

PROPUESTA DE BIORREFINERÍA A PARTIR DE RESIDUOS DEL DURAZNO PRUNUS PERSICA EN COLOMBIA

Biorefinery proposal from peach Prunus Persica waste in Colombia.

Cindy Gavilán

cindy.gavilan@estudiantes.uamerica.edu.co

Iván Mahecha

ivan.mahecha@estudiantes.uamerica.edu.co

Juan Sandoval

juan.sandoval@profesores.uamerica.edu.co

Universidad de América
Ingeniería Química
Colombia

RESUMEN

Los residuos industriales de tipo agrícola en Colombia se han venido implementando en el aprovechamiento como fuente principal del desarrollo de nuevas estrategias para la producción de biomateriales, biocombustibles, productos químicos e inclusive generación de energía a partir del uso de biomasa. El material sobrante de los duraznos es un material promisorio para muchos de los campos mencionados, pero en esta investigación se busca, específicamente, plantear estrategias de cuantificación de los glucósidos cianogénicos que contiene la semilla del durazno, aprovechando el proceso de cianogénesis con el fin de obtener compuestos químicos valiosos como el ácido cianhídrico y el benzaldehído. Estos compuestos pueden ser cuantificados y extraídos mediante técnicas de carácter experimental, como cromatografía líquida de alta resolución y espectrometría de masas acoplada a cromatografía de gases, entre otras. La investigación a realizar aplicará microdifusión de Conway y extracción Soxhlet como las técnicas más adecuadas, desde puntos de vista técnicos y económicos, según estudios realizados anteriormente.

PALABRAS CLAVE:

Amigdalina, prunasina, durazno, biorrefinería, residuos agroindustriales.

Cite este artículo como: Gavilán, C., Mahecha, I., & Sandoval, J. (2020). *Propuesta de biorrefinería a partir de residuos del durazno prunus persica en Colombia.*

INTRODUCCIÓN

El durazno es el fruto correspondiente del duraznero (*Prunus Persica*), originario de China. Es un ejemplo de los frutos que contienen hueso, así como otras especies del género *Prunus*. El durazno tiene forma ovoide con un diámetro de entre 4 a 10 cm, y colores entre rojos y amarillos (Miranda, Fischer, & Carranza, 2020). Su epidermis es delgada, su mesocarpio es carnoso y el endocarpio de hueso tiene en su interior la semilla, la cual es en forma de almendra (Timaná & Urbano, 2013). La producción de este fruto en Colombia, conforme al boletín informativo emitido por el DANE sobre la encuesta nacional agropecuaria (Dirección de Metodología y Producción Estadística, 2019), se da principalmente en la región Andina, en los departamentos de Norte de Santander y Boyacá, donde se reportan en el primer semestre del año mencionado una cantidad de 5.162 ton y 4.722 ton de producto, teniendo un total a nivel nacional de 14.406 ton respectivamente. El 70% del peso del fruto se reparte entre el endocarpio (carozo), el mesocarpio y el epicarpio (pulpa y cáscara) (Alarcón, López, & Restrepo, 2015), componentes que se pueden aprovechar en la valorización de residuos agroindustriales y simultáneamente como estrategia de mitigación ambiental.

Debido a limitaciones económicas, sociales y, aún, nutricionales, unido con la falta de conciencia sobre la necesidad de proteger el medio ambiente, ha generado que los residuos agroindustriales sean mal manejados y se conviertan en fuentes de contaminación del suelo, el agua y el aire (Cury et al., 2017). Las empresas y distribuidoras optan en su gran mayoría por desechar el material sobrante del fruto después de su adecuación a un proceso de transformación, sin tener en cuenta que “La acumulación excesiva de materia orgánica proveniente de residuos agroindustriales puede ocasionar contaminación del suelo y si es el caso zonas acuáticas” (Álvarez, 2013).

De acuerdo con el Documento CONPES 3874 de 2016, los residuos orgánicos en Colombia suelen ser desechados sin considerarse un posible uso de sus propiedades, puesto que la desinformación que se presenta por parte del consumidor final aporta a la insostenibilidad tanto del proceso de siembra y cosecha como a la manufactura propiamente; debido al crecimiento poblacional se incrementa la producción de varios alimentos, así mismo se dificulta la adquisición de predios donde se realice la disposición final de estos sobrantes, que por lo general se depositan sin tratamiento alguno para la mitigación hacia el entorno, sumado a la incorrecta separación de los desechos acumulados, lo que provoca una confluencia de residuos cuyos lixiviados se transforman en compuestos contaminantes para el medio ambiente y nocivos para la salud. Actualmente, las industrias conllevan una responsabilidad a gran escala con la situación ambiental, por ello se necesita que se sensibilicen con las problemáticas de este tipo, desarrollando una producción sostenible en pro del aprovechamiento de toda variedad de residuos. Desde el punto de vista agroindustrial, los residuos que se generan van aumentando constantemente por la demanda en la producción de alimentos, ya sea por un crecimiento poblacional o por nuevos entrantes en la industria y el comercio. A partir de estas problemáticas surge la necesidad de adaptar estos residuos agroindustriales y convertirlos en un producto útil abarcando dos conceptos base en la implementación de la sostenibilidad en una empresa: la solución a un problema y la generación de ingresos económicos adicionales (Cury et al., 2017).

Las semillas del durazno pueden considerarse recursos de gran valor para la obtención de productos químicos de uso cosmético, farmacéutico, textil e inclusive en la recuperación de metales preciosos; por otro lado, el carozo, cuya función es la protección de la simiente, es aprovechable para la producción energética mediante su uso como biomasa (Guerrero, 2010). Generalmente, estos dos componentes que conforman al endocarpio del fruto son devaluados en su mayoría, apreciándose únicamente la pulpa para la elaboración de productos alimenticios a nivel industrial. Al pertenecer al género *Prunus*, su almendra o semilla se caracteriza por un sabor amargo por contenido de amígdalina y prunasina (Arrázola, Sánchez, Dicenta, & Grané, 2012), glucósidos cianogénicos conocidos por descomponerse en ácido cianhídrico y benzaldehído mediante una hidrólisis enzimática. “La enzima emulsina (β -Glucosidasa), en el caso de la amígdalina, desdobra las dos moléculas de glucosa presentes (representa el 71% de la molécula), y una molécula de benzaldehído cianhidrina, que consecuentemente se desdobra en una molécula de benzaldehído (que constituye el 23%) y una de ácido cianhídrico (que abarca el 6%)” (Arrázola, 2002). Dicho proceso hidrolítico es conocido como cianogénesis (Poulton, 1990). Es así como la amígdalina y la prunasina presentes en la almendra de durazno se pueden utilizar como productores de ácido cianhídrico y benzaldehído, accionando este metabolismo de carácter catabólico.

Hidrólisis Enzimática

La amígdalina y la prunasina pueden ser hidrolizadas fácilmente; los glucósidos se descomponen lentamente en soluciones acuosas frías, aumentando su velocidad al elevar la temperatura. La reacción cuenta con la participación de

tres enzimas: la amigdalina hidrolasa y la prunasina hidrolasa, encargadas del rompimiento de enlaces glucosídicos de los azúcares (del Cueto, Møller, Dicenta, & Sánchez-Pérez, 2018); y la hidroxinitrilo liasa cuya función se basa en la separación del grupo nitrilo de la cianhidrina permitiendo la formación de HCN y benzaldehído (Figura 1). La amigdalina, principal glucósido cianogénico en la almendra, primero se hidroliza formando una molécula de prunasina y glucosa; posteriormente la prunasina, conformada por un D-mandelonitrilo (cianhidrina) y una molécula de glucosa son separadas nuevamente vía hidrólisis donde finalmente se separa el mandelonitrilo (Conn, 1980).

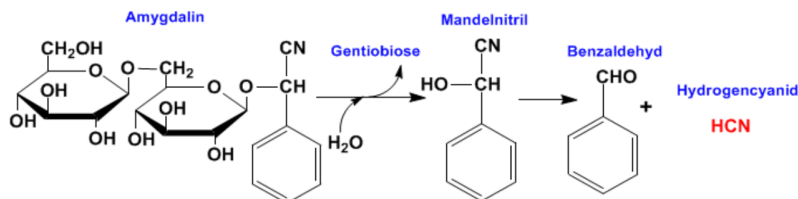


Figura 1. Reacción de hidrólisis enzimática simplificada de la amigdalina. Fuente: <http://www.biosite.dk/leksikon/amygdalin.htm>

Producción mundial

El ácido cianhídrico es un subproducto en la mayoría de los procesos de obtención convencionales. Según DataM Intelligence, su producción se distribuye principalmente entre Estados Unidos y Asia-Pacífico. En el año 2018 el valor comercial de HCN en Norteamérica fue de US\$835,8 millones, mientras que en Asia-Pacífico para ese mismo año obtuvo US\$944,1 millones. En Sudamérica, Brasil es considerado el país líder en producción de este tipo de producto (DataM Intelligence, 2019). Los principales productores en Norteamérica son American Cyanamid, BP Chemicals, DOW Chemical U.S.A, Monstanto Co, Rohm and Haas Co. Sterling Chemical, entre otros (John Wiley & Sons, 2000).

El benzaldehído a nivel comercial puede ser de grado alimenticio o de grado técnico. El benzaldehído de grado técnico abarca el 68,5% de la producción global en el 2016 (Verified Market Reports, 2019). Los principales productores de este compuesto aromático en Norteamérica son Kalama Chemical Inc y Chatterton Petrochemical Corporation en Canadá (John Wiley & Sons, 2000) se espera que, a nivel mundial, su tasa de crecimiento anual se incremente un 3,9% en los próximos cinco años, alcanzando US\$270 millones en el 2024, según un pronóstico establecido por Market Reports.

MÉTODO

Almacenamiento y preparación de la materia prima:

La materia prima fue donada por C. I Alliance S. A., una empresa dedicada al comercio mayorista de alimentos, que proveyó 26 kg de durazno proveniente de El Socorro, Santander, de los cuales se separó de forma manual el endocarpio (carozo) del mesocarpio (pulpa) para cada fruta, siguiendo el método propuesto por Ruiz y García (2018) en la extracción de amigdalina a partir de semillas del durazno por hidrólisis enzimática enterobacteriana. Luego, se procedió a la etapa de conservación, para cuyo fin se optó por uno de los dos métodos propuestos por Arrázola en su trabajo de mejoramiento genético de la almendra (Arrázola, 2002): liofilización o refrigeración. En este caso, para la conservación se escogió el segundo, manteniendo las muestras a 3 °C en condiciones de oscuridad. Es importante mencionar que el tiempo entre la separación y la conservación fue el menor posible buscando evitar deshidratación y oxidación de la almendra. Como medida de seguridad se aplicó un empacado al vacío de las almendras separadas antes de almacenarse en refrigeración. Después del acondicionamiento, las semillas se trituraron mediante un molino de bolas a 3.500 rpm en un intervalo de tiempo de 10 a 25 segundos hasta alcanzar una masa harinosa (tamaño de partícula 1 mm). Para evitar el calentamiento del material, que podría conducir a su apelmazamiento o compactación, se tuvo precaución del tiempo de molienda y cantidad agregada, procurando que no excediera la mitad de la capacidad del molino.

Una vez lista la harina, se repartió en diversas alícuotas de la cantidad original; posteriormente, se llevaron a un proceso de congelamiento a -23°C hasta el momento de su uso, para prevenir enranciamiento de las grasas. Las muestras se distribuyeron en cantidades iguales para la técnica de microdifusión enzimática de Conway, con y sin acción enzimática de *Aspergillus Niger*; y para la extracción por Soxhlet con determinación gravimétrica. Lo anterior se hizo buscando encontrar la mejor estrategia de extracción y cuantificación de cianuro y benzaldehído de los glucósidos cianogénicos aislados en la semilla de durazno. Las técnicas analíticas de microdifusión con y sin enzimas se basaron en los protocolos propuestos por Arrázola (2002); mientras que la extracción Soxhlet se desarrolló a partir de las recomendaciones propuestas por Ruiz y García (2018).

Análisis por microdifusión

La técnica de microdifusión por hidrólisis enzimática actúa como un método de separación sencilla por volatilidad de sustancias, gracias a la diferencia de volatilidad que presenta el ácido cianhídrico frente a los componentes restantes, tales como el benzaldehído y la glucosa. Puede efectuarse una determinación cuantitativa del contenido de cianuro por reacción con un reactante fijador que, en este caso, se usó hidróxido de sodio en solución. Se controló la temperatura, el tiempo y el pH, además del tamaño del recipiente de reacción. La microdifusión se realizó con adición de enzima (6 muestras) y sin enzima externa (6 muestras). Para la preparación de muestras sin adición se pesaron 0,2 g de almendra triturada y se introdujeron en el recipiente asignado como reactor; luego, en un vial colector de muestra se agregó 1 mL de hidróxido de sodio 0,2 M; el vial se instaló en el reactor como se observa en la Figura 2, montaje propuesto por Arrázola (2002). Se añadieron 4 mL de una solución reguladora de pH 5,5 (tampón fosfato), y se cerró inmediatamente el reactor que se llevó a un baño termostatzado a 35°C durante 24 horas. Este método se realizó para cada muestra.

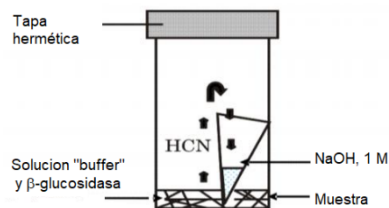


Figura 2. Ilustración del montaje para la recolección de CN mediante microdifusión. Elaboración propia, basados en Sanz (2019)

Para las muestras con adición de enzima externa se realizó el mismo procedimiento; no obstante, la adición de *Aspergillus niger* como productor de enzima β-glucosidasa requiere de la preparación de un caldo nutricional que se agregó al reactor, inoculando mediante un hisopo antes de cerrar herméticamente el reactor, que tiene como dimensiones 3 cm de diámetro y 6 cm de altura.

Una vez completado el tiempo, la mitad de las muestras 12 horas y la otra mitad 24 horas, los reactores se dispusieron en un frigorífico a 3°C; luego, el colector introducido se extrajo para llevar a cabo la valoración gravimétrica del contenido de cianuro. Para calcular el rendimiento de cianuro obtenido se preparó una muestra con 5 mL de patrón cianuro (1 ppm) con un mL de hidróxido de sodio 0,2 M en el vial colector y 0,7 mL de ácido fosfórico reajustando el pH a 5,5. Se realizó la titulación gravimétrica utilizando como agente titulante nitrato de plata 0,2 M en disolución acuosa y 0,01 g de yoduro de potasio como indicador.

Para la valoración gravimétrica, Método de Mohr, (Chávez-Ramos & Bonilla-Martínez, 2014), se transvasó la disolución alcalina resultante del colector a un vaso de precipitados de 100 mL mediante un gotero, posteriormente el vial colector se lavó con 2 mL de agua destilada tres veces, reuniéndose con el primer trasvase para formar la disolución a trabajar en la titulación. Nuevamente se diluyó a 50 mL con agua y se añadieron 0,5 g de KI. Para la determinación cuantitativa se empleó el método modificado de Liebig-Denigès, según Liebig (1851). Se añadió el agente valorante (nitrato de plata), mientras se agitaba el contenido hasta mostrar en el centro una tonalidad amarilla-rojiza. Después, los gramos de nitrato de plata gastados se calcularon por diferencia de peso del frasco que contiene la disolución antes y después del punto final de valoración, comparando con un blanco hecho de 1 mL de NaOH 0,2 M con 0,5 g de KI y agua hasta 50 mL. Finalmente, se realizó un análisis cualitativo para determinar la presencia de benzaldehído una vez completado el proceso de hidrólisis. El remanente de la muestra se vertió a un tubo de ensayo y se le adicionaron 10 gotas de reactivo de Schiff tornándose a un color rojo violeta al reaccionar con el grupo funcional aldehído.

Extracción Soxhlet

Se aplicó extracción Soxhlet a 10 muestras, empleando el método propuesto por Ruiz y García, utilizando como solvente 100 mL de etanol al 96% y 20 g de la muestra de almendra triturada por muestra durante dos horas a 80°C, valorizando cianuro por determinación gravimétrica de la misma forma que en la microdifusión a partir de 50 mL de extracto obtenido. Para la cuantificación de benzaldehído se aplicó destilación por reflujo simple con 50 mL de muestra obtenida en la extracción Soxhlet realizada.

La muestra recogida se acondicionó para eliminar impurezas. Para ello se tomaron 50 mL de muestra en un embudo de decantación, se le añadieron 18 mL de una solución saturada de bicarbonato de sodio con el fin de neutralizar el ácido benzoico que se pudo haber generado durante su manejo por oxidación del benzaldehído. Una vez agregado, el embudo se agitó para la correcta disolución del bicarbonato, generando dos fases inmiscibles por diferencia de densidades. El embudo debe estar en reposo hasta que pueda evidenciarse dicha diferencia. El benzaldehído se encuentra en la fase superior del embudo, por lo tanto, se extrajo por la parte inferior el residuo, abriendo la válvula de salida hasta dejar la fase superior contenida en el embudo. Posteriormente, se retiró la segunda fase en un matraz para realizar una clarificación con 15 g de sulfato de magnesio. El matraz se agitó para luego llevar a un proceso de filtración, separando gran cantidad de agua del benzaldehído. La solución filtrada se traslada a un balón de destilación donde se efectuará la destilación por reflujo simple, a una temperatura de 85°C durante 1 hora. Al benzaldehído, recogido por el proceso, nuevamente se le añade sulfato de magnesio anhidro para retirar el agua restante. Por último, se evalúa la cantidad recogida con respecto a la cantidad inicial del proceso.

Como paso final se compararon los resultados recopilados de las técnicas de cuantificación estableciendo los resultados en mg de HCN y de benzaldehído por cada 100 g de muestra.

RESULTADOS

Extracción Soxhlet.

A partir de los siete ensayos realizados por determinación gravimétrica, se obtuvieron en promedio 209,25 mg de cianuro/100 g de muestra seca mediante la extracción previa del analito por el método Soxhlet, como puede verse en la Tabla 1.

Muestra	mg CN/100 g muestra
1	50,68
2	348,91
3	182,22
4	297,21
5	219,02
6	206,34
7	160,33

Tabla 1. Resultados del ensayo para 7 repeticiones empleando valoración gravimétrica por Liebig-Denigès. Elaboración propia.

El contenido de cianuro detectado por determinación gravimétrica es inferior, en promedio (209,25 mg CN/100 g muestra seca, es decir 2092,5 ppm), a lo reportado teóricamente por Funes (1978) o Pereira et al. (2018), o a nivel experimental por Horna et al. (2016). No obstante, mostró un valor cercano al de Arrázola (2012), quien encontró 217,8 mg de CN/100 g de muestra seca, o Duke (2001), quien en su análisis del contenido de amígdalina y del cianuro total para varias partes del fruto reportó un rango de 142 a 341,29 mg CN/100 g de muestra seca.

Destilación por reflujo simple.

Los resultados de la determinación de benzaldehído en las diez muestras extraídas por Soxhlet mediante destilación simple se muestran en la Tabla 2.

Muestra	Extracto Soxhlet, mL	Destilado, mL	Porcentaje de recuperación, %
1	25	8,20	32,8
2	25	8,20	32,8
3	25	7,20	28,8
4	20	4,85	24,3
5	20	2,80	14,0

6	20	7,40	37,0
7	19	8,70	45,8
8	23	4,90	21,8
9	23	4,75	21,1
10	20	6,00	30,0

Tabla 2. Resultados del ensayo para 10 repeticiones empleando Destilación simple. Elaboración propia.

El bajo porcentaje de recuperación, 28,8% en promedio de las diez muestras, se debe a dificultades experimentales. Inicialmente se había propuesto destilación al vacío, pero por dificultades ajenas se reemplazó por destilación simple, menos eficiente, lo cual influye en el resultado, puesto que se observó presencia de agua en la mezcla final.

Cuantificación de cianuro por gravimetría sin enzima

Los resultados de la determinación de cianuro por gravimetría sin adición de enzima se muestran en la Tabla 3

Muestra	mg CN/100 g muestra
1	12,62
2	83,43
3	25,10
4	22,70
5	22,25
6	19,84

Tabla 3. Resultados del ensayo para 6 repeticiones por valoración gravimétrica por el método de Mohr con enzima. Elaboración propia.

No hubo una dispersión de datos tan grande como la observada en la Extracción Soxhlet (Tabla 1), aunque el valor promedio es inferior: 30,99 mg CN por 100 g de muestra seca.

Cuantificación de cianuro por gravimetría con enzima

Los resultados de la adición de enzima producida *in situ* por el hongo filamentoso *Aspergillus niger* no son tan prometedores, con un promedio de 15,32 mg CN/100 g muestra, como se muestra en la Tabla 4. Al retirar los viales con la muestra no se observó el hongo, indicando que el medio había causado su muerte, por la presencia del cianuro.

Muestra	mg CN/100 g muestra
1	39,99
2	15,06
3	27,15
4	7,88
5	1,17
6	0,66

Tabla 4. Resultados del ensayo para 6 repeticiones por valoración gravimétrica por el método de Mohr sin enzima. Elaboración propia.

Prueba de Schiff

Finalmente, no se encontró un cambio de coloración de rosa pálido a un púrpura oscuro al aplicar la prueba de Schiff para los 12 ensayos correspondientes a la microdifusión de Conway, indicando ausencia de benzaldehído.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

La concentración promedio de cianuro obtenida después de la extracción Soxhlet es similar a lo reportado por investigaciones consultadas que trabajaron con variedades de almendras amargas y ejemplares de semillas de durazno, en un rango de 142 a 341 mg de CN/100 g de muestra. No obstante, la obtenida mediante difusión modificada de Conway es inferior siete veces a la primera técnica. La adición de enzima no debe hacerse *in situ*, sino extraerla del hongo para luego sí agregarla al proceso. Por ninguna de las dos técnicas (Soxhlet o microdifusión) se observó una cantidad

significativa de benzaldehído. El estudio permite confirmar la presencia de ambos compuestos, pero sugiere mayor concentración de cianuro. Dentro de lo esperado y con las limitaciones inherentes a un estudio de pregrado, da perspectivas para continuar investigando con el fin de establecer una biorrefinería de este fruto del durazno.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alarcón, M., López, J., & Restrepo, D. (2015). Agro-industrial fruit co-products in Colombia, their sources and potential uses in processed food industries: a review. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 68(2), 7729–7742. Recuperado de: <https://doi.org/10.15446/rfnam.v68n2.50993>
- Álvarez, D. (2013). *Aprovechamiento de residuos agroindustriales para la producción de alimentos funcionales: una aproximación desde la nutrición animal*.
- Arrázola, G. (2002). *Análisis de glucósidos cianogénicos en variedades de almendro: implicaciones en la mejora genética* Tesis Doctoral. Universidad de Alicante. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/10045/3219>
- Arrázola, G., Sánchez, R., Dicenta, F., & Grané, N. (2012). Art Content of the cyanogenic glucoside amygdalin in almondRG. *Agronomía Colombiana*, 30, 6. Recuperado de: <https://www.researchgate.net/publication/333982839>
- Conn, E. (1980). CYANOGENIC COMPOUNDS. *Ann. Rev. Plant Physiol*, 31. Recuperado de: www.annualreviews.org
- Cury, R., Aguas, M., Martínez, M., Olivero, V., & Chams, Ch. (2017). Residuos agroindustriales su impacto, manejo y aprovechamiento. *Revista Colombiana de Ciencia Animal - RECIA*, 9(S), 122. Recuperado de: <https://doi.org/10.24188/recia.v9.ns.2017.530>
- Chávez-Ramos, K., & Bonilla-Martínez, D. (2014). La formación de precipitados bajo el efecto de la acidez en el método de Mohr. *Educación química*, 25(4), 440-445.
- DataM Intelligence. (2019). Hydrogen Cyanide Market Size, Share & Growth | Analysis & Trend, 2020-2027. Recuperado de: <https://www.datamintelligence.com/research-report/hydrogen-cyanide-market>
- Del Cueto, J., Møller, B., Dicenta, F., & Sánchez-Pérez, R. (2018). β -Glucosidase activity in almond seeds. *Plant Physiology and Biochemistry*, 126, 163–172. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.12.028>
- Departamento Nacional de Planeación. (2016). *Política nacional para la gestión integral de residuos sólidos* (Documento CONPES 3874). Bogotá D.C., Colombia: DNP.
- Dirección de Metodología y Producción Estadística. (2019). COLOMBIA - Encuesta Nacional Agropecuaria (ENA). Recuperado de: http://formularios.dane.gov.co/Anda_4_1/index.php
- Duke, J. (2001). *Handbook of phytochemical constituents of GRAS herbs and other economic plants*. CRC Press.
- Funes, J. (1978). *Estudio composición química de la semilla y de los aceites de semilla de frutos de especie Prunus*. Recuperado de: http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1538_Funes.pdf
- Global Benzaldehyde Market 2019 by Manufacturers, Regions, Type and Application, Forecast to 2024 - Verified Market Reports. (n.d.). Recuperado de: <https://www.verifiedmarketreports.com/product/global-benzaldehyde-market-2019-by-manufacturers-regions-type-and-application-forecast-to-2024/>
- Guerrero, V. (2010). *El carozo como materia prima para desarrollar materiales de diseño*. Santiago. Recuperado de: http://www.cybertesis.uchile.cl/tesis/uchile/2010/aq-guerrero_v/pdfAmont/aq-guerrero_v.pdf
- Horna, M., Manuel, J., & Venegas, E. (2016). *Universidad Nacional de Trujillo Facultad de Farmacia y Bioquímica Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica*.
- John Wiley & Sons, Inc (Ed.). (2000). *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. Wiley. Recuperado de: <https://doi.org/10.1002/0471238961>
- Liebig, J. V. (1851). Titration of cyanide with silver nitrate. *Justus Liebigs Ann. Chem*, 77, 102-105.
- Miranda, D., Fischer, G., & Carranza, C. (2020). Influence of climatic conditions on harvest and post-harvest quality of agricultural products-Mathematical modeling View project. Recuperado de: <https://www.researchgate.net/publication/259339482>
- Pereira, I. Pina, A., Antunes, L., Campos, Â., & Fachinello, J. (2018). Genotypic differences in cyanogenic glycosides levels of compatible *Prunus persica* P. *Persica* and incompatible *P. persica* P. *mume* combinations. *Bragantia*, 77(1), 1–12. Recuperado de: <https://doi.org/10.1590/1678-4499.2016367>
- Poulton, J. (1990). Cyanogenesis in plants. *Biological Reviews*, 5(2), 126–141. Recuperado de: <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1930.tb00896.x>
- Ruíz, M., & García, F. (2018). Extracción de amigdalina a partir de semillas de *Prunus persica* “durazno” e hidrólisis enzimática enterobacteriana. *Repositorio URP*, 9. Recuperado de: <http://repositorio.urp.edu.pe/handle/URP/2019>

- Sanz, R. (2019). Los cianuros como veneno en la toxicología forense. *Gaceta internacional de ciencias forenses*, (33), 44-80.
- Timana, J., & Urbano, D. (2013). *Caracterización de labores culturales y estado fitosanitario del cultivo de durazno Prunus pérsica en el municipio de Palestina, Huila.*