aliquots of extracts were pipetted into glass vials and 10 mL of PPO-POPOP scintillation solution was added to each one. The radioactivity of the original compound present was measured in an LS150 automatic liquid scintillation counter and dpm values worked out with the aid of a correlation curve [15].

References

1. Greene, D. W. *J. Hort. Sci.* **1993**, 68, 171-176.
2. Williams, M. W. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **1972**, 97, 210-212.
3. Dennis, G. F., in: *Tree Fruit Physiology*, Maib, K. M., Ed., Good Fruit Grower, Washington DC, **1997**, 107-116.
4. Ramírez, H.; Hoad, G. V. *Acta Hort.* **1981**, 120, 131-136.
5. Ramírez, H. *Acta Hort.* **1995**, 394, 101-103.
6. Hoad, G. V. *Acta Hort.* **1981**, 80, 93-103.
7. Ramírez, H. *Acta Hort.* **1993**, 329, 95-97.
8. Looney, N. E.; Pharis, R. P.; Noma, M. *Planta* **1985**, 165, 292-294.
9. Tromp, J. J. *J. Hort. Sci.* **1992**, 57, 277-282.
10. Hoad, G. V.; Monselise, S. P. *Scientia Hort.* **1976**, 4, 41-47.
11. Looney, N. E., in: *Manipulation of Fruiting*, Wright, C. J., Ed., Butterworths, London, **1990**, 39-50.
12. Sharma, N.; Jindal, K. K. *Acta Hort.* **1994**, 395, 113-121.
13. Looney, N. E.; Lidster, P. D. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **1980**, 105, 130-134.
14. Looney, N. E., in: *Tree Fruit Physiology*, Maib, K. M., Ed., Good Fruit Grower, Washington DC, **1997**, 31-40.
15. Pharis, R. P.; King, R. W. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **1985**, 36, 517-568.

Investigación

Mecanismos de formación de cementita intergranular de aceros sinterizados Fe-Cu-C

A. Bolarín,^{1*} F. Sánchez,¹ A. Luévanos,¹ J. Coreño¹ y A. Barba²

¹ Centro de Investigaciones de Materiales y Metalurgia, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH). Ciudad Universitaria, Carretera Pachuca-Tulancingo Km 4.5, Pachuca 42184, Hidalgo, México.

Tel: 527-71, 720-00 ext. 6713, E-mail: abolarin@uaeh.reduaeh.mx

² Área de Materiales, Departamento de Ingeniería Mecánica. Facultad de Ingeniería.

Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Cd. Universitaria, México 04510, D.F.

Recibido el 20 de marzo del 2001; aceptado el 12 de junio del 2001

Resumen. La aleación Fe-Cu-C es de gran uso en la fabricación de piezas mediante metalurgia de polvos, debido a que confiere a las piezas buenas propiedades mecánicas (dureza, resistencia, etc.) a bajo costo. El principal inconveniente es la formación de cementita intergranular (Fe_3C), la cual produce una disminución en la ductilidad y tenacidad, transformando al material en sumamente frágil. En este trabajo, se presenta el efecto que ejercen algunas de las variables de proceso pulvimetalúrgico: porcentaje de cobre, estado de difusión del cobre en la matriz férrea, temperatura de sinterización y velocidad de enfriamiento, sobre la proporción de cementita intergranular, de la aleación Fe-Cu-C. Los resultados muestran que la formación de cementita está íntimamente relacionada con la secuencia en que difunden el cobre y el carbono en el hierro, realizando cada una de las variables mencionadas anteriormente un efecto particular. Sobre la base de los resultados experimentales obtenidos, se propone un modelo teórico que explica los mecanismos de difusión de cobre y carbono en la matriz metálica durante la sinterización en este tipo de aleaciones.

Palabras clave: Aleación Fe-Cu-C, cementita, mecanismo de formación, modelo teórico.

Abstract. The Fe-Cu-C alloy is widely used in manufacturing parts by powder metallurgy, due to this alloy confers excellent mechanical properties (hardness, strength, etc.) at low cost. However, mechanical properties of this alloy such as ductility and tenacity are decreased when intergranular cementite (Fe_3C) is formed into the material and consequently the material produced is highly fragile. This work presents the effect of some parameters: percentage of copper, diffusion condition of copper into the ferrous matrix, sintering temperature and cooling rate, on the proportion of intergranular cementite contained in the sintered alloy Fe-Cu-C. The obtained results shown that formation of cementite is closely related to the copper and carbon diffusion orders into the ferrous matrix. Copper and carbon diffusion are affected by the operating parameter. In accordance with the experimental obtained results a theoretical diffusion model is proposed. This model explains the copper and carbon diffusion phenomenon into the metallic matrix that takes place during sintering process of this type of alloy.

Keywords: Fe-Cu-C alloy, cementite, mechanism of formation, theoretical model.

Introducción

La Metalurgia de Polvos es una técnica de conformado de materiales en estado polvo, a través de la cual se obtienen piezas con pérdida prácticamente nula de material durante el proceso productivo ("near net-shape"), y a su vez, de un modo relativamente económico, se consigue alta productividad y complejidad de pieza, sin necesidad de realizar operaciones secundarias tales como maquinado, ensamblado, soldado, etc. [1, 2]. Pero en muchas ocasiones, operaciones como el maquinado son necesarias, debido a la forma o tolerancia requerida en la pieza final. Por lo anterior, es necesario que las aleaciones conformadas posean cierta maquinabilidad que permita realizar operaciones posteriores de un modo sencillo [3].

La aleación Fe-Cu-C, objeto de investigación de este trabajo, es una aleación muy empleada en la fabricación de piezas del sector automotriz. Diversos estudios muestran que el proceso de conformado mediante metalurgia de polvos de este tipo de aleaciones, produce a menudo cementita (Fe_3C) en los

límites de grano (intergranular), la cual le confiere problemas de maquinabilidad y fragilidad [4], y consecuentemente sus aplicaciones industriales quedan reducidas.

Algunos autores han estudiado la formación de este constituyente microestructural en aleaciones sinterizadas Fe-Cu-C y el modo en que éste afecta sobre las propiedades mecánicas de los materiales obtenidos [5]. Las conclusiones de estos trabajos muestran que minimizando la cantidad de cementita en la microestructura resultante se mejoran notablemente sus propiedades mecánicas. A pesar de lo anterior, no se han encontrado referencias bibliográficas en la que se establezca el efecto de las variables del proceso pulvimetalúrgico en la precipitación de cementita, ni el mecanismo de difusión de los elementos de aleación (cobre y carbono) en la matriz metálica durante el proceso de sinterización que justifique la formación de este microconstituyente.

En este trabajo se investiga el efecto que ejercen diferentes variables del proceso de manufactura (temperatura de sinterización, velocidad de enfriamiento, proporción de cobre

Tabla 1. Experimentos realizados.

EXP No.	Parámetros estudiados			
	Cu (% peso)	Grado de difusión del Cu	T sinterización (°C)	Velocidad de enfriamiento (°C / s)
1	2.5	Parcialmente aleado	1120	0.8
2	1.5	Parcialmente aleado	1120	0.8
3	2	Parcialmente aleado	1120	0.8
4	3	Parcialmente aleado	1120	0.8
5	5	Parcialmente aleado	1120	0.8
6	2.5	No aleado	1120	0.8
7	2.5	Aleado	1120	0.8
8	2.5	Parcialmente aleado	1050	0.8
9	2.5	Parcialmente aleado	1150	0.8
10	2.5	Parcialmente aleado	1120	2.0
11	2.5	Parcialmente aleado	1120	5.3

y grado de difusión del cobre en la matriz férrea) sobre la formación de cementita intergranular. Paralelamente, como resultado del análisis de los resultados experimentales obtenidos, se propone un modelo teórico que explica los mecanismos a través de los cuales se produce la difusión del cobre y carbono en la matriz de hierro, lo cual justifica la precipitación de la cementita intergranular en este tipo de aleaciones. Con lo anterior será posible controlar la formación de cementita intergranular durante el proceso de sinterización y por lo tanto, sus propiedades mecánicas finales.

Parte experimental

Los experimentos se realizaron empleando como material referencia polvo de hierro prealeado: Fe-2.5Cu (75 % en peso de atomet1001 de Quebec Metal Powders y 25 % en peso de Distaloy ACu de Hoganas), mezclado con 0.6 % en peso de etilen-bis-estearamida (Acrawax C de Lonzagroup) como lubricante de prensado y 0.5 % en peso de grafito natural.

Para estudiar el efecto de la proporción de cobre, se modificó la cantidad de cobre adicionado, siempre en forma de cobre prealeado: Distaloy ACu. Para evaluar el efecto del grado de difusión del cobre en la matriz férrea, se modificó el modo en que se encontraba el cobre difundido: elemental (sin alear), prealeado y completamente aleado. En todos los casos, los polvos poseen las mismas propiedades físicas: densidad aparente y tasada, distribución granulométrica, fluencia, etc.

Todas las mezclas se prepararon mediante técnica convencional en mezclador de laboratorio tipo "V", durante 20 minutos a 50 r.p.m. Las diferentes mezclas fueron prensadas en forma de probetas cilíndricas de 25.4 mm de diámetro y 12.5 mm de altura, hasta densidad de 6.8 g / cm³. Posteriormente fueron sinterizadas en un horno de cinta a temperaturas entre 1050 °C y 1150 °C, en atmósfera de N₂ / 5H₂ / CH₄, con control de potencial de carbono. En la Tabla 1 se muestran las diferentes mezclas preparadas, así como las variables del proceso estudiadas.

Para obtener el porcentaje de cementita teórico, se parte del diagrama de equilibrio Fe-C [6], el cual muestra que la perlita contiene un 0.8 %C, la cementita un 6.69 %C y que la ferrita no contiene prácticamente carbono (todos los porcentajes expresados en peso). Basándose en lo anterior y aplicando la regla de la palanca, el carbono total que contiene el material se puede relacionar con el porcentaje de carbono en peso que contiene cada fase a través de la siguiente expresión:

$$\% C = 0.8 \cdot \frac{\% P}{100} + 6.69 \cdot \frac{\% Fe_3C}{100} + 0 \cdot \frac{\% F}{100} \quad (1)$$

Donde % Fe₃C es el porcentaje de cementita, % P es el porcentaje de perlita % C es el porcentaje de carbono y % F es el porcentaje de ferrita, todos los porcentajes expresados en peso.

Resolviendo la ecuación 1, se obtiene que el porcentaje de cementita es:

$$\% Fe_3C = \frac{(100 \cdot \% C) - 0.8 \cdot \% P}{6.69} \quad (2)$$

De acuerdo con el análisis teórico realizado anteriormente, el método de determinación que se emplea en este trabajo para la obtención de la cementita libre, está enfocado a determinar previamente el porcentaje de carbono y de perlita. El carbono se obtiene de un modo sencillo mediante análisis químico cuantitativo y la perlita se puede obtener mediante métodos ópticos, determinando la superficie que ocupa ésta fase respecto al total de la superficie seleccionada, de acuerdo a la ecuación:

$$\% P = \frac{S_p}{S - S_e} \quad (3)$$

Donde S es el área total seleccionada en la micrografía, S_e el área que ocupan los poros y S_p la superficie ocupada por la perlita.

De lo anterior, la metodología para obtener la proporción de cementita es observar al microscopio óptico la microestructura del material, haciendo una fotografía a 400 aumentos que sea representativa de la misma [7], posteriormente, determinar

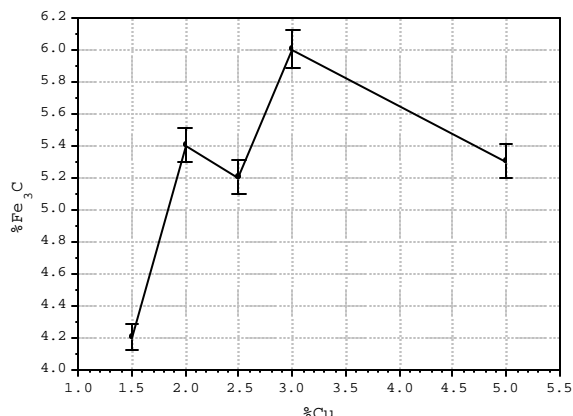


Fig. 1. Efecto del porcentaje de cobre en la formación de cementita.

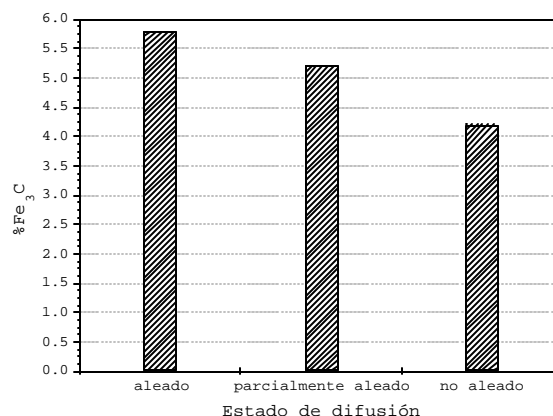


Fig. 2. Efecto del estado de difusión del cobre en la formación de cementita.

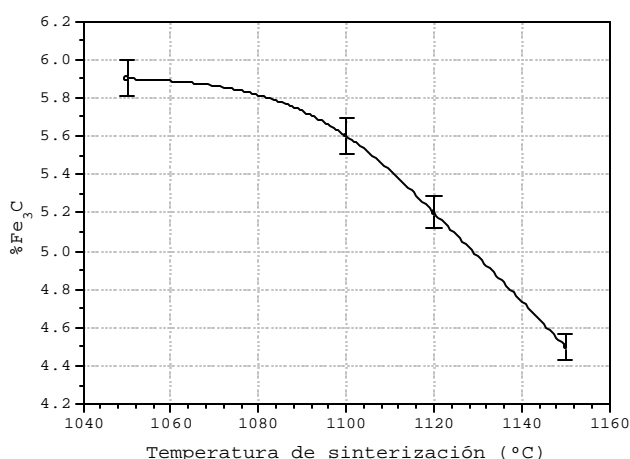


Fig. 3. Efecto de la temperatura de sinterización en la formación de cementita.

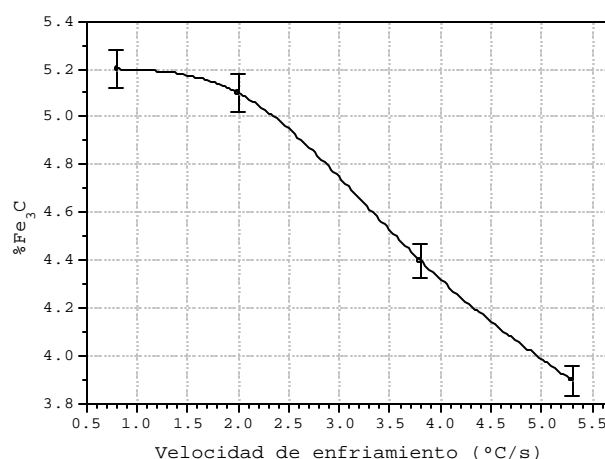


Fig. 4. Efecto de la velocidad de enfriamiento en la formación de cementita.

mediante análisis de imagen el área que ocupa la fotografía entera (S), la porosidad (S_p) y la perlita (S_p). Sustituyendo los datos obtenidos en la ecuación 3, obtener el porcentaje de perlita y finalmente, determinar el porcentaje de carbono que tiene el material (% C) con un analizador específico de carbono y azufre [8].

Sustituyendo el porcentaje de perlita y el de carbono del material en la ecuación 2, se obtiene directamente el porcentaje de cementita total, comprendiendo este valor tanto la cementita intergranular como la cementita intragranular.

Resultados y discusión

En las figuras 1-4, se muestra el efecto de cada una de las variables estudiadas sobre la proporción de cementita intergranular precipitada:

La figura 1 muestra que la proporción de cobre tiene una influencia muy importante sobre el porcentaje de cementita presente en la matriz de hierro. En esta figura se aprecia que el material con el 1.5 % de Cu (exp 2), es el que genera la menor

proporción de cementita. El valor más alto de este microconstituyente, se obtiene cuando se trabaja con un 3 % de Cu (exp 4). Curiosamente, la aleación con 5 % de Cu (exp 5) presenta un porcentaje de cementita similar al de las aleaciones de 2 % de Cu (exp 3) y la de 2.5 % de Cu (exp 1).

Este fenómeno se puede explicar basándose en el diagrama de equilibrio Fe-Cu [6]. Cuando se sinterizan aleaciones con más de un 3.5 % Cu, se forma una fase Cu-Fe rica en cobre, que se segrega como fase hipoeutectoide. Cuando se tiene un 5% Cu, ésta fase se empieza a formar a 950 °C y se lleva la mayor parte del cobre añadido, con lo cual la matriz tiene aproximadamente un 2,5 % Cu. Como la cantidad de cementita de la aleación con el 2.5 % Cu es prácticamente la misma que con el 5% Cu, se llega a la conclusión de que el cobre en disolución es el causante de la formación de la cementita, mientras que el cobre en fase líquida restante no tiene influencia.

Si se emplea polvo de cobre elemental en lugar de Fe-Cu parcialmente aleado (exp 6), se produce una reducción importante en el porcentaje de cementita, tal como se aprecia en la figura 2. Esto se debe a que el cobre parcialmente aleado, tiene una difusión más rápida que el polvo de cobre elemental

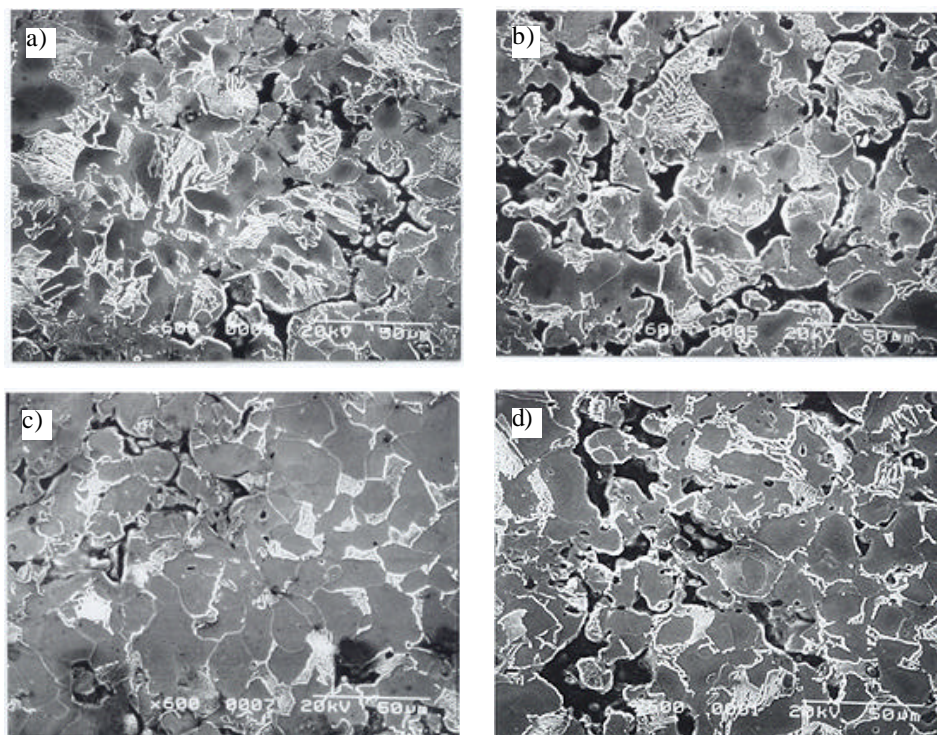


Fig. 5. Micrografías en MEB de aleaciones Fe-Cu-C correspondientes a diferentes experimentos. a) exp 11, b) exp 2, c) exp 8 y c) exp 1.

en el hierro, lo cual imposibilita la difusión de carbono en la matriz férrea y por lo tanto promueve la precipitación de cementita intergranular.

El material sinterizado a 1050 °C (exp 8) presenta una cantidad de perlita muy baja, en esta aleación casi todo el carbono está en forma de cementita tal como se aprecia en su micrografía (Fig. 5). Los resultados mostrados en la figura 3 dan una idea del mecanismo de difusión del carbono durante la sinterización. El grafito empieza a difundir en el hierro a 1000 °C, y a 1050 °C está todo difundido formando cementita. Si se aumenta la temperatura hasta 1120 °C, la cementita reacciona con el hierro y el carbono queda disuelto en la austenita, que cuando se enfría da lugar a perlita. La sinterización a 1150 °C (exp 9) reduce significativamente el porcentaje de cementita. Esto quiere decir que un aumento de la temperatura de difusión evita la formación de cementita porque favorece la disolución o difusión del carbono en la austenita.

Finalmente, un aumento de la velocidad de enfriamiento del horno de sinterización a 2 °C / s (exp 10) no tiene ningún efecto en la formación de cementita, mientras que el enfriamiento a 5.3 °C / s (ver su microestructura en la figura 5) da un material con el mínimo contenido en cementita obtenido (exp 11). De lo anterior, resulta evidente el porcentaje de cementita se reduce al aumentar la velocidad de enfriamiento porque se evita la transformación de austenita en perlita + cementita en zonas que tienen más de un 0.8 % C, tal como se observa en la figura 4.

En la figura 5 se muestran las micrografías que presentan algunos de los materiales estudiados, en los cuales se aprecia

el tipo y la proporción de cementita en cada uno de los experimentos realizados.

Análisis teórico del mecanismo de formación y tipos de cementita

Sobre la base de los resultados experimentales obtenidos, se extrae que la cementita se forma siempre por una incompleta difusión del carbono en la matriz férrea y se pueden distinguir claramente dos tipos de este constituyente, los cuales definen los mecanismos de difusión para este tipo de sistemas metálicos durante la sinterización (Fig. 6):

a) Cementita primaria. Es el primer paso de la difusión del grafito en el hierro. Primero se forma este tipo de cementita y posteriormente, ésta difunde en la austenita, dando perlita al enfriar. Cuando la cementita primaria no consigue difundir en la austenita, suele aparecer en los bordes de las partículas de hierro o bien formando gruesas láminas dentro de una partícula sin perlita a su alrededor. La existencia de cementita primaria residual se debe a la activación insuficiente de la difusión del carbono y a la inhibición de la difusión de la cementita en la austenita por efecto del cobre.

b) Cementita secundaria. Se forma durante el enfriamiento de zonas austeníticas con un contenido en carbono superior al 0.8 % en peso. Aparece siempre en un antiguo límite de grano austenítico, y está rodeada de perlita.

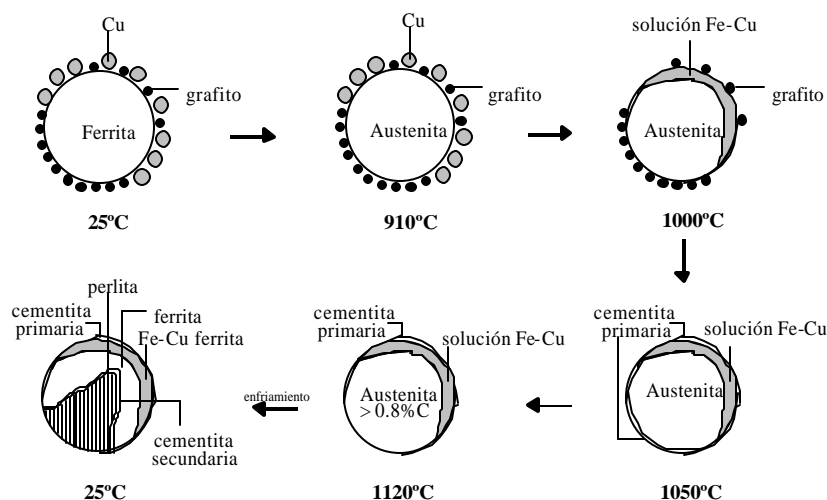


Fig. 6. Mecanismo de formación de cementita en aleaciones Fe-Cu-C durante la sinterización.

La existencia de este último tipo de cementita (secundaria) se debe al efecto inhibitor del cobre en la difusión, creándose canales preferentes de difusión del grafito en las zonas donde no hay o hay muy poco cobre.

De acuerdo con los mecanismos de difusión presentados en este trabajo, es posible minimizar la formación de cementita intergranular en este tipo de aleaciones sinterizadas Fe-Cu-C, controlando las variables del proceso pulvimetalúrgico. Para conseguirlo, es necesario evitar la formación de cementita primaria, lo cual se consigue favoreciendo la difusión de ésta en la austenita (aumentando la temperatura de sinterización, aumentando el tiempo de sinterización o reduciendo el porcentaje de cobre) y/o retrasando la difusión del cobre (utilizando cobre elemental en lugar de Fe-Cu parcialmente aleado). Por otro lado, para evitar la formación de cementita secundaria, es preciso aumentar la velocidad de enfriamiento del horno de sinterización.

Conclusiones

En el desarrollo de este trabajo se ha descrito tanto experimental como teóricamente la existencia de dos tipos de cementita intergranular: una cementita primaria producida por la difusión del grafito en el hierro que no está completamente disuelta en la austenita, y se forma a 1050 °C, y otra cementita secundaria que se forma durante el enfriamiento y que proviene de áreas austeníticas que contienen más de un 0.8 % C disuelto.

La aparición de la cementita intergranular se puede evitar en términos generales favoreciendo su difusión en la austenita, retrasando la difusión del cobre y acelerando la transformación de austenita en perlitita. Así, desde un punto de vista experimental, para obtener aleaciones sinterizadas Fe-Cu-C con la menor proporción de cementita intergranular, se aconseja: sin-

terizar a temperaturas altas ($T > 1120$ °C), con porcentajes de cobre alrededor del 2.5 % en peso, emplear polvo de cobre elemental (sin alea) y enfriar el material después del proceso de sinterización a velocidad elevada.

Referencias

1. Causton R. J.; T. Cimino, *Machinability of P / M Steels*, Powder Metallurgy Technologies, **1998**, 671.
2. Saroop, G.; Causton R. J.; Lawley, A. Hardenability of Sintered Fe-B-C Alloys, *Advances in Powder Metallurgy & Particulate Materials 2000*. PM Congress, Vol. 13, New York, USA, **2000**, 95.
3. Agapion, J. S.; Devries, M. F. *Int. J. on Powder Metallurgy***1988**, 24, 47.
4. German R. M., *Sintering Theory and Practice*, Wiley-Interscience Publication, John Wiley and Sons, Inc. New York, **1996**.
5. Uskokoich, D. P.; Palmour H.; Springgs, R. M. (Eds.), *Science of Sintering*, Plenum Press, 3, New York, NY, **1989**.
6. ASM International, Alloy Phase Diagrams, *ASM Handbook*, Vol. 3, Materials Park Ohio, **1992**.
7. Pease III, L. F. and Pease, D. L. *Metallographic Preparation of P / M Materials*, *Advances in Powder Metallurgy & Particulate Materials 2000*. PM Congress, Vol. 13, pp. 141, New York, USA, **2000**.
8. ASM International, Materials Characterization, *ASM Handbook*, Vol. 10, Materials Park Ohio, **1986**.

Investigación

New Bioactive Derivatives of Xanthorrhizol

María Isabel Aguilar,^{*1} Guillermo Delgado² and María Luisa Villarreal³

¹ Departamento de Farmacia, Conjunto "E" de la Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad Universitaria, Coyoacán, México 04510, D. F. E-mail: laurents@servidor.unam.mx

² Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, Coyoacán, México 04510, D.F.

³ Centro de Investigación Biomédica del Sur, IMSS, Argentina No. 1, Xochitepec, Morelos, México

Recibido el 6 de febrero del 2001; aceptado el 12 de junio del 2001

Abstract. The chemical preparation and the antifungic and cytotoxic evaluations of several new derivatives of xanthorrhizol, a bioactive natural product isolated from certain plants used in traditional medicine, are described. Acylation of the phenol, bromination of the benzene ring, as well as reduction and oxidation of the olefin of the natural sesquiterpene, allowed obtaining a series of derivatives which displayed mild antifungic activities and did not show cytotoxic activities toward certain human tumor cell lines.

Key words: Xanthorrhizol, *Iostephane heterophylla*, antifungic agents, bisabolene derivatives.

Resumen. Se describe la preparación química y las evaluaciones antifúngicas y citotóxicas de algunos derivados novedosos del xanthorrhizol, un producto natural bioactivo aislado de ciertas plantas usadas en la medicina tradicional. La acilación del fenol, la bromación del anillo bencénico, y la oxidación y reducción de la olefina del sesquiterpeno natural permitieron la obtención de una serie de derivados, los cuales mostraron actividades fúngicas moderadas y no mostraron actividad citotóxica en ciertas líneas celulares.

Palabras clave: Xanthorrhizol, *Iostephane heterophylla*, agentes antifúngicos, derivados del bisaboleno.

Introduction

Xanthorrhizol (**1**), a sesquiterpene of the bisabolene type, has been isolated from Zingiberaceae and Asteraceae families of higher plants [1,2]. This compound constitutes the major secondary metabolite in the chloroform extract of the roots of *Iostephane heterophylla* (Asteraceae), a plant that has been medicinally used in Central Mexico to treat skin illnesses such as wounds and sores, among other diseases [3]. Previous evaluations on this compound, as antifungic and cytotoxic agent [3], for prolonging pentobarbital induced sleeping time [4], and as inhibitor of the tonic contraction of rat uterus [5], have shown positive results. Xanthorrhizol is a sesquiterpenic phenol, with an unsaturated prenylic chain at C-5. The antimicrobial activity of phenol derivatives is well documented in the literature, and phenol itself is employed as a standard of bactericidal activity in the USP Pharmacopoeia, reporting its antimicrobial action as the "phenol coefficient" [6]. Introduction of chlorine or bromine atoms in phenolic ring enhances the antiseptic activities, as well as the presence of alkyl chains, being more potent the lineal than the ramified ones. Acetylation of the phenolic group produces an ester that slowly liberates the phenol when it contacts the tissues. This property diminishes its irritant action and allows it to be employed as an antiinfective agent in nose, throat and ears [6].

Since chemical modifications of a bioactive natural product result in the modification of its biological properties [7-

9], some new derivatives of xanthorrhizol (**1**) were prepared, in which the phenol was modified to acetate and benzoate esters. Other modifications of **1** were the bromination of the aromatic ring and the saturation and oxidation of the $\Delta^{12,13}$ double bond. In this paper, we report the preparation of the above mentioned derivatives and their evaluation in the anti-dermatophytic and cytotoxic bioassays.

Results and discussion

6-Bromo- (**2**), 4-bromo- (**3**), 12,13-dihydro- (**4**), 1-*O*-acetyl- (**7**), and 1-*O*-benzoyl- (**8**), 12, 13-epoxy- (**5**), and 12, 13-dihydro-dihydroxy-xanthorrhizol (**6**) were prepared from xanthorrhizol (**1**), obtained from the CHCl_3 extract of the roots of *I. heterophylla* [3]. Halogenation of **1** with NBS afforded the sterically hindered 6-bromo-xanthorrhizol (**2**) as the main product, together with the bromination product at C-4 (**3**). Both compounds possessed similar spectroscopic characteristics and according to their MS, they showed to be isomers. The molecular ion appeared at m/z 298 [M^{+2}], 297 [M^{+1}] and 296 [M^+], and other fragments were at m/z 217 M^+-Br and 135 $\text{M}^+-\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}$ (base peak). The ^1H NMR spectrum of **2**, showed signals for two *ortho* benzenic hydrogens at δ 6.71 (H-5) and δ 7.03 (H-4), as a pair of doublets ($J = 7.8$), while in compound **3**, the benzenic hydrogens appeared *para* to each other, as a pair of singlets at δ 6.65 (H-6) and δ 7.26 (H-3).

Table 1. ^{13}C NMR Data (CDCl_3 , 75 MHz) for compounds **1-8**.

C	1	2	3	4	5 ^a	6 ^a	7	8
1	153.3	150.03	155.25	153.64	153.96	153.91, 154.02	149.28	155.25
2	121.0	113.29	131.02	120.60	121.37	121.45	127.17	127.37
3	130.8	144.33	134.46	130.77	130.77	130.69, 130.78	130.83	134.46
4	119.5	118.80	118.46	119.37	118.89	118.95, 119.22	124.36	124.35
5	147.2	129.67	144.63	147.56	146.18	146.16	146.93	144.63
6	113.7	122.71	113.9	113.46	113.34, 113.52	113.25, 113.38	120.32	120.42
7	15.3	16.39	15.05	15.25	15.44	15.48	15.75	15.84
8	39.1	38.09	37.66	39.42	39.18, 39.52	39.28, 39.54	38.82	38.85
9	22.3	21.28	21.22	22.25	18.62	22.26	22.12	22.16
10	38.5	37.32	37.66	36.52	34.69, 35.12	35.29	38.29	38.31
11	26.2	25.98	26.18	25.38	26.84, 27.16	29.61, 29.78	26.03	26.04
12	124.6	124.24	124.74	39.00	64.63, 64.91	78.63, 78.82	124.71	124.71
13	131.4	131.67	131.63	27.75	58.75, 58.83	73.41	131.52	131.63
14	17.7	17.61	17.22	22.49	22.35, 22.5	23.07, 23.17	17.63	17.64
15	25.7	25.70	25.42	22.59	24.81	26.41	25.67	25.67
1'							20.80	129.73
3', 5'								128.53
C=O							169.24	

^a Epimeric mixture at C-12.

The remaining signals corresponded to a benzylic hydrogen, and four methyls (^1H NMR data in the Experimental). Compound **4** was obtained quantitatively by catalytic hydrogenation of xanthorrhizol (10 % Pd / C), and its spectroscopic constants were similar to those of xanthorrhizol, being observed a difference of two additional units in the MS of **4**. **4** was previously characterized [1]. Compounds **5** and **6** were obtained previously as minor natural products [3] and they were prepared as a C-12 epimeric mixture from **1**: epoxidation with *m*-chloro-perbenzoic acid, afforded **5**, and diol **6** was obtained via *trans*-hydroxylation with performic acid [3]. Acetylation and benzylation of xanthorrhizol (**1**) led to compounds **7** and **8**. ^1H (see Experimental) and ^{13}C NMR (Table 1) data for compounds **2-8** were in agreement with the proposed structures, and the assignments were supported by comparison with the data in the literature [10].

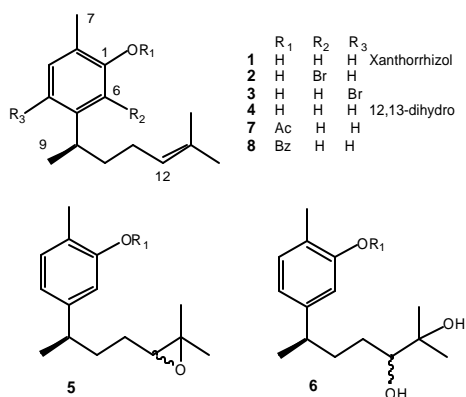
Compounds **1-8** were tested for their antimicrobial activities toward *Trichophyton mentagrophytes* and *Microsporum*

gypseum growing *in vitro*, and the results (Table 2) showed that the majority of the structural modifications to xanthorrhizol (derivatives **2**, **3**, **5-8**) led to reduced but clear activities ($\text{MIC} < 400 \mu\text{g} / \text{mL}$), while the 12,13-dihydro derivative (**4**) displayed the same bioactivities of the standard antifungic reference (nystatin) and xanthorrhizol (**1**). These preliminary results suggested the structural requirements of xanthorrhizol (**1**) for the activity toward the tested microorganisms. Regarding the antiploriferative activities, although xanthorrhizol (**1**) showed activity against sarcoma 180 ascites in mice [11], the evaluation of compounds **1-8** in KB, UISO-SQC-1 and HCT-15 human tumor cell lines indicated that they did not display significant cytotoxicity ($\text{ED}_{50} > 4 \mu\text{g} / \text{ml}$).

Experimental

IR spectra were taken on an 80A Nicolet FT. MS were measured on a 5985-B Hewlett Packard instrument. Optical rotation was determined on a 241 Perkin Elmer polarimeter. NMR spectra were recorded on a Varian VXR 300 spectrometer, operating at 300 MHz (^1H) and 75 MHz (^{13}C). CDCl_3 was used as solvent. Chemical shifts are reported in parts per million (δ) relative to TMS, and coupling constants (J) are in Hertz. Carbon substitution degrees were established by DEPT multipulse sequence. Xanthorrhizol (**1**) was isolated from the roots of *I. heterophylla*, as described previously [2,3].

6-Bromo-xanthorrhizol (2) and 4-Bromo-xanthorrhizol (3). Xanthorrhizol (**1**) (225 mg, 1.02 mmol) and *N*-bromo-succinimide (178 mg, 1 mmol) were dissolved in CCl_4 (2.5 mL). The reaction was initiated adding catalytic quantities of dibenzoyl peroxide, and refluxed for 2 h. The starting material was



Scheme 1

Table 2. Data of the Antimicrobial activities for compounds **1-8**.^a

Microorganisms	Compounds								
	1	2	3	4	5	6	7	8	Nystatin
<i>T. m.</i> ^b	10	200	400	10	200	400	100	400	10
<i>M. g.</i> ^c	10	400	400	10	200	400	100	400	10

^a MIC values, $\mu\text{g} / \text{mL}$, calculated as previously reported [12].

^b *T. mentagrophytes*. ^c *M. gypseum*.

consumed, and the formation of two reaction products less polar than xanthorrhizol was observed by TLC. Evaporation of the solvent afforded a residue which was loaded to a Si gel column chromatography (70-230 mesh) packed with petroleum ether. The chromatography was developed using a gradient of petroleum ether-EtOAc. Two oily compounds were separated, and characterized as **2** (205 mg, 66 %), and **3** (66 mg, 21.6 %). **2**: IR ν_{max} (film): 3507, 2961, 2856, 1607, 1489, 1450, 1120, 811 cm^{-1} ; ¹H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 1.19 (3H, d, J=7.0, H-9), 1.51 (3H, s, H-15), 1.58 (2H, m, H-11), 1.67 (3H, s, H-14), 1.93 (2H, m, H-10), 2.27 (3H, s, H-7), 3.12 (1H, q, J=7.0, H-8), 5.09 (1H, t, J=7.1, H-12), 6.71 (1H, d, J=7.8, H-5), 7.03 (1H, d, J=7.8, H-4); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl_3) in Table 1; EIMS m/z (rel. int.): 298 [$\text{M}^+ + 2$], 297 [$\text{M}^+ + 1$], 296 [M^+ , 2.0], 217 ($\text{M}^+ - \text{Br}$, 32.6), 214 (22.1), 201 (12.4), 135 (100), 134 (39.3), 115 (17.4), 105 (17.7), 91 (31.9), 79 (22.4), 77 (31.4). **4-Bromo-xanthorrhizol (3)**: IR ν_{max} (film): 3500, 2950, 2860, 1610, 1450, 1115, 990, 815 cm^{-1} ; ¹H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 1.14 (3H, d, J=6.8, H-9), 1.53 (3H, s, H-15), 1.67 (3H, s, H-14), 1.4-1.7 (2H, m, H-11), 1.93 (2H, m, H-10), 2.18 (3H, s, H-7), 3.10 (1H, m, H-8), 4.72 (1H, br s, OH), 5.09 (1H, m, H-12), 6.65 (1H, s, H-6), 7.26 (1H, s, H-3); ¹³C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) in Table 1.

12, 13-Dihydro-xanthorrhizol (4). A solution of xanthorrhizol (**1**) (80 mg) dissolved in ethyl acetate (10 mL) was hydrogenated using 10 % Pd / C (20 mg), as catalyst. The reaction was monitored by TLC (petroleum ether / ethyl acetate 85:15), and the reaction product was purified by preparative chromatography as a yellowish oil (100 % yield). $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -5.61^\circ$ (c 1.3, MeOH); UV λ_{max} (MeOH): 215, 273 nm (ϵ 17,982, 2324); IR ν_{max} (film): 3400, 3372, 2955, 2867, 1620, 1587, 1458, 1365, 1160, 1116, 993, 811 cm^{-1} ; ¹H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 0.62 (3H, d, J=6.6, H-14), 0.63 (3H, d, J=6.6, H-15), 1.11-1.19 (2H, m, H-12, 13), 1.18 (3H, br d, J=7.2, H-9), 1.44-1.52 (2H, m, H-10), 2.21 (3H, s, H-7), 2.57 (1H, m, H-8), 4.85 (1H, br s, -OH), 6.61 (1H, d, J=1.6, H-6), 6.68 (1H, dd, J=7.8, 1.6, H-4), 7.03 (1H, d, J=7.8, H-3); ¹³C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) in Table 2; EIMS m/z (rel. int.): 220 [M^+ , 8], 136 (27), 135 (100), 121 (15), 91 (15), 77 (5), 79 (5), 43 (7).

1-O-Acetyl-xanthorrhizol (7). Xanthorrhizol (**1**) (322 mg) was acetylated with acetic anhydride (3.3 mL) and pyridine (1 ml) overnight at room temperature. Usual work-up afforded **7** which was purified by column chromatography to obtain 280 mg as an oil (68.7 %). ¹H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 1.19

(3H, d, J=6.8, H-9), 1.50-1.63 (2H, m, H-10), 1.52 (3H, s, H-15), 1.67 (3H, s, H-14), 1.94-1.83 (2H, m, H-11), 2.13 (3H, s, H-7), 2.31 (3H, s, H-1'), 2.66 (1H, qt, H-8), 5.08 (1H, m, H-12), 6.82 (1H, d, J=1.8, H-6), 6.99 (1H, dd, J=7.7, 1.8, H-4), 7.14 (1H, d, J=7.7, H-3); ¹³C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) in Table 1.

1-O-Benzoyl-xanthorrhizol (8). Xanthorrhizol (**1**) (250 mg), benzoyl chloride (0.5 mL) and pyridine (0.5 mL) were allowed to react overnight at room temperature. Usual work-up and purification of the product by column chromatography allowed to obtain 240 mg of **6** (62 %). IR ν_{max} (film): 3061, 2960, 2865, 1601, 1579, 1451, 1176, 1120, 862, 821, 708 cm^{-1} ; ¹H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 1.24 (2H, d, J=7.0, H-9), 1.51-1.69 (2H, m, H-10), 1.67 (3H, s, H-15), 1.54 (3H, s, H-14), 1.98-1.86 (2H, m, H-11), 2.19 (3H, s, H-7), 2.78-2.63 (1H, m, H-8), 5.09 (1H, m, H-12), 6.96 (1H, d, J=1.6, H-6), 7.01 (1H, dd, J=7.70, 1.6, H-4), 7.19 (1H, d, J=7.7, H-3), 7.69-7.48 (3H, m, H-3', 4', 5'), 8.23 (2H, m, H-2', 6'); ¹³C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) in Table 1; EIMS m/z (rel. int.): 322 [M^+ , 6], 254 (35), 217 (20), 105 (100), 91 (18), 68 (5), 43 (7).

Biological Assays. Antimicrobial activity. Studies were performed with cultures of *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 10742) and *Microsporum gypseum* (ATCC 10435). The dermatophytes were maintained on Saboureaud's dextrose agar [12]. **Cytotoxic activity.** Cell cultures were maintained in Basal Medium Eagle (BME) with 10 % fetal bovine serum (FBS), and the assays were performed using standard protocols [12].

Acknowledgments

The authors thank María Isabel Chávez, Marisela Gutiérrez, Graciela Chávez, Luis Velasco and Javier Pérez-Flores for technical assistance.

References

1. Rimpler, H.; Hänsel, R.; Kochendoerfer, L. *Z. Naturforsch.* **1970**, *25b*, 995-998.
2. Aguilar, M. I.; Delgado, G.; Bye, R.; Linares, E. *Phytochemistry* **1993**, *33*, 1161-1163.
3. Aguilar, M. I.; Delgado, G.; Hernández, M. L.; Villarreal, M. L. *Nat. Prod. Lett.* **2001**, *15* (in the press).
4. Yamazaki, M.; Maebayashi, Y.; Iwase, N.; Kaneko, T. *Chem. Pharm. Bull.* **1988**, *36*, 2070-2074.
5. Ponce-Monter, H.; Campos, M.; Aguilar, M.I.; Delgado, G. *Phytotherapy Res.* **1999**, *13*, 1-4.
6. Gisvold, O., Phenols and their Derivatives. In: *Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry*. 6th Ed. J. B Lippincott., Philadelphia, **1971**.
7. Silverman, R. B. *The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action*. Academic Press, New York, Chapt. 1, **1992**.
8. Cannon, J. G. In: *Burger's Medicinal Chemistry. Analog Design*, M. E. Wolff, Ed. Wiley-Interscience, New York, **1995**, 783-802.
9. Wermuth, C. Specific Substituent Effects. In: *The Practice of Organic Chemistry*, Academic Press, New York, Chapt. 17, **1996**, 312-342.
10. Joseph-Nathan, P.; Tovar-Miranda, R.; Martínez, E.; Santillán, R. L. *J. Nat. Prod.* **1988**, *51*, 1116-1128.
11. Itokawa, H.; Hirayama, F.; Funakoshi, K.; Takeya, K. *Chem. Pharm. Bull.* **1985**, *33*, 3488-3492.
12. Villarreal, M. L.; Alvarez, L.; Alonso, D.; Navarro, V.; García P.; Delgado, G. *J. Ethnopharm.* **1994**, *42*, 25-29.

Investigación

Erionita premodificada con K^+ y zeolita 4A para la adsorción de propano y propileno

Gelacio Aguilar Armenta* y María Eugenia Patiño Iglesias

Centro de Investigación de la Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Blvd. 14 Sur y Av. San Claudio, Ciudad Universitaria, Puebla 72570, Pue., México.
Fax: (2) 2 295 584, E-mail: geaguila@siu.buap.mx

Recibido el 20 de marzo del 2001; aceptado el 14 de junio del 2001

Resumen. En este trabajo se informa de los resultados del estudio de la capacidad que presenta la zeolita natural ZAPS (erionita), así como la premodificada con K^+ (ZAPS-K), de adsorber propano y propileno a $t \geq 20$ °C. La medición de la cinética e isotermas de equilibrio de adsorción se realizó en un sistema volumétrico de alto vacío, construido en vidrio Pyrex y equipado con válvulas libres de grasa. Se estableció que en ZAPS, el C_3H_6 se adsorbe en mayores cantidades que el C_3H_8 , debido a la contribución del enlace π en la energía total de interacción. La muestra ZAPS-K presentó menor capacidad de adsorción que ZAPS y a diferencia de la ZAPS, la adsorción de ambos hidrocarburos y de C_3H_6 en 4A aumenta al aumentar la temperatura.

Palabras clave: Isoterma de adsorción, cinética de adsorción, erionita, propano, propileno.

Abstract. In this work, the adsorption uptake at $t \geq 20$ °C of propane and propylene in natural zeolite ZAPS (erionite) and in K^+ -exchanged sample (ZAPS-K) was determined. Adsorption equilibrium isotherms and adsorption kinetics were carried out in a glass high-vacuum volumetric system, which was equipped with grease-free valves. It was established that the adsorption uptake of C_3H_6 in ZAPS sample was greater than that for C_3H_8 , because of the contribution of π -bonds to the total interaction energy. The adsorption capacity of ZAPS-K sample was lower than that of ZAPS. Unlike the ZAPS sample, the adsorption uptake of both hydrocarbons in ZAPS-K sample and for C_3H_6 in 4A increased with increasing temperature.

Keywords: Adsorption isotherm, adsorption kinetics, erionite, propane, propylene.

Introducción

El estudio de la adsorción de hidrocarburos puros en adsorbentes microporosos (zeolitas, carbones activados, etc.) es de gran importancia práctica, ya que a través del conocimiento del comportamiento de los procesos de equilibrio y cinético de adsorción de los hidrocarburos individuales se puede predecir la viabilidad del uso de estos sólidos microporosos en la separación de mezclas, por ejemplo, de propano (C_3H_8) y propileno (C_3H_6) y, por lo tanto, surge la posibilidad de sustituir el proceso de la destilación tradicional criogénica (-30 °C) fraccionada de estos hidrocarburos [1] por el método adsorptivo a temperaturas cercanas a la del ambiente. Se ha informado [2] que el sistema $AgNO_3 / SiO_2$ y la zeolita 4A [3,4] presentan la propiedad de separar mezclas C_3H_8 / C_3H_6 por el mecanismo de la interacción específica de los enlaces π con determinados centros de adsorción y por el de la diferencia en las velocidades de difusión, respectivamente. Sin embargo, hasta donde es de nuestro conocimiento no existe en la literatura ningún estudio de la adsorción de estos hidrocarburos en zeolitas naturales. En consecuencia, el objetivo de este trabajo consiste en el estudio del equilibrio y la cinética de adsorción de C_3H_8 y C_3H_6 en erionita natural (ZAPS) y premodificada con K^+

(ZAPS-K) a $t \geq 20$ °C y comparar los resultados con los que se obtengan en una muestra de zeolita sintética comercial 4A. Es también interesante hacer una comparación entre los resultados obtenidos por nosotros y los informados en la bibliografía para la zeolita 4A.

Metodología

La medición de la cinética y equilibrio de adsorción, a distintas temperaturas de los hidrocarburos puros se realizó en un sistema volumétrico de alto vacío, construido totalmente en vidrio Pyrex y equipado con válvulas libres de grasa. El alto vacío ($< 10^{-4}$ Torr) fue creado por una bomba turbomolecular (Balzers) y las presiones se midieron con dos transductores de presión digitales (Balzers). La disminución drástica de la presión en el sistema, durante las mediciones cinéticas, se midió automáticamente con la ayuda de una tarjeta de adquisición de datos, capaz de registrar simultáneamente hasta 5 datos de presión por segundo. En todos los experimentos cinéticos, la presión inicial (P_{in}) fue igual a 600 mb. Las muestras (malla 30 / 40) se pretrataron a $t \geq 350$ °C al alto vacío (10^{-4} Torr). La premodificación química de ZAPS se realizó de la siguiente

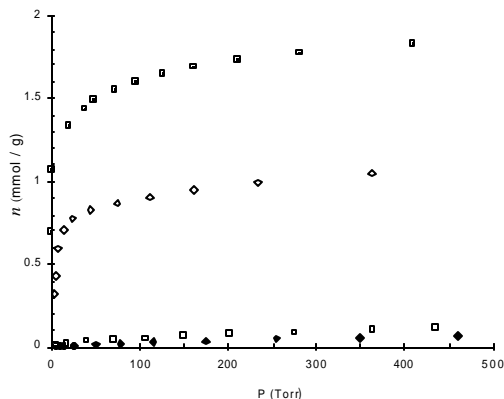


Fig. 1. Isotermas de adsorción de C₃H₈ y C₃H₆ en ZAPS y ZSL a 20 °C. \diamond C₃H₈-ZAPS \blacksquare C₃H₆-ZAPS \blacklozenge C₃H₈-ZSL \square C₃H₆-ZSL

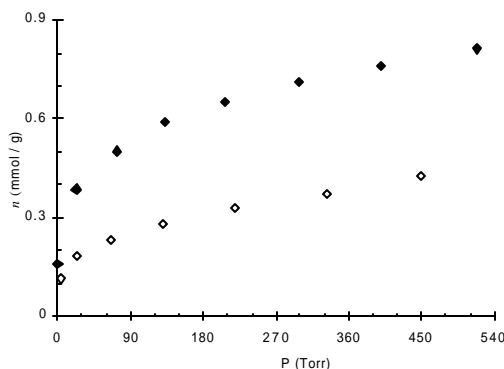


Fig. 3. Isotermas de adsorción de C₃H₈ y C₃H₆ en ZAPS-K a 20 °C. \diamond C₃H₈ \blacklozenge C₃H₆

manera: un gramo de muestra se colocó en una columna de vidrio con diámetro interno de 1.4 cm y 12 cm de longitud y se hizo pasar, por gravedad, a través del adsorbente durante una hora, una disolución de KCl a 0.05 N. Posteriormente, la muestra fue lavada con agua destilada hasta la eliminación total de cloruros. La cantidad de sustancia adsorbida (mmol / g) fue referida a un gramo de adsorbente deshidratado.

Resultados y discusión

a) Erionita natural (ZAPS)

Las isotermas de adsorción (20 °C) de C₃H₆ y C₃H₈ en erionita natural, sin premodificación química, fueron de tipo I (Fig. 1) y se describieron por el *modelo Langmuir* con valores K de 0.1097 y 0.0727 (Torr⁻¹), respectivamente. Por lo tanto, el C₃H₆ no sólo se adsorbe en mayores cantidades, sino que también interacciona más fuerte que el C₃H₈, debido a la contribución del enlace π en la energía total de interacción con determinados centros de adsorción. Se midió la cinética de adsorción a 20 y 50 °C (Fig. 2), estableciéndose que las curvas cinéticas reducidas $n_t / n_{eq} = f(t)$, donde n_t y n_{eq} es la adsorción en un tiempo t dado y en el estado de equilibrio, respectivamente, se comportan de distinta manera: hay adsorción activa de C₃H₈, mientras que para C₃H₆ ambas curvas cinéticas coinciden entre sí. Esto significa que la separación de estos

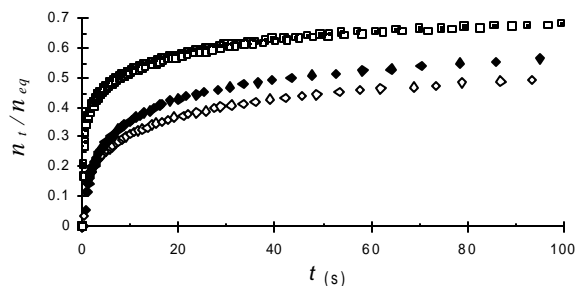


Fig. 2. Curvas cinéticas reducidas de la adsorción de C₃H₈ y C₃H₆ en ZAPS.

\diamond C₃H₈ 20 °C \blacksquare C₃H₆ 20 °C \blacklozenge C₃H₈ 50 °C \square C₃H₆ 50 °C

hidrocarburos es favorecida a $t \leq 20$ °C. En la figura 1, con fines de comparación, se incluyen también las isotermas de adsorción de estos hidrocarburos en clinoptilolita (ZSL), estableciéndose que en esta zeolita natural, ambos hidrocarburos se adsorben en cantidades despreciables y que se someten a la ecuación de Henry. Estos resultados probablemente obedezcan al impedimento estérico de penetración de las moléculas en los microporos de ZSL, cuyo diámetro es de 3.8 Å, por lo que la adsorción se lleva a cabo sólo en los mesoporos y/o en la superficie externa. La cinética de adsorción mostró que para esta zeolita la adsorción de los dos hidrocarburos es instantánea, confirmándose que la microporosidad no participa en el proceso de adsorción y, por lo tanto, mostrando muy baja selectividad de adsorción respecto al C₃H₆.

b) Erionita premodificada (ZAPS-K)

El objetivo de introducir los cationes grandes (1.33 Å) de K⁺ en la estructura cristalina de la erionita fue con el fin de mejorar, respecto a lo observado para la muestra (ZAPS), la separación de estos gases, buscando una difusión rápida de C₃H₆ y una difusión lenta de C₃H₈. Se encontró (Fig. 3) que la adsorción (20 °C) de ambos gases en ZAPS-K disminuyó drásticamente, en comparación con lo observado para la muestra sin premodificación (Fig. 1), conservándose aún una selectividad mayor para el C₃H₆, pero la diferencia entre ambas isotermas no es muy significativa.

La isoterma de adsorción de C₃H₆ (Fig. 3) se describió por el modelo Langmuir con una constante de equilibrio K mucho menor que la registrada para la muestra original. Sin embargo, la isoterma de C₃H₈ sólo pudo ser descrita por la ecuación empírica de Freundlich: $n = bP^a$, donde n es la cantidad de sustancia adsorbida, P es la presión de equilibrio, a y b son ciertas constantes empíricas. Esto significa que las interacciones *adsorbente-adsorbato* son más débiles en ZAPS-K, que en ZAPS, debido probablemente a la disminución de la basicidad y del grado de accesibilidad de los microporos al introducir K⁺ en la estructura del sólido.

En la figura 4 se encuentran las isotermas de adsorción de C₃H₈ y C₃H₆ a 20, 50, 80 y 111 °C. Los símbolos vacíos se

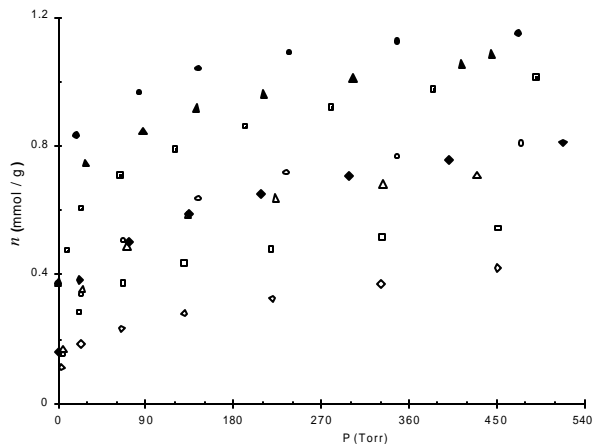


Fig. 4. Isothermas de adsorción de C_3H_8 y C_3H_6 en ZAPS-K.
 ◇ C_3H_8 20 °C □ C_3H_8 50 °C △ C_3H_8 80 °C ○ C_3H_8 111 °C
 ◆ C_3H_6 20 °C ■ C_3H_6 50 °C ▲ C_3H_6 80 °C ● C_3H_6 111 °C

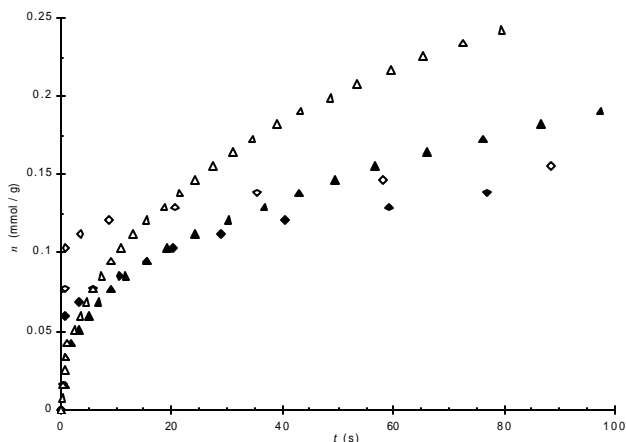


Fig. 5. Cinética de adsorción de C_3H_8 en ZAPS-K.
 ◇ 20 °C ◆ 50 °C ▲ 80 °C △ 111 °C

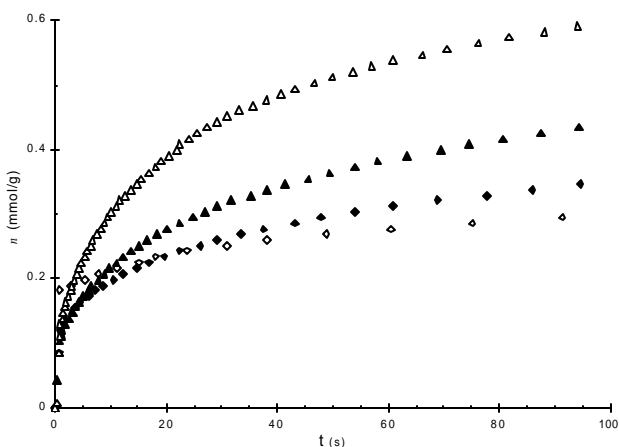


Fig. 6. Cinética de adsorción de C_3H_6 en ZAPS-K.
 ◇ 20 °C ◆ 50 °C ▲ 80 °C △ 111 °C

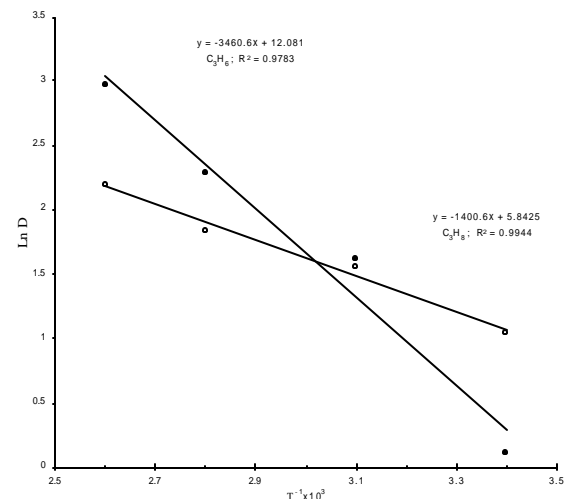


Fig. 7. Coeficientes de difusión en las coordenadas de Arrhenius.
 ○ C_3H_8 ● C_3H_6

refieren al C_3H_8 , y los llenos al C_3H_6 . Se observa que la cantidad de sustancia adsorbida de ambos hidrocarburos aumenta con el incremento de la temperatura, es decir, el proceso de adsorción es de tipo activado. Con la excepción del C_3H_8 a 20 °C, todas las isothermas de describieron por el modelo Langmuir, observándose una tendencia de aumento y disminución de K, respectivamente, para el C_3H_6 y C_3H_8 al aumentar la temperatura. Esto significa que en el intervalo de temperatura estudiado, el aumento de la temperatura provocó cada vez más una mayor interacción de C_3H_6 y una menor interacción de C_3H_8 con el adsorbente. Esto último sugiere que posiblemente la separación de estos gases se podría llevar a cabo con mayor eficiencia a temperaturas superiores a 20 °C. Se estableció (Fig. 4) que al aumentar la temperatura de 20 a 111 °C, la adsorción de ambos hidrocarburos aumentó en ≈ 2 veces.

En virtud de los resultados de la figura 4, fue obligado estudiar el comportamiento cinético de la adsorción de C_3H_8 y

C_3H_6 en esta muestra a distintas temperaturas. Los resultados de este estudio, los cuales se presentan en las figuras 5 y 6 para el C_3H_8 y C_3H_6 , respectivamente, revelaron, como era de esperar, una concordancia con los resultados de la adsorción de equilibrio (Fig. 4). Sin embargo, el estudio cinético proporcionó información complementaria: la adsorción de ambos hidrocarburos en la superficie externa disminuyó con el aumento de la temperatura. Esto último se argumenta por la disminución del segmento en que las rectas $a_t / a_{eq} = f(t^{1/2})$ cortan al eje de las ordenadas (Tabla 1). En la Tabla 2 se dan los valores de los coeficientes de difusión (D) a las distintas temperaturas.

Como se puede observar, Tabla 2, el coeficiente de difusión del C_3H_6 aumenta en mayor proporción que el del C_3H_8 ; ésto significa que la energía de activación (E) del proceso de adsorción del C_3H_6 es mayor que la del C_3H_8 . En la figura 7 se encuentra el trazo de los valores de los coeficientes de difusión (D) en función de la temperatura en las coordenadas de

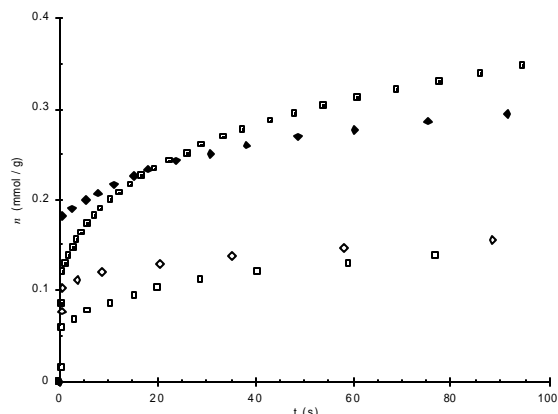


Fig. 8a. Cinética de adsorción de C₃H₈ y C₃H₆ en ZAPS-K.
 ◇ C₃H₈ 20 °C ◆ C₃H₆ 20 °C □ C₃H₈ 50 °C ■ C₃H₆ 50 °C

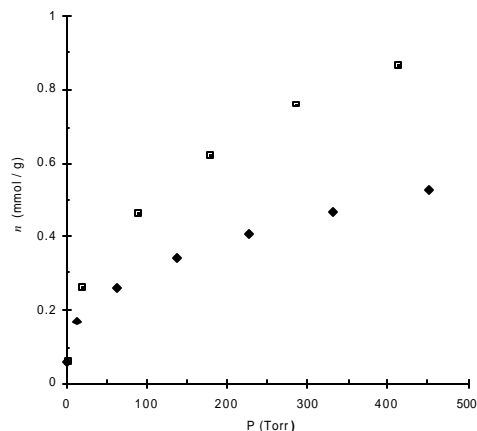


Fig. 9. Isothermas de adsorción de C₃H₆ en zeolita sintética 4A.
 ◆ 20 °C ■ 70 °C

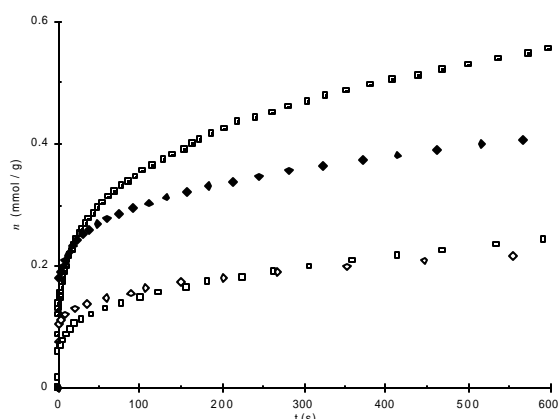


Fig. 8b. Cinética de adsorción de C₃H₈ y C₃H₆ en ZAPS-K.
 ◇ C₃H₈ 20 °C ◆ C₃H₆ 20 °C □ C₃H₈ 50 °C ■ C₃H₆ 50 °C

comportamiento está en correspondencia con el hecho de que la constante de equilibrio K de Langmuir haya aumentado y disminuido, respectivamente, para el C₃H₆ y C₃H₈ al aumentar la temperatura. Para las temperaturas de 80 y 111 °C, los resultados mostraron un comportamiento muy semejante al observado a 50 °C.

c) Zeolita 4A

La capacidad que presentó esta zeolita de adsorber C₃H₆ fue menor que la de ZAPS, pero mayor que la de ZSL. La isoterma de adsorción de C₃H₆ a 20 °C (Fig. 9) en 4A fue descrita sólo por la ecuación de *Freiulich*. El hecho de que la ecuación de Langmuir no haya descrito los puntos de la isoterma de adsorción de C₃H₆ significa que no hay una adsorción instantánea de este hidrocarburo en los microporos de 4A. Se observó, que el tiempo necesario para que se estableciera el equilibrio en cada punto de la isoterma (20 °C) fue demasiado grande, por lo que se midió la isoterma de adsorción a una temperatura mayor (70 °C). Fue establecido (Fig. 9) que el incremento de la temperatura provocó un aumento de la cantidad adsorbida de C₃H₆, es decir, el proceso de la adsorción de este gas es de tipo activado. Al comparar estos resultados con los publicados [3, 4] para una zeolita, también 4A, se observa una diferencia marcada entre la capacidades de adsorción. En la zeolita mencionada la isoterma es prácticamente rectangular (tipo I) y disminuye al aumentar la temperatura. Con la muestra 4A, estudiada en el presente trabajo, se obtuvo una isoterma tipo II o IV, que aumenta con el incremento de la temperatura.

En virtud de los resultados obtenidos del comportamiento de la adsorción de equilibrio de C₃H₆ en 4A (Fig. 9), fue interesante estudiar la cinética de adsorción de este hidrocarburo a 20 y 70 °C. Los resultados obtenidos se presentan en las fi-

Arrhenius, encontrándose que los valores de energías de activación son 12 y 29 kJ / mol para C₃H₈ y C₃H₆, respectivamente.

En la Figuras 8a y 8b se comparan las curvas cinéticas de adsorción de los hidrocarburos en estudio a 20 y 50 °C. Se observa que a tiempos de contacto *t* > 40 s (Fig. 8a), la separación a 50 °C podría mejorarse, respecto a la temperatura de 20 °C. De la Figura 8b se observa que para tiempos de contacto *t* ≈ 500 s, la adsorción de C₃H₈ a las dos temperaturas es muy similar, mientras que para el C₃H₆ hay una notable diferencia. Es decir, que la separación de estos gases podría llevarse a cabo con mayor eficiencia a la temperatura de 50 °C y a tiempos de contacto en el intervalo de 400 a 600 s. Este

Tabla 1. Disminución de la participación de la superficie externa en el proceso de adsorción.

T (°K)	293	323	353	384
C ₃ H ₆	0.1465	0.0921	0.0627	0.0442
C ₃ H ₈	0.2095	0.1069	0.0785	0.0152

Tabla 2. Coeficientes de difusión D × 10⁻¹⁶ (cm² / s).

T (°K)	293	323	353	384
C ₃ H ₆	1.1229	5.0260	9.9032	19.3327
C ₃ H ₈	2.8342	4.7375	6.3029	9.0624

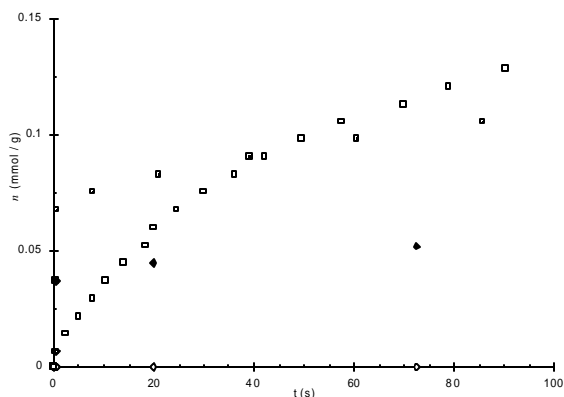


Fig. 10a. Cinética de adsorción de C_3H_8 y C_3H_6 en zeolita sintética 4A. \blacklozenge C_3H_8 20 °C \blacksquare C_3H_6 20 °C \diamond C_3H_8 70 °C \square C_3H_6 70 °C

guras 10a y 10b, para tiempos de contacto *adsorbente-adsorbato* bajos y altos, respectivamente. En estas figuras también se incluyen los resultados para el C_3H_8 . Se observa que al incrementar la temperatura de 20 a 70 °C, la adsorción de C_3H_6 aumenta y la de C_3H_8 cae prácticamente hasta cero. Los datos de la figura 10a muestran claramente que al aumentar la temperatura, la adsorción en la superficie de mayor accesibilidad (mesoporos y/o superficie externa) del sólido disminuye, provocando un incremento de la participación de los microporos en el proceso de adsorción, ya que para tiempos de contacto pequeños ($t < 50$ s), la rapidez de adsorción de C_3H_6 a 20 °C es mayor que a 70 °C. Esta figura muestra también que para $t > 50$ s, el aumento de la temperatura condujo a una rapidez de adsorción mayor, es decir, que el factor temperatura facilitó la difusión de las moléculas de C_3H_6 en los microporos, mientras que para el C_3H_8 no se observa este fenómeno. Esto último significa que, por impedimentos estéricos, la molécula de C_3H_8 no logra entrar en los microporos de esta zeolita y la pequeña adsorción observada a 20 °C (Figura 10a), obedece a la participación sólo de la superficie de mayor accesibilidad.

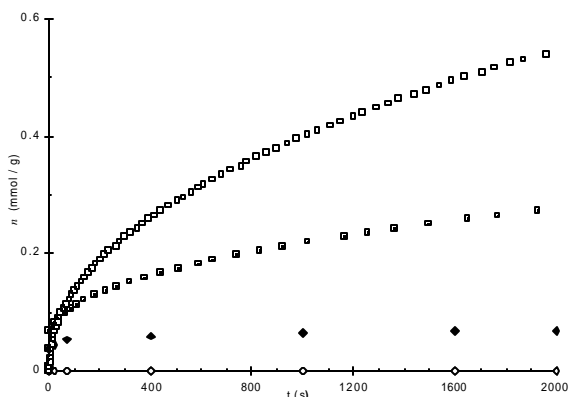


Fig. 10b. Cinética de adsorción de C_3H_8 y C_3H_6 en zeolita sintética 4A. \blacklozenge C_3H_8 20 °C \blacksquare C_3H_6 20 °C \diamond C_3H_8 70 °C \square C_3H_6 70 °C

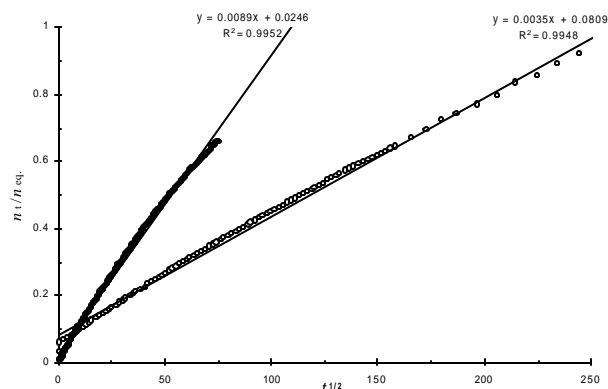


Fig. 11. Cinética de adsorción de C_3H_6 en zeolita sintética 4A. \circ 20 °C \bullet 70 °C

Con el fin de evaluar los coeficientes de difusión (D), así como la energía de activación (E) del proceso de adsorción de C_3H_6 en la zeolita 4A, las curvas cinéticas fueron graficadas en las coordenadas: $n_t/n_{eq} = f(t^{1/2})$. De la figura 11 se observa que los puntos experimentales se someten satisfactoriamente a una línea recta en estas coordenadas. Es importante hacer notar que todos los puntos de la curva a 20 °C, hasta el estado de equilibrio (19.5 h), fueron descritos por una línea recta, mientras que para la obtenida a 70 °C se observó una descripción hasta tiempos máximos de contacto de 1.5 h. Así, los valores de los coeficientes de difusión a 20 y 70 °C fueron 2.395×10^{-18} y 11.26×10^{-18} cm^2/s , respectivamente. Finalmente, la energía de activación (Arrhenius) fue de 26 kJ/mol.

Conclusiones

El estudio del equilibrio y de la cinética de adsorción del propano y del propileno reveló que la erionita presenta una capacidad alta de retención de estos hidrocarburos, así como una selectividad hacia el propileno, debido a las interacciones específicas del enlace π con determinados centros de adsorción, los cuales están localizados en los microporos de la zeolita. Se estableció que la adsorción de C_3H_6 prácticamente no depende de la temperatura. En virtud de que la adsorción del propano aumenta levemente con la temperatura, la separación de estos hidrocarburos sería favorecida a temperaturas bajas (< 20 °C). Sin embargo, el hecho de que se hayan obtenido isotermas tipo I dificulta el uso de esta zeolita natural como fase activa para la separación de mezclas C_3H_8/C_3H_6 por el método PSA. Lo ideal hubiera sido, para procesos de separación por PSA, que las isotermas de adsorción fueran más parecidas a la isoterma de Henry. La introducción de K^+ se hizo precisamente con ese fin. Los resultados mostraron (Fig. 3), que con la muestra potásica (ZAPS-K) se obtiene una isoterma de adsorción de C_3H_6 menos parecida a la de tipo I, mientras que la de C_3H_8 fue totalmente distinta a este tipo. Sin embargo, a pesar de que se conservó la selectividad hacia el

C₃H₆, la diferencia entre ambas isothermas no es muy significativa. El estudio cinético reveló que la adsorción de ambos hidrocarburos está controlada por la difusión activada, pero este efecto es mucho más marcado para el C₃H₆. Al parecer, una mejor separación podría llevarse a cabo a 50 °C con 400-600 s de tiempos de contacto *mezcla-adsorbente* (ZAPS-K). Los resultados obtenidos mostraron que el comportamiento de la adsorción en la zeolita sintética 4A de estos hidrocarburos no sólo no coinciden con los informados en la bibliografía [3, 4], sino que son contradictorios. La única coincidencia es que el C₃H₈ prácticamente no se adsorbe. Es probable, que la muestra de zeolita comercial 4A que nosotros estudiamos, pueda presentar mejor eficiencia de separación de mezclas de estos hidrocarburos, ya que, a diferencia con lo previamente publicado, no se obtuvo una isoterma de tipo I para C₃H₆.

Agradecimientos

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por haber apoyado a María Eugenia Patiño Iglesias con una beca (149990) para realizar estudios de Maestría en Ciencias Químicas (1999-2001).

Bibliografía

1. Keller, G. E.; Marcinkowsky, A. E.; Verma, S.K.; Williamson, K. D. Olefin Recovery and Purification via Silver Complexation. In: *Separation and Purification Technology*, Li, N. N., Calo, J. M., Eds., Marcel Dekker, New York, **1992**.
2. Rege, S. U.; Padin, J.; Yang, R. T. *AICH Journal*, **1998**, *44*, 799-809.
3. Padin, J.; Rege, S. U.; Yang, R. T.; Cheng, L. S. *Chem. Eng. Sci.*, **2000**, *55*, 4525-4535.
4. Da Silva, F. A.; Rodrigues, A. E. *Ind. Eng. Chem. Res.* **1999**, *38*, 2051-2057.

Investigación

Contenido de vitaminas de algunos insectos comestibles de México

Julieta Ramos-Elorduy* y José M. Pino M.*

Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, Ap. Postal 70-153, México 04510, D.F.

Recibido el 1o. de febrero del 2001; aceptado el 21 de junio del 2001

Resumen. Se determinó la concentración de las vitaminas A, C, D y B (tiamina, riboflavina y niacina) en 35 especies de insectos comestibles. Se destaca la función que éstas tienen para el desarrollo y crecimiento del organismo humano, así como para la salud. Las concentraciones obtenidas en los insectos comestibles estudiados se comparan con los alimentos convencionales ricos en estos micronutrientes, notando que en muchos casos, ciertas especies poseen mayor contenido vitamínico que varios alimentos comunes, por lo que algunas especies de insectos comestibles pueden considerarse como una buena fuente vitamínica. Tal es el caso de *Periplaneta americana* (adultos) en vitamina A, *Latebraria amphipyrioides* (larvas) en vitamina C, *Acheta domestica* (ninfas) en vitamina D, y *Copestylum anna* y *Copestylum haggi* (larvas) en tiamina, riboflavina y niacina. Se observa en general que los insectos estudiados poseen mayores cantidades de vitaminas del grupo B. Igualmente, se señala la importancia de la presencia de dichas vitaminas en la alimentación de los habitantes del área rural de México, quienes consumen regularmente insectos, e incluso los almacenan y comercializan.

Palabras clave: Insectos comestibles, vitaminas A, C, D, B.

Abstract. The concentrations of Vitamins A, C, D, and B (thiamine, riboflavine and niacin) in 35 species of edible insects were determined. It is noted the role of these substances for the development and growth of the human organism, as well as for health.

The concentrations obtained for the edible insects studied were compared with those of conventional edible products rich in these micronutrients, noting that in many cases certain species surpass the vitaminic content of various common edible products, therefore, some edible insects species can be considered as a good vitaminic source. This is the case of *Periplaneta americana* (adults) in vitamin A, *Latebraria amphipyrioides* (larvae) in vitamin C, *Acheta domestica* (nymphae) in vitamin D, and *Copestylum anna* and *C. haggi* (larvae) in thiamine, riboflavine, and niacin. It is observed that the insects species studied possess more content in vitamins of the B group. It is pointed out the importance of the presence of these vitamins for the diet of peasants of the rural area of Mexico, who regularly consume insects, and even store and commercialize them.

Keywords: Edible insects, vitamins A, C, D, B.

Introducción

Uno de los principales problemas que afecta a nuestro país es la falta de una buena nutrición. De acuerdo a Ramírez [1], en México se presentan 4 tipos de alimentación: buena, regular, mala y muy mala, observándose principalmente en algunos estados serias carencias dietéticas, ya que no se cubren los requerimientos necesarios en los diversos nutrientes [2]. La mala nutrición ha originado la existencia de desnutrición entre los habitantes de las áreas rurales a pesar de que gran parte hacen acopio de varios recursos silvestres tanto de origen vegetal como animal, entre los que se encuentran los insectos.

En México la entomofagia constituye una alternativa alimenticia prometedora para el hombre [3, 4] como lo comprueban diferentes investigaciones sobre insectos comestibles referentes a aspectos biogeográficos [5], a su biodiversidad en el mundo [6], a su sustentabilidad [7], a su importancia en la alimentación de los núcleos rurales [8, 9], a su valor nutritivo [10-13], habiéndose demostrado que son una buena fuente de proteínas [14] aunada a su calidad proteínica [15] y a que son altamente digestibles [16]. Es decir, los insectos son una excelente alternativa alimenticia para el hombre [17].

Las vitaminas son sustancias indispensables en la dieta humana ya que nuestro cuerpo no las sintetiza y éstas con-

trolan diversos procesos metabólicos [18]. Casi todas las vitaminas hidrosolubles son componentes de sistemas enzimáticos esenciales y muchas apoyan el metabolismo energético. Las vitaminas principales son: A, C, D, E, K, y otras del Grupo B (B1, B2, B3, B5, B6, B12, H) [19].

Las vitaminas se dividen en dos grupos; las liposolubles (A, D, E y K), hidrosolubles, como la vitamina C y las vitaminas del Grupo B.

Por lo general una sobredosis de vitaminas hidrosolubles no causan efectos tóxicos, sin embargo se han reportado reacciones adversas a dosis altas de vitamina C, incluso su relación con el cáncer [19].

La deficiencia de las vitaminas liposolubles (A, D) también puede deberse a algún trastorno que afecte la absorción de las grasas. La ingesta excesiva de ellas, puede tener efectos nocivos para el organismo.

La naturaleza de estos síntomas va a depender de la vitamina involucrada. La Tabla 1 muestra las principales fuentes alimenticias de las vitaminas, algunas enfermedades que provoca su deficiencia y algunas de sus funciones [18, 20, 21].

En el sureste del país, y sobre todo en ciertos períodos del año, la ausencia de niacina llega a afectar hasta el 4 % de los habitantes, y en otras zonas, como las sierras del sur o los desiertos del norte, no es extraño que aparezcan casos de es-

corbuto y de xeroftalmia [22]. Además, en la mayoría de los pueblos de alimentación extremadamente pobre como los tarahumaras, los mixes, los mixtecos, zoques, etc., casi siempre se observa la carencia de riboflavina y de otras vitaminas del complejo B. Las deficiencias de las vitaminas hidrosolubles son más frecuentes, ya que el organismo no puede almacenar grandes cantidades de éstas.

Como podemos apreciar en la Tabla 1, algunas de las fuentes de las diversas vitaminas estudiadas son tanto de origen animal como vegetal. En una dieta varía la proporción de éstas de acuerdo a la vitamina de que se trate, sea en el caso de las liposolubles como de las hidrosolubles, con excepción de la vitamina C, que únicamente se reporta proveniente de vegetales y frutas. La nomenclatura de las vitaminas objeto de esta investigación se incluye en la Tabla 2.

El mejoramiento de la salud de las poblaciones rurales de nuestro país y por ende el abatimiento de la mala nutrición que en la actualidad prevalece en algunos estados de la República, depende en gran parte de la explotación y del desarrollo de los recursos alimenticios autóctonos y de una mejor utilización de los alimentos convencionales, lo cual requiere del conocimiento del valor nutritivo de los alimentos locales [22].

Por los escasos estudios reportados referentes a las vitaminas que albergan los insectos en general y en particular, los realizados en sólo unas cuantas especies de insectos comestibles [4, 10, 12, 23-25], y a que los insectos forman parte de la dieta de muchos grupos étnicos en todo el mundo, consideramos de interés determinar las proporciones de vitaminas (A, C, D, B, tiamina, riboflavina y niacina) que contienen algunas especies de insectos comestibles de México, así como compararlas con algunos alimentos convencionales.

Materiales y métodos

Colecta y determinación taxonómica. Los insectos estudiados fueron colectados en diferentes Estados de la República Mexicana, posteriormente se montaron, etiquetaron, catalogaron y determinaron de acuerdo a las claves taxonómicas correspondientes, siendo su identificación ratificada por los especialistas en cada uno de los órdenes. Otros insectos provenían de las cámaras de cultivo del Instituto de Biología de la UNAM, tal es el caso de *Periplaneta americana* (cucarachas), *Acheta domestica* (grillos) y *Tenebrio molitor* (gusano amarillo de las harinas). Los insectos se trasladaron a la UNAM en hielo seco y posteriormente se secaron en una estufa marca Felisa a 50 °C durante tres días, almacenándose en frascos dentro de un congelador.

Análisis de vitaminas. Los análisis fueron realizados por el Laboratorio American Quality S.A. La vitamina A se determinó por cromatografía líquida de alta presión (HPLC en fase normal), ubicado en el apéndice normativo A de la NOM-091-SSA1-1994, la vitamina D mediante HPLC [15] y las vitaminas: C, tiamina, riboflavina y niacina se cuantificaron de acuerdo a las técnicas del A.O.A.C. [26].

Resultados y discusión

En la Tabla 3 se presenta la relación taxonómica de los insectos estudiados (35 especies), en ésta se señala, el orden, la familia, el género, la especie, el nombre común y el lugar de origen de cada especie.

En la Tabla 4 se reportan los resultados obtenidos para las vitaminas C, tiamina, riboflavina y niacina que se expresan en mg / 100 g y para las vitaminas A y D que se señalan en U.I. / 100 g.

Podemos ver que los rangos de vitamina A que poseen estos insectos varían de 0.33 a 160.52 (U.I. / 100 g) que al compararlos con los reportados por [25] para las larvas de *Tenebrio molitor*, *Acheta domestica* y *Apis mellifera* que señala cantidades superiores a 30 U.I. / 100 g están dentro de nuestro rango. Sin embargo, particularmente en el caso de los grillos (*Acheta domestica*) tanto en su estado ninfal como adulto nuestros resultados son mucho más bajos 0.77 U.I. / 100 g. y 0.33 U.I. / 100 g, respectivamente. En el caso de *T. molitor* nosotros sólo analizamos adultos cuyo contenido (75.36 U.I. / 100 g) es muy superior al reportado para las larvas de este insecto. Si los comparamos con los valores reportados por Kodondi [12] en tres orugas comestibles de Zaire sus valores están dentro del rango obtenido por nosotros; ellos son 44, 31, 30 µg de retinol para *Imbrasia epimethea*, *I. truncata* y *Nudaurelia oyemensis*, respectivamente. Brush [27] reporta que los pigmentos del exoesqueleto de los insectos pueden dar origen a la actividad de la vitamina A, al convertir el beta caroteno en esta vitamina.

En vitamina D (U.I. / 100g) los valores obtenidos oscilan de 164.91 a 852.66, perteneciendo el primero a *Sphenarium* sp y el último a las ninfas de *Acheta domestica*.

Las vitaminas hidrosolubles B1, B2 y B3 han sido más estudiadas, para la tiamina (mg / 100) nuestros valores oscilan de 0.05 a 1.47, que comparados con los de Fladung [23] en un efemeróptero, *Caenis kungu*, se encuentra dentro de este rango (124), al igual que con Paulian [24], en las orugas de *Coeliades libeon*, el cual reporta un contenido de 0.6, Santos-Oliveira [10] estudia a otra oruga comestible de Angola y reporta 3.70 para *Usta terpsichore*, más elevado que los nuestros y es semejante con el de la termita *Macrotermes falciger* (0.13), Kodondi [12] también obtuvo valores similares en las tres orugas de Zaire, ellos fueron 0.20 para *Imbrasia epimethea*, 0.30 para *I. truncata* y 0.20 para *Nudaurelia oyemensis*.

En el caso de la riboflavina (mg / 100 g) en donde el rango obtenido es de 0.09 a 2.56, encontramos que el valor de Fladung [23] en *Caenis kungu* (3.44) es más elevado, que los reportados por Santos-Oliveira [10] para la oruga *Usta terpsichore* (1.90) y para la termita *Macrotermes falciger* (1.14) se encuentran dentro de los valores obtenidos por nosotros. Kodondi [12] muestra valores más elevados que los nuestros, en las orugas *I. epimethea* (4.0), *I. truncata* (5.1) y *Nudaurelia oyemensis* (3.2).

Nuestros valores en niacina (mg / 100 g) fueron de 0.25 a 11.07 que de nuevo comparados con los de *Caenis kungu* 18.30 [23] éste es superior a los nuestros. Sin embargo, al compararlos

Tabla 1. Fuentes, funciones y deficiencias de las vitaminas estudiadas: A, C, D, B1 tiamina, B2 riboflavina, y B3 niacina *.

	Fuentes	Deficiencias	Funciones
Vitaminas liposolubles			
Vitamina A	Leche y derivados, huevo, hígado, aceite de hígado de bacalao, verduras de hojas amarillas y verde oscuro, frutas.	Ceguera nocturna, queratinización y ulceraciones, en córnea resequedad de la piel y de las mucosas, susceptibilidad a las infecciones, mal crecimiento, malformación y conservación de tejidos epiteliales, procesos inmunológicos y de reproducción, falta de apetito.	Mejora la visión en la obscuridad, mantiene tersa y sana la piel, esencial en el crecimiento de células nuevas, originando tejidos normales, mantiene estructura celular saludable, y el desarrollo adecuado de huesos y dientes. Brinda protección contra infecciones de boca, nariz, garganta, pulmones, tracto digestivo y vías urinarias, además participa en la promoción de la fertilidad.
Vitamina D	Pescado, huevo, leche, margarina, mantequilla, crema, hígado y aceite de hígado de bacalao.	Raquitismo y reblandecimiento de los huesos (osteomalacia), osteoporosis.	Favorece la absorción del calcio y del fósforo. Regula el equilibrio del Ca / P y la formación, crecimiento y fortificación de huesos y dientes.
Vitaminas hidrosolubles			
Vitamina C	Nabos, pimientos verdes, brócoli, cítricos, fresas, papaya, jitomate, verduras y frutas.	Hemorragias y mala cicatrización, las cicatrices se rompen y da lugar a infecciones, origina el escorbuto, alteraciones neuróticas (depresión, histeria, hipocondrias), disminuye estrés, hiperqueratosis folicular, tumefacción e inflamación gingival, afloja dientes, resequedad boca y ojos, pérdida de pelo, piel seca.	Interviene en la formación, crecimiento y formación y mantenimiento de huesos, dientes, encías, conserva la substancia cementante intercelular, preserva la actividad capilar, disminuye reacciones alérgicas, repara tejidos al sanar heridas y en la cicatrización fracturas, ligamentos, hemorragias. Evita el catarro, participa en la actividad enzimática de diversos órganos, en la elaboración de neurotransmisores (serotonina y noradrenalina) y de hormonas suprarrenales e influye incrementa la respuesta inmune, la absorción Fe, la síntesis de colágeno, actúa como una coenzima o cofactor.
B1 Tiamina	Huevo, hígado, levadura, pescado, carne de puerco, órganos internos de diferentes animales, germen de trigo, granos y cereales y diversas legumbres.	Alteraciones en los nervios, produce beriberi, pérdida del apetito, provoca edemas, náuseas, vómito, problemas del corazón, y contracciones espasmódicas de todo el cuerpo.	Evita enfermedades nerviosas por tensión, es decir, conserva la salud del sistema nervioso y de los músculos, interviene en la digestión, el crecimiento, la fertilidad y la lactancia normales, metaboliza y utiliza a los carbohidratos, participa en la actividad enzimática, y regula la función cardíaca, apetito normal y buena digestión.
B2 Riboflavina	Hígado, levadura, leche, y derivados, yogurth, huevo, panes integrales, y carnes magras, queso ceddrar y cottage, cereales leguminosas, vegetales hojas verdes.	Alteraciones en la piel, en los labios (ulcerados y partidos) y en la lengua. Disminución de la agudeza visual, dolor y ardor, comezón de los ojos, labios, boca y lengua.	Mantiene más tersa la piel, da brillo al cabello. Ayuda al cuerpo a obtener la energía de los carbohidratos, grasas y de las proteínas, interviene en diversas actividades enzimáticas, en la respiración tisular, participa en la producción de hormonas de las glándulas suprarrenales.
B3 Niacina	Carnes magras, leche, huevo, hígado, pescado, y cereales integrales, levadura de cerveza, cacahuete, mantequilla, leguminosas.	Problemas en la piel, pelagra, diarrea, gingivitis y estomatitis, demencia, debilidad muscular, anorexia, indigestión, dermatitis, confusión, desorientación, neuritis.	Mantiene la piel sana, y en condiciones saludables a todas las células, participa en la actividad enzimática, de carbohidratos y aminoácidos, en la producción de energía a partir de glucosa en la sangre, así como en la producción de grasas. Produce un correcto funcionamiento del sistema nervioso, un aparato digestivo sano, y para la elaboración de las hormonas sexuales.

* Modificado de Mahan y Arlin 1995, Casanueva E. 1984, Pastoriza L. 1984.

con los obtenidos por Santos-Oliveira [10], 0.30 en *Usta terpsichore* y 4.59 en *Macrotermes falciger* y con los de Kodondi [12] en las orugas ahumadas, encontramos que *I. epimethea* (11), *I. truncata* (10.9) y *Nudaurelia oyemensis* (9.4) todos ellos se encuentran dentro del rango reportado en este trabajo.

La miel de abeja proporciona 1 a 6 mg de vitamina C, 0.0021 a 0.0091 mg de vitamina B1 y 0.035 a 0.145 mg de vitamina B2 [28]. Todos ellos menores a los nuestros.

Sobre las vitaminas C y D, a nuestro entender no existe ningún reporte sobre ellas en especies de insectos comestibles.

A continuación, se efectúa la comparación de las vitaminas que poseen los insectos comestibles estudiados por nosotros con algunos alimentos convencionales más ricos en estos micronutrientes (Tabla 5). Los datos presentados fueron obtenidos de las tablas de composición de alimentos del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán [2] marcados con (I), y con los reportados por Mahan y Arlin [18] marcados con (II).

Vitamina A. La zanahoria, el huevo blanco entero, la espinaca, el hígado de res, la pulpa de tamarindo y la alcachofa poseen mayor proporción que todos los insectos comestibles estudiados. La especie más rica en esta vitamina son las ninfas de *Periplaneta americana*, las que sin embargo, son más ricas en ella que la leche y la calabacita. El chayote tiene mayor cantidad que *Latebraria amphipyrioides*, *Liometopum apiculatum* y *Acheta domestica* (ninfas y adultos) comparado con lo reportado por Bourges [2]. Según lo reportado por Mahan y Arlin [18] *Periplaneta americana* posee menor cantidad que el hígado, el camote y la zanahoria; *Tenebrio molitor* tiene menor cantidad que la espinaca y la calabaza y *Latebraria amphipyrioides*, *Liometopum apiculatum* y *Acheta domestica* (ninfas y adultos) albergan menor cantidad que la leche, el brócoli y el huevo. Podemos decir que en general los insectos comestibles estudiados son pobres en esta vitamina y que en las tablas de los libros consultados, se reportan únicamente vegetales y frutas como fuentes de ella, a pesar de que algunos productos animales como el hígado, el huevo y la leche, aparecen cuando reportan los contenidos en éstas y podemos ver que la mayoría de estos alimentos supera a la mayoría de los insectos comestibles.

Vitamina D. Para el caso de esta vitamina, no es posible hacer una comparación con los datos del Instituto Nacional de la Nutrición ya que no lo reportan, ni en la obra de Leung [22], pero comparándolo con lo reportado por Mahan y Arlin [18]

podemos observar que las ninfas de *A. domestica* poseen casi la misma cantidad que el arenque fresco y mayor cantidad que el salmón y la leche fortificada, *Periplaneta americana* tiene mayor contenido que las sardinas, y los chapulines (*Sphenarium* sp) tienen valores más altos de esta vitamina que el camarón de lata, el huevo y el hígado de pollo.

Vitamina C. La guayaba, la papaya, las fresas y el nabo, superan a todos los valores encontrados en los insectos *Latebraria amphipyrioides* y *Tenebrio molitor* (adultos) poseen un mayor cantidad que la naranja y la col, *Liometopum apiculatum*, *Tenebrio molitor* (larvas), *Acheta domestica* (ninfas y adultos) y *Periplaneta americana* (ninfas y adultos) tienen una mayor cantidad que el jitomate, comparados con lo reportado por Bourges [2]. Con respecto a los datos de Mahan y Arlin [18] el pimiento crudo, el kiwi, el jugo de naranja, la fresa, el jugo de tomate, el brócoli y los pimientos dulces, superan en contenido a los insectos comestibles. Las larvas de *L. amphipyrioides* tienen prácticamente lo mismo que la papaya, los adultos de *T. molitor* y los escamoles de *L. apiculatum* poseen más que la naranja, la sandía, y la toronja, las ninfas de *Acheta domestica* y las ninfas y adultos de *Periplaneta americana* tienen valores más elevados que el melón.

Tiamina. La comparación con lo reportado por Bourges [2] indica que las larvas de *L. amphipyrioides* poseen la mayor cantidad de ella y que el “Axayácatl” y los adultos de *Sphenarium magnum* albergan una mayor cantidad que la soya, los reproductores de *Atta cephalotes*, los adultos de *Sphenarium* sp poseen mayor cantidad que el germen de trigo, las larvas y pupas de *Polybia occidentalis bohemani* y de *Polybia parvulina*, el “Ahuahutle” y los adultos del jumil *Euschistus taxcoensis* poseen una mayor proporción que los chícharos, el pan integral y el frijol. Comparado con los valores dados por Mahan y Arlin [18] vemos que el valor de *Latebraria amphipyrioides* es superior a la levadura de cerveza, el “Axayácatl” posee más que la semilla de girasol, los adultos de *Sphenarium magnum* tienen un valor mayor que el de la carne de puerco. Los reproductores de *Atta cephalotes* albergan más cantidad que el jamón magro, los adultos de *Sphenarium* sp más que el germen de trigo. Las larvas y pupas de *Polybia occidentalis bohemani* y de *P. parvulina* casi igual que el arroz. El “Ahuahutle” y los adultos del jumil más que la leche de soya, la pasta cocida y el huevo.

Tabla 2. Nombres de las vitaminas estudiadas.

Vitamina A: Beta caroteno, retinol, palmitato de retinol.	Vitamina C: ácido ascórbico, ascorbato de calcio, ascorbato de sodio.
Vitamina D: Alfacalcidol, calcefediol, calciferol, calcitriol, colecalciferol, ergocalciferol, D2, D3.	B1 Tiamina: hidrocloreto de tiamina, mononitrato de tiamina.
B2. Riboflavina: vitamina G.	B3 Niacina: Niacinamida, nicotinamida, ácido nicotínico, tartrato nicotinil alcohol.

Tabla 3. Relación taxonómica de los insectos analizados.

Orden	Familia	Género	Especie	Nombre común	Lugar de colecta	
Odonata	Aeschnidae	<i>Anax</i>	sp	Padrecitos	Toluca, Edo. de México	
Orthoptera	Acrididae	<i>Sphenarium</i>	<i>purpurascens</i>	Chapulines	Oaxaca, Oaxaca	
	Acrididae	<i>Sphenarium</i>	<i>magnum</i>	Chapulines	Valles Centrales, Oaxaca	
	Acrididae	<i>Sphenarium</i>	sp	Chapulines	Córdoba, Veracruz	
Hemíptera	Blattidae	<i>Periplaneta</i>	<i>americana</i>	Cucarachas	Cultivo, UNAM	
	Gryllidae	<i>Acheta</i>	<i>domestica</i>	Grillos.	Cultivo, UNAM	
	Pentatomidae	<i>Euschistus</i>	<i>strennus</i>	Jumiles	Cuatla, Morelos	
	Pentatomidae	<i>Euschistus</i>	<i>egglestoni</i>	Jumiles	Tepeaca, Puebla	
	Pentatomidae	<i>Euschistus</i>	<i>taxcoensis</i>	Jumiles	Iguala, Gro.	
	Corixidae	<i>Corisella</i>	spp	Ahuahutle*, Axayácatl**	Texcoco, México	
	Corixidae	<i>Krizousacorixa</i>	spp	Ahuahutle*, Axayácatl**	Texcoco, México	
	Notonectidae	<i>Notonecta</i>	<i>unifasciata</i>	Ahuahutle*, Axayácatl**	Texcoco, México	
Coleóptera	Coreidae	<i>Thasus</i>	<i>gigas</i>	Chamoos	Actopan, Hidalgo	
	Tenebrionidae	<i>Tenebrio</i>	<i>molitor</i>	Gusano amarillo	Cultivo, UNAM	
	Cerambycidae	<i>Aplagiognathus</i>	<i>spinosus</i>	Gusano del elite	Bethel, Chiapas	
	Curculionidae	<i>Scyphophorus</i>	<i>acupunctatus</i>	Picudo del maguey	Tetla, Tlaxcala	
Lepidóptera	Noctuidae	<i>Latebraria</i>	<i>amphyryioides</i>	Gusano cuetla	Izúcar de Matámoros, Puebla, Selva Lacandona Chiapas	
	Hepialidae	<i>Phasus</i>	<i>triangularis</i>	Gusanillo	Cd. Mendoza, Veracruz	
	Noctuidae	<i>Spodoptera</i>	<i>exigua</i>	Gusano elotero	Milpa Alta D.F.	
	Pyalidae	<i>Laniifera</i>	<i>cyclades</i>	Gusano del nopal	San Juan Teotihuacan Edo. Méx.	
	Cossidae	<i>Xyleutes</i>	<i>redtembacheri</i>	Gusano rojo de maguey	Apizaco, Tlaxcala	
	Megathymidae	<i>Aegiale</i> (<i>Acentrocneme</i>)	<i>hesperiaris</i>	Gusano blanco de maguey	San Pablo del Monte, Tlaxcala	
	Díptera	Stratiomyidae	<i>Copestylum</i>	<i>anna</i>	Gusanos planos de maguey	Ciudad Serdán, Puebla,
			<i>Copestylum</i>	<i>haggi</i>		Ixmiquilpan Hidalgo, San Bartolo Morelos México
	Hymenóptera	Formicidae	<i>Liometopum</i>	<i>apiculatum</i>	Escamol	Santa María Amajac, Hidalgo
		Formicidae	<i>Liometopum</i>	<i>occidentale</i> var. <i>luctuosum</i>	Escamol	Jungapeo, Michoacán
Formicidae		<i>Atta</i>	<i>mexicana</i>	Hormigas arrieras	San Cristóbal de las Casas, Chiapas	
Formicidae		<i>Atta</i>	<i>cephalotes</i>	Hormigas arrieras	Chiapa de Corzo, Chiapas	
Vespidae		<i>Vespula</i>	<i>squamosa</i>	Avispa de tierra	Xamage, Hidalgo	
Vespidae		<i>Polybia</i>	<i>occidentalis</i>	Avispa de panal grande	Huasca, Hidalgo	
Vespidae		<i>Polybia</i>	<i>bohemani</i> <i>parvulina</i>	Avispa campanera	Tonalá, Chiapas	
Vespidae	<i>Brachygastra</i>	<i>mellifica</i>	Avispa castilla	Pomuch, Campeche		

Ahuahutle* Complejo de huevecillos de hemípteros acuáticos formado por las especies *Krizousacorixa femorata*, *K. azteca*, *Corisella texcocana*, *C. mercenaria*, *C. edulis* y *Notonecta unifasciata*.

Axayácatl** Complejo de adultos de hemípteros acuáticos formado por las especies: *Krizousacorixa femorata*, *K. azteca*, *Corisella texcocana*, *C. mercenaria*, *C. edulis* y *Notonecta unifasciata*.

Riboflavina. Las larvas de *Copestylum anna* y *Copestylum haggi*, los adultos de *Sphenarium magnum* y los reproductores de *Atta cephalotes* tienen una mayor cantidad que el queso añejo y que los huevecillos del “Ahuahutle”; y los adultos del “Axayácatl”, los adultos de *Sphenarium purpurascens*, los reproductores de *Atta mexicana*, las larvas de *Phasus triangularis* y de *Xyleutes redtembacheri*, los adultos de *Euschistus stre-*

nus y el “escamol” de *Liometopum occidentale* var. *luctuosum* poseen una mayor cantidad que el pan integral, el hígado, la leche y el huevo, comparados con lo reportado por Bourges [2].

En el caso de los datos reportados por Mahan y Arlin [18] observamos que el hígado supera a todos los insectos y que las larvas de *Copestylum anna* y *C. haggi*, los adultos de *Sphenarium magnum*, los reproductores de *Atta cephalotes*, los

Tabla 4. Contenido de vitaminas A, C, D, tiamina, riboflavina y niacina de algunos insectos comestibles de México.

Especies	Estado de desarrollo	A (U.I. / 100 g)	C (mg / 100 g)	D (U.I. / 100 g)	Tiamina (mg / 100 g)	Riboflavina (mg / 100 g)	Niacina (mg / 100 g)
<i>Anax</i> sp	Ninfas				0.05	0.09	1.29
<i>Sphenarium</i> sp	Adultos			164.91	0.50	0.66	5.04
<i>Sphenarium purpurascens</i>	Adultos				0.27	0.59	1.56
<i>Sphenarium magnum</i>	Adultos				0.83	1.28	3.97
<i>Acheta domestica</i>	Ninfas	0.77	25.47	852.66			
<i>Acheta domestica</i>	Adultos	0.33	23.92				
<i>Periplaneta americana</i>	Ninfas	29.06	23.84	387.18			
<i>Periplaneta americana</i>	Adultos	160.52	23.84				
<i>Euschistus strennus</i>	Adultos				0.18	0.42	0.75
<i>Euschistus egglestoni</i>	Adultos				0.15	0.28	0.71
<i>Euschistus taxcoensis</i>	Adultos				0.41	0.18	2.64
<i>Thasus gigas</i>	Ninfas				0.31	0.50	2.26
“Axayácatl” *	Adultos				1.01	0.76	4.14
“Ahuahutle” **	Huevecillos				0.41	0.81	2.64
<i>Tenebrio molitor</i>	Larvas		36.10				
<i>Tenebrio molitor</i>	Adultos	75.36	45.73				
<i>Tenebrio molitor</i>	Pupas		15.44				
<i>Aplagiognathus spinosus</i>	Larvas		23.43		0.08	0.18	0.42
<i>Scyphophorus acupunctatus</i>	Larvas				0.20	0.25	1.38
<i>Latebraria amphypirioides</i>	Larvas	3.20	46.33				
<i>Laniifera cyclades</i>	Larvas		9.88				
<i>Aegiale (Acentrocne) hesperiaris</i>	Larvas		8.60				
<i>Xyleutes redtembacheri</i>	Larvas		17.58		0.31	0.46	1.83
<i>Phasus triangularis</i>	Larvas				0.24	0.47	2.92
<i>Spodoptera exigua</i>	Larvas				0.09	0.17	0.65
<i>Copestylum anna</i> , <i>C. haggi</i>	Larvas				1.47	2.56	11.07
<i>Liometopum apiculatum</i>	Larvas, pupas, reproductores	2.93	36.14		0.15	0.34	0.67
<i>L. occidentale</i> var. <i>luctuosum</i>	Larvas, pupas, reproductores				0.14	0.29	2.06
<i>Atta mexicana</i>	Reproductores				0.19	0.53	3.09
<i>Atta cephalotes</i>	Reproductores				0.61	1.01	1.26
<i>Polybia occidentalis bohemani</i>	Larvas y pupas				0.45	0.38	1.08
<i>Polybia parvulina</i>	Larvas y pupas				0.44	0.39	2.47
<i>Vespula squamosa</i>	Larvas y pupas				0.18	0.34	6.25
<i>Brachygastra mellifica</i>	Larvas y pupas				0.11	0.17	0.25

* Axayácatl. Complejo de Adultos de hemípteros acuáticos formado por las especies: *Krizousacorixa femorata*, *K. azteca*, *Corisella texcocana*, *C. mercenaria*, *C. edulis* y *Notonecta unifasciata*.

** Ahuahutle. Complejo de huevecillos de hemípteros acuáticos formado por las especies: *Krizousacorixa femorata*, *K. azteca*, *Corisella texcocana*, *C. mercenaria*, *C. edulis* y *Notonecta unifasciata*.

huevecillos del “Ahuahutle”, los adultos del “Axayácatl” y los adultos de *Sphenarium purpurascens* tienen más cantidad de esta vitamina que la leche. Los reproductores de *Atta mexicana* y las larvas de *Phasus triangularis* y de *Xyleutes redtembacheri* y los adultos de *Euschistus strennus*, poseen más cantidad que el yoghurt y la levadura de cerveza, y, los “escamoles” de *Liometopum occidentale* var. *luctuosum* albergan la misma cantidad que la levadura de cerveza y mayor propor-

ción que el huevo, la carne de cerdo, el queso feta, las hamburguesas, las espinacas, la trucha y el pollo.

Niacina. Las larvas de *Copestylum anna* y *Copestylum haggi* tienen una mayor cantidad que el hígado y las larvas y pupas de *Vespula squamosa*, los adultos de *Sphenarium* sp, los adultos del “Axayácatl” y los adultos de *Sphenarium magnum*, son más ricos que el pan integral. Los reproductores de *Atta mexi-*

Tabla 5. Comparación del contenido de vitaminas de algunos de los insectos comestibles estudiados, con las de algunos alimentos convencionales.

Vitaminas liposolubles			
Vitamina A (U.I. / 100 g)	(I)	Vitamina A (U.I. / 100 g)	(II)
Zanahoria	3752.91	Hígado	901.10
Huevo blanco entero	2085.98	Camote	248.80
Espinaca	1248.75	Zanahoria	202.50
Hígado de res	481.00	<i>Periplaneta americana</i> (ninfas)	160.52
Pulpa de tamarindo	262.37	Espinaca	87.50
Alcachofa	259.74	Calabaza	85.70
<i>Periplaneta americana</i> (ninfas)	160.52	<i>Tenebrio molitor</i> (adultos)	75.36
Leche de vaca	92.00	Melón	51.60
Calabacita	86.58	<i>Periplaneta americana</i> (adultos)	29.06
<i>Tenebrio molitor</i> (adultos)	75.36	Leche	14.00
<i>Periplaneta americana</i> (adultos)	29.60	Brócoli	11.00
Chayote	9.99	Huevo	9.70
<i>Latebraria amphipyrioides</i>	3.20	<i>Latebraria amphipyrioides</i>	3.20
<i>Liometopum apiculatum</i>	2.93	<i>Liometopum apiculatum</i>	2.93
<i>Acheta domestica</i> (ninfas)	0.77	<i>Acheta domestica</i> (ninfas)	0.77
<i>Acheta domestica</i> (adultos)	0.33	<i>Acheta domestica</i> (adultos)	0.33
Vitamina D (UI / 100 g)	(I)	Vitamina D (UI / 100 g)	(II)
<i>Acheta adomestica</i> (ninfas)	852.66	<i>Acheta adomestica</i> (ninfas)	852.66
<i>Periplaneta americana</i> (ninfas)	387.18	Arenque fresco	850.00
<i>Sphenarium</i> sp (adultos)	164.91	Salmón	473.30
No hay datos reportados		Leche de vaca fortificada	444.00
		<i>Periplaneta americana</i> (ninfas)	387.18
		Sardinas	283.00
		<i>Sphenarium</i> sp (adultos)	164.91
		Camarón de lata	100.00
		Huevo	55.55
		Hígado de pollo	50.00
Vitaminas hidrosolubles			
Tiamina (mg / 100 g)	(I)	Tiamina (mg / 100 g)	(II)
<i>Latebraria amphipyrioides</i>	1.47	<i>Latebraria amphipyrioides</i>	1.47
“Axayácatl”*	1.01	Levadura de cerveza	1.25
<i>Sphenarium magnum</i> (adultos)	0.83	“Axayácatl”*	1.01
Soya	0.70	Semilla de girasol	0.83
<i>Atta cephalotes</i> (reproductores)	0.61	<i>Sphenarium magnum</i>	0.83
<i>Sphenarium</i> sp	0.50	Carne de puerco	0.75
Germen de trigo	0.47	<i>Atta cephalotes</i>	0.61
<i>Polybia occidentalis bohemani</i>	0.45	Jamón magro	0.58
<i>Polybia parvulina</i>	0.44	<i>Sphenarium</i> sp	0.50
“Ahuahutle”**	0.41	Germen de trigo	0.47
<i>Euschistus taxcoensis</i>	0.41	<i>Polybia occidentalis bohemani</i>	0.45
Chícharos	0.32	Arroz	0.44
Pan integral	0.31	<i>Polybia parvulina</i>	0.44
Frijol	0.07	“Ahuahutle” **	0.41
		<i>Euschistus taxcoensis</i>	0.41
		Leche de soya	0.40
		Pasta cocida	0.30
		Huevo	0.03
Riboflavina (mg / 100 g)	(I)	Riboflavina (mg / 100 g)	(II)
<i>Copestylum anna</i> , <i>C. haggi</i>	2.56	Hígado	3.52
<i>Sphenarium magnum</i>	1.28	<i>Copestylum anna</i> , <i>C. haggi</i>	2.56
<i>Atta cephalotes</i>	1.01	<i>Sphenarium magnum</i>	1.28
Queso añejo	0.81	<i>Atta cephalotes</i>	1.01
“Ahuahutle” **	0.81	“Ahuahutle” **	0.81
“Axayácatl” *	0.76	“Axayácatl” *	0.76

Tabla 5. Comparación del contenido de vitaminas de algunos de los insectos comestibles estudiados, con las de algunos alimentos convencionales (*Continúa*).

Vitaminas hidrosolubles			
Riboflavina (mg / 100 g)	(I)	Riboflavina (mg / 100 g)	(II)
<i>Sphenarium purpurascens</i>	0.59	<i>Sphenarium purpurascens</i>	0.59
<i>Atta mexicana</i>	0.53	Leche	0.54
<i>Phasus triangularis</i>	0.47	<i>Atta mexicana</i>	0.53
<i>Xyleutes redtembacheri</i>	0.46	<i>Phasus triangularis</i>	0.47
<i>Euschistus strennus</i>	0.42	<i>Xyleutes redtembacheri</i>	0.46
<i>Liometopum occidentale</i> var. <i>luctuosum</i>	0.34	<i>Euschistus strennus</i>	0.42
Pan integral	0.30	Yoghurt	0.40
Hígado de res	0.23	Levadura	0.34
Leche de vaca	0.10	<i>Liometopum occidentale</i> var. <i>luctuosum</i>	0.34
Huevo de gallina	0.06	Huevo	0.26
		Cerdo	0.24
		Queso feta	0.23
		Hamburguesa	0.22
		Espinaca	0.22
		Trucha	0.19
		Pollo	0.19
Niacina (mg / 100 g)	(I)	Niacina (mg / 1000 Kcal)	(II)
<i>Copestylum anna</i> , <i>C. haggi</i>	11.07	Carne	24.70
Hígado de res	8.74	Maíz	5.00
<i>Vespula squamosa</i>	6.25	Leche materna	2.50
<i>Sphenarium</i> sp	5.04	Trigo	2.50
“Axayácatl” *	4.14	Leche vaca	1.20
<i>Sphenarium magnum</i>	3.97	Tocino	1.20
Pan integral	3.88	Huevo	0.60
<i>Atta mexicana</i>	3.09		
“Ahuahutle” **	2.64		
<i>Euschistus taxcoensis</i>	2.64		
<i>Polybia parvulina</i>	2.47		
Pescado mero	2.44		
Chícharos	2.30		
<i>Thasus gigas</i>	2.26		
Ejotes	0.51		
Vitamina C (mg / 100 g)		Vitamina C (mg / 100 g)	
Guayaba	216.95	Pimiento crudo	109.00
Papaya	64.80	Kiwi	62.00
Fresas	53.70	Jugo de naranja	62.00
Nabos	50.40	Fresa	60.00
<i>Latebraria amphipyrioides</i>	46.33	Jugo de tomate	57.00
<i>Tenebrio molitor</i> (adultos)	45.73	Brócoli	56.40
Naranja	42.92	Pimientos dulces	48.00
Col	39.10	<i>Latebraria amphipyrioides</i>	46.33
<i>Liometopum apiculatum</i>	36.14	Papaya	46.00
<i>Tenebrio molitor</i> (larvas)	36.10	<i>Tenebrio molitor</i> (adultos)	45.73
<i>Acheta domestica</i> (ninfas)	25.47	<i>Liometopum apiculatum</i>	36.14
<i>Acheta domestica</i> (adultos)	23.92	<i>Tenebrio molitor</i> (larvas)	36.10
<i>Periplaneta americana</i> (ninfas)	23.84	Naranja	35.00
<i>Periplaneta americana</i> (adultos)	23.84	Sandía	30.70
Jitomates	15.40	Toronja	27.30
		<i>Acheta domestica</i> (ninfas)	25.47
		<i>Acheta domestica</i> (adultos)	23.92
		<i>Periplaneta americana</i> (ninfas)	23.84
		<i>Periplaneta americana</i> (adultos)	23.84
		Melón	22.60

*Axayácatl. Complejo de adultos de hemípteros acuáticos formado por las especies: *Krizousacorixa femorata*, *K. azteca*, *Corisella texcocana*, *C. mercenaria* y *Notonecta unifasciata*.

**Ahuahutle. Complejo de huevecillos de estos hemípteros.

cana, los huevecillos del “Ahuahutle” y los adultos de *Euschistus taxcoensis* y las larvas y pupas de *Polybia parvulina* son mejores que el pescado mero, y *Thasus gigas* tiene un contenido superior que el de y los ejotes según lo reportado por Bourges [2].

Por los análisis anteriores, se puede ver que en general los insectos comestibles estudiados poseen mayor cantidad de vitaminas del grupo B, sobre todo de Riboflavina, en donde un mayor número de especies tienen valores superiores a los de los productos convencionales.

Como podemos observar hay variación entre los datos reportados. Los de Bourges [2] pertenecen a alimentos consumidos en México y los de Mahan y Arlin [18] corresponden al consumo de alimentos en Estados Unidos. Sin embargo, en ambos casos nos podemos percatar de los valores que los insectos comestibles tienen, superando o igualando a muchos de los alimentos convencionales que son de consumo muy generalizado y que también en algunos casos es menor que éstos.

Esto no es sorprendente, ya que los insectos comestibles ecológicamente son consumidores primarios y su procesamiento en general es asándolos o secándolos al sol, en algunos casos (chapulines) se ponen en agua hirviendo sólo unos momentos, con objeto de virar su color (café, verde, gris) al rojo, que quizás sea más atractivo organolépticamente, y luego se secan.

Por otro lado, estas vitaminas son generalmente estables al calor, siendo sólo la tiamina susceptible de modificarse cuando el cocimiento es prolongado. La más inestable es la vitamina C, la cual es más fácil de oxidar y se destruye por exposición al aire o por el tipo de procesamiento o almacenamiento que se efectúe.

En el caso de los insectos estudiados, éstos no fueron expuestos a la luz, ya que inmediatamente después de la recolecta se pusieron en frascos dentro de una caja cerrada con hielo seco y luego secados en la estufa; posteriormente se almacenaron en frascos color ámbar y se guardaron en refrigeración antes de analizarse, por lo que consideramos el contenido vitamínico no fue alterado, lo que comprobamos al compararlo con los valores de las vitaminas del grupo B1 y B3, reportados por Kodondi [12] que son semejantes a los nuestros y ellos analizaron larvas secadas en cenizas y ahumadas. El resto de los autores no reportan la forma de preparación, y en el caso de las termitas si éstas eran obreras o reproductoras. Es necesario especificar el estado de desarrollo de los insectos que se analizan.

El consumo de estos insectos en el área rural de México generalmente es inmediato después de su captura, tomando la persona únicamente el tiempo que tarde en llegar a su casa y prepararlos, y cuando se almacenan, lo hacen en bolsas de diferentes tipos en el interior de la casa, lo que evita el contacto con la luz.

En virtud de los resultados y comparaciones anteriores, podemos concluir que los insectos comestibles aportan cantidades significativas de vitaminas que contribuyen al balanceo de la dieta, indígena o campesina, lo que corrobora lo dicho

por Zubirán [29] (calculado para un poco más de la mitad de nuestra población), donde menciona que su dieta está basada en alimentos autóctonos como el maíz, el frijol y pequeñas cantidades de otros alimentos, así este autor menciona que la dieta indígena “era enriquecida por ejemplo por los Otomíes mediante la ingestión de pulque, malvas, otras yerbas silvestres, e insectos, entre los que destacan los llamados chumiles o jumiles, los cuales son ricos en riboflavina y otros insectos como el “Axayácatl”, el “Ahuahutle”, algunas especies de chapulines, las hormigas chicatanas, los gusanos del maguey, el gusano del jonote, el gusano del guásimo, el gusano verde de la Mixteca y otros insectos poseen contenidos notables de proteínas, niacina, riboflavina, calcio, fósforo, hierro y otros elementos nutritivos por lo que se han catalogado como alimentos valiosos”, lo cual se reitera en esta investigación.

Si comparamos los valores obtenidos por nosotros con los reportados para tiamina y riboflavina por Casanueva [20] y los reportados por Mahan y Arlin [18] en donde además incluyen a la niacina y a las vitaminas C y D (Tabla 6), sobre las recomendaciones del consumo de éstas por los seres humanos en diferentes etapas del desarrollo, nos podemos dar cuenta que para la tiamina, *Latebraria amphipyrioides* satisface prácticamente los requerimientos de todas las edades, el “Axayácatl”, los de los niños de 0 a 6 años y mujeres adultas, *Sphenarium magnum* los de niños de hasta 6 años, los reproductores de *Atta cephalotes* los de niños de hasta 3 años, y el resto de las especies cumplen los de los niños de hasta 11 meses. Al compararlos con los datos de Mahan y Arlin [18], encontramos igualmente que *Latebraria amphipyrioides* cubre prácticamente estos requerimientos en todas las edades, el “Axayácatl” los de los niños de hasta 10 años, *Sphenarium magnum* los de los niños de hasta 2 años y el resto de las especies de los niños de hasta 1 año.

En el caso de la riboflavina, observamos que *Copestylum anna* y *C. haggi* satisfacen los requerimientos de todas las edades, *Sphenarium magnum* los de niños hasta 10 años, *Atta cephalotes* los niños de hasta 6 años, el “Ahuahutle” hasta niños de 3 años, y el resto de las especies hasta niños de 1 año, en los datos reportados por ambos autores. En niacina, *Copestylum anna* y *C. haggi* cubren los requerimientos de niños de hasta 3 años y *Vespula squamosa* los de los niños de hasta 1 año. En vitamina C, *Latebraria amphipyrioides* y *Tenebrio molitor* (adultos) cumplen los requerimientos de niños de hasta 10 años y *Liometopum apiculatum* (“escamoles”) y larvas de *Tenebrio molitor* los de los niños de hasta 1 año. En vitamina A *Periplaneta americana* cubre los requerimientos de todas las edades, y los adultos de *Tenebrio molitor* los de los niños de hasta 10 años. En vitamina D, *Acheta domestica* (ninfas) satisface los requerimientos de todas las edades, y las ninfas de *Periplaneta americana* los de hombres y mujeres adultas, al comparar todas estas vitaminas con las cifras reportadas por Mahan y Arlin [18].

Al analizar lo anterior, se podría pensar que sólo muy pocas especies de insectos serían adecuadas para suplir los requerimientos vitamínicos del ser humano, pero hay que

Tabla 6. Recomendaciones para el consumo de algunas vitaminas.

Edades	Tiamina (mg / kg) (I)	Tiamina (mg / día) (II)	Tiamina (mg / día) (II)	Riboflavina (mg / kg) (I)	Riboflavina (mg / día) (II)	Niacina (mg / día) (II)	Vitamina C (UI / 100) (II)	Vitamina A (mg / día) (II)	Vitamina D (UI / 100) (II)
Niños									
0-3 meses	0.06	0.3	0.3	0.07	0.4	5.0	30.0	37.5	300.0
4-11 meses	0.05	0.4	0.4	0.06	0.5	6.0	35.0	37.5	400.0
12-23 meses	0.6	0.7	0.7	0.8	0.8	9.0	40.0	40.0	400.0
2-3 años	0.6	0.9	0.9	0.8	0.8	9.0	40.0	50.0	400.0
4-6 años	0.8	0.9	0.9	0.9	1.1	12.0	45.0	60.0	400.0
7-10 años	1.1	1.0	1.0	1.3	1.2	13.0	45.0	70.0	400.0
Adolescentes									
<i>Masculino</i>									
11-13 años	1.3	1.3	1.1	1.6	1.5	17.0	50.0	100.0	400.0
14-18 años	1.5	1.5	1.1	1.8	1.8	20.0	60.0	100.0	400.0
<i>Femenino</i>									
11-18 años	1.2	1.1	1.1	1.4	1.8	15.0	60.0	80.0	400.0
Hombres									
18-34 años	1.4	1.1	1.1	1.7	1.7	19.0	60.0	100.0	400.0
35-54 años	1.3	1.1	1.1	1.5	1.7	19.0	60.0	100.0	200.0
55 y más años	1.1	1.1	1.2	1.4	1.4	15.0	60.0	100.0	200.0
Mujeres									
Embarazadas	1.2	1.5	1.5	1.5	1.6	17.0	70.0	120.0	400.0
Lactantes	1.5	1.5	1.5	1.9	1.8	20.0	95.0	130.0	400.0

(I) Casanueva E. (1984), (II) Mahan y Arlin (1995).

recordar que la dieta está formada por diversos alimentos, cuyos nutrimentos se sinergizan y es su suma lo que da el aporte total, ya que como se mostró en la tabla 5, los insectos en muchos casos superan los valores de muchos de los alimentos convencionales. Sin embargo, hay que aclarar que este estudio es sólo una muestra del número que existe hasta la fecha reportado de insectos comestibles, en México (512) [30] y en el mundo (1613 especies) [6].

Como ya se ha aseverado, los insectos comestibles analizados son empleados como alimento de una manera cotidiana, en diversas regiones de México y del mundo, éstos no solamente son abundantes, aceptables y nutritivos, sino que también son excelentes fuentes de ciertos nutrimentos indispensables, como son las vitaminas reportadas, además de su riqueza proteínica [14], contribuyendo de manera significativa en la dieta rural. Alguna de las especies estudiadas se almacenan y comercializan, tal es el caso de la cuecla, las chicatanas, los “escamoles”, los chapulines, los jumiles, el “Ahuahutle”, el “Axayácatl”, los chamues, los gusanos blanco y rojo del maguey y algunas veces los panales de avispas.

La esencialidad de estos micronutrimentos para el buen funcionamiento del organismo ya ha sido demostrada, y en este trabajo se señaló la importancia de los insectos comestibles y su comparación con otras fuentes vitamínicas. Ciertos insectos comestibles estudiados pueden considerarse como fuentes apropiadas de algunas vitaminas.

Agradecimientos

Este proyecto fue subsidiado por la DGAPA-UNAM clave IN501997, a la cual agradecemos su apoyo.

Referencias

- Ramírez, H. J. Revista de Comercio Exterior (Banco de Comercio Exterior) **1973**, 675-690.
- a) Bourges, R. H. Panorama de la alimentación y la nutrición. *Seminario sobre Alimentación en México*. Instituto de Geografía de la UNAM. **1984**, p. 27-48. b) Bourges, R. H.; Morales de L., J.; Camacho, M. E.; Escobedo O., G. *Tablas de Composición de Alimentos INNSZ 1996*, p. 248.
- Ramos-Elorduy, J. *Los insectos como una fuente de proteínas en el futuro*. 2a. Ed. Limusa, 1982. México, D. F. 149 p.
- Malaisse, F. *Se nourrir en forêt claire africaine. Approche écologique et nutritionnelle*. Les presses agronomiques de Glemboux 1997. p. 348.
- Ramos-Elorduy, J. III International Congress of Ethnobiology. México, D.F. Book of Abstracts **1992**, p. 143.
- Ramos-Elorduy, J.; Conconi, M. IV International Congress of Ethnobiology. Lucknow, India. Book of Abstracts **1994**, p. 311.
- Ramos-Elorduy, J. *J. Ecol. of Food and Nut.* **1997**, 36, 247-276.
- Ramos-Elorduy, J. Insects in the Diet of the Tropical Forest People in Mexico. In: *Food and Nutrition in the Tropical Forest. Biocultural Interactions and Application to Development*. UNESCO, Paris, **1993**, pp. 205-212.
- Ramos-Elorduy, J. *J. Ecol. of Food and Nut.* **1997**, 36, 349-366.
- Santos-Oliveira, J.F. *J. Ecol. Food and Nut.* **1976**, 5, 91-92.

11. Ramos-Elorduy, J.; Pino M., J. M.; Bourges, H. *Fol. Ent. Mex.* **1982**, 53, 111-118.
12. Kodondi, K. K., Keclereq M., Gaudin-Harding. *Int. J. Vitam. Nutr.* **1987**, 57, 333-334.
13. DeFoliart, G.R. *Bull. Entomol. Soc. Am.*, **1989**, 35, 22-35.
14. Ramos-Elorduy, J.; Pino M., J. M.; Márquez M., C.; Rincón, F.; Alvarado, M.; Escamilla, E.; Bourges, H. *J. Ethnobiol.* **1984**, 4, 61-72.
15. Ladrón de G., O.; Padilla, P.; García, L.; Pino, M., J. M.; Ramos-Elorduy, J. *Amino Acids* **1995**, 9, 161-173.
16. Ramos-Elorduy, J.; Pino M., J. M.; González M., O. *Fol. Ent. Mex.* **1981**, 49, 141-154.
17. Ramos-Elorduy, J.; Pino M., J. M.; Cuevas C., S. *An. Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. Méx., Ser. Zool.* **1998**, 69, 65-104.
18. Mahan, L. K.; Arlin, M. T. *Nutrición y Dietoterapia*. Editorial Interamericana McGraw-Hill, 8a. Ed. México, D. F. **1995**.
19. Kindersley, D. *Guide to Medicines and Drugs*, Limited, London **1991**, 519 p.
20. Casanueva E. 1984. Deficiencia de Vitamina A. *Cuadernos de Nutrición* **1984**, 7, 3-7.
21. Pastoriza, L. Uso y abuso de las vitaminas. *Cuadernos de Nutrición* **1984**, 7, 10-16.
22. Leung, W.W.T. *Tabla de Composición de Alimentos para Uso en América Latina*, Ed. Interamericana. México 2ª Ed. **1975**, 150 p.
23. Fladung, E.B. *Maryland Acad. Sci. Bull.* **1924**, 24, 5-8.
24. Paulian, R. *Bull. Inst. Rech. Sci. Congo* **1963**, 2, 5-6.
25. Pennino, M.; Dierenfel, E. S.; Behler, J. L. *Int. Zoo. Yb.* **1995**, 30, 143-149.
26. Hortwitz, W. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. Ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington U.S.A., **1975**, 12ª Ed. 1094 p.
27. Brush, H. *FASEB J.* **1990**, 4, 2969-2977.
28. Sintés, P.J. *Virtudes Curativas de la Miel y el Polen*, Ed. Sintés S.A. Barcelona, España, **1987**, 3ª Ed. 208 p.
29. Zubirán, S. A.; Chávez, G.; Bonfil, G.; Aguirre B.; Cravioto, J.; de la Vega J. *La desnutrición del mexicano*, Ed. Fondo de Cultura Económica México 1ª Ed. **1974**, 62 p.
30. Ramos-Elorduy, J.; Pino, J. M. Checklist de los insectos comestibles de México, **2001**, (en preparación).

Investigación

Lignin degradation products from corn stalks enhance notably the radial growth of basidiomycete mushroom mycelia

Miguel J. Beltrán-García,^{1,2} Aideé Orozco,¹ Ivan Samayoa^{1,3} and Tetsuya Ogura*¹

¹ Departamento de Química, Universidad Autónoma de Guadalajara, A.P. 1-440, Av. Patria No. 1201, Lomas del Valle, Guadalajara 44100, Jal., México. Tel: 3-610-1010, ext. 2433, Fax: 3-610-1610, E-mail: togura@uagunix.gdl.uag.mx

² Departamento de Bioquímica, Instituto de Fisiología Celular, UNAM, México 04510, D.F.

³ Base de Frutas de México, SA de CV. Tlajomulco, Jalisco, México.

Recibido el 4 de diciembre del 2000; aceptado el 2 de julio del 2001

Resumen. Tallos de maíz secos y molidos (*crude*) fueron lavados por varios solventes (*cleaned*). Cuando se añadió 1000 ppm de tallos lavados al medio de cultivo Peptona / Glucosa / Agar (PGA), el crecimiento de *Pleurotus ostreatus* y *Pleurotus sajor-caju* se incrementó al doble. El crecimiento del micelio también aumenta cuando se añaden 1000 ppm de un extracto acuoso de tallos lavados (*cleaned*) compuesto de 400 µg de sustancias no volátiles por gramo de tallo. Este extracto contenía 60 µg / g de tallo de monómeros fenólicos. El análisis por IR muestra que el espectro del extracto es similar al de *cleaned* así como al de la lignina comercial. El crecimiento del micelio de 5 basidiomicetos se promovió en un 30 % al añadir *crude* y *cleaned* al medio de cultivo. El incremento en el crecimiento también ocurrió cuando se adicionó la lignina comercial al medio de cultivo de Agar Extracto de Malta. Este incremento fue similar al inducido por *cleaned*. El extracto acuoso incrementó el crecimiento en un intervalo de concentración de 10⁻⁶ a 10⁻⁷ M, tal y como se observa en las plantas cuando se les añade hormonas. Sugerimos que estos hongos basidiomicetos usan a los productos de la degradación enzimática de la lignina como una señal para acelerar su crecimiento. Este hecho puede ser una táctica importante de los hongos para degradar la biomasa vegetal antes que sus posibles competidores.

Palabras clave: Basidiomicetos, fenoles derivados de la lignina, *Pleurotus*, promoción del crecimiento, tallos de maíz.

Abstract. Milled corn stalk (*crude*) was cleaned by diverse solvents (*cleaned*). When 1000 ppm of *cleaned* was added to Peptone / Glucose / Agar (PGA), the growth rate of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* was doubled. The mycelial diameter also increased by a supplementation of a hot water extract of *cleaned* corresponding to 1000 ppm, which was composed of 400 µg / g-stalk of nonvolatile compounds including 60 µg / g-stalk of phenolic monomers. An IR spectrum of the extract was very similar to that of *cleaned* and commercial lignin. Supplementation of *crude* or *cleaned* to Malt extract / Sucrose / Agar (MSA) promoted mycelial growth by 30 % in all five basidiomycete studied. A commercially available Kraft lignin supplemented to MSA showed *cleaned*-like growth promotions. The hot water extract showed growth promotion to the mycelia at a range of 10⁻⁶-10⁻⁷ M as seen in plant hormones. Therefore, we suggest these fungi use the enzymatic degradation products of lignin as a signal to faster mode of growth. This must be an important tactic of the fungi in securing their niche by degrading a vegetal biomass before competitors encroach upon it.

Keywords: Basidiomycetes, corn stalk; growth promotion, lignin-derived phenols, *Pleurotus*.

Introduction

Corn stalks remaining in the field after harvest contain 43 % polysaccharide consisting mainly of hemi cellulose and cellulose, 29 % lignin, 7 % proteins, 5 % ash, and 16 % others [1]. A part of this renewable lignocellulosic biomass has been used for ruminant food and cultivation of edible mushrooms.

During the cultivation of various basidiomycetes, we observed that a small amount of corn stalk chips added to a culture medium accelerated the growth rate. We now supplement routinely with 1 g corn stalk powder for a 1 l culture medium for fungi culture. Various publications describe fungal growth promotion by plant constituents. It has been shown that *Pleurotus ostreatus* grows faster on cotton stalks than on

wheat straw, and that water extracts of cotton stalks contain compounds that increase fungal growth rate by 50 % in liquid and solid culture [2]. After separation by thin-layer chromatography of the cotton extracts, the biologically active fraction showed flavone-like characteristics. When a cotton extract was added to wheat straw, degradation was increased significantly. Ardon *et al.* [3] showed that cotton stalk extract enhanced laccase activity of *P. ostreatus*.

Inaba *et al.* in 1981 and Kawamura *et al.* [4-5] found that the growth rate of basidiomycetes such as *P. ostreatus* and *Lentinula edodes* were promoted by adding lignin to a peptone-glucose medium. In relation with growth promotion of fungal mycelia some authors showed that phenolic compounds derived from lignin promoted the growth of the genus *Lentinula* [6-8].

In spite of a wealth of publications, the scientific communities have not been convinced enough of the effectiveness of lignocellulosic materials. We report in this paper that degradation products of lignocellulosic materials are responsible to the growth promotion of fungal mycelia. The degradation products, including phenolic compounds were effective to promote growth rates at a concentration of μM order, which is comparable to the effective concentrations seen in plant hormones.

Materials and methods

Fungi cultures. *Agaricus bisporus* ATCC 36415 (*Abi*), *Agaricus campestris* ATCC 2334 (*Aca*), *Lentinula edodes* ATCC 48860 (*Led*), *Pleurotus ostreatus* ATCC 38540 (*Pos*), and *P. sajor-caju* ATCC 32078 (*Psc*) were purchased from the American Type Culture Collection (ATCC, 12301 Rockville, MD 20852). All the fungal mycelia were grown on Malt extract / Sucrose / Agar (10:40:20, g / l) (MSA) at ambient temperature (25 ± 2 °C). Agar discs 0.7 cm in diameter were removed from the periphery of actively-growing Petri dish cultures and placed in the center of Petri dishes (90 mm \times 15 mm) containing MSA (20 mL) with or without supplementation. The growing rates were measured by averaging two perpendicular mycelial growth diameters subtracting 0.7 cm of the initial disc diameter. All experiments were triplicated.

In another series, *Pos* and *Psc* mycelia were grown on a Peptone / Glucose / Agar (10:40:20, g / l) (PGA) broth. The mycelial growths were monitored by similar manner to the experiments using MSA.

Plant materials and cleaning procedures. Corn was seeded and harvested by Francisco Velez at La Resolana Ranch, Acatic, Jalisco, Mexico. No pesticide was applied. The corn stalk was harvested when corn ears matured and dried in the shade. It was kept at least one year in a well-ventilated dark and cool place, which was ground and collected a range of size of 16-200 mesh (*crude*).

Forty-five grams of *crude* were extracted using a Soxhlet's extractor employing 350 mL of toluene for 2 h at which time the toluene extract was colorless. The powder was dried in air for 24 h. There followed successive Soxhlet-extractions by chloroform, ethanol and water using similar procedures. The powdery product was refluxed by a mixture of 100 ml of benzene and 100 ml of ethanol for 2.5 h. Finally the product was refluxed further by 100 ml of ethanol for 2.5 h. The dried product is called *cleaned*.

Hot water extraction of *cleaned*. Ten grams of *cleaned* suspended in 150 mL of water placed in an Erlenmeyer flask (500 mL) was heated to 120 °C for 1 h in an autoclave similar to a routine sterilizing procedure. The solution was separated by filtration and dried using a rotary evaporator. The residue was dried further by a nitrogen flow for 12 h at room temperature and 3.96 mg of a coffee-brown creamy matter was obtained. IR spectra of the residue approximated very closely that of

commercial lignin mixture (Sigma Chemical) (3440 (st), 2910, 1600, 1320-1420, 1080-1150 (st) and 600 cm^{-1}) and of *cleaned*.

An ethyl ether extract of the residue (20 mL \times 3 times) was dried, followed by dissolution in 500 μL of methanol for analysis by gas chromatography using a Varian Model 3300 equipped with a flame ionization detector employing a column AT-1 (Alltech), 30 m \times 0.53 mm \times 1.2 μm . Conditions: Column temperature 70 °C to 270 °C at 10 °C / min; injector 150 °C; detector, FID at 300 °C.

Results

P. ostreatus and *P. sajor-caju* were grown on PGA, which does not contain plant materials. Surprisingly the supplementation of PGA with *cleaned* doubled their growth rate as seen in figures 1 () and 2 () compared to the growth rate in none supplemented PGA (♦). *cleaned* was heated in water at 120 °C for 1 h as the pasteurization of culture media. PGA supplemented by the resultant aqueous solution promoted the mycelial growth as seen in figures 1 (*) and 2 (*) but considerably less than *cleaned*.

One g of *cleaned* yielded 396 μg of nonvolatile compounds including *p*-coumaric acid (35.9 μg), ferulic acid (17.5 μg), *p*-hydroxybenzaldehyde (6.64 μg), and syringaldehyde (1.63 μg) as phenolic monomers on heating in water at 120 °C for 1 h. IR spectra of the residue of evaporation was very similar to that of *cleaned* and of commercial lignin. Hence, the mycelia were grown on PGA supplemented by a phenolic mixture of the same composition. Only a slight increase of growth was observed under this condition as shown figures 1 (O) and 2 (O).

Cleaned sterilized by an equivolume mixture of ethanol and benzene was added to a previously pasteurized PGA. The mycelia grew almost double as seen in figures 1 (*) and 2 (*) compared to the control.

Since the basidiomycetes grew nearly linearly during 3rd to 9th days as seen in figures 1 and 2, all experimental data on mycelial diameters during this stage were calculated by linear least square treatments and they are summarized in Table 1. The growing velocities based on the slopes reached to 2.0-2.3 times in chemically sterilized fiber and 2.2-2.7 times in thermally sterilized ones compared to the controls. The mixture of phenolic compounds also accelerated, 40 % for *Pos* and 3 % for *Psc*. The statistical confidence ranges evaluated comparing linear regression equations of slopes between the phenolic monomers supplementation and control remain $0.99 > P$ for *Pos* and *Psc* [9]. The differences between the controls and the PGA supplemented with hot water extract, chemically or thermally sterilized fiber were highly trustworthy. Nevertheless, the standard deviations seen from Table 1 are considerably large. Every run deviates little from a curve; however, deviations within runs were considerably large. We found that mycelial growth is slowed notably by a slight increase of light, hence it has been concluded that the control of light intensity



Fig. 1. *Pleurotus ostreatus* growth promotion by the supplementation to PGA with: (O) lignin-derived phenolic compounds; 6.64 ppb of *p*-hydroxybenzaldehyde, 1.63 ppb of syringaldehyde, 35.7 ppb of *p*-coumaric acid, and 17.5 ppb of ferulic acid. (♣) a hot water extract of *CLEANED*. (*) chemically sterilized corn stalk, 1000 ppm. () thermally sterilized corn stalk, 1000 ppm. (♦) control, without supplementation.

was not satisfactory in our experiments. All data obtained from 278 runs for *Pos* and 278 runs for *Psc* are shown in Table 1 and figures 1 and 2 in order to demonstrate the relative effects to the growth rate but not the absolute growth velocities.

Mycelia of *Abi*, *Aca*, *Led*, *Pos* and *Psc* were grown on MSA supplemented by these products at a concentration range of 1-1000 ppm. Apparently both of *crude* and *cleaned* promoted all mycelial growth in similar extent by a concentration dependent manner. However, the growth rate increased by only less than 30 % (data not shown).

Supplementation of a commercially available Kraft lignin to MSA showed slight growth promotions of five basidiomycete mycelia at a low concentrations ranging to 1-10 ppm, however growth inhibition suppressed the promotion at higher concentrations.

Discussion

It is well documented that fungal mycelial growth is accelerated by phenolic compounds [6-12]. Cai *et al.* and Buswell and Erikson [13-14] studied diverse lignin-derived phenolic compounds and their methylated derivatives at the concentration range of 1-10 mM on the growth of edible mushrooms such as *L. edodes* and *P. sajor-caju*. They found slight promotions and inhibitions in some phenolic compounds at low concentrations. However, a phenolic concentration less than 1 mM is not available in these studies. On the other hand, the concentrations of four phenolic compounds summed up to only 3.7 μ M in our supplementation. Yet it showed notable growth accelerations.

Plant growth hormones are the compounds that induce plant growth at lowest concentration ever known, regardless that each one acts in different manner from growth promotion to acceleration of senescence. Thus, the most common plant hormones such as gibberellic acids [15] and indole acetic acid [16] enhance plant growths as low concentration range as 10^{-6} to 10^{-8} M. Accordingly the phenolic concentration, 3.7 μ M, is comparable to the plant hormone action.

The hot water extract of *cleaned* showed a greater growth acceleration than the phenolic mixture. The major part of the extract, approximately (330 μ g) / (g-*cleaned*), consists in lignin-like compounds composing of phenolic unit. Assuming that the extract is a mixture of phenolic oligomers with an average molecular weight 1000, a supplementation of 1 g-*cleaned* per 1 l-MSA results in 3.3×10^{-7} M of the compounds. Lin and Lebo [17] described that the phenolic monomers were liberated by thermal hydrolysis of grass lignin; hence, the formation of oligomers as well as the monomers must be reasonable.

These mycelia grew well faster than the hot water extract when PGA was supplemented with solid *cleaned* sterilized even chemically or thermally. However, the later grew slightly faster than the former, showing the chemically sterilized *cleaned* was degraded by fungal enzymes alone but the thermally sterilized one summed the effects of the thermal and enzymatic degradation products.

Azuma and Tetsuo described a preparation method of lignin-carbohydrate complexes [18]. In the first step, they obtained a product composing of lignin-carbohydrate complexes and pectin employing a similar procedure to prepare the *cleaned*, followed by a removal of pectin to get the complexes. Pectin supplemented to PGA up to 1000 ppm showed no growth promotion to *Pos* and *Psc*. On the other hand, these fungi were promoted notably by 4 μ M of lignin-derived phe-

Table 1. Mycelial growth rates evaluated by linear least square method; mycelial diameter (cm) = interception + slope \times (no. of days) in *P. ostreatus* and *P. sajor-caju* grown in PGA supplemented by corn stalk products.

<i>Post</i>					
	contr ^c	PHE	HWE	CSC	TSC
rel. growth ^a	1.0	1.4	2.3	2.4	2.8
no. of data	54	40	144	20	20
slope	0.400	0.550	0.925	0.976	1.125
interception	0.01	-0.08	-1.62	-2.32	-1.39
stand. dev. ^b	0.70	0.27	1.61	1.13	0.25
<i>Psc</i>					
	contr ^c	PHE ^d	HWE ^e	CSC ^f	TSC ^g
rel. growth ^a	1.0	1.03	1.7	2.1	2.4
no. of data	54	40	144	20	20
slope	0.490	0.506	0.833	1.040	1.190
interception	0.417	0.088	-1.83	-1.89	-2.19
stand. dev. ^b	0.723	0.241	0.626	0.307	0.502

^a Relative growth rate, ^b standard deviation, ^c control, ^d phenolic mixture supplementation, ^e hot water extract supplementation, ^f chemically sterilized constalk, ^g thermally sterilized corn stalk.

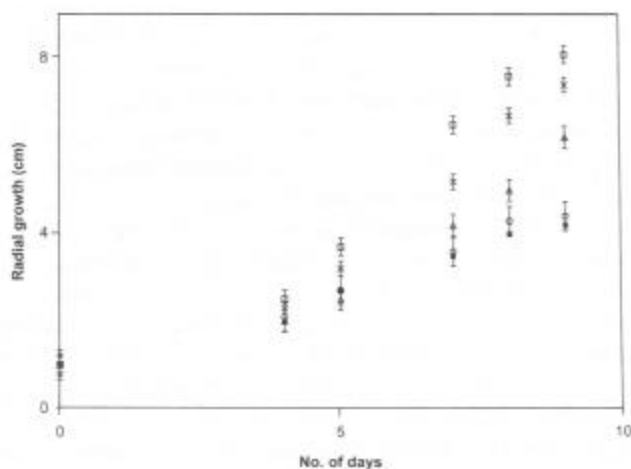


Fig. 2. *Pleurotus sajor-caju* growth promotion by the supplementation to PGA with:

(O) lignin-derived phenolic compounds; 6.64 ppb of *p*-hydroxybenzaldehyde, 1.63 ppb of syringaldehyde, 35.7 ppb of *p*-coumaric acid, and 17.5 ppb of ferulic acid. (▲) a hot water extract of *cleaned*. (*) chemically sterilized corn stalk, 1000 ppm. () thermally sterilized corn stalk, 1000 ppm. (♦) control, without supplementation.

nolic monomer compounds and much more by *cleaned*. Therefore, lignin solubilized by degradation such as lignin-carbohydrate complexes, phenolic oligomers and monomers might be responsible to the growth promotion of the fungal mycelia. Really, Inaba *et al.* in 1982 [19] found that sulfonated lignin-carbohydrate complexes added 1 % to culture media promoted basidiomycetes growth.

Culture media based on potato infusion and grain hydrolysates such as malt and *Aspergillus oryzae*-grown rice are used frequently to culture basidiomycete mycelia, indicating the importance of the fragmented lignin of the plant origin in these media. On the contrary, culture media that do not contain plant constituents such as PGA might be employed for fungi, which do not degrade lignin. The effectiveness of MSA over PGA was tested using *A. bisporus*, *P. ostreatus*, and *P. sajor-caju* as shown in Table 2. They grew much faster on MSA than on PGA, in accord with the common preference to use MSA for these fungi.

Interestingly, the PGA supplemented with 1000 ppm of *cleaned* potentiated the mycelial growth velocities of *P. ostreatus* and *P. sajor-caju* almost as effective as MSA as seen from Table 1: *P. ostreatus* grew even faster and *P. sajor-caju* a little slower. The similarity between MSA and *cleaned*-supplemented PGA indicates that lignin derivatives play a role to accelerate the fungal growth.

Basidiomycetes actively degrade lignin in biomass using extracellular enzymes, including fungal peroxidases [20] and laccase [21]. Let us suppose that a growing *P. ostreatus* mycelium germinated from a spore meets a log. Then, the fungal enzymes degrade lignin and the degradation products including phenolic monomers diffuse getting behind of the mycelium at the front end accelerating mycelial growth. As a

result, more degradation takes place. This must be an important tactic of the fungi in securing their niche in a biomass before competitors encroach upon it.

The enzymatic degradation products of lignin might switch the signal controlling growth rate to a faster mode. However, there are enormous numbers of chemical species as the product such as phenolic compounds, oligomers with different degrees of oligomerization derived from phenolic compounds as the building block, and lignin-carbohydrate complexes with a variety of chain length and monomer components. It must be difficult that receptors respond directly to all the products.

Phenolic compounds are oxidized to catechol (*o*-dihydroxybenzene) or hydroquinone (*p*-dihydroxybenzene) derivatives in the presence of fungal dioxidase or laccase. These dihydroxybenzene derivatives are easily oxidized further to quinone derivatives enzymatically or nonenzymatically. The oxidation produces two short-lived HO₂ (hydrogen superoxide) molecules, which disproportionate to H₂O₂ and O₂ enzymatically by superoxide dismutase (SOD) or nonenzymatically [22]. Consequently, these fungi may detect HO₂ or H₂O₂ instead of the lignin degradation products.

It is widely accepted that ingestion of dietary fiber is indispensable to maintain human and animal health. Nevertheless, a fully acceptable reasoning has not been proposed yet. On the other hand, 20 μL of an *Escherichia coli* (ATCC 25922) culture at a log phase culture (1500 × 10⁶ cells / mL) were inoculated to peptone-glucose broth and the growth was monitored by turbidity with a spectrophotometer at 450 nm. The results obtained showed that the growth was enhanced by 40 % by a supplementation with the hot water extract of *cleaned* corresponding to 1 g of *cleaned* to 1 l of culture media (data not shown). However, the behavior of intestinal microflora is complicated, especially the lignin hydrolyzing microorganisms and the ones promoted by the hydrolysates are not necessarily the same. Moreover, the beneficial microorganisms must be promoted, whereas the malignant ones must be inhibited in order to contribute to the health.

Acknowledgments

We thanks Prof. Dr. Takeo Tabata (Kobe Women's University Seto Junior College) for his stimulating and valuable discus-

Table 2. Comparison of some basidiomycete micelial growth rates in diameter, cm / (%) on media containing plant derived substances (MSA) and lacking such substances (PGA) at 6th or 7th day.

	MSA	PGA
<i>P. ostreatus</i> (7 th day)	4.83 cm (0.06) ^a / 181 %	2.67 cm (0.06) ^a / 100 %
<i>P. sajor-caju</i> (6 th day)	6.46 cm (0.06) ^a / 311 %	1.6 cm (0) ^a / 100 %
<i>A. bisporus</i> (7 th day)	5.4 cm (0) ^a / 135 %	4.0 cm (0) ^a / 100 %

^a Standard deviation for triplicate experiments.

sions. MJB-G thanks to Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología for the scholarship #93376, the Government of the State of Veracruz, and Fundación Telmex for the scholarship.

References

1. Chahal, D.S.; Hachey, J.M. In: *Agricultural and synthetic polymers: Biodegradability and utilization*. Glass, J.E.; Swift, G., Eds., *American Chemical Society Symposium Series 1990*, American Chemical Society, Washington D. C., **1990**, 306-310.
2. Platt, M.W.; Hadar, Y.; Henis, Y.; Chet, I. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1983**, *17*, 140-142.
3. Ardon, O.; Kerem, Z.; Hadar, Y. *Can. J. Microbiol.* **1998**, *44*, 676-680.
4. Inaba, N.; Iizuka, Y.; Koshijima, T. *Mokuzai Gakkaishi* **1981**, *27*, 231-236.
5. Kawamura, N.; Goto, M.; Nakamura, Y. *Trans. Mycol. Soc. Jpn.* **1983**, *24*, 213-222.
6. Ikegaya, N.; Goto, N. *Trans. Mycol. Soc. Jpn.* **1988**, *29*, 401-11.
7. Inaba, N.; Iizuka, Y.; Koshijima, T. *Mokuzai Gakkaishi* **1980**, *26*, 482-487.
8. Shuen, S.K.; Bushwell, J.A. *Lett. App. Microbiol.* **1992**, *15*, 12-14.
9. Zar, J.H. *Biostatistical analysis*. 3rd ed., Prentice Hall, New Jersey, **1996**, 353-369.
10. Wat, C. K.; Towes, G. H. N. *Phytochemistry* **1975**, *14*, 663-666.
11. Gupta J. K.; Humps S. G.; Bushwell J. A.; Eriksson K. E. *Arch. Microbiol.* **1981**, *128*, 349-354.
12. Lavee, S.; Harshemesh, H.; Avidan, N. *Acta Horticulture* **1986**, *179*, 317-328.
13. Cai, Y.J.; Buswell, J.A.; Chang, S. T. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **1993**, *9*, 503-507.
14. Buswell, J.A.; Erikson, K.-E.L. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **1994**, *10*, 169-174.
15. Libbenga, K. R.; Mennes, A. M. In: *Plant Hormones and Their Role in Plant Growth and Development*, Davis, P.J. Ed. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherland, **1990**, 272-297.
16. Cleland, R. E. In: *Plant Hormones and Their Role in Plant Growth and Development*, Davis, P.J. Ed.. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherland. **1990**, 132-147.
17. Lin, S.Y.; Lebo, Jr. S.E. In: *Encyclopedia of Chemical Technology*, Vol. 15, John Wiley and Sons, **1995**, 268-289.
18. Azuma, J.; Tetsuo, K. *Methods Enzymol.* **1988**, *161*, 12-18.
19. Inaba, N.; Iizuka, Y.; Koshijima, T. *Mokuzai Gakkaishi* **1982**, *28*, 319-324.
20. Babitskaya, V. G.; Shcherba, V.V. *Microbiology* **1999**, *68*, 58-62.
21. Muñoz, C.; Guillen, F.; Martínez, A. T.; Martínez, M. J. *Current Microbiol.* **1994**, *34*, 1-5.
22. Leonowicz, A.L.; Maniszewska, A.; Luterek, J.; Ziegenhagen, D.; Wojtas-Wasilewska, M.; Cho, N-S.; Hofrichrer, M. *Fungal Gen. Biol.* **1999**, *27*, 173-185.

Investigación

Cálculo teórico y experimental del parámetro termodinámico de interacción de Flory del Poli(adipato de etileno)

Martha L. Cecopieri-Gómez^{*1} y Joaquín Palacios²

¹ Instituto Mexicano del Petróleo, Dirección Ejecutiva de Exploración y Producción. L. Cárdenas 152, Col. San B. Atepehuacán, México 07730, D. F. E-mail: mcecopie@www.imp.mx

² Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química, Lab. de Fisicoquímica de Macromoléculas; México 04510, D. F. E-mail: polylab1@sevidor.unam.mx

Recibido el 26 de marzo del 2001; aceptado el 5 de julio del 2001

Resumen. En este trabajo se presenta la estimación del parámetro de interacción de Flory (χ), segundo coeficiente de virial (A_2) y parámetro de solubilidad (δ_2), para el Poli(Adipato de Etileno) PAE, plastificante polimérico para el PVC, mediante el empleo de un procedimiento basado en el modelo hidrodinámico de Stockmayer-Fixman que permite la estimación de tales cantidades a partir de mediciones viscométricas de soluciones de polímero en buenos disolventes a temperatura constante, en viscosímetros Ubbelohde. El método permite también la estimación de k_θ , parámetro no perturbado, haciendo uso de las constantes k y a de la ecuación de Mark-Houwink-Sakurada (MHS), lo cual resulta muy conveniente cuando se desea conocer el comportamiento hidrodinámico de un polímero en el estado no perturbado, lo que requiere de la disponibilidad de su disolvente θ (theta) y del conocimiento de la temperatura a la cual el polímero alcanza dicho estado; condiciones que en ocasiones imposibilitan la determinación experimental. Los resultados obtenidos mediante cálculo están en concordancia con aquellos determinados experimentalmente y son del mismo orden de magnitud de los reportados en la literatura especializada para poliésteres de estructuras similares. No obstante la importancia comercial del PAE, las cantidades determinadas no están reportadas en la literatura.

Palabras clave: Parámetro de interacción de Flory, segundo coeficiente de virial, parámetro de solubilidad, propiedades hidrodinámicas del Poli(Adipato de Etileno).

Abstract. In this work we present the theoretical and experimental determinations of the Flory interaction parameter χ , the second virial coefficient A_2 , and the solubility parameter δ_2 , of Poly (Ethylene Adipate) PEA, a PVC plasticizer. We have used the viscometric method for measuring dilute PEA solutions in good solvents: 1,4 dioxane, benzene, toluene, chloroform, THF and acetone. A procedure based on the Stockmayer-Fixman, (SF), hydrodynamic solution theory allows us to evaluate the thermodynamic parameters via the intrinsic viscosity, $[\eta]$, measured in several solvents. This method estimates the unperturbed parameter, k_θ , in combination with the Mark-Houwink-Sakurada, (MHS), constants, k and a , obtained by viscosity measurements at constant temperature.

This procedure is a convenient way, when we want to know the hydrodynamic behavior of the polymers in the unperturbed state, specially when we do not have a theta solvent available, or the theta conditions make unable the viscosity measurements.

Our theoretical calculations of the solubility parameter, and interaction parameter are in good agreement with the experimental values. These results were compared with those reported in the literature for a series of similar adipates, since PEA data have not previously been published.

Keywords: Flory Interaction Parameter, Second virial coefficient, Solubility parameter, Hydrodynamic Properties of Poly(Ethylene Adipate).

Introducción

El parámetro de interacción polímero-disolvente (χ), mejor conocido como parámetro de interacción de Flory, fue introducido por primera vez en 1942 por Flory [1] y Huggins [2] en la descripción de soluciones poliméricas. Esta cantidad, continúa siendo importante en la determinación de la estabilidad de los polímeros en solución.

χ puede medirse experimentalmente por los siguientes métodos: Hinchamiento de equilibrio, presión osmótica, presión de vapor, ultracentrifugación, sedimentación de equilibrio y viscosimetría, entre otros.

En 1986 Chee y colaboradores [3], con fundamento en el modelo hidrodinámico de Stockmayer y Fixman y a partir de las constantes empíricas, k y a , de la ecuación de Mark-Houwink-Sakurada (MHS), desarrollaron un procedimiento de análisis

para estimar el parámetro no perturbado, (k_θ), el parámetro de interacción, (χ) y el segundo coeficiente de virial, (A_2).

Una vez conocido χ , el cálculo de A_2 , que también representa una medida de la interacción entre el disolvente y el polímero se expresa de acuerdo con la teoría de Flory-Huggins-Krigbaum, [4] como:

$$A_2 = (\frac{1}{2} - \chi) (v^2 / V_1) \quad (1)$$

Donde:

χ = Parámetro de interacción de Flory,

v = Volumen específico del polímero,

V_1 = Volumen molar del disolvente.

Existen algunos métodos experimentales para la estimación del parámetro de solubilidad para el polímero (δ_2),

Tabla 1. Pesos moleculares e índices de polidispersidad para PAE, obtenidos por GPC, crioscopia⁽¹⁾ y viscometría⁽²⁾.

Muestra	Mn	Mw	Mz	D	M _{Zavg} / M _{Wavg}	M _{crios} ⁽¹⁾	M _{vis} ⁽²⁾
1	3294	3502	3765	1.0632	1.0748	3250	3502
2	3318	3541	3823	1.0671	1.0795	3310	3541
3	3509	3840	4293	1.0944	1.1179	3500	3840
4	3844	4409	5203	1.1470	1.1799	3800	4409
5	3873	4462	5286	1.1519	1.1847	3850	4462

tales como la determinación de la viscosidad intrínseca $[\eta]$ de polímeros lineales en una serie de disolventes, con un amplio espectro de valores para δ (parámetro de solubilidad del disolvente). El parámetro de solubilidad para el polímero será el mismo de aquel disolvente en el cual el polímero tenga el más alto valor de viscosidad [5], [6].

Aunque este método experimental indirecto es de gran utilidad, hay otras formas de estimar δ_2 , entre ellas el Método de Fedors [7], que se basa en la suposición de que existen contribuciones atómicas y de grupo que pueden sumarse una vez conocida la estructura de la sustancia. Este procedimiento es aplicable tanto a líquidos como a polímeros.

En este trabajo se muestra la utilidad de la viscometría como una herramienta poderosa de análisis, mediante la cual a partir de mediciones de $[\eta]$ de soluciones diluídas de PAE en: 1,4 dioxano, benceno, tolueno, cloroformo, tetrahidrofurano y acetona, se pueden determinar las cantidades termodinámicas que describen a las soluciones del PAE y que representan una medida de su interacción con los disolventes utilizados.

Metodología

La metodología de trabajo para la estimación de los parámetros termodinámicos está basada en la determinación de $[\eta]$ a 30 °C, de soluciones diluídas de PAE en: 1,4 dioxano, benceno, tolueno, cloroformo, tetrahidrofurano y acetona. Para este fin, se obtuvo el poliéster mencionado, haciendo reaccionar ácido adípico y mono-etilén glicol [9].

Síntesis y caracterización del polímero

Se sintetizó el PAE mediante la polimerización en solución de cantidades equimolares (0.15 moles) de ácido adípico y mono etilén glicol, reactivo Q. P. de Baker en 0.564 moles de tolueno, reactivo Analítico de Baker como medio de reacción. Se emplearon 0.0031 moles de ácido *p*-toluensulfónico con reactivo Q.P. de Baker como catalizador. La reacción se efectuó a 94 °C de acuerdo con los procedimientos reportados en la literatura para la obtención de poliésteres [8]. Durante el transcurso de la misma se tomaron muestras para disponer de polímero con diferentes pesos moleculares. Los grados de conversión seleccionados fueron bajos y menores al 20 %. Después de transcurridas 26 horas (tiempo total de reacción) la disolución final y cada una de las muestras se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se precipitaron en etanol para posteriormente filtrarse y eliminar el exceso de disolvente en la estufa de vacío a no más de 30 °C.

Con el propósito de obtener muestras con un índice de polidispersidad bajo, las muestras así obtenidas, se purificaron mediante el proceso de precipitación por adición de un no disolvente, utilizando el par solvente / no-disolvente, benceno / éter de petróleo. Todas las muestras se filtraron a través de filtros millipore de 0.5 mm para posteriormente eliminar el no disolvente por evaporación con vacío.

Para la identificación del PAE se utilizaron las técnicas de espectroscopía de infrarrojo (IR); Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC). Se encontró que las bandas de absorción en IR y las señales en RMN, así como el valor del punto de fusión, obtenido por DSC, corresponden a los del Poli(Adipato de Etileno) [9].

El peso molecular número promedio, Mn, de las muestras se determinó por la técnica de crioscopia, siguiendo el procedimiento que se describe en la literatura [14], para contar con valores absolutos del peso molecular. También, se determinaron los pesos moleculares número promedio, Mn, peso promedio, Mw, y z promedio, Mz, por GPC, en un cromatógrafo Waters con detector de Índice de Refracción Waters 410, columna Ultrastayragel Lineal Waters, empleando THF como eluyente a una velocidad de flujo de 1 ml/min a 30°C y 540-546 psi. Para ello, se utilizó el procedimiento de calibración universal a partir de estándares de poliestireno de pesos moleculares, peso promedio Mw de 580-35,000 a las mismas condiciones. La Tabla 1 presenta los valores de los índices de dispersión obtenidos, así como los pesos moleculares de las muestras utilizadas en el estudio, cuyos valores (Mw) se tomaron como: 3500, 3550, 3900, 4400 y 4500.

Viscometría

En la determinación del tiempo de flujo de cada una de las disoluciones de PAE se utilizó la metodología que señalan los estándares ASTM D2857-87 [10] y D446-89a [11]. Se prepararon disoluciones con una concentración inicial de 1 g / dL, efectuando diluciones sucesivas, a 10 mL de solución, mediante la adición de 2.0 mL del disolvente puro en turno, para obtener valores de concentración de: 0.833; 0.714 y 0.625 g de PAE / dL de solución. Después de cada adición de disolvente, se permitió un tiempo de espera de 10 minutos para que la temperatura en el viscosímetro Ubbelohde, alcanzara el equilibrio (30 °C). En las determinaciones con tolueno, tetrahidrofurano, benceno, cloroformo y acetona como disolventes, se utilizó un viscosímetro Ubbelohde No. 0C, mientras que en las evaluaciones con 1,4 dioxano, se empleó un viscosímetro Ubbelohde No. 1, con diámetros de capilar de 0.36 mm y 0.58 mm \pm 2 %, respectivamente. En todos los casos las

Tabla 2. Valores de peso molecular y viscosidad intrínseca $[\eta]$, (mL / G) utilizados en la estimación de las constantes k y a de la Ec. MHS.

Disolvente δ [cal / cm ³] ^{1/2}	Mn (g / mol)	Extrapol [η]	Disolvente δ [cal / cm ³] ^{1/2}	Mn (g / mol)	Extrapol [η]
1,4 Dioxano 10.0	3500	4.65	Cloroformo 9.3	3500	3.90
	3550	5.50		3550	4.46
	3900	6.00		3900	4.60
	4400	6.34		4400	5.24
	4500	7.21		4500	5.51
Benceno 9.2	3500	3.30	THF 9.1	3500	4.08
	3550	4.12		3550	4.38
	3900	4.16		3900	4.59
	4400	4.71		4400	4.73
	4500	4.87		4500	5.39
Tolueno 8.9	3500	5.11	Acetona 9.9	3500	5.25
	3550	5.30		3550	6.13
	3900	5.58		3900	6.68
	4400	5.81		4400	6.75
	4500	6.94		4500	7.42

determinaciones del tiempo de escurrimiento se ejecutaron por triplicado, utilizando un cronómetro eléctrico con una precisión de 0.01 segundos.

Tratamiento de los datos

Los datos de viscosidad como una función de la concentración se extrapolaron a dilución infinita aplicando la bien conocida ecuación de Huggins. Ec. (2), para obtener los valores de $[\eta]$.

$$(\eta_{sp} / c) = [\eta] + k' [\eta]^2 c \quad (2)$$

En la estimación de las constantes k y a , se utilizó la expresión de MHS en su forma logarítmica, Ec. (3), aplicada a las diferentes disoluciones de PAE a 30 °C, utilizando la combinación de valores de peso molecular determinados por crioscopia y de viscosidad intrínseca $[\eta]$, obtenidos de la Ec. (2). Véase Tabla 2.

$$\ln [\eta] = \ln k + a \ln M \quad (3)$$

Estimación de k_q

El parámetro no perturbado, k_q , es un factor configuracional muy importante y útil en la estimación de las dimensiones no perturbadas de las cadenas de polímero así como de la rigidez de las madejas poliméricas. Convencionalmente, este factor se determina mediante la medición de la viscosidad de una serie de disoluciones diluidas de polímeros, aplicando la ecuación de MHS, Ec. (4), a las condiciones θ , bajo las cuales el efecto de volumen excluido de los segmentos de polímero es despreciable, lo cual permite establecer que: $a = 1/2$ y $k = k_q$.

$$[\eta] = k M^a \quad (4)$$

Claramente, esta técnica resulta irrelevante si no se dispone del disolvente θ , este es desconocido, o las condiciones θ imposibilitan la medición, como generalmente ocurre. En vista de esto, un buen número de métodos gráficos, basados en alguno de los modelos que describen a las soluciones diluidas de polímeros, han sido desarrollados. Uno de ellos es el propuesto por Chee y colaboradores [3]; el cual tiene su fundamento en el modelo de Stockmayer & Fixman, SF, Ec. (5).

El método de Chee predice el valor del parámetro no perturbado a partir de mediciones de la viscosidad en disolventes no theta, con tal que los mismos sean buenos disolventes. Así:

$$[\eta] / M^{1/2} = k + 0.51 \Phi_0 B M^{1/2} \quad (5)$$

En la que:

$$B = 2v^2 (1/2 - \chi) / N_A V_1 \quad (5.a)$$

$$0.51 \Phi_0 = k_q C_1 \quad (5.b)$$

Donde:

N_A = es el número de Avogadro

C_1 = es una constante numérica evaluada teóricamente como 1.55 [4]

Φ_0 = Cte. universal o cte. de Flory = 2.87×10^{23}

Dividiendo ambos miembros de la Ec. (4) entre $M^{1/2}$ y desarrollando el lado derecho de la ecuación mediante una serie de Taylor en potencias de $M^{1/2}$, hasta la raíz cuadrada de un peso molecular de referencia denominado M_0 , se obtiene:

$$[\eta] / M^{1/2} = k M_0^{(a-1/2)} + (2a-1) k M_0^{(a-1)} (M^{1/2} - M_0^{1/2}) + (a-1)(2a-1) k M_0^{(a-3/2)} (M^{1/2} - M_0^{1/2})^2 + \dots \quad (6)$$

para M cercano a M_0 , el tercero y siguientes términos del lado derecho de la Ec. (6) pueden ignorarse para establecer:

$$[\eta] / M^{1/2} = 2(1 - a) k M_0^{(a-1/2)} + (2a - 1) k M_0^{(a-1)} M^{1/2} \quad (7)$$

El valor de M_0 debe cumplir con las condiciones: (a) α_η a M_0 , designado como α_{η_0} , no debe ser mayor de 1.5 ya que por encima de este valor la Ec. de SF pierde su linealidad [3] y (b) las Ecs. (5) y (7) son idénticas, de manera que:

$$B = (2a - 1) k M_0^{(a-1)} / k_\theta C_1 \quad (8)$$

$$k_\theta = 2(1 - a) k M_0^{(a-1/2)} \quad (9)$$

Aplicando logaritmos a la Ec. (9) y reacomodando:

$$\ln [2(1 - a)k] = \ln k_q - (a - 1/2) \ln M_0 \quad (10)$$

La Ec. (10) es útil en la estimación de los valores de k_q y M_0 en buenos disolventes, (donde $a \geq 0.6$), ya que corresponde a la ecuación de una recta a la que podemos ajustar los valores de k y a de la ecuación MHS, para obtener de su pendiente el valor de M_0 y de la ordenada al origen el valor de k_q . Así:

$$\alpha_{\eta_0} = k M_0^{(a-1/2)} / k_q \quad (11)$$

Las dimensiones no perturbadas de la cadena se pueden obtener a partir de:

$$k_q = \Phi_0 A^3 = \Phi_0 (\langle R^2 \rangle_0 M^{-1})^{3/2} \quad (12)$$

$$A = (\langle R^2 \rangle_0 M^{-1})^{1/2} \quad (13)$$

Donde:

A = Factor asociado con el impedimento estérico a la rotación interna libre de los elementos de la cadena [12].

$\langle R^2 \rangle_0$ = Distancia extremo-extremo, cuadrado promedio, en el estado no perturbado.

Cálculo del parámetro de interacción de flory, (c) y del segundo coeficiente de virial, (A_2)

χ es un parámetro de energía libre que contiene un término entrópico y un término entálpico. Para un sistema polímero-disolvente no-polar o ligeramente polar, χ esta dado por la expresión (14):

$$\chi = \chi_s + \chi_H \quad (14)$$

Donde:

χ_s es el término entrópico, igual a la inversa del número de primeros vecinos de una molécula o segmentos en solución, es una cantidad dependiente de la temperatura.

χ_H es el término entálpico dado por [4], [13]:

$$\chi_H = (V_1 / RT) (\delta_2 - \delta_1)^2 \quad (15)$$

Donde:

V_1 es el volumen molar del disolvente

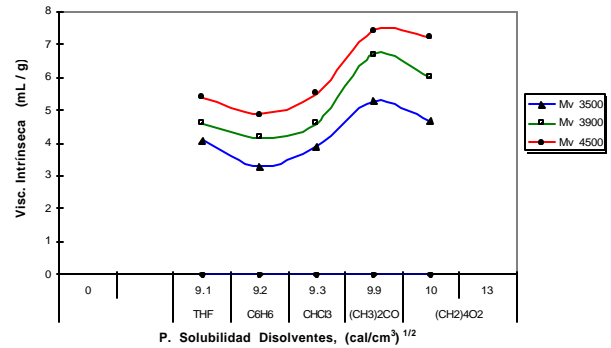


Fig. 1. Determinación experimental del parámetro de solubilidad δ_2 , para el PAE a 30 °C por medio de la viscosidad intrínseca.

R es la constante universal de los gases

T es la temperatura termodinámica, (°K)

δ_1 y δ_2 son los parámetros de solubilidad del disolvente y del polímero, respectivamente. También conocido como parámetro de Hildebrand.

Termodinámicamente, un valor pequeño de χ indica un buen disolvente, es decir, el criterio de solubilidad para un polímero es que $\chi \leq 0.5$ [14].

De acuerdo con el modelo hidrodinámico de Kirkwood-Riseman [15], el cubo del factor de expansión viscométrico (α_η) de una cadena polimérica flexible puede expresarse mediante una serie de potencias del parámetro del volumen excluido, z :

$$(\alpha_\eta)^3 = [\eta] / [\eta]_\theta = 1 + C_1 z + C_2 z^2 + \dots \quad (16)$$

Donde, C_1, C_2, \dots son constantes numéricas evaluadas teóricamente y z es el parámetro de volumen excluido, estrechamente asociado con $\langle R^2 \rangle_0$ y χ mediante:

$$z = B M^{1/2} \quad (17)$$

En la que,

$$B = 2 (3/2\pi)^{3/2} (v_p^2 / N_A V_1) (M / \langle R^2 \rangle_0)^{3/2} (1/2 - \chi) \quad (18)$$

Donde, N_A, v_p y V_1 , corresponden al número de Avogadro, al volumen específico parcial del polímero y al volumen molar del disolvente, respectivamente. Despreciando el tercero y siguientes términos del lado derecho de la Ec. (16) para valores de z pequeños, la ecuación se transforma en la ecuación de SF, Ec. (5).

La ecuación de SF es aplicable a sistemas en la vecindad del estado theta o cuando se emplean fracciones de polímero de peso molecular relativamente bajo, si se utilizan buenos disolventes. Esta observación constituye la base de nuestro análisis.

Combinando las Ecs. (18) con (8), (10) y (12), se obtiene una expresión útil para el cálculo de c , una vez conocidos los valores para k_q, M_0 y a .

$$\chi = 1/2 - [1.59 V_1 (2a - 1) k_\theta] / [1.55 v_p^2 (1 - a) M_0^{1/2}] \quad (19)$$

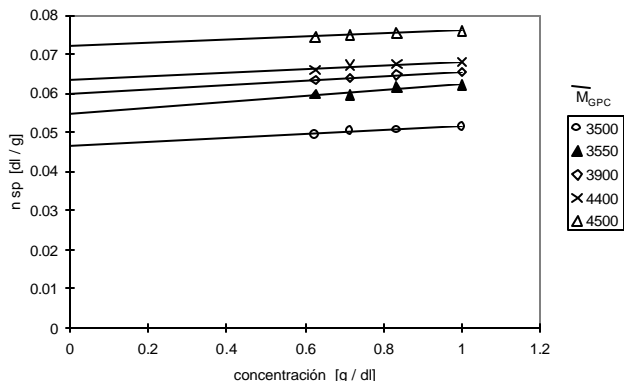


Fig. 2. Viscosidad intrínseca [η] de PAE en 1,4 Dioxano a 30 °C.

La expresión termodinámica del parámetro de interacción de Flory χ es:

$$\chi = \frac{1}{2} - A_2 V_1 \rho_p^2 \quad (20)$$

Donde ρ_p es la densidad del polímero. Si v_p = 1/ρ_p se deduce que:

$$A_2 = [1.59 (2a - 1) k_0] / [1.55 (1 - a) M_0^{1/2}] \quad (21)$$

Originalmente χ fue propuesto como una medida de las interacciones energéticas en las soluciones poliméricas; actualmente χ es considerado como una función de energía libre residual pero a menudo también es utilizado como un parámetro empírico que describe la calidad termodinámica de un disolvente para un polímero. Como tal, χ determina la conformación que adoptan las cadenas de polímeros en la solución debido a la interacción de las moléculas con el disolvente y por lo tanto afecta a la viscosidad.

Kok & Rudin [16], desarrollaron un modelo que muestra que el segundo coeficiente de virial puede calcularse a partir de:

$$A_2 = \frac{[16p N_A [?]] D}{M [9.3 \times 10^{14} + 4p N_A c ([?] - [?])_q]} \quad (22)$$

[η] = Viscosidad intrínseca (mL / g)
 [η]_θ = Visc. intrínseca en cond. θ (mL / g)
 c = Concentración del polímero en la solución (g / mL)
 M = Peso molecular del polímero (g / mol)
 N_A = Núm. Avogadro = 6.025 × 10²³ (mol⁻¹)
 D = 1 - (αη³)⁻¹
 χ, puede entonces calcularse a partir de las ecuaciones (22) y (20).

En la literatura [17], se encuentran reportados algunos valores de A₂ para poliésteres similares al PAE, Poli(oxi-etilen-oxi-adipoil); tal es el caso del PTMA, Poli(oxi-tetrametilen-oxi-adipoil) y del PHMA (Poli(oxi-hexametilen-oxi-adipoil) que registran los siguientes valores para A₂:

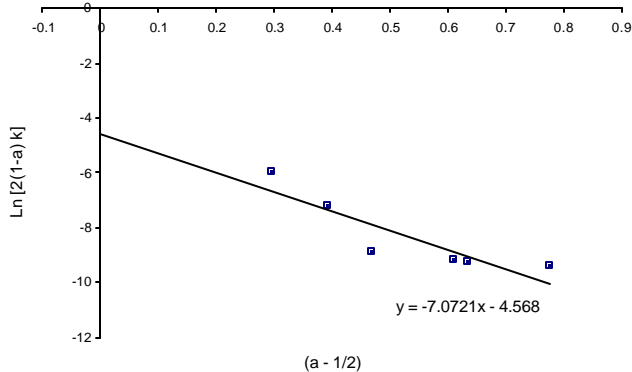


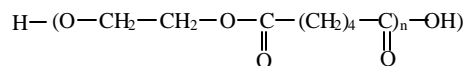
Fig. 3. Determinación de las constantes K₀ y M₀, para el PAE a 30 °C, a partir de la ecuación (10).

	PTMA	PHMA
A ₂ × 10 ⁴ (mol cm ³ / g ²)	40.0	53.0
Disolvente	CHCl ₃	CHCl ₃
M (g / mol)	1.47 × 10 ⁴	1.72 × 10 ⁴

Cálculo del parámetro de solubilidad d

Una vez conocido χ, Ec. (20), podemos estimar el valor de δ a partir de la Ec. (15), asumiendo que la contribución entrópica χ_s es despreciable. La Ec. (15) se resuelve para δ₂, si se conocen los términos restantes.

Haciendo uso de los datos de [η] para el PAE y de los valores de δ₁ para los disolventes, mismos que se reportan en la Tabla 2, se estimó también δ₂ mediante el método experimental de la viscosidad intrínseca. La figura 1 muestra el resultado de este procedimiento. Adicionalmente se aplicó el procedimiento propuesto por Fedors [7] para el cálculo de δ₂ mediante contribuciones de grupo, partiendo de la estructura:



De acuerdo con la Ec. (23), se calculó el valor de δ₂ = 10.06 (cal / cm³)^{1/2}.

$$d = \left[\frac{\sum_i \Delta_{ei}}{\sum_i \Delta_{vi}} \right]^{1/2} \quad (23)$$

Resultados y discusión

Como un ejemplo, la Fig. 2 muestra la determinación de la [η], del PAE en 1,4 dioxano a 30 °C. La Tabla 3 presenta los valores de las constantes k y a de MHS así como los coeficientes de correlación obtenidos.

A partir de los valores de a, se puede afirmar que todos los disolventes utilizados son buenos disolventes para el PAE ya que en todos los casos a ≥ 0.6

La Fig. 3 corresponde a la representación gráfica de la ecuación (10) a partir de la cual se obtuvo k_q = 0.0103786 (mL / g) y M₀ = 1.178 × 10³. Conocido el valor de k_q y M₀; me-

Tabla 3. Valores de las constantes k y a de la ecuación MHS para el PAE en varios disolventes a 30 °C.

Constantes	1,4 Dioxano	Benceno	Tolueno	Cloroformo	THF	Acetona
a	1.276	1.133	0.893	1.111	0.797	0.967
$k \times 10^3$ [mL / g]	0.150	0.356	3.489	0.474	6.214	2.121
Coef. de correlación	0.912	0.854	0.878	0.949	0.897	0.871

Tabla 4. Parámetros termodinámicos de PAE en varios disolventes.

Disolvente	Poli (Adipato de Etileno)			Teoría de los 2 parám. y ctes. de MHS		Kok & Rudin	
	T [°C]	V_1 [mL / mol]	α_{η_0}	χ (Ec. 19)	$A_2 \times 10^4$ [mL mol / g ²] (Ec. 21)	χ (Ec. 20)	$A_2 \times 10^4$ [mL mol / g ²] (Ec. 22)
1,4 Dioxano	30	85.25	3.49	.713	-17.44	-.060	45.62
Benceno	30	88.91	3.01	.877	-29.52	.121	29.57
Tolueno	30	102.6	5.41	.163	22.78	-.146	43.79
Cloroformo	30	80.49	3.43	.895	-34.14	.105	34.00
THF	30	81.2	4.89	.393	9.076	.112	33.17
Acetona	30	73.53	5.55	-.428	87.79	.001	47.04

dianete el uso de la Ec. (11), se calculó el valor de (α_{η_0}), que corresponde al factor de expansión viscométrico a un peso molecular M_0 . El parámetro (α_{η_0}), se reporta para cada uno de los disolventes en la Tabla 4. En esta misma tabla se resumen los valores de χ y A_2 obtenidos mediante la teoría de los 2 parámetros y la constante a de MHS, ecuaciones (19 y 21), y los valores obtenidos según el modelo de Kok & Rudin y la expresión termodinámica para χ , Ecs. (20) y (22).

De estos valores, observamos que los obtenidos por el primer procedimiento no son consistentes con los reportados en la literatura; esto debido a que α_{η_0} rebasa ligeramente el valor de 1.5 para todos los disolventes y la ecuación de SF, en la que se basa el análisis pierde su linealidad; lo que da lugar a desviaciones que hacen que el cálculo de χ basado en la Ec. (19) se tome con reserva. Por otro lado, A_2 obtenido por el segundo procedimiento proporciona cantidades consistentes con los valores reportados para este parámetro en polímeros como PTMA y PHMA, que sólo difieren del PAE por el número de grupos metileno presentes en la cadena, por lo que era de esperarse que el valor de A_2 fuera menor para el poliéster estudiado, en el caso del cloroformo, como efectivamente ocurrió (Tabla 4).

La Tabla 5 presenta los valores de (δ_2) para el PAE. El valor obtenido para este concepto por el método experimental

Tabla 5. Valores del parámetro de solubilidad (δ) para el PAE, obtenidos por varios métodos.

Disolvente	$\delta_{2, \text{EXPER.}}$ [cal / cm ³] ^{1/2} (30 °C)	$\delta_{2, \text{TEÓRICO}}$ [cal / cm ³] ^{1/2}	$\delta_{2, \text{FEDORS}}$ [cal / cm ³] ^{1/2}
	9.9	ec. (15)	ec. (23)
1,4 Dioxano		10.64	
Benceno		10.10	
Tolueno		9.82	10.06
Cloroformo		10.18	
THF		10.01	
Acetona		10.02	

es de 9.9 (cal / cm³)^{1/2} que corresponde al (δ_1) de la acetona; disolvente en el que el PAE registró el máximo valor de $[\eta]$. La Fig. 1 muestra este hecho. Este valor es el que consideraremos como el más adecuado. Las variaciones de los valores para δ_2 estimados mediante contribuciones de grupo (Método de Fedors), y mediante la teoría termodinámica del parámetro de solubilidad, se muestran también en esta misma tabla. La Tabla 6 presenta algunos de los parámetros de los disolventes utilizados en la experimentación.

Conclusiones

De acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio, se reconoce a la viscosimetría como una técnica de evaluación útil para las disoluciones poliméricas, a partir de la cual se obtiene información que combinada con la teoría adecuada nos permite estimar algunas cantidades hidrodinámicas de los polímeros en solución.

De acuerdo con los valores de χ calculados, el poder de disolución de los disolventes utilizados en el estudio se incrementa de acuerdo con el orden siguiente:

$$\text{Benceno} < \text{THF} < \text{Cloroformo} < \text{Tolueno} < \\ < 1,4 \text{ Dioxano} < \text{Acetona}$$

Conforme al valor del exponente a de la ecuación de MHS; el THF es el disolvente que más se aproxima al estado theta con una a de 0.797 y el 1,4 dioxano, el que más se aleja de él con un valor de $a = 1.276$.

Termodinámicamente, un valor pequeño de $\chi < 0.5$ indica un buen disolvente, en ese sentido podemos mencionar que todos los disolventes utilizados son buenos disolventes ya que en todos los casos $\chi < 0.5$.

Los valores obtenidos para δ_2 mediante cálculo basado en su definición termodinámica Ec. (15), y el estimado a partir

Tabla 6. Propiedades de los disolventes utilizados en el estudio.

Disolvente	$\rho^{(18)}$ [g / cm ³] (20 °C)	$M^{(18)}$ [g / mol]	$V_1^{(19)}$ [mL / mol] (30 °C)	$\delta^{(5)}$ [cal / cm ³] ^{1/2}	$\epsilon^{(19)}$ (25 °C)	DIPM ⁽²⁰⁾
1,4-Dioxano	1.0353	88.11	85.25	10.0	2.209	0.4
Benceno	0.8794	78.12	88.91	9.2	2.274	0.0
Tolueno	0.866	92.15	102.6	8.9	2.379	0.4
Cloroformo	1.4984 [15 °C]	119.37	80.49	9.3	4.806 [20 °C]	1.1
THF	0.888	72.12	81.2 ⁽²¹⁾ [25 °C]	9.1	7.58	1.7
Acetona	0.792	58.09	73.53	9.9	20.7	2.9

ϵ = Cte. dieléctrica; DIPM = Momento dipolar.

del método de contribuciones de grupo de Fedors, Ec. (23), respecto de los valores obtenidos mediante el método experimental de viscosimetría, no muestran una diferencia considerable por lo que podemos concluir que los valores obtenidos mediante cálculo son consistentes con los valores experimentales obtenidos por viscosimetría.

Referencias

1. Flory, P. J. *J. Chem. Phys.* **1942**, 51.
2. Huggins, M. L.; *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **1942**, 43, 1.
3. Chee, K. K. *Polymer Commun.* **1986**, 27, 135-137.
4. Chee, K. K. *Polymer* **1987**, 28, 977.
5. Burrell, H.; Immergut, B. *Polymer Handbook*, J. Brandrup and E. H. Immergut, Interscience Pub., New York, **1966**, pp IV-341.
6. Elias H. G., *Macromolecules Vol I*, Plenum Press, pp. 205-210.
7. Fedors, R. F. *Polymer Engineering and Science*, **1974**, 14, 147-154.
8. Allen, G.; Bevington, J.C., *Comprehensive Polymer Science*, Pergamon Press, N.Y. Vol. 5, Chapter 17, Polyesters, **1989**, pp. 275-289.
9. Cecopieri G., M. L. Cálculo Teórico y Experimental del Parámetro de Solubilidad en los Polímeros, Poli (Adipato de Etileno), Tesis de Maestría, Facultad de Química, UNAM, 1998.
10. D 2857-87 (Oct 1987). *Standard Practice for Diluted Solution Viscosity of Polymers*, Annual Book of ASTM Standards, Vol. 08.01.
11. D446-89 a (Dec 1989). *Standard Specifications And Operating Instructions For Glass Capillary Kinematic Viscometers*, Annual Book of ASTM Standards, vol. 05.01.
12. Pethrick, R.A., *Polymer Yearbook 3*, Institute of Chemical Physics, USSR, Academy of Sciences, Moscow, Harwood Academy Publishers, **1986**, pp 31-37, 69.
13. Barton, A. F. M. *CRC Handbook of Polymer-Liquid Interaction Parameters and Solubility Parameters*, CRC Press, Boca Raton, Flo., USA, **1990**, pp. 525.
14. Rabek, J. F. *Experimental Methods in Polymer Chemistry*, Wiley-Interscience Publications, New York, **1980**, pp 25-51.
15. Yamakawa, H. *Modern Theory of Polymer Solutions*, Chapter VI, Harper and Row, New York, **1971**, pp. 300-302.
16. Meng K., C. and Rudin, A., *J. Appl. Polym. Sci.*, **1982**, 27, 353-362.
17. Brandrup, J.; Immergut, E. H. *Polymer Handbook*, Viscosity - Molecular Weight Relationships, M. Kurata, Y. Tsunashima, M. Iwama and K. Kamada, IV Solution Properties, John Wiley & Sons. N.Y. **1975**, pp. 102-105.
18. *The Sigma-Aldrich Library of Chemical Safety Data*, **1988**, Sigma-Aldrich Corporation, Milwaukee, Wisconsin, U.S.A., (Sigma: 314-771-5765; Aldrich: 414-273-3850).
19. Lide R. D., Editor, *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 74th Edition, CRC Press, Ann Arbor, Mich, U.S.A., **1993-1994**.
20. Reid, R. C.; Prausnitz, J. M.; Poling B. E., *The Properties of Gases and Liquids*, 4th Edition, Mc. Graw Hill, Book Co. New York, **1987**.
21. Chee K. K. *Eur. Polym. J.*, **1995**, 31, 155-159.

Comunicación Técnica

Propiedades físicas y químicas del aceite de aguacate obtenido de puré deshidratado por microondas

Ma. Elena Jiménez,^{*1} Ma. del Rosario Aguilar,¹ Ma. de la Luz Zambrano² y Eva Kolar¹

¹ Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas. Instituto Politécnico Nacional. Unidad Profesional Adolfo López Mateos, Edificio 7, Zacatenco, México 07738, D. F. Tel: 7296000-55073, E-mail: mgonzale@avantel.net

² Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán-UNAM, Av. Primero de mayo s/n, Col. Atlanta, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, 54740 México. Tel: 6232041 Fax: 8730742

Recibido el 4 de octubre del 2000; versión revisada aceptada el 18 de abril del 2001

Resumen. El objetivo de este trabajo fue determinar las propiedades físicas y químicas del aceite de aguacate obtenido de purés deshidratados con energía de microondas y deshidratados por horno eléctrico. Los resultados indican que el aceite obtenido del aguacate tratado con microondas cumple las especificaciones en cuanto a sus propiedades físicas y químicas. Los espectros de infrarrojo de este aceite no presentan la banda en 2133 cm^{-1} debida a un triple enlace, que se encuentran en el aceite de puré de aguacate deshidratado con horno eléctrico y en el aceite de aguacate comercial.

Palabras clave: Puré de aguacate, aceite de aguacate, deshidratación por microondas, infrarrojo.

Abstract. The objective of this paper was to determine the physical and chemical properties of avocado oil from dehydrated pastes by means of microwave energy and those dehydrated by an electric oven. Results show that the oil obtained from microwave treated avocado meets physical and chemical specifications. Infrared spectra of this oil do not show band at 2133 cm^{-1} due to a triple bond, that is shown with the oil extracted of pastes dehydrated by electric oven and with a commercial avocado oil.

Key words: avocado pulp, oil avocado, microwaves drying, infrared

Introducción

Las microondas se encuentran entre la radiación infrarroja y las ondas de radio, y el calentamiento por esta fuente fue descubierto por Spencer en 1949 [1]. La energía de la radiación equivale a 0.000012 eV que no produce daño en la materia orgánica [2]; las propiedades de las que depende la penetración de las microondas son tanto las físicas y las propiedades dieléctricas, así como el grado de penetración de las microondas en los materiales [3]. La rapidez del calentamiento es la principal ventaja de las microondas, su aplicación en alimentos se realiza a las frecuencias de 2450 MHz y 915 MHz , con el fin de evitar interferencia con las ondas de radar [4,5]. Las microondas penetran a los alimentos provocando que las moléculas polares como el agua, las proteínas y otras tiendan a alinearse en el campo electromagnético producido. Este se invierte 915 ó 2450 millones de veces por segundo, las moléculas tratan de alinearse y oscilan a estas frecuencias generando la fricción intermolecular que provoca el calentamiento; a medida que se genera calor éste se transmite por conducción en los sólidos y por convección en los líquidos, lo que ayuda a uniformizar la temperatura [4,5]. Durante el tratamiento con energía de microondas se ha comprobado que se conserva el color natural de las frutas y vegetales así como los nutrientes, entre ellos la vitamina C, cuya presencia es un indicador del efecto de los tratamientos térmicos, pero en otros casos, los componentes de

los alimentos bajo tratamiento con microondas sufren modificaciones en su estructura, como por ejemplo, la desnaturalización de las proteínas [6, 7].

La energía de microondas es utilizada en forma limitada en procesos de alimentos a pesar de que puede ofrecer varias ventajas, como lo es el ocupar menor espacio que el utilizado por los equipos de deshidratación térmica. Otra ventaja de la deshidratación por microondas de los alimentos es la de controlar el tiempo de tratamiento. La deshidratación con energía de microondas, se ha aplicado en la deshidratación de concentrados de jugos de fruta, leche y té, así como la producción de cereales y pastas [8].

Los aceites y aceites esenciales que poseen propiedades terapéuticas son usados como componente o vehículo en productos farmacéuticos por sus características físicas y químicas. La estabilidad de un aceite se refiere a la capacidad para mantener su frescura, sabor y color durante su almacenamiento y uso. Esto está relacionado con la composición de los lípidos, su naturaleza y la presencia o ausencia de antioxidantes y de inhibidores que pueden ser naturales o artificiales; los aceites vegetales, a pesar de su insaturación, tienden a ser más estables que las grasas animales debido a sus antioxidantes naturales. Los aceites se descomponen desde el momento en que son aislados de su ambiente natural, la presencia de ácidos grasos libres es un indicador de la actividad de la lipasa u otra acción hidrolítica. Durante el almacenamiento ocurren cam-

bios en sabor y olor. La rancidez es acelerada por exposición al calor, luz, la humedad y por la presencia de trazas de metales de transición como cobre, níquel, fierro así como colorantes y pigmentos naturales residuales. La oxidación de las grasas o aceites es lenta y se conoce como periodo de inducción; al final de este periodo, se alcanza una cantidad de peróxido que provoca un aumento de la velocidad oxidativa, y el aceite empieza a tener un olor y sabor rancios. El índice de peróxido establece un grado de avance de la oxidación o rancidez [9].

El objetivo de este trabajo fue determinar las propiedades físicas y químicas del aceite de aguacate obtenido del puré deshidratado con microondas y por otro lado por estufa, este último es considerado el método convencional para deshidratación de frutas, los resultados de ambas deshidrataciones fueron comparados con los análisis del aceite comercial obtenido a granel, sin marca específica y con los datos reportados en la literatura. Mediante la técnica de espectroscopía de infrarrojo se hizo el estudio de los posibles cambios en su estructura o presencia de subproductos formados por el efecto del tratamiento con microondas y estufa de los aceites obtenidos.

Parte experimental

Preparación de las muestras. En el estudio se empleó aguacate variedad Hass de un peso promedio de 160 g, de estado de madurez uniforme, al que se le eliminó el hueso y la cáscara, preparando posteriormente el puré de la pulpa. Se efectuó un análisis de su composición química general en base húmeda con el fin de determinar las características del aguacate Hass adquirido por los centros comerciales comunes en la Ciudad de México, el aceite es el principal componente indicador de la especie de aguacate, utilizando estos resultados para su relación con los datos reportados en la literatura [10,11].

Procedimiento de secado. Para el secado por microondas se colocaron por triplicado muestras de 100 g de puré, se trató con microondas por 1 h en periodos de 15 min dando 3 min de reposo entre periodo. El horno de microondas se utilizó en la función de descongelación en donde la emisión de la microonda es por un intervalo de tiempo de 10 s con una intensidad de 9.5 amperes, con descanso o suspensión de la emisión de la microonda por 20 s con una intensidad de 4 amperes, la potencia total fue de 1200 watts y 2450 MHz de frecuencia. De manera similar se realizó el secado de muestras por triplicado utilizando horno eléctrico convencional también llamado estufa a 70 °C por 12 h [12], después de llevar a cabo los tratamientos. Se obtuvo el aceite de las muestras deshidratadas por microondas y por horno eléctrico convencional o estufa, utilizando éter de petróleo o hexano, la extracción se realizó mediante reflujo del disolvente durante 6 h en un extractor Soxhlet a una velocidad de 5 a 6 gotas por segundo, finalmente el disolvente residual se elimina mediante un ligero calentamiento hasta obtener el aceite. Se procedió a realizar los análisis físicos y químicos por triplicado de las muestras

del aceite que proviene de los diferentes procedimientos de deshidratación y extracción por disolventes: densidad, índice de refracción, índice de acidez, índice de yodo, índice de saponificación e índice de peróxidos [11, 13].

Espectroscopía infrarroja. Se realizó un análisis de espectroscopía a las muestras de aceite obtenidas de los tratamientos de deshidratado por microondas y estufa con el fin de comparar la frecuencia y transmitancia de éstas con los del aceite comercial obtenido a granel en tiendas distribuidoras así como con los datos reportados en las referencias. Se utilizó la técnica de pastilla de KBr grado espectroscópico sobre la cual se colocó una ligera película del aceite correspondiente [14, 15].

Resultados y discusión

Composición química en base húmeda del puré de aguacate: humedad 74.30 %, proteínas 1.67 %, grasas 17.10 % (66 % base seca), cenizas 1.26 %, fibra 1.35 % y por diferencia se obtiene el porcentaje de carbohidratos: 4.32 %. El contenido de aceite para el aguacate de la variedad Hass extraído por disolventes reportado es de 21.9 % (base húmeda). Estos porcentajes dependen de varios factores; entre ellos se encuentra la región donde se cultiva, la madurez del fruto y las técnicas de extracción [16]. El rendimiento obtenido por deshidratación por estufa del puré de aguacate, utilizando hexano como disolvente de extracción del aceite fue de 80 %, y con éter de petróleo de 76 %. Cuando se utilizó la deshidratación por energía de microondas, la extracción del aceite con hexano se obtuvo un rendimiento de 87.5 % y con éter de petróleo de 82.5 %. En ambos métodos de secado se obtuvieron mejores rendimientos con hexano, lo que comprueba que es el disolvente adecuado para la extracción.

Las propiedades físicas y químicas del aceite obtenido del puré de aguacate deshidratado por energía de microondas y por estufa se presentan en la Tabla 1. Los resultados obtenidos en este estudio de las propiedades físicas y químicas se compararon con los valores obtenidos, para el aceite comercial distribuido a granel y así como con los datos obtenidos por otros autores [17, 18, 19]. Se desarrolló el estudio estadístico utilizando *t*-Student, con un nivel de significancia de 0.05, bilateral, encontrándose que para la densidad e índice de refracción no hay diferencias significativas, comparando los resultados de ambas técnicas de deshidratación tanto para las muestras procesadas como para el aceite comercial y lo reportado en referencias (densidad de 0.910 e índice de refracción 1.4688). En las diferentes muestras, el índice de yodo indica que es un aceite que se encuentra clasificado dentro de los aceites insaturados y por lo tanto puede presentar reacciones oxidativas [19], con el mismo nivel de significancia no se obtienen diferencias significativas en relación al valor del aceite comercial y el obtenido de las referencias (84 cg I / g muestra). El índice de saponificación es muy semejante en todas las muestras estudiadas incluyendo la comercial pero se observan diferencias con respecto al teórico (189 mg KOH / g

Tabla 1. Propiedades físicas y químicas del aceite de aguacate.

Propiedad	Horno eléctrico Éter	Microondas Éter	Horno eléctrico Hexano	Microondas Hexano	Aceite comercial	Referencia [17, 19]
Densidad (g / ml)	0.9098	0.90871	0.91354	0.91702	0.91050	0.9100
Índice de refracción a 25 °C	1.4689	1.4688	1.4684	1.4690	1.4688	1.468
Índice de saponificación (mg KOH / g)	203	262	214	219	217	189
Índice de yodo (cg I / g)	84.34	87.76	92.59	87.53	83.35	84
Índice de peróxidos (meq / g)	32.75	24.06	22.73	26.93	38.10	14.9
Índice de acidez (mg KOH / g)	2.81	1.1322	1.23	1.88	2.98	1.07
% Ácidos grasos libres como ácido oléico	1.41	0.57	0.61	0.94	1.50	0.54

muestra) el valor estadístico calculado para cada muestra cae dentro del intervalo del valor estadístico teórico por lo que se considera que no hay evidencias suficientes para suponer que hay diferencia significativa y la variación de los resultados experimentales con respecto al teórico se puede deber al azar; las propiedades anteriores indican que el aceite no presentó ninguna reacción química adicional [20, 21]. El valor de los ácidos grasos libres fue bajo en relación con el aceite comercial y semejante al de la literatura (0.54 mg KOH / g muestra), el valor estadístico indica que no hay diferencias significativas, a 0.05 de nivel de significancia, los valores obtenidos con microondas fueron de un valor semejante al teórico reportado, por lo que se afirma que las muestras procesadas por este método no sufrieron deterioro por efecto del ambiente, luz y calor que se desarrolla durante el secado por microondas. Del proceso de extracción a partir de la pulpa seca en estufa/éter, se obtuvo un aceite con un alto valor de peróxidos, probablemente por una oxidación ocurrida durante el secado, en tanto que en las muestras secadas por microondas el valor de peróxido es menor; sin embargo, todos ellos se encuentran dentro de la norma especificada para aceites vegetales que es de 75 meq de H_2O_2 / 1000 g de muestra [21]. Utilizando el mismo nivel de significancia, los resultados indican que no hay evidencias suficientes para suponer que hay diferencias significativas; lo anterior indicó que no se presentó peroxidación debido a las altas temperaturas que se desarrollan en el secado por energía de microondas, el color natural se conserva tanto en el puré como en el aceite de aguacate, probablemente porque se inhiben por la temperatura enzimas (proteínas que actúan como catalizadores) como la lipasa que produce reacciones de oxidación de los aceites y polifenoloxidasas que al inhibirse ya no reaccionan con los fenoles del aguacate cuyos productos de reacción ocasionan oscurecimiento. También se inactiva a la clorofilasa permitiendo así la estabilidad del color verde [22, 23].

Los espectros en el infrarrojo fueron prácticamente iguales en los aceites obtenidos mediante los dos procesos de deshidratación y de extracción. Se caracteriza estructuralmente la composición del aceite indicando la presencia de sus diferentes grupos funcionales. Todos los espectros presentan dos bandas en 3015 y en 1640 cm^{-1} que indican la presencia de doble ligadura, además una banda en 730 cm^{-1} , lo que indica la presencia de una cadena larga de grupos metileno. Las bandas de 2870, 2940, 1450 y 1380 cm^{-1} indican la presencia de grupos funcionales alifáticos; las bandas de 1740 y 1152 cm^{-1} indican la presencia del grupo éster. Los espectros no muestran formación de peróxidos lo que podría ser un indicio del daño sobre el aceite por la elevada temperatura de secado por microondas. El aceite de aguacate obtenido de muestras secadas en horno eléctrico comúnmente llamado estufa y el aceite comercial presentan una banda a 2133 cm^{-1} debida a la presencia de una triple ligadura, pero las provenientes de secado por microondas no la presentaron como lo indica la figura 1 y 2, esto indica que el aceite que proviene de las muestras deshidratadas con microondas tiene mayor estabilidad, probablemente por la inhibición de las enzimas de polifenoloxidasas que provocan reacciones de oscurecimiento, la lipasa que acelera las reacciones oxidativas y la clorofilasa que altera el color verde del aguacate [22,23]; las muestras de aceite pueden llevar consigo pequeñas cantidades de pigmentos, vitaminas solubles en aceite y estables con la temperatura y otros compuestos que no son posibles de determinar por este método. Los disolventes utilizados como el éter y el benceno, no intervienen en los espectros puesto que la banda característica del primero a 1100 cm^{-1} no se encuentra, y la del hexano que es una cadena alifática lineal, sus grupos metileno y metilo coincidirían con los del aceite, que también los contiene, se requeriría otro tipo de análisis como la cromatografía de gases para comprobar su presencia; en el estudio que se efectuó se tuvo el cuidado de eliminar los disolventes utilizados.

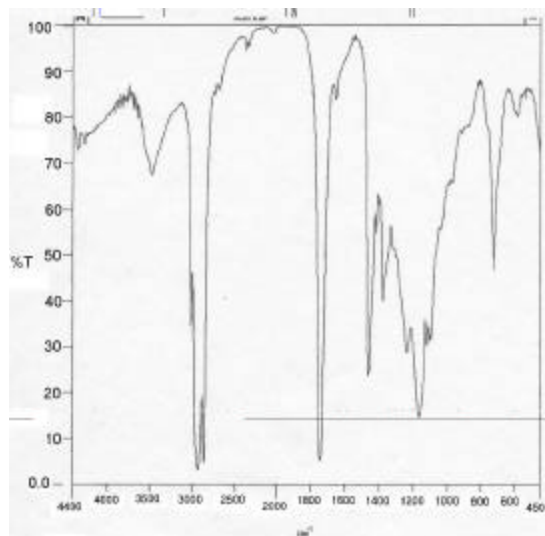


Fig. 1. Espectro de infrarrojo del aceite de aguacate microondas / éter.

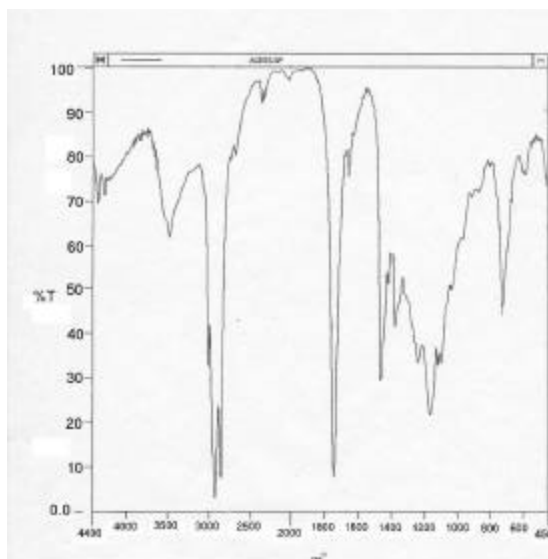


Fig. 2. Espectro de infrarrojo del aceite de aguacate microondas / hexano.

Conclusiones

Se obtiene un mayor rendimiento del aceite cuando se deshidrata la pulpa mediante energía de microondas. Las muestras de puré de aguacate obtenidas después de la deshidratación con microondas, conservan el color característico al aguacate fresco; igual que las muestras obtenidas por deshidratación en método horno eléctrico convencional. El aceite que se extrajo de las muestras tratadas con microondas tiene índices químicos semejantes a los del aceite comercial y los valores reportados en la literatura. La temperatura elevada que se alcanza durante el secado por microondas no dañó químicamente al aceite, lo que se comprueba mediante el índice de peróxido que es un indicador de las reacciones oxidativas. Las propiedades físicas y químicas del aceite obtenido por microondas están dentro de las normas establecidas [24].

En cuanto a los espectros en el infrarrojo de las muestra son muy semejantes y no presentan señales correspondientes a grupos peróxido, lo que confirma la calidad del aceite, también conserva el color. En los espectros del aceite obtenido por tratamiento con microondas no aparece la banda de 2133 cm^{-1} que corresponde a una triple ligadura observada tanto en el espectro del aceite comercial como el aceite obtenido del puré secado con horno eléctrico convencional por lo tanto el aceite obtenido por microondas es de mejor calidad.

Referencias

- Schiffmann, R. F. *Food Technol.* **1992**, *46*, 50-52.
- Rosen, C. G. *Food Technol.* **1972**, *26*, 36-39, 55.
- Potter, N. N. *La Ciencia de los Alimentos*. Harla, México, **1973**.
- Decareau, R. V. *Food Technol.* **1986**, *40*, 99-105.
- Mudgett, R. E. *Food Technol.* **1986**, *40*, 84-93, 98.
- IFT. A Scientific Status Summary by The Institute of Food Technologists Expert Panel on Food Safety and Nutrition. *Food Technol.* **1989**, *43*, 117-126.

- Giese, J. *Food Technol.* **1992**, *46*, 117-123.
- Rosenberg, U.; Bögl, W. A. *Food Technol.* **1987**, *41*, 85-91.
- Braverman J. B. S. *Introducción a la Bioquímica de los Alimentos*. Ed. El Manual Moderno, México, **1988**.
- Ranganna, S. *Handbook of Analysis and Quality Control for Fruit and Vegetable Products*. Ed. Mc Graw Hill Publishing Co. New Dehli, **1986**.
- A.O.A.C. Official Methods of Analysis Association of Official Analytical Chemists. Washington D. C. **1984**.
- Alzamora, S. M.; Chirife, J. *J. Food Sci.* **1980**, *45*, 1649-1657.
- Kirk, R. S.; Sawyer, R.; Egan, H. *Composición y análisis de los alimentos*, Pearson. Ed. Continental, México, **1996**.
- Conley, R.T. *Espectroscopía Infrarroja*. Ed. Alambra, España, **1979**.
- Skoog, D. A.; Leary, J. J. *Análisis Instrumental*. Ed. McGraw-Hill, México, **1992**.
- Turatti, J. M.; Canto, W. L. *Bol. Ital., Campinas, Brazil*, **1985**, *22*, 311-319.
- Hulme, A.C. *The Biochemistry of Fruits and their Products*, Academic Press, New York, Vol 1, 2, **1971**.
- Martínez, N. L.; Camacho, R. F.; Rodríguez, V. S.; Moreno, R. M. V., Extraction and Characterization of Avocado oil. *Grasas y Aceites*, España, **1988**, *39*, 272-277.
- Turatti, J. M.; Santos, L.C.; Tango, J. S.; Arima, H. K. *Bol. Ital., Campinas, Brazil*, **1985**, *22*, 267-284.
- Yamaguchi, K.; Nishimura, O.; Toda, H.; Mihara, S. *Instrum. Anal. Foods* **1983**, *2*, 93-117.
- Hart, F. L.; Fisher, H.J. *Análisis moderno de los alimentos*. Ed. Acribia, España, **1991**.
- Wrolstad, R. E.; Lee, D. D.; Poesi, M. S. *J. Food Sci.*, **1980**, *45*, 1573-1577.
- Wiley, R. C. *Frutas y hortalizas mínimamente procesadas y refrigeradas*, Ed. Acribia, España, **1997**, 74-75.
- Comisión del Codex Alimentario. Normas del Codees para Grasas y Aceites Comestibles. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Organización Mundial de la Salud, Roma, Vol XI, **1983**.

Historia de la Química

El origen de *Syntex*, una enseñanza histórica en el contexto de ciencia, tecnología y sociedad

Felipe León Olivares

Escuela Nacional Preparatoria, Plantel 1 "Gabino Barreda". Universidad Nacional Autónoma de México.
Tel: 5653-5485; Fax: 5489-4937; E-mail: felipeleon@correo.unam.mx

Recibido el 12 de octubre del 2000; versión revisada aceptada el 9 de abril del 2001

Resumen. Este trabajo describe cómo la empresa *Syntex* realizó una verdadera revolución mundial en el campo de la síntesis orgánica de hormonas esteroidales, convirtiendo la diosgenina en progesterona, cortisona, testosterona y anticonceptivos. Para efectuar esas transformaciones sintéticas, Russell E. Marker llevó a cabo investigaciones químicas, entre 1939 y 1942, utilizando como materia prima vegetal la "cabeza de negro" y luego el "barbasco", especies endémicas de México. Se describen diferentes factores que influyeron para que dicha empresa figurara como un verdadero monopolio mexicano. Posteriormente, se exponen las posibles causas para la pérdida de una empresa tan importante en el desarrollo industrial independiente de México. El papel de *Syntex* en el contexto de la interacción de la ciencia, la tecnología y la sociedad representa una enseñanza histórica para las nuevas generaciones de estudiantes e investigadores.

Palabras clave: *Syntex*, diosgenina, Russell E. Marker, progesterona, barbasco, ciencia, tecnología, sociedad.

Abstract. This work describes how the company *Syntex* carried out a real world-wide revolution in the organic synthesis of steroidal hormones, making progesterone, cortisone, testosterone and contraceptives from diosgenin. To perform these synthetic transformations Russel E. Marker made several chemical research, between 1932 and 1942, using as vegetal raw material the "black's head" and the "barbasco", endemic species of Mexico. Several factors that made of this company a real Mexican monopoly are described. Afterwards, the possible causes for the loss of this important company in the independent industrial development of Mexico are exposed. The role of *Syntex* in the context of the interaction of science, technology and society represents an historical lesson for the new generations of students and researchers.

Keywords: *Syntex*, Russell E. Marker, diosgenin, progesterone, barbasco, science, technology, society.

Russell E. Marker y la revolución en la síntesis de las hormonas esteroides

En la década de los treinta del siglo XX, los procesos químicos para obtener progesterona eran muy complejos, razón por la cual el costo de la progesterona era de 80 dólares el gramo, ya que la producción era limitada y por lo mismo los precios muy elevados. A pesar de esta situación las compañías europeas mantenían el control tecnológico dominando el mercado internacional de estos productos, por ese tiempo el uso terapéutico de estos compuestos crecía y por tanto también la demanda. Por esta razón, las filiales en Estados Unidos tuvieron un especial éxito comercial motivando así a una mayor actividad de investigación. Por ejemplo, las compañías *Upjohn* y *Parke-Davis* fomentaron un extenso programa de investigación a través de un sistema de becas. Así fue que el químico Russell E. Marker de la Universidad Estatal de Pennsylvania, inició sus estudios sobre las hormonas esteroides [1].

Marker planteó que el punto clave en la industria de las hormonas esteroides estaba en la materia prima y con esta hipótesis prestó atención a las plantas como fuente principal

de esteroides. Con este interés, Marker inició sus investigaciones en una sapogenina aislada de la sarsaparilla (*Smilax aristolochiaefolia*), conocida como sarsapogenina. Posteriormente, Marker transformó esta última en pregnenolona.

De la misma manera, empleó dicho procedimiento usando un extracto de *Dioscorea tukamoro*. Esta transformación de productos naturales a progesterona, constituyó toda una revolución en la síntesis orgánica de hormonas esteroides, dicho proceso se conoce con el nombre de "Degradación de Marker" [1, 2, 3, 4]; esta se logró de la siguiente manera: la diosgenina se degradó a diacetato de pseudodiosgenina con anhídrido acético a 200 °C, donde los oxhidrilos de los C₃ y C₂₇ se esterificaron y el anillo F se rompió, la oxidación crómica del diacetato rompe la doble ligadura entre los C₂₀ y C₂₂ y dio como producto la *diosona*. Al someter esta última a una hidrólisis se formó la 16-dehidropregnenolona que por hidrogenación forma la pregnenolona. Finalmente, para obtener la progesterona se realizó una oxidación (Fig. 1). Este proceso químico disminuyó el costo de la progesterona a 18 dólares el gramo. La parte tecnológica estaba resuelta, ahora, el problema era encontrar una materia prima adecuada.

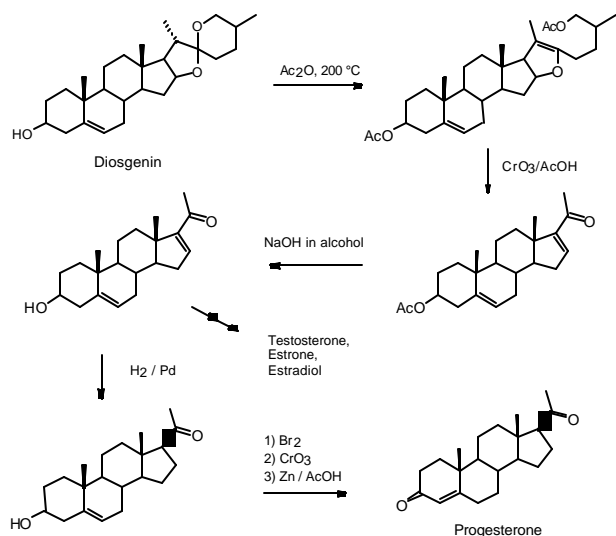


Fig. 1. La degradación de Marker, descrita por el mismo autor [2, 3] y reportada posteriormente [1, 4, 5].

El origen de Syntex

Con el interés comercial, Marker llegó a México en 1941 en busca de una especie de *Dioscorea* que crecía en Veracruz, el material vegetal conocido como “cabeza de negro” (*Dioscorea mexicana*). Posteriormente, en las siguientes expediciones colectó otra dioscorea conocida como “barbasco” (*Dioscorea composita*, Hemsl), de mayor importancia comercial por su contenido en diosgenina [6]. La muestra de “cabeza de negro” la procesó en los laboratorios *Parke-Davis*, sugiriéndole a la empresa que patentara y explotara comercialmente esta nueva técnica de producción en México. Sin embargo, el presidente de la compañía se mostró renuente por el inicio de la Segunda Guerra Mundial. Para fines de 1942, Marker decidió explotar personalmente el proceso. Finalmente, en 1943, puso fin a todos sus proyectos con la Universidad de Pennsylvania.

Para 1943, se presentó en una compañía mexicana llamada Laboratorios Hormona, S.A., que trabajaba extractos glandulares de hormonas de fuentes animales. Los directivos de dicha empresa, Emeric Somlo y Federico Lehmann de inmediato reconocieron la importancia del descubrimiento de Marker y lo convencieron de unirse a ellos para establecer una compañía que industrializara la hormona. La nueva compañía se llamó *Syntex*, S.A., fundada en la ciudad de México el 21 de enero de 1944, bajo el acuerdo de que Somlo y Lehmann contribuirían con el capital inicial, las instalaciones y la organización de ventas y que la contribución de Marker sería la tecnología.

Durante este año, Marker produjo algunos kilogramos de progesterona, cantidad que resultó suficientes para empezar a influir en el mercado mundial. Un año más tarde, Marker abandonó la empresa, dejando tras él una sustancia, la progesterona, que haría famoso el nombre de Syntex. En esta situación, ni Somlo ni Lehmann conocían el método de Marker y la producción de progesterona se detuvo [7, 8, 9].

Syntex, vanguardia mundial de la industria de los esteroides

El sustituto de Marker fue George Rosenkranz, un químico formado en el Instituto Tecnológico Federal de Suiza (ETH) en Zürich. Entre sus colaboradores se encontraban Esteban Kaufmann y Juan Pataki [4], más algunos investigadores mexicanos como Jesús Romo, Octavio Mancera, Enrique Batres, Juan Berlín, José Iriarte, Carlos Casas Campillo y Luis E. Miramontes. A través de estos investigadores *Syntex* mantuvo una estrecha colaboración con el Instituto de Química de la UNAM, recién formado en 1941 [10].

En 1945 se restableció la producción y las exportaciones de *Syntex*, alcanzando el primer lugar en productos farmacéuticos del ramo, lo que motivó que el gobierno mexicano empezara a establecer medidas de control para la exportación de cualquier materia prima vegetal que con saponinas esteroides. Por su parte, Rosenkranz desarrolló un proceso químico semejante al de Marker para producir otras hormonas, como la testosterona y la desoxicorticosterona. Así fue que varios descubrimientos produjeron el punto decisivo para que la industria de las hormonas esteroides en México llegara a desplazar al monopolio europeo y estadounidense, siendo fundamental el hecho de disponer de abundante materia prima, es decir, del “barbasco” especie endémica que era muy abundante en México [11].

Para 1949, se incorporó a *Syntex* Carl Djerassi un químico formado en la Universidad de Wisconsin que procedía de *CIBA*, donde coordinó un grupo de investigación con el tema de síntesis de estrona, estradiol y cortisona [12]. En 1950, el único productor de la cortisona era *Merck*, su fuente era la bilis de buey; sin embargo, su producción era muy limitada. Por ese tiempo *Syntex* obtuvo la cortisona a partir de la diosgenina [13], de manera paralela también sintetizaron la cortisona [14] a partir de la hecogenina extraída del sisal (*Agave sisalana*). La carrera por la síntesis de la cortisona la ganó *Syntex* antes que el grupo de Fieser, en Harvard [15], y el de Woodward, en el Converse Memorial Laboratory [16]. Sin embargo, la compañía mexicana no explotó el procedimiento porque apareció, una alternativa mediante un método microbiológico descubierto en los laboratorios *Upjohn*, el cual resultaba más rentable. Quizás, la venta más importante para *Syntex* fue la de 1951, por diez toneladas de progesterona a 1.75 dólares el gramo, entre otras ventas muy considerables [17]. En el mismo año, *Syntex* logró sintetizar la prednisona y prednisolona, compuestos con más potencia en sus propiedades antiinflamatorias que las hormonas naturales respectivas [8].

Existen diversos derivados que pueden sintetizarse a partir de la diosgenina; sin embargo, el grupo de sustancias conocidos como compuestos-19-nor que son particularmente importantes. En 1951, Djerassi, Miramontes y Rosenkranz obtuvieron la 19-nor-progesterona a partir de la diosgenina [18, 19]. A consecuencia de esta síntesis se procedió a elaborar los derivados 19-nor de los esteroides y fue posible la síntesis de la *noretindrona* [20], por Luis E. Miramontes, cuya patente se encuentra en el Salón Nacional de la Fama de In-

ventores de Akron, Ohio, Estados Unidos, a un lado de Pasteur, Diesel y Planck entre otros destacados científicos [12]. Con este compuesto la empresa entró al mercado de anticonceptivos orales. Posteriormente, en 1956, el compuesto se patentó (norethindrone, U.S. Pat. 2,744,122), transformándose en la primera especialidad farmacéutica de *Syntex* [8]. Estas fueron las investigaciones más sobresalientes de *Syntex*, que contribuyeron a aumentar su renombre en el medio científico y el de la industria de hormonas esteroides. Finalmente, vino una etapa de transición de empresa nacional a transnacional, motivada por las condiciones internas de *Syntex*, la política industrial del estado mexicano y la estrategia de las empresas industriales.

Syntex, un ejemplo de interacción entre ciencia, tecnología y sociedad

¿Cómo fue que *Syntex* logró crear una tecnología que le permitiera desarrollar un monopolio de producción de hormonas esteroides en México y, por ende, controlar el mercado internacional? El éxito de *Syntex*, radicó primero en la capacidad tecnológica de vanguardia que generó el cambio de proceso de materia prima animal a vegetal. Para esto, se requirió de una visión empresarial como la de Somlo y Lehmann, quienes reconocieron la trascendencia de los hallazgos de Marker, en quien reconocieron una gran capacidad para la síntesis orgánica y la rentabilidad del proceso químico basado en la explotación del barbasco. Somlo y Lehmann entendieron con toda claridad que para sostener una industria de este tipo era indispensable contar con recursos humanos de primera calidad, para generar la innovación del conocimiento. El hecho de agrupar a científicos como Rosenkranz, Kaufmann, Djerassi, Romo, Mancera, Zaffaroni, Sondheimer, Miramontes, le permitió a *Syntex* mantener una infraestructura científica que sostuvo a la empresa en los primeros lugares del mercado internacional. Así, el papel fundamental de la investigación en el futuro de la industria fue claro y sus estrategias consolidaron su posición e inversión. De manera paralela, fue fundamental el hecho de contar con un centro de formación de recursos humanos como el Instituto de Química de la UNAM [21-26], para proveer la infraestructura científica a mediano plazo, manteniendo el contacto de los científicos con una industria propia. El caso de *Syntex*, nos obliga a reflexionar sobre el compromiso social del investigador con su país de origen, que quizás en los científicos extranjeros podría no existir, pero los investigadores formados en México constituyeron la base para una infraestructura de recursos humanos ligados a un sector productivo del país, como es el caso de Jesús Romo, Luis E. Miramontes, José Iriarte y otros químicos formados en México [21-26].

Por otra parte, *Syntex* en su etapa inicial contó con el apoyo del Estado, a través de decretos ejecutivos que aplicaban impuestos prohibitivos a la exportación de las hormonas elaboradas por las otras compañías y que negaban los permisos forestales necesarios para coleccionar y transportar el

rizoma del barbasco. El apoyo estatal proporcionó a *Syntex* disposición exclusiva de la materia prima óptima para sus operaciones industriales logrando simultáneamente la protección de los recursos naturales y su explotación racional para beneficio del país. De esta forma, fue posible desarrollar una industria independiente. Finalmente, el hecho de que las investigaciones tecnológicas estuvieran insertadas en necesidades industriales, en un sector productivo, y además estratégico, fue notorio en la sociedad, como lo muestra el impacto en la industria químico-farmacéutica [26]. Con estas características *Syntex*, fue pionera y líder en la industria de los esteroides.

Conclusiones

El caso de *Syntex* es una lección de la historia, dentro del contexto de Ciencia, Tecnología y Sociedad, porque muestra las posibilidades de realizar aportaciones a la ciencia y la tecnología, y por su articulación entre la ciencia que se practicaba en el país y los sectores productivos, en este caso del Instituto de Química de la UNAM y *Syntex*. La ciencia es hoy por hoy el motor del desarrollo económico, por lo tanto, la investigación científica debe insertarse en la problemática nacional y en los sectores productivos. Seguir postergando la interrelación entre investigación científica y los problemas nacionales implicaría nuestra postración definitiva. Por esta razón, es destacable la relación de la ciencia y la tecnología con otros sectores; así, la vinculación entre el sistema de Ciencia y Tecnología, el Estado, las instituciones de educación superior y las actividades de producción de bienes y servicios (sistema económico) representan la base sobre la cual es necesario sustentar una estrategia autónoma de desarrollo científico y tecnológico, autonomía que, entre otras cosas, supone la capacidad de establecer relaciones independientes de todos estos participantes con el exterior. Por su parte, el Estado debe fijar políticas de prioridad que permitan formular los programas específicos a fin de que la comunidad científica pueda participar en la solución de los problemas del desarrollo nacional, y la ciencia se mantenga ligada al aparato productivo y a los recintos universitarios. Finalmente, los investigadores deben tener una conciencia social y un verdadero compromiso con su nación, por encima de todo, se debe reflexionar sobre lo que implica planear una política científica nacional.

Agradecimientos

El autor desea agradecer al Dr. Guillermo Aullet por permitirle el acceso a su archivo personal sobre historia de la ciencia en México.

Bibliografía

1. Lehmann, P. A.; Bolívar, A.; Quintero, R. *Rev. Soc. Quím. Méx.* **1970**, *14*, 133-144.
2. Marker, E. R.; Rohrmann, E. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1940**, *62*, 518-520.
3. Marker, E. R.; Tsukamoto, T.; Turner, D.L. *J. Am. Chem. Soc.* **1940**, *62*, 2525-2532.
4. Rosenkranz, G. *Steroids* **1992**, *57*, 409-417.
5. Lehmann, F. A.; Bolívar, A.; Quintero, R. *J. Chem. Ed.* **1973**, *50*, 195-199.
6. Marker, E. R.; Wagner, R.B.; Ulshafer, P.; Wittbecker, E.; Goldsmith, P. J.; Ruof, C.H. *J. Am. Chem. Soc.* **1943**, *65*, 1199-1209.
7. Applezweig, N. *Drugs and cosmetic industry* **1953**, *73*, 754-755, 851-857.
8. *Una Corporación y una Molécula. Historia de la Investigación en Syntex*. Impresión de Litoarte FF. CC. de Cuernavaca 683. Laboratorios Syntex. México, D.F. **1967**.
9. Lehmann, P.A. *Steroids* **1992**, *57*, 403-408.
10. (a) García, H. *Historia de una Facultad: Química*, 1916-1983. Facultad de Química, UNAM, México, **1985**.
(b) Delgado, G. *Chem. Eng. News* **2000**, *78*, April 17, p. 6.
11. Impulsora Nacional de Barbasco, S.A. *Antecedentes, evolución y situación actual de barbasco en México*, **1993**.
12. Djerassi, C. *Steroids made it possible*, American Chemical Society. Washington, DC, **1990**.
13. Rosenkranz, G. G.; Pataki, J.; Djerassi, C. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73*, 4055-4056.
14. Djerassi, C.; Ringold, H.; Rosenkranz, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73*, 5513-5514.
15. Heymann, H.; Fieser, L.F. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73*, 4054-4055.
16. Woodward, R.B.; Sondheimer, F.; Taub, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73*, 4057-4062.
17. Applezweig, N. *Rev. Soc. Quím. Méx.* **1979**, *23*, 162-169.
18. Miramontes, L.; Rosenkranz, G. y Djerassi, C. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73*, 3540-3541.
19. Djerassi, C.; Miramontes, L.; Rosenkranz, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75*, 4440-4442.
20. Djerassi, C.; Miramontes, L.; Rosenkranz, G.; Sondheimer, F. *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 4092-4094.
21. Sandoval, A.; Miramontes, L.; Rosenkranz, G.; Dejerassi, C. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73*, 990-999.
22. Herrán, J.; Rosenkranz, G.; Sondheimer, F. *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 5531-5536.
23. Djerassi, C.; Rosenkranz, G.; Iriarte, J.; Berlin, J.; Romo, J. *Am. Chem. Soc.* **1951**, *73*, 1523-1527.
24. Mancera, O.; Miramontes, L.; Rosenkranz; Sondheimer; Djerassi, C. *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75*, 4428-4429.
25. Sandoval, A.; Miramontes, L.; Rosenkranz; Djerassi, C.; Sondheimer, F. *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75*, 4117-4118.
26. Romo, J.; Romero, M.; Djerassi, C.; Rosenkranz, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73*, 990-991.
26. Herrera, A. *Ciencia y política en América Latina*. Siglo. XXI, **1979**.

Nota editorial

La creación y desarrollo de la industria mexicana de los esteroides y su incidencia a nivel mundial han sido reconocidos recientemente como un suceso sobresaliente en la historia de la química, y la Ciudad de México ha sido designada como un sitio histórico para esta ciencia [1, 2].

1. Raber, L. *Chem. Eng. News* **1999**, *77*, October 25, 78-80; Raber, L. *Rev. Soc. Quím. Méx.* **1999**, *43*, 235-237.
2. Free, H. *Rev. Soc. Quím. Méx.* **1999**, *43*, 238-240.

Fe de erratas

Obtención de la (*R*)- y (*S*)-6-acetiloxi-5-metil-2,3-hexanodiona, ópticamente puras

Jesús Sandoval-Ramírez,* Socorro Meza-Reyes, F. J. Meléndez y Guadalupe Hernández-Linares

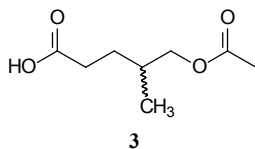
Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Ciudad Universitaria, San Manuel, 72000 Puebla, Puebla, México. Tel.: (2) 229-55-00 Ext. 7382; Fax (2) 229-55-84; E-mail: jsandova@siu.buap.mx

Recibido el 2 de febrero del 2001; aceptado el 27 de marzo del 2001

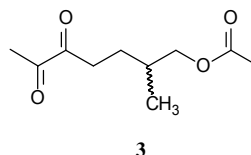
Publicado en el Vol. 45, Núm. 1, enero-marzo del 2001, pp 25-28, contiene los siguientes errores:

1. En la figura 1 de la página 25, la estructura **3**:

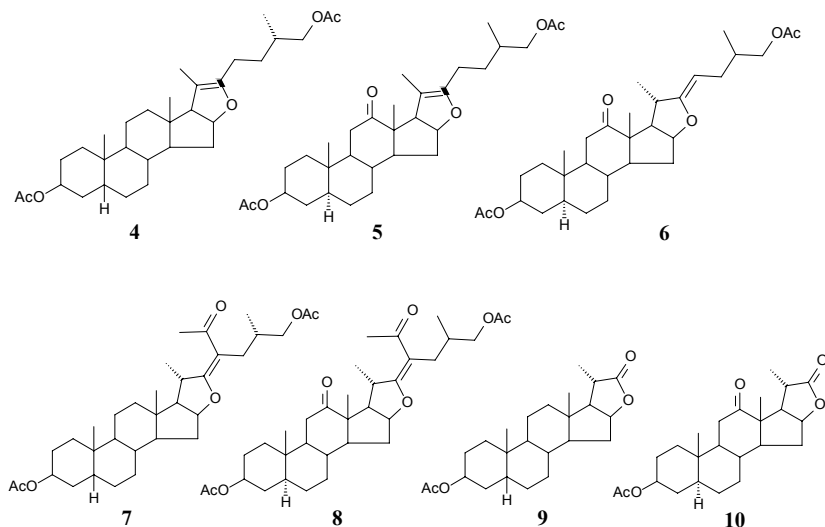
aparece



debe aparecer



2. En la figura 2 de la página 26, los números de las estructuras **4 a 10** aparecen duplicados, deben aparecer:



**PROGRAMA SIMPOSIA
XXXVI CONGRESO MEXICANO DE QUIMICA
09 - 13 DE SEPTIEMBRE, 2001.**

		LUNES			MARTES			MIERCOLES			JUEVES
SALON CORAL BLANCO	09:00 - 12:15 H.	<p align="center">I</p> <p align="center">HISTORIA DE LA QUIMICA EN MEXICO SIGLOS XVIII - XX</p> <p align="center">Coordina y participa: DRA. PATRICIA ACEVES PASTRANA UAM - Xochimilco</p>	SALON CORAL ROJO	08:30 - 12:10 H.	<p align="center">IV</p> <p align="center">RETOS Y PERSPECTIVAS DE LA BIOQUIMICA EN EL NUEVO MILENIO</p> <p align="center">Coordina: DRA. GILDA FLORES ROSALES FESC - UNAM</p>	SALON CORAL ROJO	08:40 - 12:20 H.	<p align="center">VI</p> <p align="center">NUEVAS TENDENCIAS EN SISTEMAS DE LIBERACION DE ACTIVOS FARMACEUTICOS</p> <p align="center">Coordina: DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO FESC - UNAM</p>	SALON RIVIERA	<p align="center">VIII</p> <p align="center">TECNOLOGIAS REDUCTORAS IMPACTO AMBIENTAL</p> <p align="center">Coordina: DR. EDMUNDO ARIAS TORRES ESIQIE - IPN</p>	
	SALON CORAL ROJO	08:45 - 12:15 H.			<p align="center">II</p> <p align="center">QUIMICA COMPUTACIONAL (Química Orgánica Teórica)</p> <p align="center">Coordinan: DR. ALBERTO VELA AMIEVA CINVESTAV - IPN DR. GABRIEL CUEVAS GONZALEZ-BRAVO IQ - UNAM</p>			<p align="center">V</p> <p align="center">BIOCATALISIS</p> <p align="center">Coordina: DR. HECTOR LUNA CONTLA UAM - Xochimilco</p>		<p align="center">VII</p> <p align="center">ACTIVACION ELECTROQUIMICA DE MOLECULAS ORGANICAS POR TRANSFERENCIA DE ELECTRONES</p> <p align="center">Coordina y participa: DRA. MARTHA AGUILAR MARTINEZ FQ - UNAM</p>	
SALON CORAL BLANCO	15:30 - 19:30 H.										
SALON RIVIERA	09:00 - 12:00 H.	<p align="center">III</p> <p align="center">ACTIVACION DE LAS REACCIONES QUIMICAS POR MEDIO DE MICROONDAS</p> <p align="center">Coordina: DR. JOAQUIN PALACIOS ALQUISIRA FQ - UNAM</p>						<p align="center">VIII</p> <p align="center">TECNOLOGIAS REDUCTORAS IMPACTO AMBIENTAL</p> <p align="center">Coordina: DR. EDMUNDO ARIAS TORRES ESIQIE - IPN</p>			



SOCIEDAD QUÍMICA DE MÉXICO
COMITÉ EJECUTIVO NACIONAL 2000-2002

Jaime Noriega Bernechea
Presidente Nacional

Andrés Cerda Onofre
Presidente Nacional Electo

Raúl G. Enriquez Habib
Secretario

Ma. Teresa Estrada de Gómez Muriel
Prosecretaria

F. Angélica Treviño Flores
Tesorera

Guillermina Burillo Amezcua
Protesorera

Laura Rocío Ortiz Esquivel
Vocal Académico

Ma. Esther del Rey Leñero
Vice-vocal Académico

Jorge Corona de la Vega
Vocal Industrial

Arturo Fregoso Infante
Vice-vocal Académico

Alejandrina Salas Padrón
Vocal Industrial

Gilberto Ortiz Muñiz
Vice-vocal Industrial
