

UNIVERSIDAD DE
GUANAJUATO



INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN EN LA DCNE

INVESTIGACIÓN E
INNOVACIÓN EN LA DCNE

Investigación e Innovación en la DCNE

2018

D.R. © Universidad de Guanajuato

Lascurain de Retana núm. 5, Centro

Guanajuato, Gto., México

C.P. 36000

Queda prohibida la reproducción o transmisión parcial o total de esta obra bajo cualquiera de sus formas, electrónica o mecánica, sin el consentimiento previo y por escrito del editor.

ISBN: 978-607-441-562-9

Hecho en México

Made in Mexico

AUTORES

Georgina Elena Reyna López

Ignacio René Galindo Esquivel

Gustavo Cruz Jiménez

Jesús Isaac Minchaca Mojica

Juan Pablo Torres Papaqui

Rosa María Ortiz Hernández

Fernando Israel Gómez Castro

Carlos Alberto Araiza Cervantes

COMITÉ EDITORIAL

Fernando Israel Gómez Castro

Dennis Jack

Ignacio René Galindo Esquivel

Jesús Isaac Minchaca Mojica

Claudia Leticia Mendoza Macias

Eunice Yañez Barrientos

César Rogelio Solorio Alvarado

Juan Manuel Peralta Hernández

Beatriz Ruiz Camacho

Ricardo Morales Rodríguez

Tzayam Pérez Segura

Daniel Álvarez Barrera

Eduardo Sánchez Ramírez

Juan José Quiroz Ramírez

Claudia Gutiérrez Antonio

ÍNDICE

Síntesis y funcionalización de nanopartículas de metálicas con anticuerpos anti-acanthamoeba castellanii: Etapa de mejoramiento. <i>Cristal Azucena López-Aguilar, María Raque Huerta-Franco María, Myrnal Sabanero López, Juan Luis Pichardo-Molina , Gloria Barbosa-Sabanero.</i>	1
Generación de proteínas fluorescentes modificadas para su aplicación en Entamoeba histolyca <i>Cindy Jazmín Delgado Galván, Luis Felipe Padilla Vaca, Fernando Anaya Velázquez, Ma. de los Ángeles Rangel Serrano, Itzel Páramo-Pérez, Bernardo Franco-Bárceñas.</i>	6
Elaboración de una pasta dental libre de fluoruro, que favorezca la mineralización de las piezas dentales <i>Miguel Angel Pérez Landeros, Diana Mendoza Olivares, Fernando de Jesús Amézquita López.</i>	12
Effect of culture médium in biostimulation assays of chromates contaminated soils and identification of endogenous microorganisms <i>Estrella G. Ugalde, J. J. Becerra- Rodríguez, G. E. Reyna-López.</i>	18
Preparación de esmalte para aplicar en monococción para preparar en pastas de arcillas de la región de Guanajuato <i>Mirna Lorena Cortes, Juan José Guzmán, Zeferino Gamiño y Rosalba Fuentes.</i>	25
Efecto de las condiciones de operación de las condiciones sobre la velocidad de las gotas dentro de una cámara de mezclado de un boquilla. <i>A. K. Aranda Ramírez, J. I. Minchaca Mojica*</i>	31
Análisis de las propiedades de control a lazo cerrado de trenes destilación para la producción de bioturbosina y diésel verde. <i>Oscar Guerrero Farfán, César Ramírez Márquez, Fernando Israel Gómez Castro, Claudia Gutiérrez Antonio.</i>	39
Estudio de un colector solar de tubos evacuados mediante la dinámica de fluidos computacional (CFD) para calefacción hidrónica. <i>Sharon Stephanie López Esquivel, Jorge Arturo Alfaro Ayala</i>	44
Preparación de sílice modificada por la sililación con grupos mercapto para la remoción de arsénico en un sistema por lotes y una columna continua de lecho fijo. <i>Cristina López Puga, Dr. Oliva Eulalia Ramírez, Dr. Jorge A Cervantes Jáuregui., Dr. J. Merced Martínez Rosales J. Merced</i>	51

SÍNTESIS Y FUNCIONALIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE METÁLICAS CON ANTICUERPOS ANTI- *Acanthamoeba Castellanii*: ETAPA DE MEJORAMIENTO

López-Aguilar Cristal Azucena 1, Huerta-Franco María Raque 2, Sabanero-López Myrna1, Pichardo-Molina Juan Luis 3, Barbosa-Sabanero Gloria 4.

Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas. Universidad de Guanajuato. Noria Alta S/N; Col. Noria Alta; C.P. 36050; Guanajuato, Gto., México

Departamento de Ciencias Aplicadas al Trabajo, Universidad de Guanajuato. Av. Eugenio Garza Sada #572; Lomas del Campestre Sección II; C.P. 37150; León, Gto., México.

Centro de investigaciones en óptica. Loma del Bosque #115, Col. Lomas del Campestre; C. P. 37150; León, Gto., México.

Departamento de Ciencias Médicas, División de Ciencias de la Salud. Universidad de Guanajuato. 20 de Enero #929; Col. Obregón; C.P. 37000; León, Gto., México.

gloriabs70@hotmail.com

Resumen

Acanthamoeba castellanii es una amiba de vida libre y la causante de infecciones como queratitis amebiana. Su diagnóstico no es efectivo, ya que los métodos empleados son invasivos, lentos, algunos de alto costo y poco específicos. Por lo que hay necesidad de contar con nuevos métodos para su diagnóstico. Anteriormente nuestro grupo de investigación sintetizó nanopartículas (NPs) de oro, pero con problemas de estabilidad. Se funcionalizaron con anticuerpos (Ac) anti-*A. castellanii* y los complejos nanopartícula-anticuerpo (NP-Ac), reconocieron *in vitro* fracciones amebianas. Por lo cual el objetivo del presente trabajo fue el mejoramiento de la síntesis de las NPs y su biofuncionalización con anticuerpos anti-*A. castellanii* para evaluar su reconocimiento *in vitro*. Homogenados totales de *A. castellanii* se usaron para inmunizar conejos y obtener Ac contra el parásito. Los Ac fueron acoplados a las NPs de oro funcionalizadas con cisteamina y BSA. El complejo NP-Ac resultante, se caracterizó utilizando espectroscopía de absorción UV-VIS, Microscopía de Transmisión Electrónica (TEM) y electroforesis en geles de agarosa. El complejo NP-Ac presentó mayor capacidad de reconocimiento para los antígenos de *A. castellanii*, aumentando la sensibilidad del método. A diferencia de trabajos previos, en los que la síntesis y la funcionalización de NPs se realiza en dos etapas, en este trabajo se logró funcionalizar las NPs durante el mismo proceso de síntesis. Concluyendo que se tiene una nueva metodología para la síntesis de NPs, que les proporciona más estabilidad y permite su acoplamiento con los Ac anti-*A. castellanii*. Además, los complejos resultantes NP-Ac son capaces de reconocer fracciones amebianas *in vitro*.

Palabras clave: *Acanthamoeba castellanii*, nanopartículas, complejo nanopartículaanticuerpo, queratitis.

Introducción

Acanthamoeba castellanii es una amiba de vida libre con amplia distribución mundial. La infección con éste patógeno se produce por el uso lentes de contacto, por exposición

a aguas contaminadas, por contacto directo en la piel o por vía respiratoria inhalando polvo atmosférico con quistes, causando así graves enfermedades como la queratitis amebiana (QA), encefalitis amebiana granulomatosa (EAG) infecciones en piel, en los pulmones y en la mucosa nasal. Estos casos se han reportado principalmente en pacientes que se encuentran inmunocomprometidos o en pacientes sanos que utilizan lentes de contacto durante largos periodos de tiempo, con poca higiene o al utilizarlos en piscinas [1].

La QA es reconocida como una de las enfermedades parasitarias oculares más difíciles y graves [2].

Actualmente su diagnóstico no es efectivo, ya que los métodos empleados son lentos, algunos de alto costo, poco específicos y además son invasivos. Para la detección de diversos patógenos han sido empleados anticuerpos [3]. Por lo cual la obtención de anticuerpos dirigidos contra los trofozoítos de *A. castellanii*, es importante en la implementación de nuevas metodologías que permitan un diagnóstico oportuno y con ello poder desarrollar terapias específicas contra las infecciones causadas por estos patógenos.

OBJETIVO

Mejorar la etapa de síntesis y funcionalización de nanopartículas para el acoplamiento con anticuerpos anti-*A. castellanii* y evaluar su reconocimiento *in vitro*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Obtener anticuerpos contra *Acanthamoeba castellanii*.
- 2) Sintetizar y funcionalizar nanopartículas de oro para su acoplamiento con anticuerpos anti-*A. castellanii*.
- 3) Evitar la degradación de las nanopartículas funcionalizadas.
- 4) Evaluar el reconocimiento de las fracciones celulares de *A. castellanii* con las nanopartículas biofuncionalizadas con anticuerpos *anti-A. castellanii* (complejos NPs-Ac).

METODOS

Cultivo de trofozoítos de *A. castellanii*.

Se realizaron cultivos axénicos de las amebas en medio Chang adicionado con 10 % suero fetal bovino (Gibco). Los trofozoítos se cultivan hasta el final de la fase logarítmica (72 h) a 37 °C en botellas de cultivo de 50 mL (Corning), según el método de Rivera y col. (1984). Los Trofozoítos de *A. castellanii* fueron aislados de pacientes humanos con queratitis amebiana y donados por la Dra. Mineko Shibayama (CINVESTAV-IPN, Departamento de Infectómica y Patogénesis Molecular).

Obtención de Fracciones celulares de *A. castellanii*.

A partir de estos cultivos se prepararon homogenados totales adicionando a la pastilla celular un coctel de inhibidores de proteasas y amortiguador con 2 mM EGTA, 150 mM

NaCl, SDS 2% y se aplicaron veinte golpes en un homogenizador Potter en baño de hielo, y esta fue la fracción donde se realizaron los ensayos (homogenado).

Obtención de anticuerpos policlonales contra *A. castellanii*.

La producción de anticuerpos (Ac) se realizó en conejos de raza Nueva Zelanda de con un peso de 800 g. Antes de llevar a cabo la inmunización, se obtuvo un suero pre-inmune (SP) mediante un corte en la vena marginal de la oreja del conejo que posteriormente sería nuestro control para descartar la presencia de anticuerpos contra *A. castellanii*. Como antígeno se empleó el homogenado total de *A. castellanii* (100 µg), preparados con adyuvante completo e incompleto de Freud se inyectaron en los conejos vía intramuscular. Realizando así, cuatro inmunizaciones con intervalos de quince días según el método de Zola (1990) [4]. Al término de este lapso, se obtuvo el suero inmune (SI) del conejo conteniendo los anticuerpos contra *A. castellanii*, siendo titulados por ensayos de ELISA testificando su reconocimiento contra antígenos de *A. castellanii*.

Síntesis y funcionalización de nanopartículas (NPs) metálicas.

Utilizando un método de reducción química de sales, el coloide se sintetizó utilizando Ácido tetracloroaurico (HAuCl_4) y Borohidruro de sodio (NaBH_4), inmediatamente se funcionalizó las NPs recubriendo con cisteamina y se biofuncionalizó utilizando BSA al 10 % con la finalidad de aumentar su estabilidad electrostática, todo bajo condiciones ambientales y agitación constante. De esta manera la preparación de NPs nos proporciona un método sencillo, más rápido en comparación con trabajos anteriores [5][6] y de bajo costo.

Acoplamiento de las NPs con los anticuerpos anti- *A. castellanii*.

Al recubrir las nanopartículas de oro con cisteamina y Albumina Sérica Bovina (BSA), la molécula obtuvo una carga negativa y en la superficie el grupo funcional amino quedó expuesto para permitir que los anticuerpos fueran capaces de unirse al ser añadidos al coloide en relación 1:10 v/v, dejándose incubar toda la noche a 4 °C. Posteriormente, se centrifugó a 7000 rpm durante 20 min a 4 °C para eliminar el exceso de anticuerpo no unido. El sobrenadante se sometió a una segunda centrifugación a 7500 rpm durante 25 min a 4 °C, ambas pastillas se juntaron formando una sola y se resuspendió en PBS 0.25 mM, dando como resultado un complejo nanopartícula-anticuerpo (NP-Ac). La caracterización óptica del complejo (NP-Ac), se realizó mediante espectroscopía de absorción UV-Vis (400-700 nm), así como por electroforesis en geles de agarosa al 0.5 % para determinar el grado de movilidad de las partículas y la carga eléctrica que éstas adquieren. También se realizó la caracterización por Microscopía de Transmisión Electrónica (TEM) para determinar el tamaño y forma geométrica de las partículas.

Evaluación del reconocimiento de fracciones celulares de *A. castellanii* con el complejo NPs-Ac.

La detección de antígenos de *A. castellanii* se realizó por el método de ELISA empleando el homogenado celular (25 µg/mL), el cual se incubó durante 24 h a 4 °C en una placa de ELISA. Al término de este tiempo se bloquea con gelatina (0.2 % en PBS) durante 2 h,

se realizaron cinco lavados con PBS-Tween 20 al 0.05 % y durante 1 h se incubó usando como anticuerpo primario el complejo (NPs-Ac), evaluando diferentes diluciones. Posteriormente se realizaron cinco lavados para retirar el conjugado no unido y enseguida adicionar Silver enhancement (INVITROGEN) en cada uno de los pozos (50 μ L), excepto en el blanco y se incubó durante 10 min a 37 °C y 7 min a temperatura ambiente. La lectura se realizó en un espectrofotómetro a 540 nm.

Resultados

Se obtuvieron anticuerpos anti-*A. castellanii* en conejos, utilizando como antígeno la proteína total del parásito (homogenado) para su inmunización bajo protocolos estándares. El reconocimiento de los anticuerpos hacia antígenos parasitarios se probó en inmunoensayos, mostrando una densidad óptica óptima de 0.06.

Las NPs de oro sintetizadas y recubiertas con cisteamina y BSA se acoplaron con los Ac anti-*A. castellanii*, generando un complejo nanopartículas-anticuerpo (NPs-Ac); el cual fue caracterizado por medio de espectroscopía de absorción UV-Vis y TEM. Encontrando que el tamaño del complejo es de 24 ± 5 nm y su pico máximo de absorción de 526 nm (Figura 1). Se probó la capacidad del complejo NPs-Ac para reconocer el antígeno amebiano (homogenado total). Los resultados revelan que el complejo NPs-Ac fue capaz de reconocer los antígenos de *A. castellanii* *in vitro*. En la Figura 2 se observa el reconocimiento para dos diferentes lotes de antígenos (HT1 y HT2), a diferentes diluciones del complejo NPs-Ac, mostrando un reconocimiento mayor de un orden de magnitud en comparación con el método convencional, teniendo así una mayor sensibilidad con esta metodología.

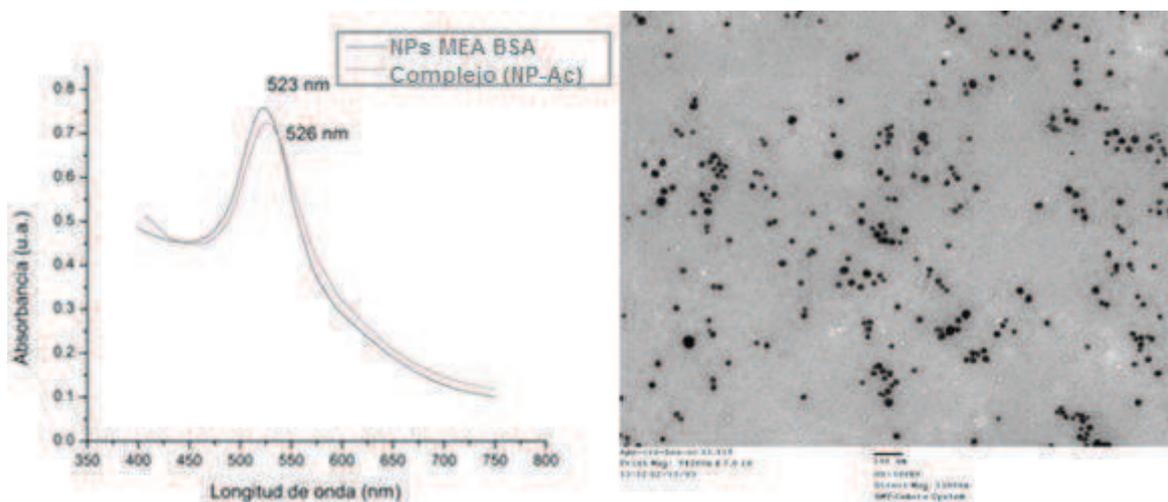


Figura 1. Caracterización del complejo (NP-Ac) por espectroscopía de absorción y TEM.

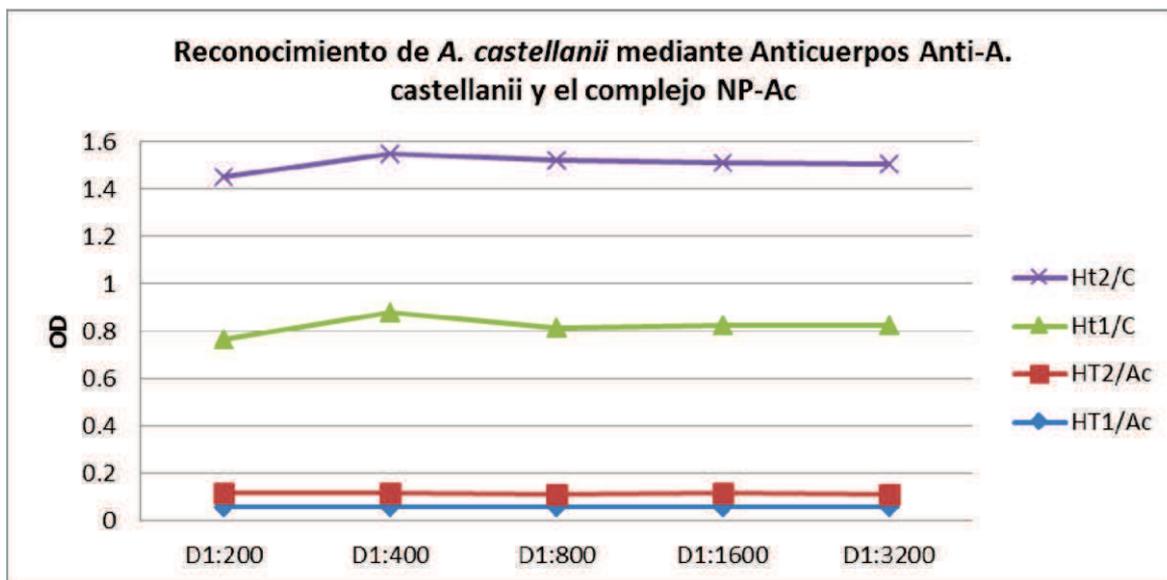


Figura 2. Reconocimiento de *A. castellanii* mediante anticuerpos y el complejo NPs-Ac. Reconocimiento del primer lote de homogenado con el Ac (HT1/Ac, línea azul). Reconocimiento del segundo lote de homogenado con el Ac (HT2/Ac, línea roja). Reconocimiento del primer lote de homogenado con el complejo NPs-Ac (HT1/C, línea verde). Reconocimiento del segundo lote de homogenado con el complejo NPs-Ac (HT2/C, línea violeta).

Conclusión

El uso de la proteína BSA en la síntesis de nanopartículas de oro recubiertas con cisteamina mejoró la estabilidad de las NPs, factor importante al momento de la conjugación con los anticuerpos anti-*A. castellanii*. Además, en los complejos (NP-Ac) se aumentó la sensibilidad del reconocimiento del trofozoíto *in vitro*. Esta metodología permitió que el proceso de síntesis y la funcionalización de las nanopartículas se realizarán en una sola etapa haciendo el proceso de producción más rápido y sencillo, a diferencia de trabajos previos. Con esta nueva metodología podemos generar nanopartículas para probar su capacidad de detección en muestras biológicas de individuos con sospecha de la presencia de *A. castellanii*, posibilitando tener alternativas útiles para diagnósticos oportunos, no invasivos y de bajo costo.

Bibliografía

1. Siddiqui R. and Khan N., 2012. Biology and pathogenesis of Acanthamoeba. Parasites and Vectors, 5(1), 6.
2. Narasimhan S, Madhavan H, Therese L. Development and application of an in vitro susceptibility test for Acanthamoeba species isolated from keratitis to polyhexamethylene biguanide and chlorhexidine. Cornea 2002, 21, 203–205.
3. Sendid, B., Poirot, J.L., Tabouret, M., Bonnin, A., Caillot, D., Camus, D., Poulain, D. 2002. Combined detection of mannanaemia and anti-mannan antibodies as a strategy for the diagnosis of systemic infection caused by pathogenic Candida species. J. Med. Microbiol. 51: 433–442.
4. Zola H. 1990. Laboratory Methods in Immunology vol.II. CRC Press. Inc.
5. Sánchez T., Barbosa G., Pichardo J., López M. y Garay M.E., 2011. Producción de AGEs y funcionalización de nanopartículas con anticuerpos anti-AGEs: aplicación para su detección de muestras biológicas y alimentos. Departamento de Ciencias Médicas de la Universidad de Guanajuato.50, 11-42.
6. M. Brust, J. Fink, D. Bethell, D. J. Schiffrin and C. Kiely, Synthesis and reactions of functionalised gold nanoparticles J. Chem. Soc., Chem. Commun., 1995 ; 16: 1655-1656 .

GENERACIÓN DE PROTEÍNAS FLUORESCENTES MODIFICADAS PARA SU APLICACIÓN EN *Entamoeba histolytica*

Delgado-Galván Cindy Jazmín^a, Padilla-Vaca Luis Felipe, Anaya-Velázquez Fernando, Rangel-Serrano Ma. de los Ángeles, Páramo-Pérez Itzel, Franco-Bárceñas Bernardo.

Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, NoriAlta s/n, Guanajuato, Gto. C.p.36050, México. kiallu05@gmail.com

Resumen

Entamoeba histolytica es un organismo parásito que afecta a más de 500 millones de personas a nivel mundial y causa 100 mil decesos anualmente. Los mecanismos de virulencia de este organismo han sido estudiados extensivamente, pero aún se desconocen muchos elementos que son importantes para el establecimiento de la infección así como la regulación que permite evadir las defensas del hospedero humano y causar la clásica sintomatología. Se cuenta con algunas herramientas moleculares para expresar o suprimir la expresión de genes en este organismo, sin embargo, las proteínas fluorescentes para determinar la localización subcelular de proteínas ha sido difícil de implementar. Probablemente una de las razones es el uso de codones que no permite que se produzcan en cantidades adecuadas, salvo en raros casos en los que se ha logrado generar fusiones a la proteína verde fluorescente (GFP). Otra razón es la autofluorescencia de este organismo, que se sobrepone en el verde. Para conocer la función de muchas proteínas, es necesario determinar su localización, por este motivo es que en este trabajo se busca optimizar la expresión de una proteína roja fluorescente (RFP), para su uso en *E. histolytica*. El método empleado fue la síntesis *in vitro* de las secuencias codificantes para ambas proteínas con un uso optimizado de codones para *E. histolytica* y verificando su funcionalidad en *E. coli*. Así mismo, se validó el uso de estas proteínas fluorescentes al fusionarlas a proteínas con localización conocida y expresarlas en trofozoítos de *E. histolytica*.

Palabras clave: *Entamoeba histolytica*, genes reporteros, proteínas verde fluorescente (GFP), proteína roja fluorescente (RFP), localización subcelular.

Introducción

Entamoeba histolytica es un protozooario anaerobio que invade el intestino grueso de humanos, generalmente por la ingesta de agua y alimentos contaminados con heces fecales que portan quistes de este microorganismo. Su ciclo de vida inicia cuando un humano ingiere un quiste, que es la forma de propagarse fuera del hospedero. Una vez que el quiste llega al intestino grueso, eclosiona liberando al trofozoíto que es la forma en la que *E. histolytica* inicia la colonización [1], [2].

Anualmente 500 millones de personas son infectadas, de las cuales 50 millones presentan un cuadro clínico clásico de la enfermedad. También se registran cerca de 100,000 muertes anuales a causa de complicaciones causadas por la infección por *E. histolytica* [3]. Es el protozooario parásito que más muertes causa en el mundo. Se presenta en

regiones geográficas donde no se tiene una barrera o control adecuado entre los desechos fecales, los cuerpos de agua potable y la población en general [4].

En México es una causa de gastroenteritis y otras manifestaciones clínicas importantes. Por ejemplo, en el año de 1996 se presentaron cerca de 1.3 millones de casos en México y estudios serológicos indicaron que cerca del 8% de la población ha padecido amibiasis en un momento de su vida [2].

En general los pacientes infectados con este protozooario parásito no presentan síntomas, aunque pacientes asintomáticos llegan a presentar la enfermedad (4-10%) hasta un año después de haber contraído al parásito [5], lo que hace difícil el diagnóstico y cifras confiables de su epidemiología y prevalencia. Cuando se presentan síntomas suele ser diarrea profusa o hemorrágica, dolor abdominal que aumenta al realizar una palpación. En casos severos se presentan úlceras intestinales. Entre las complicaciones más frecuentes se encuentra la formación de abscesos hepáticos y la invasión de otros tejidos por vía hematológica [2], [1].

La virulencia de *E. histolytica* depende tanto de factores del parásito como del hospedero. Principalmente la destrucción del tejido ocurre debido a la conjunción de la respuesta inflamatoria del hospedero aunado a factores secretados por el parásito. Dentro de los factores de virulencia más reconocidos están la lectina Gal/GalNAc (galactosa/N-acetil-Dgalactosamina), cisteín proteasas y el complejo proteico del amebaporo. Estas proteínas participan en la adhesión del parásito a las células blanco, la destrucción de moléculas del sistema inmune y la destrucción de las células blanco, respectivamente [6].

La localización de los factores involucrados en la virulencia y supervivencia de este organismo determina su función y participación en diferentes procesos celulares que finalmente permiten el establecimiento de la enfermedad en su hospedero humano.

La proteína verde fluorescente o GFP es una proteína de 27 kDa aislada de la medusa *Aequorea victoria* y es una de las principales herramientas empleadas en la caracterización de la localización subcelular de proteínas, interacción proteína-proteína (FRET) y como reportero transcripcional [7]. La formación del fluoróforo funcional depende en gran medida de dos parámetros, el pH y el estado redox, por lo que este tipo de proteínas son sensores ideales de compartimentos subcelulares o cambios en las condiciones ambientales [8].

La proteína se excita con luz ultravioleta o azul y emite en el espectro del verde. Existen numerosas mutantes de esta proteína que el espectro de excitación y de emisión son diferentes [7]. También se han aislado numerosas proteínas fluorescentes de otros organismos que han expandido las combinaciones posibles para hacer ensayos de localización múltiple [3].

Para aplicar este tipo de herramientas en *E. histolytica* se tienen que vencer dos retos importantes, uno es el uso de codones preferencial de este organismo [9]. El segundo es

la autofluorescencia del organismo. Un análisis de la literatura revela que la GFP ha sido usado en tan solo 13 publicaciones, en muchas de las cuales se ha detectado usando anticuerpos dirigidos a la proteína y no por su fluorescencia (un ejemplo es el reportado por Byekova et al., 2010). En el trabajo de Ramakrishnan y colaboradores [10] muestran el uso de la GFP como reportero, medido en citometría de flujo, encontrando bajos niveles de expresión y fluorescencia, aunque los autores aseguran que es una herramienta poderosa para el análisis de la expresión de genes así como de localización subcelular.

En el presente trabajo se pretende optimizar las proteínas roja y verde fluorescentes (RFP y GFP respectivamente) para utilizarlas como reporteros de localización subcelular o reporteros transcripcionales. El método a seguir es la síntesis *in vitro* de los marcos de lectura de cada una de estas proteínas, confirmar su fluorescencia en un sistema bacteriano (*E. coli*) y demostrar su actividad *in vivo* en *E. histolytica*.

Metodología

Cultivo de células. Los trofozoítos de *E. histolytica* HM1:IMSS se cultivaron en medio TYISS como se describió previamente (Diamond LS, 1983). Las células de *E. coli* se crecen en LB suplementado con el antibiótico correspondiente, ampicilina (100 µg/ml) para el vector pQE30 o pEhEx o kanamicina (50 µg/ml) para el plásmido pIDTSMART-KAN : RFPEh. **Generación de las construcciones.** Los genes de las proteínas RFP y GFP se sintetizaron usando la secuencia depositada en la base de datos Registry of Standard Biological Parts (<http://parts.igem.org/>) bajo los números de acceso BBa_E1010 para la proteína RFP y BBa_J97001 para la proteína GFP. Se escogieron estos genes reporteros debido a su intensa fluorescencia y que el espectro de excitación y emisión están dentro del UV-visible, permitiendo ver colonias de *E. coli* transformantes de color tenue (rojo y amarillo respectivamente), facilitando la selección. Los genes se sintetizaron con la compañía Integrated DNA Technologies (IDT), optimizando todos los codones para *E. histolytica* de acuerdo al análisis de Ghosh y colaboradores [9]. Los fragmentos obtenidos se amplificaron por PCR usando los oligonucleótidos GFPEhBamH CACGGATCCATGTCATCTGGAGCATTACT y GFPEhRvXhoI ACTGCTCGAGCTATTATCTATATGTTTCTAAATCAAC para subclonar la GFP optimizada en el vector bacteriano pQE30. Para la proteína RFP se emplearon RedEhBamHI CACGGATCCATGGCATCATCAGAAGATGTTATTAA y RedEhRvXhoI ACTGCTCGAGCTATTATGCTCCTGTTGAATGTCTTC.

Transfección de trofozoítos de *E. histolytica*. Las construcciones generadas serán transfectadas usando el método de transfección mediada por liposomas descrito previamente [11] y modificado por nuestro grupo de trabajo [12]. En breve, 10⁵ trofozoítos de la cepa de

E. histolytica que se desea transfectar son sembrados en placas de seis pozos de 35 mm de diámetro con 12 ml de medio TYI-S-33 y cultivadas por 15 horas. Los complejos de lípidos y DNA se preparan usando el reactivo LipofectAMINE (Life Technologies) y medio OPTIMEM I (suplementado con 5 mg/ml de cisteína y 1 mg/ml de ácido ascórbico). Las transfecciones se realizan con 3 µg de DNA del plásmido purificado. Los trofozoítos

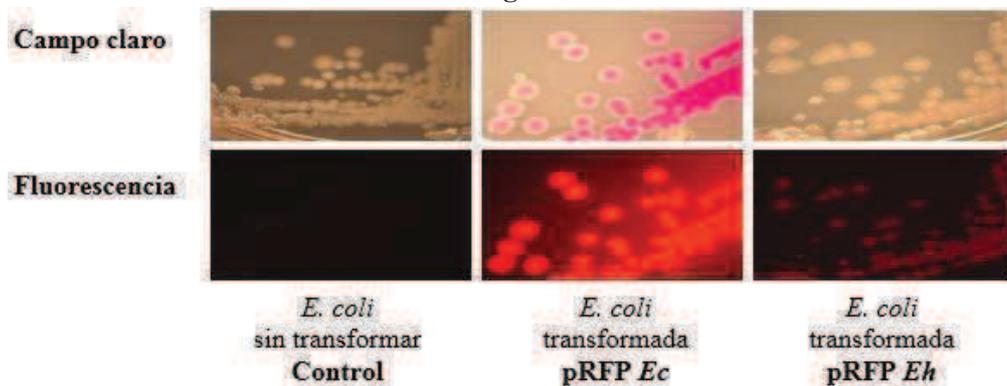
transfectados se transfieren a medio TYI-S-33 fresco y se incuban con el antibiótico de selección (G418 para el caso de los plásmidos que se planea emplear) iniciando a una concentración de 6 µg/ml. La concentración de antibiótico se va elevando gradualmente hasta alcanzar la concentración deseada.

Comprobación del sistema. Los trofozoítos transfectados de *E. histolytica* se corroboraron por PCR para determinar la presencia tanto del gen de resistencia a neomicina como la del gen codificante de la proteína RFP. La expresión del gene reportero se determinó por microscopía confocal y citometría de flujo. Las transfectantes se separaron usando el método de enriquecimiento de los trofozoítos por *Cell Sorting*.

Resultados

Microscopía estereoscópica de fluorescencia

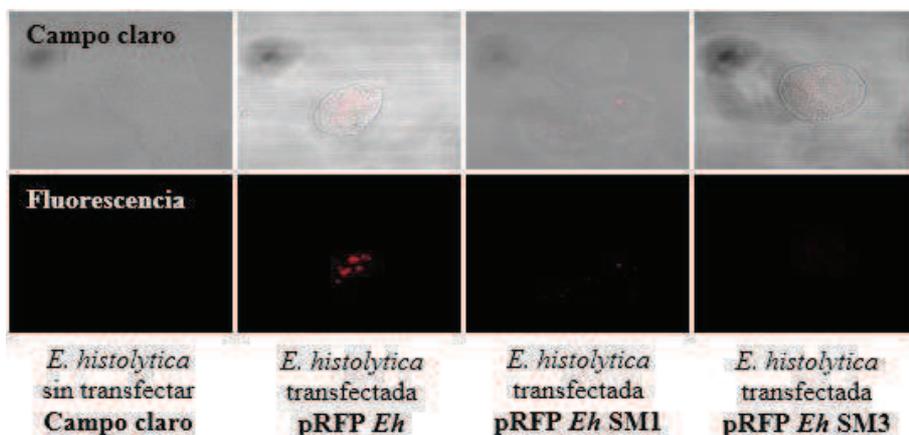
Figura 1



En la **figura 1** se aprecia una diferencia significativa en el nivel de expresión en las células transformadas, ya que se observa mayor intensidad de fluorescencia en las células transformadas de *E. coli* con la proteína RFP y el uso de codones de *E. coli*, en comparación con las células transformadas de *E. coli* con la proteína RFP y el uso de codones de *Entamoeba histolytica*, donde la intensidad de fluorescencia disminuye.

Microscopía confocal

Figura 2

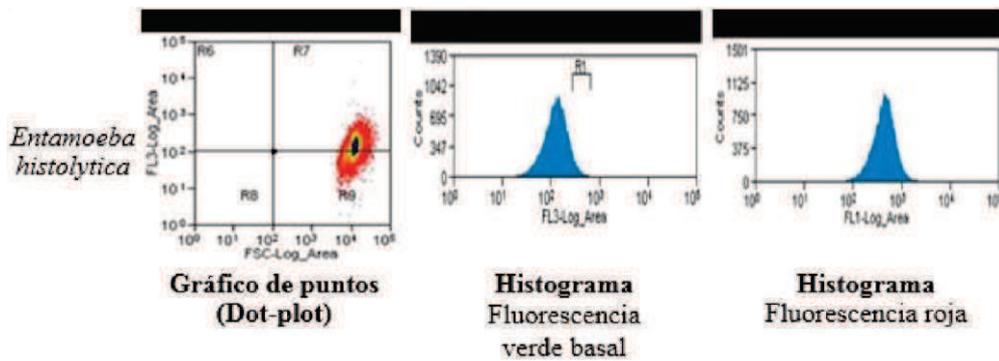


En la **Figura 2** se aprecia la transfección de trofozoítos de *E. histolytica* con la proteína RFP optimizada con el uso de codones de *E. histolytica*, observándose una intensidad de

fluorescencia considerable en los *trofozoítos* transfectados solo con la proteína RFP, en comparación con los *trofozoítos* transfectados con la proteína RFP fusionada a la esfingomielinasa 1 y los transfectados con RFP fusionada a la esfingomielinasa 3, ya que se observa una variación en la intensidad de fluorescencia en los tres casos y el patrón de distribución de la señal.

Citometría de flujo

Figura 3



En la **Figura 3** se aprecia la determinación por citometría de flujo de la población de *E. histolytica* fluorescente y no fluorescente. Se muestra un control sin transfectar en el dot-plot y en el primer histograma, donde se observa una distribución homogénea de la población de amibas y su fluorescencia basal en el rango del verde respectivamente, mostrándose en el segundo histograma un desplazamiento hacia la fluorescencia roja con amibas transfectadas.

Figura 4

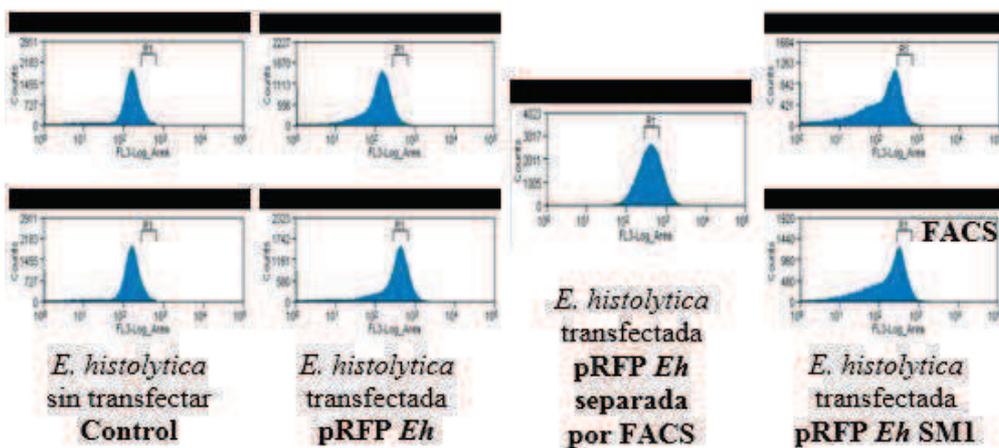


Figura 4. Dado que en los resultados por microscopía confocal no se aprecia una fluorescencia homogénea, se decidió utilizar el método de enriquecimiento de los trofozoítos por Cell Sorting, logrando separar la población más fluorescente en el rango del rojo para las amibas transfectadas con la proteína RFP, así como para las amibas transfectadas con la proteína RFP ensamblada a la esfingomielinasa 1.

Conclusiones

Se logró construir usando técnicas de biología sintética, un gen codificante para la proteína Roja Fluorescente con el uso de codones de *E. histolytica*. Se corroboró la correcta expresión, ensamble y funcionalidad de ésta proteína en *E. coli* mediante microscopía estereoscópica de fluorescencia para después probarla en *E. histolytica*. Este reportero mostró la capacidad de ser expresado de manera correcta en trofozoítos de *E. histolytica* y con un mínimo de interferencia por autofluorescencia del mismo.

Bibliografía

- [1] Pritt BS, Clark CG: Amebiasis (2008) Mayo Clin Proc, 83:1154-1159.
- [2] Stanley SL Jr. Amoebiasis (2003) Lancet, 22;361(9362):1025-34.
- [3] Alieva NO, Konzen KA, Field SF, Meleshkevitch EA, Hunt ME, Beltran-Ramirez V, Miller DJ, Wiedenmann J, Salih A, Matz MV. Diversity and evolution of coral fluorescent proteins. PLoS One. 2008 Jul 16;3(7):e2680. doi: 10.1371/journal.pone.0002680.
- [4] Baxt LA, Singh U. New insights into *Entamoeba histolytica* pathogenesis (2008) Curr Opin Infect Dis. 21(5):489-94.
- [5] Gathiram V, Jackson TF. A longitudinal study of asymptomatic carriers of pathogenic zymodemes of *Entamoeba histolytica* (1987) S Afr Med J. 21;72(10):669-72.
- [6] Padilla-Vaca F, Anaya-Velázquez F. Insights into *Entamoeba histolytica* virulence modulation (2010) Infect Disord Drug Targets. 10(4):242-50.
- [7] Collings DA. Subcellular localization of transiently expressed fluorescent fusion proteins. Methods Mol Biol. 2013;1069:227-58. doi: 10.1007/978-1-62703-613-9_16
- [8] Remington SJ. Green fluorescent protein: a perspective. Protein Sci. 2011 Sep;20(9):1509-19. doi: 10.1002/pro.684
- [9] Ghosh TC, Gupta SK, Majumdar S. Studies on codon usage in *Entamoeba histolytica*. Int J Parasitol. 2000 May;30(6):715-22.
- [10] Ramakrishnan G, Rogers J, Mann BJ, Petri WA Jr. New tools for genetic analysis of *Entamoeba histolytica*: blastocidin S deaminase and green fluorescence protein. Parasitol Int. 2001 Mar;50(1):47-50
- [11] Nozaki, T., Asai, T., Sanchez, L.B., Kobayashi, S., Nakazawa, M., Takeuchi, T. Characterization of the gene encoding serine acetyltransferase, a regulated enzyme of cysteine biosynthesis from the protist parasites *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar*. Regulation and possible function of the cysteine biosynthetic pathway in *Entamoeba* (1999) J. Biol. Chem. 274, 32445–32452.
- [12] Mendoza-Macías CL, Barrios-Ceballos MP, de la Peña LP, Rangel-Serrano A, Anaya-Velázquez F, Mirelman D, Padilla-Vaca F. *Entamoeba histolytica*: effect on virulence, growth and gene expression in response to monoxenic culture with *Escherichia coli* 055 (2009) Exp Parasitol. 121(2):167-74.

ELABORACIÓN DE UNA PASTA DENTAL LIBRE DE FLUORURO, QUE FAVOREZCA LA REMINERALIZACIÓN DE LAS PIEZAS DENTALES

Miguel Angel Pérez Landeros^a, Diana Mendoza Olivares^b, Fernando de Jesús Amézquita López
Departamento de Farmacia, DCNyE. Universidad de Guanajuato, Noria Alta s/n, Guanajuato, Gto,36050,
MÉXICO.

angel_s_flight@hotmail.com

Departamento de Química, DCNyE. Universidad de Guanajuato, Noria Alta s/n, Guanajuato, Gto36050,
MÉXICO.

Resumen

Objetivo. Probar las características funcionales de una nueva formulación propuesta de pasta libre de fluoruro en un grupo de individuos control, así como en individuos con algún tipo de padecimiento oral. **Materiales y métodos.** Se realizaron distintas formulaciones modificando el agente pulidor así como el polietilenglicol utilizado. Estas formulaciones se sometieron a pruebas de estabilidad a 4, 25 y 37°C por un periodo de un mes. Toda vez pasadas las pruebas de estabilidad se evaluaron las características físicas de las formulaciones en un grupo control. La formulación mejor evaluada fue la que se utilizó posteriormente en otro grupo control, así como en individuos con gingivitis, fluorosis y diabetes, con la finalidad de evaluar las características funcionales de la nueva formulación. **Resultados.** La evaluación de las características de la pasta se llevó a cabo en una escala de 0 a 5. La formulación con mejor ponderación obtuvo un 3,83 general, considerando características como el sabor, olor, cantidad de espuma, sensación de limpieza, consistencia y sensación de frescura. Esa misma formulación fue evaluada por individuos con fluorosis, gingivitis, diabetes así como por otro grupo control. Dando un valor general de 4 en la evaluación de las características funcionales de la pasta. **Conclusiones.** Se espera que eventualmente esta nueva formulación coadyuve a la disminución del índice de fluorosis y ayude al tratamiento de la gingivitis, favoreciendo la remineralización dental.

Palabras clave: *fluoruro, fluorosis, remineralización.*

Introducción

El flúor sólo se encuentra en forma de sales en la corteza terrestre. Su contenido total en la misma constituye el 0,02%, pudiéndose encontrar fundamentalmente diseminado en distintos minerales como la fluorita (CaF_2), criolita (Na_3AlF_6) y fluoroapatita ($\text{Ca}_{10}\text{F}_2(\text{PO}_4)_6$). El flúor también se presenta en forma de fluoruros en el agua de mar (0,0001%), en ríos (0,00002%)¹. El agua es la principal fuente de este elemento, sin embargo debido a la sobreexplotación de mantos acuíferos que abastecen a varias ciudades de México ha tenido como consecuencia la necesidad de obtener agua potable de pozos cada vez más profundos. Pozos donde la concentración de flúor excede los límites permisibles debido a que las aguas subterráneas, por la composición geológica del suelo, favorece que las concentraciones de flúor sean altas

2-4.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) indica que los niveles óptimos de flúor en el agua se encuentran entre 0,5 y 1,0 mg/L⁵. En México se ha establecido, con base en la Norma Oficial Mexicana (NOM-201-SSA1-2002), una concentración máxima de 0,7 mg/L para el agua embotellada y de 1,5 mg/L para el agua en sistemas de abastecimientos públicos y privados⁶.

En la República Mexicana hay varios estados en los que la gran contaminación del agua potable por fluoruros representa un gran riesgo para la salud pública. Un total de 17 estados presentan problemas por contaminación del agua por flúor. En los estados de Baja California Norte, Durango, Aguascalientes, Zacatecas y Guanajuato la contaminación de agua subterránea se localiza en la mayor parte del estado; mientras que en los estados de Sonora, Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Sinaloa, San Luis Potosí, Jalisco, Michoacán, Querétaro, México, Hidalgo y Puebla la presencia de contaminantes en el agua subterránea se presenta en algunas localidades⁷.

No obstante, la fluorosis dental endémica o hipoplasia del esmalte no sólo es un problema de

México ya que en diversas partes del mundo, como Asia, África, India, Europa, Estados Unidos existen también zonas geográficas con exceso de fluoruros en sus fuentes de agua potable⁸.

La fluorosis dental es una hipomineralización del esmalte, alteración de carácter irreversible, provocada por la ingesta crónica de fluoruro durante el periodo formativo de la dentición, básicamente desde el nacimiento hasta los 7 u 8 años de edad^{5,9,10}. A partir de los 8 años se calcifican los últimos dientes definitivos. Así pues, esta edad supone el límite hasta el cual existe un riesgo teórico de fluorosis dental de la dentición permanente¹¹.

Clínicamente el esmalte adopta una apariencia moteada, con manchas cafés o blancas opalescentes y estriadas. Siempre de manera simétrica en dientes homólogos. Actualmente, la utilización conjunta de diferentes productos fluorurados de higiene bucal (geles, colutorios, barnices, dentífricos), programas preventivos a base de fluoruro aunado al consumo de refrescos y jugos de frutas (el agua que se usa en la elaboración de refrescos proviene ya sea de la red municipal, o bien de pozos profundos que se localizan en la propia fábrica, sin existir propiamente un control adecuado de sales) que también pudieran considerarse como fuentes adicionales de exposición a fluoruro ha incrementado la prevalencia de fluorosis en el mundo entero, en zonas donde este problema no era endémico

3, 10, 12.

Lamentablemente la eliminación completa del fluoruro de los pozos de agua es un proceso por demás complicado aunado al desconocimiento de la distribución y evolución del contenido de fluoruros en el agua extraída del subsuelo limita en gran medida la eficacia de los programas de control de calidad del agua¹³.

Sin contar con el hecho las pastas comerciales en nuestro país contienen una cantidad (11001450) mg/Kg de fluoruro y aproximadamente se consume 1 gr de pasta con cada cepillado dental. Con lo que se obtiene una cantidad aproximada de 1,450 mg de fluoruro por cepillado que se desecha directamente al agua. Dicho de otra manera, por cada cepillado dental que realice un millón de personas aproximadamente 1,450 Kg de fluoruro son devueltos al agua, lo que dificulta aún más que el índice de fluorosis, en sus distintos grados de desarrollo, se vea disminuido.

Es por eso que en la búsqueda de eliminar un factor de riesgo que contribuya al desarrollo de fluorosis se desarrolló una pasta dental utilizando al xilitol como principio activo debido a las propiedades que posee en la prevención de caries, actividad a la que está destinado el flúor.

Entre otras acciones protectoras, el xilitol controla la acumulación de biopelícula en las superficies dentales evitando así la inflamación gingival; disminuye el efecto adherente de los microorganismos proporcionando una protección contra enfermedades del periodonto e impide además la desmineralización del esmalte, ya que reduce la producción de ácido por su efecto inhibitorio directo sobre las bacterias implicadas ¹⁴.

Metodología

Reactivos: fosfato dicálcico dihidratado (grado alimenticio), alúmina, bicarbonato de sodio, xilitol (grado alimenticio), dióxido de titanio (rutilo), óxido de magnesio, laurilsulfato de sodio, glicerina (grado USP), agua tipo I, carboximetilcelulosa, fosfato de potasio, oxalato de potasio, PEG-1450, PEG- 3350, PEG-600, PEG-400, limoneno, sacarina, stevia (grado alimenticio), saborizantes, colorantes.

Material y equipo de laboratorio: vasos de precipitados, tazón de vidrio, mortero y pistilo de porcelana, micropipetas, balanza, paletas para mezclar, pomaderas.

Equipo: molino de bolas, bolas, tamiz, mallas (150), parrilla de agitación-calentamiento, Espectrofotómetro Infrarrojo con Transformada de Fourier.

Protocolo:

1. Se evaluará la solubilidad y el tamaño de partícula de los distintos reactivos a utilizar.
2. Se llevará a cabo un proceso de molienda y tamizado para los reactivos que lo requieran.
3. Se variará el tiempo de molienda dependiendo del tamaño de partícula del reactivo a moler.
4. La dureza será un factor muy importante en la elección del pulidor que se usará en la pasta.
5. Se utilizarán distintos pulidores así como distintos polietilenglicoles para hacer varias formulaciones hasta observar cual nos conviene usar.
6. En las distintas formulaciones se agregarán distintos volúmenes de sabor y color.

7. Se evaluará el pH de distintas marcas comerciales de pastas para hacer la comparación con la nueva formulación propuesta.
8. Se evaluarán las propiedades organolépticas y funcionales de la pasta.

Resultados

Con base en la dureza de los distintos pulidores que se utilizaron, se optó por usar el fosfato dicálcico dihidratado puesto que es un reactivo económico, de fácil adquisición además de tener una dureza que no compromete la integridad del esmalte (*ver Tabla 1*). La complicada disponibilidad de adquisición del PEG-600, que es el polietilenglicol más usado en la industria para la elaboración de cremas dentales, nos llevó a la necesidad de proponer el uso de un polietilenglicol de un peso molecular menor, el PEG-400, que por su facilidad de adquisición y por cumplir satisfactoriamente la funcionalidad del PEG-600 lo hace una alternativa muy factible para el desarrollo de un proyecto con visión a futuro.

Tabla 1. Dureza de los distintos pulidores empleados

PULIDOR	DUREZA ESCALA MOHS
Alúmina	9
Bicarbonato de sodio	2,5
Carbonato de potasio	---
Fosfato dicálcico dihidratado	2,5
Óxido de magnesio	5,5
Esmalte dental	5
Dentina	3-4

Se realizaron varias formulaciones con variaciones en los componentes. Al final fueron 3 las que cumplieran con nuestras expectativas. Se evaluaron las características organolépticas de las 3 formulaciones y se obtuvo que la tercer formulación fue la mejor aceptada (*ver Tabla 2*). Por lo tanto será la formulación definitiva. La evaluación se hizo con calificación de 0 a 5 en orden ascendente.

Tabla 2. Evaluación de las características organolépticas de la pasta

Formulación	Espuma	Sabor	Olor	Limpieza	Consistencia	Frescura
I	2,7	3,7	3,7	3,7	2,3	3
II	3,0	3,7	3,7	3,7	2,0	2,7
III	3,0	3,6	4,2	3,8	4,4	4,0

Ya decidida la formulación definitiva se procedió a medirle el pH junto a otras pastas comerciales para compararlas con el pH de la saliva (6,5-7,5).

Tabla 3. Comparación del pH de distintas pastas dentales

Pasta dental	pH
Briden	6,07
Colgate máxima protección anticaries	9,45
Colgate original	6,43
Colgate Smiles	6,85
Desert Essence Cool mint	7,17
Desert Essence Mint	8,86
Formulación propuesta adulto	8,26
Formulación propuesta niño	7,76

Una vez concluido el periodo de prueba en los pacientes con fluorosis no se observó ningún cambio aparente en el área del diente que se encuentra manchado por la fluorosis, no obstante esto se podía prever debido a que la dureza de nuestro agente pulidor es inferior a la del diente, sin ser la finalidad del primero eliminar el moteado dental, puesto que eso conllevaría a “limar” el esmalte haciéndolo más susceptible a sufrir sensibilidad. Por otro lado, en los pacientes que padecen gingivitis, uno de los dos comentó que al haber consumido aproximadamente la mitad del primer frasco de pasta que se le entregó el sangrado desapareció y no reincidió en todo el periodo del tratamiento. Mientras que el otro paciente solo reportó una disminución en la frecuencia del sangrado.

Conclusiones

Se desarrolló y se evaluaron las características organolépticas y funcionales de la formulación propuesta. Se espera que eventualmente pueda ir disminuyendo el índice de niños afectados por la fluorosis en sus distintos grados de daño. Aunado al daño más allá de lo estético, llegando a convertirse en daño psicológico. Las características del xilitol nos ofrece una alternativa viable para la prevención de dos problemas periodontales (fluorosis y caries) que afectan a un gran sector de la población nacional. Además de que la pasta sin fluoruro no contribuirá a aumentar la concentración de fluoruro en el medio ambiente.

Bibliografía

- [1] Montiel Cota, Agustín (2006) “Eliminación de Flúor en Agua Potable Utilizando Zeolita Natural (Clinoptilolita)”, Tesis de Maestría, Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora, México, 4-13.
- [2] Loyola Rodríguez, J.P., Pozos Guillén, A. J., Hernández Guerrero, J. C., Hernández Sierra, J. F., (2000)

- “Fluorosis en dentición temporal en un área con hidrofluorosis endémica”, *Sal. Púb. Méx.*, 42, (3), 194-199.
- [3] Loyola Rodríguez, J. P., Pozos Guillen, A. J., Hernández Guerrero, J. C., (1998) “Bebidas embotelladas como fuentes adicionales de exposición a flúor”, *Sal. Púb. Méx.*, 40, (5), 438-441.
- [4] Valenzuela, Lorenzo, Ramírez Hernández, Jorge, A. Sol, Jesús, A. Reyes, Jaime (2011) “Alternativas para la Eliminación Doméstica de Flúor en el Agua de Consumo Humano”, *Inf. Tec.*, 22, (2), 23-32.
- [5] Betancourt Lineares, Armando., Irigoyen Camacho, María Esther., Mejía González, Adriana., Zepeda Zepeda, Marco., Sánchez Pérez, Leonor. (2013) “Prevalencia de fluorosis dental en localidades mexicanas ubicadas en 27 estados y el D.F. a seis años de la publicación de la Norma Oficial Mexicana para la fluoruración de la sal”, *Rev. Inv. Clin.*, 65, (3), 237-247.
- [6] Pérez Patiño Teresa de Jesús, Scherman Leañó Rosa Leticia, Hernández Gutiérrez René Juan, Rizo Curiel
Genoveva, Hernández Guerrero Martha Patricia. (2007) “Fluorosis dental en niños y flúor en agua de consumo humano. Mexticacán, Jalisco, México”, *REDALYC*, 9, (3), 214-219.
- [7] Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades de la Secretaría de Salud, Estudio Nacional (2004). Recuperado de <http://www.bvsde.opsoms.org/bvsacg/e/foro4/17marzo/supply/calidad.pdf>.
- [8] Pérez Patiño Teresa de Jesús, Scherman Leañó Rosa Leticia, Hernández Gutiérrez René Juan, Rizo Curiel
Genoveva, Hernández Guerrero Martha Patricia. (2007) “Fluorosis dental en niños y flúor en agua de consumo humano. Mexticacán, Jalisco, México”, *REDALYC*, 9, (3), 214-219.
- [9] Ariza Villanueva, Carola., Cabrera Pérez, Roxana., Caro Norabuena, Braulio., Delgado Llancari, Roxana., Gamarra Morales, Harold., Huanca Sánchez, Jessica., Izaguirre Pérez, Patricia., San Román Suárez, Isabel. (2009). Posología y Presentación de los fluoruros tópicos en nuestro medio-Fluorosis dental, Universidad Nacional Mayor De San Marcos. Recuperado de http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/monografias/alumnos/salcedo_rr.pdf.
- [10] Aguilar Rodríguez, Yair Pavel., De la Cruz Cardoso, Dolores., (2007) “Estudio epidemiológico de fluorosis dental en el municipio de Nezahualcóyotl, Estado de México”, *Rev. Esp. Cien. Sal.*, 10, (1-2), 33-37.
- [11] Ariza Villanueva, Carola., Cabrera Pérez, Roxana., Caro Norabuena, Braulio., Delgado Llancari, Roxana., Gamarra Morales, Harold., Huanca Sánchez, Jessica., Izaguirre Pérez, Patricia., San Román Suárez, Isabel. (2009). Posología y Presentación de los fluoruros tópicos en nuestro medio-Fluorosis dental, Universidad Nacional Mayor De San Marcos. Recuperado de http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/monografias/alumnos/salcedo_rr.pdf.
- [12] Casanova Rosado, Alejandro José., Medina Solís, Carlo Eduardo., Casanova Rosado, Juan Fernando., Vallejos Sánchez, Ana Alicia., de la Rosa Santillana, Rubén, Mendoza Rodríguez, Martha., Villalobos Rodelo, Juan José., Maupone, Gerardo. (2013), “Prevalencia de fluorosis dental en ocho cohortes de mexicanos nacidos durante la instauración del Programa Nacional de Fluoruración de la Sal Doméstica”, *Gac. Méd. Méx.* 149, 37-35.
- [13] Trejo Vázquez, Rodolfo.. Bonilla Petriciolet, Adrián., (2001), “Exposición a fluoruros del agua potable en la ciudad de Aguascalientes, México”, *Rev Panam Sal. Púb.* 10, (2), 108-113.
- [14] Panesso Suescún, Ernesto A., Calle Arroyave, María Clara., Meneses Gómez, Edwin J., (2012), “Salud bucal y xilitol: usos y posibilidades en caries y enfermedad periodontal en poblaciones “PEPE”, *Rev. Univ. Sal.* 14, (2), 205-215

EFFECT OF CULTURE MEDIUM IN BIOSTIMULATION ASSAYS OF CHROMATES CONTAMINATED SOILS AND IDENTIFICATION OF ENDOGENOUS MICROORGANISMS

G. Ugalde -Estrella*, J. J. Becerra- Rodríguez*, G. E. Reyna-López*

* Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato. Unidad Noria Alta. Edificio L planta baja, Noria Alta s/n, Col. Noria Alta, C.P. 36050. Guanajuato, Gto. Tel. 01 473 732 0006 Ext. 8177 (E-mail:georginaugaldestrella@hotmail.com; juan_jo_082@hotmail.com; reinalg@ugto.mx)

Resumen

El cromo y sus compuestos son muy utilizados en la industria generando contaminación de suelos y acuíferos. La presencia de cromo en el medio ambiente ha seleccionado la presencia de microorganismos con la capacidad de tolerarlo en elevadas concentraciones; los mecanismos de interacción de los microorganismos con el cromo son de gran interés biotecnológico para el desarrollo de nuevos procedimientos de tratamiento y remediación de sitios contaminados con cromatos. En este trabajo se realizaron ensayos de bioestimulación de suelos contaminados con cromatos, evaluando diferentes fuentes nutricionales. Se seleccionaron medios de cultivo para hongos y bacterias que permitieran el crecimiento y multiplicación de los microorganismos nativos de estos suelos, aumentando su actividad natural de reducción de Cr(VI) a Cr(III), esta última, su forma menos tóxica. Los resultados mostraron que al agregar solo agua al suelo, no existe reducción de Cr(VI). Los medios mínimos usados presentaron los mejores porcentajes de reducción siendo el medio Lee con el que se obtuvieron los mejores porcentajes de reducción. Con medios complejos, como el caldo nutritivo, se obtuvieron reducciones desde el 88% al 95% en un mayor tiempo de incubación. Los resultados menos eficientes se presentaron con el medio M9, el cual se suplemento con diferentes fuentes de carbono. El tiempo en el que se lleva la etapa de reducción en los medios de cultivo con mayor eficiencia, oscila entre los 12 y 15 días. El análisis de poblaciones mostró que las muestras de tierra contaminada contienen en su mayoría microorganismos anaerobios facultativos, identificándose los géneros:

Pseudomonas, Exiguobacterium, Xanthomonas sp, Chryseomicrobium, Bacillus, y Lysinibacillus.

Palabras clave: *Bioestimulación, Suelos, Reducción, Cromatos, Microorganismos.*

Introducción

El Cromo (Cr) es un metal gris acero, puede existir en varios estados de oxidación, que van desde Cr²⁻ a Cr⁶⁺; siendo más comunes y estables la forma trivalente Cr(III) y la forma hexavalente Cr(VI); esta última es la más tóxica y clasificada como carcinógeno en humanos en el grupo "A" por la EPA [1]. El Cr está presente naturalmente en el medio ambiente, en las rocas, animales, plantas y el suelo. El Cr se encuentra en la forma de sus compuestos, y el mineral de cromo más importante es la cromita (Fe, Mn) Cr₂O₄ [2].

La existencia de Cromo en el medio ambiente ha seleccionado la presencia de microorganismos adaptados con la capacidad de tolerar altos niveles de compuestos de cromo, planteándose la posibilidad de utilizar estos microorganismos como herramienta biotecnológica para la remediación de sitios contaminados con cromatos. En bacterias, los derivados catiónicos de Cr(III) pueden ser unidos fuertemente a los liposacáridos de *Salmonella*, paredes celulares de *Bacillus subtilis*, y polímeros capsulares de *Bacillus licheniformis*, en *Pseudomonas aeruginosa*, *Alcaligenes eutrophus* y *Cupriavidus metallidurans* se identificaron plásmidos de resistencia a cromato [3]. En el caso de los hongos, existen mecanismos que incluyen: a) los sistemas de transporte e incorporación (bioacumulación); b) la interacción y unión con componentes de la superficie celular (biosorción); y c) la transformación química (reducción). El proceso de biosorción se ha descrito en cepas de hongos filamentosos con excelentes capacidades para la remoción de cromo [4]. Los reportes sobre hongos con capacidad de reducir el Cr (VI) incluyen levaduras como *Candida utilis* [5], *Paecilomyces* sp[6] y hongos filamentosos. Se han aislado cepas de *Aspergillus niger* (Ed8), y *Penicillium* sp (H13) con una alta eficiencia de reducción de Cr(VI) [7]. La eficiencia de la capacidad de reducción, por la cepa Ed8, se incrementa si el medio de cultivo se suplementa con citrato y otros ácidos orgánicos [8]. Para *Neurospora crassa* se ha descrito mutantes resistentes a cromato [9]. En otras especies como *Candida*, el mecanismo general de resistencia se ha relacionado con la disminución en la acumulación del ión. En células de un aislado de *Candida maltosa* se observó la capacidad de reducción de Cr(VI) y la presencia de actividad de cromato reductasa dependiente de NADH [10]. Se ha observado que la presencia de fuentes de carbono y nitrógeno apropiadas son necesarias para aumentar la capacidad de reducción de los microorganismos [11]. En estudios previos se ha reportado que la glucosa es un donador adecuado de electrones para la reducción aeróbica de cromato [12]. Varias especies de bacterias pueden reducir Cr(VI) cuando se cultivan en medios que contienen extracto de levadura o caldo nutriente, pero no en medio mínimo que tiene sales como única fuente de carbono [13]. En estudios realizados en microorganismos como *Pseudomonas aureginosa* y *Pseudomonas putida* a altas y bajas concentraciones de nutrientes, mostraron que a altas concentraciones de nutrientes la producción celular se incrementa, convirtiéndose en una condición desfavorable de crecimiento para algunas células, debido a que la disponibilidad de oxígeno se ve disminuida y limitada, lo cual resultaría en la muerte de las células [14].

En este trabajo se evaluó el efecto del medio de cultivo en ensayos de bioestimulación de suelos contaminados con cromatos por medio de la adición de nutrientes y bajo las condiciones óptimas para el crecimiento y multiplicación de los microorganismos nativos del suelo para lograr su estimulación y aumento de la actividad natural de éstos para llevar a cabo la reducción de cromo hexavalente.

Metodología

Ensayos de Bioestimulación con suelos contaminados con cromatos. En matraces estériles, conteniendo 0.25 g de suelo contaminado con cromo, se adicionaron 25 mL del medio a analizar. En cada serie se adicionó un control con suelo estéril y otro con agua.

Una serie de matraces se incubaron a temperatura ambiente y otro a 28°C por diferentes tiempos. En cada tiempo, se tomaron alícuotas de 150 µL, tomando como tiempo cero (T₀) el día inicial de incubación y posteriormente cada tercer día hasta cumplir 30 días de incubación. Estas alícuotas sirvieron para la determinación de Cr(VI) y Cr total, además de ser fuente para el aislamiento de microorganismos. En cada experimento se prepararon muestras por triplicado.

Cuantificación de Cr(VI) por el micro-método de la S-difenilcarbazida (AcevedoAguilari y col., 2015, enviado a publicación). Esta metodología se basa en la formación de un complejo colorido entre el Cr(VI) y la difenilcarbazida, del cual se determina espectrofotométricamente la concentración a una A_{540 nm}. De esta manera se determina la concentración de Cr(VI) remanente en el medio, después de la etapa de reducción. El cromo remanente representa el Cr(VI) que no fue reducido. Para las determinaciones de Cr(VI) se mezclaron 192 µL H₂O de agua destilada, 2 µL de difenilcarbazida 0.021 M en acetona, 4 µL de H₂SO₄ al 50 % y 4 µL de la muestra. Después se midió la absorbancia a 540 nm. La concentración de Cr(VI) de las muestras se obtuvo interpolando los datos de absorbancia en una curva de calibración, construida con concentraciones de 5, 10, 20, 30, 40 y 50 ppm de Cr(VI). Las lecturas de absorbancia se realizaron en un espectrofotómetro Ultrospec 4300 (Armersham Biosciences).

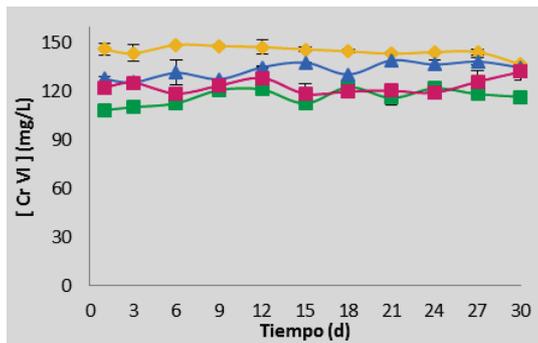
Determinación de cromo total. Para la determinación de cromo total en el medio de cultivo, de las alícuotas tomadas de cada uno de los matraces se realizaron diluciones, colocando 50 µL de muestra y aforando con agua destilada hasta obtener un volumen de 3000 µL (3 mL); a cada una de las muestras se realizó la determinación de cromo total por espectrometría de absorción atómica (Modificado de EPA 3050 B). Una curva patrón se construyó con estándares de concentración conocida, usando como solución patrón K₂CrO₄ a concentraciones de 1, 2, 3 y 4 ppm. Con los valores de absorbancia de los estándares conocidos se construyó una curva de calibración y se determinó la ecuación de la gráfica para por interpolación de los datos, obtener las concentraciones de las muestras problema y de esta manera se determinó la concentración de Cr total. Esta determinación también se realizó para el suelo que se adicionó a cada uno de los matraces, para lo cual se pesaron 0.1 g de suelo y se sometieron a digestión de acuerdo a lo descrito en la NOM-147SEMARNAT/SSA1-2004 Para determinar la cantidad de cromo total que contenía el suelo contaminado.

Identificación de microorganismos endógenos de suelos contaminados con cromatos. De los matraces de incubación del suelo con los medios de cultivo, se tomaron alícuotas para aislar microorganismos por métodos de microbiología clásica. Después de tener a los microorganismos aislados, cada una de las cepas se creció en caldo de soya por 24 h a 37°C para obtener biomasa. De esta biomasa se obtuvo ADN (método de Martin-Laurent y col., 2001). Este DNA se tomó como fuente para amplificación de un fragmento del gen que codifica para el ARNr 16S por la reacción de la polimerasa en cadena (PCR) con oligonucleótidos específicos [15]. De los fragmentos amplificados (900-1000 pb), se

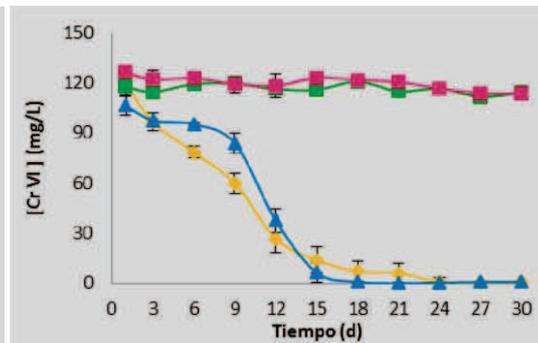
obtuvo la secuencia, la cual se comparó en la base de datos del NCBI para obtener la identidad de las cepas.

Resultados

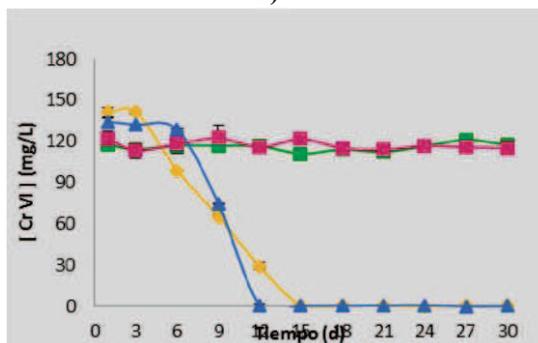
Ensayos de bioestimulación para la reducción de Cr(VI) con diferentes medios de cultivo.



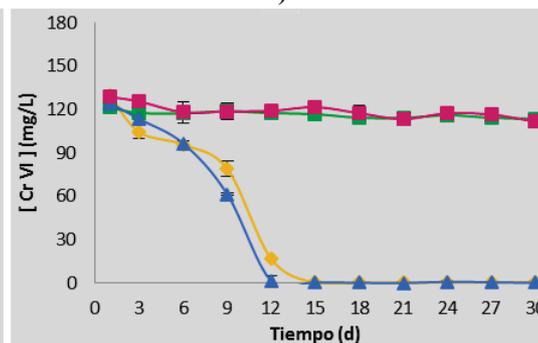
a)



b)



c)



d)

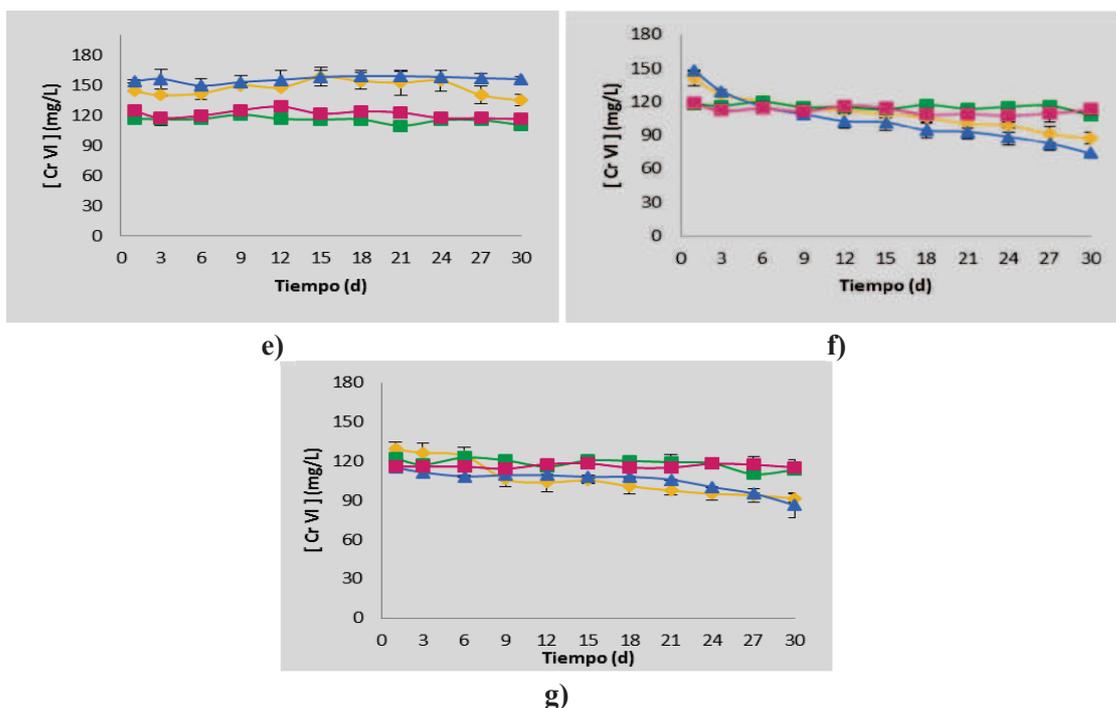


Figura 1. Bioestimulación de microorganismos endógenos con los medios ensayados para la reducción de Cr(VI) de suelo contaminado. A matraces conteniendo suelo contaminado esterilizado (■, □) o suelo sin esterilizar (▲, ◆), se adicionó agua estéril (a), caldo nutritivo (b), medio Lee (c), Lee con doble concentración de glucosa (L2D; c), medio M9 (e), M9 con glucosa al 1% (f) o con lactato (g) y se incubaron a temperatura ambiente (líneas rosa y azul) o a 28° C (líneas verde y amarillo), por 30 días, tomando alícuotas del medio a diferentes tiempos para determinar la concentración de Cr(VI).

La eficiencia de los medios para la reducción de Cr(VI) se muestra en la Tabla 1. Esta eficiencia se calculó en ppm/día para cada sistema, considerando la cantidad lixiviada del suelo por el medio de cultivo adicionado (concentración de Cr total inicial y final de cada experimento) y dividida entre los días necesarios para ello.

Medio de cultivo	Días de incubación	Temperatura	
		Ambiente	28°C
		Eficiencia de reducción (ppm/día)	
Caldo nutritivo	15/15	10.8	10.6
Lee	12/15	14.25	11.26
L2D	12/15	13.25	11.86
M9	30/30	5.76	5.39
M9 1%D	30/30	5.8	5.33
M9 + L	30/30	5.56	5.53

Tabla 1. Eficiencia de los medios para la reducción de Cr(VI) lixiviado del suelo contaminado, incubado a temperatura ambiente y 28°C.

Análisis de las concentraciones de las diferentes especies de Cromo al inicio y final de los 30 días de incubación, Tabla 2, se observa que al agregar el medio de cultivo al suelo contaminado, se extraen del suelo entre 150 a 170 mg/L de Cromo que se detectan como Cr(VI), el cual, dependiendo del medio de cultivo adicionado, es reducido a Cr(III) por los microorganismos endógenos.

Medio de Cultivo	Temperatura ambiente 28 °C					
	Cr Total		Cr (VI)		Cr (III)	
	I / F	I / F	I / F	I / F	I / F	I / F
Caldo nutritivo	157 - 17	106 - 0.99	51 - 16	155 - 9	119 - 0.86	36 - 9
Lee	169 - 4	134 - 0.20	35 - 4	164 - 8	141 - 0.46	23 - 7
L2D	155 - 8	124 - 0.10	31 - 7 15 - 56	172 - 17	129 - 0.73	43 - 17
M9	168 - 156	153 - 99		171 - 134	144 - 131	27 - 3
M9 1%D	167 - 1	148 - 74	19 - 0	156 - 7	141 - 87	15 - 0
M9 + L	165 - 71	116 - 86	49 - 0	156 - 23	129 - 91	27 - 0.93

Tabla 2. Concentraciones iniciales y finales de las diferentes especies de Cromo en los sistemas de estimulación. Se indican los resultados para Cr total, Cr (VI) y Cr (III) en mg/L presentes en el medio de cultivo al I) inicio y al F) final del experimento a los 30 días de incubación a temperatura ambiente y 28°C.

Aislamiento de microorganismos. El análisis de poblaciones mostró que las muestras de tierra contaminada contienen en su mayoría microorganismos anaerobios facultativos, identificándose los géneros *Pseudomonas*, *Exiguobacterium*, *Xanthomonas sp*, *Chryseomicrobium*, *Bacillus*, y *Lysinibacillus*.

Conclusiones

Los suelos contaminados con cromatos contienen microorganismos endógenos que tienen la capacidad de reducir el Cr(VI) lixiviado por el medio de cultivo. La eficiencia de reducción de estos microorganismos es mejor en medios mínimos con glucosa como fuente de carbono. De las comunidades presentes en las muestras contaminadas se encontraron cepas de los géneros *Pseudomonas*, *Exiguobacterium* y *Chryseomicrobium*, que probablemente tengan la característica de ser oligótrofos debido a la baja cantidad de nutrientes presentes en las muestras.

Las poblaciones de bacterias endógenas de suelos contaminados con cromatos que poseen la capacidad de resistir y reducir Cr(VI), proporcionan una técnica ambiental, eficiente y amable para la remediación biológica de Cr(VI) en suelos contaminados.

Bibliografía

- [1] ATSDR (Agency for toxic Substances & Disease Registry). 2000. Toxicological Profile for Chromium. Cas#:7440-47-3.
- [2] Focardi S, Pepi M, y Focardi SE. 2013. Microbial Reduction of Hexavalent Chromium as a Mechanism of Detoxification and Possible Bioremediation Applications. *Biodegradation- Life of Science*. **12**: 321-347

- [3] Cervantes C, Campos-García J, Devars S, Gutiérrez-Corona F, Loza-Tavera H, Torres-Guzmán JC y Moreno-Sánchez R. 2001. Interaction of chromium with microorganisms and plants. *FEMS Microbiol Revs.* **25**:335-347.
- [4] Park CH, Keyhan M, Wielinga B, Fendorf S y Matin A. 2000. Purification to homogeneity and characterization of a novel *Pseudomonas putida* chromate reductase. *Appl Environ Microbiol.* **66**:1788-1795. Park CH, Yun Y, Hye JJ y Moo-Park J. 2005. Mechanism of hexavalent chromium removal by dead fungal biomass of *Aspergillus niger*. *Wat Res.* **39**:533-540. Srivastava S y Thakur IS. 2007. Evaluation of biosorption potency of *Acinetobacter* sp. for removal of hexavalent chromium from tannery effluent. *Biodegradation.* **18**:637-646.
- [5] Muter O, Patmalnieks A, y Rapoport A. 2001. Interrelations of the yeast *Candida utilis* metal reduction and its distribution in the cell and medium. *Process Biochem.* **36**:936-970.
- [6] Cárdenas-González JF y Acosta-Rodríguez I. 2010. Remoción de Cromo Hexavalente por el Hongo *Paecilomyces* sp. Aislado del Medio Ambiente. *Información Tecnológica.* 22. Pp. 9-16. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- [7] Espino-Saldaña AE. 2002. Aislamiento y Caracterización de hongos resistentes a cromato nativos de desechos industriales. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. Universidad de Guanajuato. México.
- [8] Coreño-Alonso A. 2009. Caracterización del Sistema de Reducción de Cr(VI) de la cepa Ed8 de *Aspergillus niger* resistente a Cromato. Tesis de Doctorado Facultad de Química. Universidad de Guanajuato. México [9] Borst-Pauwels, GWFH. 1981. Ion transport in yeast. *Biochim. Biophys. Acta.* **650**:88-127
- [10] Ramírez-Ramírez R, Calvo-Méndez C, Avila-Rodríguez M, Lappe P, Ulloa M y Gutiérrez-Corona JF. 2004. Cr(VI) reduction in a chromate-resistant strain of *Candida maltosa* isolated from leather industry. *Antonie van Leeuwenhoek.* **85**:63-65.
- [11] Ferro-Orozco AM, Contreras EM y Zaritzky NE. 2010. Cr VI reduction capacity of activated sludges as affected by nitrogen and carbon sources, microbial acclimation and cell multiplication. *J Hazard Materials.* **176**:657-665.
- [12] Apel WA y Turick CE. 1991. Biorremediation of Hexavalent Chromium by Bacterial Reduction. *The Minerals, Metals and Materials Society, Warrendale, Pa. Mineral Bioprocessing.* 376-387. Bopp LH, y Ehrlich HL. 1988. Chromate Resistance and Reduction in *Pseudomonas fluorescens* strain LB300. *Arch. Microbiol.* **150**:421-426.
- [13] Whang YT y Shen H. 1995. Bacterial Reduction of Hexavalent Chromium. *J.* **14**:159-163.
- [14] Sauer K y Camper AK. 2001. Characterization of phenotypic changes in *Pseudomonas putida* in response to surface-associated growth. *J.* **183**:6579-6589. Rochex A y Lebeault JM. 2007. Effects of nutrients on biofilm formation and detachment of a *Pseudomonas putida* strain isolated from a paper machine. *Water Res.* **41**:2885-2892.
- [15] Weisburg GW, Barns S, Pelletier DA y Lane D. 1991. 16S Ribosomal DNA Amplification for Phylogenetic Study. *J Bacteriol.* **173**:697-703.

PREPARACIÓN DE ESMALTE PARA APLICAR EN MONOCOCCIÓN EN PASTAS CERÁMICAS DE ARCILLAS DE LA REGIÓN DE GUANAJUATO

Mirna Lorena Cortes⁽¹⁾, Juan José Guzmán⁽¹⁾, Zeferino Gamiño⁽¹⁾ y Rosalba Fuentes^{(1)},*

DCNE, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, Noria Alta s/n Col. Noria Alta, Guanajuato Gto., 36050

México. e-mail: mirlosa@hotmail.com

Resumen

En este trabajo se formuló un esmalte a partir de una frita cerámica comercial, ajustado empíricamente con la adición de otros componentes para lograr transparencia, evitar defectos y que pueda ser aplicado en un proceso de monococción sobre una pasta cerámica elaborada con arcillas de la región de Guanajuato. Este esmalte mostró mayor resistencia al desgaste que piezas esmaltadas comerciales de la región. También fue analizado cómo influyen las distintas técnicas de aplicación del esmalte en la absorción de agua de una pieza esmaltada. Se encontró que la técnica de inmersión en monococción muestra la menor absorción de agua. Finalmente, éste esmalte no presenta plomo soluble como lo hacen las piezas comerciales típicas producidas en la región.

Palabras clave: esmalte, frita, monococción.

Introducción

El material cerámico consta de dos partes, la pasta y el esmalte, este último aplicado en la superficie de la pasta cerámica y cocido, confiere a la pieza una capa impermeable, protectora y decorativa que le proporciona belleza y textura. En un esmalte cerámico, los compuestos que intervienen funden total o parcialmente, creando un material fluido más o menos viscoso, que al enfriar vitrifica formando una interface entre soporte y esmalte que sirve para soldarlos. Entre los materiales que se utilizan en su formulación se tienen las fritas y otros aditivos.

Con la formulación de un esmalte se busca lograr: resistencia a la abrasión, al impacto y al efecto de productos de limpieza; también, que sea antideslizante, y que tenga cierto brillo, opacidad o color, etc.

Las fritas cerámicas son materiales de naturaleza vítrea que se preparan por fusión de una mezcla de materias cristalinas a temperaturas de alrededor de 1500°C. Durante el proceso se forma una masa fundida que se enfría bruscamente para obtener una estructura vítrea y favorecer la disgregación en pequeños gránulos. Después de enfriada es molida. A pesar de que aumentan el costo final de la pieza cerámica, se utilizan porque así se pueden introducir en los esmaltes materias primas solubles en agua, más refractarias, de granulometría mayor. Algunas ventajas de la frita son: permite el empleo de materias primas tóxicas como el PbO; tener temperaturas y/o tiempos de cocción más bajos.

Los esmaltes deben alcanzar su grado de maduración óptimo con las condiciones del ciclo de cocción de la pasta (soporte); además, debe formarse una buena interface entre ellos. En general, la cocción de una pieza cerámica se realiza cocinando primero el soporte y luego aplicando el esmalte y cocinando de nuevo. Pero, idealmente debería realizarse este proceso en una sola cocción, llamado monococción, teniendo que haya una buena interface entre el esmalte y el soporte.[1]. También, se han revisado problemas de solubilidad de fritas en el proceso de fabricación de baldosas cerámicas estudiando la influencia del tiempo de molturación, la temperatura de la suspensión, el tiempo de reposo, la intensidad de la agitación y la composición química de algunos aditivos [2]

Para que la superficie esmaltada no tenga defectos, el vidriado debe realizarse a una temperatura en la que las reacciones de descomposición y oxidación del soporte ya se hayan completado. El esmalte debe permanecer permeable al intercambio de gases hasta temperaturas cercanas a 1000°C y posteriormente vitrificar y madurar en un corto margen de temperatura. Para evitar defectos. Los esmaltes pueden clasificarse de distintas maneras [3], según el brillo pueden ser brillantes, mates, semi-mates o satinados. Según el soporte pueden ser: tipo mayólica, de loza, de gres o porcelánicos; y según la temperatura de madurez pueden ser: de baja, media, alta o muy alta temperatura. El término de maduración en los esmaltes hace referencia tanto a la temperatura de fusión del esmalte como a que no haya defectos, teniendo así: de baja(750 a 1060 °C), media (1060-1200°C), alta (1200 a 1280°C) y muy alta temperatura 1250 y 1300°C.

Una buena formulación de un esmalte permite evitar defectos tales como: desconchado y craquelado, recogido, pinchado, reventado, superficie “piel de naranja”, superficie infracocida, superficie vitrificada, picado de esmalte. Estos defectos se deben a que los coeficientes de dilatación lineal de la pasta y del esmalte tienen un orden diferente de composición y de temperatura de cocción. Por lo anterior, es importante considerar tres situaciones en el estudio de la compatibilidad pasta-barniz:

El diseño de un esmalte puede partir de una base, como puede ser el caso de una fritada, y ser modificada de muchas maneras con distintos óxidos para conseguir las propiedades de interés. Tras la modificación con la adición o sustitución de un componente aparece una incertidumbre y debe reanalizarse experimentalmente y avanzar por continuos ajustes de la fórmula hasta tener el resultado estético y de propiedades requeridas. Esta incertidumbre se debe a que el esmalte alcanza el equilibrio a distinta velocidad y temperatura con la cocción.

La fórmula carga, usualmente se maneja en porcentaje. El análisis químico en peso, es utilizado cuando se mezclan varias materias primas, porque es posible conocer la composición química del producto final tomando en cuenta el porcentaje aportado de cada sustancia presente; la composición de óxidos debe ser la que teóricamente se tendría después de la cocción. El análisis puede ser expresado en porcentaje peso o porcentaje moles. Sin embargo, no proporciona ninguna información sobre las características físicas de las materias primas utilizadas, y podríamos encontrar dos fritas con esa misma química pero que dan un desarrollo diferente ya que se usaron materias primas diferentes.

La Formula Seger, que clasifica los óxidos en básicos (fundentes), neutros y ácidos, maneja la fórmula de los óxidos constituyentes en proporción de sus moles, y su criterio en sí, es que los coeficientes de los óxidos básicos sumen la unidad.

Para aplicar el esmalte se utilizan diferentes técnicas [4] (figura 1).

- a) Inmersión, da un barnizado uniforme en toda la superficie de la pieza,.
- b) A pincel, que utiliza pinceles de cerda blanca, y pueden necesitarse varias capas
- c) Por aspersion, que utiliza una cabina con un extractor, un compresor, la pistola de barnizar y una torneta. Se barniza manteniendo perpendicular la pistola y a una distancia de 30 o 40 cm.

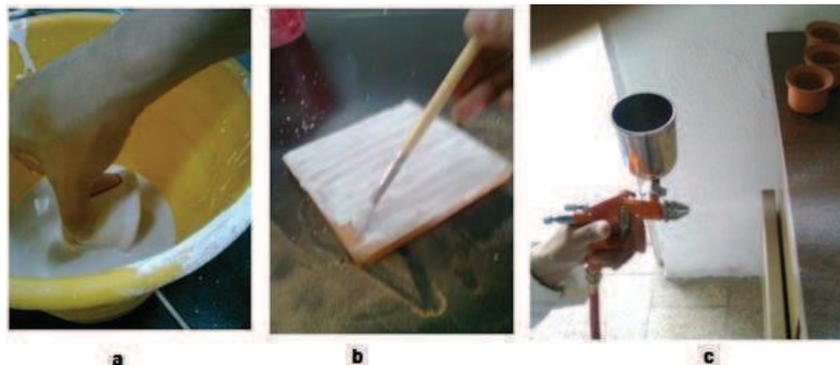


Fig.1. Técnicas de esmaltado por a) inmersión, b) pincel y c) aspersion.

En este trabajo se muestra cómo formular un esmalte para arcillas de yacimientos naturales de la región que pueda ser aplicado y obtenida la pieza en un proceso monococción.

Metodología

El esmalte diseñado se aplicó sobre una pasta cerámica formulada con arcillas del estado de Guanajuato, que cuenta con yacimientos en la región [5]. Para la pasta se utilizaron tres tipos de arcillas: roja, amarilla y negra, cuyas características y metodología de formulación se describe en un trabajo previo [6]. Las arcillas se mezclaron en distintas proporciones hasta lograr una composición en la cual se obtienen las mejores propiedades de plasticidad, contracción, absorción de agua, etc. De esta manera se contó con una base o biscocho sobre la que se aplicó el esmalte.

Para la formulación del esmalte, se buscó una frita adecuada para la pasta que se usara como soporte. Para lo anterior, primero fueron caracterizadas tres fritas marca Monterrey en un espectrofotómetro de Absorción atómica Perkin Elmer Modelo AA analist 200. Después, se observó la respuesta de comportamiento viscoso de cada frita sobre la pasta formulada, preparando pastillas de 2 gramos y cociéndolas a 1050°C durante 1 hora sobre la mejor formulación de pasta de la mezcla de arcilla roja, amarilla y negra. Tras una observación cualitativa del comportamiento de la frita sobre la pasta y a partir de su composición, se seleccionó la frita MC-097 y se mezcló con otros compuestos para obtener un esmalte transparente libre de defecto.

Entre los materiales agregados para modificar la frita se utilizaron Borax (B4O7Na2) y silicato de sodio, y fueron realizados ajustes secuenciales para lograr las mejores propiedades del esmalte. Posteriormente, el esmalte se aplicó con distintas técnicas sobre la pasta-soporte y fue cocido por dos procesos distintos para comparar. En el proceso de monococción, la base arcillosa en crudo se esmaltó, se secó y posteriormente se sometió a la temperatura de maduración de 1050°C. En la bicocción la base arcillosa se sometió a una temperatura superior de 650°C por 3 horas, después se esmaltó la pieza y se sometió de nuevo a una temperatura de maduración de 1050°C.

Después de cocer la pieza, para conocer el contenido de plomo en el esmalte sobre el cuerpo cerámico, se realizó un análisis por absorción atómica bajo la norma NOM-231 de salud Ambiental [7]. Ésta establece que la cantidad límite de plomo debe andar alrededor de 0.5 mg/L para artículos de alfarería vidriada, cerámica vidriada, y porcelana que se utilicen para contener alimentos y bebidas.

Las propiedades determinadas en el esmalte fueron la resistencia al desgaste y la absorción de agua. El método para medir la resistencia al desgaste consiste en determinar la diferencia de pesos antes y después de ser sometido a prueba, a 1000 ciclos, en un equipo TABER-5135 de plataforma giratoria. Se calcula el porcentaje de absorción de agua después de la primera hora, después de 24 horas y finalmente, la diferencia de porcentajes de agua absorbida entre la primera hora de prueba y las otras 24 horas de prueba.

Resultados

La mezcla de arcillas que dio las mejores condiciones de conformación correspondió a 50% de arcilla roja, 33.3% de arcilla amarilla y 16.6% de arcilla negra, la cual, dio 28.44% de agua de plasticidad. Después de cocer la pasta se encontró que el mínimo de absorción de agua y contracción de la pieza es a la temperatura de 1050 °C. Es sobre esta pasta que fue aplicado el esmalte formulado con la frita y otros componentes y que fue cocido a esta misma temperatura. La tabla 1 muestra el análisis por absorción atómica de tres fritas, puede notarse que la MC-097 presenta la menor cantidad de óxido de plomo.

Tabla 6. Formulaciones aplicadas a pincel sobre la pasta cerámica.					
Experimento	frita MC-097 %	Silicato de Na%	Alúmina %	bórax %	total %
A	55	30	10	5	100
B	55	33	7	5	100
C	55	35	5	5	100

El esmalte obtenido fue transparente y con coeficientes de dilatación parecidos al de la pasta. En la figura 6 se muestra una pieza cerámica con esmalte de fórmula: 55 % de frita, 35% de silicato de sodio, 5% de alúmina y 5% de bórax, con la técnica de pincel y obtenido por monococción.



Fig.6. Aplicación de formulaciones sobre piezas de la base arcillosa por la técnica de pincel

Las propiedades seleccionadas para determinarse en el esmalte formulado fueron desgaste y absorción de agua. Para el análisis de desgaste, las piezas cerámicas diseñadas se compararon con piezas comerciales de la región y los resultados son mostrados en la fig.7. El esmalte que tiene mejor condición para aplicarse a la pasta en monococción mostró que se desgasta un 69,4% menos que piezas comerciales de esmalte sin fritar.

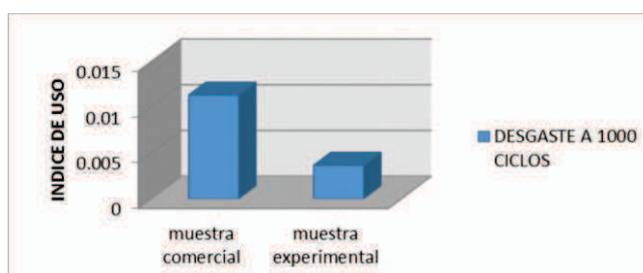


Fig.7. Comparación de los índices de uso de muestras comerciales y muestra experimental.

Las pruebas de absorción de agua, se hicieron bajo norma oficial mexicana NOM-132SCFI-1998[8]. Los resultados son mostrados en la fig.8, donde se muestra el porcentaje de agua absorbida por la pieza cerámica a través del esmalte transparente formulado por distintas técnicas y procesos de cocción.

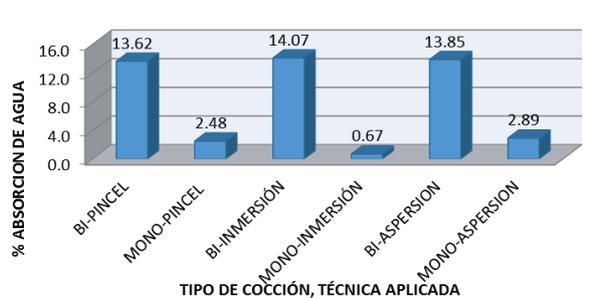


Fig.8.- El gráfico representa el porcentaje de agua absorbida en cada proceso de cocción, por las diferentes técnicas de esmaltado.

Para la determinación de plomo a la muestra M-2 se le detectó la presencia de plomo en el orden de 0.06ppm por debajo de los límites permisibles. A la muestra M-3 (comercial) se le detectó una cantidad de 3.2 ppm, ya cercana a los límites permisibles. Cabe mencionar que las piezas quedan dentro de los límites permisibles establecidos para artículos de alfarería y cerámicos.

Tabla 7. Determinación de plomo soluble en piezas cerámicas

Tipo de muestra pieza pequeña rectangular de prueba	Volumen del agente extractante ml.	Plomo soluble en 48 horas, mg/l.(ppm)
M-1(posición norma)	30	N.D
M-2(posición norma)	30	0.06
M-3(posición norma)	30	3.2

Muestra M-1 cuadro de fritas modificadas

Muestra M-2 cuadro de fritas modificadas con 1% de óxido de cromo como colorante. Muestra M-3 muestra comercial

Conclusiones

- Se obtuvo un esmalte transparente con las características adecuadas para aplicarlo y realizar el proceso de monococción sin que se presenten defectos de esmaltado.
- El esmalte diseñado con la fritas MC-097 cumple la Norma Oficial Mexicana 223.
- El esmalte obtenido es más resistente al desgaste abrasivo que un esmalte utilizado en piezas comerciales vendidas en la región, siendo el desgaste tres veces mayor en la muestra comercial.
- En la aplicación de la fritas formuladas hubo un menor índice de defecto en ambos procesos de cocción, aunque se obtuvieron mejores resultados para el proceso de monococción. El porcentaje de absorción de agua en los procesos de esmaltado dio en un rango de 0.67 a 2.89 % para monococción y de 13.67 a 14.07 % para bicocción.

Bibliografía

- [1] Tichell M.T., J. Bakali, A. Pascual, L. Sánchez-Muñoz, I. Nebot -Díaz, J. B. Carda (2000), Esmaltes especiales para soportes de gres porcelánico. Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio, Vol 39, No 1. 31-38
- [2] Gazulla M.F., P. Gómez, A. Moreno, E. Bou, (2001), Estudio de algunos factores que afectan a la solubilidad de fritas en suspensiones de esmaltes. Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio, Vol 40, No 2, 131137.
- [3] Morales Güeto Juan (2005); Tecnología de los Materiales Cerámicos; Ed. Díaz Santos.
- [4] Manual Del Ceramista, (1998), Ed. DALY S.L., España. IV tomo.
- [5] Ramos Ramírez E., Guzmán Andrade J.J., Sandoval Juárez M.C. y Gallaga Ortega Y., (2002). Caracterización de Arcillas del Estado de Guanajuato y su Potencial Aplicación en Cerámica. *Acta Universitaria*, 12 (1), 23-30.
- [6] Fuentes Ramírez R., O. Mejía- Ordaz, G.de la Rosa y B. Caudillo; (2008) “Evaluación de las condiciones de secado y cocción de una pasta cerámica formulada con arcilla de Guanajuato”, Revista Acta Universitaria., Universidad de Guanajuato. Vol 18, (3), 20-26.
- [7] Norma 231. Para la alfarería, porcelana, cerámica; detección de plomo y cadmio; 2001.
- [8] Norma Para Talavera, Norma Oficial Mexicana; Nom-132-SCFI-1998.
- [9] Cantavella Escrig Miguel, (2010), *Desarrollo de fritas, esmaltes y pigmentos cerámicos: Apuntes.* - IES El Caminàs : Conselleria d'Educació, cultura I Esports.
- [10] Vielhaber L., (2002), Tecnología De Los Esmaltes; Ed. Reverte, S.A.

EFFECTO DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN SOBRE LA VELOCIDAD DE LAS GOTAS DENTRO DE UNA CÁMARA DE MEZCLADO DE UNA BOQUILLA

A. K. Aranda-Ramírez, J. I. Minchaca-Mojica*

Departamento de Ingeniería Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato. Noria Alta s/n, Guanajuato, Gto., 36050, México

*Autor de contacto: jminchaca@ugto.mx

Resumen

En el método de fabricación de planchones delgados de acero por colada continua (CSP), la tecnología utilizada para el enfriamiento secundario de este tipo de aceros utiliza boquillas neumáticas que generan rocíos de agua los cuales impactan sobre la superficie caliente del acero ($\sim 600\text{ }^{\circ}\text{C} \leq (T_w - T_s) \leq \sim 1100\text{ }^{\circ}\text{C}$) con el objetivo de remover grandes cantidades de calor para enfriarlo. El estudio realizado en el presente trabajo consistió en un análisis hidrodinámico de la evolución de la velocidad de las gotas que se forman dentro de la cámara de mezclado de una boquilla neumática, como las usadas en el enfriamiento secundario del acero CSP; este análisis fue posible mediante la implementación de un programa computacional desarrollado en Matlab que resuelve de manera numérica las ecuaciones que gobiernan el movimiento de gotas individuales debido a la cantidad de momentum transferido desde el aire. Los resultados de perfiles de velocidad que dependen del diámetro de cada gota y de las condiciones de operación en particular muestran la tendencia general que a medida que aumenta el diámetro de la gota, la velocidad que éstas adquieren es menor, y esto se ve reflejado en la velocidad terminal de las gotas (i.e. en el orificio de salida de la boquilla) con los perfiles obtenidos en esta zona. Lo anterior se debe a la cantidad de área disponible por las gotas para su transferencia de momentum y a la mayor resistencia que presentan por su tamaño presentan al movimiento.

Palabras clave: *cámara de mezclado; gotas; evolución de velocidad.*

Introducción

El enfriamiento de cuerpos calientes mediante rocíos ocurre cuando una dispersión de gotas finas impacta sobre su superficie para remover una gran cantidad de calor por evaporación y convección. En procesos metalúrgicos tales como la colada continua del acero, la temperatura superficial, T_w , del acero excede considerablemente la temperatura de saturación, T_s , del líquido refrigerante (agua), i.e., se tiene una diferencia de temperaturas en el rango de $\sim 600\text{ }^{\circ}\text{C} \leq (T_w - T_s) \leq \sim 1100\text{ }^{\circ}\text{C}$ [1]. Estas condiciones severas de temperatura requieren el uso de altas densidades de impacto, w , para remover el calor que llega a la superficie como resultado de la solidificación del acero líquido o semi-líquido dentro del planchón. De acuerdo con Deb y Yao [2] y Sozbir y cols. [3], la frontera entre rocíos densos y diluidos se ha especificado en un valor de $w = 2\text{ L/m}^2\text{s}$. En las máquinas modernas de colada continua el valor de w se encuentra por encima de dicho límite en la mayor parte del área de impacto de los rocíos, en la cual w es en general mayor a $10\text{ L/m}^2\text{s}$ e inclusive puede llegar a ser de $\sim 110\text{ L/m}^2\text{s}$. En adición a w , el tamaño, dd , y la velocidad, ud , de las gotas presentes en nieblas densas juegan un papel crucial en el enfriamiento de superficies con elevados sobrecalentamientos [4,5,6]. Esto surge por la relación que hay entre el proceso de transferencia de calor y el impacto o deformación de la gota, así como su comportamiento al momento de romperse. En general, se ha

utilizado el número Weber de impacto local, We_z , para caracterizar el comportamiento de la gota al momento del impacto [7-9], y el cual está definido de la siguiente manera,

$$We_z = \frac{\rho_d d_d u_z^2}{\sigma}$$

Conforme aumenta el número Weber de impacto, las gotas tienden a deformarse más, se rompen más profusamente, permanecen más cerca de la superficie y agitan con mayor intensidad la película de líquido formada por gotas previas. Por lo tanto, es necesario el conocimiento de las propiedades que caracterizan los rocíos para llegar a una descripción cuantitativa acerca de la interacción fluidodinámica que tienen las gotas con la superficie y de la transferencia de calor que resultaría de ésta.

En lo que respecta a las boquillas neumáticas, la atomización de líquido se vuelve más intensa debido a que se utiliza una corriente de aire que se alimenta a gran velocidad para favorecer la atomización; dependiendo del diseño de cada boquilla, se pueden generar nieblas con un patrón de esparido distinto, tales como de abanico plano, cono sólido, cono hueco y cuadrado. Entre estos patrones, el de abanico plano es el más utilizado en los sistemas de enfriamiento secundario del acero. En las boquillas neumáticas, las condiciones de operación están dadas por las combinaciones de flujos de agua, W (con presión p_w) y aire, A (con presión p_a) los cuales se alimentan de manera perpendicular; de este modo se provoca una primera atomización del agua [10], al chocar contra la superficie deflectora en la cámara de mezclado de la boquilla. En el interior de la cámara, las gotas formadas son adicionalmente fragmentadas debido a los esfuerzos de corte ejercidos por la corriente de aire y aceleradas por el momentum que éste les transfiere conforme se desplazan hacia el orificio de salida de la boquilla.

De acuerdo con Montes [11] las boquillas neumáticas extraen una mayor cantidad de flujo de calor para un rango determinado de temperaturas superficiales y densidades de impacto de agua y esto se debe probablemente a la velocidad de las gotas, argumentando que las gotas generadas con las boquillas neumáticas adquieren mayor velocidad que las generadas con las hidráulicas, para el caso en el que los flujos de agua sean similares [12]. En sus estudios, Raudensky y Horsky [13] y Montes y cols. [11] muestran casos donde los investigadores atribuyen el hecho de que la intensificación en el enfriamiento a la atomización más vigorosa - provocada por un incremento en p_a - y que tiene influencia sobre las características de las gotas en la niebla. Como lo mencionan Puschmann y Specht [14], el incremento en p_a provoca una disminución en el tamaño de las gotas y un aumento en su velocidad. Sin embargo, la pregunta permanece abierta acerca de los valores de los diámetros y velocidades de las gotas involucradas en las diferentes condiciones de enfriamiento y acerca de la dependencia que éstos tienen con las condiciones de operación de la boquilla.

Metodología

En el presente trabajo se considera a la boquilla neumática CasterJet-1/2-6.5-90-SS utilizada en el enfriamiento secundario del acero y que opera bajo las condiciones de interés industrial. El modelo asume que dentro de la boquilla el agua es atomizada por el aire en la zona donde se intersectan las dos corrientes de flujo, formando gotas cuya distribución de tamaños es igual a la medida afuera de la boquilla en $z = z_s$; es decir, se

asumió que las gotas no se rompen ni coalescen una vez formadas. Lo anterior parece razonable puesto que la interacción entre gotas debe ser baja, debido a que la fracción de volumen ocupada por ellas es pequeña incluso dentro de la cámara de mezclado de la boquilla en donde se estima que es < 0.08 [15]. También, se considera que una vez formadas son transportadas hasta el orificio por el arrastre aerodinámico del aire. Dado que el chorro de agua impacta normalmente la superficie deflectora por la forma como es alimentada, se asumió que las gotas tenían una velocidad axial igual a cero al formarse y que eran aceleradas hasta alcanzar una cierta velocidad a la salida de la boquilla. La velocidad de las gotas en la cámara de mezclado se calculó a partir de la ecuación de movimiento de gotas individuales, considerando el arrastre del aire y la aceleración de la gravedad, tal que,

$$\frac{du_{i,d}}{dt} = \frac{3}{4} C_D \frac{\rho}{\rho_d d_d} |U_i - u_{i,d}| (U_i - u_{i,d}) + \left(1 - \frac{\rho}{\rho_d}\right) g_i$$

Para resolver la Ec.(2) se desarrolló un programa computacional en Matlab. En dicho programa se utilizó el método de Euler de segundo grado empleando un tamaño de paso de 1×10^{-5} s, el cual fue determinado en un análisis de sensibilidad previo al presente trabajo y se asumió que el coeficiente de arrastre C_D varía con el número de Reynolds de la gota de acuerdo a las expresiones dadas en la Tabla 1. La velocidad superficial del aire, U_i , para cada flujo de aire y agua considerados se reporta en la Tabla 2 [15]. La trayectoria de las gotas se calculó a partir de la variación de las componentes del vector de posición con el tiempo, de acuerdo a,

$$\frac{dx_i}{dt} = u_{i,d}$$

Tabla 1 - Expresiones del coeficiente de arrastre.

Régimen	Re_d	C_D
Ley de Stokes	$Re_d < 2$	$24/Re_d$
Intermedio	$2 \leq Re_d \leq 500$	$10/(Re_d)^{0.5}$
Ley de Newton	$500 \leq Re_d \leq 2 \times 10^5$	0.44

Tabla 2 - Velocidad superficial del aire para cada condición de operación.

W , L/s	p_a , kPa	U_i , m/s
0.10	205	85.07
0.30	205	79.55
0.50	205	61.09
0.50	257	75.04
0.50	320	97.75
0.58	205	53.34
0.58	279	72.54
0.58	340	94.64

Resultados

Con el programa desarrollado e implementado en Matlab se pueden calcular datos relacionados con la evolución de la velocidad de la gota dentro de la cámara de mezclado, tales como la velocidad, el tiempo de vuelo y el número de Reynolds en cada posición dentro de la cámara. Con todos estos datos, se puede determinar el valor del coeficiente de arrastre correspondiente y por lo tanto el régimen de movimiento en el la gota individual se localiza. La Figura 1 muestra los perfiles de velocidad calculados para todas las gotas analizadas que se encuentran en el intervalo de tamaño, que son las que se

encuentran experimentalmente en este tipo de sistemas. Para un análisis más detallado de este tipo de perfiles, se muestra la Figura 2, generada a partir de la Figura 1, en la cual se muestran solamente algunos perfiles de diámetros representativos de las gotas. Los perfiles de las Figuras 1 y 2 corresponden solamente con una de las ocho condiciones estudiadas indicadas en la Tabla 2, sin embargo, cabe mencionar que para todas las condiciones de operación se obtuvo un comportamiento similar en las tendencias.

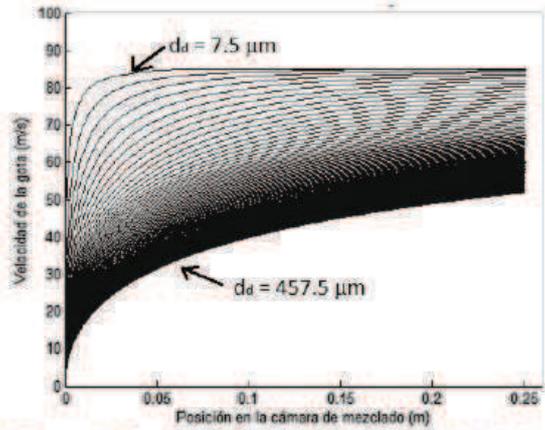


Figura 1 – Perfiles de velocidad de las gotas calculados en el interior de la cámara de mezclado.

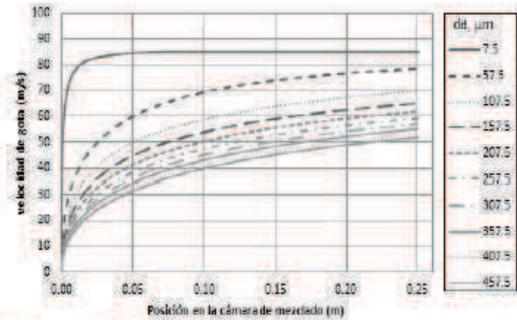


Figura 2 – Perfiles de velocidad gotas representativas, calculados en el interior de la cámara de mezclado.

Los perfiles de las Figuras 1 y 2 muestran que las gotas más chicas son las que rápidamente adquieren la velocidad terminal, alcanzando la velocidad del aire dentro de la cámara de mezclado y que, además, lo hacen en una distancia muy corta, siendo ésta de aproximadamente $x \leq 0.03$ m; por otro lado, las gotas de mayor tamaño muestran una aceleración gradual, sin embargo, debido a su menor área de contacto y a la mayor resistencia que oponen al movimiento del aire, la cantidad de momentum transferido por el aire durante su vuelo en la cámara de mezclado no alcanza a ser suficiente para que estas gotas grandes lleguen con la velocidad terminal al orificio de salida de la boquilla. Los datos de velocidad de salida de las gotas, es decir, la velocidad que tiene cada gota justo antes de salir de la boquilla (en el orificio de salida ubicado en la posición $x = 0.25$ m) se muestran en las Figuras 3 y 4, para cuando se mantiene constante el flujo de agua variando la presión de aire dentro de la boquilla y cuando se tiene presión de aire constante con un incremento en el flujo de agua, respectivamente.

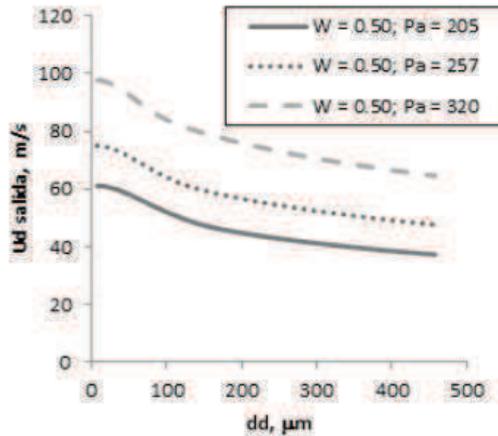


Figura 3 – Velocidad calculada de salida de las gotas, cuando el flujo de agua permanece constante.

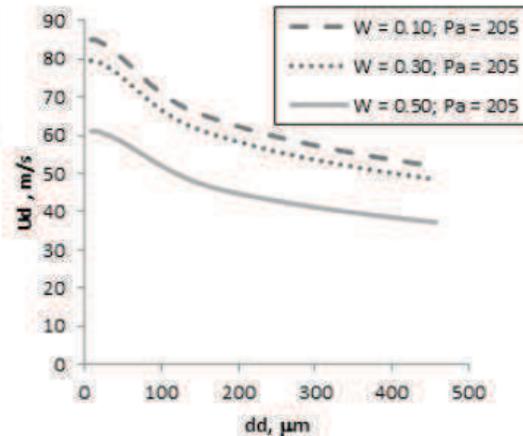


Figura 4 – Velocidad calculada de salida de las gotas, cuando la presión de aire permanece constante.

En todos los casos se puede observar que las gotas de menor tamaño son las que presentan las mayores velocidades, en correspondencia con los resultados de las Figuras 1 y 2. La Figura 3 muestra que el incremento en la presión de aire provoca un aumento en la velocidad de salida de las gotas y esto puede deberse a que en esta situación, la relación entre flujos de agua y aire, A/W , aumenta conforme aumenta la presión de aire, con lo que se tiene una mayor cantidad de aire disponible para transferirle momentum a las gotas durante su vuelo en la cámara de mezclado. La Figura 4 muestra que un incremento en el flujo de agua, manteniendo la presión de aire constante, provoca una disminución de la velocidad de salida de las gotas. Lo anterior puede deberse a que al tener mayor cantidad de agua dentro de un espacio confinado se tiene una disminución en la relación entre los flujos A/W y esto genera como resultado que la cantidad de aire disponible para transferirle cantidad de movimiento al agua es menor, acelerando en menor medida las gotas que son generadas dentro de la cámara de mezclado.

Conclusiones

El programa implementado en este trabajo permite calcular y generar información valiosa que para el planteamiento y refinamiento de modelos de flujo de fluidos para representar la dinámica de movimiento y vuelo de las gotas presentes en los chorros de niebla utilizados para el enfriamiento secundario del acero [16]. Al día de hoy, el campo de estudio en estos sistemas sigue siendo amplio, debido a que las condiciones de experimentación no resultan triviales, por lo que el contar con modelos CFD que permitan estudiar los sistemas de rocíos y nieblas constituyen una herramienta valiosa y poderosa para este propósito. Los resultados mostraron que la velocidad con que llegan las gotas al orificio de salida, justo antes de ser expulsadas a la zona de chorro libre, depende principalmente de dos factores: el tamaño de la gota y la velocidad superficial del aire. El tamaño de la gota va de la mano con el coeficiente de arrastre, ya que al tener más área de contacto, el aire puede transferirle con mayor facilidad su momentum, con lo que se tiene una mayor aceleración de las gotas. Por esta razón, se sugiere realizar como trabajo futuro un estudio con mayor detalle en el que el cálculo del coeficiente de arrastre sea el principal objetivo, considerando las condiciones presentes en el interior de la cámara de mezclado de las boquillas y el posterior refinamiento en los resultados de perfiles de velocidad de las gotas. Con el programa desarrollado en este trabajo se pudo calcular la

velocidad de las gotas que son generadas por una boquilla neumática desde el instante en que aparecen en la superficie deflectora hasta el instante en que llegan al orificio de salida de la boquilla. Los perfiles de velocidad de las gotas muestran aquellas de mayor tamaño, aunque son aceleradas gradualmente, no alcanzan la velocidad superficial del aire, mientras que las más chicas alcanzan más fácilmente la velocidad terminal (i.e., la velocidad superficial del aire).

Bibliografía

- [1] J. E. Camporredondo S., F. A. Acosta G., E. P. Gutiérrez M., and M. A. Herrera G., "Analysis of Thin-Slab Casting by the Compact-Strip Process: Part I. Heat Extraction and Solidification," *Metallurgical and Materials Transactions B*, vol. 35 B, pp. 541-560, June 2004.
- [2] S. Deb and S. C. Yao, "Analysis on Film Boiling Heat Transfer of Impacting Sprays," *International Journal of Heat and Mass Transfer*, vol. 32, no. 11, pp. 2099-2112, March 1989.
- [3] N. Sozbir, Y. W. Chang, and S. C. Yao, "Heat Transfer of Impacting Water Mist on High Temperature Metal Surfaces," *Journal of Heat Transfer. Transactions of the ASME, Serie C.*, vol. 125, no. 1, pp. 70-74, February 2003.
- [4] L. Bendig, M. Raudensky, and J. Horsky, "Spray Parameters and Heat Transfer Coefficients of Spray," in *Proc. 78th Steelmaking Conference*, Nashville, TN, USA, April 2-5, 1995, vol. 78, pp. 391-398.
- [5] M. S. Jenkins, S. R. Story, and R. H. Davies, "Defining Air-Mists Nozzle Operating Conditions for Optimum Spray Cooling Performance," in *Proc. 19th Australasian Chemical Engineering Conference, CHEMECA 91*, Newcastle, New South Wales, Australia, September 18-20, 1991, pp. 161-169.
- [6] C. A. Hernández B., J. I. Minchaca M., F. A. Acosta G., X. Zhou, and B. G. Thomas, "Measurement of Heat Flux in Dense Air-Mist Cooling: Part II. The Influence of Mist Characteristics on Heat Transfer," *sometido para su publicación a Experimental Thermal and Fluid Science*, Junio 2011.
- [7] L. H.J. Wachters and N. A.J. Westerling, "The Heat Transfer from a Hot Wall to Impinging Water Drops in the Spheroidal State," *Chemical Engineering Science*, vol. 21, no. 11, pp. 1047-1056, November 1966.
- [8] K. Araki and A. Moriyama, "Theory on Deformation Behavior of a Liquid Droplet Impinging onto Hot Metal Surface," *Transactions of the Iron and Steel Institute of Japan*, vol. 21, no. 8, pp. 583-590, 1981.
- [9] R. J. Issa and S. C. Yao, "Numerical Model for Spray-Wall Impaction and Heat Transfer at Atmospheric Conditions," *Journal of Thermophysics and Heat Transfer*, vol. 19, no. 4, pp. 441-447, October-December 2005.
- [10] Anthonis, J., Wulpeputte, L. & De Ketelaere, B. (May 2007). Modelling of Water-Air Internal Mix Nozzles for Process Monitoring. In *Proc. ILASS Americas 20th Annual Conference on Liquid Atomization and Spray Systems*, Chicago, IL, USA.
- [11] Montes R., J.J.III. (2008). Modelo para Predecir la Evolución del Enfriamiento y la Solidificación de Planchones Delgados durante Cambios en Condiciones de Proceso. Tesis de Doctorado. CINVESTAV-IPN.

- [12] Minchaca M., J.I. (2007). Efecto de la Proporción Aire/Agua sobre la Velocidad de las Gotas generadas por Boquillas Neumáticas empleadas en el Enfriamiento Secundario del Acero. Tesis de Maestría. CINVESTAV-IPN.
- [13] M. Raudensky and J. Horsky, "Secondary Cooling in Continuous Casting and Leidenfrost Temperature Effects," *Ironmaking and Steelmaking*, vol. 32, no. 2, pp. 159-164, 2005.
- [14] F. Puschmann and E. Specht, "Transient Measurement of Heat Transfer in Metal Quenching with Atomized Sprays," *Experimental Thermal and Fluid Science*, vol. 28, no. 6, pp. 607-615, June 2004.
- [15] Minchaca M., J.I. (2012). Estudio de las Características Fluidinámicas de Nieblas de Agua usadas en la Colada Continua del Acero. Tesis de Doctorado. CINVESTAV-IPN.
- [16] Minchaca M., J.I. et al. (2012). An Experimental and Computational Study of the Fluid Dynamics of Dense Cooling Air-Mists. En Woo Oh W. (Ed.), *Advanced Fluid Dynamics* (pp. 1-20). InTech Publisher.

ANÁLISIS DE LAS PROPIEDADES DE CONTROL A LAZO CERRADO DE TRENES DE DESTILACIÓN PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOTURBOSINA Y DIÉSEL VERDE

Oscar Guerrero Farfán a, César Ramírez Márquez a, Fernando Israel Gómez Castro a, Claudia Gutiérrez Antonio b,

a Departamento de Ingeniería Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, Noria Alta s/n, Guanajuato, Guanajuato, 36050, MÉXICO.
ousk_gu_fa90@hotmail.com

b Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Cerro de las Campanas s/n, Col. Las Campanas, Querétaro, 76010, MÉXICO.

Resumen

El sector de la aviación identifica a la bioturbosina como una alternativa promisorio para la reducción de emisiones de CO₂. En estudios previos, se ha realizado el diseño y optimización de trenes de destilación para obtener hidrocarburos ligeros, bioturbosina y diésel verde. No obstante, no es suficiente generar esquemas con bajos requerimientos energéticos; además, es necesario establecer estrategias de control que permitan mantener las purezas y recuperaciones de los productos alrededor de sus valores nominales. Cabe mencionar que es bien conocido que los diseños con menor consumo de energía no necesariamente aseguran buenas propiedades de control. Así, en este trabajo se realiza el análisis de las propiedades de control a lazo cerrado de trenes de destilación para obtener bioturbosina y diésel verde. Los sistemas bajo estudio son: secuencia convencional directa (SCD) y secuencia térmicamente acoplada directa (STAD). Se seleccionaron, para cada secuencia, tres puntos del Frente de Pareto, correspondiendo a diseños con bajo, medio y alto requerimiento energético. El estudio se realizó a través del simulador Aspen Plus y Aspen Dynamics, fijando controladores tipo PI en las corrientes de producto. En estos simuladores se ha realizado la optimización de los parámetros del controlador para minimizar la integral del error absoluto (IAE).

Palabras clave: *Bioturbosina, acoplamiento térmico, propiedades de control, integral del error absoluto.*

Introducción

El sector de la aviación contribuye con cerca del 2% de las emisiones totales de dióxido de carbono debidas a la actividad humana [1], y se estima que crezcan en un 700% para el año 2020 [2]. Dentro de las estrategias para reducir el impacto ambiental de este sector se ha propuesto el uso de un biocombustible renovable para aviación, conocido como bioturbosina. La bioturbosina consiste básicamente en una mezcla de hidrocarburos conocidos como querosenos parafínicos sintéticos (SPK, por sus siglas en inglés). Uno de los procesos más promisorios para la producción de bioturbosina es el patentado por UOP Honeywell [3], el cual consiste en el hidrotratamiento de aceites vegetales, seguido por hidrocrqueo e isomerización, finalizando con la etapa de refinación de las fracciones obtenidas (hidrocarburos ligeros, bioturbosina y diésel verde). En un trabajo reciente se propusieron alternativas para la separación de dichas fracciones, empleando secuencias de destilación convencionales y térmicamente acopladas [4]; a través de un proceso de optimización estocástica multiobjetivo se determinó que la mejor alternativa, en términos

de requerimientos energéticos y costos de capital, para el caso de estudio es la secuencia térmicamente acoplada directa (STAD). Sin embargo, además del consumo energético, otro aspecto que debe cuidarse para que un proceso sea viable es su controlabilidad. Un método muy empleado para comparar las características de control entre distintos sistemas es el análisis a lazo cerrado; el cual consiste en el estudio de las respuestas de un sistema ante perturbaciones, cuando los pares de variables medibles/variables de control se enlazan a través de un controlador. Este tipo de análisis se ha empleado para el estudio de propiedades de control de secuencias de destilación térmicamente acopladas [5]. Se ha reportado, asimismo, que los diseños con mínimo consumo energético suelen presentar peores propiedades de control que aquellos diseños con mayor requerimiento energético, por lo cual son objetivos que se encuentran en competencia [6]. En este trabajo se presentará el análisis de control a lazo cerrado para trenes de destilación reportados en la producción de bioturbosina y diésel verde [4], estudiando diseños seleccionados de regiones de baja, media y alta carga térmica en el Frente de Pareto.

Metodología

Se han analizado trenes de destilación para la obtención de bioturbosina y diésel verde. La alimentación al tren consiste en hidrocarburos de cadena lineal y ramificados, provenientes de la etapa de isomerización del proceso de hidrotratamiento. La composición simplificada de la alimentación es: 30.04% de hidrocarburos ligeros, 28.66% de la fracción de bioturbosina y 41.30% de la fracción de diésel verde. El flujo molar de alimentación es 0.51 kmol/h. Se analizan dos tipos de secuencias de separación: la secuencia directa convencional (Figura 1.a) y la secuencia térmicamente acoplada directa (Figura 1.b). Los diseños de cada una de las secuencias se han obtenido de un trabajo previamente reportado [4], en el cual se llevó a cabo la optimización de las secuencias de destilación por medio de un algoritmo genético multiobjetivo, obteniendo el Frente de Pareto para cada secuencia. Los casos analizados en este estudio se muestran en la Tabla 1, y corresponden a tres puntos del frente de Pareto con bajo, medio y alto consumo de energía, respectivamente. Para realizar el estudio dinámico, se consideraron las simulaciones en estado estacionario en el simulador comercial Aspen Plus V. 8.0. Dichas simulaciones se exportaron a Aspen Dynamics V. 8.0 con el objetivo de realizar el análisis en estado no estacionario. Se fijaron controladores de tipo proporcional-integral (PI) en las corrientes de producto, con el fin de controlar la composición del componente más abundante en dichas corrientes (C3 en la corriente de hidrocarburos ligeros y nC18 en la corriente de diésel verde). Se determinaron los valores de los parámetros del controlador (ganancia proporcional, K_c , y el tiempo integral, τ_i) que minimizan la integral del error absoluto (IAE); el IAE es un indicativo del tiempo que tarda en estabilizarse la variable medida en el nuevo valor de set point, cuando se presenta una perturbación. Asimismo, el IAE se incrementa cuando la respuesta presenta muchas oscilaciones. Por tanto, el objetivo del análisis de sensibilidad de los parámetros de control es la minimización del IAE. En los casos estudiados, se fijó la relación de reflujo

como variable de control para las corrientes de producto en domo, y la carga térmica para controlar las corrientes de fondos.

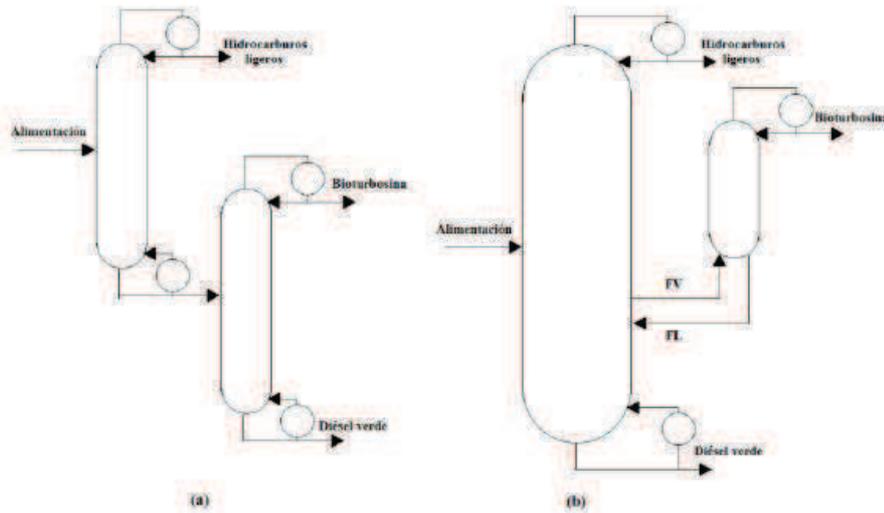


Figura 1. Secuencias analizadas, (a) secuencia convencional directa, SCD, (b) secuencia térmicamente acoplada directa, STAD.

Tabla 1. Casos analizados

Caso	SDC		STAD	
	N_T	Q_T (kW)	N_T	Q_T (kW)
S1	129	21.7	125	18.6
S2	99	23.3	90	19.8
S3	94	28.8	75	21.0

Resultados

En esta sección se presentará un resumen de los resultados obtenidos. La Figura 2.a muestra la respuesta dinámica de la corriente de hidrocarburos ligeros en la secuencia convencional directa, caso S1, para diversos valores del tiempo integral cuando la ganancia proporcional es 10. Por otra parte, en la Figura 2.b se presenta dicha respuesta para la secuencia térmicamente acoplada directa, caso S1. Se observa que el sistema convencional se estabiliza en un menor tiempo que el acoplado. Sin embargo, el sistema acoplado permite alcanzar el set point con pocas oscilaciones a bajos valores del tiempo integral. La Figura 3 presenta la variación del IAE para diferentes valores de K_c y de t_i , para la secuencia directa convencional, caso S1, y para la secuencia térmicamente acoplada directa, caso S1. Se observa que, en el caso de la secuencia convencional las ganancias superiores a 90 permiten alcanzar bajos valores de IAE. A su vez, los mejores valores de dicho criterio se obtienen para valores bajos del tiempo integral, pues al

incrementarse dicho parámetro el IAE también aumenta. En el caso de la secuencia acoplada, se obtienen valores bajos de IAE para ganancias mayores a 30; sin embargo, contrario a lo ocurrido con la secuencia convencional, en el sistema acoplado los mejores valores de IAE se presentan cuando el valor del tiempo integral se incrementa. No obstante, el valor máximo de τ_i para la secuencia acoplada (50 minutos) se encuentra dentro del rango de los valores mínimos factibles para la secuencia convencional.

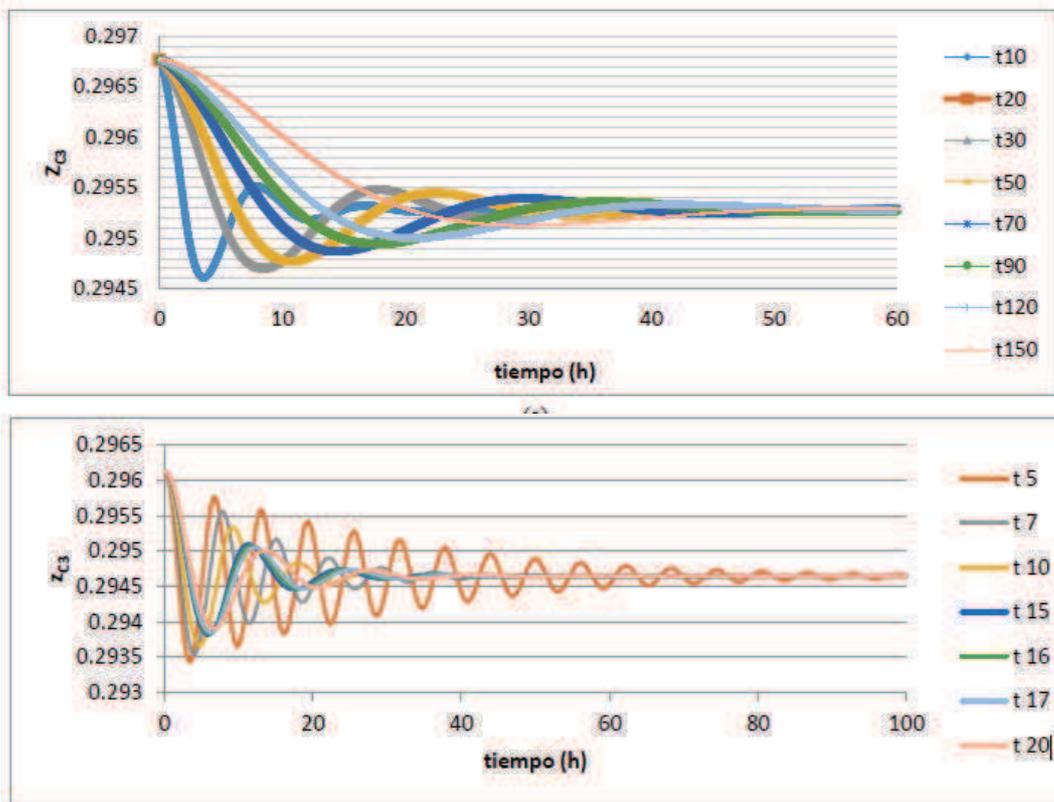
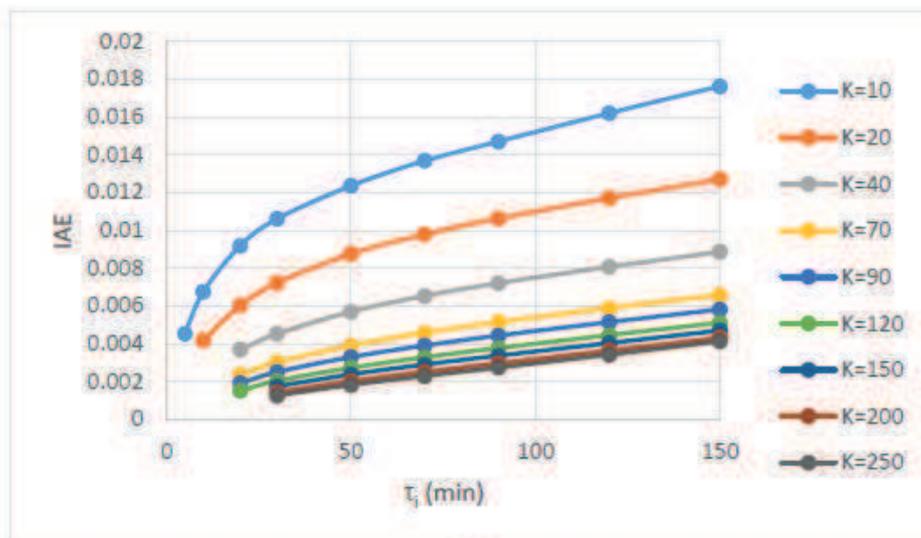
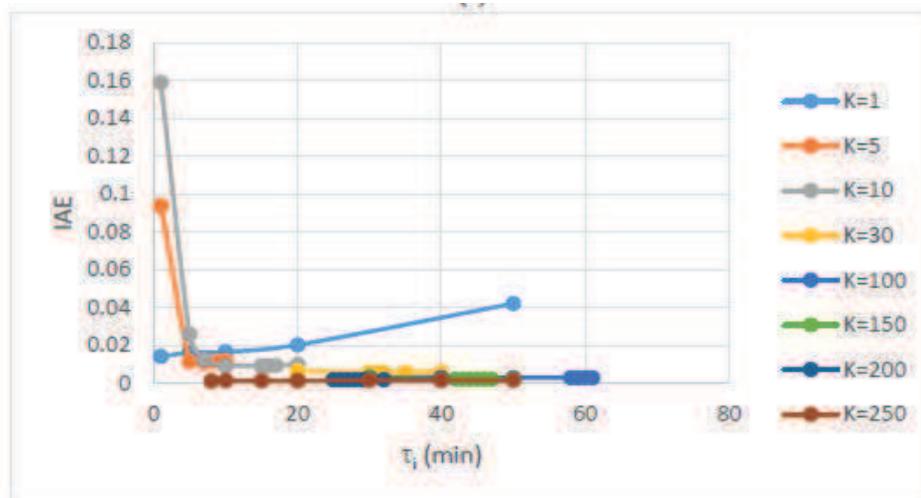


Figura 2. Respuestas dinámicas para la corriente de hidrocarburos ligeros, (a) SDC, caso S1, (b) STAD, caso S1.

En la Tabla 1 se presentan los mejores valores de IAE para cada uno de los casos analizados. En el caso de la secuencia directa convencional se observa que el mejor valor de IAE para el C3 se obtiene para distintos valores que los del nC18. El caso para el que se observa mayor semejanza en los valores de los parámetros es para S3, que es el diseño con altos requerimientos energéticos; pero tiene el menor valor de IAE para la secuencia convencional. Para la secuencia acoplada, los diseños S1 y S2 presentan bajos valores de IAE cuando se controla la composición de C3. Sin embargo, el diseño S3 es el que presenta mejor IAE al analizar la composición de nC18, a pesar de que la corriente de C3 no logró estabilizarse para dicho sistema. En base a la información presentada es posible establecer que el sistema con mejores propiedades de control a lazo cerrado es el SCD-S3, pues presenta el menor valor de IAE para ambos componentes. Sin embargo, ese sistema muestra el consumo energético más alto de todos los casos bajo estudio. La secuencia acoplada STAD-S2 presenta requerimientos energéticos relativamente bajos y propiedades de control aceptables.



(a)



(b)

Figura 3. Variación del IAE con el tiempo integral, (a) SDC, caso S1, (b) STAD, caso S1.

Tabla 1. Comparación de los mejores valores de IAE para las secuencias estudiadas.

Secuencia/Componente	Kc	τ_i (min)	IAE
SCD-S1/C3	250	30	0.00126043
SCD-S1/nC18	250	1	7.9596×10^{-5}
SCD-S2/C3	250	10	0.00044778
SCD-S2/nC18	250	1	9.5624×10^{-5}
SCD-S3/C3	250	2	6.70041×10^{-5}
SCD-S3/nC18	250	1	6.4967×10^{-5}
STAD-S1/C3	250	8	0.00126691
STAD-S1/nC18	9	19	0.00346796
STAD-S2/C3	250	23	0.00110955
STAD-S2/nC18	70	1	0.00101338
STAD-S2/nC18	250	1	4.7556×10^{-5}

Conclusiones

Se ha presentado un análisis de las propiedades de control a lazo cerrado de secuencias de destilación convencionales y térmicamente acopladas para la separación de fracciones de hidrocarburos obtenidos a partir de fuentes renovables. De acuerdo con los resultados obtenidos, las secuencias convencionales presentan las mejores propiedades de control a lazo cerrado. En particular, la secuencia convencional tomada de la región de alto requerimiento energético en el Frente de Pareto mostró los menores valores de IAE para ambas composiciones analizadas. Sin embargo, dichas secuencias presentan mayores consumos energéticos que las secuencias acopladas. Las secuencias acopladas no mostraron los mejores valores de IAE, sin embargo su controlabilidad no es mala y permiten obtener buenas propiedades de control con bajos valores de la ganancia proporcional para el controlador del nC18.

Bibliografía

- [1] Air Transport Action Group (ATAG), Facts and figures of air transport, www.atag.org, 2014. Última consulta el 15 de Abril de 2015.
- [2] European Commission, Reducing emissions from the aviation sector, ec.europa.eu, 2014. Última consulta el 28 de Junio de 2015.
- [3] Kocal, J.A., Marinangeli, R.E., Marker, T.L. y McCall, M.J. (2009) “Producing hydrocarbon product useful as jet fuel from renewable feedstock involves hydrogenating and deoxygenating the feedstock to provide n-paraffins that are isomerized to give branched-paraffins; and selectively cracking the paraffins”, *U.S. Patent 158637-A1*.
- [4] Gutiérrez-Antonio, C, Gómez-Castro, F.I., Hernández, S. y Briones-Ramírez, A. (2015) “Intensification of a hydrotreating process to produce biojet fuel using thermally coupled distillation”, *Chem. Eng. Process.*, 88, (Febrero 2015), 29-36.
- [5] Segovia-Hernández, J.G., Hernández, S. y Jiménez, A. (2002) “Control behavior of thermally coupled distillation sequences”, *Trans. IChemE*, 80, (7), 783-789.
- [6] Segovia-Hernández, J.G., Hernández-Vargas, E.A. y Márquez-Muñoz, J.A. (2007) “Control properties of thermally coupled distillation sequences for different operating conditions”, *Comput. Chem. Eng.*, 31, (7), 867-874.

ESTUDIO DE UN COLECTOR SOLAR DE TUBOS EVACUADOS MEDIANTE LA DINAMICA DE FLUIDOS COMPUTACIONAL (CFD) PARA CALEFACCION HIDRÓNICA

Sharon Stephanie López Esquivela, Jorge Arturo Alfaro Ayalab

a Licenciatura en Ingeniería Química, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, Guanajuato, Guanajuato, C.P.36050, MÉXICO. Correo electrónico ss.lopez@hotmail.com

b Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, Guanajuato, Guanajuato, C.P.36050, MÉXICO.

Resumen

Se pretende realizar calentamiento hidrónico en una habitación mediante colectores solares de tubos evacuados, por lo que se presenta el estudio térmico hidráulico de un colector solar de tubos evacuados de bajas temperaturas es realizado mediante la dinámica de fluidos computacional para diferentes flujos volumétricos y radiaciones solares. De igual forma se analizó un arreglo de colectores tipo serie con dos colectores. Para la simulación se utilizó el modelo de aproximación de Boussinesq, en el cual se ignoran las variaciones de las propiedades de los fluidos excepto la densidad que da lugar a las fuerzas de flotabilidad. La simulación y resolución del modelo matemático nos permitió conocer internamente el perfil de temperatura y presión del colector, así como la temperatura en la salida del colector y la caída de presión. Con los resultados obtenidos se compara respecto a los calentadores de gasoil, gas y eléctricos, respecto a las temperaturas y flujos manejados para el calentamiento de una habitación.

Palabras clave: Colector solar, Hidrónico, Termosifón.

Introducción

La calefacción es una de las necesidades de primer nivel alrededor de todo el mundo. Lo que ocasiona un gran consumo en materia energética. Existe gran variedad de equipos para calefacción, tanto urbana como industrial, la mayoría de esta maquinaria trabaja en base a electricidad o la quema de combustibles fósiles. Dichos equipos han causado daños en los espacios de calentamiento, ya que en su mayoría trabajan con un fluido muy caliente (aire) el cual es suministrado de manera no uniforme en los espacios. [1]

Con el nuevo desarrollo arquitectónico se ha hecho posible el calentamiento mediante bombeo de agua y distribución de esta mediante tuberías, lo cual es conocido como calefacción hidrónica. Se han utilizado varios métodos para el calentamiento del agua, lo cual de igual manera genera un costo energético. Por lo que la consideración de las energías renovables, en este caso la solar se vuelve idónea. La energía solar se produce por la continua reacción termonuclear en el sol, la cual llega al planeta en forma de radiación a una razón de 66 MW/m². Esta energía puede ser aprovechada por tecnologías de conversión fotovoltaicas y fototérmicas.

Un colector solar es un tipo de intercambiador de calor que absorbe y transforma la energía de radiación solar en energía interna en este caso calor, el cual es transferido a un fluido. Hay dos tipos de colectores los de concentración y los estacionarios. En este trabajo se estudia un colector solar estacionario, este se caracteriza por que tiene la misma área para interceptar y absorber radiación solar y trabaja a bajas temperaturas. Hay tres

tipos de colectores estacionarios los planos, los parabólicos compuestos y tubos evacuados [2].

Colector solar de tubos evacuados (CSTE)

Este colector consiste en tubos sellados al vacío conectados a un cabezal. El vacío reduce las pérdidas por conducción y convección. Operan con radiación directa y difusa, lo cual les da mayor eficacia en ángulos de incidencia bajos, por ejemplo climas fríos, nublados y ventosos [3]. La radiación es absorbida por la superficie interna de los tubos evacuados (ver tubo evacuado en Figura 1), esta radiación se transfiere como calor al fluido. Hay tres tipos de este colector tubos calóricos, terminación de tubos en U y tubos termosifón [4].

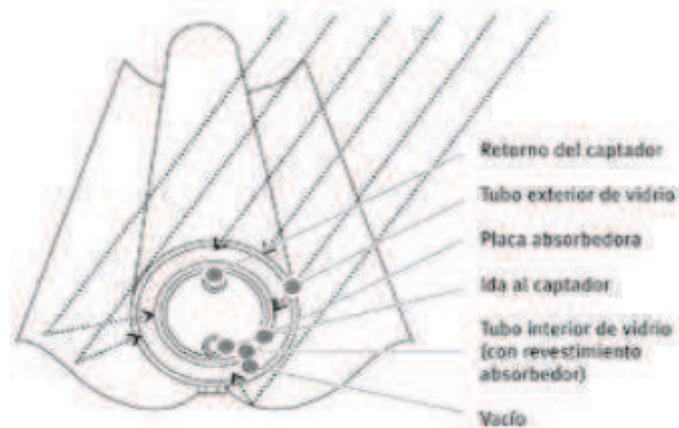


Figura 1: Partes de un tubo evacuado.

Tipos de arreglos de colectores solares: serie y paralelo

Dependiendo del objetivo de la aplicación se pueden combinar distintos arreglos de los colectores solares. Un arreglo tipo paralelo tiene como objetivo el aumentar el flujo volumétrico y un arreglo en serie nos daría como resultado un mayor calentamiento de agua, esto debido al paso del fluido por dos o más colectores[5].

El regulamiento de la temperatura en espacios habitacionales es muy demandada y se encuentra en rangos de recios poco accesibles. En espacios industriales es indispensable; en sector agrícola (germinación de plantas y conserva de frutos), sector vinícola (fermentación y añejamiento) e industria farmacéutica (conserva de medicamentos y materias primas). En los espacios industriales se requieren condiciones de humedad específicas, por lo que los sistemas de calefacción que no afecten este aspecto y dañen materia prima o productos son necesarios.

El objetivo de este artículo está centrado en conocer el comportamiento térmico-hidráulico del colector solar en estudio. Con ello conoceremos los flujos ideales, temperatura final a la salida del colector y caída de presión. Todo esto con el fin de mejorar el aprovechamiento de los colectores solares de tubos evacuados en la aplicación de calefacción hidrónica.

Metodología

Se simuló por separado un CSTE de 36 tubos (dimensiones ver Tabla 1 y geometría ver Figura 2) a tres diferentes radiaciones solares, que son la mínima, media y máxima promedio en climas ventosos, nublados y fríos a seis diferentes flujos volumétricos con las especificaciones de la Tabla 2.

Tabla 1: Dimensiones del CSTE

Colector solar de 36 tubos evacuados	
Longitud del tubo	1.5m
Diámetro interno del tubo	0.037cm
Diámetro externo del tubo	0.047m
Area total de absorción	3.14m ²
Longitud del cabezal	2.5m
Diámetro interno del cabezal	0.13m
Angulo de inclinación	30°



Figura 2: Geometría colector solar 36 tubos

Los datos empleados fueron temperatura inicial a 20°C, los distintos flujos volumétricos y el flux de calor. Este último se obtuvo con la ecuación $Q_{util} = mC_p\Delta T$ conociendo la masa, C_p del agua, la temperatura inicial y considerando la temperatura final de datos obtenidos experimentalmente. Después se dividió el calor útil entre el área para obtener el flux de calor $q = \frac{Q_{util}}{area\ abs}$, como se muestra en la Tabla 2. Se utilizó el modelo de aproximación de Boussinesq, donde se consideran las variaciones en la densidad. La viscosidad, el calor específico y la conductividad se mantienen constantes; para resolver las ecuaciones de Navier-Stokes y ecuación de la energía.

Tabla 2: Datos utilizados para el cálculo de flux de calor.

Flujo Lpm	Radiación solar								
	600 W/m ²			900 W/m ²			1200 W/m ²		
	Q _{util} (W)	T _{sal} (°C)	q(W/m ²)	Q _{util} (W)	T _{sal} (°C)	q(W/m ²)	Q _{util} (W)	T _{sal} (°C)	q(W/m ²)
2	1173.6	28.4	374.2	1713.2	32.3	546.3	2248.8	36.2	717.1
4	1241.3	24.5	395.8	1815.9	26.5	579.0	2388.4	28.6	761.6
6	1268.2	23.0	404.4	1856.5	24.4	591.9	2443.2	25.9	779.1
9	1288.7	22.1	410.9	1887.4	23.0	601.8	2484.9	24.0	792.3
12	1300.5	21.6	414.7	1904.9	22.3	607.4	2508.5	23.0	799.9
15	1308.2	21.3	417.1	1916.6	21.8	611.1	2524.2	22.4	804.9

Para la conexión tipo serie (ver Figura 3) se simuló con los mismos datos de la Tabla 2, solo para el segundo colector se calculó nuevamente el flux de calor con la temperatura de entrada (salida del primer colector) y datos experimentales de temperatura de salida.

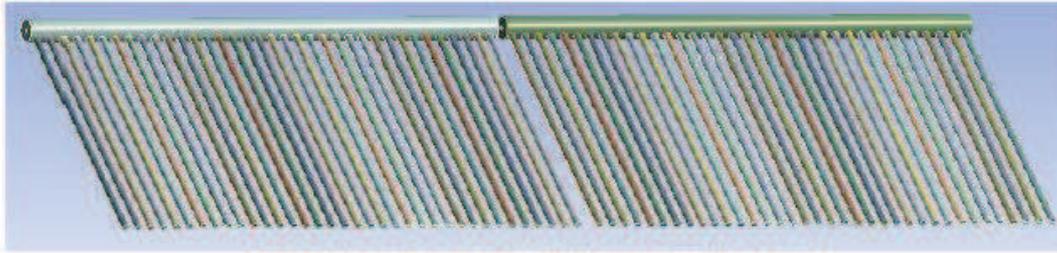
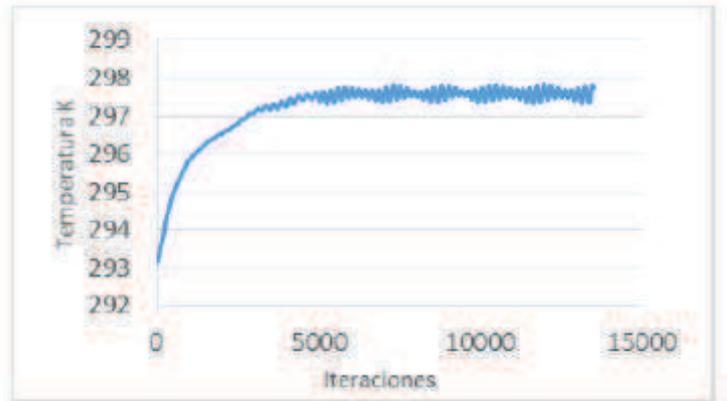


Figura 3: Geometría colector solar con arreglo en serie

Resultados

En la solución matemática se obtuvieron valores de temperatura mediante iteraciones. Para su interpretación se buscó el punto donde la solución converja y se obtuvo un promedio (ver ejemplo en Figura 4).

Figura 4: Gráfico representativo de interpretación de resultados



Para el colector individual se obtuvieron los perfiles mostrados en el gráfico de la Figura 5, con aproximadamente 24 horas de simulación para 1,042,626 celdas y 15mil iteraciones, por flujo de agua y flux de calor, con un total de 18 casos. Como se puede observar de en la Figura 5,

de 2 a aproximadamente 5 Lt/min existe un cambio representativo en el aumento de la temperatura del agua, después de los 6 Lt/min el aumento de la temperatura es poco. Es visible como con el aumento de flujo másico de agua va decreciendo la energía ganada y aumentando la caída de presión.

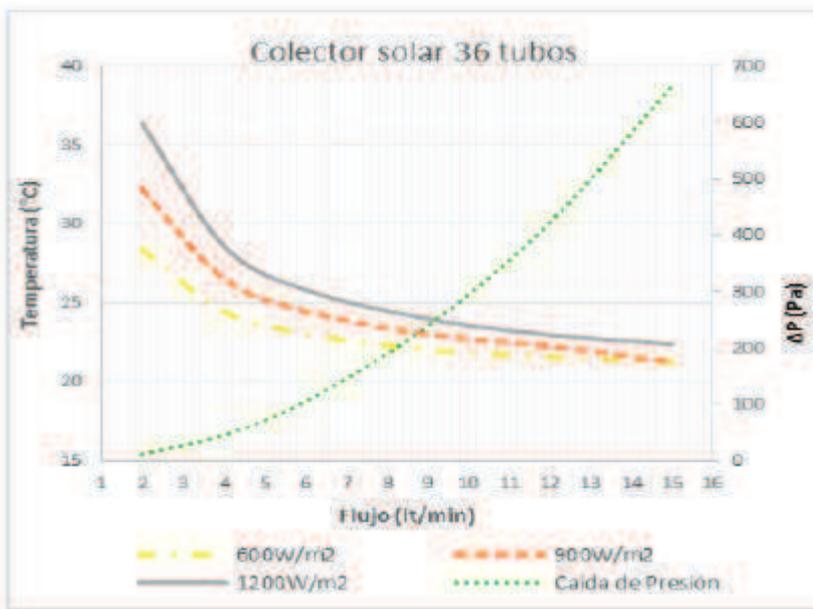


Figura 5: Gráfico comportamiento térmico-hidráulico del colector solar de 36 tubos a distintos flujos volumétricos y flux de calor.

Se pudo analizar por separado cada radiación a los diferentes flujos máscicos, obteniendo perfiles y contornos individuales de temperatura (ver Figura 6) y presión (ver Figura 7). La caída de presión se tomó como un diferencial entre la entrada y la salida considerada a 0Pa.

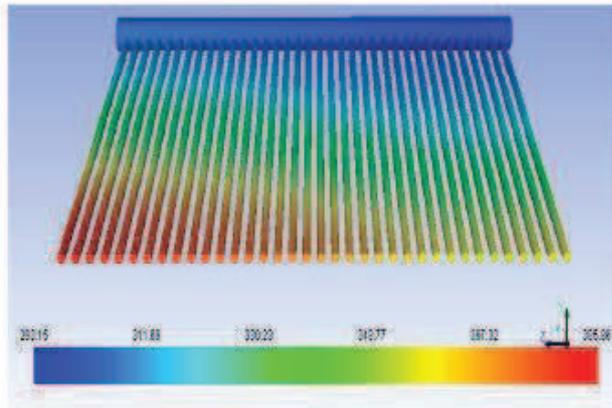


Figura 6: Contornos de temperatura (K) en el colector solar a 900W/m² y 2Lt/min.

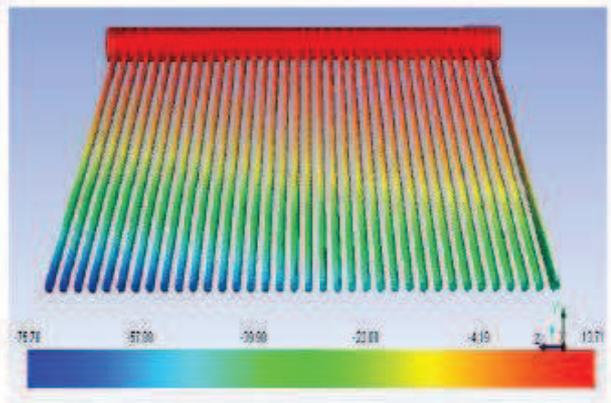


Figura 7: Contornos de Presión (Pa) en el colector solar a 900W/m² y 2Lt/min.

Para la simulación del colector con arreglo en serie (ver Figura 3) se simuló alrededor de 372 horas con cerca de 90mil iteraciones y 3,011,062 celdas; para el caso de la radiación de 600 W/m² a un flujo de 2Lt/min. Se tiene una estimación de porcentaje de calentamiento del segundo colector de un 84.5% con respecto primer colector.

Colector solar en arreglo tipo serie						
Flujo Lpm	Temperatura final en °C					
	600 W/m ²		900 W/m ²		1200 W/m ²	
	C1	C2	C1	C2	C1	C2
2	28.4	35.5	32.2	42.5	36.3	50.1
4	24.4	28.2	26.5	32.0	28.6	35.9
6	23.03	25.6	24.5	28.2	25.8	30.7
9	22.0	23.8	23.0	25.5	24.0	27.3
12	21.5	22.8	22.3	24.2	23	25.5
15	21.2	22.3	21.2	22.3	22.4	24.4

Al igual que con la simulación de un solo colector en el arreglo tipo serie solo obtenemos cambios significativos en los 2 primeros flujos con un aumento de 15 a 30 °C según la radiación.

Tabla 3: Resultados de la simulación en arreglo serie de temperatura de salida. C1: colector 1, C2: colector 2.

Conclusiones

El empleo de colectores solares de tubos evacuados a bajas temperaturas, resulta útil solamente para flujos volumétricos pequeños, incluso en conformación tipo serie. Para el uso de dichos colectores en para calefacción hidrónico resultan útiles y rentables, debido a que se cumplen con los requerimientos de flujo volumétrico y temperaturas, por encima de los calentadores convencionales que se encuentra entre los 2-6 lt/min y 25-35°C, si se deseara un mayor espacio calentamiento se tendría que analizar un arreglo paralelo para aumentar el flujo y adaptarse a las condiciones deseadas o si se desea una mayor temperatura la conformación tipo serie. No sería recomendable para flujos altos debido al alto costo de los colectores y el bajo calentamiento que generarían.

Bibliografía

- [1] Heresaki, A., Bourdakis, E., Ploskic', A. y Holmberg, S. (2015) "Experimental study of energy performance in low-temperature hydronic heating systems". Energy and Buildings. doi:10.1016/j.enbuild.2015.09.064
- [2] Muhlia, A. (1995). Los flujos de radiación solar de onda corta: la radiación global, directa y difusa. Boletín de Investigaciones Geográficas UNAM. Vol.31
- [3] Soteris, A. Kalogirou. (2014). Chapter 3, Solar energy collectors. Solar Energy Engineering. Second Edition. Limassol, Cyprus. AP editorial.
- [4] Lee, BF. (2001). The progress and prospect of middle/high temperature evacuated tubular solar collector. Renewable Energy. 24(2014)539-544.
- [5] Alfaro-Ayala J. A., Martínez-Rodríguez G., Picón-Núñez M., Uribe-Ramírez A. R., Gallegos-Muñoz A. (2015). Numerical study of a low temperature water-in-glass evacuated tube solar collector. Energy Conversion and Management. 94 (2015) 472-481.

PREPARACIÓN DE SÍLICE MODIFICADA POR SILILACIÓN CON GRUPOS MERCAPTO PARA LA REMOCIÓN DE ARSÉNICO EN UN SISTEMA POR LOTES Y UNA COLUMNA CONTINUA DE LECHO FIJO

López Puga Cristina, Dr. Ramírez Oliva Eulalia, Dr. Cervantes Jáuregui Jorge A., Dr.

Martínez Rosales J. Merced

Departamento de Química, División de Ciencias Naturales y Exactas. Campus
Guanajuato, Universidad de Guanajuato, Norial Alta S/N, Guanajuato, Guanajuato,
36250, México.

cristinalp_91@hotmail.com

Resumen

Se sintetizó sílice modificada con grupos mercapto para la remoción de arsénico presente en agua empleando el principio de la reacción de trimetilsililación (TMS), que es una ruta de baja energía. La caracterización del material obtenido se realizó por Espectroscopia FT-IR, RMN y Fisisorción de Nitrógeno. La sílice modificada se utilizó como adsorbente de arsénico en soluciones acuosas estándar. La adsorción se realizó en un sistema por lotes y una columna continua de lecho fijo.

Palabras clave: sílice modificada, sililación, adsorción, arsénico (As)

Introducción

De entre todos estos contaminantes geogénicos, el arsénico ha generado la mayor preocupación mundial ya que hasta el momento ha causado diversos efectos negativos para la salud humana [1, 2, 3, 4] y son varios los sitios del planeta con altos niveles naturales de este elemento en aguas subterráneas, México entre ellos [2, 5].

El límite internacional recomendado de arsénico en el agua potable es de 0.01 mg/l según la OMS [2]. La Norma Oficial Mexicana tiene como límite permisible 0.025 mg/l desde el 2005 [6].

Los procesos de adsorción son eficaces y muy utilizados en las industrias de tratamiento de agua y aguas residuales para eliminar la contaminación orgánica e inorgánica y presentan varias ventajas [7]. Algunos adsorbentes utilizados en los últimos años para la remoción de arsénico tanto en agua son: carbón activado [8], arcillas [7], zeolitas [7], barro rojo [9], hidrogel de hidróxido de aluminio [10], óxidos metálicos naturales y sintéticos [11].

El uso de una matriz inorgánica como es el caso de la sílice, en la que una variedad de grupos funcionales se puede inmovilizar químicamente, tiene ventajas sobre soportes orgánicos convencionales usados como adsorbente. Las ventajas incluyen un área de superficie más alta con la cual se puede aumentar la capacidad de adsorción y una mayor capacidad física y química para soportar una variedad de ambientes hostiles [12].

La reacción empleando el principio seguido en la trimetilsililación con cambio en las condiciones, puede ser una ruta simple para la preparación de sílice modificada. Dicha reacción fue propuesta por Charles W. Lentz en 1963. La trimetilsililación de silicatos minerales implica la remoción de cationes metálicos, la formación de ácido silícico y la condensación de grupos trimetilsilanol [13].



Al cambiar las condiciones de esta reacción, se puede modificar la sílice con distintos grupos funcionales que es lo que se pretende en este estudio

Metodología

Preparación de sílice modificada con base en la reacción de trimetilsililación (TMS)

Reactivos: Silicato de Sodio (Na_2SiO_3), agua destilada, 3-Mercaptopropiltrimetoxisilano, ácido clorhídrico concentrado (HCl), isopropanol. Procedimiento: Se preparó una solución de silicato de sodio 1M, añadiendo 2.7 mmol (0.3302 g) de silicato de sodio y 150 mmol (2.705 ml) de agua. Paralelamente se preparó la mezcla de reacción en un matraz de dos bocas disolviendo 25.25 mmol (5 g) de 3-mercaptopropiltrimetoxisilano, 188 mmol (3.382 ml) de agua destilada, 132 mmol (4.8254 g) HCl y 95.6 mmol (5.7472 g) isopropanol. Se añadió la solución de silicato de sodio 1 M lentamente. La reacción se agitó por 10 h a temperatura ambiente. La fase del siloxano se separó por decantación. El sólido obtenido se lavó con agua 3 veces, el último lavado estuvo en contacto con el producto y en agitación por 1 h. El producto final se dejó secar por 72 h en la estufa a 150°C.

Caracterización

La caracterización de productos se realizó mediante técnicas de: Infrarrojo (FT-IR) en un espectrofotómetro Perkin-Elmer con Transformada de Fourier modelo 100, en un rango de 400– 4000 cm^{-1} con el método de pastilla de KBr, Resonancia Magnética Nuclear en sólidos usando la secuencia de pulsos MAS de ^{29}Si y CPMAS de ^{29}Si y ^{13}C en un aparato Bruker Avance III HD de 400 MHz, Fisisorción de Nitrógeno utilizando un aparato Micrometrics, modelo ASAP 2010 que trabaja mediante un software BET y BJH y Análisis Térmico

Adsorción por lote

Se prepararon estándares de arsénico en un rango de 0.025 – 1 ppm a los cuales se les midió el pH y se les realizó un tratamiento con NaOH y HCl hasta alcanzar un pH neutro. La sílice modificada se pasó por una malla de 75 μm . Se agregó 0.025 g de sílice modificada a frascos de 50 ml, a los que se les añadió las soluciones estándar, estas se mantuvieron en agitación en un baño a 20°C por 8 h en las cuales se tomaron muestras de agua. El proceso se repitió para temperaturas de 25°C y 32°C. La concentración final de As de las muestras se determinó en un espectrómetro de absorción atómica Perkin Elmer, modelo AAnalyst 100 por medio de la técnica de generación de hidruros.

Adsorción en columna de lecho fijo

Una solución acuosa al 2% de HNO_3 se agregó a la sílice hasta conseguir una masa y se elaboraron pellets que se secaron 24 horas y se calcinaron. El secado por 30 min a 120°C, calcinación por 4 h a 400°C con una rampa de 1°C/min. Dos columnas de 6 cm de altura c/u se empacaron con los pellets. Se preparó una solución de arsénico a 1 mg/L y otra de 0.75 mg/L. Las soluciones se hicieron pasar a 0.036 L/s por las columnas durante 8 h tomando muestras de agua cada 30 min. Esto se repitió para 2 columnas de 10 cm. El flujo de mantuvo en la primera mientras que en la segunda se aumentó a 0.06 cm^3/s . El empacado fue de 5.9 g y 3.5 g para cada columna.

Resultados

Caracterización por FT-IR

El enlace O-H entre 3500-3200 cm⁻¹ indica la tensión del silanol en la superficie y las moléculas de agua adsorbidas; Si-O-Si cerca de 1100 cm⁻¹ representa la frecuencia de estiramiento del siloxano; una banda a 800 cm⁻¹ la presencia del enlace Si-OH, la banda a 2950 cm⁻¹ se asocia al estiramiento de carbono tetraédrico C-H; mientras que el enlace C-S entre 685-695 cm⁻¹ y el S-H alrededor de 2550 cm⁻¹ confirma la presencia de grupo mercapto en la sílice [34]. Se muestra los espectros de la reacción a partir de silicato de sodio (Figura 1).

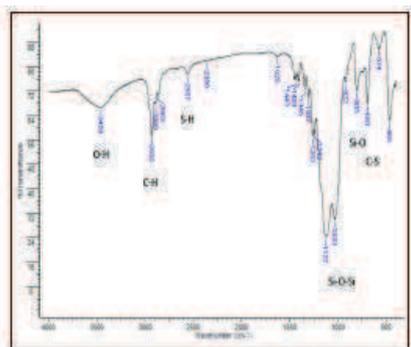


Figura 1. Espectro FT-IR de Sílice Modificada

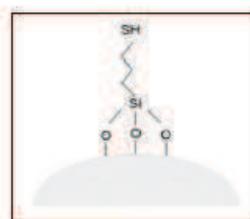


Figura 2. Representación de la sílice modificada por el 3-mercaptoptrimetoxisilano

La Figura 2 muestra la estructura final idealizada de la sílice una vez que se ha modificado con el 3-mercaptoptrimetoxisilano.

Caracterización por RMN de ¹³C y ²⁹Si

Según el “Spectral Database for Organic Compounds (SDBS)”, por *RMN CPMAS ¹³C* dos de los tres carbonos seguidos del grupo mercapto se encuentran aproximadamente a 28 ppm y el tercero a 8 ppm (Figura 3). El carbono 1 y 2 se encuentran en el desplazamiento químico esperado mientras que el 3 sufrió un desplazamiento hasta 12 ppm. En la Figura 4, se presenta el espectro *RMN CPMAS ²⁹Si* con las señales 56, 64, 99 y 109 que representan estructuras del tipo T²[Si(OH)CH₃(OSi)₂], T³[SiCH₃(OSi)₃], Q³[Si(OH)/OSi]₃, Q⁴[Si(OSi)₄] respectivamente.

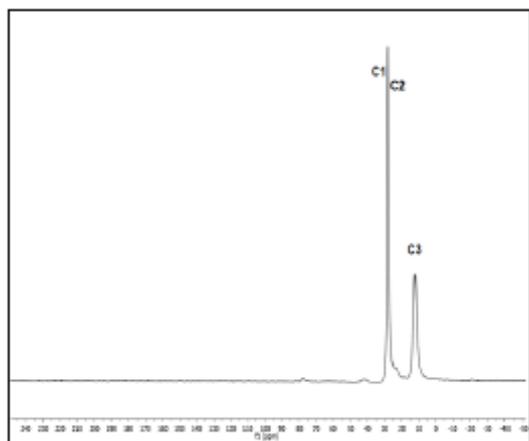


Figura 3. Espectro de RMN CPMAS ¹³C de Sílice Modificada

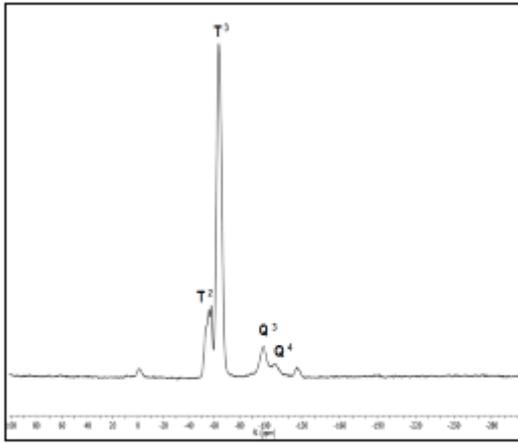


Figura 4. Espectro de RMN CPMAS ²⁹Si de Sílice Modificada

Caracterización por fisisorción de nitrógeno

Tabla 1. Propiedades Texturales

	Área Superficial BET (m ² /g)	Volumen de Poro (cm ³ /g)	Diámetro de Poro nm
SGM	143	0.22	3.13
SM a partir de SG	122	0.19	2.67
SM a partir de Na ₂ SiO ₃	116	0.18	2.54

Adsorción por lote

En las Figuras 5 y 6 se muestra que el porcentaje y la capacidad de remoción son mayores a 20°C por lo cual se puede decir que la adsorción se favorece a temperaturas menores.

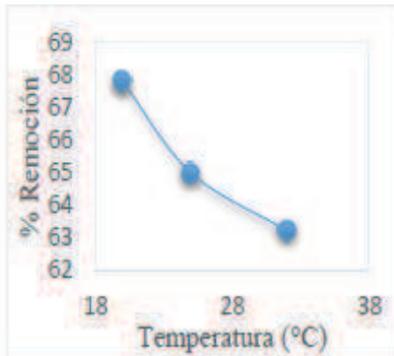


Figura 5. Gráfica de porcentaje remoción de variando la temperatura

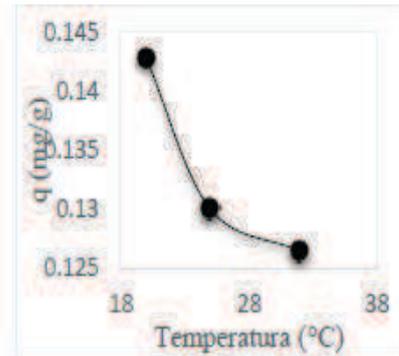


Figura 6. Gráfica de capacidad de remoción variando la temperatura

El porcentaje de remoción aumenta conforme el tiempo avanza (ver Figura 7). La remoción ocurre en su mayoría durante la 1ª h, después de 4 h ya no hay adsorción. Por otro lado, la capacidad de adsorción también disminuye conforme pasa el tiempo hasta llegar a las 4 h donde la sílice pierde su capacidad de adsorción (ver Figura 8).

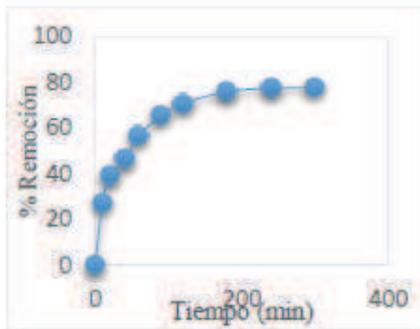


Figura 7. Gráfica de porcentaje de remoción conforme pasa el tiempo

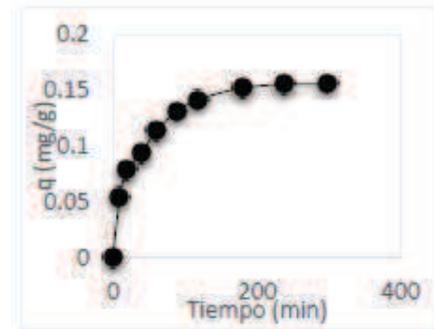


Figura 8. Gráfica de capacidad de adsorción conforme pasa el tiempo

Las Figuras 9 a 11 muestran el decaimiento de la concentración de As. A mayor concentración mayor tiempo de adsorción de arsénico. Las curvas se vuelven asintóticas cuando la concentración de As en una solución es elevada, debido a que la sílice alcanza su adsorción máxima.

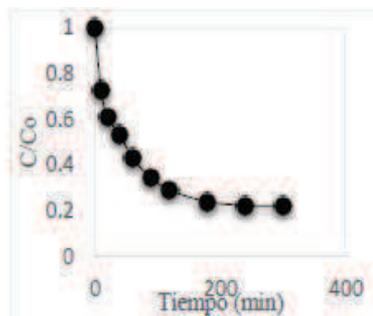


Figura 9. Curva de decaimiento de la concentración cuando $C_o=1$ mg/L

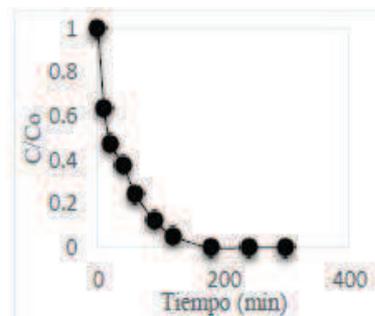


Figura 10. Curva de decaimiento de la concentración cuando $C_o=0.75$ mg/L

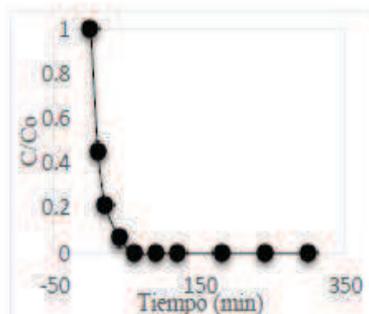
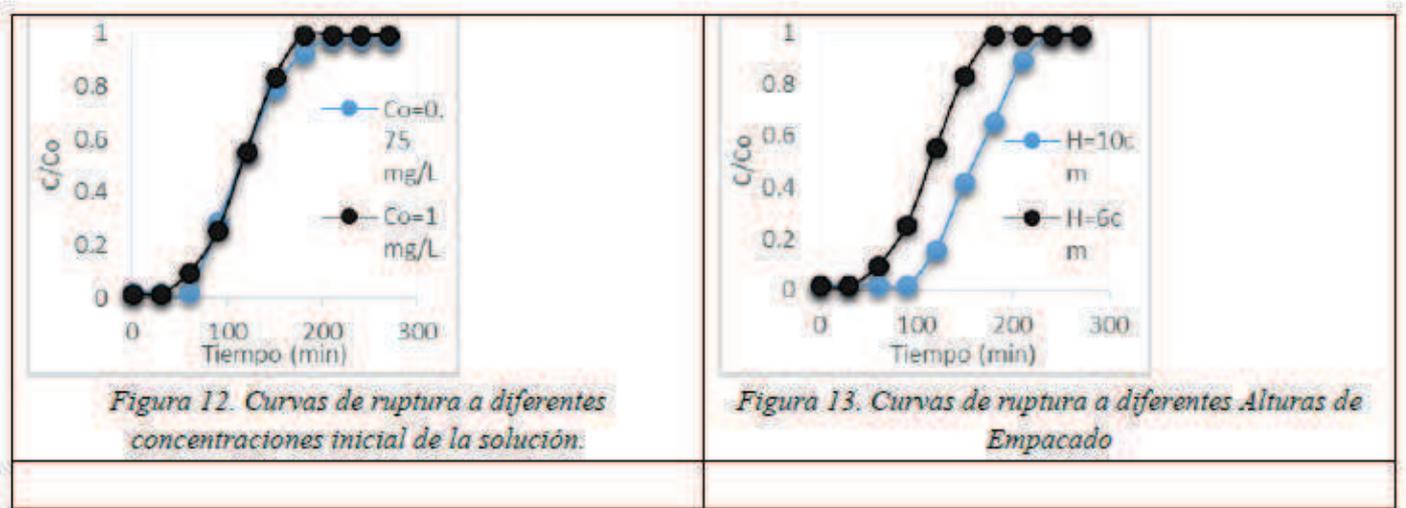


Figura 11. Curva de decaimiento de la concentración cuando $C_o=0.5$ mg/L

Adsorción en columna

La Figura 12 presenta las curvas de ruptura de dos columnas que operan a la misma condiciones excepto por la concentración inicial de la solución de As. El punto de ruptura ocurre primero en la columna que está operando a concentración mayor ya que la cantidad de As es más alta y la columna se satura más rápido. La Figura 13 muestra las curvas de ruptura de dos columnas de diferente altura las cuales se encontraban operando a las mismas condiciones. El punto de ruptura aumenta cuando la columna es de mayor tamaño esto debido a que la cantidad de empaque utilizada se incrementa y por lo tanto el tiempo de saturación es mayor.



La Figura 14 muestra las curvas de ruptura de dos procesos; el flujo de alimentación es mayor en uno que en otro, las demás condiciones de operación son iguales. La saturación de la columna ocurre a un tiempo menor cuando el flujo es mayor debido al volumen de agua pasado por ella.

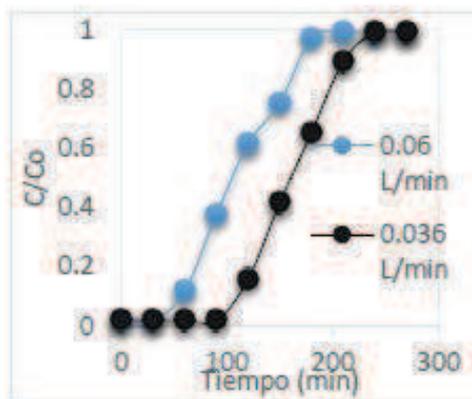


Figura 14. Curvas de ruptura a diferentes Flujos de Alimentación

La Tabla 2 muestra la capacidad de adsorción máxima y la constante de velocidad a partir del modelo de Thomas los sistemas de columna estudiados. La ecuación del modelo es la siguiente:

$$\ln\left(\frac{C_0}{C_t} - 1\right) = \frac{1}{Q}(k_{Th} * q_0 * M) - \frac{1}{Q}(k_{Th} * C_0 * V_{eff})$$

Si la altura del lecho es mayor, la columna adsorberá mayor cantidad de arsénico, si el flujo se incrementa la capacidad de adsorción disminuye, si la concentración inicial es mayor la capacidad de adsorción también lo será. El tiempo de residencia de la columna con mayor capacidad de adsorción:

$$TR(\text{min}) = \frac{\text{volumen de la columna (ml)}}{\text{caudal (ml/min)}} 0.218 m$$

Tabla 2. Parámetros obtenidos por el modelo de Thomas

Altura de la columna (cm)	Concentración inicial (mg/L)	Flujo de alimentación (L/min)	Tiempo de saturación (min)	kTh (L/min*mg)	q ₀ (mg/g)	R ²
6	0.75	0.036	180	0.0088	1.513	0.9945
6	1	0.036	180	0.0068	1.86	0.9897
10	1	0.036	240	0.0512	2.31	0.9856
10	1	0.06	180	0.0066	1.84	0.9957

Conclusiones

El método de la TMS es una buena alternativa para lograr la preparación de sílice modificada. La sílice modificada obtenida por la ruta de TMS es apropiada para remover el arsénico existente en las muestras de agua preparadas. Las pruebas tanto en lote como en columna continua de lecho fijo se lleven a cabo de manera eficaz y eficiente. La obtención de esta sílice resulta ser económica debido al bajo coste de los reactivos utilizados, donde el 3-Mercaptopropiltrimetoxisilano es el de mayor costo pero a su vez es el que se utiliza en menor cantidad.

Bibliografía

- [1] Schwarzenbach, R. P., Egli, T. y otros (2010) "Global Water Pollution and Human Health", *Annu. Rev. Environ. Resour.*, 35, 109-118
- [2] Organización Mundial de la Salud, Diciembre de 2012, "Arsénico" Nota descriptiva N°372
- [3] Chen, Y., Parvez, F., Gamble, M., Islam, T., Ahmed, A. y otros (2009) "Arsenic exposure at low-to-moderate levels and skin lesions, arsenic metabolism, neurological functions, and biomarkers for respiratory and cardiovascular diseases", *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 239, 185-188.
- [4] Steinmaus, C., Ferreccio, C., Acevedo, J. y otros (2014) "Increased lung and bladder cancer incidence in adults after in utero and early-life arsenic exposure", *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 23, 8, 1529-1535.
- [5] Arreguín, C. F. y otros "Revisión de la presencia de arsénico en el agua subterránea en México", 45, *Revis. Tlaloc*, 3.
- [6] Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/127ssa14.html>
- [7] Chiban, M., Zerbet, M., Carja, G. y Sinan, F. (2012) "Application of low-cost adsorbents for arsenic removal", *Journ. Environ. Chem. Eco.*, 4, 91-102.
- [8] Bailey, S.E., Olin T.J., Bricka R.M., Adrian, D.D. (1999) "A review of potentially low cost sorbents for heavy metals." *Water Res.*, 33, 2469-2474.

- [9] Altundogan, H.S., Altundogan, S., Tumen, F., Bildik, M. (2000) "Arsenic removal from aqueous solutions by adsorption on red mud." *Waste Manage.*, 20, 761-767.
- [10] Luján, J. C. (2001) "Un hidrogel de hidróxido de aluminio para eliminar el arsénico del agua", *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health*, 9, 302-305.
- [11] Chang, Y., Lee, S., Yang, J. (2009) "Removal of As (III) and As (V) by natural and synthetic metal oxides", *Elsevier*, 346, 202-207.
- [12] Mohan, D., Pittman, C. U. (2007) "Arsenic removal from water/wastewater using adsorbents—A critical review", *Journal of Hazardous Materials*, 1, 42, 2.
- [13] Currell, B. R., Parsonage, J. R. (1981) "Trimethylsilylation of Mineral Silicates", *Journal of Macromolecular Science: Part A - Chemistry: Pure and Applied Chemistry*, 16, 1, 141-166.