



Vol. 26, No 3, 4
Julio - Diciembre 2018

CIENTÍFICA



An International Refereed Scientific Journal
of the Facultad Experimental de Ciencias
at the Universidad del Zulia

Esta publicación científica en
formato digital es continuidad
de la revista impresa

Depósito Legal: pp 199302ZU47

ISSN: 1315-2076

	Pg.
BIOLOGÍA/BIOLOGY	
Does the marine macrobenthic community recover after an oil spill? 10 years since the Nissos Amorgos disaster in Venezuelan Gulf, Caribbean Sea ¿Se recupera la comunidad macrobentónica después de un derrame petrolero? A 10 años del desastre del Nissos Amorgos en el Golfo de Venezuela, Mar Caribe	63
Hector Severeyn, Yajaira García de Severeyn, Mario Nava, Félix Morales, Marynes Montiel M. y Lisandro Morán Maracaibo (Venezuela)	
FISICA/PHYSICS	
Effect of magnetic fields on the growth of bacterium <i>Staphylococcus aureus</i> Efecto de campos magnéticos en el crecimiento de la bacteria <i>Staphylococcus aureus</i>	74
Nomar Zambrano, Gabriela Pérez M., Rodolfo Salas Auvert y José R. Fermín Maracaibo (Venezuela)	
QUÍMICA/CHEMISTRY	
Evaluación preliminar del pH de las lluvias en la ciudad de Portoviejo, Ecuador Preliminary evaluation of the pH of the rains in the city of Portoviejo, Ecuador	79
Yulixis Cano*, Ligbel Sánchez, Julio Torres Puente y Mariuxi Litardo Velásquez Portoviejo (Ecuador)	
Caracterización química y contenido de compuestos fenólicos totales de hojas de <i>Moringa oleífera</i> Lam cultivadas en el estado Zulia, Venezuela Chemical characterization and total phenolic content of <i>Moringa oleífera</i> Lam leaves grown in the state of Zulia, Venezuela	84
Viluzca Chiquinquirá Fernandez Palmar y Joan Vílchez Chávez Maracaibo (Venezuela), Quito (Ecuador)	
Síntesis, caracterización y actividad antimicrobiana de un derivado 7-cloro-4-aminoquinolinsemicarbazona Synthesis, characterization and antimicrobial activity of a 7-chloro-4-aminoquinolinsemicarbazone derivative	89
Yonathan de J. Parra, Rosa E. Ferrer y Jaime Charris Maracaibo (Venezuela), Caracas (Venezuela)	
Deshidroisomerización de n-butano en catalizadores de Pt/Ga ₂ O ₃ /Al ₂ O ₃ Dehydroisomerization of n-butane on Pt/Ga₂O₃/Al₂O₃ catalysts	95
Francisco Domínguez, Victor Ferrer y Jorge Sánchez Maracaibo (Venezuela), Tulcán (Ecuador)	



Vol. 26, No 3, 4
Julio - Diciembre 2018

CIENTIFICA



An International Refereed Scientific Journal
of the Facultad Experimental de Ciencias
at the Universidad del Zulia

Esta publicación científica en
formato digital es continuidad
de la revista impresa

Depósito Legal: pp 199302ZU47

ISSN: 1315-2076

CIENCIA

Instrucciones para los Autores

CIENCIA es una revista que incluye artículos realizados en las Áreas de Biología, Física, Matemáticas, Química y Computación. Todos los trabajos son arbitrados confidencialmente. Para la publicación de un trabajo, éste debe ser enviado al Editor(a) Ejecutivo(a). Revista Ciencia. Oficina de Publicaciones. Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia. Maracaibo 4003-A, Venezuela. Tele/Fax: 58-261-412.77.19. Correos electrónicos: revistaciencia@fec.luz.edu.ve. Página Web: <http://produccioncientificaluz.org/index.php/ciencia>.

CIENCIA publica artículos originales, comunicaciones preliminares, notas técnicas, comunicaciones cortas y revisiones de investigadores acreditados (por invitación de los Editores) relacionadas con todos los aspectos científicos modernos de las áreas de interés de la revista que representen aportes significativos al conocimiento y que no hayan sido propuestos simultáneamente a otras revistas.

Los artículos originales deben ser el resultado de estudios de campo o de laboratorio que aporten información nueva o el análisis estadístico de una gran colección de resultados de trabajos individuales con el propósito de integrar los hallazgos (Metanálisis). En el área de matemáticas se incluyen análisis o formalismos deductivos que identifiquen características importantes del objeto estudiado y que generen nuevas teorías o algún avance en teorías ya existentes a través del ejercicio filosófico de la ciencia en cuestión. Las Notas Técnicas o Comunicaciones Cortas están reservadas a tópicos de interés tales como observaciones, extensión de datos u otros hallazgos que por sí solos no constituyen un estudio comprensivo, éstas tendrán una extensión máxima de 6 páginas.

El envío puede ser realizado vía electrónica a través del correo autoresciencia@fec.luz.edu.ve o cuatro copias de su manuscrito (tres de las cuales no deben incluir autores, direcciones, ni agradecimientos) así como un CD con una copia electrónica (Word), a la Oficina de Publicaciones de la Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia. Cuando las evaluaciones de los árbitros estén completas, éstas serán remitidas a los autores para su corrección y serán recibidas en un lapso no mayor a 15 días (para evaluaciones con ligeras modificaciones) o no mayores a un mes (para modificaciones sustanciales). De no recibirse en el lapso establecido, se asumirá el retiro del manuscrito por parte del autor o autores.

Para los artículos originales se recomienda su división en: Resumen, Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión, Conclusiones, Agradecimiento y Referencias Bibliográficas. Las Notas o Comunicaciones Cortas no llevarán estas divisiones. Se insta a los autores a enviar una lista con los nombres de tres especialistas (con sus direcciones, números telefónicos y dirección electrónica) quienes puedan servir como árbitros de sus artículos. Los árbitros seleccionados no serán necesariamente de la lista suministrada por los autores. **Igualmente en el envío del manuscrito debe señalarse el área de pertinencia del mismo o la línea de investigación a la cual pertenece.**

Normas editoriales. El texto completo debe hacerse en Word, sobre papel blanco, base 20, tamaño carta. Márgenes de 3,0 cm, a doble espacio, letra arial tamaño 12, escrito por una sola cara. El texto no debe exceder de 20 páginas (incluyendo tablas y figuras, sólo una tabla o figura por página). Numere todas las páginas margen inferior derecho así como también todas las líneas del texto. Los números decimales deben ser separados por comas (,) si el trabajo está en español. Los artículos pueden ser escritos en español o en inglés (en ambos casos el resumen debe estar en ambos idiomas). El trabajo debe incluir lo siguiente:

1. Título. Debe ser explicativo y contener la esencia del trabajo, evite el uso de fórmulas o expresiones técnicas muy largas. Debe incluirse además un título corto. En negritas, centrado.

2. Autores. Deben indicarse los nombres y apellidos completos, sin colocar títulos profesionales.

3. Direcciones. Se debe escribir la dirección completa de la Institución donde se realizó el trabajo y aquellas a las cuales donde pertenecen los autores. Indique con símbolos a que autor corresponde cada dirección. Indique además, el autor de correspondencia y su dirección electrónica mediante un asterisco (*).

4. Resumen y Abstract. No mayor de 200 palabras. Debe presentarse en español y en inglés. Los resúmenes en ambos idiomas deben parecerse lo más posible entre sí. Los autores pueden buscar asistencia con alguna persona que hable el idioma (que el autor no domine) de manera fluida. La traducción mediante el uso de programas de traducción no debe ser utilizada en ningún caso.

5. Palabras claves. Incluir un máximo de 5 palabras claves (tanto en el resumen como en el abstract), necesarias para la mejor ubicación en los índices internacionales.

6. Tablas. Se presentarán en hojas separadas y deben citarse en el texto. Deben presentarse con líneas en la parte superior e inferior de los encabezados de la misma así como al final de la tabla. No trace líneas verticales. Se identificarán con números arábigos (tabla 1) y llevarán un encabezamiento descriptivo. Las abreviaturas se explicarán al pie de la tabla.

7. Figuras y gráficas. Las figuras se identificarán con números arábigos (figura 1). Evite el uso de fondos coloreados o grises. Utilice diferentes tipos de líneas y símbolos en figuras con múltiples líneas. Las leyendas sobre los ejes X y Y deben ser de tamaño legible. Sólo una tabla o figura por página.

8. Fotografías. Fotografías deberán ser reproducciones nítidas en blanco y negro. Su tamaño no excederá el de la hoja impresa. Las fotografías a color serán costeadas por los autores. No deben montarse y en la parte posterior llevarán la numeración, indicando con una flecha la parte superior de la figura. Se indicará la magnificación de las microfotografías.

9. Referencias bibliográficas. Estas deben numerarse según aparezcan citadas en el trabajo, deben presentarse referencias actualizadas. Los autores son responsables de la fidelidad de las referencias. La extensión de las referencias no debe ser mayor a 2 páginas. Dependiendo del tipo de fuente se citarán como sigue:

Revistas periódicas. Apellidos de todos los autores y sus iniciales (en mayúscula). Revista donde fue publicado (usando abreviaturas reconocidas internacionalmente para las revistas periódicas, en itálicas y negritas, (consulte: library.caltech.edu/reference/abbreviations) volumen (número): primera página-última página. Año de publicación.

MACKAY M., JACK J., WICKHAM S., TOALSON S., GILBERT J. Arch Hydrobiol 127(3): 257-270.1993.

Libros. Apellidos de todos los autores y sus iniciales (en mayúscula). Título (en itálicas y negritas). Editorial., Ciudad (País). Número de páginas consultadas. Año de publicación.

RICKER W.E. Methods for assessment offish production in freshwaters. IBP Handbook No. 3. Blackwell Scientific Publications. London (UX). 1968.

SHEPPARD N., DE LA CRUZ C. Advances in Catalasys (Eds. Eley D.D. Hag W.O., Gates B., Knözinger H.). Academic Press. San Diego (USA). 181-313.1998. Comunicaciones personales. Apellido e inicial del nombre (en mayúscula).

Comunicación personal

BOTASSO G., RIVERA J., FENSEL E. Comunicación personal.,

Tesis. Apellido e inicial del nombre (en mayúscula). Título (Para obtener el título de...). Facultad. Universidad. Ciudad (País). Número total de páginas. Año de la presentación.

OSPINO N. Efecto de la arcilla caolinita sobre el crecimiento bacteriano en presencia de dibenzotiofeno (Para obtener el título de Licenciada en Biología). Facultad Experimental de Ciencias. Universidad del Zulia. Maracaibo (Venezuela). 72 pp. 2008.

Memorias de congresos. Apellidos de todos los autores y sus iniciales (en mayúscula). Evento en el cual fue presentado (en negritas e itálicas). Primera página-última página. Ciudad (país). Año de publicación.

FRANCESCHINI P., GONZÁLEZ L., MUÑOZ A., SIERRA D., SOLDVIERIT. V Congreso de la Sociedad Venezolana de Física. 328-332. Punto Fijo (Venezuela). 2008.

Dirección electrónica. Colocar página Web consultada, con dirección completa y fecha de la consulta

http://iio.ens.uabc.mx/Curso%20Internet%20Miguer/o20Angel/2_Arcillas/ArciUas.htm#Figura%202.3. Fecha de consulta: 16/09/2008

Vol. 26, Número Especial 3,4, Julio - Diciembre, 2018

ISSN: 1315-2076

Depósito legal pp 199302ZU47

CIENCIA

An International Refereed Scientific Journal of the Facultad Experimental de Ciencias at the Universidad del Zulia devoted to publish original research in Biology, Chemistry, Computer Sciences, Mathematics and Physics
Maracaibo, Venezuela

REGINA VALLEJO, Executive Editor
CARLOS DE LA CRUZ, Honorary Editor

Editorial Board

Miguel de la Guardia, Universidad de Valencia (España)	Jenny Pantoja, Universidad del Zulia (Venezuela)
Ralp Sturgeon, National Reserch Center (Canadá)	Carlos Durante, Universidad del Zulia (Venezuela)
Eduardo R. Chávez, McGill University (Canadá)	José Fermín, Universidad del Zulia (Venezuela)
Jerome O. Nriagu, The University of Michigan (USA)	Milton Quero, Universidad del Zulia (Venezuela)
Mario Werner, The George Washington University (USA)	Doris Parra, Universidad del Zulia (Venezuela)
Sergio M. Rezende, UFPE (Brasil)	Jeanette Zárraga, Universidad del Zulia (Venezuela)
Antonio A. Costa, UFPE (Brasil)	Fredy Ysambertt, Universidad del Zulia (Venezuela)
Jean L. Salager, Universidad de Los Andes (Venezuela)	Merlin Rosales, Universidad del Zulia (Venezuela)
Héctor Severeyn, Universidad del Zulia (Venezuela)	Edixo Rosales, Universidad del Zulia (Venezuela)
Orlando Ferrer, Universidad del Zulia (Venezuela)	

This Journal is covered in:

Analytical Abstracts (RSC), Aquatic Sciences and Fisheries Abstracts (ASFA) Bibliography and index of Geology, Biosis, Chemical Abstracts, Latindex, Physics Abstracts, Revencyt, Zoological Record, Zentralblatt für Mathematik / Mathematics Abstracts

This Journal is supported by Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CONDES) de la Universidad del Zulia

Aim and Scope

CIENCIA publishes original papers, preliminary Communications, technical notes, and reviews dealing with modern scientific aspects of Biology, Computer Sciences, Mathematics, Physics and Chemistry. Relevant papers in Environmental Chemistry and Food Chemistry are also invited to be submitted. Manuscripts should be addressed to: Dra. Regina Vallejo de Soto (Executive Editor). Editorial Office of CIENCIA, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia, Maracaibo 4001-A, Venezuela. Telephone/Fax: +58 261 4127719. Maracaibo, Venezuela. E-mail: revistaciencia@fec.luz.edu.ve. Web Page: <http://produccioncientificaluz.org/index.php/ciencia>.

Description

Manuscripts submission is understood to imply that the article is original and unpublished and is not being considered for publication elsewhere. CIENCIA accepts papers in Spanish and English only. There are no pages charge. Manuscripts should conform in layout and style to the papers published in this issue. See the "Instruction for Authors" that appear in every issue of CIENCIA.

Publication

CIENCIA (ISSN 1315-2076/Legal Deposit pp 199302ZU47) is a publication of the Experimental Faculty of Sciences at the Universidad del Zulia. Vol. 1 (1993) and Vol. 2 (1994) appeared with two issues each year. From Vol. 3 (1995) until Vol. 8 (2000), three issues per year. From Vol. 9 (2001) in ahead, this publication appeared with four issues each year. Vol. 24 appears in 2016. The articles published in this Journal are protected by Copyright.

CIENCIA

Alcance

CIENCIA publica artículos originales, comunicaciones preliminares, notas técnicas, comunicaciones cortas y revisiones relacionadas con todos los aspectos científicos modernos de la Biología, Ciencias de la Computación, Matemáticas, Física y Química. Artículos significativos en el área de Química Ambiental y Química de los Alimentos también pueden ser publicados en CIENCIA. Los manuscritos deben ser dirigidos a Dra. Regina Vallejo (Editora Ejecutiva). Oficina Editorial de CIENCIA, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia, Maracaibo 4001-A, Venezuela. Teléfono/Fax: +58 261 4127719. E-mail: revistaciencia@fec.luz.edu.ve. Página Web: <http://produccioncientificaluz.org/mdex.php/ciencia>.

Descripción

El envío de un manuscrito a CIENCIA supone que éste es original y no ha sido publicado ni está siendo considerada su publicación en otra revista. CIENCIA acepta manuscritos en español y en inglés. No hay cobro por página. Los manuscritos deben adaptarse al estilo de los artículos publicados en este número. Los autores deben guiarse por las condiciones expuestas en la sección de "Instrucciones para Autores", que aparecen en cada número de CIENCIA.

Publicación

CIENCIA (ISSN 1315-2076/Depósito legal pp 199302ZU47) es una publicación de la Facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia. El Vol. 1 (1993) y el Vol. 2 (1994) aparecieron con dos números al año. Desde el Vol. 3 (1995) hasta el Vol. 8 (2000) la revista tuvo tres números al año. Desde el Vol. 9 (2001) en adelante, sale con cuatro números al año. El Vol. 25 corresponde al año 2017. Los artículos publicados en esta revista están protegidos por Copyright.

CIENCIA

Revista Científica de la Facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia
Vol. 26 Número Especial 3, 4, Julio - Diciembre 2018

Pg.

BIOLOGÍA/BIOLOGY

- Does the marine macrobenthic community recover after an oil spill? 10 years since the Nissos Amorgos disaster in Venezuelan Gulf, Caribbean Sea 63
¿Se recupera la comunidad macrobentónica después de un derrame petrolero? A 10 años del desastre del Nissos Amorgos en el Golfo de Venezuela, Mar Caribe
Hector Severeyn, Yajaira García de Severeyn, Mario Nava, Félix Morales, Marynes Montiel M. y Lisandro Morán
Maracaibo (Venezuela)

FISICA/PHYSICS

- Effect of magnetic fields on the growth of bacterium *Staphylococcus aureus* 74
Efecto de campos magnéticos en el crecimiento de la bacteria *Staphylococcus aureus*
Nomar Zambrano, Gabriela Pérez M., Rodolfo Salas Auvert y José R. Fermín
Maracaibo (Venezuela)

QUÍMICA/CHEMISTRY

- Evaluación preliminar del pH de las lluvias en la ciudad de Portoviejo, Ecuador 79
Preliminary evaluation of the pH of the rains in the city of Portoviejo, Ecuador
Yulixis Cano*, Ligbel Sánchez, Julio Torres Puente y Mariuxi Litardo Velásquez
Portoviejo (Ecuador)
- Caracterización química y contenido de compuestos fenólicos totales de hojas de *Moringa oleifera* Lam cultivadas en el estado Zulia, Venezuela 84
Chemical characterization and total phenolic content of *Moringa oleifera* Lam leaves grown in the state of Zulia, Venezuela
Viluzca Chiquinquirá Fernandez Palmar y Joan Vilchez Chávez
Maracaibo (Venezuela), Quito (Ecuador)
- Síntesis, caracterización y actividad antimicrobiana de un derivado 7-cloro-4-aminoquinolinsemicarbazona 89
Synthesis, characterization and antimicrobial activity of a 7-chloro-4-aminoquinolinsemicarbazone derivative
Yonathan de J. Parra, Rosa E. Ferrer y Jaime Charris
Maracaibo (Venezuela), Caracas (Venezuela)
- Deshidroisomerización de n-butano en catalizadores de Pt/Ga₂O₃/Al₂O₃ 95
Dehydroisomerization of n-butane on Pt/Ga₂O₃/Al₂O₃ catalysts
Francisco Domínguez, Victor Ferrer y Jorge Sánchez
Maracaibo (Venezuela), Tulcán (Ecuador)

Does the marine macrobenthic community recover after an oil spill? 10 years since the Nissos Amorgos disaster in Venezuelan Gulf, Caribbean Sea

**Héctor Severeyn^{*1}, Yajaira García de Severeyn², Mario Nava¹, Félix Morales³,
Marynes Montiel M.⁴, Lisandro Morán.¹**

Universidad del Zulia, Fac. Experimental de Ciencias, Departamento. de Biología
¹Lab. de Sistemática de Invertebrados Acuáticos, ²Lab. de Cultivo de Invertebrados Acuáticos,
³Lab. de Oceanografía, ⁴Unidad de Microbiología Ambiental
Maracaibo, Zulia, Venezuela. *Email: hectorsevereyn@yahoo.com

Recibido: 04-07-2018 Aceptado: 28-07-2018

Abstract

In 1997, 25.000 barrels of petroleum were spilled along 40 Km of marine beaches in Venezuela Gulf, an area where we carried out, two years before, benthonic macro invertebrates (BMI) inventories. In order to monitor the ecosystem "recovery", we repeated inventories five (2003) and 10 years (2008) later. Before the spill (1996), the BMI community was constituted by 75 species: 30 gastropod mollusks (GM), 28 bivalve mollusks (BM), 11 annelids (A) and 6 crustaceans (C). After five years this community structure became 27 GM, 26 BM, 5 A and 3 C. Although biodiversity only decreased 16.7% (14 species), the composition changed: out of the 75 BMI before the spill, only reappeared 31% (11 BM, 7 GM, 3 A and 2 C). After 10 years, the BMI biodiversity increased by a factor of 1.5 (113 species) respect to 1996. Community structure changed to 48 BM, 36 GM, 14 C and 13 A, plus 2 new echinoderm species. Out of these 113 species only 38 were original species (OPS) before the oil spill (16 BM, 15 GM, 3 C and 2 A). Therefore, 51% of the OPS remained without returning. Our results contradict the classic statement about marine ecosystem recovery affected by oil spills, i.e. *to return to its "original condition" are required 2-5 years*. Indeed, this investigation indicates that recovery of Caño Sagua BMI community may take, at least, one more decade. But, will the BMI return to their original condition? The probability is extremely low. The most likely scenario will be, at a time difficult to estimate today, a new assemblage of BMI species in equilibrium, with a mixture of OPS and new ones. These results means that, in terms of the original ecosystem condition, the BMI community of Caño Sagua beach, never will recover since its trophic structure never will be the same.

Keyword: oil spill, macroinvertebrates, benthos, recovery, trophic structure, Venezuela Gulf, marine ecosystem.

¿Se recupera la comunidad macrobentónica después de un derrame petrolero? A 10 años del desastre del Nissos Amorgos en el Golfo de Venezuela, Mar Caribe

Resumen

En 1997, 25.000 barriles de petróleo fueron derramados a lo largo de 40 Km de playas marinas en el Golfo de Venezuela, una zona donde dos años antes se habían realizado inventarios de macroinvertebrados bentónicos (BMI). Con el objetivo de monitorear la recuperación del ecosistema se repitieron los mismos inventarios a los cinco (2003) y 10 años (2008). Antes del derrame la comunidad de BMI estuvo constituida por 75 especies: 30 moluscos gasterópodos (GM), 28 moluscos bivalvos (BM), 11 anélidos (A) y 6 crustáceos (C). Después de cinco años la estructura de la comunidad cambió a 27 GM, 26 BM, 5 A y 3 C. Aunque la biodiversidad solo se redujo en 16.7% (14 especies), la composición cambió ya que de 75 BMI antes del derrame, solo reaparecieron el 31% (11 BM, 7 GM, 3 C y 2 A). Después de 10 años, la biodiversidad de BMI aumentó en una proporción de 1.5 (113 especies). La estructura de la comunidad cambió a 48 BM, 36 GM, 14 C y 13 A, más 2 especies nuevas de

equinodermos. De las 113 especies, solo 38 eran especies originales (OPS) desde antes del derrame de petróleo (16 BM, 15 GM, 3 C y 2 A). Por lo tanto, 51% de las OPS se mantuvieron sin regresar. Los resultados obtenidos contradicen la clásica afirmación acerca de la recuperación de ecosistemas marinos afectados por derrames de petróleo, i.e. *para regresar a la "condición original" son necesarios de 2 a 5 años*. En efecto, esta investigación indica que la recuperación de la comunidad de BMI de Caño Sagua se pudiera llevar, al menos, una década más. Pero, ¿volverán los BMI a su condición original? La probabilidad es extremadamente baja. El escenario más probable será, en una cantidad de tiempo difícil de precisar hoy, volver a una nueva estructura de BMI especies en equilibrio, con una mezcla de OPS y otras nuevas. Estos resultados significan que, en relación a la condición ecológica original, la comunidad de BMI de la playa de Caño Sagua no se recuperará debido a que su estructura trófica nunca será la misma.

Palabras claves: Derrame de petróleo, macroinvertebrados, bentos, recuperación, estructura trófica, Golfo de Venezuela, ecosistema marino.

Introduction

Since the last three decades of the XX century, mankind observed a huge amount of petroleum spills in the world aquatic environments, product of exploration, exploitation and international trade exportation of this mineral at worldwide level (1). Also, we witnessed the highest quantity of oil spilled into oceans peaked between 1974 and 1979 when there was an average of 78.8 spills/year (1). Despite the exploitation and transport of petroleum has not diminished, it has been observed a reduction of the number of spills, due to the enforcement of new restrictions and regulations. Thus, between 2010 and 2017 the yearly average of oil spill decreased to 6.8 spills/year, but huge oil spills still occur, such as the Deepwater Horizon oil spill, which released 4.9 million barrels of oil covering more than 1700 Km of shores (2). The presence of petroleum in nature constitutes a threat for all organisms, and especially for aquatic ones that live in those environments where have been occurred most of the largest oil spills in our whole history (3).

According to several authors (4-6) most marine ecosystems exposed to huge quantities of raw petroleum that have been studied, require between 2 and 5 years for their recovery. However, this concept of "recovery" is based essentially on the recolonization of the affected areas, without previous knowledge of which species were there present and even less whether or not, the previous trophic structure has changed. Even nowadays, there are authors applying the same concept (7-9) without considerations about the kind of habitat being affected, the guild structure and the persistence of oil inside the substrate affected. Thus, conclusions about the recovery time of an ecosystem affected by oil spills are based on misguided premises and supported, most the time, only on post impact studies (10-13).

Venezuela, the thirteenth largest oil producer country of the world until 2002, was the site for massive oil spills and they are still occurring (14). In effect, a

25,000-barrel oil spill happened in Venezuela Gulf in 1997. This spill covered 40 Km of marine coast, killing every aquatic invertebrate between the low and high tide lines (15). Because two years before (1994-1996), we performed a two years biodiversity inventory of benthonic macroinvertebrates (BMI) along the same area, an invaluable opportunity rose to measure the direct impact of this oil spill, starting from ecological pristine conditions. Thus, we not only made estimation of the number of species affected and the quantify of the total mortality of these organisms but also, and more important, we also make projections, in real time, of how many years this ecosystem could take to totally recover. This opportunity was also important because Caño Sagua beach is a tropical high energy sandy beach, one of the few where an oil spill has happened and where an exceptionally high diverse macroinvertebrate benthonic fauna was known before it (15).

The macroinvertebrate fauna (organisms retained by 500mm mesh sieve) of sandy beaches is important because of their size and its ecological role as relevant preys to higher trophic levels (16). This macrofauna have some adaptations that remark its trophic role: 1) planktonic larval development able to be disperse; 2) one or more years of generation times; 3) iteroparous reproduction and continuous growth; 4) feeding on a broad range of particles size; and 5) most of them motile (17). This assemblage is normally formed by bivalve mollusks, decapod crustaceans, polychaetes, amphipods, and isopods, with low number of species, no more than 20. However, in Caño Sagua beach the macroinvertebrate fauna is four times that number with an uncommonly high number of gastropods mollusks.

In the present article we aim to answer the following questions: How did the spill of petroleum affect the biodiversity of BMI of the marine coast of Caño Sagua beach, located at the southwestern of the Venezuela Gulf? How many species disappeared? How much time the BMI community will take to

recover? It has been enough 10 years? In addition, we explore the concept of “recovery” looking for the best way to define, to in ecological terms, what this term really means.

Material and methods

The present study was carried out in the beach Caño Sagua, located to 80 Km. of the city of Maracaibo, in the Southwestern area of the Gulf of Venezuela (Fig. 1). This coastline was the main zone affected by the Nissos Amorgos Tanker oil spill. This entire coastal zone, 40 Km of a tropical high energy sandy beach, has a broad intertidal flat (100 m between high and low tide borders) which uncovers twice every to 24 hours. The supra tidal area plus the intertidal one, were covered by a thick layer of petroleum which was estimated in 15.000

barrels (15). It was calculated that 9.000 barrels, covered the bottom of the subtidal zone at least for a year. After, there was neither other measurement of this oil cover nor any monitoring of the evolution of the disintegration of petroleum remains.

Before of the oil spill (1994-1995), six months after the oil spill and them at 5 (2003) and 10 years (2007), we proceeded to carry on a yearlong biodiversity inventory following the sampling methodology with transect and quadrant, the same that was used for the before spill inventory (15). This consisted on tracing a perpendicular 100 m transect to the beach beginning at the low tide line. Along the transect, each 10 m, three samples were collected (replicates) perpendicular to it, each separated by two meters. Each sample was pull out with an Ekman grab, collecting 0.01 m² (approximately 2 pounds of sand) and placed in plastic bags.

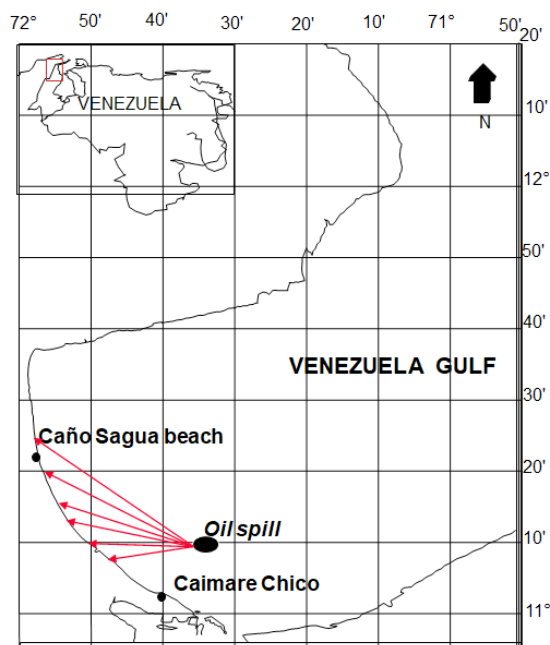


Figure 1. Geographic location of the Nissos Amorgos oil spill along the southwestern coast of Venezuela Gulf. Arrows indicate the course of oil spread.

The collected sediment samples, were transported by car to the laboratory where they were sieved through a series of nets (180 microns up to 2 mm). The organisms retained by the different sieves were sorted with forceps, separated by Fila and later on identified to the lowest taxonomy category (39-43). All organisms were fixed in 10% formalin and preserved 24 hours later in a 70% buffered ethanol solution.

The BMI data used and discussed in this paper were collected, processed and analyzed by the methodology above described during 1994-1995

(two year before the oil spill), 2002-2003 (five years after the oil spill) and 2007-2008 (10 years after the oil spill). The discussion only will employ the list of species (Biodiversity level 1) that were found during a standardized year of intensive collection that gather 360 individual samples, to support the premise that “recovery” from an oil spill cannot be state using increases of absolute abundances and ecological diversity indexes. We intentionally did this because it has been demonstrated that the extreme variation of organisms abundance and density in space and time, which appear to be real, does not allow to separate background variation

from impact changes (18-20). Thus, we just want to proof that after ten year, the species arrangement of the macroinvertebrate fauna has not showed up to the original, pristine composition.

Results

Out of 75 BMI species quantified before the oil spill, 58 were mollusks (30 gastropods, 28 bivalves), 11 annelids and six crustaceans (Fig. 2, Table 1). Six months after the oil spill a brief sampling was done but no living organisms were found. The process to collect coastal oiled sediments, oil contaminated debris and meteorized solid mass of petroleum took almost a year (1998) but because 9000 oil barrels sunk close to the coast, they generated a continuous flow of oil fractions at least for one more year. Beaches along the 40 Km affected were open to tourist two year after (2000) but patches of sand-

oil were seeming until late 2001. By the time of the first formal biodiversity survey, five year after the oil spill, no meteorized solid masses were seen. At this time, BMI community became structured by 61 species (27 gastropods, 26 bivalves, 5 annelids and 3 crustaceans) (Fig. 3, Table 2) (15). The fact that after five year the number of species of the BMI community were still below the initial amount (75 vs 61) clearly indicated that the impact of the oil spill has not finished yet. Notwithstanding, in term of number of species, there was a reduction of 14 species (19%), the composition changed completely. If we consider the species that were initially (Table 1), only 11 bivalves, 7 gastropods, 3 crustaceans and 2 annelids came back in five years (Table 2). We can infer that the return to the original species arrangement still remain at 31% (23 species out of the original 75). In other words, 69% of the original species have not came back.

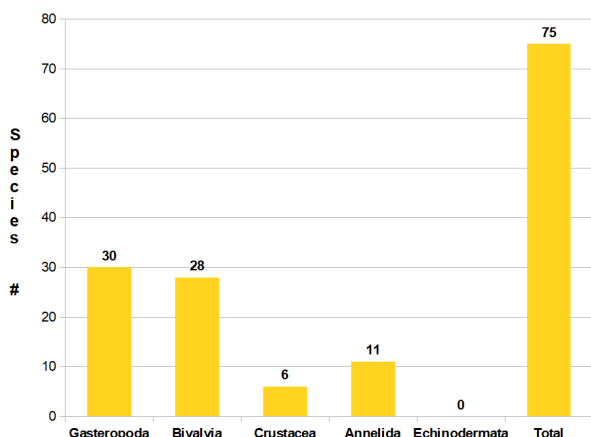


Figure 2. Macrobenthic Invertebrate fauna of Caño Sagua beach before the Nissos Amorgos oil spill (1994-1995)

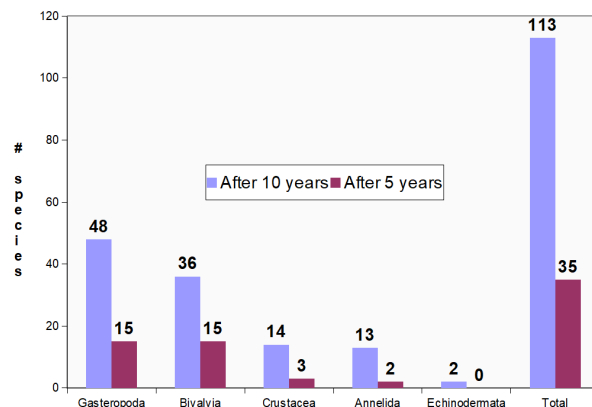


Figure 3. Macrobenthic Invertebrate fauna of Caño Sagua beach, after five (2003) and 10 years (2008), of the Nissos Amorgos oil spill

Table 1.- Species list of benthonic macroinvertebrates of Caño Sagua beach before the Nissos Amorgos oil spill (1996).

Bivalves	Gasteropods	Crustacean	Annelids
<i>Anadara brasiliiana</i>	<i>Alaba incerta</i>	<i>Emerita brasiliensis</i>	<i>Hemipodus sp.</i>
<i>Anadara floridana</i>	<i>Anachis sp.</i>	<i>Excirrollana braziliensis</i>	<i>Leanira sp.</i>
<i>Brachidontes sp.</i>	<i>Antigona sp.</i>	<i>Lepidopa sp.</i>	<i>Lumbrineris sp.</i>
<i>Chione cancellata</i>	<i>Bittium sp.</i>	<i>Liljeborgia sp.</i>	<i>Malacocerus sp.</i>
<i>Codakia orbicularis</i>	<i>Cerithiopsis latum</i>	<i>Ogyrides alphaerostris</i>	<i>Pilargidae sp. 1</i>
<i>Codakia orbiculata</i>	<i>Cirsotrema dalli</i>	<i>Penaeus sp</i>	<i>Pisionidens sp.1</i>
<i>Codakia pectinella</i>	<i>Cochliolepis parasitica</i>		<i>Polychaet sp 1</i>
<i>Crasinella lunulata</i>	<i>Cresseis acicula</i>		<i>Polychaet sp sp 2</i>
<i>Crassostrea rhizophorae</i>	<i>Diastoma varium</i>		<i>Polychaet sp 3</i>
<i>Cyrtopleura costata</i>	<i>Diodora sp.</i>		<i>Polychaet sp 4</i>
<i>Diplodonta sp.</i>	<i>Epitonium frielei</i>		<i>Spio sp</i>
<i>Donax denticulatus</i>	<i>E. novangliae</i>		
<i>Donax striatus</i>	<i>E. turritellarum</i>		
<i>Ervilia concentrica</i>	<i>Eulima bifasciata</i>		

<i>Gemma purpurea</i> <i>Macoma brevisformis</i> <i>Mulinia lateralis</i> <i>Mytilus sp.</i> <i>Petricola pholadiformis</i> <i>Pholas campechiensis</i> <i>Pitar dione</i> <i>Pteria sp.</i> <i>Rangia cuneata</i> <i>Strigilla pisiformis</i> <i>Tellina exilis</i> <i>Tellina radiata</i> <i>Tivela mactroides</i> <i>Transennella cubaniana</i>	<i>Fontigens turritella</i> <i>Marginella sp.</i> <i>Melongena melongena</i> <i>Microdochus floridanus</i> <i>Mitrella nitens</i> <i>Natica canrena</i> <i>Odostomia sp</i> <i>Olivella minuta</i> <i>Petalococonchus erectus</i> <i>Pseudomalaxis nobilis</i> <i>Serpulorbis sp.</i> <i>Solariella obscura</i> <i>Teinostoma sp.</i> <i>Truncatella sp.</i> <i>Turbonilla sp.</i> <i>Vitrinella sp.</i>		
28	30	6	11

Table 2.- Species list of benthonic macroinvertebrates of Caño Sagua beach five year after the Nissos Amorgos oil spill (2002). In bold are the original species since 1996

Bivalvia	Gasteropoda	Crustacean	Annelida
<i>Anadara ovalis</i> <i>Anadara sp.</i> <i>Chione cancellata</i> <i>Chione granullata</i> <i>Circulus multistriatus</i> <i>Crassostrea rhizophorae</i> <i>Crassostrea virginica</i> <i>Cyrtopleura costata</i> <i>Donax denticulatus</i> <i>Donax striatus</i> <i>Heliacus bisulcatus</i> <i>Mitrella nitens</i> <i>Mulinia lateralis</i> <i>Mytilus sp.</i> <i>Nuculana acuta</i> <i>Pitar dione</i> <i>Pteria sp.</i> <i>Strigilla carnaria</i> <i>Strigilla pisiformis</i> <i>Tellina provina</i> <i>Tivela mactroides</i> <i>Crassinella martinicensis</i> <i>Gouldia cerina</i> <i>Pecten sp</i> <i>Brachidontes modiolus</i> <i>Corbula sp.</i>	<i>Alaba incerta</i> <i>Alvania arpa</i> <i>Anachis obesa.</i> <i>Antigona sp.</i> <i>Antipoda sp</i> <i>Bittium varium</i> <i>C. costata</i> <i>Cerithiella whiteavessis</i> <i>Cerithiopsis emersoni</i> <i>Ciclostremiscus trilix</i> <i>Epitonium candeanum</i> <i>E. foliacercostatum</i> <i>Heliacus sp</i> <i>Hidrobia sp</i> <i>Hyalina sp</i> <i>Marginella sp.</i> <i>Natica canrena</i> <i>Natica menkeana</i> <i>Odostomia laevigata</i> <i>Olivella minuta</i> <i>Petalococonchus irregularis</i> <i>S. decussatta</i> <i>Thais sp</i> <i>Tricolia adamsi</i> <i>Truncatella caribaensis.</i> <i>Turbonilla sp.</i> <i>Zebina browniana</i>	<i>Liljeborgia sp.</i> <i>Emerita brasiliensis</i> <i>Excirrollana braziliensis</i>	<i>Capitella capitata</i> <i>Malacocerus sp</i> Pilargiidae <i>Pisionidens sp 1</i> <i>Serpulloides decussata</i>
26	27	3	5

The results 10 years after the oil spill shows a more dramatic panorama in term of the BMI community structure. First of all, there was a huge increase of the number of species. The BMI community reached almost twice of the number of

species before the oil spill (75 vs 113; Fig. 4, Table 3). These 113 species were 48 gastropods, 36 bivalves, 14 crustaceans, 13 annelids and a new taxonomic group, very uncommon in these high energy sandy beaches, echinoderms, with two species.

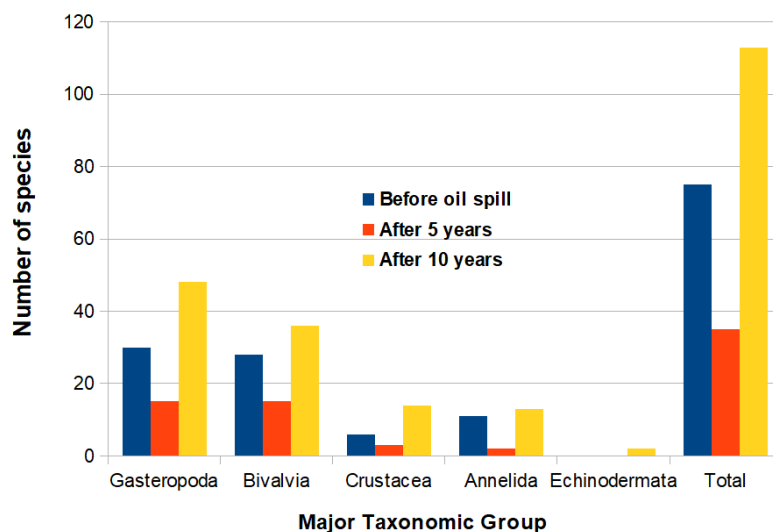


Figure 4. Comparison of Macrobenthic Invertebrate fauna of Caño Sagua beach, before (1996), after five (2003) and 10 years (2008), of the Nissos Amorgos oil spill.

Table 3.- Species list of benthonic macroinvertebrates of Caño Sagua beach ten year after the Nissos Amorgos oil spill (2007). In bold are the original species since 1996.

Bivalve	Gasteropods	Crustacean	Annelida	Echinoderms
<i>Americardia guppyi</i>	<i>Alaba incerta</i>	Amphipod sp 1	Aphroditidae sp 1	<i>Sea urchin sp 1</i>
<i>Anadara notabilis</i>	<i>Anachis mangelioides</i>	Copepod harpacticoide	<i>Capitela capitata</i>	Ophiuroidea sp 1
<i>Anadara ovalis</i>	<i>Arene cruentata</i>	Brachyura crab sp 1	Gliceridae sp 1	
<i>Anadara transversa</i>	<i>Assimineia succinea</i>	Caprellidae sp 1	<i>Heteromastus sp</i>	
<i>Arca imbrincata</i>	<i>Caecum antillarum</i>	<i>Emerita brasiliensis</i>	<i>Lumbrineris sp</i>	
<i>Brachiodontes exustus</i>	<i>Caecum imbrincatum</i>	<i>Excirolana braziliensis</i>	Onuphidae sp 1	
<i>Corbulla contracta</i>	<i>Circulus multistriatus</i>	Haustoriidae sp 1	Orbiniidae sp 1	
<i>Crassinella lunulata</i>	<i>Crepidula convexa</i>	<i>Mithrax sp1</i>	Polichaeta sp 1	
<i>Crassostrea rizophorae</i>	<i>Cyclostremicus pentagonus</i>	<i>Ogyrides alphaerostris</i>	Polichaeta sp 2	
<i>Cyrtopleura costata</i>	Cyclostremicus sp 1	<i>Parguristes puncticeps</i>	Polichaeta sp 3	
<i>Diplodonta notata</i>	Cyclostremicus sp 2	Processidae sp 1 (shrimp)	Sigalionidae sp 1	
<i>Donax denticulatus</i>	<i>Cyclostrema cancellatum</i>	Tanaidacean sp 1	<i>Spio sp 1</i>	
<i>Donax striatus</i>	<i>Cylichna auberi</i>	Tanaidacean sp 2	<i>Sygambra sp 1</i>	
<i>Ervilia concentrica</i>	<i>Diastoma varium</i>	Tanaidacean sp 3		
<i>Gemma purpurea</i>	<i>Diodora sp 1</i>			

<i>Lucina muricata</i>	<i>Epitonium albidum</i>			
<i>Macoma constricta</i>	<i>Epitonium candeanum</i>			
<i>Mactrellona alta</i>	<i>Epitonium foliaceicostum</i>			
<i>Martesia sp 1</i>	<i>Epitonium novangliae</i>			
<i>Mulinia lateralis</i>	<i>Epitonium turritellulum</i>			
<i>Musculus lateralis</i>	<i>Eulima bifasciata</i>			
<i>Mytella sp 1</i>	Gastropod sp 1			
<i>Mytilopsis dominguensis</i>	Gastropod sp 2			
<i>Nuculana acuta</i>	Gastropod sp 3			
<i>Periploma sp 1</i>	<i>Haminoea succinea</i>			
<i>Pholas campechensis</i>	<i>Hidrobia sp 1</i>			
<i>Pitar dione</i>	<i>Ithycithara lanceolata</i>			
<i>Pteria sp. 1</i>	<i>Litiopa melanostoma</i>			
<i>Semele nuculoides</i>	<i>Marissa cornuarietis</i>			
<i>Sphenia antillensis</i>	<i>Melanella sp 1</i>			
<i>Strigilla pisiformis</i>	<i>Melongena corona</i>			
<i>Tellina sp.1</i>	<i>Microdochus floridanus</i>			
<i>Tivela mactroides</i>	<i>Mitreia nitens</i>			
<i>Trachycardium muricatum</i>	<i>Natica carenna</i>			
<i>Trachycardium sp1</i>	<i>Odostomia laevigata</i>			
<i>Transenella cubaniana</i>	<i>Olivella dealbata</i>			
	<i>Olivella minuta</i>			
	<i>Olivella petiolita</i>			
	<i>Parviturboides interruptus</i>			
	<i>Petalconchus erectus</i>			
	<i>Polinices sp 1</i>			
	<i>Pseudomalaxis nobilis</i>			
	<i>Retusa candei</i>			
	<i>Serpulorbis decussata</i>			
	<i>Tricolia adamsi</i>			
	<i>Turbonilla sp1</i>			
	<i>Turritella variegata</i>			
	<i>Vitrinella sp 1</i>			
36	48	14	13	2

This apparent “recovery”, as a function of number of species, masks the true alteration of the original condition of the aquatic ecosystem in Caño Sagua beach. If it is compared the community of BMI before the spill and 10 years later, in terms of the species that originally were present, it is observed that the community changed. After 10 years only 16 bivalves, 15 gastropods, three crustaceans and two annelids of the original species, have returned. These 38 species, representing a 51%, what indicates is that in the last five years (2003-2007) the original BMI fauna of Caño Sagua recovered only 20% (51 less 31), a mean of 4% annually. Still, 49 % of the species that used to live in Caño Sagua beach before the spill of petroleum, remain missing.

In addition, as a consequence of the missing species, an immense quantity of opportunists species (66 species, Table 3) move into Caño Sagua beach ecosystem to compete for a place (i.e. a niche). These niches were left empty by the species that disappeared.

Discussion

Coastal invertebrates' studies on the effects of oil spills, on different bottom-dwelling invertebrate groups, have to a large extent been based on data where there is not direct comparisons between pre-spill and post-spill. In effect, there are many reports that used toxicity tests laboratory experiments to proof, whether or not, chemical derived from petroleum (and their concentrations), may affect (death) organism living within the areas covered by the spills (21). Other studies used field or laboratory microcosms containing oiled sediments to verify how the spill could affect the growth rate of larval stages, juveniles and adults, and then extrapolate the results comparing, less oiled, most oiled as well as unexposed sediments/organisms, correlating oil concentration and growth rates (22-23). Other researchers, use comparisons of the fauna in affected sediments by the spill versus sediments in other zones no affected and, with the assumption, that these last zones are “pre-spill ones” (24-26). All above examples, of an incorrect way to estimate oil spill impacts, what have created is an unprecedented confusion and wrong expectations when mankind has had to deal with the destruction of our environment, in the present case, our oceans. We want to believe that no matter what we do, always nature will return to the former equilibrium, which nature achieved in thousands or millions of years, in a few of years. Due to this, not only we have an incorrect estimation of how many years will be necessary, but also that the arrangement, the trophic structure and the ecological equilibrium, never more will be the same. Examples of the above false expectation abundance such as the recovery, in six

years, of Korean coasts after a 10.900 ton of crude oil from the Hebei Spirit (27) (see 4-6 for similar or lower times).

An additional mistake when analyzing oil spill is to compare different habitats and different organisms. There is no way to contrast oil spill in salt marshes, wetlands, mangroves, estuaries, marine coastal habitat and coral reef. Each of these “environment” has different attributes, physico-chemical features, and biota. An example of a huge oil spill that affected all those habitats is the Deepwater Horizon mega oil spill (28) and where there are, separate formally, oil impact studies in each of these environment/habitats (29-33).

In relation with the present article, it is important to point out that the Nissos Amorgos oil spill occurred in a high energy sandy marine beach, under tropical conditions, which is very unusual. Most oil spill that has taken place in sandy beaches, were in subtropical or temperate zones. Effectively, in a recent revision (34, see Table 1) is remarked that only 17 oil spills, that were documented, occurred in coastal sandy shores between 1973 and 2016. Although our literature review found some more articles, it is important to note that any of them coincide with our study. In fact, seven studies were done only with meiofauna (invertebrates size between 45 microns and 1 mm), two with both meiofauna and macroinvertebrate fauna, but in temperate zones (Spain and United Kingdom). From the resting six studies, three documented the oil spill impact only over the macrofaunal amphipods community; one in subtropical (Sidney, Australia), the second one in temperate latitudes (Paranagua Bay, Brazil), and the third in tropical conditions (Puerto Rico) but it did not include other important macrofaunal organisms and it was concentrated on sandy sediments within mangroves. Thus, the last three studies, notwithstanding reported the oil spill impact over important macrofaunal components (crustacean, annelids and mollusks), two of them occurred in temperate conditions (Alaska, US and Campeche, Mexico). So, from the 17 oil impact studies mentioned, only one (35) came about in very similar condition as our in Caño Sagua beach, but only included amphipods and crabs because no other organisms were found.

The above discussion about oil spill impact studies developed in sandy beaches had the only objective to re-emphasize the relevance of the present paper for the Caribbean region and tropical ecosystems in general. Recent articles (36-37) have emphasized the potentially dangerous situation of the whole Caribbean region where more than 30 oil spills occurred during the 70s, plus “countless mundane releases of petroleum from ships and shoreline facilities” (36). This enclosed sea is ranked

as having one of the most intense maritime traffic in the world (37) and, at the same time, it is the supports of many critical habitats functioning as a large marine ecosystem (38). In most cases, all these accidents affected coral reef, mangroves and their flora and fauna. But it is clear that high energy sandy beaches are potential targets in future decades.

Now, are our results unexpected? No really. Several studies have shown that, after an oil spill impacts, the fauna that reappear follows a two steps pattern (34). First, it is the disaster phase where everything alive is destroy. When “recovery” begins, a second phase take place where species which were present before the spill, start to appear. Then comes a phase that is characteristically evidenced by the arrival of new species that do not existed before the oil spill. These new species are considered as “opportunistic” (34-36). The reason of their generic names is obvious, as they get the chance to occupy niches that were left empty by the species killed by the oil spill. We saw clearly these three phases as a sequence in our 12 years study, presented in the above lines.

As we stated at the beginning of this article, the results obtained contradict the classic statements about the ecosystem recovery time after an oil spill: *to return to its original condition as function of diversity and abundance of the present species, between two and five years are necessary* (4-6). On the contrary, the present data indicates that the ecosystem of Caño Sagua beach, studied through the changes in the community of BMI, would take more than two decades in returning to the original species composition. This time, is at least between 6 and 15 times longer than those mentioned in the scientific literature reviewed in the present article. Indeed, this study demonstrates that 10 years after the impact of the oil spill, only have returned 38 species, 15 of them in the last 5 years (2003-2007). If we project these numbers (a gross rate of 10 species every 5 years) the BMI community of Caño Sagua should return to its original condition in 20 more years. These years, added to the 10 already lapsed, tell us about of a total time of 30 year for the recovery.

Now, to finish this discussion let us take another side of the “recovery concept”. Taking into account what we have seen, can we affirm that the BMI community of Caño Sagua can return to its original structure? We must begin, conceiving that this recovery only could happen in a hypothetical situation where the niches left vacant, can be re-colonized by the same species that existed before the oil spill. Indeed, the results indicate that after 10 years there are 76 new species competing for approximately 35 niches (75 in 1996 less 35 in 2003). In other words, approximately two new

species, are already competing versus an old one that has not returned yet in 10 years. Is it likely that this event may happen? Definitely the answer is no. Everything indicates that, in terms of the original condition of the ecosystem, Caño Sagua beach will never recover. This is the paradox and the take-home message that this investigation contributes. Many studies that have investigated the effect of oil spill, at some point, have used the phrase “the ecosystem is showing sign of recovery” or other similar (5-8). However, we can state that the impacts taken place against the nature by mankind are likely irreversible. The thousands or millions of years that nature has taken in developing stable ecosystems and their trophic nets cannot recover in just some decades after the imbalance introduced by man. As an alternative, nature will look for to reach a new balanced, in equilibrium stage, with a similar number of species to the original ones, but with a mixture of old and new species. This means that the trophic net never will be the same.

Although the knowledge about the effects of major oil spills on marine and coastal ecosystems has improved considerably in last decades, there are still critical research needed for questions that remain unresolved or are poorly understood. One key point at this respect is that we need to leave the approach of using non-impacted areas biodiversity, abundances and ecological indexes, to obtain likely numbers for oil impact of unknown results. Bases lines studies and regular inventories in areas, zones or habitat that are potential target for oil spill must be the strategy in order to be prepared for the future (34).

Bibliographic references

1. ITOPF. **Global Tanker Spill Trend**. 2018.
2. SIVANESAN S. **Disaster Advances**. 6: 1-3, 2013.
3. BEYER H., TRANNUM C., BAKKE T., HODSON P, COLLIER T. **Mar. Poll. Bull.** 110 (1): 28-51, 2016.
4. YAMAMOTO T., NAKAOKA M., KOMATSU T., KAWAI H M., OHWADA K. **Mar. Poll. Bull.** 47:1-6, 2003.
5. NIKITIK C., ROBINSON A. **Mar. Poll. Bull.** 46:1125-1141, 2003.
6. SKALSKI J., COATS D., FUKUYAMA A. **Environ. Manag.** 28:9-18, 2001.
7. HOUGHTON J., FUKUYAMA A., LEES D., HAGUE P., CUMBERLAND H. **Evaluation of the condition of Prince William sound shoreline following the Exxon**

- Valdez oil spill and subsequent shoreline treatment.** Technical reports NOAA PB-96-113287 (Vol. 1) and NOAA PB-96-113303 (vol. 2), National Ocean Service, Seattle, Washington. 1993.
8. MATISHOV G., INZHEBELKIN Y., SAVITSKII R. **Water Res.** 40: 259-273, 2013.
 9. MACCALL B., PENNING S. **PLoS ONE.** 7:3273, 2012.
 10. KOYAMA J., UNO S., KOHN O. **Mar. Poll.** 49: 1054-1061, 2004
 11. PETERSON C., ESTES J. (2001) **Conservation and management of Marine Communities.** Pp. 469-507, in Bertne M., Gaines S., Hay M. (eds.) **Marine Community Ecology.** Sinauers Associates Inc, Sunderland, Massachusetts, USA, 2001.
 12. DAY R., MURPHY N., SMITH G., WIENS D., HAYWARD D., HARPER J. **Ecol. Applic.** 7:593-613, 1997.
 13. PAINE R., RUESINK E., SUN E., SOULANILLE M., WONHAN C., HARKEY C., BRUMBAUGH D., SECORD D. **Ann. Rev. Ecol. Syst.** 27:197-235, 1996.
 14. WIKIPEDIA. **History of the Venezuelan oil industry,** Wikimedia Foundation, Inc., 2016.
 15. SEVEREYN H., DELGADO J., GODOY A., GARCÍA DE SEVEREYN Y. **Ecotrópicos** 16: 12-19, 2003.
 16. SCHLACHER T., SCHOEMAN D., DUGAN J., LASTRA M., JONES A., SCAPINI F., MCLACHLAN A. **Mar. Ecol.** 29: 70-90, 2008.
 17. WARWICK R., CLARKE K. **Oecologia** 61: 32-41, 1984.
 18. DIANA S., SOTO L., ESTRADAS A., BOTELLO A. **Mar. Poll. Bull.** 114: 987-994, 2017.
 19. BAE H., LEE J., SONG S., RYU J. **Environ. Poll.** 241: 596-606, 2018.
 20. NAVA M., SEVEREYN H. 2010. **Ciencia** 18 (4):235-246, 2010.
 21. KRASNEC M., MORRIS J., LAY C. **An evaluation of the toxicity of deep sea sediment collected after the Deepwater Horizon oil spill on the amphipod *Leptocheirus plumulosus*.** Tech. Working Group Report. Boulder, CO, USA, 2015.
 22. ROZAS L., MINELLO T., MILES M. **Estuar. Coast.** 1:1-12. 2014.
 23. GREYE E., CHIASSON S., WILLIAMS H., TROEGER V., TAYLOR C. **Plos One** 10:19, 2015.
 24. WASHBURN T., RHODES A., MONTAGNA P. 2016. **Ecol. Indic.** 71: 587-597, 2016
 25. FANGYUAN Q., NUNNALLY C., LEMANSKI J., WADE T., RAINER M., ROWET A. **Deep Sea Res.** DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dsr2.2015.04.020>, 2015.
 26. FOSTER J., WICKSTEN M., DAVENPORT C., SOLIMAN R., WANG Y. **Mar. Ecol. Prog. Ser.** 399: 1-14, 2010.
 27. YUN-HWAN J., HENUG-SIK P., KON-TAK Y., HYUNG-JUNE K., WON-JOON K. **Ocean Sci. J.** 52: 103-112, 2017.
 28. MICHEL J., OWENS E., ZENGEL S., GRAHAM M., NIXON Z., ALLARD T., HOLTON W., REIMER D., LAMARCHE A., WHITE M., CARL N., CHILDS G. MAUSETH G., CHALLENGER E., TAYLOR M. **PLoS ONE** 8(6): 65087, 2013.
 29. DELAUNE R., WRIGHT A. **Soil Sci. Soc. Am. J.** 75: 1602-1612, 2011.
 30. SANTOS H., CARMO F., PAES J., ROSADO A., PEIXOTO R. **Water Air Soil Poll.** 216: 329-350, 2011.
 31. MENDELSSOHN I., ANDERSEN G., BALTZ D., CAFFEY R., CARMAN K., FLEEGER J., JOYE S., LIN QX., MALTBY E., OVERTON E., ROZAS L. **Bioscience** 62: 562-574, 2012.
 32. MCGENITY T. 2014. **Curr. Opin. Biotech.** 27: 46-54, 2014.
 33. SNYDER R., VESTAL A., WELCH C., BARNES G., PELOT R., EDERINGTON-HAGY M., HILEMAN F. **Mar. Poll. Bull.** 83: 87-91, 2014.
 34. BEJARANO A, MICHEL J. **Environm. Poll.** 218:709-722, 2016.
 35. CHAN E. 1976. **Oil Pollution and Tropical Littoral Communities: Biological Effects of the 1975 Florida Keys Oil Spill.** University of Miami, Rosenstiel School of Marine and Atmospheric Science, pp. 539-542, 1976.
 36. BOND D. **Comp. Stud. Soc. Hist.** 59(3):600-628, 2017.
 37. SINGH A., ASMATH H., LEUNG C., DARSAN J. **Mar. Poll. Bull.** 93 (2015) 217-227, 2015.

38. SHERMAN, K. **Environ. Dev.** 11: 43–66., 2014.
39. ABBOTT R. T. **American Seashells.** Second Edition. Van Nostrand Reinhold Co., New York, USA.663 p., 1974.
40. DÍAZ J. & M. PUYANA (1994). **Moluscos del Caribe Colombiano.** Colciencias y Fundación Natura. Bogotá, Colombia. 284 p., 1994.
41. RODRIGUEZ G. **Crustáceos Decápodos de Venezuela.** Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Caracas, pp 494, 1980
42. KENSLEY B. SCHOTTE M. **Guide to marine isopods crustaceans of the Caribbean.** Smithsonian institution press. Washington and London. 308 p., 1989.
43. FALCHAUD K. **The polichaete worms definitions and keys to the order, families and genera.** Science series No 28. Natural History Museum of Los Angeles County. Sciences series. United States of America, pp 188, 1997.
- 44.- SEVEREYN H., NAVA M., GARCIA DE SEVEREYN Y. **Fish. Ocean. OAJ** 3(5): 8 pp. DOI: 10.19080/OFOAJ.2017.03.555625. 2017.

Effect of magnetic fields on the growth of bacterium *Staphylococcus aureus*

Nomar Zambrano¹, Gabriela Pérez M.², Rodolfo Salas Auvert³, José R. Fermín^{*4}

¹Campus URBE, Prolongación Circunvalación No. 2 con Av. 16 Guajira, Maracaibo, Zulia, Venezuela

²Facultad de Humanidades, Arte y Educación, Universidad José Gregorio Hernández, Maracaibo, Zulia, Venezuela

³Departamento de Biología, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia, Aptdo. Postal 526, Maracaibo 4001, Zulia, Venezuela

⁴Departamento de Física, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia, Aptdo. Postal 526, Maracaibo 4001, Zulia, Venezuela

Facultad de Ingeniería. Universidad Rafael Urdaneta. Maracaibo 4005, Zulia, Venezuela
jfermin70@gmail.com

Recibido: 19-07-2018 Aceptado: 22-10-2018

Abstract

The effects of weak static and low-frequency magnetic fields on the growth rate of *S. aureus* were investigated. The measurements were performed with static magnetic fields with magnitude in range $0.0 \text{ G} \leq H_0 \leq 14.0 \text{ G}$ and low-frequency magnetic fields at fixed amplitude $H_0 = 4.5 \text{ G}$, and frequency range $0.0 \leq f \leq 1.0 \text{ kHz}$. The growth of these bacteria is negatively affected by increasing the intensity of the static magnetic field. When exposed to an oscillating field, a positive effect was observed on the rate of growth of the colonies with respect to the field frequency. In both, static or ac magnetic field, the growth curves follow an exponential law, typical of asynchronous cell divisions.

Keywords: Asynchronous growth; exponential growth; magnetic field effect on microorganisms; *S. aureus*.

Efecto de campos magnéticos en el crecimiento de la bacteria *Staphylococcus aureus*

Resumen

Los efectos de campos magnéticos estáticos y de baja frecuencia sobre la tasa de crecimiento de *S. aureus* fueron investigados. Las medidas fueron realizadas con campos magnéticos estáticos con magnitud en el rango $0.0 \text{ G} \leq H_0 \leq 14.0 \text{ G}$, y bajas frecuencias en el rango de $0.0 \leq f \leq 1.0 \text{ kHz}$, con amplitud de $H_0 = 4.5 \text{ G}$. La tasa de crecimiento de esta bacteria disminuye al incrementar la intensidad del campo estático. Sin embargo, en presencia de un campo oscilante de baja frecuencia, se observa un efecto positivo en la tasa de crecimiento respecto de la frecuencia del campo. En ambos campos, estático y variable, las curvas de crecimiento satisfacen una ley exponencial, típica de una división celular asíncrona.

Palabras clave: Crecimiento asíncrono; crecimiento exponencial; efecto de campos magnéticos en microorganismos; *S. aureus*.

Introduction

Nowadays the exposure of living tissue to various types of electric and magnetic fields is a commonly encountered event: extremely low frequency from power lines, high frequency electromagnetic fields (EMF) from cellular phones, and computers. Since this is a task of medical and technological importance, a number of attempts have been given to clarify the effects of electric and magnetic fields on biological cells¹.

S. aureus is a human pathogen responsible for a variety of community-acquired diseases, belonging to the class of gram-positive bacteria ². With the spread of this bacterium, the number of antibiotic agents has increased and along with these, stronger antibiotic resistance profiles have been observed ^{3, 4}. This requires new and more efficient methods for treating infections. One of the techniques used for medical purposes is the magnetic field therapy or magnetotherapy ⁵, which is often applied in the treatment of many diseases such as bone fractures ⁶, pain syndromes ⁷, and cancer ⁸. Also, pulsed magnetic field-based methods are also employed as non-thermal preservation techniques to minimize the risk of microorganism contamination ^{9, 10}. This is because of the proven ability of oscillatory fields to cause damage in living cells. However, the effects are not fully understood, since some of the results have been inconsistent ¹¹. In other cases the results often contradict each other, which include an increase or decrease in the rate of cell division in *E. coli* and *S. aureus*, when these strains are in presence of a magnetic field ¹²⁻¹⁴. Some other studies found that magnetic fields could be a general stress factor in bacteria ¹⁵. The general stress response to a magnetic field is found in all bacteria, and living cells and is remarkably conserved across specie. In a study on the mutagenicity of magnetic fields exposure, Ikehata ¹⁶ also reported that strong static magnetic fields can cause mutations in *S. typhimurium* and *E. coli*.

In this work we study the effects of weak static and low-frequency magnetic fields on the growth of bacterium *Staphylococcus aureus*. From an analysis of the growth curves, we have found that the main effect of the magnetic field on the growth dynamics of *S. aureus* is to affect the time required for the cell divisions.

Experimental

Fresh *S. aureus* strains were used throughout the experiments. Nutritive Broth (Merck, Darmstadt) and Plate Count Agar (Difco, Detroit) were used for cultivation of the bacteria. Salt solution 0.75% was used to make serial dilutions until 10^{-5} ml. The control cultures were kept in the same conditions as the exposed ones except the sole exposition to the magnetic fields. The number of colonies forming units (CFU) of the bacterial cultures was measured independently as a function of the magnetic field intensity (H_0), and frequency (f).

The magnetic fields were generated by a homemade 600 turned cylindrical coil (12 cm radius and 30 cm length), and were measured by a Hall effect probe Gaussmeter. Two different experiments were performed: (a) the cells were exposed to static magnetic fields with amplitude varying from 0.0 to 14.0 G and (b) with the cells exposed to oscillating magnetic fields with frequencies ranging from 0.0 Hz 1.0 KHz and fixed intensity of the order of 4.5 G. The magnetic fields inside the solenoid were approximately homogenous in a region ± 3 cm off the center of the coil. The device was kept at 37°C in an incubator cabinet and it was measured by a thermometer.

The samples were placed first into glass tubes on a nonconductive stand (homemade) along the axis of the coil, and then introduced inside the solenoid during exposure times from 0 h to 6 h. In order to reduce the uncertainty in our measurements and to obtain reliable results, each test was performed independently up to 4 times keeping the same experimental conditions.

Results and discussion

1. Effect of static magnetic fields

The main effect of the static magnetic field on the growth dynamics of the bacterium *S. aureus* is shown in Fig. 1. Each symbol is an average from 4 independent measurements performed previously. We found that the number of CFU increases with the time of exposure and decreases with the magnitude of the applied field.

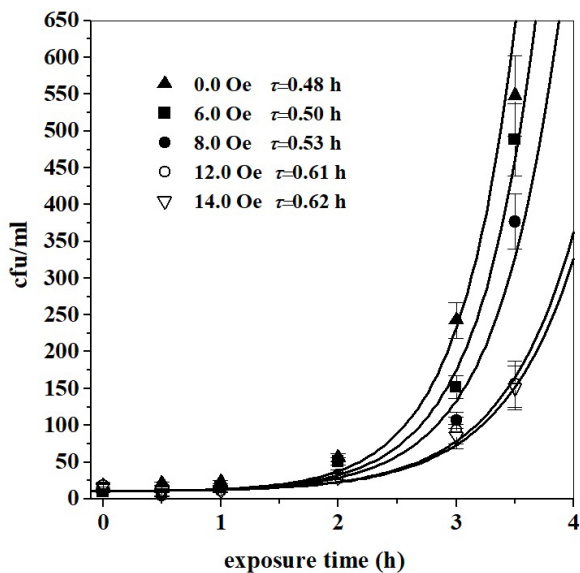


Fig. 1. Dependence of the colony forming units (CFU) on the time of exposure for several magnetic field intensities. The solid curves are fits to the exponential function $e^{t/\tau}$, as described in the text. The curve for $H_0=0.0$ G (▲) correspond to the control culture.

These results are in agreement with previous studies which also found the magnetic field intensity negatively affects the growth of *S. aureus*¹². It is also observed that the cells remain in lag state up to certain time of exposure, after which, cell division is activated growing in an exponential trend. To estimate the quantity τ , we assume that the growth dynamics is governed by some mechanism following the exponential law et/τ , where t is the exposure time and τ is related to the time required for a cell division, and is an intrinsic parameter to the species in its environment. These functions are commonly used to describe asynchronous growth in population dynamics¹⁷. In an asynchronous process, the division might occur at different times in each cell. The solid curves in Fig. 1 represent exponential functions with $\tau = 0.48, 0.50, 0.53, 0.61,$ and 0.62 hours, for $H_0 = 0.0, 6.0, 8.0, 12.0$ and 14.0 G, respectively. These results are plotted in Fig. 2, and show that as the magnetic field intensity is increased the growth process is decelerated, but not stopped. The dashed line is a guide to the eyes.

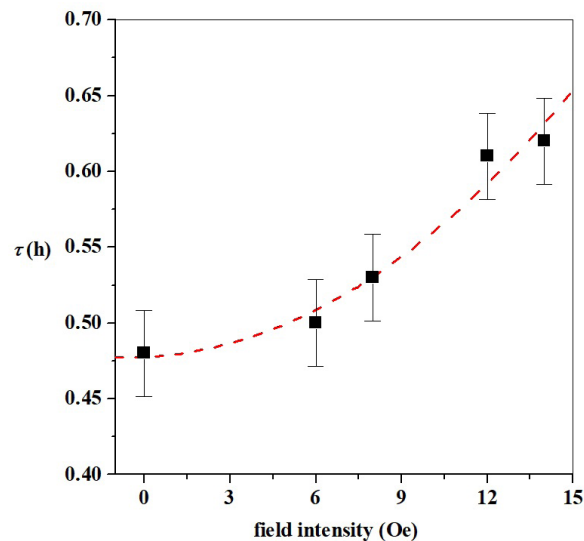


Fig. 2. Activation time, τ , as a function of the magnetic field strength. The dashed line is to guide to eyes.

Although the dc magnetic field decreases the number of colony forming units, is it not obvious that the cells loose their ability to divide. This means that the inhibitive effect of the static field is not fully bacteriostatic in this range of magnetic fields. Since the growth curve of the control culture ($H_0 = 0.0$ G) is also exponential, we conclude that the asynchrony in the cell division is inherent of the preparation conditions, and independent of external agents such as a dc magnetic field.

2. Effect of low frequency magnetic fields

When exposed to an oscillatory magnetic field, bacteria can behave unexpectedly. To study this behavior, trends of *S. aureus* were grown *in-situ* in presence of a magnetic field with frequency ranging from 0.0 Hz to 1.0 kHz. After an exposure time of about 6.0 h, we counted the number of CFU of the exposed cultures and compared with the control ($f=0.0$ Hz). The resulting growth curves of *S. aureus* are shown in Fig. 3 for several frequencies. As in the case of the dc magnetic field the CFU increase exponentially with exposure time, but on the contrary, it increases rapidly with increasing frequency. These curves are adjusted to exponential functions of the type $e^{t/\tau}$ (solid lines), with τ values depending monotonically on the frequency of the magnetic field, as shown in Fig. 4. The dotted line is a guide for the eye. This fact can be used to understand the dynamics of the bacterial growth.

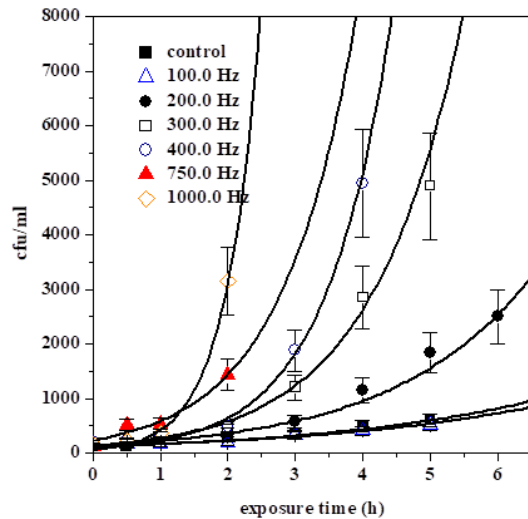


Fig. 3. Dependence of the colony forming units (CFU) on the time of exposure for several frequencies. Solid lines are fits to the exponential function $e^{t/\tau}$, as described in the text. The curve for $f = 0.0$ Hz (■), correspond to the control culture.

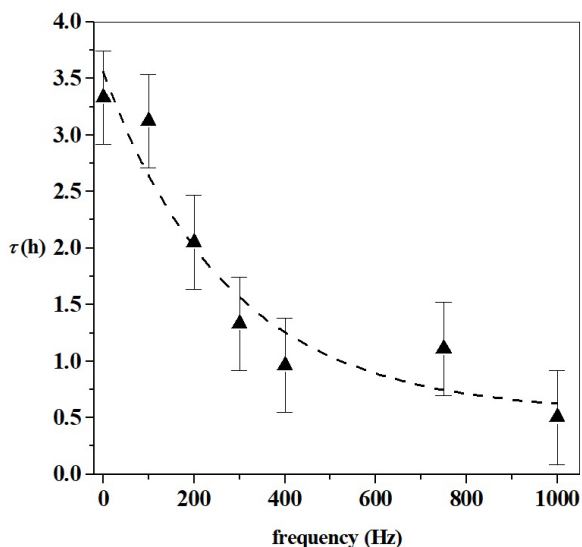


Fig. 4. Activation time, τ , as function of the frequency of the ac magnetic field. The dotted line is a guide for the eye.

According to these results, the growth dynamics in *S. aureus* cultures is governed by a synchronous frequency-independent mechanism, and the effect of frequency is to accelerate the cell division process. Our results indicate that the weak static field of a few G after a few hours give a measurable change in the growth rates of all of the bacterial species and are in agreements with previous works^{18,19}.

Conclusions

We have presented and discuss and experimental investigation on the effect of dc and ac magnetic fields on bacterium *S. aureus*. It was found that as prepared, the growth dynamics is governed by a synchronous mechanism. Although this mechanism is qualitatively unaffected by the magnetic field, the rate of growth decreases for increasing the field intensity, and increases for increasing the field frequency. We have determined that the activation time for the cell division depends on both magnitude and frequency of the applied field.

The question of how the growth dynamics of bacteria is affect by a magnetic field is not completely answered, and still an open issue. The fact that the activation time for a cell division can be expressed as a function of the magnitude and frequency of the magnetic field, can be important to understand metabolic changes due to ion transport across the cell membrane.

References

1. PORTIER C.J., WOLFE M.S. (Eds.), *NIEHS working group report, NIH Publication No. 98-3981*. 1998.
2. LOWY F. D., *N. Engl J Med* 339: 520-532. 1998.
3. BLANC D. S., FRANCIOLI P, Le C. A., GAZAGNE L, LECAILLON E, GUEUDET P, VANDENESCH F, ETIENNE J, *J Clin Microbiol* 39: 2287-2290. 2001.
4. CHAMBERS H.F. *Clin Microbiol Rev* 10: 781-791. 1997.
5. WEINTRAUB M. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* 79: 469-470. 1998.
6. SHARRARD W. J. *J Bone Joint Surg Br* 72: 347-355. 1990.
7. DJORDJEVIC D., PUCAR D., LEKIC D., *Pathophysiology* 5(1001):129. 1998.
8. CAMERON I.L., SHORT N.J., MARKOV M.S. *The Environmentalist* 27: 453-456. 2007.
9. SINGH R. P., *FAO Report*. 2001.
10. LIPIEC J., JANAS P., BARABASZ W., PYSZ M., PISULEWSKI, P. *Acta Agrophysica* 5: 357-365. 2005.
11. NAKASONO S., SAIKI, H. *Radiation Research* 154: 208-216. 2000.

12. FOJT L., STRAŠÁK L., VETTERL V., ŠMARDÁ J. *Bioelectrochemistry* 63: 337-341. 2004
13. MAKAREVICH A.V. *Biophysics* 44: 65-69. 1999
14. STRAŠÁK L., VETTERL V., ŠMARDÁ J. *Bioelectrochemistry* 55: 161-164. 2002.
15. CARIO P., GREENEBAUM B., GOODMAN E.M. *J. Cell. Biochem.* 68: 1-7. 1998.
16. IKEHATA M., KOANA T., SUZUKI Y., SHIMIZU, H., NAKAGAWA M. *Mutation Research* 427: 147-156. 1999.
17. WEBB G. F. *Trans Am Math Soc* 303: 751-763. 1987.
18. TESSARO L., MURUGAN N., PERSINGER, M. *Microbiological Research* 172: 26-33. 2015.
19. MASOOD S. *Biophysical Reviews and Letters* 12(4): 177-186. 2017.

Evaluación preliminar del pH de las lluvias en la ciudad de Portoviejo, Ecuador

*Yulixis Cano**, *Ligbel Sánchez*, *Julio Torres Puentes*, *Mariuxi Litardo Velásquez*

Laboratorio de Ciencias Ambientales. Departamento de Química. Instituto de Ciencias Básicas,
Universidad Técnica de Manabí, Portoviejo, Ecuador

*yulixis.cano@utm.edu.ec

Recibido: 15-07-18 Aceptado: 03-09-18

Resumen

Las lluvias naturales globales generalmente presentan un valor de pH de 5,6, debido a la disolución del CO₂ atmosférico en el agua de lluvia. Se recolectaron muestras de lluvia por evento en dos sitios de la ciudad de Portoviejo, Ecuador, en el año 2018. El periodo de muestreo correspondió a la época húmeda de los primeros cinco meses del año. Las lluvias de Portoviejo presentaron valores por encima al pH natural de las lluvias, pHPPV= 6,09 - 6,81, mostrando que la atmósfera posee una influencia de especies químicas alcalinas. El 21% de las lluvias de ambos sitios de muestreo presentó el pH más alcalino, 7,5 - 8,0; esto se debe a la neutralización que ejercen los componentes alcalinos provenientes de las actividades antropogénicas de la región. Se estima que las sustancias químicas causantes del pH alcalino en la lluvia son especies de NH₄⁺ como consecuencia de la actividad agrícola, y partículas de Ca²⁺ y Mg²⁺ provenientes de la explotación de canteras de caliza, siendo estas dos actividades antropogénicas las principales de la región del litoral ecuatoriano.

Palabras clave: lluvias alcalinas, atmósfera alcalina, contaminación atmosférica, Litoral ecuatoriano

Preliminary evaluation of the pH of the rains in the city of Portoviejo, Ecuador

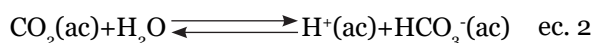
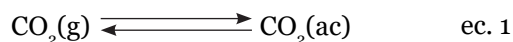
Abstract

Global natural rains generally have a value pH of 5.6, due to dissolution of atmospheric CO₂ in rainwater. Rain samples per event were collected at two sites in the Portoviejo's city, Ecuador, in 2018. The sampling period corresponded to the wet season of the first five months of the year. The Portoviejo rains presented values above the natural pH of the rains, pHPPV = 6.09 - 6.81, showing that the atmosphere has an influence of alkaline chemical species. 21% of the rains from both sampling sites had the most alkaline pH, 7.5 - 8.0; this is due to the neutralization of the alkaline components from anthropogenic activities in the region. It's estimated the chemical substances are causing the increase in the pH of the rain are NH₄⁺ species as a consequence of agricultural activity, and Ca²⁺ and Mg²⁺ particles from mining of limestone quarries, these two activities being the main ones in the region of Ecuadorian littoral.

Key words: alkaline rains, alkaline atmosphere, atmospheric pollution, Ecuadorian Littoral

Introducción

El CO₂ atmosférico se disuelve en el agua de lluvia (ec. 1-2) alterando la concentración de iones hidrónios (H₃O⁺) y estableciendo el pH a 5,6 cuando se trata de una lluvia natural; encontrar lluvias con un pH por encima de este valor permite definir las como lluvias alcalinas.¹



Las lluvias alcalinas son consecuencia directa de una atmósfera alcalina, lo que se traduce en que especies químicas al contacto con el agua de lluvia se transforman en compuestos capaces de disminuir la concentración de iones hidrónios (H₃O⁺), aumentando el pH de la lluvia.² Las sustancias químicas en la atmósfera capaces de aumentar el pH de la lluvia suelen ser: especies de amonio (NH₄⁺) como producto de la transformación del amoniaco o urea empleados en la agricultura, partículas de calcio y magnesio (Ca²⁺ y Mg²⁺) provenientes de la explotación minera de canteras, así como otros compuestos orgánicos volátiles que acompañan a estas actividades antropogénicas.³ Como es bien conocido en Ecuador, específicamente en ciudades cercanas a Portoviejo, existen un sinnúmero de canteras de caliza a cielo abierto que están en plena explotación,⁴ lo que conlleva a la incorporación de los compuestos químicos mencionados anteriormente, en forma de partículas de tamaño microscópico (entre 1 y 10 mm de diámetro) en la atmósfera, alterando la química y el balance iónico de la misma. La actividad económica de explotación de canteras es una fuente antropogénica de gran influencia sobre la atmósfera de la región, así como a las emisiones de NH₄⁺ provenientes de la agricultura, que también son un contribuyente a la atmósfera en la ciudad de Portoviejo. La acción de los vientos sobre las fuentes de emisión de especies Ca²⁺, Mg²⁺ y NH₄⁺, favorece a la formación de una atmósfera alcalina en la ciudad. Las especies químicas orgánicas e inorgánicas emitidas en los procesos antes mencionados, al ser disueltas o arrastradas por las lluvias hacia las ciudades o poblados, pueden generar cambios químicos y bioquímicos en la salud de sus habitantes, tales como conjuntivitis alérgica, blefaritis, bronquitis y neumoniosis, entre otras enfermedades respiratorias y oculares.^{5,6}

El propósito de esta investigación es evaluar el pH de las lluvias de la ciudad de Portoviejo en la época húmeda del año 2018, como un estudio preliminar de la química atmosférica en esta región del Litoral Ecuatoriano.

Materiales y Métodos

La ciudad de Portoviejo se encuentra situada en zona Litoral Ecuatoriano, en la Provincia de Manabí, entre las siguientes coordenadas: 1°03'16.5" de Latitud Sur y 80°27'26.7" de Longitud Oeste.⁷ Posee un clima cálido ecuatorial con una temperatura promedio de 25,5°C y una elevación respecto al mar de 60 m. Tiene una población aproximada de 210.000 habitantes. En Portoviejo se presenta un régimen de lluvia que se extiende desde noviembre hasta mayo, exhibiendo una distribución unimodal, con un máximo de precipitación en el mes de febrero y un mínimo en noviembre.⁸

Las muestras de lluvia se recolectaron por evento durante el período de lluvia, desde enero a mayo del año 2018 (n=13 eventos) en dos sitios de muestreo de la ciudad: sitio A en la zona oeste (1°02'40.4"S 80°28'50.5"W) y sitio B en la zona sur (1°03'53.7"S 80°27'15.5"W), utilizando colectores manuales a una distancia de 3 m de altura (Figura 1).

Finalizado cada evento de lluvia se midió *in situ* el volumen recolectado, el pH y la conductividad de cada muestra según lo establece la literatura.⁹ Se prepararon cinco (5) blancos de agua destilada y, usando el mismo procedimiento, se determinaron sus pH y conductividad. El pH y la conductividad de las muestras de lluvia se midieron empleando un pH-metro, marca OAKTON, modelo pH 510 series.



Figura 1. Mapa de Ecuador y de Portoviejo. Ubicación de los sitios de recolección de muestras: Sitio A y Sitio B

Resultados y Discusión

La Tabla 1 presenta los valores de pH encontrados para cada evento de lluvia colectado en los dos sitios de muestreo de la ciudad de Portoviejo. Los pH de las lluvias presentaron valores máximos y mínimos entre 6,04 y 7,79; el promedio pesado en volumen (PPV) del pH en el Sitio A fue 6,81, y en el Sitio B fue

6,09, mostrando ambos sitios valores alcalinos con respecto al pH natural de lluvias (>5,6). Esto permite estimar la influencia principalmente de especies inorgánicas NH_4^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} , provenientes de las actividades antropogénicas de la región.^{10,11}

Tabla 1. Valores de pH encontrados en los eventos de lluvia producidos en los sitios A y B de la ciudad de Portoviejo, período enero-mayo 2018

SITIO A					SITIO B			
Mes	No. muestra Sitio A	Fecha	pH	Volumen (mL)	No. muestra Sitio B	Fecha	pH	Volumen (mL)
Enero	-----No fue suficiente muestra-----				-----No fue suficiente muestra-----			
Febrero	1	06/02/2018	7,18	630	1	14-15/02/2018	6,04	150
	2	15/02/2018	6,26	550	2	15-16/02/2018	6,42	720
	3	19/02/2018	6,34	130	3	19/02/2018	6,31	3000
	4	21/02/2018	6,90	470	4	19-20/02/2018	6,26	1000
	5	04/03/2018	7,61	510	5	04-05/03/2018	7,74	415
Marzo	6	07/03/2018	6,63	450	-----No fue suficiente muestra-----			
	7	20/03/2018	7,27	755	6	20-21/03/2018	7,04	300
Abril	-----No fue suficiente muestra-----				7	23/04/2018	6,51	180
	-----No fue suficiente muestra-----				8	28/04/2018	7,35	620
Mayo	8	7-8/05/2018	7,27	107	9	8-9/05/2017	7,79	550
	9	8-9/05/2018	7,87	496	10	09/05/2018	6,17	1130

La distribución de la frecuencia de los valores de pH en los eventos de lluvia exhibe que un 22% de las muestras poseen un pH cercano a 5,6 (pH natural) en el Sitio A, y en el Sitio B, el 50% de los eventos evidenciaron un pH más cercano a 7. En la Figura 2 se puede observar que alrededor del 21% de las lluvias de ambos sitios presentaron el valor de pH más alcalino encontrado en este muestreo, entre 7,5 y 8,0, este efecto se mide por primera vez en un estudio de este tipo, y se estima que puede ser una consecuencia directa de la neutralización que ejercen los componentes alcalinos provenientes de las actividades antropogénicas en la región.

En el Sitio A, la frecuencia máxima de precipitación se encontró en el rango de pH de 7,0 a 7,5 (33% de los eventos); por otro lado, en el Sitio B, la mayor frecuencia de precipitación se presentó en el rango de valores de 6,0 a 6,5, abarcando un 50% de los eventos.

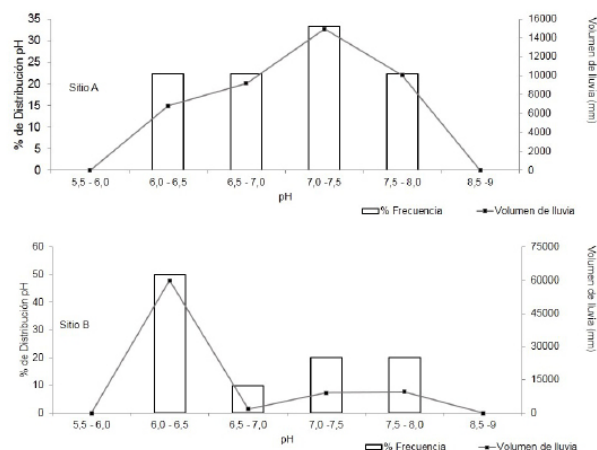


Figura 2. Distribución de valores encontrados de pH en las muestras de lluvia de la ciudad de Portoviejo, Sitios A y B, en el periodo enero-mayo 2018.

Este comportamiento en la distribución de valores de pH, permite establecer que el mayor volumen de lluvia que precipita sobre la ciudad de Portoviejo posee un pH por encima del valor natural de lluvia global.

Por estudios realizados en otros lugares, se conoce que las especies alcalinas de mayor presencia e importancia en el balance iónico de la atmósfera son las especies inorgánicas NH_4^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} , por lo tanto, se prevé la presencia de alguno o todos estos iones en la atmósfera de Portoviejo, debido a las actividades antrópicas desarrolladas en la región (agricultura y minería de caliza a cielo abierto).¹²⁻¹⁷

En estudios de pH en lluvia realizados en la región continental de América del Sur, se muestran condiciones atmosféricas variadas: en Maracaibo, Venezuela, siendo una zona costera y con un crecimiento urbano importante, se han encontrado lluvias ligeramente ácidas (pHPPV=4,8) a causa del incremento de contaminación antropogénica principalmente de iones SO_4^{2-} , Cl^- y NO_3^- ; por otra parte, en Salta, Argentina, se midieron niveles de acidez en lluvias y se obtuvieron valores similares a los de la lluvia natural (pHPPV=5,52) que, acompañado de otras evaluaciones realizadas, permite concluir que no hay grandes aportes de contaminación antrópica en esta ciudad.¹⁸ En un trabajo publicado de la ciudad de Quito, Ecuador, se muestra como los pH de lluvia presentan valores por debajo de 5,6 en un 50% de las muestras recolectadas, mientras que se detectan pH básicos al occidente de la ciudad, donde hay mayor influencia por la vegetación de la ladera de Pichincha, permitiendo la neutralización de la acidez atmosférica.¹⁹ En la Amazonía de Brasil, donde la influencia de los incendios forestales altera gravemente toda la atmósfera de esta zona, se realizó un estudio de pH en lluvias donde se determinó un promedio cercano al valor de la lluvia natural de 5,4 (min-max = 2,7-8,5): los eventos de lluvia ácida con valores de pH inferiores a 4,7 alcanzaron el 25 %, y el 60 % de ellos tuvieron valores inferiores a 5,6.²⁰

Esta caracterización química de las lluvias en la ciudad de Portoviejo, permiten reflexionar y, en el futuro, relacionar esta realidad con la prevalencia de enfermedades oculares o respiratorias en sus pobladores, ya que existen evidencias de que la contaminación atmosférica aumenta las afecciones de salud del tipo: conjuntivitis, blefaritis, bronquitis, neumoconiosis benigna y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).^{5,6} Según la OMS la contaminación atmosférica en las ciudades y zonas rurales de todo el mundo provoca cada año 4,2 millones de defunciones prematuras.²¹

Conclusión

Se concluye que las lluvias de la ciudad de Portoviejo pueden ser consideradas como alcalinas (pHPPV = 6,09 - 6,81), ya que los eventos de mayor volumen poseen valores de pH por encima del valor natural para lluvias globales (pH=5,6). Se estima que la gran influencia de las fuentes antrópicas de la región, como la explotación de las canteras de caliza y las actividades agrícolas de la zona, son las principales responsables de este efecto atmosférico debido a la emisión de contaminantes inorgánicos como NH_4^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} .

Agradecimiento

Se agradece a la Universidad Técnica de Manabí (UTM) y al Instituto de Investigación de la UTM por el financiamiento de este trabajo a través del proyecto de investigación: "Evaluación preliminar de los niveles de acidez - basicidad de las lluvias, depositación seca y su composición iónica soluble en dos sitios de Portoviejo, Manabí, Ecuador".

Referencias bibliográficas

1. SÁNCHEZ L., MORALES J., VELÁSQUEZ H., PORTILLO D., CANO Y., MONTILLA B., IRIARTE N., MESA J. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 25 (3): 169 - 179. 2009. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v25n3/v25n3a5.pdf>
2. QIAO X., XIAO W., JAFFE D., KOTA S.H., YING Q., TANG Y. *Science of The Total Environment* 511: 28-36. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.12.028>
3. GIBSON M.A., BYERLY D.W. *Lessons from Limestone: How to teach all sciences with limestone*. The Geological Society of America. USA. 23-32. 2018. https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=RZVRDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA23&dq=quarry+limestone+chemistry+&ots=POGqu71fU5&sig=KAHQjQsiZ15IngboDNwm8dExsxA&redir_esc=y#v=onepage&q=quarry%20limestone%20chemistry&f=false
4. REA TOAPANTA, A.R. *FIGEMPA: Investigación y Desarrollo*. 2 (2): 41-52. 2017. <file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/68-Texto%20del%20art%C3%ADculo-197-2-10-20190130.pdf>
5. <http://www.esferasalud.com/salud-medio-ambiente/enfermedades-producidas-medio-ambiente>. Fecha de consulta: 10/06/2018

6. BELL J.E., LANGFORD BROWN C., CONLON K., HERRING S., KUNKEL K.E., LAWRIMORE J., LUBER G., SCHRECK C., SMITH A., UEJIO C. *Journal of the Air & Waste Management Association*. 68 (4): 265-287. 2018. <https://doi.org/10.1080/10962247.2017.1401017>
7. <https://www.geodatos.net/coordenadas/ecuador/portoviejo> Fecha de consulta: 12/05/2018
8. https://www.meteoblue.com/es/tiempo/historyclimate/climatemodelled/portoviejo_ecuador_3652941 Fecha de consulta: 12/05/2018
9. **Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater: 4500-H+ pH VALUE** (2017). 23rd. January 2018. <https://doi.org/10.2105/SMWW.2882.082>
10. BUDHAVANT K.B., RAO P.S.P., SAFAI P.D., GAWHANE R.D., RAJU M.P., MAHAJAN C.M., SATSANGI P.G. *Aerosol and Air Quality Research*. 12: 561-570. 2012. <https://aaqr.org/articles/aaqr-11-12-0a-0233.pdf>
11. RAO P.S.P., TIWARI S., MATWALE J.L., PERVEZ S., TUNVED P., SAFAI P.D., SRIVASTAVA A.K., BISHT D.S., SINGH S., HOPKE P.K. *Atmospheric Environment*, 146: 90-99. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2016.06.069>
12. ROYA., CHATTERJEEA., TIWARI S., SARKAR CH., KUMAR DAS S., KUMAR GHOSH S., RAHA S. *Atmospheric Research*, 181: 44-53, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2016.06.005>
13. ZHANG D.D., PEART M.R., JIM C.Y. LA J. *Journal of Geophysical Research Atmospheres*. 107 (14): ACH9-1 - ACH9-6. 2002. DOI: 10.1029/2001JD001332
14. KUMAR R., RANI A., SINGH S.P., MAHARAJ KUMARI K., SRIVASTAVA S.S. *Journal of Atmospheric Chemistry* 41: 265-279. 2002. <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1014955715633>
15. KHAN M.N., SARWAR A. *Atmósfera*. 27 (1): 35-46. 2014. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=So187-62362014000100004&lng=es&nrm=iso
16. NIU H., HEY., LU X.X., SHEN J., DU J., ZHANG T., PU T., XIN H., CHANG L. *Atmospheric Research*. 144: 195-206. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2014.03.010>
17. NATH, S. AND YADAV, S. *Aerosol Air Qual. Res.* 18: 26-36. 2018. <https://doi.org/10.4209/aaqr.2017.01.0033>
18. Romero Orué M., Gaiero D., Paris M., Fórmica S., Murray J., de la Hoz M., López E., Kirschbaum, A. *AndGeo*, 44 (1): 59-78. 2017. <https://dx.doi.org/10.5027/andgeoV44n1-a04>
19. Flores R., Bonilla P. *Química Central*. 1 (01): 27-34. 2010. <https://doi.org/10.29166/quimica.viii.1192>
20. Fonseca Duarte A., Gioda A., Ziolli R., Duó D. *Rev Cubana Salud Pública*. 39 (4), 627-639. 2013. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=So864-34662013000400002&lng=es
21. [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/ambient-\(outdoor\)-air-quality-and-health](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/ambient-(outdoor)-air-quality-and-health). Fecha de consulta: 10-05-2018

Caracterización química y contenido de compuestos fenólicos totales de hojas de *Moringa oleífera* Lam cultivadas en el estado Zulia, Venezuela

Viluzca Chiquinquirá Fernández Palmar^{1*} y Joan Vilchez Chávez²

¹Universidad del Zulia. Facultad Experimental de Ciencias. Departamento de Química. Laboratorio de Alimentos

²Moringales Biotech and Food C.A. Nucleo Agroalimentario Palito Blanco, Parcelamiento lo De Dlría.

*Fvilu12@gmail.com

Recibido: 11-09-18 Aceptado: 23-10-18

Resumen

Se evaluaron las propiedades químicas y el contenido de compuestos fenólicos totales de hojas de *Moringa oleífera* Lam cultivadas en el estado Zulia. La caracterización fisicoquímica se realizó de acuerdo a lo establecido por la A.O.A.C. La determinación de compuestos fenólicos totales se realizó por el método de Folin-Ciocalteu y el contenido de minerales empleando espectrometría de absorción atómica. Las hojas de moringa presentaron un contenido de 21 mg/100mg de proteínas siendo este constituyente el de mayor importancia desde el punto de vista nutricional. El mineral calcio (Ca) fue el más abundante (0,15 mg/100mg) seguido de sodio (Na) y hierro (Fe) con contenidos de 0,33mg/100mg respectivamente. No se determinaron cantidades significativas de potasio (K) y cobre (Cu). Los extractos de *Moringa oleífera* Lam fueron obtenidos empleando solución etanólica al 70% con dos técnicas de extracción (1) maceración con agitación mecánica y (2) extracción con ultrasonido. Las muestras obtenidas con extracción ultrasónica presentaron un contenido de compuestos fenólicos totales 18,70 ± 0,032 mg GAE/100g, mayores a los obtenidos por agitación mecánica lo que demuestra que la técnica empleada afecta la extracción de estos compuestos en la matriz. Los ensayos de screening fitoquímico de los extractos de hojas de *Moringa oleífera* indicaron la presencia de flavonoides, fitoesteroles, taninos y diterpenos por los cuales se puede inferir que los extractos pueden presentar actividad citogénica de interés. Las hojas de *Moringa Oleífera* Lam pueden constituir una fuente de interesante de macro nutrientes, micronutrientes y compuestos funcionales, antioxidantes tipo compuestos fenólicos para la dieta.

Palabras claves: *Moringa oleífera*, compuestos fenólicos.

Chemical characterization and total phenolic content of *Moringa oleífera* Lam leaves grown in the state of Zulia, Venezuela

Abstract

The chemical properties and content of total phenolic compounds of *Moringa oleífera* Lam leaves grown in the state of Zulia are evaluated. The physicochemical characterization was carried out according to established by the A.O.A.C. The determination of total phenolic compounds was carried out by the Folin-Ciocalteu method and the mineral content using atomic absorption spectrometry. The morning leaves since they present a content of 21 mg/100 mg of proteins, this constituent being the most important from a nutritional point of view. The mineral calcium (Ca) was the most abundant (0.15 mg/100mg) followed by sodium and iron with contents of 0.33mg/100mg. No significant amounts of potassium (K) and copper (Cu) were determined. *Moringa oleífera* Lam extracts were obtained using 70% ethanolic solution with two extraction techniques (1) maceration with mechanical stirring and (2) extraction with ultrasound. The samples obtained with ultrasonic extraction presented a content of 18.70 ± 0.032 mg GAE / 100g, higher than those obtained by mechanical stirring, which shows that the technique used affects the extraction of these compounds in the matrix. The phytochemical screening tests of *Moringa oleífera* leaf extracts indicated the presence of flavonoids, phytosterols, tannins and diterpenes by which it can be inferred that the extracts may present cytogenetic activity of interest. *Moringa Oleífera* Lam leaves can be an interesting source of macro-nutrients, micronutrients and functional compounds, antioxidants such as phenolic compounds for the diet.

Key words: *Moringa oleífera*, phenolic compounds.

Introducción

Los compuestos fenólicos son sustancias orgánicas ampliamente distribuidas en el reino vegetal, se sintetizan como compuestos secundarios y son en gran medida responsables de las propiedades del color, la astringencia y el aroma de los vegetales 1,2. Las propiedades anti-radicales libres de los fenoles se dirigen fundamentalmente hacia los radicales hidroxilos y superóxidos, especies altamente reactivas implicadas en el inicio de la cadena de peroxidación lipídica, previenen la agregación paquetería y protegiendo a las lipoproteínas de baja densidad de la oxidación 3. Los antioxidantes pueden definirse como sustancias que previenen o inhiben la oxidación de biomoléculas a nivel celular 2. En condiciones normales el organismo humano cuenta con sistemas antioxidantes los cuales mantienen el equilibrio redox a nivel celular, sin embargo, un incremento de estos radicales libres puede modificar importantes moléculas como el ADN, lípidos y proteínas afectando su funcionalidad y causando un desbalance en la producción de especies reactivas de oxígeno y en la defensa antioxidante provocando un daño oxidativo conocido como estrés oxidativo, el cual se ha asociado a varias enfermedades humanas incluidas: cáncer, neurodegeneración, enfermedades inflamatorias, cardiovasculares y envejecimiento 4,5. *Moringa oleífera*, es un árbol perteneciente a la familia *Moringaceae*, es nativo de las estribaciones meridionales del Himalaya y en la actualidad se cultiva prácticamente en todas las regiones tropicales, subtropicales y semiáridas del mundo. Las hojas, flores y frutos son apreciados por su valor nutritivo y pueden ser usados tanto en la alimentación humana como en la animal. Las raíces presentan dos alcaloides, la *moringina* y *moringinina*, cuyos efectos alucinógenos cuestionan su uso sin fines médicos supervisados. Las hojas son excepcionalmente ricas en vitaminas y diferentes aminoácidos, por lo que se recomiendan para tratar problemas de malnutrición en niños 6,7. Los compuestos fenólicos presentes en *Moringa* incluye flavonoides, antocianos, proantocianidinas (o taninos condensados), quercentina, kaempferol, cinamatos y formas derivadas del ácido cafeico que tienen importante actividad antioxidante y microbiana 8.

Materiales y métodos

1. Obtención de la materia prima

El material vegetal analizado fue provisto por Moringales Biotech and Food C.A. estado Zulia-Venezuela. El muestreo de las hojas se realizó durante el periodo seco (mayo 2018), las hojas recolectadas fueron almacenadas en cajas de polietileno y trasladadas al área de deshoje, lavado

y deshidratado. El secado del material se realizó empleando un deshidratador de las siguientes características: 2m x 0,50m x 1m con 20 bandejas de malla metálica, 2 ventiladores de extracción con resistencia-controlador eléctrico 001CC a una temperatura de 35-40 °C durante 24h-36h hasta una humedad aproximada de 5%. La muestra seca fue pulverizada empleando un molinillo TURMEX® y posteriormente tamizada con un tamiz de apertura 20 mech (apertura de 850 µm). Se tomaron (3) muestras de 60 g, las cuales se almacenaron en envases ámbar y fueron mantenidos en un desecador protegido de la luz hasta su análisis.

2. Caracterización fisicoquímica de las muestras de *Moringa Oleífera Lam.*

Se evaluaron los parámetros acidez iónica, humedad, grasa, proteínas y carbohidratos de acuerdo a lo establecido por la Association of Official Agricultural Chemists (AOAC). El contenido de metales calcio, hierro, potasio, sodio y magnesio se realizó en un espectrofotómetro AA- Shimadzu modelo AA 3250 previa digestión ácida con ácido nítrico empleando sistemas cerrados.

3. Contenido de compuestos fenólicos totales

Obtención de los extractos: Se emplearon dos métodos de extracción: (1). Maceración con agitación mecánica y (2). Agitación Ultrasónica de alta intensidad (USAI). Se empleó etanol al 70% (v/v) agente de extracción bajo condiciones previamente establecidas^{11,12}. Una vez obtenidos los extractos se centrifugaron (20 min y 12.000 rpm) y se concentraron a presión reducida en un evaporador giratorio (Buchi Rotavapor R-215, Suiza) bajo vacío controlado. Los extractos se almacenaron a -5°C en envases ámbar hasta su análisis el cual se realizó en un tiempo no mayor de 48h desde su obtención para evitar el deterioro de los compuestos fenólicos extraídos.

Purificación de compuestos fenólicos totales: Para evaluar la calidad fenólica de los extractos estos se separaron empleando cartuchos C₁₈ (Alltech® Maxi-Clean™ Cartridges, High Flow tamaño de partícula: 100µm y tamaño de poro: 60Å). Los extractos se concentraron a sequedad en un rotavapor giratorio (Buchi Rotavapor R-215, Suiza) unido a una bomba de aspiración a 45 °C. Las muestras se re-diluyeron con agua acidificada (HCl al 0,01%) y pasadas por los cartuchos C₁₈ previamente activados con 20 mL de metanol acidificado, seguido de 30 mL de agua acidificada, los compuestos solubles en agua, incluyendo azúcares y ácidos, se eluyeron con 30 mL de agua acidificada y los compuestos fenólicos se

recuperaron con 15 mL de metanol acidificado. Los extractos se emplearon para cuantificar el contenido de compuestos fenólicos totales.

Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales: Se realizó empleando el reactivo Folin Ciocalteu según lo reportado por Singleton y Rossi¹³. Los resultados se expresaron en equivalentes de ácido gálico (GAE, por sus siglas en inglés: Galic Acid Equivalents).

Screening fitoquímico de extracto etanólico de Moringa Oleífera Lam: La caracterización fitoquímica del extracto de hojas de *Moringa oleífera* Lam incluyó las pruebas de flavonoides (Shinoda y Reactivo Alcalino), esteroides (ensayos de Salkowski y Liebermann Burchard), saponinas (ensayo de espuma), taninos (ensayo del cloruro férrico y ensayo de gelatina), fenoles (ensayo de FeCl₃) y alcaloides (ensayos de Mayer, Wagner y Dragendorff) de acuerdo a lo señalado por Tiwari y col.¹⁵ El extracto analizado fue el obtenido luego de la extracción (ambos métodos) sin realizar el tratamiento de micro extracción con Cartuchos C8

Resultados y Discusión

1. Caracterización fisicoquímica de hojas deshidratadas de *Moringa oleífera* Lam

En la Tabla 1 se muestran los resultados de la caracterización química y evaluación nutricional de hojas deshidratadas de *Moringa oleífera* Lam. Los parámetros fisicoquímicos humedad y pH cumple con lo establecido por el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA67.04.50:08 para este tipo de muestras. Las hojas presentaron un contenido proteico de 21mg/100mg el cual puede ser beneficioso para su implementación como fuente exógena de este componente a la dieta. El contenido de metales como hierro y manganeso constituye de las hojas de moringa un aporte para el suplemento de estos en la dieta. El hierro y manganeso han sido reportados como minerales esenciales para el mantenimiento del organismo, el primero es esencial para producir las proteínas hemoglobina y mioglobina que transportan el oxígeno a la sangre y el segundo es fundamental para la activación de diversas enzimas, la correcta utilización de las vitaminas B₁ y E y necesario para sintetizar la acetilcolina y un neurotransmisor cuya deficiencia puede estar conectada a la *diabetes mellitus*, además participa en la producción de anticuerpos, protegiendo al organismo de infecciones².

Tabla 1. Caracterización química y evaluación nutricional de hojas deshidratadas de *Moringa oleífera* Lam

ANÁLISIS QUÍMICO	VALOR OBTENIDO
Humedad (% m/m)	5,32±0,13
pH	4,22±0,005
Grasa total, mg/100mg	11,01±0,012
Carbohidratos totales, mg/100mg	42
Proteínas, mg/100mg	21,12±0,01
Calcio, mg/100g	0,15±0,001
Cobre, mg/100mg	No detectable
Hierro, mg/100mg	0,066±0,0012
Potasio, mg/100mg	No detectable
Sodio, mg/100mg	0,33±0,005
Manganeso, mg/100mg	0,066±0,0011

Nota: ¹Valores promedio del análisis de las muestras por triplicado ± desviación estándar

2. Contenido de compuestos fenólicos totales

Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales. El contenido de compuestos fenólicos totales en extracto crudo y purificado se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Contenido de compuestos fenólicos totales de hojas deshidratadas de *Moringa oleífera* Lam

Extractos fenólicos purificados (mg/ g extracto seco)	Observación experimental de interés
7,23±0,077 ^b	Extracto etanólicos (maceración con agitación mecánica)
18,70 ±0,0,32 ^a	Extracto etanólicos (USAI)

a,b Índices de Duncan diferentes indican diferencias significativas entre la serie de datos (p<0,05)

El contenido de compuestos fenólicos en las muestras analizadas fue superior (p<0,05) cuando se empleó USAI para la extracción de estos compuestos. La aplicación de ultrasonido incita la formación de pequeñas burbujas sometidas a una rápida compresión y expansión adiabática, que provoca un aumento local de la temperatura y presión dentro de ellas, lo que puede provocar un aumento en el rendimiento de extracción^{15,16}. Durante la sonicación, el proceso de cavitación provoca el hinchamiento de las células, absorción del solvente y una ampliación de los poros de la pared celular con lo cual se permite una mayor difusividad del solvente a través de los tejidos y los rendimientos de extracción son favorecidos, así mismo debe considerarse el hecho de que la sonicación puede incitar el rompimiento de las paredes celulares y facilitar el “lavado” del contenido de las mismas¹⁶. La técnica es adicionalmente considerada como una tecnología inserta en la *Green Chemistry* y comparada con otras técnicas más sofisticadas para la extracción de estos metabolitos a escala industrial la misma se reconoce como de más fácil operatividad y bajo costo comparada con técnicas como extracción supercrítica de fluidos o microondas.

Una de las limitaciones de los procesos de extracción de compuestos bioactivos es la afinidad del agente extractor y el sustrato, así aunque la extracción busque solubilizar los compuestos fenólicos en la matriz, otros compuestos pueden

ser extraídos en el proceso. Por esta razón para evaluar la pureza fenólica de los extractos estos se purificaron con el empleo de columnas C₁₈.

El contenido de compuestos fenólicos totales superior al reportado por Valdes–Hernández¹⁸ para hojas *Moringa oleífera* Lam *variedad supergenius*, cultivadas en Instituto Finlay (La Habana, Cuba), quienes reportaron valores de 17,5 mg/ g extracto seco. Pakade y col., 19 han reportado valores de 42,5±0,14 mg/ g extracto seco en hojas de origen nicaragüense, 28,7 ±4,0; 31,9 ±4,9 y 30,4±5,9 mg/ g extracto seco en hojas pulverizadas para suplemento distribuidas por proveedor comercial. Estos valores son superiores a los determinados en este estudio, sin embargo es importante destacar que los valores en dichas investigaciones fueron determinados en extractos cetónicos, los cuales a diferencia de los etanólicos obtenidos en esta investigación su aplicabilidad es cuestionable debido a su alta toxicidad, por lo cual el etanol es un solvente más atractivo para realizar estas extracciones ya que tiene propiedades químicas a fines con los metabolitos a extraer, siendo a la vez menos toxico.

Los valores obtenidos del contenido de compuestos fenólicos (mg GAE/100g) son superiores a los reportados para otras fuentes tradicionales de estos metabolitos 11,8 ±6,0 (repollo), 14,4 ±2,6 (espinacas); 10,4 ±7,9 (frijoles) 14,7 ±3,9 (coliflor) y 17,6 ±2,9 (brócoli) por lo cual su inclusión en la dieta puede ser considerada como fuente de compuestos fenólicos en la dieta con los efectos positivos derivados y/o asociados para el beneficio del consumidor.

3.1. Screening fitoquímico de los extractos etanólicos

Los resultados de la caracterización fitoquímica del extracto etanólico en hojas *Moringa oleífera* Lam Tabla 3. El extracto contiene taninos, flavonoides, terpenos y esteroides. No se evidenció la presencia de alcaloides en lo extractos. La formación de un precipitado rojo cuando los extractos fueron tratados con solución Fehling indica la presencia de glucósidos en su composición. Los flavonoides por su actividad antioxidante y microbiana y los fenoles son potentes captadores de radicales libres, antivirales, antimicrobianos y antiinflamatorios 20.

Tabla 3. Análisis fitoquímico de extracto etanólicos de hojas *Moringa oleífera* Lam

Constituyente	Prueba	Resultado	Descripción del resultado
Alcaloides	Ensayo de Mayer Ensayo de Wagner Ensayo de Dragendroff	-	Formación de precipitado blanco Formación de precipitado marrón Formación de precipitado rojo
Flavonoides	Shinoda Reactivo Alcalino	+	Coloración magenta Coloración amarilla/incolora
Glucósidos	Ensayo de Fehling Ensayo de Molich	-	Precipitado rojo Formación anillo violeta
Saponinas	Ensayo de espuma	-	Formación de espuma (< 20 s)
Taninos	Ensayo del cloruro férrico Ensayo de gelatina	+	Precipitado verde oscuro Precipitado blanco
Fitoesteroides	Ensayo de Salkowski Ensayo Liebermann Burchard	+	Coloración amarilla Anillo marrón
Diterpenos	Ensayo de acetato de cobre	+	Coloración esmeralda

Conclusión

Las hojas deshidratadas de *Moringa oleífera* Lam son una fuente de compuestos fenólicos y otros metabolitos secundarios para la dieta. Presentan una calidad nutricional de elevada para el consumo como suplemento dietético, principalmente como fuente de hierro y proteínas.

Referencias bibliográficas

- Ashwell R., Ndhlala, M., Van Staden, J. *Molecules* 15(3): 6905-6930. 2010
- Benzie, I.; Choi, S. *Advances in Food and Nutrition Research* 71: 1-53. 2016.
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J., Tuñón, M. *Nutr Hosp.* 17: 271-278. 2002.
- Kyeong, J, Mi-Kyoung, K. *Review Molecule* 15: 7268-7291. 2010
- Gülçin, I. *Toxicol*, 81: 345-391. 2012.
- OLSON, M y FAHEY, J. *Rev. Mex. Biodiv*, 82(4):1071-1082. 2011
- Jayaprakasha, K., Selvi, T., Sakariah, K. *Food Res Int*, 36: 117-122. 2003.
- Goyal, B., Agrawal, B., Goyal, R., Mehta, A. *Natural Products Radiance*, 6 (4): 347-353. 2017.
- Meyer, B., Ferrigni, R.; Putnam, E., Jacobsen, B., Nichols, E., Mc Laughling, J. *Planta Med.* 45 (1): 31-34. 1982.
- Rodriguez E., Gutierrez, E., Quintero, R. *Rev. Cubana Plant Med*, 3: 26-29. 1997.
- Araya H.; Clavijo C.; Herrera C. *ALAN* 56 (4): 361-365. 2006.
- Hernández-Varela, J, Moncayo, A, Fernández, V, Sulbarán, B. *Revista de la Sociedad Química del Perú.* 79 (2): 175-177. 2013
- Singleton, V., Ross, J. *Am. J. Enol. Vitic.* 16: 44-158.1965.
- Galvan d'Alessandro, A., Kriaa, K., Nikov, I., Dimitrov, K. *Separ PurifTech* 93: 42-47. 2016.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., Kaur, H. *Int. Pharm. Sci.*, 1(1): 98-106. 2011.
- Japon-Lujan, R., Luque-Rodriguez, J., Luque de Castro, M. *J. Chromatogr. A.*, 110: 76-82. 2006.
- Vinatoru, M. *Ultrason. Sonochem*, 8, 303-313. 2001.
- Valdes-Hernandez, G., Viera, L., Comet-Rodriquez, R. *CENIC* 40: 135-145. 2015.
- Pakade, V., Cukrowska, V., Chimuka, L., *South African Journal of Science*, 109 (3-4): 1-5. 2005
- Marcano, D., Hasegawa, M., Fitoquímica Orgánica. Segunda Edición, Caracas, Venezuela, Ediciones Torino, pp. 117-234. 2002

Síntesis, caracterización y actividad antimicrobiana de un derivado 7-cloro-4-aminoquinolinsemicarbazona

Yonathan de J. Parra¹, Rosa E. Ferrer^{2*} y Jaime Charris³

¹Escuela de Ingeniería Ambiental, Facultad de Ingeniería en Geología, Minas, Petróleos y Ambiental, Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador.

²Departamento de Química, Facultad de Humanidades y Educación, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

³Laboratorio de Síntesis Orgánica, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

* rosaferrer28@gmail.com

Recibido: 05-10-18 Aceptado: 25-10-18

Resumen

El presente estudio describe la síntesis, caracterización y evaluación de la actividad antimicrobiana del 2-(1-{3-[(7-cloroquinolin-4-il)amino]fenil}etilideno)hidracinacarboxamida (**5**), el cual se diseñó y sintetizó aplicando una estrategia de hibridación molecular, considerando dos porciones farmacofóricas: 7-cloro-4-aminoquinolina y semicarbazona; ambas fracciones se han relacionado con la actividad antimicrobiana exhibida por una serie de derivados sintetizados. El compuesto **5** se caracterizó empleando estudios de RMN ¹H, RMN ¹³C y espectrometría de masas con ionización por electrospray (ESI-EM). La evaluación biológica demostró que el compuesto posee una actividad antimicrobiana contra la bacteria Gram (-) *Pseudomona aeruginosa*, comparable con las actividades correspondientes a la amikacina, ampicilina-sulbactam y la ofloxacina.

Palabras clave: semicarbazona, 7-cloro-4-aminoquinolina, actividad antimicrobiana, hibridación molecular.

Synthesis, characterization and antimicrobial activity of a 7-chloro-4-aminoquinolinesemicarbazone derivative

Abstract

This study describes the synthesis, characterization and antimicrobial activity evaluation of 2-(1-{3-[(7-chloroquinolin-4-yl)amino]phenyl}ethylidene)hydrazinocarboxamide (**5**), which was designed and synthesized applying a molecular hybridization strategy, considering two pharmacophoric portions: 7-chloro-4-aminoquinoline and semicarbazone; both fractions have been related to antimicrobial activity exhibited by a series of derivatives synthesized. Compound **5** was characterized using ¹H NMR, ¹³C NMR and Electrospray Ionization Mass Spectrometry (ESI-MS) studies. Biological evaluation showed that compound **5** exhibited antimicrobial activity against bacteria Gram (-) *Pseudomona aeruginosa*, comparable with the activities corresponding to Amikacin, Ampicillin/Sulbactam and Ofloxacin.

Keywords: semicarbazone, 7-chloro-4-aminoquinoline, antimicrobial activity, molecular hybridization.

Introducción

La Química Medicinal posee como objetivo central la identificación, diseño, síntesis y desarrollo de nuevos compuestos con potencial uso terapéutico. Dentro de la gran variedad de compuestos orgánicos estudiados existe un grupo con un alto perfil farmacológico y aplicaciones clínicas como es el caso de las semicarbazonas.

Las semicarbazonas han sido motivo de interés en el área farmacéutica debido a sus propiedades, principalmente de tipo antimicrobiana (1-5). Sin embargo, también han mostrado actividad antichagásica (6), anticonvulsivante (7) y antitumoral (8). Estas propiedades se han adjudicado al grupo semicarbazona como farmacóforo fundamental y al hecho de que también pueden ser precursoras de otros compuestos con igual o distinta actividad biológica. En la actualidad las semicarbazonas han cobrado relevancia al ser consideradas ligandos en la síntesis de complejos de coordinación, los cuales son capaces de potenciar su actividad por algún efecto sinérgico con el metal (9,10).

Por otra parte, los derivados de quinolina también son conocidos por su potencial actividad antibacterial y antifúngica (11-14). Estudios como la síntesis de derivados de 7-cloro-4-aminoquinolinas (15,16) con prometedoras actividades antimicobacterianas son el enfoque de este estudio, considerándose como otro farmacóforo de importancia en el diseño de compuestos con potencial actividad antimicrobiana.

La necesidad de progresar en el desarrollo de nuevas drogas antimicrobianas que permitan disminuir los eventos de resistencia y aumentar la eficacia, ha llevado a la generación de diversas propuestas metodológicas de diseño de drogas. Una de estas estrategias es la hibridación molecular, basada en la combinación de restos farmacofóricos de diferentes sustancias bioactivas para producir un nuevo compuesto híbrido con afinidad y eficacia mejoradas, en comparación con los compuestos originales (17).

En tal sentido, resulta interesante el diseño y síntesis de compuestos que incluyan los fragmentos farmacofóricos 7-cloro-4-aminoquinolínico y semicarbazona (hidracinacarboxamida), con la finalidad de evaluar su potencial actividad antimicrobiana. En este artículo se presentan la síntesis, caracterización y evaluación de la actividad antimicrobiana del 2-(1-{3-[(7-cloroquinolin-4-il)amino]fenil}etilideno)hidracinacarboxamida (**5**), compuesto novel que posee en su estructura química ambas porciones farmacofóricas (ver figura 1).

Materiales y métodos

Todos los reactivos y solventes empleados fueron de grado analítico. Los solventes se sometieron a previos procesos de secado mediante métodos estándares. La pureza de los compuestos sintetizados se evaluó por cromatografía de capa fina (CCF o TLC), usando placas de Gel de Sílice 60 con indicador fluorescente UV₂₅₄, una lámpara ultravioleta y un sistema de solvente adecuado. Todos los puntos de fusión se midieron empleando un fusiómetro digital Stuart Scientific modelo SMP3 (Sigma-Aldrich) y no fueron corregidos.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) se tomaron empleando dos espectrómetros, uno de marca JEOL ECLIPSE y otro de marca Bruker AVANCE II, de 270 MHz y 300 MHz para RMN ¹H y con potencia de 67,9 MHz y 75,47 MHz para RMN ¹³C, respectivamente. Se utilizó DMSO-d₆ como solvente. El desplazamiento químico (δ) se reportó en ppm y las constantes de acoplamiento (J) en Hz, empleando como referencia trazas de TMS, como estándar interno.

La espectrometría de masas por ionización electrospray (ESI-EM), se empleó para identificar el ión molecular precursor del compuesto novel **5**, usando un espectrómetro de masas de la serie TSQ Quantum con triple cuadrupolo (marca Thermo Scientific) acoplado a un sistema de cromatografía de líquidos (CL), bajo las siguientes condiciones de funcionamiento: voltaje de spray, 3,5-5kV; temperatura del capilar, 200-350°C; gas envolvente (N₂), 1,9-20 μ l/min. La muestra se solubilizó en DMSO a una concentración de 1 mM.

Los bioensayos sobre la actividad antimicrobiana se realizaron en el Departamento de Biología Celular de la Universidad Simón Bolívar, Caracas-Venezuela.

Procedimiento para la obtención del derivado 7-cloro-4-aminoquinolinsemicarbazona (5): La obtención del compuesto novel 2-(1-{3-[(7-cloroquinolin-4-il)amino]fenil}etilideno)hidracinacarboxamida (**5**) se realizó en dos pasos, iniciando con la síntesis del intermediario 3-[(7-cloroquinolin-4-il)amino]acetofenona (**3**), mediante un procedimiento reportado previamente (18). Seguidamente, el intermediario **3** se sometió a una reacción de adición nucleofílica para obtener el derivado **5**, según el esquema mostrado en la figura 1.

Síntesis de 3-[(7-cloroquinolin-4-il)amino]acetofenona (3): En un balón de reacción de tres bocas, provisto de un sistema de agitación y calentamiento, se preparó una mezcla de los reactivos en una relación molar 1:1, disolviendo 0,5 g (2,5 mmol) de 4,7-dicloro-quinolina (**1**) en etanol seco (25 mL) para posteriormente agregar 0,37 g (2,75 mmol) de la 3-aminoacetofenona (**2**), sometiendo la mezcla a calentamiento en reflujo

(80-85°C) durante 9 horas, manteniendo agitación constante y monitoreando el transcurso de la reacción por TLC. El sólido obtenido se filtró, se lavó con etanol y éter dietílico y se recrystalizó a partir de una mezcla de etanol-metanol (2:1).

Síntesis de 2-(1-{3-[(7-cloroquinolin-4-il)amino]fenil}etilideno)hidracinacarboxamida (5): En un balón de reacción de tres bocas, provisto de un sistema de agitación y calentamiento, se preparó una mezcla de los reactivos en una relación molar 1:1, disolviendo 0,42 g (1,42 mmol) de la 3-[(7-cloroquinolin-4-il)amino]acetofenona (**3**) en metanol seco (20 mL) hasta obtener una solución transparente. Posteriormente, se agregó 0,158 g (1,42 mmol) de clorhidrato de semicarbazida (**4**) y 0,116 g (1,41 mmol) de acetato de sodio, sometiendo la mezcla a calentamiento en reflujo (65-70°C), manteniendo el pH entre 4,0-5,0; bajo agitación constante y monitoreando el transcurso de la reacción por TLC. El sólido obtenido se filtró, se lavó con metanol por triplicado, se recrystalizó a partir de una mezcla de DMF-metanol (1:5) y finalmente se volvió a lavar con éter dietílico.

Actividad antimicrobiana

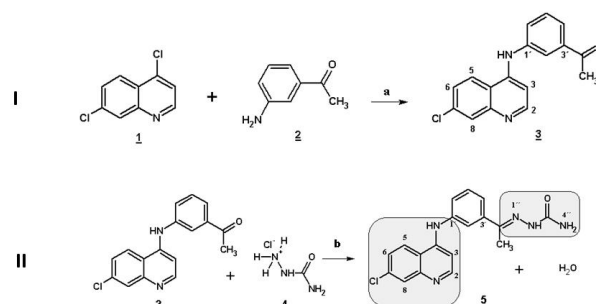
Los bioensayos se realizaron utilizando el método de difusión sobre placas de agar (19). Se preparó una suspensión de cada compuesto en la mezcla de solventes H₂O/DMSO/EtOH/Acetona 40:40:10:10 (C= 2-3 mg/mL, 5µl). Las referidas suspensiones se colocaron en discos de papel absorbente (Ø = 5 mm). La actividad biológica se evaluó contra los microorganismos Gram (+): *Staphylococcus aureus* (American Type Culture Collection [ATCC] 25923) y *Bacillus cereus* (ATCC 14579), los microorganismos Gram (-): *Escherichia coli* (ATCC 35218) y *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). Se evaluó la actividad antimicótica utilizando la levadura *Candida tropicalis* MLDM 345611. *P. aeruginosa*, *B. cereus* y *C. tropicalis* fueron incubados a 30 °C, mientras que *E. coli* y *S. aureus* fueron incubados a 37 °C.

Como controles positivos se utilizaron los antibióticos comerciales: Amikacina (AN), Ampicilina-Sulbactam (AS), Ofloxacina (O), y Tilmicosin (TIL) (BBL-Sensi-Disc); como control negativo se empleó la mezcla de solventes (S) utilizada para

solubilizar las muestras. Los cultivos microbianos (0,1 mL) crecidos en placas LB preparado en el laboratorio (20), y ajustados en solución salina (0,85 %v/v) a la concentración correspondiente al Standard de McFarland N° 0,5, fueron sembrados en superficie en agar Mueller-Hinton (Merck 1.05437). En el caso de *Candida tropicalis* se utilizó una placa de YPD para la evaluación, ya que las levaduras crecen mejor en este medio. Sobre el césped microbiano se colocaron los discos de papel de filtro con las diferentes muestras y los controles.

Resultados y discusión

El derivado 7-cloro-4-aminoquinolinsemicarbazona (**5**) se sintetizó a través de dos pasos, como se muestra en la figura 1.



- a) Reflujo en EtOH seco a 80-85°C por 9h
b) Reflujo en MeOH seco a 65-70°C / acetato de sodio / pH 4-5

Figura 1. Esquema de Síntesis de 2-(1-{3-[(7-cloroquinolin-4-il)amino]fenil}etilideno)hidracinacarboxamida (5)

El intermediario quinolinacetofenona (**3**) se sintetizó a partir de la reacción entre la 4,7-dicloroquinolina (**1**) y la 3-aminoacetofenona (**2**), a través de un mecanismo de sustitución nucleofílica aromática (SNAr). En esta reacción se controlaron variables como la temperatura y tiempo de reacción, a fin de obtener los mejores rendimientos. A continuación se presentan las propiedades físicas y características espectrales del intermediario 3-[(7-cloroquinolin-4-il)amino]acetofenona (**3**), las cuales se resumen en la tabla 1.

Tabla 1. Propiedades físicas y características espectrales del intermediario 3-[(7-cloroquinolin-4-il)amino]acetofenona (3)

Estado Físico	Punto de fusión
Sólido amarillo pálido	294 °C (Lit. [21] p.f. 250 °C).
RMN ¹H (270MHz, DMSO-d₆), [δ ppm, (multiplicidad, integral, asignación)]	
2.62 (s, 3H, CH ₃); 6.87 (d, 1H, H ₃ , J _{2,3} : 6.9 Hz); 7.75 (m, 2H, H _{4',6'}); 7.90 (dd, 1H, H _{6'} , J _{5,6} : 9.2 Hz, J _{6,8} : 1.97 Hz); 8.01 (t, 1H, H ₅ , J: 7.4 Hz); 8.04 (s, 1H, H ₂); 8.21 (d, 1H, H ₈ , J _{6,8} : 2.2 Hz); 8.55 (d, 1H, H ₂ , J _{2,3} : 6.9 Hz); 8.95 (d, 1H, H ₅ , J _{5,6} : 9.2 Hz); 11.39 (s ancho, 1H, NH)	
RMN ¹³C (75,47MHz, DMSO-d₆), [δ ppm, (asignación)]	
27.3 (CH ₃); 102.8; 119.0; 121.9; 124.3; 125.1; 125.8; 127.2; 127.9; 130.4; 134.8; 138.7; 141.4; 148.4; 149.8; 152.2 (C-aromáticos); 198.2 (C=O).	

En un segundo paso el derivado 7-cloro-4-aminoquinolinsemicarbazona (5) se obtuvo a través de una reacción de adición nucleofílica entre el clorhidrato de semicarbazida (4) con el intermediario quinolinacetofenona (3). Debido a que el potencial nucleófilo semicarbazida se encuentra bajo la forma de clorhidrato, se agregó acetato de sodio en presencia del compuesto carbonílico para liberar el reactivo nucleofílico, ajustando el medio de la reacción a un pH de 4,0-5,0; lo cual se requiere para protonar el compuesto carbonílico sin afectar apreciablemente la concentración de la

semicarbazida libre. La reacción se controló modificando variables como temperatura y tiempo de reacción, encontrándose que las mejores condiciones de reacción son aquellas donde se emplea una relación estequiométrica electrófilo / nucleófilo de 1:1, a una temperatura entre 65-70°C y a un tiempo no superior de 2 horas para completar la reacción. A continuación se presentan las propiedades físicas y características espectrales del compuesto final 2-(1-{3-[(7-cloroquinolin-4-il)amino]fenil}etilideno)hidracinacarboxamida (5), las cuales se resumen en la tabla 2.

Tabla 2. Propiedades físicas y características espectrales del derivado 2-(1-{3-[(7-cloroquinolin-4-il)amino]fenil}etilideno)hidracinacarboxamida (5)

Estado Físico	Punto de fusión
Sólido fino amarillo pálido	250 °C
RMN ¹H (270MHz, DMSO-d₆), [δ ppm, (multiplicidad, integral, asignación)]	
2.22 (s, 3H, CH ₃); 6.42 (s ancho, 2H, NH ₂); 6.79 (d, 1H, H ₃ , J _{2,3} : 7.04 Hz); 7.44 (d, 1H, H _{4'} , J _{4',5'} : 9.0 Hz); 7.54 (t, 1H, H _{5'} , J: 9.0 Hz); 7.80 (dd, 1H, H _{6'}); 7.83 (dd, 1H, H _{6'}); 7.99 (t, 1H, H _{2'} , J: 2.7 Hz); 8.22 (d, 1H, H ₈ , J _{6,8} : 2.06 Hz); 8.47 (d, 1H, H ₂ , J _{2,3} : 7.06 Hz); 8.94 (d, 1H, H ₅ , J _{5,6} : 9.16 Hz); 9.36 (s, 1H, N-NH-CO); 11.25 (s ancho, 1H, Ar-NH-Ar).	
RMN ¹³C (75,47MHz, DMSO-d₆), [δ ppm, (asignación)]	
13.1 (CH ₃); 100.3; 115.8; 119.0; 122.6; 124.8; 124.9; 126.1; 127.0; 129.5; 137.0; 138.1; 139.0; 140.0; 142.9; 143.1 (C-aromáticos); 154.8 (C=N); 156.8 (C=O)	
Espectro de Masas (ESI-MS), [Ion: m/z]	
[M+H] ⁺ = C ₁₈ H ₁₆ ClN ₅ O + H: 354.21 (ión molecular precursor)	

Cabe destacar que la purificación de los compuestos se realizó con dificultades debido a las bajas solubilidades en la mayoría de los solventes orgánicos comunes.

En relación a la actividad antimicrobiana, los resultados obtenidos de los bioensayos del intermediario quinolinacetofenona (3) y del derivado 7-cloro-4-aminoquinolinsemicarbazona (5), se muestran en la figura 2.

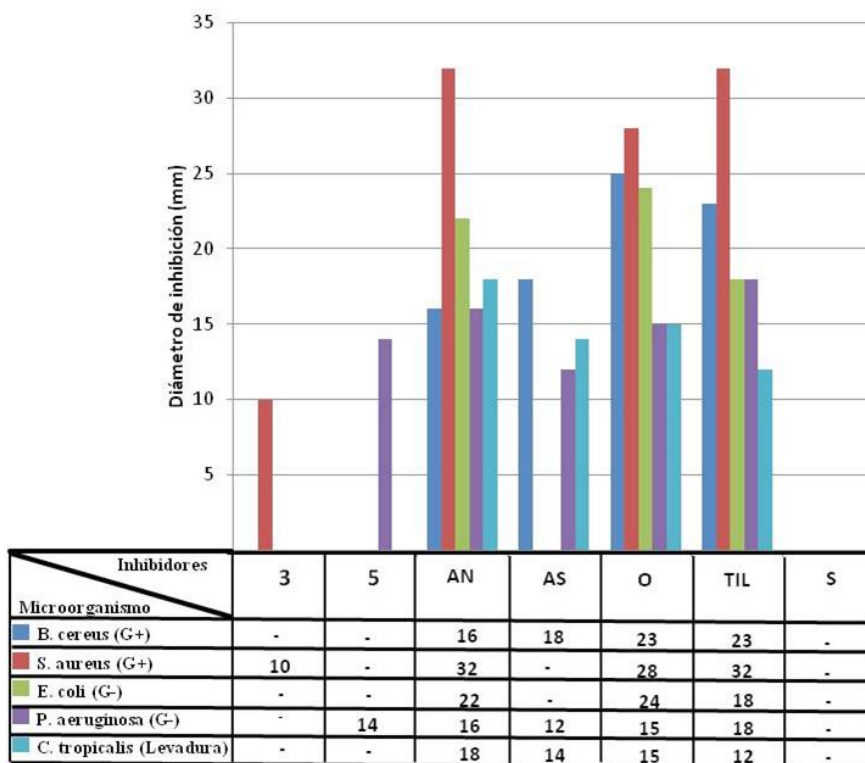


Figura 2. Actividad microbiana de los compuestos evaluados 3 y 5 (C = 2-5 mg/mL). Controles: Amikacina (AN, 30 µg), Ampicilina-Sulbactam (AS, 20 µg), Ofloxacina (O, 5 µg), Tilmicosin (TIL, 15 µg) y Mezcla de solventes (S). (-) = No hay inhibición.

A partir de los resultados obtenidos, se corroboró que ninguno de los microorganismos Gram (+) y Gram (-) mostraron sensibilidad frente a la mezcla de solventes. Por otra parte, los antibióticos empleados demostraron tener actividad biológica específica contra los microorganismos empleados, inclusive contra *Candida tropicalis*.

El intermediario quinolinacetofenona (**3**) solo fue activo contra *Staphylococcus aureus*, una bacteria Gram (+); tal como se ha reportado en algunos estudios con derivados fenilactofenonas (22) y alquilacetofenonas (23). Por otra parte, el derivado 7-cloro-4-aminoquinolinsemicarbazona (**5**), mostró ser activo solo contra *Pseudomonas aeruginosa*, presentando en este estudio una actividad comparable con las correspondientes a la amikacina, ampicilina-sulbactam y la ofloxacina. La *Pseudomonas aeruginosa*, es una bacteria Gram (-) que causa infecciones con una alta tasa de mortalidad y resulta sumamente resistente a una gran cantidad de antibióticos comerciales (24,25), de allí la importancia de esta actividad presentada por el compuesto **5**, el cual puede ser un candidato para ser evaluado como posible ligando en síntesis de complejos, los cuales pudieran incrementar la potencia de la actividad antimicrobiana por algún efecto sinérgico con el metal empleado.

Conclusiones

Se sintetizó el 2-(1-{3-[(7-cloroquinolin-4-il) amino]fenil}etilideno)hidracinacarboxamida (**5**), compuesto cuya estructura presenta dos porciones farmacofóricas relacionadas con actividad antimicrobiana: la 7-cloro-aminoquinolina y la semicarbazona, bajo una estrategia de diseño basada en la hibridación molecular. El compuesto sintetizado en este estudio mostró una actividad antibacterial contra la bacteria Gram (-) *Pseudomonas aeruginosa*, presentando una actividad comparable con las correspondientes a la amikacina, ampicilina-sulbactam y la ofloxacina. Este resultado permite proponer al compuesto **5** como un posible ligando para la síntesis de complejos con la finalidad de evaluar una posible sinergia con el metal central que pudiera potenciar la actividad antibacterial.

Agradecimientos

Los autores agradecen el financiamiento otorgado por CONDES-LUZ a través del proyecto de investigación subvencionado CC-0594-10.

Referencias bibliográficas

1. BERALDO H. *Quim Nova* 27(3): 461-471. 2004.
2. IBRAHIM MN., AL-DIFAR HA. *Der Chemica Sinica* 2(1): 171-173. 2011.
3. VIJAYA S., RAJITHA B. *Med Chem Res* 21: 85-90. 2012.
4. AHSAN MJ., AMIR M., BAKHT MA., SAMY JG., HASAN MZ., NOMANI MS. *Arab J Chem* 9(S1): S861-S866. 2016.
5. SINGH V., MISHRA A., KHALID M., SINGH S. *J Pharm Chem Biol Sci* 4: 350-358. 2016.
6. SALES PA., MOLINA I., FONSECA SM., SÁNCHEZ-MONTALVÁ A., SALVADOR F., CORRÊA-OLIVEIRA R., CARNEIRO CM. *Am J Trop Med Hyg* 97(5): 1289-1303. 2017.
7. PANDEYA SN. *Acta Pharm* 62(3): 263-286. 2012.
8. LIU Z., WU S., WANG Y., LI R., WANG J., WANG L., ZHAO Y., GONG P. *Eur J Med Chem* 87: 782-793. 2014.
9. SHAABANI B., KHANDAR AA., MAHMOUDI F., MAESTRO MA., BALULA SS., CUNHA-SILVA L. *Polyhedron* 57: 118-126. 2013.
10. SHAABANI B., KHANDAR AA., DUSEK M., POJAROVA M., MAHMOUDI F. *Inorg Chim Acta* 394: 563-568. 2013.
11. EL-GAMAL KMA., SHERBINY FF., EL-MORSI AM., EL KHAIR HEA., EISSA IH., EL SEBAEI MM. *Pharm Pharmacol Int J* 2(5):165-177. 2015.
12. EL-GAMAL KM., HAGRS MS., ABULKHAIR HS. *Bull Fac Pharm Cairo Univ* 54(2): 263-273. 2016.
13. DESAI NC., PATEL BY., DAVE BP. *Med Chem Res* 26: 109-119. 2017.
14. ABOELNAGA A., EL-SAYED TH. *Green Chem Lett Rev* 11(3): 254-263. 2018.
15. RUDRAPAL M., CHETIA D. *Int. J Chemtech Res* 2(3): 1606-1611. 2010.
16. BISPO M., LIMA C., CARDOSO L., CANDÉA A., BEZERRA F., LOURENÇO M., HENRIQUES M., ALENCASTRO RB., KAISER CR., SOUZA M., ALBUQUERQUE MG. *Pharmaceuticals* (Basel, Switzerland) 10(2): 52-67. 2017.
17. VIEGAS-JUNIOR C., DANUELLO A., DA SILVA-BOLZANI V., BARREIRO EJ., MANSSOUR-FRAGA CA. *Curr Med Chem* 14(17):1829-1852. 2007.
18. FERRER R., LOBO G., GAMBOAN., RODRIGUES J., ABRAMJUK C., JUNG K., LEIN M., CHARRIS J. *Sci Pharm* 77: 725-741. 2009.
19. JANSSEN AM, SCHEFFER JJ, BAERHEIM, A. 1987. *Planta Med* 53(5):395-398. 1987.
20. SAMBROOK J., FRITSCH EF., MANIATIS T. *Molecular cloning: A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York (USA). Appendix A, pp A.1. 1989.
21. CHAUHAN P., PRATAP R., SHARMA S. *Indian J Chem* 24B: 1154-1157. 1985.
22. GOTO H., KUMADAY., ASHIDA H., YOSHIDA K. *Biosci Biotech Bioch* 73(1): 124-128. 2009.
23. SANTANDER J., OTTO C., LOWRY D., CUELLAR M., MELLADO M., SALAS C., ROTHHAMMER F., ECHIBURU-CHAU C. *Microbiol Res J* 5(2): 94-106. 2014.
24. KALLEN A., HIDRON A., PATEL J., SRINIVASAN A. *Infect Control Hosp Epidemiol* 31(5): 528-531. 2010.
25. KEEN EF., ROBINSON BJ., HOSPENTHAL DR., ALDOUS WK., WOLF SE., CHUNG KK., MURRAY CK. *Burns* 36: 819-825. 2010.

Deshidroisomerización de n-butano en catalizadores de Pt/Ga₂O₃/Al₂O₃

Francisco Domínguez^{(a,b)}, Victor Ferrer^(a) y Jorge Sánchez^(a)*

^aInstituto de Superficies y Catálisis (INSUC), Universidad del Zulia, Facultad de Ingeniería, Maracaibo 4003A, Venezuela,

^bUniversidad Politécnica Estatal del Carchi, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Ciencias ambientales, Tulcán 040102, Ecuador.

(*) francisco.dominguez@upecc.edu.ec

Recibido: 16-11-2018 Aceptado: 14-12-2018

Resumen

Se estudió la deshidroisomerización de n-butano utilizando catalizadores de Pt/Ga₂O₃/Al₂O₃ bajo condiciones de flujo a presión atmosférica y 550°C. Los sólidos se prepararon por impregnación a humedad incipiente de γ -Al₂O₃ con soluciones acuosas de (H₂PtCl₆·6H₂O) y Ga(NO₃)₃, fijando el contenido de Pt en 0.5 %p/p y las relaciones molares Ga/Pt entre 1 y 16. La caracterización incluyó ICP, DRX, adsorción de nitrógeno, quimisorción de H₂, TPR, FTIR de CO adsorbido e isomerización de 1-buteno. Los patrones de XRD indicaron que la galia estaba bien dispersa sobre la alúmina, mientras que los TPR mostraron que existe una débil interacción entre el Pt y el Ga. La adición de galia disminuyó la relación H/Pt y la intensidad de las bandas de infrarrojo de CO, indicando que hubo un bloqueo de los átomos de Pt superficiales por parte de la galia e interacciones electrónicas Pt-Ga. La selectividad a productos de deshidroisomerización y la distribución de productos butenos resultaron con pocos cambios, indicando la necesidad de la presencia de sitios ácidos de Brønsted que favorezcan las reacciones de isomerización. Los sitios ácidos de Lewis presentes en la alúmina no aportan la fortaleza necesaria para efectuar estas reacciones.

Palabras Claves: Deshidroisomerización, TPR, catalizadores Pt/Ga₂O₃/Al₂O₃

Dehydroisomerization of n-butane on Pt/Ga₂O₃/Al₂O₃ catalysts

Abstract

The catalytic activity of Pt/Ga₂O₃/Al₂O₃ catalysts by using n-butane dehydroisomerization under flow conditions at atmospheric pressure and 550°C was studied. These catalysts were prepared by incipient wetness impregnation of γ -Al₂O₃ with aqueous solutions of H₂PtCl₆·6H₂O and Ga(NO₃)₃ to obtain a Pt content of 0.5 wt % and atomic Ga/Pt between 1 and 16. The catalysts were characterized by ICP, X-Ray diffraction, N₂ adsorption, H₂ chemisorption, temperature programmed reduction (TPR), FTIR of adsorbed CO and 1-butene isomerization. XRD patterns indicated that gallia was highly disperse on alumina, meanwhile TPR results showed a weak interaction between Pt and Ga. Gallia addition decreased H/Pt ratio and the intensity of CO infrared bands, indicating a blocking of surface Pt atoms by gallia and electronics interactions Pt-Ga. The selectivity toward dehydroisomerization and the butenes product distribution did not change significantly. These facts suggest that the Brønsted acid site are necessary in the support to promote isomerization reactions, which are not produced on Lewis's acids sites from alumina.

Keywords: Dehydroisomerization, TPR, Pt/Ga₂O₃/Al₂O₃ catalysts

Introducción

El isobutileno es una materia prima de gran importancia en la industria petroquímica porque a partir de él se pueden obtener diversos productos químicos, tales como alcohol tert-butílico, óxido de isobutileno, isobutilén glicol, di-isobutileno, éter metil terbutílico y éter etil terbutílico entre otros [1,2,3]. Para producirlo, se utiliza n-butano proveniente del gas natural y del gas licuado de petróleo, por ser una materia prima abundante, que puede ser isomerizado y deshidrogenado. Industrialmente, estos procesos se efectúan en dos reactores: uno con un catalizador de isomerización (cloruros orgánicos, platino o alúmina), seguido de otro con un catalizador de deshidrogenación (cromia/alúmina o catalizadores a base de platino), o viceversa, primero deshidrogenación y luego isomerización [4].

Muchos materiales se han explorado como catalizadores para la deshidrogenación de parafinas, pero solo cromo/alúmina y platino/alúmina se han desarrollado industrialmente [5]. Recientemente, se ha reportado la conversión directa de n-butano a isobutileno en una sola etapa empleados catalizadores bifuncionales de Pt soportado en alguna zeolita. El platino actúa como agente deshidrogenante, mientras que los sitios ácidos de Brønsted responsables de la isomerización son provistos por la zeolita [6].

La dispersión del platino afecta la selectividad a los distintos productos de la reacción, ya que agregados grandes generan mayor cantidad de productos de hidrogenólisis y una menor formación de n-butenos e isobutileno. La adición de un segundo metal (por ejemplo Sn, Cu o In) diluye los agregados de platino y al mismo tiempo disminuye la acidez, con lo cual se reduce la formación de coque responsable de la desactivación del catalizador [7]. En este trabajo se estudió la deshidroisomerización de n-butano en catalizadores de platino soportado en g-alúmina modificada con óxido de galio.

Materiales y métodos

Preparación de los catalizadores.

Se utilizó como soporte una γ -Al₂O₃ (Alfa Aesar) tamizada a un tamaño de 60-80 mallas (0.250-0.180 mm) y calcinada a 700°C por 4 h. Los catalizadores fueron preparados mediante el método de impregnación a humedad incipiente, a partir de la adición de los volúmenes adecuados de la solución acuosa de Ga(NO₃)₃ (Alfa Aesar, 0.05 g/cm³) al soporte. Los sólidos con la solución de impregnación se colocaron en un rotavapor a 80°C para eliminar la humedad hasta sequedad, luego fueron calentados en la estufa a 75 °C durante toda

la noche y posteriormente fueron calcinados por 2 h. Los sólidos obtenidos fueron impregnados agregando el volumen adecuado de la solución de H₂PtCl₆·6H₂O (Aldrich 0.02 g/cm³), y luego se siguieron las mismas etapas que con la impregnación del Ga. El contenido de Pt se mantuvo constante en 0.5%p/p y el contenido de Ga se varió para obtener relaciones molares Ga/Pt de 1, 2, 4, 8 y 16. Como muestra de referencia se preparó un catalizador de 0.5 %Pt/Al₂O₃ (PtA). La nomenclatura de los catalizadores puede observarse en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición química, área BET y relación H/Pt de los catalizadores

Catalizador	%Pt	%Ga ₂ O ₃	S _{BET} (m ² /g)	H/Pt
PtA	0.40	0	220	0.70
Pt0.25GaA	0.37	0.20	211	0.71
Pt0.5GaA	0.40	0.37	208	0.69
Pt1GaA	0.38	0.63	203	0.56
Pt2GaA	0.36	1.32	188	0.41
Pt4GaA	0.39	3.65	179	0.31

Análisis Químico

El contenido de Pt y Ga de los catalizadores fue obtenido mediante la espectroscopia de emisión atómica por plasma acoplado inductivamente (ICP), utilizando un espectrómetro de emisión Thermo Electron Corporation iCAP 6000 series.

Difracción de Rayos X.

Los patrones de difracción de rayos X de las muestras fueron registrados en un difractómetro Bruker D8 Focus, operando a 40 kV y 40 mA, a una velocidad de barrido de 0.2° 2θ min⁻¹, con un tamaño del paso de 0.02° y un tiempo por paso de 0.1 s, empleando una radiación Cu Kα.

Área superficial

Se determinó en un equipo Micromeritics ASAP 2010, siguiendo el método BET y empleando 100 mg de muestra previamente secados con aire sintético a 150 °C por 2 h a presión atmosférica.

Reducción a temperatura programada

Los perfiles de TPR se registraron en una línea de reacción de acero inoxidable acoplada a un TCD. En un reactor de cuarzo se colocaron 100 mg de la muestra sosteniéndola con lana de cuarzo. El secado se realizó en flujo de Ar (30 cm³/min) calentando la muestra desde temperatura ambiente hasta 120 °C con una tasa de calentamiento de 10 °C/min por 1 h, luego se enfrió a temperatura ambiente y simultáneamente se hizo pasar la mezcla de 5% H₂/Ar por la línea en derivación para estabilizar el

TCD, seguidamente se procedió al calentamiento en flujo de H_2/Ar ($30\text{ cm}^3/\text{min}$) desde temperatura ambiente hasta $850\text{ }^\circ\text{C}$ ($10\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$) registrando los cambios de conductividad térmica en un multímetro para obtener los perfiles de reducción.

Quimisorción de Hidrógeno

La quimisorción de H_2 se realizó en la misma línea utilizada para llevar a cabo los experimentos de TPR. 100 mg de muestra fueron colocados en el reactor y se secaron en un flujo de Ar de $30\text{ cm}^3/\text{min}$ desde temperatura ambiente hasta $120\text{ }^\circ\text{C}$ con una tasa de calentamiento de $10\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$, durante 1 h. Seguidamente, se calentó la muestra hasta $550\text{ }^\circ\text{C}$ en el mismo flujo de Ar y luego se conmutó a H_2 con un flujo de $30\text{ cm}^3/\text{min}$ manteniéndose a $550\text{ }^\circ\text{C}$ por 2 h; a continuación se enfrió hasta temperatura ambiente en flujo de Ar y se confinó la muestra durante 14 h. Seguidamente, se realizaron dos tratamientos consecutivos de limpieza de la superficie, que consistieron en calentar la muestra en flujo de Ar hasta $550\text{ }^\circ\text{C}$, mantener estable la temperatura durante 30 min y enfriar a temperatura ambiente. Posteriormente, con la muestra a temperatura ambiente se procedió a inyectar pulsos de H_2 de $65\text{ }\mu\text{L}$ cada 4 min hasta asegurar que las áreas de los picos detectados fuesen constantes, para obtener las cantidades de H_2 quimisorbido y la relación molar H/Pt.

Espectroscopia infrarroja de CO adsorbido

Las mediciones de infrarrojo se realizaron en un equipo espectrómetro infrarrojo Shimadzu, IR Prestige 21 utilizando pastillas autosoportadas de aproximadamente $20\text{ mg}/\text{cm}^2$, las cuales se secaron en un flujo de $30\text{ cm}^3/\text{min}$ de Ar por 1 h a $120\text{ }^\circ\text{C}$ y posteriormente se redujeron en flujo de H_2 de $30\text{ cm}^3/\text{min}$ por 1 h a $400\text{ }^\circ\text{C}$ y se enfriaron hasta temperatura ambiente en flujo de Ar. Finalizado este tratamiento, primero se midió el espectro "background" con la pastilla y posteriormente se inyectaron 4 pulsos de CO, registrándose los espectros luego de transcurrir 5 min después de la inyección, manteniendo la muestra en flujo de Ar. El último espectro fue tomado después de saturar la muestra en flujo de CO durante 5 min y purgando 15 min en flujo de Ar. Los espectros fueron tomados entre 1700 y 2200 cm^{-1} , rango donde se observan las formas principales de adsorción del CO sobre el Pt. La resolución usada fue 2 cm^{-1} .

Deshidroisomerización de n-butano

La deshidroisomerización de n-butano se efectuó a $550\text{ }^\circ\text{C}$ y 1 atm, con una alimentación de $40\text{ ml}/\text{min}$ de $n\text{-C}_4\text{H}_{10}$ en H_2 (relación $H_2/n\text{-C}_4\text{H}_{10}=4$), analizándose el efluente del reactor al primer minuto y luego cada 15 min por 3 h en un cromatógrafo Perkin-Elmer Clarus 500 provisto con un detector de ionización de llama (FID) y una columna capilar de

$50\text{ m} \times 0.25\text{ mm} \times 4\text{ m}$ de Al_2O_3/KCl . La selectividad a productos de deshidroisomerización (S_{DHI}) fue calculada como los moles de trans-2-buteno, cis-2-buteno e isobutileno formados entre los moles que reaccionaron, mientras que el rendimiento a isobutileno fueron los moles del mismo entre los moles que reaccionaron de la alimentación.

Resultados y discusión

La tabla 1 muestra los contenidos de Pt y Ga_2O_3 de los catalizadores estudiados, determinados mediante ICP. Los valores obtenidos resultaron en general ligeramente menores a los valores nominales. Los resultados obtenidos por el método BET muestran que la adición de Ga_2O_3 produjo en la alúmina ($230\text{ m}^2/\text{g}$) una disminución progresiva del área S_{BET} , en concordancia con lo observado en los patrones de XRD (no mostrados), este hecho indica que la galia se encuentra taponando los poros de la alúmina y el efecto se incrementa cuando el contenido de galia aumenta [8]. Adicionalmente, la ausencia de señales de difracción que pudieran ser atribuidas a la Ga_2O_3 , indica que la misma se encuentra bien dispersa sobre el soporte.

Los perfiles de TPR de los catalizadores de Pt soportados en alúmina se muestran en la Figura 1. Para el caso del catalizador PtA (Figura 1a) se observan dos señales de reducción, la primera que es la más intensa con un máximo a $232\text{ }^\circ\text{C}$ y la segunda es una amplia señal con un máximo a $356\text{ }^\circ\text{C}$. De acuerdo con Choren y col. [9] el Pt^{4+} se reduce directamente a Pt^0 , por lo tanto, ambos picos de reducción pueden ser asociados a interacciones débil y fuerte del complejo $(PtCl_6)^{2-}$ con la alúmina. Por otra parte, Arteaga y col. [10] propusieron una explicación diferente, el primer pico se debe a la reducción de una fracción del complejo directamente a Pt^0 y la otra a Pt^{2+} , siendo estas especies estabilizadas por la alúmina ($Pt^{2+}\text{-}Al_2O_3$), y el segundo pico corresponde a la reducción de tales especies de Pt^{2+} a Pt^0 . La adición de galia desplazó ligeramente el primer pico a temperaturas menores, aunque la intensidad se mantuvo esencialmente constante, (con excepción de la muestra Pt2GaA) mientras que en el caso del segundo pico se observó un desplazamiento a temperaturas mayores (cercano a $415\text{ }^\circ\text{C}$) con un incremento en el área del pico a bajos contenidos, que a su vez fue disminuyendo a medida que aumentó la cantidad de galia. Considerando que los catalizadores no fueron previamente calcinados, puede inferirse que, en el caso del primer pico de reducción, la galia tuvo un efecto poco significativo sobre la reducción de las especies de Pt porque su intensidad se mantuvo y el desplazamiento de los máximos fue muy pequeño (alrededor de $10\text{ }^\circ\text{C}$). Por el contrario, en el segundo pico de reducción, el Pt cataliza la reducción de la galia en mayor grado

cuando ésta se encuentra en bajos contenidos y este efecto promotor va disminuyendo con el contenido de Ga₂O₃. Para los catalizadores que sólo contenían galia prácticamente no se observó ninguna señal de reducción aún a elevadas temperaturas, por lo tanto, el incremento en el área del segundo pico de reducción se debe a que el Pt cataliza la reducción de las especies de Ga presentes.

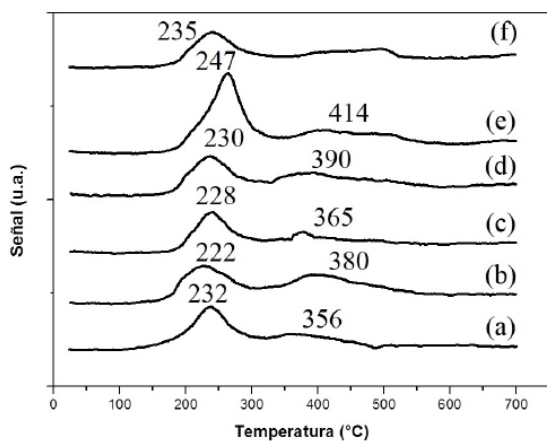


Figura 1. Perfiles de reducción de las muestras: a) PtA, b) Pt0.25GaA, c) Pt0.5GaA, d) Pt1GaA, e) Pt2GaA f) Pt4GaA.

La γ -Al₂O₃ no mostró consumo de hidrógeno, aún después de la adición de galia. En el caso del catalizador PtA, (Tabla 1) se obtuvo una relación H/Pt de 0.70, que indica una buena dispersión del Pt sobre la alúmina. La adición de galia ocasionó una leve disminución de la relación H/Pt para bajos contenidos y disminuciones cada vez mayores con el incremento del contenido de galia. Esto pudiera estar indicando que la galia bloquea los átomos de Pt superficiales, disminuyendo la capacidad de adsorción de hidrógeno en los catalizadores, tal como fue observado por Jablonski y col. en catalizadores Pt-Ga [11].

Los espectros de FTIR de CO adsorbido en condiciones de saturación (Figura no incluida) para el catalizador PtA mostraron 2 bandas, la primera intensa a 2083 cm⁻¹ relacionada con la adsorción de CO de manera lineal sobre Pt⁰ y la segunda muy débil a 1840 cm⁻¹ atribuida a CO adsorbido tipo puente [12,13]. En el resto de los catalizadores se observa que la intensidad de la banda correspondiente a la adsorción de CO de manera lineal va disminuyendo conforme aumenta el contenido de galia, mientras que la banda correspondiente a CO puente desaparece con la primera adición de galia. Este resultado está en concordancia con el obtenido para la quimisorción de hidrógeno, en donde se observó la misma tendencia.

La figura 2 muestra las selectividades finales de los catalizadores de Pt/Ga₂O₃/Al₂O₃ en la deshidroisomerización de n-butano. El catalizador PtA mostró una alta selectividad a productos de deshidrogenación (85%) con selectividad a productos C₁-C₃ (craqueo y/o hidrogenólisis) de 15%. La adición de galia favoreció las reacciones de deshidrogenación, disminuyendo la selectividad a productos C₁-C₃, las cuales cayeron desde 15 hasta 4%. La proporción de productos de deshidroisomerización se incrementó con el contenido de galia desde 54 hasta 61% y no sufrió cambios con el tiempo de reacción.

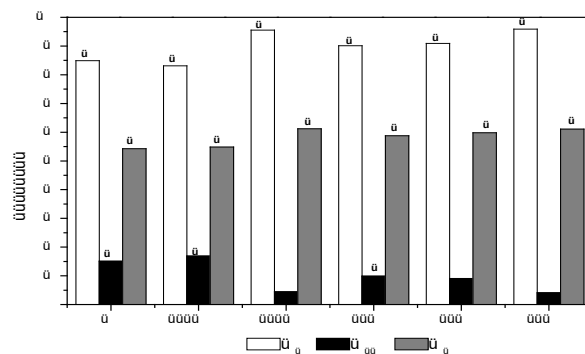


Figura 2. Selectividades finales de las muestras Pt/Ga₂O₃/Al₂O₃.

La distribución final de los productos butenos en los catalizadores de Pt/Ga₂O₃/Al₂O₃ para la deshidroisomerización de n-butano se presenta en la Figura 3. El producto principal fue el 1-buteno, seguido del trans-2-buteno, cis-2-buteno e isobutileno, que es el producto deseado. Este producto se encontró que en la etapa final de la reacción varió con el contenido de Galia desde 6 a 3%. Así, se encuentra un efecto promotor de la Galia relacionado con la modificación de las especies de Pt superficiales [14]

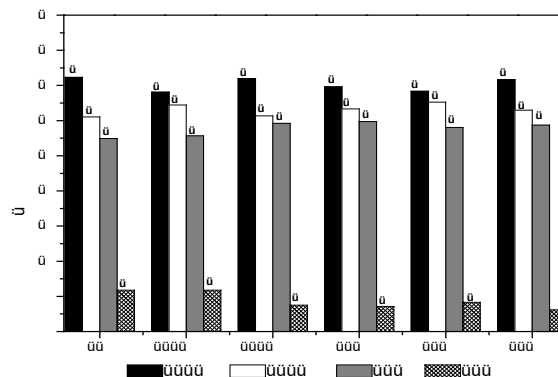


Figura 3. Distribución de productos butenos en catalizadores Pt/Ga₂O₃/Al₂O₃.

A pesar de que los resultados de la relación H/Pt y de los espectros de FTIR de CO adsorbido indicaron una disminución de la dispersión con el contenido de galia, los resultados de TPR indicaron que la naturaleza de los átomos superficiales de platino no fue modificada por la adición de galia. Esto se vio reflejado tanto en la selectividad a productos de deshidroisomerización, como en la distribución de los butenos formados, donde prácticamente no se encontraron diferencias entre los distintos catalizadores. En este sistema el rol de la galia fue disminuir el número de átomos superficiales de platino que influye más en la conversión que en la distribución de productos, posiblemente debido a que la reacción de deshidroisomerización requiere principalmente de sitios ácidos de Brönsted, siendo los más importantes en el sistema $\text{Ga}_2\text{O}_3/\text{Al}_2\text{O}_3$ los de Lewis, los cuales parecen no contribuir notablemente en la reacción de deshidroisomerización. Resultados similares fueron reportados por Gao y col. [15] quienes encontraron que la adición de galio a catalizadores a base de cobalto, modulan la distribución de los átomos superficiales de Co, lo cual trae consigo un aumento en la selectividad del producto, a pesar de no favorecer a su conversión.

Los rendimientos inicial y final a isobutileno en los catalizadores $\text{Pt}/\text{Ga}_2\text{O}_3/\text{Al}_2\text{O}_3$ se encuentran listados en la Figura 4. El rendimiento está expresado en moles de isobuteno producidos por cada 100 moles de n-butano que reaccionan. Los rendimientos máximos se obtienen con el catalizador de más bajo contenido de galia (Pt0.25GaA) y se encuentran en el orden del 5%. Estos valores se encuentran por debajo de los conseguidos en otros sistemas, lo cual nos indica que la alúmina no resultó ser un soporte efectivo para estas reacciones, debido a la existencia de los sitios ácidos de Lewis predominantes en este soporte [16]. Estudios adicionales similares a los de este trabajo se realizarán utilizando como soporte un sólido ácido como la Zeolita Y, la cual puede proveer de sitios ácidos de Brönsted necesarios para obtener mayores rendimientos a los productos de isomerización.

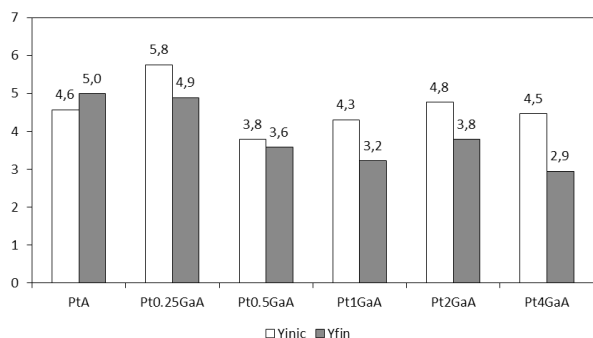


Figura 4. Rendimientos a isobutileno en los sistemas $\text{Pt}/\text{Ga}_2\text{O}_3/\text{Al}_2\text{O}_3$.

Conclusiones

La galia estaba bien dispersa sobre la alúmina ya que no se observó la formación de fases atribuibles a la galia por XRD mientras que el Pt no modificó la estructura cristalográfica de los sólidos debido al bajo contenido usado. El área superficial específica disminuyó al adicionar galia lo cual se debe al taponamiento de los poros por parte de la galia. El efecto del Pt sobre el área superficial de los sólidos es poco significativo. En los catalizadores de $\text{Pt}/\text{Ga}_2\text{O}_3/\text{Al}_2\text{O}_3$ se observó separación entre las especies de Pt y Ga y poca asistencia del Pt en la reducción de la galia de acuerdo a los perfiles de TPR. La relación H/Pt disminuyó con el aumento del contenido de galia, posiblemente debido a efectos de dilución o bloqueo de los átomos de Pt superficial por parte de la galia. En el catalizador monometálico de Pt se observó predominantemente la adsorción de CO en forma lineal y la adición de galia suprimió los sitios de adsorción de forma puente; además se evidencia una modificación electrónica del Pt producto de la interacción con la Ga_2O_3 . En el sistema $\text{Pt}/\text{Ga}_2\text{O}_3/\text{Al}_2\text{O}_3$ la selectividad a productos de deshidroisomerización y la distribución de productos butenos resultaron con pocos cambios. Se confirma la necesidad de la presencia de sitios ácidos de Brönsted para favorecer las reacciones de isomerización, ya que los sitios ácidos de Lewis presentes en la alúmina no aportan la fortaleza necesaria para efectuar estas reacciones, siendo el isobutileno formado atribuido a la función metálica provista por el platino.

Agradecimientos

Al CONDES-LUZ por el financiamiento parcial de este trabajo.

Referencias bibliográficas.

1. **Hydrocarbon Processing Petrochemical Processes.** Gulf Publishing Company, p. 249. 2005.
2. ZHAO, B., MEN, Y., ZHANG, A., WANG, J., HEA, R., AN, W., LI, S. *Appl. Catal. A: Gen.* 558, 150. 2018.
3. RODEMERCK, U., SOKOLOV, S., STOYANOVA, M., BENTRUP, U., LINKE, D., KONDRATENKO, E. *J. Catal.* 338, 174. 2016.
4. PIRNGRUBER G., SESHAN K., LERCHER J. *J. Catal.* 186, 188. 2000.
5. AZIMI, S., KALBASI, M. *Energy* 149, 250. 2018.

6. SCIRÈ S., BURGIO G., CRISAFULLI C., MINICÒ S. *Appl. Catal. A: Gen.* 274, 151. 2004.
7. SCIRÈ S., BURGIO G., CRISAFULLI C., MINICÒ S. *J. of Molec. Catal. A: Chem.* 260, 109. 2006.
8. ALTAMIRANO, E., DE LOS REYES, J.A., MURRIETA, F., VRINAT, M, *Catal. Today* 133-135,292. 2008.
9. CHOREN E., HOMEZ I., ZÁRRAGA J., BURIEL M., *Rev Téc Ing Univ Zulia*, 22, 18. 1999.
10. ARTEAGA G., MEDINA A., COLINA O., RODRÍGUEZ D., DOMÍNGUEZ F., SÁNCHEZ J., CIENCIA 16(3), 354. 2008.
11. JABLONSKI E., CASTRO A., SCELZA O., de MIGUELS., *Appl. Catal. A: Gen.* 183, 189. 1999.
12. BENVENUTTI E., FRANKEN L., MORO C. *Langmuir*, 15 , 8140. 1999.
13. ZHI, L., XIAO, L., ZHI, C., PINLIANG,Y., ZHAO F., CAN. L. *J Fuel Chem. Technol.*, 372, 205. 2009.
14. SOLA, A., GÖSSER, M, RAMÍREZ, P. HOMS, N. *Catal. Today* 287, 85. 2017.
15. GAO S., LI X., LI Y., YU H., ZHANG F., SUN Y., FANG H., ZHANG X., LIANG X., YUAN Y. *Fuel* 230,194. 2018.
16. KHAN T., GUPTA S., BANDODKAR P., ALAM M., HAIDER M. *Appl. Catal A: Gen.* 560, 66. 2018.



Autoridades Universitarias Universidad del Zulia

Jorge Palencia

Rector

Judith Aular de Durán

Vicerrectora Académica

María Artigas

Vicerrectora Administrativa

Marlene Primera

Secretaria

Gilberto Vizcaíno

Coordinador-Secretario - CONDES

Merlin Rosales

Decano - Facultad Experimental de Ciencias

CONDES

Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico



Vicerrectorado Académico
Universidad del Zulia (LUZ)
República Bolivariana de Venezuela

CONDES

Aliado firme del investigador

OBJETIVOS DE DESARROLLO

- Consolidar una plataforma de investigación en LUZ que ofrezca al país y a la comunidad científica avances y resultados de investigación científica innovadores y comprometidos con el entorno social.
- Generar y desarrollar conocimiento competitivo y de alto valor social.
- Formar profesionales capaces de generar soluciones alternativas e innovadoras a los problemas del contexto venezolano y mundial a partir de una investigación científica rigurosa y exigente.
- Difundir los resultados y avances de la investigación científica que se cumple en LUZ a través de diversas estrategias (publicaciones, eventos científicos, intercambios, ruedas de negociación, etc.)
- Lograr que todos los docentes a dedicación exclusiva y a tiempo completo de LUZ participen activamente en actividades de investigación.
- Generar vínculos y alianzas entre las unidades y grupos de investigación de LUZ y sus homólogos en las otras universidades y centros de producción de conocimiento de Venezuela y el mundo.
- Intercambiar la investigación científica y el posgrado en LUZ.

ESTRUCTURA ORGANIZACIONAL

Comisiones CONDES

Para llevar a cabo sus funciones, el CONDES cuenta con la Comisión de Desarrollo Científico y la Comisión de Estudios Humanísticos y Socia-

les, las cuales están conformadas por un delegado representante de cada Facultad y un delegado representante del Consejo Universitario.

Coordinación Secretaría

La Coordinación Secretaría preside ambas comisiones, las cuales forman un equipo y cumplen con las actividades planteadas para la aprobación y ejecución de cada uno de los programas de apoyo que este organismo financia, además de fijar lineamientos de políticas de investigación para el desarrollo y fomento de dichas actividades.

Departamento de Planificación, Gestión y Control

Se encarga de:

1. Planificar y gestionar adecuada y oportunamente las solicitudes de financiamiento de programas del CONDES, a fin de verificar el cumplimiento de los aspectos de carácter académico, así como la distribución presupuestaria de los recursos solicitados, previo a la evaluación de las Comisiones Técnicas del CONDES.
2. Asesorar de forma acertada a los delegados de las Comisiones y a la comunidad científica intra y extrauniversitaria respecto a los trámites y políticas del CONDES para el otorgamiento de subvenciones así como de brindar información sobre las decisiones tomadas.

Este Departamento cuenta con el apoyo de la Sección Evaluación de Proyectos el cual tiene bajo su responsabilidad la evaluación académico-administrativa de los diferentes programas que financian el CONDES.

Departamento de Administración

Tiene a su cargo planificar y ejecutar los desembolsos financieros, para lograr la entrega oportuna de los requerimientos contemplados en las partidas e ejecutar por el investigador, cuenta con el apoyo de la Sección de Compras.

Sección de Compras:

Verifica, procesa y garantiza la adquisición de equipos y materiales de apoyo a la investigación.

Departamento de Divulgación y Relaciones Públicas

Es el responsable de:

1. Difundir los resultados de las investigaciones financiadas por el CONDES.
2. Organizar, coordinar y supervisar los eventos institucionales del CONDES.
3. Diagramar los diseños de divulgación relativos a la actividad científica generada en luz a fin de mantener informada a la comunidad universitaria.
4. Difundir información sobre políticas de investigación CONDES y de otros organismos promotores de la actividad científica a nivel nacional e internacional.

Departamento de Informática

Responde del Sistema Automatizado de Información sobre la Investigación en LUZ (SAINVELUZ) y de la presentación y actualización del sitio web: www.condesluz.org.ve. Asimismo, se encarga de velar por el funcionamiento de los equipos de computación utilizados en los departamentos del CONDES y de proveer a todos los usuarios de herramientas tecnológicas para el cumplimiento de sus funciones. Además de brindar asistencia necesaria a los usuarios del CONDES como a los investigadores, en términos de manejo y aplicación de software y hardware.

Departamento de Archivo

Clasifica, codifica y silencia toda la documentación que se recibe y se genera en el CONDES, a fin de poder suministrar la información solicitada por las Comisiones, el personal administrativo y la comunidad científica en general.

FINANCIAMIENTOS

Programas y Proyectos de Investigación:

Contribuye con el desarrollo de la investigación científica y humanística a través del financiamiento de los programas y proyectos de los miembros del personal Docente y de Investigación en LUZ.

Asistencia a Eventos Nacionales e Internacionales:

Promueve y apoya a la comunidad científica de investigadores a participar en diferentes eventos nacionales e internacionales con el fin de enriquecer la formación académica a través del intercambio entre pares integrados.

Organización de Eventos Científicos:

Este financiamiento es asignado a las diferentes facultades, siempre y cuando los mismos, estén enmarcados en el desarrollo de las actividades de investigación.

Publicaciones de Revistas Arbitradas:

Para cumplir sus funciones de divulgación científica, el CONDES asigna fondos para la edición de revistas arbitradas, siempre y cuando cumplan con la rigurosidad científica exigida a nivel nacional e internacional.

Apoyo a la Investigación Científica Estudiantil:

El CONDES estimula y asesora la conformación de sociedades científicas estudiantiles. Financia la participación de estudiantes de pregrado en los programas/proyectos en condición de colaboradores y subvenciona la asistencia de los mismos a eventos científicos nacionales.

DIRECCIÓN:

Av. 4 de Julio Vista con Calle 74, Edificio FUNDA LUZ,
Piso 10 y 1. Maracaybo, Estado Zulia. Venezuela.
Código Postal: 4002. Tel. fax: (0261) 4126860,
7926307, 7926308.

E-mail: condes@luz.ve WebSite:
www.condesluz.org.ve





UNIVERSIDAD
DEL ZULIA

CIENCIA

Vol.26 N°3, 4

*Esta revista fue editada en formato digital y publicada en diciembre de 2018, por el **Fondo Editorial Serbiluz**, Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela*

www.luz.edu.ve
www.serbi.luz.edu.ve
produccioncientifica.luz.edu.ve

CIENCIA

Revista Científica de la Facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia
Vol. 26 Número Especial 1, 2, Enero - Junio 2018

Pg.

BIOLOGÍA/BIOLOGY

- Does the marine macrobenthic community recover after an oil spill? 10 years since the Nissos Amorgos disaster in Venezuelan Gulf, Caribbean Sea 63
¿Se recupera la comunidad macrobentónica después de un derrame petrolero? A 10 años del desastre del Nissos Amorgos en el Golfo de Venezuela, Mar Caribe
Hector Severeyn, Yajaira García de Severeyn, Mario Nava, Félix Morales, Marynes Montiel M. y Lisandro Morán
Maracaibo (Venezuela)

FISICA/PHYSICS

- Effect of magnetic fields on the growth of bacterium *Staphylococcus aureus* 74
Efecto de campos magnéticos en el crecimiento de la bacteria *Staphylococcus aureus*
Nomar Zambrano, Gabriela Pérez M., Rodolfo Salas Auvert y José R. Fermín
Maracaibo (Venezuela)

QUÍMICA/CHEMISTRY

- Evaluación preliminar del pH de las lluvias en la ciudad de Portoviejo, Ecuador 79
Preliminary evaluation of the pH of the rains in the city of Portoviejo, Ecuador
Yulixis Cano*, Ligbel Sánchez, Julio Torres Puente y Mariuxi Litardo Velásquez
Portoviejo (Ecuador)
- Caracterización química y contenido de compuestos fenólicos totales de hojas de *Moringa oleífera* Lam cultivadas en el estado Zulia, Venezuela 84
Chemical characterization and total phenolic content of *Moringa oleífera* Lam leaves grown in the state of Zulia, Venezuela
Viluzca Chiquinquirá Fernandez Palmar y Joan Vilchez Chávez
Maracaibo (Venezuela), Quito (Ecuador)
- Síntesis, caracterización y actividad antimicrobiana de un derivado 7-cloro-4-aminoquinolinsemicarbazona 89
Synthesis, characterization and antimicrobial activity of a 7-chloro-4-aminoquinolinsemicarbazone derivative
Yonathan de J. Parra, Rosa E. Ferrer y Jaime Charris
Maracaibo (Venezuela), Caracas (Venezuela)
- Deshidroisomerización de n-butano en catalizadores de Pt/Ga₂O₃/Al₂O₃ 95
Dehydroisomerization of n-butane on Pt/Ga₂O₃/Al₂O₃ catalysts
Francisco Domínguez, Victor Ferrer y Jorge Sánchez
Maracaibo (Venezuela), Tulcán (Ecuador)