

**EFFECTO DE MICRONUTRIENTES EN EL DESARROLLO DE
RADÍCULAS DE ESPINACA (*Spinacea oleracea*)**

UNIVERSIDAD PRIVADA DE HUANCAYO “FRANKLIN ROOSEVELT”

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS

Y BIOQUÍMICA



**EFFECTO DE MICRONUTRIENTES EN EL DESARROLLO DE
RADÍCULAS DE ESPINACA (*Spinacea oleracea*)**

**INFORME FINAL
PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

Presentado por:

**AREVALO CARDENAS, Edith
SALAS CARHUAMACA, Isaias isaac**

HUANCAYO - PERÚ

2019

ASESORA

Dra. Q.F. DIANA ANDAMAYO FLORES

JURADOS
PRESIDENTE:

Mg. Q.F. LIZZY JEANETTE MENDOZA GUTIERREZ

MIEMBRO SECRETARIA:

Mg. Q.F. MÓNICA ALEJANDRA CALLE VILCA

MIEMBRO VOCAL:

Mg. T.M. RENEE SOLEDAD ORREGO CABANILLAS

DEDICATORIA

Dedicamos el presente trabajo a Dios que nos protegieron en nuestra vida universitaria e iluminaran en nuestro ejercicio profesional, a nuestros queridos padres por su amor y sacrificio, dándonos ejemplos dignos de superación y entrega guiándonos en todas las etapas de nuestras vidas.

Arevalo Cardenas Edith
Salas Carhuamaca Isaias

AGRADECIMIENTO

A la Directora de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Dra. Diana Andamayo Flores, por la conducción de nuestra escuela y el apoyo desinteresado en la ejecución de este proyecto

A los catedráticos de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Franklin Roosevelt.

ÍNDICE

	Pág.
DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTO	
ÍNDICE	I
RESUMEN	II
SUMMARY	III
INTRODUCCIÓN	IV
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	1
1.1 Descripción del problema	1
1.2 Formulación del problema	2
1.3 Objetivos de la investigación	3
1.4 Justificación de la investigación	3
1.5 Delimitación de la investigación	5
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	6
2.1 Antecedentes de la investigación	6

2.1.1 Antecedentes internacionales	6
2.1.2 Antecedentes nacionales	10
2.2 Bases teóricas de la investigación	14
2.2.1 Espinaca: Taxonomía y ecotoxicología	14
2.2.2 Multimicronutrientes: Composición, usos.	17
2.2.3 Carbonato de calcio	19
2.3 Marco Conceptual	21
2.4 Variables de la investigación	23
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	24
3.1 Método de investigación	24
3.2 Tipo y nivel de investigación	24
3.2.1 Nivel de investigación	24
3.3 Diseño de la investigación	25
3.4 Población de estudio	25
3.5 Muestra de la investigación	25
3.6 Técnicas e instrumentos de la investigación	25
3.7 Técnicas de procesamiento de la investigación	26

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

RESULTADOS	27
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	31
CONCLUSIONES	35
RECOMENDACIONES	36
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

RESUMEN

La eliminación de residuos farmacéuticos en el ambiente puede generar un desarrollo anormal de las especies vegetales, muchas de las cuales puede ingresar a nuestro organismo al ser ingeridas como alimentos conteniendo residuos químicos de estos medicamentos, por ello el **OBJETIVO** de esta investigación fue evaluar el crecimiento radicular de la *Spinacea oleracea* frente a dos medicamentos utilizados tales como los multimicronutrientes y el carbonato de calcio. Para ello la **METODOLOGÍA**, fue un diseño de investigación experimental cuyo propósito fue medir el desarrollo radicular de *Spinacea oleracea*, teniendo en cuenta el crecimiento de un grupo control el cual será comparado con el desarrollo radicular de diluciones de los multimicronutrientes y el carbonato de calcio, expuestas a 120 horas; para ello la **MUESTRA** estuvo constituida por 5 diluciones de multimicronutrientes al: 80 %, 60 %, 40 %, 20 % y 1 %, Carbonato de calcio (2mg/mL) y de un grupo control (agua), donde fueron sembradas 10 semillas de *Spinacea oleracea*, en cada placa, haciendo un total de 3 réplicas de esta muestra; alcanzándose como **RESULTADOS** que las diferentes diluciones de multimicronutrientes inhiben el crecimiento cuando se encuentran a concentraciones de 80 %, 60 % y 40 %, teniendo un crecimiento mayor al promedio del grupo control cuando se encuentran en concentraciones del 20 % y 1 %, mientras que el carbonato de calcio (2mg/mL) inhiben el crecimiento de las semillas de *Spinacea oleracea*. **CONCLUYÉNDOSE**, que las diluciones de los micronutrientes inciden en el crecimiento de las radículas de *Spinacea oleracea*.

Palabras claves: micronutrientes, crecimiento radicular, *Spinacea oleracea*.

SUMMARY

The elimination of pharmaceutical waste in the environment can generate an abnormal development of plant species, many of which can enter our body to be ingested as food containing chemical residues of these drugs, therefore the **OBJECTIVE** of this research was to assess the growth radicular of *Spinacea oleracea* against two medications used such as multimicronutrients and calcium carbonate. For this the **METHODOLOGY**, was an experimental research design whose purpose was to measure the root development of *Spinacea oleracea*, taking into account the growth of a control group which will be compared with the root development of dilutions of the multimicronutrients and calcium carbonate, exposed to 120 hours; For this, the **SAMPLE** consisted of 5 dilutions of multimicronutrients at: 80%, 60%, 40%, 20% and 1%, calcium carbonate (2mg / mL) and a control group (water), where 10 seeds were sown of *Spinacea oleracea*, on each plate, making a total of 3 replicas of this sample; reaching as **RESULTS** that the different dilutions of multimicronutrients inhibit the growth when they are at concentrations of 80%, 60% and 40%, having a growth higher than the average of the control group when they are in concentrations of 20% and 1%, while Calcium carbonate (2mg / mL) inhibits the growth of *Spinacea oleracea* seeds. **CONCLUDING**, that dilutions of micronutrients affect the growth of *Spinacea oleracea* radicles.

Keywords: micronutrients, root growth, *Spinacea oleracea*.

INTRODUCCIÓN

Existen estudios que demuestran que la elaboración de productos y la prestación de servicios, generan residuos, los cuales pueden deteriorar el ambiente (plantas, animales y microorganismos), recientemente se vienen reportando el efecto que puede causar la inadecuada disposición final de los productos farmacéuticos, más aun si se tratan de medicamentos que son utilizados como micronutrientes y que muchas veces lejos de ser administrados farmacológicamente, son eliminados juntamente con los residuos domésticos, afectando el ambiente (Victor Moreno¹, 2013).

Los Químicos Farmacéuticos somos profesionales del medicamento y como tal formamos parte del equipo médico que se encarga de restablecer la salud de las personas, pero nuestra responsabilidad como profesionales también abarca dar a conocer a la sociedad y recomendar sobre los efectos que pueden causar los medicamentos en las plantas, si estos son depositados y en algunos casos destruidos directamente en el suelo y próximo a un efluente hídrico (Quijano, Orozco y Holguin², 2015).

Por tanto, el objetivo principal de esta investigación fue Evaluar el crecimiento radicular de *Spinacea oleracea* frente a dos medicamentos utilizados como multimicronutrientes y el carbonato de calcio.

En consecuencia para estructurar el trabajo, se cumplió el esquema de informe final de una tesis que involucra: Capítulo I, considera la descripción y formulación del problema, objetivos, justificación y limitación de la investigación; el Capítulo II, considera antecedentes internacionales y nacionales, y las bases teóricas de la investigación; el Capítulo III, considera el método, tipo, nivel y diseño de la investigación, población de estudio, muestra, técnicas e instrumentos de recolección de datos y técnicas de procesamiento de la investigación; y el Capítulo IV, considera los resultados de la investigación realizada; asimismo, la discusión, las conclusiones; las recomendaciones; las referencias bibliográficas y los anexos.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción del problema

Los medicamentos son sustancias químicas, empleados para restablecer la salud de los seres humanos y de los animales, sus efectos terapéuticos pueden ser los mismos si son administrados tanto a humanos como a animales, por lo que se supone que han de existir también efectos adversos si son administrados inadecuadamente a estas especies, estos efectos pueden producir respuestas inesperadas en microorganismos y plantas, debido a diferencias farmacocinéticas, farmacodinámicas y fisiológicas ¹.

Los medicamentos denominados micronutrientes, están dentro de varios programas del Ministerio de Salud, así como en programas de EsSalud y de servicios particulares, sin embargo, debido a la considerable cantidad que son prescritos, sin obtener resultados favorables, los pacientes van eliminando cuantiosas cantidades de carbonato de calcio y multimicronutrientes (Munayco³, 2013).

Un bioindicador es un ser vivo que manifiesta una respuesta clara frente a una determinada sustancia y a una determinada concentración de esa sustancia. Existen algunos vegetales que son buenos bioindicadores de la contaminación, como los musgos y los líquenes, no por los efectos que sobre ellos se producen sino porque son bioacumuladores (perfecta correlación entre la concentración en la atmósfera y concentración en el ser vivo); otros

bioindicadores son algunas plantas que manifiestan signos externos como respuesta a la presencia en el aire de determinadas sustancias (Anze⁴, 2019).

El presente estudio trata de evaluar el efecto de dos medicamentos que son frecuentemente prescritos frente al desarrollo radicular de *Spinacea oleracea*, comúnmente conocida como espinaca, para lo cual se realizó la investigación solo dentro de las 120 horas de administrado los medicamentos a diferentes concentraciones diluidas, en el periodo de germinación y desarrollo de la planta.

Frente a ello surge la necesidad de evaluar el crecimiento radicular de espinaca frente a 2 micronutrientes a diferentes concentraciones, en el crecimiento radicular de *Spinacea oleracea*.

1.2. Formulación del Problema

El presente trabajo tiene como objetivo abordar el efecto de diferentes concentraciones de multimicronutrientes y carbonato de calcio, ya que suponemos que en la actualidad la contaminación de las aguas se debe a este tipo de productos farmacéuticos, los cuales pueden provenir de efluentes de instalaciones hospitalarias y también de la industria farmacéutica, pues en ella también se genera residuos.

La gestión inadecuada de las aguas residuales urbanas, industriales y agrícolas conlleva que el agua que beben miles de personas en nuestra ciudad se vea peligrosamente contaminada o polucionada químicamente (Prieto⁵, 2019).

Todos los organismos vivos están expuestos constantemente a elementos que, por sus propiedades físicas, químicas o biológicas, al ser ingeridos, inhalados, aplicados tópicamente o inyectados, son capaces de provocar alteraciones orgánicas, funcionales y aun la muerte. Tal exposición puede ser inadvertida, accidental o incluso inevitable o intencional. Algunos de estos elementos son inocuos, pero varios de ellos pueden provocar

reacciones biológicas de naturaleza farmacológica o tóxica. A menudo, estas reacciones dependen de la conversión de las sustancias absorbidas en un metabolito activo, lo que puede provocar diversos problemas de salud.

Es por eso que con este estudio nos preguntamos:

¿Los micronutrientes (multimicronutrientes y carbonato de calcio) a diferentes concentraciones tienen un efecto en el crecimiento de las radículas de espinaca (*Spinacea oleracea*)?

1.3. Objetivos de la Investigación

1.3.1. Objetivo General

Evaluar el efecto de los micronutrientes (multimicronutrientes y carbonato de calcio) en el desarrollo de radículas de espinaca (*Spinacea oleracea*).

1.3.2. Objetivos Específicos

1. Determinar el crecimiento radicular de *Spinacea oleracea*, frente a diferentes diluciones de multimicronutrientes.
2. Determinar el crecimiento radicular de *Spinacea oleracea*, frente a diferentes diluciones de carbonato de calcio.

1.4. Justificación

Los medicamentos del tipo micronutrientes, donde se encuentran las vitaminas, sales y minerales tienen un consumo elevado en nuestra ciudad de Huancayo y en algunos casos estos son eliminados de manera inadecuada afectando al ambiente, específicamente a los suelos y agua, este efecto puede trasladarse también hacia los seres vivos si llegan a consumir

vegetales como la espinaca (material biológico para este estudio) donde puede haberse incluido el principio activo de este tipo de medicamentos.

En este trabajo se aplicaron métodos y técnicas de revisión y análisis documental, sobre los bioindicadores ambientales, el efecto que tienen los micronutrientes al ser vertidos directamente e indirectamente al ambiente; también se prevé determinar la toxicidad aguda, mediante la determinación del porcentaje de inhibición.

Tanto el porcentaje de inhibición como el supuesto porcentaje de crecimiento, son técnicas que pueden ayudar a determinar el efecto que tiene la eliminación inadecuada de estos medicamentos en el ambiente; los mismos que permitirán establecer comparaciones entre los grupos controles.

Si bien existen antecedentes desarrolladas en nuestra universidad con otros bioindicadores, el estudio en *Spinacea oleracea* no han sido aplicadas en nuestro medio, por lo que creemos que daremos un aporte al campo de la toxicología aplicada al cuidado del ambiente.

1.5. Limitaciones de la Investigación

1.5.1. Limitación espacial:

La investigación fue llevada a cabo en las instalaciones del laboratorio de farmacología de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, en donde se tuvo en cuenta los principales estándares ambientales para la eliminación de residuos generados durante la parte experimental de este trabajo de investigación.

1.5.2. Limitación Temporal

La recogida de datos de esta investigación fue llevada a cabo durante los meses de enero a marzo, teniendo en cuenta las repeticiones para cada grupo experimental.

1.5.3. Limitación Temática

Esta investigación revisó información con respecto a teorías básicas de toxicología general y ambiental, recopilando información a partir de una base de datos del Google Académico y scielo.

Así mismo se tuvo en cuenta las siguientes limitaciones:

Los multimicronutrientes y el carbonato de calcio y en diferentes presentaciones y formas farmacéuticas.

La disponibilidad de información y experiencia utilizando la *Spinacea oleracea*, como un bioindicador.

Experiencia en diluciones de medicamentos del tipo de nutrientes, puesto que el calcio viene en su forma de sal y los multimicronutrientes se encuentran combinados con vitaminas y minerales.

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la Investigación

2.1.1. Antecedentes Internacionales

Tomas López⁶ (España, 2016) refiere que la contaminación de los recursos hídricos se ha convertido en un creciente problema en la actualidad. Los ríos y arroyos son una importante fuente de agua dulce en todo el mundo, y por desgracia a menudo están contaminadas por el vertido de aguas residuales urbanas, desechos industriales, y por las actividades humanas en general. Según se menciona en el Manual de Política Ambiental del Paraguay, el deterioro de las aguas superficiales y subterráneas en el territorio nacional, está asociado principalmente con el uso inadecuado de la tierra, la contaminación de las áreas de recarga de los acuíferos, el monocultivo, el mal uso de agroquímicos, los desechos domésticos, industriales y hospitalarios de naturaleza tóxica o peligrosa.

Ellos realizan ensayos ecotoxicológicos con *D. magna*, *L. sativa*, *T. wisconsinensis* y demuestran que las aguas testeadas presentan escasos efectos agudos. Sin embargo, el análisis de los resultados del *Allium* test y el test de micronúcleos *D. rerio* detectó la existencia de potenciales efectos citotóxicos y genotóxicos. Bajo este criterio, el Arroyo Caañabe no cumple los estándares de calidad de aguas superficiales para las características toxicológicas.

Este trabajo concluye indicando que el Arroyo Caañabe no presenta índices alarmantes de contaminación, no obstante, se puede inferir que sus aguas se encuentran en una fase de progresivo deterioro, fenómeno que está asociado con la actividad humana. Considerado que la calidad del agua requiere de una vigilancia eficaz, se recomienda realizar un monitoreo permanente del cauce hídrico utilizando criterios fisicoquímicos, microbiológicos y ecotoxicológicos a fin identificar los focos de contaminación y evaluar su evolución en el tiempo.

Silva, Queiroz y Sager⁷ (Brasil, 2018), refieren que en la actualidad muchos de los problemas ambientales relativos al agua se deben a actividades antrópicas. El hombre modifica el ambiente en su intento por suplir la demanda global de recursos naturales.

El agua es un recurso esencial para la vida en la tierra y como resultado del crecimiento demográfico y económico del último siglo, aumentó la demanda global de agua (Biemans y col. 2011)⁸.

En relación al abastecimiento de agua potable, la construcción de reservorios constituyó una solución a esa mayor demanda, una vez que el aglomerado de personas crecía sustancialmente. De esta forma, con la acumulación de agua en regiones estratégicas, su distribución puede ser controlada, y las aguas pueden ser conducidas por largas distancias, abasteciendo así regiones con mayor déficit hídrico.

Los resultados presentados en el trabajo que realizan estos investigadores señalan bajas concentraciones de metales en el sedimento, así como la ausencia de toxicidad de las especies ensayadas.

En este sentido, podemos decir que en el reservorio donde se realizaron las investigaciones, se encuentra poco impactada y no estaría produciendo interferencias directas en la calidad de vida de los organismos bentónicos.

Sandoval, Castillo y Zarza⁹ (México, 2018), realizan ensayos ecotoxicológicos utilizando como muestra a *Oreochromis niloticus* (tilapia), ellos manifiestan que la acuicultura en México se ha desarrollado notablemente, en 2013 aportó 38 % del valor comercial de la producción pesquera nacional, equivalente a unos 475 millones de dólares. La tilapia ha alcanzado un primer lugar entre las especies piscícolas mexicanas con 15 mil hectáreas disponibles para engorda en todo el territorio nacional.

El trabajo de investigación es realizado en un área próxima a la península de Yucatán, que representa una zona de posicionamiento para la acuicultura mexicana, especialmente por su clima apropiado y su ubicación estratégica para el mercado internacional.

Sin embargo, en esta región predomina un suelo cárstico muy permeable lo que pone en peligro la sustentabilidad acuícola por la vulnerabilidad del acuífero a los contaminantes. Esto debido a que gran parte de la región posee fuentes subterráneas de agua y las fracturas verticales del subsuelo hace que los contaminantes químicos y microbiológicos presentes en el ambiente, fluyan por lixiviación de una manera más rápida y directa hacia el nivel freático.

Esta exposición del recurso hídrico a contaminantes provenientes de diversas fuentes, entre ellas del sector salud, pone en riesgo la inocuidad alimentaria (Sabra y Mehana 2015)¹⁰.

El dengue ocupa desde 2005 el cuarto lugar entre las enfermedades infecciosas prevalentes en México, con regiones de alta susceptibilidad como la península de Yucatán (Altagracia¹¹ et al. 2012, Barba¹² 2014). En Yucatán, para 2011 y 2012 se superaron los 5000 casos, por lo que esta zona se considera actualmente hiperendémica para esta enfermedad (Salomón¹³ et al. 2012, González¹⁴ 2013).

El control del vector del dengue, el mosquito *Aedes aegypti*, se lleva a cabo por fumigación con diversos piretroides, especialmente con

formulaciones comerciales. Como resultado de estas fumigaciones se pueden contaminar cuerpos de agua y, por consiguiente, la biodiversidad que ahí habita (Akan¹⁵ et al. 2015).

Se ha documentado que diversos grupos de organismos (no blanco), tanto terrestres como acuáticos, pueden resentir el impacto a la exposición de plaguicidas. Ejemplos de éstos son los insectos acuáticos (Antwi y Reddy¹⁶ 2015), abejorros (Gradish et al¹⁷. 2012) y mamíferos marinos.

También indican que a pesar de que actualmente hay mucha información sobre el impacto de la exposición a plaguicidas en diferentes grupos de organismos, el impacto negativo en organismos no blanco pudiera estar subestimado.

Actualmente, los piretroides bifentrina y deltametrina, se encuentran en la lista de productos recomendados por el sector salud en México para el combate de insectos vectores de enfermedades (CENAPRECE¹⁸ 2016).

En Yucatán, desde 2007, la secretaría de salud ha fumigado continuamente para hacer frente a brotes de dengue, con las fórmulas comerciales Talstar® y Biothrine®, a base de bifentrina y deltametrina, respectivamente, dos de los insecticidas empleados por ese sector.

Este trabajo evalúa los efectos tóxicos agudos individuales de insecticidas comerciales en especies piscícolas de importancia comercial en la península de Yucatán. Las CL50 de Talstar® (bifentrina) y de Biothrine® (deltametrina) a las 96 horas en *O. niloticus* fueron de 75.11 µg/L y 28.36 µg/L, respectivamente. Los signos de toxicidad en los peces bajo influencia de ambos insecticidas fueron movimientos erráticos, desbalance e hiperventilación, siendo más evidentes y en menor tiempo, en concentraciones más altas.

Los valores de CL50 obtenidos se consideran extremadamente tóxicos, por lo que se debe alertar dado el potencial efecto contaminante que

se podría producir en ambientes naturales como los prevalecientes en la península, así como en condiciones de acuacultura.

Los investigadores indican que es posible que estos insecticidas no tengan un alto impacto negativo en condiciones de campo dada su mínima adsorción en agua, así como por el amortiguamiento de la temperatura y de la dureza del agua. Aunque la alta lipofilicidad de estos piretroides promueve el potencial de absorción en el tejido adiposo. Además, es importante reconocer que los concentrados emulsionables que se utilizan en estos plaguicidas en el sector salud, favorecen el tiempo de permanencia en la cadena trófica. Los datos obtenidos en este trabajo mediante condiciones controladas, podrían ser de utilidad para estudios futuros que evalúen los efectos de los plaguicidas piretroides, ya sea de formulaciones comerciales o de sus principios activos, en ecosistemas similares a los de la península de Yucatán.

2.1.2. Antecedentes Nacionales:

Tania Arqueros¹⁹ (UNT, 2015) indican que la especie *Triticum aestivum* “trigo” constituye uno de los principales cultivos alimenticios en el mundo, siendo el más ampliamente consumido por el hombre desde inicios de la humanidad; sin embargo, los suelos de cultivo son afectados por muchos elementos químicos, como es el caso de aluminio y plomo.

Esta investigación tuvo como objetivo determinar la influencia del aluminio y plomo en la germinación de *Triticum aestivum* en condiciones de laboratorio, para lo cual se siguió la metodología de Reish y Oshida, para determinación de las concentraciones de aluminio y plomo, la toma de datos se utilizó la técnica de vernier y la escala de Likert para la valoración de los cambios de color, con lo que se obtuvo los resultados del efecto de los elementos químicos en la germinación de *Triticum aestivum*.

El trabajo concluye indicando que el aluminio y plomo influyen significativamente en la germinación de semillas de *Triticum aestivum* según ANAVA con una $p > 0.05$; también se encontró que el plomo y aluminio afecta la germinación de semillas de *Triticum aestivum* en un 4% (T5 y T6) y un 18% (T6) respectivamente a las 48 horas de exposición de dichos metales; además *Triticum aestivum* sufre disminución del crecimiento de la radícula y coleóptilo en relación directa a las concentraciones encontradas por otro lado se encontró que dichos metales no influyen en el color de la cubierta de las semillas ni en el volumen de la semilla de *Triticum aestivum* durante la germinación.

También se encontró que el efecto letal de la dosis de aluminio a 0,015 mg/ml es mayor que la del plomo a 0,05 mg/ml sobre las semillas de *Triticum aestivum* a las 96 horas de exposición. Y se demostró según Tukey el T6 es el tratamiento que más influye sobre la germinación.

Luz Quispe²⁰ (UNSA, 2017), realiza un trabajo objetivo fue estimar el riesgo ecotoxicológico y genotóxico como resultado de la aplicación de plaguicidas en el cultivo de papa en 3 comunidades del distrito de Chinchero, 2015.

La investigación se organizó en 4 etapas: En la etapa I, se realizaron análisis cromatográficos (HPLC y GC) con las muestras de suelo colectadas para determinar las concentraciones de plaguicidas (PEC real), así como la PEC teórica para metamidofos (dosis aplicada en campo). En la etapa II, se evaluó la ecotoxicidad de las muestras de suelo mediante bioensayos en *Vicia faba* (%IG, %ICR) y *Eisenia sp.* (% de mortalidad, %pérdida de peso, % Evasión), y la genotoxicidad mediante el Test de MN en *Vicia faba*. En la etapa III, se establecieron valores PNEC de manera experimental para metamidofos mediante ensayos de ecotoxicidad en *Vicia faba* y *Eisenia sp.* y de genotoxicidad mediante el Test de MN en *Vicia faba* (NOEC y NOAEL); y teóricamente para Malation, Paration y Endosulfan. El Riesgo se estimó en la etapa IV por el CR. Se identificaron 7 plaguicidas de los 11 evaluados en las

diferentes muestras de suelo, entre ellos metamidofos, malation, paratión y endosulfan.

Las muestras procedentes de Huatata y San José resultaron ser las más ecotóxicas, generando una reducción del peso del 15.85% en *Eisenia sp.* y favorecer una evasión en un 70% y 60% respectivamente; así como producir un 9.06% y 36.26% de ICR en *Vicia faba*.

La muestra de Querapata fue la más genotóxica con un 5% de expresión de MN en *Vicia faba*. El efecto del metamidofos en la capacidad germinativa y el crecimiento radicular de las semillas de *Vicia faba*, así como en la mortalidad, reducción del peso y evasión en *Eisenia sp.* fue directamente proporcional a la concentración. Registrándose en *Eisenia sp.* a concentraciones > 625 ppm un 100% de mortalidad y < 5 ppm un 0%. A 5000 ppm, se produce una IG del 70% y una ICR de 84.63% en *Vicia faba*. La mínima concentración en inducir MN en *Vicia faba* fue 39.06 ppm, evidenciándose además que a > tiempo de exposición y a > concentración, el daño genotóxico incrementaba.

Los órganos fosforados metamidofos, malatión y paratión representan un riesgo ecotoxicológico moderado para el ambiente y para especies de flora y fauna asociadas (incluyendo al hombre) a 2 meses de la cosecha de papa (CR > 1). Estos mismos no representan un riesgo genotóxico para el ambiente (CR<1).

Sin embargo, el metamidofos representa un riesgo ecotoxicológico y genotóxico elevado (CR>10) al momento de su aplicación, afectando otras especies no resistentes. Finalmente, la concentración residual del OC endosulfan en los suelos agrícolas representa un riesgo ecotoxicológico y genotóxico bajo para el ecosistema del lugar.

Zirena Vilca²¹ (UNA, 2014) realiza su trabajo de investigación en los laboratorios de la Universidad de Sao Paulo, Centro de Energía Nuclear en la

Agricultura, laboratorio de Ecotoxicología Brasil, en el periodo comprendido entre diciembre del 2009 a junio del 2010.

Los objetivos de este trabajo fueron: a). evaluación y establecimiento de la metodología para análisis multiresíduos QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) para la cuantificación de residuos de agrotóxicos en quinua. b). cuantificar residuos de agrotóxicos contenidos en 24 muestras procedentes de diferentes zonas productoras del departamento de Puno. c). incentivar e facilitar la investigación de multiresíduos en esta matriz.

Se estudió 24 muestras de quinua de producción convencional colectadas en el departamento de Puno-Peru y una muestra de quinua orgánica obtenida en el Brasil, fue evaluada la aplicabilidad del método QuEChERS para la identificación y cuantificación de agrotóxicos en granos de quinua. Fueron monitoreados los agrotóxicos: Metamidofos, Acefate, Monocrotofos, Tiametoxan, Imadoclopride, Atrazina, Azoxystrobin, Buprofezina, Carbofurano, Ciproconazol, Malation, Deltametrina, Difeconazole, Metribuzin, Monuron, Triazofos, Clorpirifos, Metolacloro.

Los parámetros de validación fueron: linealidad, sensibilidad, límite de detección y cuantificación, efecto matriz, porcentaje de recuperación. La prueba estadística utilizada para la validación del método analítico fue: prueba de significancia de "t" student a una probabilidad de 95%, Fue utilizada una columna C18 y gradiente de acetonitrila y agua como fase móvil; se elaboraron curvas de calibración utilizando patrones analíticos para cada compuesto. Los coeficientes de correlación de las curvas de calibración fueron satisfactorios ($R^2 > 0,99$), los límites de detección están entre 0,005 a 0.0420 $1-19 \text{ ug kg}^{-1}$ y el de cuantificación entre 0,014 a 1,27 4 ug kg^{-1} . Los agrotóxicos Metamidophos, Carbofurano y Atrazina mostraron bajas tasas de recuperación, la matriz estudiada no mostró suficiente diferencia estadística significativa que evidencie la interferencia durante la caracterización y cuantificación de los agrotóxicos monitoreados por el método; todas las muestras analizadas contenían residuos de por lo menos 5 agrotóxicos, los resultados más relevantes quedaron por cuenta del Acefato, que presentó

residuos entre 5,605 y 10, 140 ug kg⁻¹, Azosxytrobin convalores entre 6, 711 y 11,020 ug kg⁻¹, Malation entre 5,605 y 10, 140 ug kg⁻¹, Metolacloro con valores entre 7,403 y 8,042 ug kg⁻¹ y Triazofos que contenía residuos entre 8,466 y 9,325 ug kg⁻¹. No existe registro de ningún agrotóxico en la legislación peruana y ni en el Codex Alimentarius para esta matriz, lo que impide establecer una correlación de estos resultados.

El trabajo concluye indicando que el método de extracción QuEChERS se muestra adecuado y eficiente para la realización de análisis y la cuantificación por LC-MS/MS fue altamente sensible.

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. Espinaca: Taxonomía e investigación toxicológica

Nombre común: espinaca, espinaca común, espinaca de Holanda, espinaca de invierno, espinaca de verano, espinaca hembra, espinaca macho, espinacas.

En una primera etapa forma una roseta de hojas de duración variable según las condiciones climáticas y posteriormente emite el tallo; de las axilas de las hojas o directamente del cuello surgen talluelos laterales que dan lugar a ramificaciones secundarias, en las que pueden desarrollarse flores. Existen plantas masculinas, femeninas e incluso hermafroditas, que se diferencian fácilmente, ya que las femeninas poseen mayor número de hojas basales, tardan más en desarrollar la semilla y por ello son más productivas (Fabian, Rossi²², 2010).

Su sistema radicular, se caracteriza por tener una raíz pivotante, poco ramificada y de desarrollo radicular superficial.

El Tallo, tiene un aspecto de erecto de 30 cm a 1 m de longitud en el que se sitúan las flores.

Sus hojas, son de forma Caulíferas, más o menos alternas y pecioladas, de forma y consistencia muy variables, en función de la variedad, color verde oscuro, pecíolo cóncavo y a menudo rojo en su base, con longitud variable, que va disminuyendo poco a poco a medida que soporta las hojas de más reciente formación y va desapareciendo en las hojas que se sitúan en la parte más alta del tallo.

Sus flores, están agrupadas en número de 6-12 en las espigas terminales o axilares presentan color verde y están formadas por un periantio con 4-5 pétalos y 4 estambres. Las flores femeninas se reúnen en glomérulos axilares y están formadas por un periantio bi o tetradentado, con ovarios uniovulares, estilo único y estigma dividido en 3-5 segmentos.

Clasificación taxonómica de la espinaca:

Reino : Plantae
Subreino : Tracheobionta
División : Magnoliophyta
Clase : Magnoliopsida
Subclase : Caryophyllidae
Orden : Caryophyllales
Familia : Amaranthaceae
Subfamilia : Chenopodioideae
Género : Spinacia
Especie : S. oleracea
N. Científico : Spinacia oleracea.

Con respecto a investigaciones en el campo toxicológico, sobre la espinaca podemos mencionar el realizado por Ortiz Salinas que investiga la presencia de plaguicidas organoclorados en espinaca y lechuga, los cuales son comercializados en la ciudad de México, encontrando concentraciones inferiores a los límites máximos permisibles, sin embargo, indican que las

sustancias organocloradas están presentes en el ambiente y pueden ingresar junto con las comidas que son ingeridas diariamente (Ortiz²³, 2018).

En la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cuzco, Ruth Quipo, analiza el efecto que tiene diluciones de nutrientes en la producción de dos variedades de espinaca, este trabajo indica como objetivo: Determinar el rendimiento (peso fresco de las hojas, número de hojas y peso de materia seca de la planta) y comportamiento agronómico (altura de planta, longitud y ancho de la hoja, longitud del pecíolo) de dos especies de espinaca en cultivo hidropónico de raíz flotante por efecto de tres dosis de soluciones nutritivas (Quipo²⁴, 2016).

Otra investigación evaluando el crecimiento de las semillas de espinaca fue realizada en la ciudad de Trujillo, donde evalúan la germinación y crecimiento de *Rhizobium etli*, que es una rizobacteria benéfica del frijol porque fija nitrógeno en los nódulos de sus raíces, cuando estas plantas se siembran en el suelo.

El efecto de *Rhizobium etli* sobre la germinación de semillas de *S. oleracea* L. se realizó inoculando 100 uL de una suspensión bacteriana de *R. etli* Rf 167-01 aproximada a $1,2 \times 10^9$ cel/mL a las semillas y 100 uL de agua destilada estéril a las semillas que constituyeron el control; se dejó germinar por 10 días, evaluando luego el porcentaje de germinación, longitud de hipocotilo y radícula.

El efecto sobre el crecimiento de las plántulas de espinaca, se realizó inoculando 1 mL de la suspensión de *R. etli* a una concentración de $1,2 \times 10^9$ cel/mL, a cada semilla germinada de *S. oleracea* L. y 1 mL de agua destilada estéril a las semillas que constituyeron el control, posteriormente cada semilla inoculada fue sembrada en cada pocillo del germinador que contenía tierra estéril. A los 20 días de inoculación se evaluó la longitud de tallo, hoja, raíz, peso seco total, peso seco de la parte aérea y peso seco de la parte radicular de las plántulas. Estos datos obtenidos fueron procesados estadísticamente, obteniéndose sólo diferencia significativa en el peso seco de la parte radicular

en el tratamiento inoculado con *R. etli*. Según los resultados obtenidos se tiene que la bacteria de *R. etli*, tiene un efecto positivo sobre el crecimiento de la raíz de las plántulas de *S. oleracea L.* (Galvan²⁵, 2014)

2.2.2. Multimicronutrientes: Composición, usos y efectos adversos

Los multimicronutrientes en polvo son vitaminas minerales que hacen más nutritiva la comida del niño y ayuda a evitar la anemia permitiendo un crecimiento y desarrollo favorable; contiene 5 micronutrientes: hierro, zinc, ácido fólico, vitamina A, vitamina C (Munayco³ y colaboradores).

Los sobres repartidos por el Ministerio de Salud, indican la siguiente composición:

Hierro : 12,5 mg

Zinc : 5 mg

Ácido fólico : 160 ug

Vitamina A : 300 ug

Vitamina C : 30 mg

Actualmente el uso de los micronutrientes es complementario a los casos de anemia el cual se diagnostica desde los 4 meses y seguirá pronosticándose según edad y si han sido prematuros con bajo peso o adecuado peso al nacer y se dará la suplementación preventiva según la condición del niño.

El Ministerio de Salud a través de sus diferentes programas indican que a partir de los 6 meses se iniciará con la entrega de multimicronutrientes por un año hasta completar los 360 sobres (1 sobre por día); sin embargo, si el niño no inició los multimicronutrientes lo podrá iniciar en el rango de 6 a 35 meses o 3 años cumplidos (Huaman, Aparco y Gonzáles²⁶, 2012).

Para preparar los micronutrientes se debe lavar las manos con agua y jabón antes de preparar el alimento del bebe, separar 2 cucharas de comida de consistencia espesa (puré, papilla o segundo) en el plato del niño servido

y dejar que se entibie, luego abrir el sobre con los dedos o tijera (no con los dientes) por la esquina y con cuidado y cuando la comida este tibia, echar todo el contenido del sobre en las 2 cucharas de comida espesa y tibia separada, mezclar bien las 2 cucharas de comida separada con los micronutrientes; Finalmente, ofrecerle de comer primero las 2 cucharas mezcladas con los micronutrientes, en no más de 15 minutos, y luego continuar con el resto de la comida; la ración de comida a la cual se e agrego los multimicronutrientes no se pueden recalentar (Directiva del MINSA²⁷, 2014).

Los micronutrientes no cambian el color ni sabor de la comida, siempre y cuando no se use comida caliente para realizar la mezcla y se consuma antes de los 20 minutos, deben ser consumidos con los alimentos; no se debe mezclar con los líquidos (jugo, caldos, agua), debido a que estos se mantienen en suspensión o se adhieren a las superficies del recipiente, lo cual no asegura el consumo total del micronutriente. Los sobres de micronutrientes deben mantenerse bien cerrados y protegidos de la luz solar y la humedad en lugares no accesibles a los niños para evitar ingestión accidental o intoxicaciones²⁶.

La administración de hierro puede conllevar a efectos secundarios como: heces oscuras o negras, oscurecimiento de los dientes, molestias epigástricas, náuseas, vómitos en ocasiones, constipación leve o diarrea leve que son temporales, es por ello que su consumo es junto con los alimentos.

Los niños que recibieron lactancia materna exclusiva y que empiezan a consumir multimicronutrientes, exactamente a los 6 meses pueden presentar heces sueltas debido a los cambios en la flora intestinal asociado con la introducción del hierro en la dieta; también y ácido ascórbico contenido en los multimicronutrientes afecta en el peristaltismo intestinal en los bebés, quienes previamente han recibido cantidades pequeñas a través de la leche materna.

Se debe tener en cuenta que la diarrea en niñas y niños más grandes se encuentra mucho más relacionada a prácticas inadecuadas de lavado de

manos, inadecuada manipulación de alimentos, insalubridad dentro del hogar y consumo de agua insegura.

Por otro lado, el estreñimiento es reportado raramente como un efecto secundario al consumo de multimicronutrientes; es por ello, se debe recomendar el consumo de frutas y verduras; sin embargo, se deberá suspender cuando se encuentren tomando antibióticos y reiniciarse en forma inmediata al terminar el tratamiento.

En la mayoría de anemias leves y moderadas no se observan complicaciones como taquicardia, disnea de esfuerzo, entre otros que si están presentes en anemias severas; el pronóstico dependerá de la evolución del paciente. El tratamiento culminara cuando se haya cumplido con el tratamiento establecido según el grado de anemia, además se encuentre en niveles normales para la edad en el control de hemoglobina (Guillermo²⁸, 2015).

2.2.3. Carbonato de calcio: Composición, usos y efectos adversos

El carbonato de calcio es un suplemento alimenticio usado cuando la cantidad de calcio consumido a través del régimen alimenticio no es suficiente. El calcio es necesario para mantener sanos los huesos, músculos, el sistema nervioso y el corazón. El carbonato de calcio también se usa como un antiácido para aliviar la pirosis (acidez o calor estomacal), indigestión ácida, y el malestar estomacal. Está disponible con o sin prescripción médica (Vera²⁹, 2018).

El calcio es un componente principal de los huesos y juega un importante papel fisiológico en la actividad muscular y en la transmisión neuromuscular. También interviene en la función cardíaca y en la coagulación sanguínea (Suarez y colaboradores³⁰, 2012).

El carbonato de calcio viene envasado en forma de tabletas regulares y masticables, cápsulas y solución líquida para tomar por vía oral. Por lo

general se toma tres o cuatro veces al día. Siga cuidadosamente las instrucciones en la etiqueta del medicamento y pregúntele a su doctor o farmacéutico cualquier cosa que no entienda. Use el medicamento exactamente como se indica. No use más ni menos que la dosis indicada ni tampoco más seguido que lo prescrito por su doctor. Si este medicamento se usa como suplemento alimenticio, tómelo con o después de comidas.

Las tabletas masticables deben masticarse a fondo antes de ingerirse; no las tome enteras. Beba un vaso grande de agua después de tomar las tabletas regulares o masticables o las cápsulas. Algunas formas líquidas del carbonato de calcio deben agitarse bien antes de usar (Pasquel³¹, 2013).

Aunque los efectos secundarios de este medicamento no son comunes, podrían llegar a presentarse los siguientes:

- Malestar estomacal
- Vómitos
- Dolor de estómago
- Flatulencia
- Estreñimiento (constipación)
- Sensación de sequedad en la boca
- Aumento de la necesidad de orinar
- Pérdida del apetito
- Sabor metálico

Interacciones Farmacológicas:

- Los diuréticos tiazídicos reducen la excreción urinaria de calcio. Debido al aumento del riesgo de hipercalcemia, debe controlarse regularmente el calcio sérico durante el uso concomitante de diuréticos tiazídicos (Vargas, Campos y Carrasquilla³², 2016).

- El carbonato cálcico puede interferir con la absorción de preparaciones de tetraciclinas, quinolonas, levotiroxina, si se administran concomitantemente. Por este motivo, se debe diferir la administración de estos fármacos al menos dos horas antes o de cuatro a seis horas después de la ingesta oral de calcio.

- La hipercalcemia puede aumentar la toxicidad de los glucósidos cardiacos durante el tratamiento con calcio. Los pacientes deben controlarse mediante electrocardiograma (ECG) y niveles séricos de calcio (Ramos³³, 2017).

2.3. Marco Conceptual

Consumo de micronutrientes

El uso de vitaminas, minerales y suplementos no minerales y no vitamínicos (NVNM) se ha incrementado principalmente en aquellos pacientes que buscan otra alternativa terapéutica para mejorar su salud; en este estudio describiremos el efecto que tienen este tipo de medicamentos durante el desarrollo radicular de la espinaca.

Nuestra línea de investigación tiene un alcance en la sociedad, medio ambiente, comunidad y familia.

Las vitaminas, minerales y suplementos no minerales y no vitamínicos (NVNM) según las fuentes bibliográficas tienen indicaciones específicas y en varios estudios se descarta su beneficio preventivo. El uso de estos productos es muy frecuente tanto en personas sanas como en aquellos que tienen alguna enfermedad crónica; el estudio fue realizado en la consulta de medicina familiar debido a la variedad de pacientes y sus motivos de consultas (Duran, Ulloa y Reyes³⁴, 2014).

Spinacea oleracea

La espinaca se puede cultivar en una gran variedad de suelos, prefiriéndolos franco-arenosos, fértiles y bien drenados. Para las producciones invernales son más adecuados los suelos que tengan un buen drenaje, por lo cual suelos demasiado arcillosos no son recomendables para su cultivo.

La espinaca es sensible a la acidez, disminuyendo el porcentaje de germinación cuando se le cultiva en suelos muy ácidos, observándose durante el cultivo una coloración amarillo-café en el borde de las hojas.

Citotoxicidad

Se define como una alteración de las funciones celulares básicas que conlleva a un daño que puede ser detectado. Diferentes autores han desarrollado baterías de pruebas in vitro para predecir los efectos tóxicos de drogas y compuestos químicos, utilizando como modelos experimentales cultivos primarios y órganos aislados como líneas celulares establecidas.

Los ensayos de citotoxicidad, son capaces de detectar mediante diferentes mecanismos celulares conocidos, los efectos adversos de interferencia con estructura y/o propiedades esenciales para la supervivencia celular, proliferación y/o funciones. Dentro de estos se encuentran la integridad de la membrana y del citoesqueleto, metabolismo, síntesis y degradación, liberación de constituyentes celulares o productos, regulación iónica y división celular.

Genotoxicidad

Capacidad para causar daño al material genético; el daño puede ser de tipo mutágeno o carcinógeno.

Impacto ambiental

Alteración que sufren uno o varios de los elementos que conforman un ecosistema, ante la presencia de un elemento ajeno a sus características y dinámica.

Toxicidad aguda

Efectos adversos que ocurren dentro de un período breve después de la administración de una dosis única de una sustancia química, o inmediatamente después de una exposición corta o continua, o de múltiples dosis durante 24 horas o menos.

2.4. Variables

2.4.1. Tipos de variables

Variable independiente: Toxicidad aguda.

Variable dependiente: porcentaje de inhibición.

3. METODOLOGÍA

3.1. Método de la investigación

El presente trabajo de investigación, se aplicará básicamente el método científico (Hernández, Fernandez³⁵, 2006), pues busca establecer y validar las variables de estudio que hemos identificado.

3.2. Tipo y Nivel de investigación

3.2.1. Tipo de investigación:

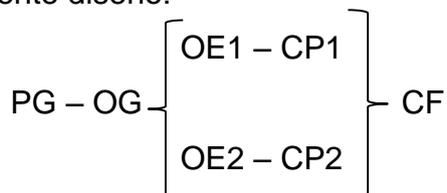
El presente estudio reúne condiciones metodológicas de una investigación cuantitativa³⁵, pues se centró en los aspectos observables y susceptibles de cuantificación al determinar el efecto de las diferentes concentraciones de MMN y de carbonato de calcio, los cuales nos permitieron obtener cuantitativamente las concentraciones inhibitorias.

3.2.2. Nivel de investigación

Al habernos planteado como formulación de problema: ¿Los micronutrientes (multimicronutrientes y carbonato) de calcio a diferentes concentraciones, tienen un efecto en el crecimiento de las radículas de espinaca (*Spinacea oleraecea*)? Y al obtener resultados en nuestras variables, nos permiten tener un estudio del tipo experimental³⁷.

3.3. Diseño de la investigación

El diseño que se empleó responde a una investigación para dar respuesta a nuestros objetivos, tomando como referencia la naturaleza de las variables empleadas en la formulación del problema planteado, se presenta el siguiente diseño:



Donde:

PG : Problema General

OG : Objetivo General

OE : Objetivo Específico

CP : Conclusión Parcial

CF : Conclusión Final

.

3.4. Población de estudio

La población es el conjunto de todos los casos que concuerdan con determinadas especificaciones (Carrasco Díaz³⁶, 2013), en nuestro caso la población será considerada a las Semillas de *Spinacea oleracea*.

3.5. Muestra

La muestra estuvo constituida por meristemos germinados de *Spinacea oleracea* de cada uno de los grupos controles y grupos experimentales, por lo que se consideró la selección de muestra del tipo estratificado³⁷, pues se dividió en grupos para ser investigados.

3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

Se aplicó:

Análisis documental.

Ensayos de toxicidad aguda realizados en los laboratorios.

3.7. Técnicas de procesamiento de la investigación.

Medición

Al término del periodo de exposición se registró la longitud promedio de crecimiento de las radículas de *Spinacea oleracea*, la cual se llevará a cabo con ayuda de una regla común con escala en milímetros.

La medición se llevó a cabo colocando la escala en el margen de la placa petri; se ubica el valor de longitud mínimo y máximo donde incide la mayoría de las raíces y el punto medio se define como el promedio. Se efectúa la estimación en cada recipiente y se obtiene el promedio matemático de diez réplicas (los dos valores más extremos se descartan). Para obtener el porcentaje de efecto de inhibición se debe realizar la siguiente operación:

(Longitud del control–longitud de la muestra) x 100/longitud del control)

Una vez recolectado las mediciones del crecimiento de las radículas, se procedió a construir una base de datos haciendo uso de una hoja de cálculo Excel versión 15, para posteriormente se aplican fórmulas para la determinación del porcentaje de inhibición y construcción de figuras de líneas que nos permitieron interceptar el valor de los porcentajes de inhibición con las diferentes concentraciones diluidas de MMN y de carbonato de calcio.

Con estos valores se construirá una gráfica de concentración en función del porcentaje de inhibición y se calcula la CI50.

4. RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

Tabla 01: Valores para determinar Porcentaje de inhibición y crecimiento a diferentes concentraciones de Multimicronutrientes

CONCENTRACION DE MULTIMICRONUTRIENTE (%)	CRECIMIENTO RADICULAR	PORCENTAJE DE INHIBICIÓN & CRECIMIENTO
80	14.5	42
60	17	32
40	23.5	6
20	27.5	*110
1	30.5	*121
GRUPO CONTROL	25 mm	
CI 25	56.5	

* Porcentaje de crecimiento

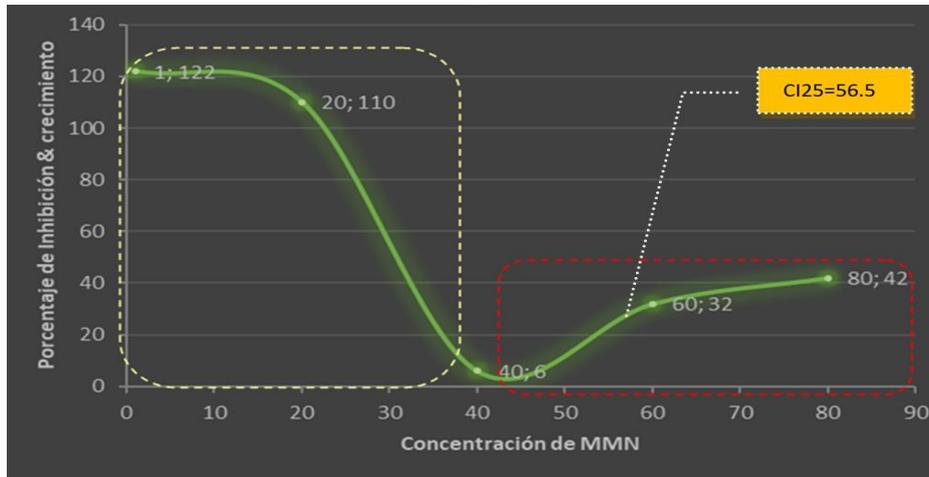
La tabla 01, refiere las diferentes concentraciones de multimicronutriente, para lo cual el contenido de un sobre fue diluido en 100 mL de agua, esta dilución fue nuestra solución patrón al 100 %, a partir de la cual se hicieron diluciones de 80 %, 60 %, 40 %, 20 % y 1 %.

Esta tabla también muestra los resultados del crecimiento radicular, en ella se aprecia que a una concentración del 80 %, hubo inhibición de 14.5 mm, para una concentración del 60%, hubo inhibición 17 % y para una concentración del 40 % hubo inhibición 23.5 mm. El crecimiento de estas 3 concentraciones fue inferior al grupo control.

En la tabla también se puede apreciar que el crecimiento en diluciones de multimicronutriente del 20 % tuvo un crecimiento de 27,5 mm y para una concentración del 1 % creció 30,5 mm. Al ser comparado con el grupo control

se puede apreciar que estas dos concentraciones, tuvieron un crecimiento mayor al grupo control.

Figura 01: Porcentaje de inhibición y crecimiento a diferentes concentraciones de multimicronutrientes (MMN)



En la figura 01, se puede apreciar gráficamente como a diferentes concentraciones de multimicronutrientes tienen diferente crecimiento, las líneas punteadas de color amarillo demuestran el crecimiento mayor al grupo control y las líneas punteadas de color rojo, muestran el crecimiento inferior al grupo control.

Esta figura también nos permite calcular la Concentración Inhibitoria 25 (CI25), el cual representa la concentración que puede afectar al crecimiento del 25 % de la población, la cual fue de 56,5 %.

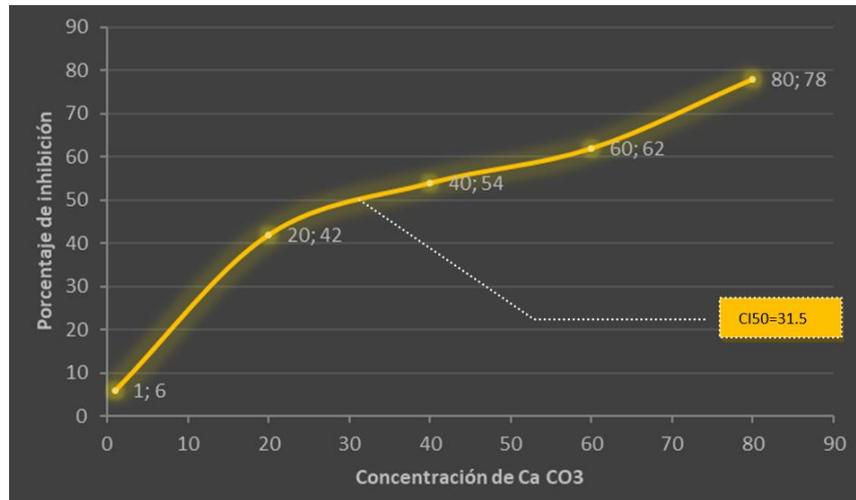
Tabla 02: Valores para determinar Porcentaje de inhibición a diferentes concentraciones de CaCO₃

CONCENTRACION DE CaCO₃(mg/mL)	CRECIMIENTO RADICULAR	PORCENTAJE DE INHIBICIÓN
80	5.5	78
60	9.5	62
40	11.5	54
20	14.5	42
1	23.5	6
GRUPO CONTROL	25 mm	
CI₅₀	31.5	

La tabla 02, refiere las diferentes concentraciones de CaCO₃, para lo cual el contenido de una tableta de 500 mg fue diluido en 250 mL de agua, esta dilución fue nuestra solución patrón al 100 %, a partir de la cual se hicieron diluciones de 80 %, 60 %, 40 %, 20 % y 1 %.

Esta tabla también muestra los resultados de inhibición de radículas, en ella se aprecia que a una concentración del 80 %, se tuvo una inhibición de 5.5 mm, para una concentración del 60%, 9.5 mm para una concentración de 40%, 11.5 mm, para una concentración del 20 % hubo inhibición de 14.5 mm y para el 1 % 23.5 mm. La inhibición de estas 5 concentraciones fue inferior al grupo control.

Figura 02: porcentaje de inhibición CaCO₃



En la figura 02, se puede apreciar gráficamente como a diferentes concentraciones de CaCO₃ tienen diferentes inhibiciones, donde se muestran el crecimiento inferior al grupo control.

Esta figura también nos permite calcular la Concentración Inhibitoria 50 (CI50), el cual representa la concentración que puede afectar al crecimiento del 50 % de la población, la cual fue de 31,5 %.

4. DISCUSIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el crecimiento radicular de *Spinacea oleracea*, frente a medicamentos utilizados tales como los multimicronutrientes y el carbonato de calcio, para ello nos propusimos como objetivos específicos, determinar el crecimiento radicular de *Spinacea oleracea* frente a diferentes diluciones de multimicronutrientes (MMN) y de carbonato de calcio.

Para ello utilizamos ensayos ecotoxicológicos, teniendo en cuenta lo referido por Tomás López⁶, quien hace un estudio indicando que existe contaminación de los recursos hídricos y para demostrarlos utilizan un cladóceros denominado *Daphnia magna* (pulga de agua) y *Lactuca sativa* (lechuga), donde existe escasos efectos agudos de contaminación, en esta misma investigación utilizan otro bioindicador *Allium sativum* (cebolla), en donde sí se encuentra efectos citotóxicos.

Este trabajo a diferencia del nuestro ha utilizado otros bioindicadores como pulga de agua, lechuga y cebolla, mientras que nosotros evaluamos la toxicidad en las semillas de *Spinacea oleracea*, así mismo nuestro trabajo tiene un enfoque de experimentación in vitro utilizando diferentes concentraciones de medicamentos que tienen alta prescripción médica tanto en el Ministerio de Salud como en el Essalud.

Por otro lado, Silva, Queiroz y Sager⁷, en un trabajo realizado en Brasil refieren que en la actualidad los problemas ambientales se deben a causas generalmente producidas por actividades humanas, esto contrasta con el motivo de nuestra investigación pues en la actualidad no se evidencia una

correcta eliminación de los medicamentos, los cuales pueden hacer su ingreso a los seres vivos mediante los productos alimenticios que consumen estos animales.

Los anteriores investigadores citan también lo referido por Biemans⁸, que refiere que el agua es un recurso, cuyo consumo va aumentando a nivel mundial, esto también se evidencia en nuestro departamento de Junín pues la principal administradora de agua potable SEDAM Huancayo viene racionando año tras año la disponibilidad de agua a los pobladores de Huancayo, pero lo que más preocupación advertimos es que el sistema de alcantarillado y desagüe no llegan a una planta de tratamiento de aguas residuales, los cuales ingresan al agua subterránea y vuelven a ser ingeridos en nuestros servicios básicos.

En la actualidad va cobrando más importancia los ensayos ecotoxicológicos, utilizando también animales acuáticos como la tilapia en la investigación realizada por Sandoval, Castillo y Zarza⁹, frente a piretroides (bifentrina y deltametrina), pues suponen que estos productos químicos ingresan al medio acuático ellos evalúan la Concentración Letal media (CL50) de estos productos químicos encontrando concentraciones toxicas de 75.11 µg/L y 28.36 µg/L.

El anterior trabajo difiere del nuestro porque mientras ellos evaluaban la mortalidad (CL50) nosotros evaluamos la inhibición (CI25 y CI50) y nuestros resultados para MMN y carbonato de calcio fueron: 56, 5 % y 31,5 % respectivamente.

El trabajo realizado por Arqueros¹⁹, es similar al nuestro pues ella utiliza especies propias de la región de Trujillo (trigo) y evalúa la toxicidad de aluminio y plomo, durante la exposición en el proceso de germinación de la planta, sin embargo, en el periodo de germinación ellos utilizan 48 horas y nosotros 120 horas, ellos concluyen que los metales utilizados si afectan al crecimiento normal de las radículas y coleóptido del trigo.

Hay que tener en cuenta que los impactos ambientales no solo se miden con plantas pues el trabajo realizado por Luz Quispe²⁰ de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cuzco, utiliza nematodos (*Eisenia sp*), frente a órganos fosforados como Malation, Paration y Endosulfan, el autor de la investigación indica que estos productos representan un riesgo toxicológico moderado.

Teniendo en cuenta los antecedentes internacionales y nacionales que citamos en nuestro trabajo indicaremos que los bioindicadores ya sean plantas, animales, insectos, nematodos, pueden permitirnos realizar diversas evaluaciones para medir el impacto ambiental frente a metales y órganos fosforados que vienen a ser sustancias químicas que ingresan al ambiente, afectando el desarrollo y crecimiento de los seres vivos.

Sin embargo, en nuestra región es la primera vez que se evalúa el impacto que puede tener dos productos farmacéuticos (MMN y Carbonato de calcio) frente al crecimiento radicular de la espinaca, el cual es un vegetal frecuentemente comercializado y consumido en nuestros hogares.

Esta propuesta de investigación está justificada también para que nosotros como profesionales Químicos Farmacéuticos no solo sugiramos la administración correcta de los medicamentos, sino que también orientemos a los pacientes las consecuencias que pueden traer la eliminación inadecuada de los medicamentos hacia el ambiente, más aun teniendo en cuenta que los servicios de salud que entregan estos fármacos no hacen un seguimiento del consumo, pues es común escuchar a los pacientes que los MMN que son utilizados por los menores de edad no llegan a ser consumidos completamente en las dosis sugeridas por el facultativo, lo mismo pasa con los pacientes que ingieren carbonato de calcio que no toleran este medicamento por ser tabletas muy grandes y porque también produce molestias gastrointestinales, lo que también hace que no se complete el tratamiento con este medicamento y al no hacerlo los sobrantes son eliminados conjuntamente con los residuos domésticos.

Finalmente indicamos que durante los ensayos in vitro con MMN, esperábamos tener concentraciones que inhiban el crecimiento radicular de la espinaca lo cual se evidencio en concentraciones de 80 %, 60 % y 40 %, pero a concentraciones de 20 % y 1 % hubo un efecto contrario, es decir en vez tener un resultado inhibitorio este creció más que el mismo grupo control.

Con respecto al Carbonato de calcio, se hizo 5 diluciones de: 80 mg/mL, 60 mg/mL, 40 mg/mL, 20 mg/mL y de 1 mg/mL, teniendo un crecimiento radicular de 5.5 mm, 9.5 mm, 11.5 mm, 14.5 mm y de 23.5 mm, respectivamente, los cuales fueron comparados con el grupo control que crecio 25 mm. Este último resultado demuestra que sustancias químicas inciden en el crecimiento radicular de la espinaca.

5. CONCLUSIONES

1. Se evaluó el efecto de micronutrientes en el desarrollo de radículas de *Spinacea Olaracea* con multimicronutrientes y carbonato de calcio a diferentes concentraciones, los cuales fueron comparados con el grupo control el cual tuvo un crecimiento promedio de 25mm.
2. Se determinó la inhibición de radículas de *Spinacea Olaracea* frente a diferentes concentraciones de los multimicronutrientes, fue evaluado mediante el porcentaje de inhibición, los cuales fueron: al 80 % = 14,5 mm, 60 % = 17,0 mm y 40 % = 23,5 mm, esto nos permitió calcular la CI25 el cual tuvo como resultado 54,5 %; así mismo a concentraciones de 20 % y 1 % hubo un crecimiento mayor de 27,5 mm y de 30,5 mm respectivamente, frente al grupo control que creció 25 mm en las radículas de *Spinacea olaracea*.
3. Se determinó la inhibición de radículas de *Spinacea Olaracea* frente a diferentes concentraciones del carbonato de calcio, lo cual tuvo una interacción ecotoxicológica en el medio experimental. Fue evaluado mediante el porcentaje de inhibición los cuales fueron: 80 % = 5,5 mm, 60 %= 9,5 mm, 40 %= 11,5 mm, 20 %= 14,5 mm y al 1 %= 23,5 mm, con estos datos se calculó la CI50 = 31,5 %.

6. RECOMENDACIONES

1. Proponer al Ministerio de Salud y Colegio Químico Farmacéutico del Perú, trabajar coordinadamente para sensibilizar a la población a no eliminar medicamentos al ambiente, los cuales pueden contaminar los medios acuáticos.
2. Plantear al Ministerio del Ambiente, realizar ensayos ecotoxicológicos con plantas propias de la región para determinar la calidad del agua.
3. Las universidades deben considerar dentro de su plan de estudios asignaturas que promuevan la elaboración de trabajos de investigación, para verificar el impacto que puede ocasionar la inadecuada eliminación de medicamentos en el ambiente.
4. Ampliar la investigación para comprobar si existen residuos de medicamentos en etapa adulta de la planta.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Moreno-Ortiz Victor Cesar, Martínez-Núñez Juan Manuel, Kravzov-Jinich Jaime, Pérez-Hernández Luis Alberto, Moreno-Bonett Consuelo, Altagracia-Martínez Marina. Los medicamentos de receta de origen sintético y su impacto en el medio ambiente. Rev. mex. cienc. farm [revista en la Internet]. 2013 Dic [citado 2019 Jun 02] ; 44(4): 17-29. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952013000400003&lng=es.
2. Quijano D, Prieto J, Orozco, Holguín E. Conocimientos y prácticas de pacientes sobre disposición de medicamentos no consumidos. Aproximación a la ecofarmacovigilancia. Revista Scielo: <http://dx.doi.org/10.15446/rsap.v18n1.44262>. 2015.
3. Munayco César V, Ulloa-Rea María E, Medina-Osis José, Lozano-Revollar Carmen R, Tejada Violeta, Castro-Salazar Consuelo et al . Evaluation of the impact of multiple micronutrient powders on children anemia in three andean regiones in Peru. Rev. Perú. med. exp. salud publica [Internet]. 2013 Abr [citado 2019 Jun 02] ; 30(2): 229-234. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342013000200011&lng=es.
4. Anze Rafael, Franken Margot, Zaballa Mauricio, Pinto María Renee, Zeballos Gabriel, Cuadros María de los Ángeles et al . Bioindicadores en la detección de la contaminación atmosférica en Bolivia. Revista Virtual REDESMA [revista en la Internet]. 2007 Jun [citado 2019 Jun 02] ; 1(1): 53-74. Disponible en:

http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1995-10782007000100005&lng=es.

5. Prieto Méndez, Judith, González Ramírez, César A., Román Gutiérrez, Alma D., Prieto García, Francisco, Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* [en línea] 2009, 10 (Sin mes) : [Fecha de consulta: 2 de junio de 2019] Disponible en: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93911243003>> ISSN
6. Arias Tomás López, Peralta Virginia Fernández, Diana Deidamia Mercedes Franco de, Delgado Edgar Galeano, Márquez Fernando Salvador Alonso, Martínez Mónica Diana Benítez et al . Índices de calidad ambiental de aguas del Arroyo Caañabe mediante tests microbiológicos y ecotoxicológico. *Rev. Ambient. Água* [Internet]. 2016 Sep [cited 2019 June 02] ; 11(3): 548-565. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1980-993X2016000300548&lng=en. <http://dx.doi.org/10.4136/ambienta.1703>.
7. Silva D. C. V. R, Queiroz L. G, Sager E. A, Cardoso-Silva S, Kofuji P. Y. M, Paiva T. C. B. P et al . Evaluación toxicológica y de metales (Cu, Pb, Ni, Zn y Cd) en el sedimento del reservorio Paiva Castro en Mairiporã-SP, Brasil. *Acta toxicol. argent.* [Internet]. 2018 Mayo [citado 2019 Jun 02] ; 26(1): 01-11. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-37432018000100001&lng=es.
8. Biemans H., Haddeland I., Kabat P., Ludwing F., Hutjes, R.W.A., Heinke J., von Bloh W., Gerten D. Impact of reservoirs in river discharge and irrigation water supply during the 20th century. (2011). *Water Resour. Res.*, 47 W03509.
9. Sandoval Gío Juan José, Castillo Sánchez Luis Enriqe, Zarza Meza Eduardo Alfredo, Hernández Jiménez José Manuel, Fernández Serrano Javier Hernán, Pineda Doporto Agustín. TOXICIDAD AGUDA DIFERENCIAL DE TALSTAR® (BIFENTRINA) Y BIOTHRINE® (DELTAMETRINA) EN LA TILAPIA NILÓTICA *Oreochromis niloticus*. *Rev. Int. Contam. Ambient* [revista en la Internet]. 2018 [citado 2019

Jun 02] ; 34(1): 45-55. Disponible en:
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992018000100045&lng=es.

10. Sabra F.S. y Mehana E.S.E.D. (2015). Pesticides toxicity in fish with particular reference to insecticides. *Asian J. Agr. Food Sci.* 3 (1), 40-60.
11. Altagracia M.M., Kravzov J.J., Moreno B.C., López N.F. y Martínez N.J.M. (2012). Las enfermedades “olvidadas” de América Latina y el Caribe: un problema de salud pública global. *Rev. Mex. Cienc. Farm.* 43 (1), 33-41.
12. Barba E.J.R. (2014). Dengue. Problema que preocupa y ocupa a la salud pública. *Rev. Latinoam. Patol. Clin. Med. Lab.* 61 (2), 84-101.
13. Salomón G.J., Lugo M.G.V., Tinal G.V.R., de La Cruz V.J., Beaty B.J., Eisen L., Lozano F.S., Moore C.G. y García R.J.E. (2012). *Aedes albopictus* mosquitoes, Yucatan peninsula, Mexico. *Emerg. Infect. Dis.* 18 (3), 525-526.
14. González O.G. (2013). Resistencia a insecticidas en el mosquito vector del dengue *Aedes aegypti* (L) en dos épocas de transmisión de la enfermedad en Mérida, Yucatán. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, Nuevo León, México, 145 pp.
15. Akan J.C., Battah N., Waziri M. y Mahmud M.M. (2015). Organochlorine, organophosphorus and pyrethroid pesticides residues in water and sediment samples from River Benue in Vinikilang, Yola, Adamawa state, Nigeria using gas Chromatography-Mass Spectrometry equipped with Electron Capture Detector. *Am. J. Environ. Protect.* 3 (5), 164-173. DOI: 10.12691/env-3-5-2
16. Antwi F.B. y Reddy G.V.P. (2015). Toxicological effects of pyrethroids on non-target aquatic insects. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 40 (3), 915-923. DOI: 10.1016/j.etap.2015.09.023
17. Gradish A.E., Scott-Dupree C.D., Frewin A.J. y Cutler G.C. (2012). Lethal and sublethal effects of some insecticides recommended for wild blueberry on the pollinator *Bombus impatiens*. *Can. Entomol.* 144 (3), 478-486. DOI: 10.4039/tce.2012.40.
18. CENAPRECE (2016). Lista actualizada de productos recomendados por el Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de

Enfermedades (CENAPRECE) para el combate de insectos vectores de enfermedades a partir de 2016 [en línea]. http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/vectores/descargas/pdf/ListaActualizadaProductoRecomendadosCENAPRECE2016_1.pdf 18/10/2016.

19. Arqueros T. Influencia del Aluminio y Plomo sobre la germinación de *Triticum aestivum*, en condiciones de laboratorio. Tesis Universidad Nacional de Trujillo. instacron:UNITRU; Repositorio institucional - UNITRU; reponame:UNITRU-Tesis; instname:Universidad Nacional de Trujillo; Universidad Nacional de Trujillo.
20. Quispe L. Riesgo ecotoxicológico y genotóxico de plaguicidas utilizadas en el cultivo de papas en Chinchero – Cusco. Tesis Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. <http://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/UNSAAC/2695>
21. Vilca Z. Evaluación del método Quechers para cuantificación de agrotóxicos en quinua (*chenopodium quinoa willd*). Tesis Universidad Nacional del Altiplano. <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/625>
22. Pighín G Andrés Fabián, Rossi de R Ana Lía. ESPINACA FRESCA, SUPERCONGELADA Y EN CONSERVA: CONTENIDO DE VITAMINA C PRE Y POST COCCIÓN. Rev. chil. nutr. [Internet]. 2010 Jun [citado 2019 Jun 02] ; 37(2): 201-207. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182010000200009&lng=es. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182010000200009>.
23. Salinas R. Presencia de compuestos clorados en espinaca y lechuga comercializada en la ciudad de México. Avances de Investigación en Inocuidad de Alimentos 1.1 (2018).
24. Quipo R. Efecto de tres dosis de soluciones nutritivas en la producción de dos variedades de espinaca (*Spinacia oleracea* L.) mediante el sistema hidropónico de raíz flotante en K'ayra-Cusco. (2016).
25. Galvan M. Efecto in vitro de *Rhizobium etli* sobre la germinación y el crecimiento de *Spinacia oleracea* “espinaca”. Tesis Universidad

- Nacional de Trujillo. <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/4052>. 2014.
26. Huamán-Espino. L, Aparco. JP, Nuñez-Robles. E, Gonzáles. E, Pillaca. J, Mayta-Tristán P. Consumo de suplementos con multimicronutrientes Chispitas® y anemia en niños de 6 a 35 meses: estudio transversal en el contexto de una intervención poblacional en Apurímac, Perú . Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2012;29(3):314-23.
 27. Ministerio de Salud del Perú. Directiva 056 MINSA/DGSP-V-01. Directiva sanitaria que establece la suplementación con multimicronutrientes y hierro para la prevención de anemia en niñas y niños menores de 36 meses. Resolución Ministerial 706-2014/MINSA del 19 de setiembre del 2014. Perú; 2014.
 28. Guillermo J. Eduardo J. Identificación de los factores que contribuyen y limitan la efectividad del programa de suplementación con multimicronutrientes en la reducción de la anemia de niños menores de tres años del ámbito rural de Vinchos de Ayacucho. 2015.
 29. Vera J. Validación del proceso de acondicionamiento y empaque de tabletas de carbonato de calcio en diferentes presentaciones comerciales. Tesis Universidad de Guayaquil. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/28058>. 2018
 30. Suárez, V. Martínez, et al. Recomendaciones de ingesta de calcio y vitamina D: posicionamiento del Comité de Nutrición de la Asociación Española de Pediatría. Anales de Pediatría. Vol. 77. No. 1. Elsevier Doyma, 2012.
 31. Pasquel Arauz, Byron Alejandro. Desarrollo de una gomita masticable de mora (Rubus Glaucus) fortificada con carbonato de calcio. BS thesis. Quito: USFQ, 2013, 2013
 32. Vargas L, Campos D, Carrasquilla R. Efectividad del alendronato más calcio y vitamina D, comparado con calcio y vitamina D para la prevención de la fractura de cadera. Acta Médica Costarricense ISSN 0001-6012 58.4 2016.
 33. Ramos, Camila, et al. Intoxicación con vitamina D: dosis, presentación clínica y abordaje terapéutico. Boletín Farmacológico, 2017, vol. 8, nro. 1. 2017.

34. Durán S, Ulloa A, Reyes S. Comparación del consumo de vitaminas y minerales en adultos mayores chilenos según estado nutricional. *Revista médica de Chile*, 142(12), 1594-1602. 2014.
35. Hernández R, Fernández CC, Baptista P. *Metodología de la investigación*. 4ta edición. México: Editorial Mc Graw-Hill; 2006.
36. Carrasco Díaz, Sergio. *Metodología de la investigación científica*. Quinta edición, Ediciones San Marcos, Perú. 2013.