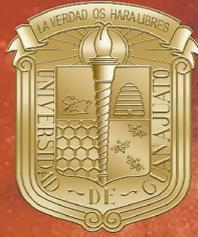


UNIVERSIDAD DE
GUANAJUATO



MULTIDISCIPLINARIEDAD EN LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA EN LA DCNE



MULTIDISCIPLINARIEDAD EN
LA INVESTIGACIÓN
CIENTÍFICA EN LA DCNE

Multidisciplinarietà en la Investigación Científica 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.

Créditos de portada y contraportada: Amaranta Pedraza Díaz

ISBN: 978-607-441-560-5

Hecho en México

Made in Mexico

AUTORES

Gustavo Cruz Jiménez

Fernando Israel Gómez Castro

Nadia Romero Romero

Dennis Jack

Juan Pablo Torres Papaqui

Ignacio René Galindo Esquivel

Jesús Isaac Minchaca Mojica

Esthela Ramos Ramírez

Jorge Armando Cervantes Jauregui

Martín Trinidad Martínez García

Martha Alicia Deveze Álvarez

Juana Elizabeth Reyes Martínez

Fabricio Omar Barroso Muñoz

COMITÉ EDITORIAL

Fernando Israel Gómez Castro

Jesús Isaac Minchaca Mojica

César Rogelio Solorio Alvarado

Dennis Jack

Nadia Romero Romero

Juan Pablo Torres Papaqui

Juana Elizabeth Reyes Martínez

Juana López Godinez

Eduardo Sánchez Ramírez

Claudia Mendoza Macías

Juan Manuel Peralta Hernández

Beatriz Ruiz Camacho

Patricia Nayeli Alva Murillo

Índice

ANÁLISIS TEMPORAL DE LOS ESPECTROS DE LA SUPERNOVA SN2014J	5
DISEÑO Y SIMULACIÓN DE PROCESOS DE PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES EN CONDICIONES DE ALTA PRESIÓN.....	11
V PREPARACIÓN DE COPOLÍMEROS TIPO ACRILATO VÍA CRP POR EL PROCESO DE POLIMERIZACIÓN EN SUSPENSIÓN	17
CARACTERIZACIÓN DEL ENQUISTAMIENTO AMIBIANO EN ENTAMOEBA INVADENS	23
SÍNTESIS DE ANTIDIABÉTICOS N-ALQUIL-N-ARILBISGUANIDÍNICOS DERIVADOS DE METFORMINA	30
VALORACION INTEGRAL DE PRODUCTOS DERIVADOS DE CITRICOS	36
ANÁLISIS DE UN ASPECTO FUNDAMENTAL EN UNA DE LAS ETAPAS DEL PROCESO DE COLADA CONTINUA DE FABRICACIÓN DE ACERO	42
SÍNTESIS DE MEMBRANAS DE POLISULFONA (PSF) A PARTIR DEL MÉTODO DE INVERSIÓN DE FASE EN LA ELIMINACIÓN DE ESPECIES CONTAMINANTES DE AGUAS RESIDUAL.....	49
ANÁLISIS DE LA EXPOSICIÓN DE CÉLULAS HeLa A NANOPARTÍCULAS DE ORO RECUBIERTAS CON ÁCIDO FÓLICO	55
DESARROLLO DE BIOSENSORES BACTERIANOS PARA DETERMINAR LA PRESENCIA DE AGENTES CAUSANTES DE DAÑO CELULAR	62
EFFECTO DEL ESTRÉS NUTRICIONAL Y DE LA INTERACCIÓN CON BACTERIAS SOBRE LA EXPRESIÓN DE GENES RELACIONADOS CON LA VIRULENCIA DE ENTAMOEBA HISTOLYTICA.....	68
EVALUACIÓN TÉRMICA Y ELÉCTRICA DE UN FRIGOBAR COMERCIAL QUE OPERA MEDIANTE EL CICLO DE COMPRESIÓN DE VAPOR.	74
OBTENCIÓN DE UNA CEPA DE <i>Bacillus subtilis</i> DEFICIENTE EN EL GEN <i>nusG</i>	80
OBTENCIÓN DE UNA CEPA BACTERIANA RECOMBINANTE PARA LA EXPRESIÓN HETERÓLOGA DEL GEN <i>mfd</i> DE <i>Bacillus subtilis</i>	86

DISEÑO DE UN PROCESO DE BAJO COSTO PARA LA PRODUCCIÓN DE BIODIÉSEL A PARTIR DE ACEITES DE RE- USO	92
INTENSIFICACIÓN DE UN PROCESO DE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA PARA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL.....	98
ESTUDIO PROTEÓMICO DE <i>Sclerotium cepivorum</i> Berk DURANTE LA INDUCCIÓN DE LA CONIDIACIÓN	103
DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Chrysactinia mexicana</i> Gray SOBRE <i>Candida glabrata</i>	108
SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CATALÍTICA DE Pt/HZSM-22/ γ -Al ₂ O ₃ EN LA HIDRODESOXIGENACIÓN DE ACEITE DE JATROPHA PARA LA PRODUCCIÓN DE COMBUSTIBLE RENOVABLE DE AVIACIÓN	114
DISEÑO DE PROCESOS PARA LA PRODUCCIÓN DE SILICIO DE GRADO SOLAR	121
CERVEZA; UNA PROPUESTA COMO ALIMENTO FUNCIONAL.....	127
EFFECTO SINÉRGICO DEL ÓXIDO DE GRAFENO Y GRAFENO REDUCIDO USADOS COMO REFUERZO DENTRO DE UNA MATRIZ POLIMÉRICA EPÓXICA.....	133
ANÁLISIS NUMÉRICO CFD DE LA TRANSFERENCIA DE CALOR EN ALETAS CON GEOMETRÍAS REGULARES.	139
SOBREEXPRESIÓN Y PURIFICACIÓN DE LA PROTEÍNA RECOMBINANTE HIS ₁₀ -MutY DE <i>Bacillus subtilis</i>	146
GELES DE LÍQUIDOS IÓNICOS POLIMERIZADOS COMO SOPORTES AVANZADOS EN CATÁLISIS SILP EN FASE LÍQUIDA	152
ESTUDIO ESTRUCTURAL Y MECÁNICO DE UNA MATRIZ ELASTÓMERIC DE POLIDIMETILSILOXANO (PDMS) OBTENIDA MEDIANTE RADIÓLISIS GAMMA DE ALTA DOSIS	157
Total Synthesis of an Analogue of Kealiquinone.....	162
SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE COMPUESTOS TIPO BASE DE SCHIFF CON POTENCIAL FARMACOLÓGICO Y SUS ACOMPLEJAMIENTO CON IONES METÁLICOS DE TRANSICIÓN	167
DEGRADACIÓN FOTOCATALÍTICA DEL 2,4,6-TRICLOROFENOL EN MEDIO ACUOSO UTILIZANDO PRECURSORES TIPO-HIDROTALCITA MgFe TÉRMICAMENTE ACTIVADOS	175

ANÁLISIS TEMPORAL DE LOS ESPECTROS DE LA SUPERNOVA SN2014J

Erik José Amézquita Morataya^a, Dennis Jack^b

^aDepartamento de Matemáticas, Universidad de Guanajuato, Callejón Jalisco s/n Col. Valenciana, Guanajuato, Guanajuato, C.P. 36023, MÉXICO.
ej.amezquitamorataya@ugto.mx

^bDepartamento de Astronomía, Universidad de Guanajuato, Callejón Jalisco s/n Col. Valenciana, Guanajuato, Guanajuato, C.P. 36023, MÉXICO.

Resumen

Se analizó una serie de 30 espectros detallados de la supernova tipo Ia SN 2014J. Los espectros se obtuvieron del telescopio TIGRE en los filtros rojo y azul durante los primeros meses del año 2014. Se buscaron mínimos locales en cada espectro siendo el objetivo principal asociarlos a algún elemento esperado de supernovas Ia. Se reforzó la evidencia de presencia de silicio y calcio en el filtro rojo, así como de hierro, magnesio y azufre en el filtro azul. También se aporta evidencia que sugiere la presencia de oxígeno en el espectro rojo, así como de silicio en el espectro azul. Finalmente, no se halla evidencia de la presencia de magnesio ni sodio en el canal rojo.

Palabras Clave: *espectrografía; programación; supernova; SN2014J*

Introducción

El 21 de enero del año 2014 se reportó la observación de la supernova 2014J en una etapa temprana [1]. Esta se encontró en la galaxia M82 con corrimiento al rojo bajo. Se determinó que ésta es del tipo Ia, lo cual generó mucho interés entre la comunidad astronómica, pues en pocas ocasiones se consigue observar este tipo de supernovas en fases previas a su máximo. La supernova SN 2014J fue la supernova más luminosa del año, alcanzando su máximo visual alrededor del 4 de febrero y extinguiéndose hasta agosto de ese mismo año. Esto permitió su observación detallada en el canal visual desde Guanajuato empleando el telescopio TIGRE.

Como mencionan Jack et. al. en [2], en el canal azul se observaron mínimos locales correspondientes a las líneas de absorción de Mg II, Fe II y S II mientras que en el canal rojo se observaron las líneas correspondientes a Si II y Ca II. Estas observaciones, así como la ausencia de hidrógeno en las líneas de absorción, concuerdan con la composición química general de una supernova tipo Ia como describe Leibundgut en [4].

El objetivo de este proyecto fue desarrollar algoritmos computacionales que ayuden a detectar otros mínimos locales en los espectros y a partir de ello deducir propiedades más particulares de la supernova SN 2014J. El código fue realizado en C/C++ y las gráficas fueron hechas con Gnuplot. Este algoritmo automatiza todos los pasos detallados en la sección Metodología para el análisis de espectros. Se espera que este código ayude al procesamiento más rápido de espectros de otras supernovas y demás objetos. También se espera observar áreas a mejorar dentro del código al afrontar bases de datos más extensas.

Metodología

Se contó con espectros observados durante los primeros dos meses del año 2014 por el Telescopio TIGRE ubicado en el municipio de Guanajuato, Guanajuato. Se midió en dos canales, azul y rojo, correspondientes a los rangos de longitud de onda (3796Å, 5740Å) y (5841Å, 8830Å) con resolución $\Delta\lambda$ de 0.12Å y 0.18Å respectivamente. En otras palabras, se contó con 15,657 y 16,192 longitudes de ondas distintas en los canales azul y rojo.

Las observaciones se realizaron entre el 23 de enero y el 1 de marzo del año 2014 con un tiempo de exposición de tres horas diarias para ambos filtros. No se consideraron los días en los cuales las condiciones climáticas no permitieron una observación clara, pues representarían ruido únicamente. Esto significa que se observó a la supernova durante 38 días, considerando buenos únicamente 30 de éstos. En lo que resta del artículo, *Día 0* representa el 22 de enero, *Día 1* el 23 de enero y así sucesivamente hasta *Día 38*, 01 de marzo.

Los datos fueron reducidos de manera automática y la mayor parte del ruido fue eliminada previo al análisis algorítmico. Cabe aclarar que el ruido no fue eliminado por completo. El canal azul en longitudes cortas en los días posteriores al máximo todavía es ruidoso, así como todavía hay una presencia ligera de líneas telúricas en el canal rojo. Para ello se desarrollaron varios pasos. Se trabajó por separado ambos canales.

Los mínimos locales fueron calculados a partir de un parámetro de finura N dado por el usuario. Para cada longitud λ_0 en el rango del filtro, se observó su valor de flujo relativo $F(\lambda_0)$ en el espectro. Luego se comprobó si se cumplía $F(\lambda) > F(\lambda_0)$ para las demás longitudes $\lambda \in [\lambda_0 - N\Delta\lambda, \lambda_0 + N\Delta\lambda]$. Por ejemplo, para el canal azul, esto equivale a verificar que λ_0 sea un mínimo local de la función de flujo relativo en su vecindad centrada de radio $0.12N\text{Å}$. A lo largo del estudio se trabajó con $N = 200$.

Para cada día d se generó un archivo conteniendo las longitudes de onda de los mínimos locales $\lambda_1, \dots, \lambda_{nd}$. Con ellos, se realizó la gráfica con los puntos $(d, \lambda_1), \dots, (d, \lambda_{nd})$ para todos los días d entre enero 23 y marzo 01, el rango de fechas que abarcan las observaciones. Esta gráfica permite observar la persistencia de ciertos mínimos locales. Si un mínimo local representa una línea de absorción, los días posteriores deberán mostrar un mínimo local con una longitud de onda similar. De hecho, se espera que las longitudes de onda aumenten a lo largo de los días, pues ello puede indicar que el material eyectado pierde velocidad gradualmente. Por otro lado, si los mínimos no presentan un orden particular, éstos pueden descartarse como ruido. Esta gráfica permite distinguir fácilmente cuales líneas vale la pena considerar más a fondo.

Hay que tener en cuenta que al momento de la explosión, el objeto eyecta material a muy altas velocidades en todas las direcciones. Dichas velocidades iniciales se hallan entre 10,000 y 24,000 km/s, lo cual depende de la composición química del material y de la capa de la supernova en la cual se halle. En particular, el material que se observa desde la Tierra es aquel que viaja en dirección hacia la Tierra misma. Por el efecto Doppler, las longitudes de onda observadas serán más cortas comparadas con las longitudes de onda obtenidas por laboratorios. En otras palabras, se debe considerar la corrección de longitud de onda por corrimiento al azul. Para ello se emplea la fórmula derivada del corrimiento al rojo,

$$z = \left(\frac{\lambda_0 - \lambda_r}{\lambda_r} \right), \quad (1)$$

donde λ_0, λ_r corresponden a las longitudes de onda observadas por el telescopio y las reportadas en condición de reposo respectivamente. Ello se combina con la fórmula de velocidad relativa $v_r = cz$,

siendo c la velocidad de la luz. Nótese que la fórmula anterior es válida únicamente cuando la velocidad de la materia eyectada es considerablemente menor que c .

Se procedió a considerar las longitudes de onda correspondientes a los elementos esperados de una supernova tipo Ia acorde a la lista en [3]. A cada longitud de onda de dicha lista se le aplicó varias correcciones de corrimiento al azul, suponiendo que el material viajaba a velocidades entre 6,000 km/s y 24,000 km/s. Se compararon las longitudes corregidas con las correspondientes a líneas persistentes. Esto dio varios candidatos de elementos que podían corresponder con ciertos mínimos reportados.

Para reforzar la evidencia, se procedió a ver el cambio de velocidad del material a lo largo de los días. Supongamos que las observaciones en días consecutivos d_1, \dots, d_n de mínimos locales $\lambda_1, \dots, \lambda_n$ conforman un mínimo persistente en la gráfica anterior. Si estas observaciones correspondieran a la longitud $\hat{\lambda}$ reportada en laboratorio, se grafican los puntos $(d_1, v_{r1}), \dots, (d_n, v_{rn})$, donde empleando (1), $v_{ri} = cz_i = c(\lambda_i - \hat{\lambda})/\hat{\lambda}$ para $1 \leq i \leq n$. Si la suposición de $\hat{\lambda}$ es correcta, se espera observar un decaimiento rápido de la velocidad relativa del material a lo largo de los días.

Resultados

Todas las gráficas presentes en esta sección fueron generadas (con excepción de las anotaciones en la imagen 1b) automáticamente a partir de los datos de cada espectro observado empleando el código.

Canal azul

A partir de las observaciones del canal azul, se graficaron los espectros y se localizaron los mínimos como indica la imagen 1a.

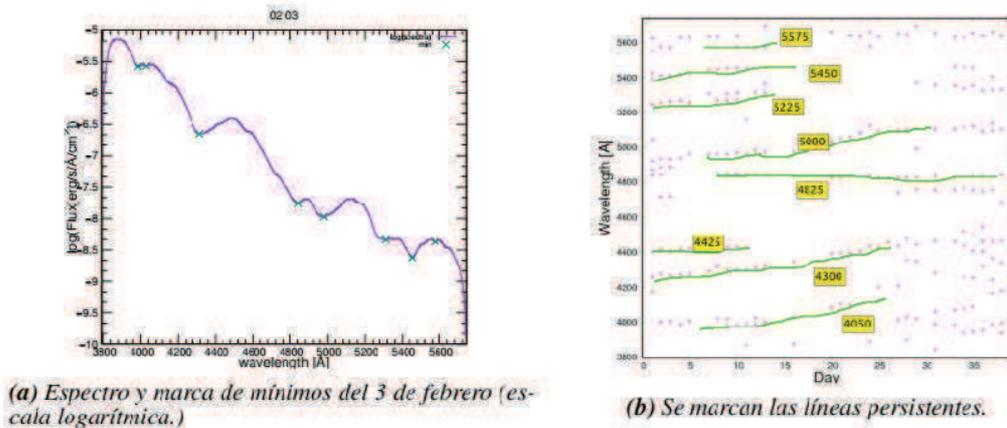


Figura 1: Se enfocó en analizar los mínimos persistentes en el canal azul.

Acorde a [3], los elementos esperados en estas longitudes de onda son Si II, S II, Fe II, Mg II y Na I. Se analizó si alguno de estos elementos corresponde a una de las líneas de la imagen 1b. Se observa una línea persistente al inicio aproximadamente de $\lambda 4300$ que puede corresponder a Mg II ($\lambda 4481$). Al observar la línea de cambio de velocidad se aprecia un decaimiento rápido de 15,000km/s a 9,000km/s en 10 días. Este rango es congruente con el rango usual del magnesio. A pesar de que entra en el rango considerado y también presenta un decaimiento similar, se descarta la posibilidad de que la línea corresponda a Fe II ($\lambda 4583$), pues ello implica una velocidad inicial de 21,000km/s. Dicha velocidad es demasiado alta para una línea de hierro. Las observaciones del

lado derecho en las imágenes 2a y 2b pueden ser ignoradas, pues representan ruido únicamente ya que la observación de líneas cortas es pobre en las etapas avanzadas de la supernova.

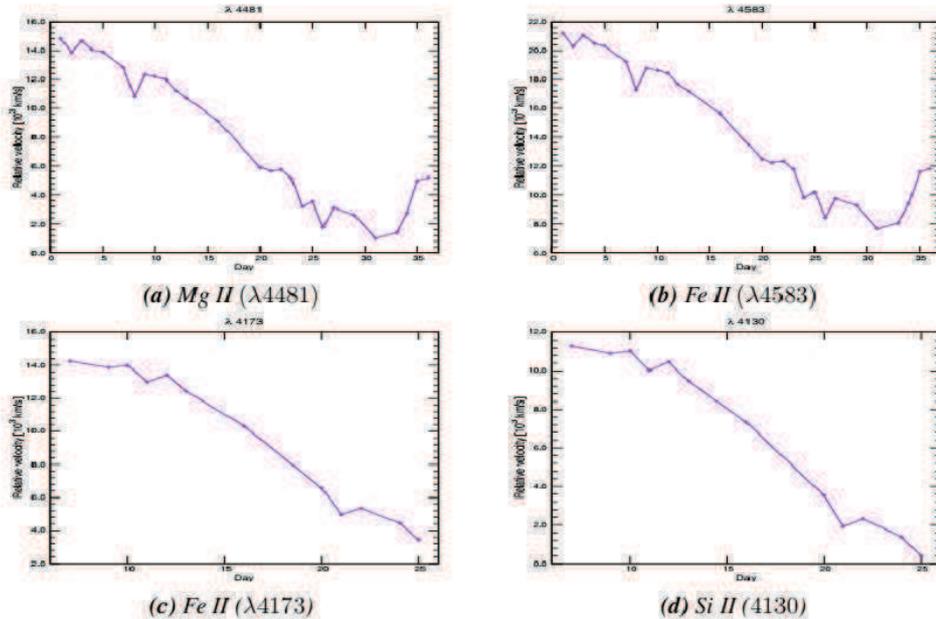


Figura 2: Decaimiento de velocidad de $\lambda 4300$ y de $\lambda 4000$.

De manera similar se puede argumentar que la línea observada $\lambda 4000$ puede corresponder a Si II ($\lambda 4130$) con velocidades iniciales de 11,000km/s. Con menor probabilidad, pues su velocidad registrada sería demasiado alta para el elemento, esta línea puede tratarse de Fe II ($\lambda 4173$) con velocidades iniciales de 14,000km/s después de que la supernova alcanzó su máximo. Observe la imagen 2.

También estas gráficas aportan evidencia de que la línea observada $\lambda 4420$ corresponde a Fe II ($\lambda 4583$) con velocidad máxima de 12,000km/s cuyo decaimiento se muestra en la gráfica 3a. La observada en $\lambda 5525$ es posiblemente S II ($\lambda 5453$) con velocidad máxima 11,000km/s, como muestra 3b. Se tiene evidencia fuerte de que las líneas observadas alrededor de $\lambda 4960$ y $\lambda 5100$ conforman en realidad una única línea, correspondiente a Fe II ($\lambda 5196$) con velocidad inicial de 14,000km/s, 3c. Finalmente, se sospecha que la recta $\lambda 5450$ puede ser S II ($\lambda 5640$) con velocidad de 12,000km/s, 3d.

Las demás líneas observadas en la imagen 1b son parte de una de las líneas ya mencionadas, o bien, ningún elemento esperado presenta decaimiento en su velocidad. No se profundizó en la explicación de aparición de estas líneas.

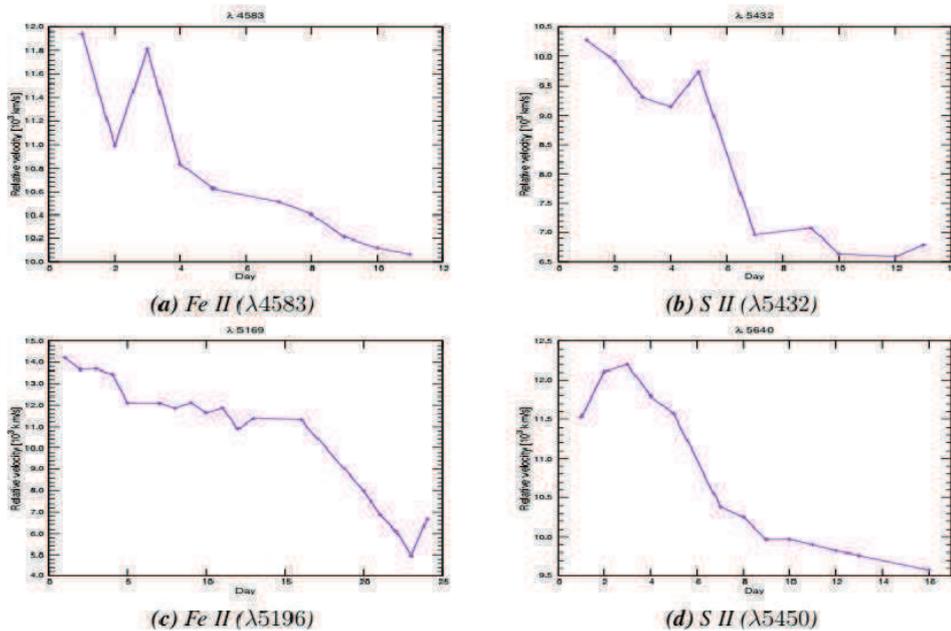


Figura 3: Decaimiento de varias velocidades en canal azul.

Canal rojo

La misma metodología se siguió para las longitudes de onda en el canal rojo. Después de haber hallado los mínimos locales de cada día, se graficaron como en la imagen 1b. Se sabe que los posibles elementos en este rango de longitudes son Si II, Ca II, O I y Mg II, y se supuso que alguno de ellos corresponde a una línea persistente. Resaltan las líneas persistentes bien definidas en $\lambda 6150$ y $\lambda 8100$, las cuales corresponden a las líneas de Si II($\lambda 6355$) y Ca II($\lambda 8500$). El estudio de estas líneas es abordado en [2], por lo que no se consideraron para análisis.

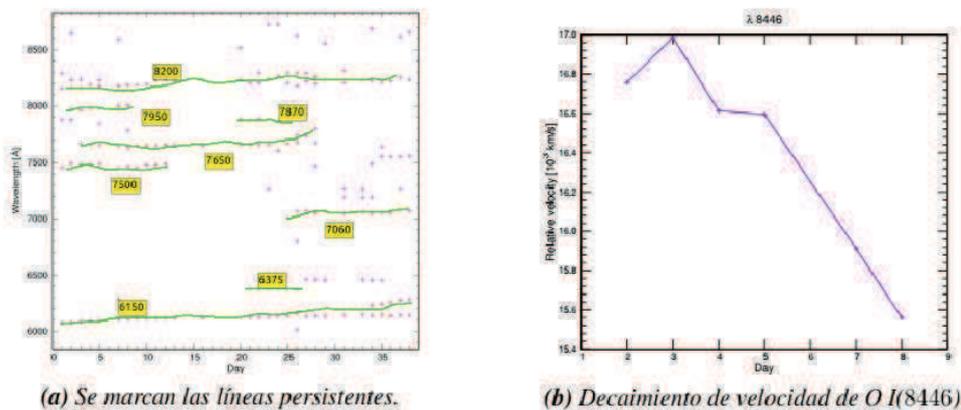


Figura 4: Observación de mínimos persistentes en el canal rojo.

Acorde a la gráfica de decaimiento de velocidad, la línea corta $\lambda 7950$ puede corresponder a O I($\lambda 8446$) con velocidad inicial de $17,000 \text{ km/s}$ con mínimos registrados únicamente durante los primeros días de observación. Esto es coherente con el elemento, lo cual refuerza la hipótesis de correspondencia.

Por otro lado, para el resto de las líneas marcadas en la imagen 4a no se halló correspondencia con ninguno de los elementos conocidos. Ello se concluye a partir de las gráficas de velocidad que no muestran un decaimiento. Es muy probable que, debido a ser el canal rojo, estas líneas observadas correspondan a líneas telúricas que no lograron ser eliminadas del todo en el procesamiento inicial de datos.

Conclusiones

Este trabajo ahonda un poco más en el estudio de la supernova SN2014 J basado en las observaciones realizadas con el telescopio TIGRE. Se confirma la presencia de magnesio, hierro y azufre en los espectros del canal azul como se menciona en [2]. Además, hay evidencia para agregar que hay varias líneas de hierro presentes, así como se presenta silicio. También se descarta la posibilidad de presencia de sodio en la supernova. Por otro lado, en el canal rojo se aporta evidencia de la posible presencia de oxígeno a altas velocidades durante los primeros días de la explosión. Se descarta la posibilidad de presencia de magnesio. Se espera que el código desarrollado facilite el procesamiento y visualización de espectros de otros objetos celestes en el futuro.

Referencias

- [1] Fossey, J. et. al., (2014) “Supernova 2014J in M82 = PSN J09554214+6940260”. *Central Bureau for Astronomical Telegrams* No. 3792.
- [2] Jack, D. et. al., (2015) “Time series of high resolution spectra of SN 2014J observed with the TIGRE telescope”. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society* 451, 4104-4113.
- [3] Kasen, D. “Strong Lines in type Ia supernova near maximum light”. http://supernova.lbl.gov/~dnkasen/tutorial/SNIa_max_linelist.txt. Visto el 30 de junio de 2017.
- [4] Leibundgut, B. (2000) “Type Ia Supernovae”. *The Astronomy and Astrophysics Review* 10(3), 179-209.

DISEÑO Y SIMULACIÓN DE PROCESOS DE PRODUCCIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES EN CONDICIONES DE ALTA PRESIÓN

Luis Alberto Villegas-Herrera, Fernando Israel Gómez-Castro, Araceli Guadalupe Romero-Izquierdo, Claudia Gutiérrez-Antonio

^a Departamento de Ingeniería Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, Colonia Noria Alta, Guanajuato, Gto., 36050, MÉXICO. la.villegasherrera@ugto.mx

^b Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Centro Universitario, Cerro de las Campanas s/n, Col. Las Campanas, Santiago de Querétaro, Qro., 76010, MÉXICO

Resumen

Los biocombustibles representan una importante alternativa al uso de combustibles fósiles, debido a su naturaleza renovable y a la alta disponibilidad de materia prima para su producción. Sin embargo, para hacer competitivos a los combustibles renovables, es necesario producirlos en un esquema de biorrefinería; esto con el fin de aprovechar al máximo los productos y sub-productos generados. Este tipo de esquemas permiten, a su vez, llevar a cabo la integración energética y másica entre los procesos. En el caso de la integración energética, es deseable que los procesos a integrar operen bajo condiciones similares de temperatura; lo anterior se cumple con los procesos de producción de biodiesel en condiciones supercríticas y el proceso de hidrotatamiento para la producción de bioturbosina. En el primer caso se emplea biomasa con contenido de triglicéridos y ácidos grasos, los cuales reaccionan con etanol supercrítico. En el segundo caso, se trata el mismo tipo de materia prima con hidrógeno, empleando catalizadores apropiados para su conversión en hidrocarburos. En este trabajo se llevará a cabo el diseño y simulación de los procesos de producción de biodiesel y bioturbosina, realizando el análisis de sensibilidad en los equipos de proceso; esto con el objetivo de obtener la mayor conversión posible a biocombustibles con el menor consumo energético.

Palabras clave: *Biocombustibles, integración energética, alta presión.*

Introducción

Los problemas derivados de los gases de efecto invernadero y una oferta cada vez más limitada de combustibles fósiles han estado impulsando la investigación en la búsqueda de fuentes alternativas de energía [1]. Los biocombustibles se perfilan como fuentes de energía alternativa a corto y largo plazo debido a la compatibilidad y funcionalidad similar a los combustibles basados en petróleo [2]. El biodiesel es uno de los combustibles futuros más prometedores, y puede plantear una seria competencia al diésel o a la gasolina en un futuro no muy lejano, de entre las múltiples alternativas para producir biodiesel el proceso de producción con alcoholes a condiciones supercríticas es de especial interés debido a las ventajas que presenta frente a otras rutas, como: altas velocidades de reacción, altos rendimientos, no requiere catalizador, ausencia de reacciones indeseables al tratar materia prima con altas composiciones de ácidos grasos libres, y etapas de purificación más sencillas[3].

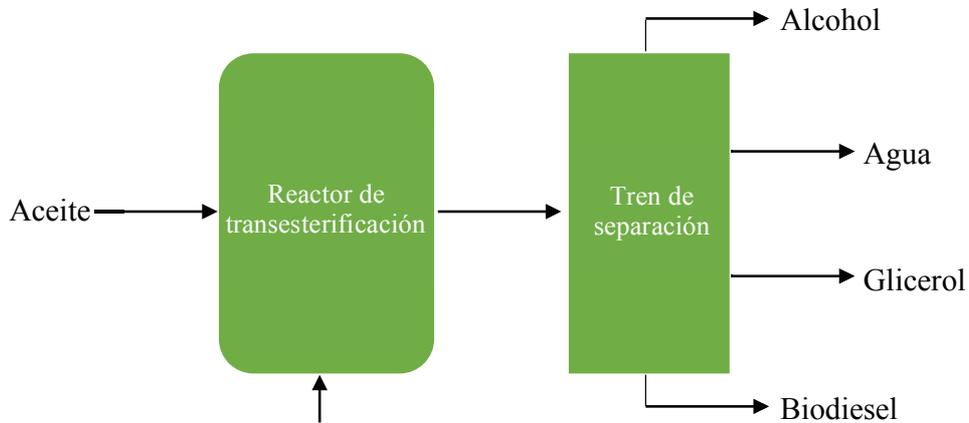


Figura 1. Esquema simplificado de la producción de biodiesel.

La bioturbosina por su parte es muy similar al combustible de aviación en cuanto a densidad energética y propiedades físicas e incluso fue aprobada para vuelos comerciales por la ASTM en julio de 2011[4]. La ruta más prometedora para la producción de bioturbosina fue la propuesta en 2009, un proceso desarrollado por UOP Honeywell que hace reaccionar aceites vegetales con Hidrogeno para producir hidrocarburos, el proceso implica dos reactores consecutivos y finalmente una separación y purificación de los productos[4], [5].

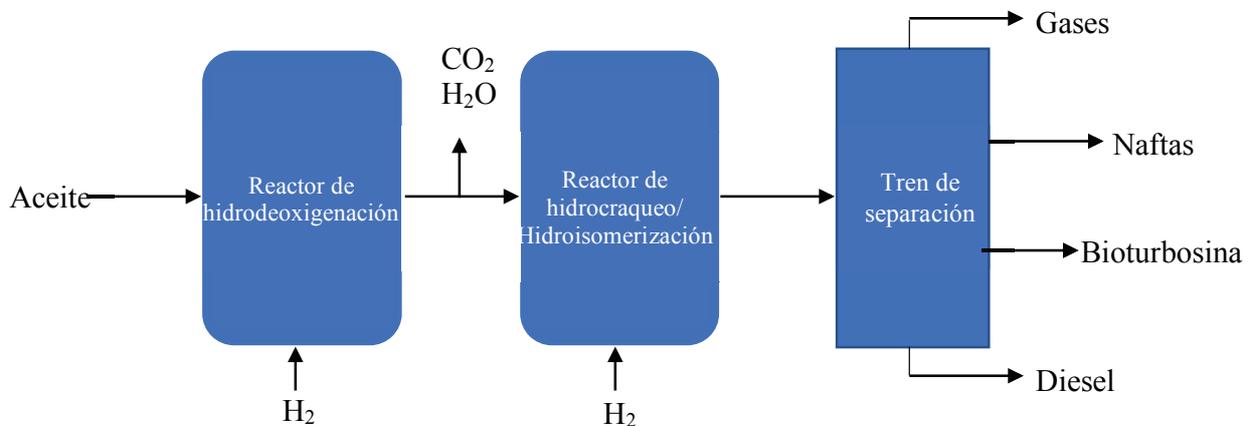


Figura 2. Esquema simplificado de la producción de bioturbosina.

El proceso antes mencionado se lleva a cabo a altas temperaturas y presiones, al igual que el proceso para producción de biodiesel con alcoholes a condiciones supercríticas es por ello que ambos procesos implican un alto consumo energético. Numerosas propuestas se han hecho para reducir el consumo energético, para la producción de bioturbosina por ejemplo se ha hecho uso de destilación térmicamente acoplada [6] e integración energética [7], en el caso del biodiesel se ha investigado la integración energética [8] y la destilación reactiva[9] por mencionar algunos. Debido a que la principal área de oportunidad para los procesos antes mencionados es la reducción del consumo energético y como los dos operan a temperaturas similares, en este trabajo se hará la integración másica y energética entre ambos procesos.

Metodología

La simulación del proceso se llevó a cabo usando el software comercial Aspen Plus V8.6. Para el proceso de biodiesel se usó como reactivo etanol supercrítico ya que, puede ser obtenido de biomasa a través de procesos como gasificación de biomasa y conversión lignocelulósica para completar el ciclo de sostenibilidad[10]. Se procesará 1,284 kg/hr de aceite vegetal, representado como una mezcla de trioleína (70 mol%) y ácido oleico (30 mol%). Esta composición de ácidos grasos es un promedio de los valores reportados para diferentes aceites vegetales[11]. Como modelo termodinámico fue usado UNIFAC-LL ya que se ha reportado que representa de forma correcta procesos similares[12].

Con el fin de modelar la cinética de las reacciones, se utilizan las siguientes ecuaciones:

$$-R_{TRIO} = kIC_{TRIO} \quad \text{Ecuación 1}$$

$$-R_{TRIO} = kIC_{OLAC} \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde C_{TRIO} es la concentración de trioleína y C_{OLAC} es la concentración de ácido oleico. Los datos cinéticos se han ajustado empleando datos experimentales [13].

Para el proceso para la producción de bioturbosina se procesará el aceite necesario para cubrir la demanda de bioturbosina del aeropuerto bajo [14] suponiendo una conversión del 18.6% de rendimiento a bioturbosina [7] por lo tanto se procesará 1,710 kg/hr de aceite de jatropha curcas, representado como una mezcla de trioleína (42% peso), trilinoleína (44% peso), tripalmitina (11% peso) y triesterarina (3% peso). El modelo termodinámico usado fue PENG-ROBINSON en todos los equipos excepto en las columnas de destilación donde se hizo uso de BK10, los datos cinéticos así como otros detalles de las condiciones de operación fueron tomados de el modelado reportado en bibliografía [15]. Cabe mencionar que se tomó en cuenta que los productos tuvieran unas propiedades apropiadas para ser usados comercialmente [15][16].

La integración de calor se llevó a cabo mediante la metodología del punto de pliegue [17][18] esto para todas las corrientes que requerían enfriamiento y calentamiento tomando como delta de temperatura de diseño 20°F, aproximadamente 11.11 °C. Posteriormente se utilizó el calor retirado de los reactores para producir vapor de calentamiento para satisfacer el requerimiento de energía de los rehervidores de las columnas de destilación.

Resultados

Se simularon los procesos de producción de biodiesel (**Figura 3**) y producción de bioturbosina (**Figura**) incorporando todas las operaciones unitarias y equipos para convertir la materia prima en los productos de interés. A partir de estas simulaciones base se determinaron las corrientes frías y calientes (**Tabla 1**) y la carga térmica de los reactores y los rehervidores de las columnas de destilación (**Tabla 2**) para proceder con la integración energética y diseñar una red de intercambio de calor que permita reducir los requerimientos totales de energía

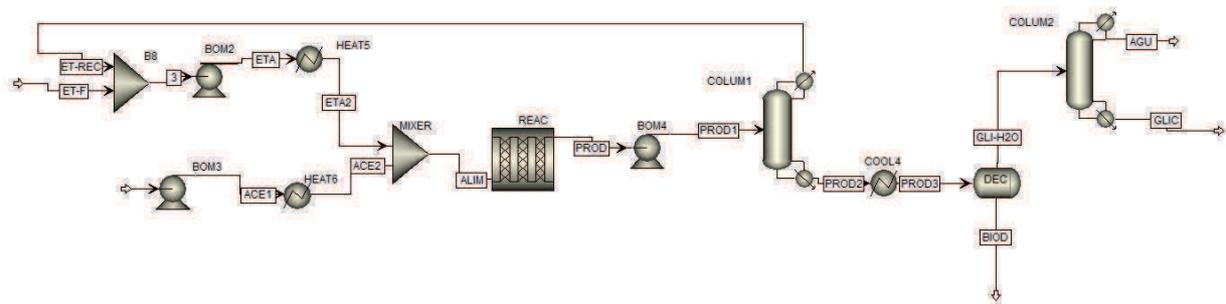


Figura 3. Simulación de la producción de biodiesel sin integración energética.

Tabla 1. Corrientes que requieren calentamiento y enfriamiento.

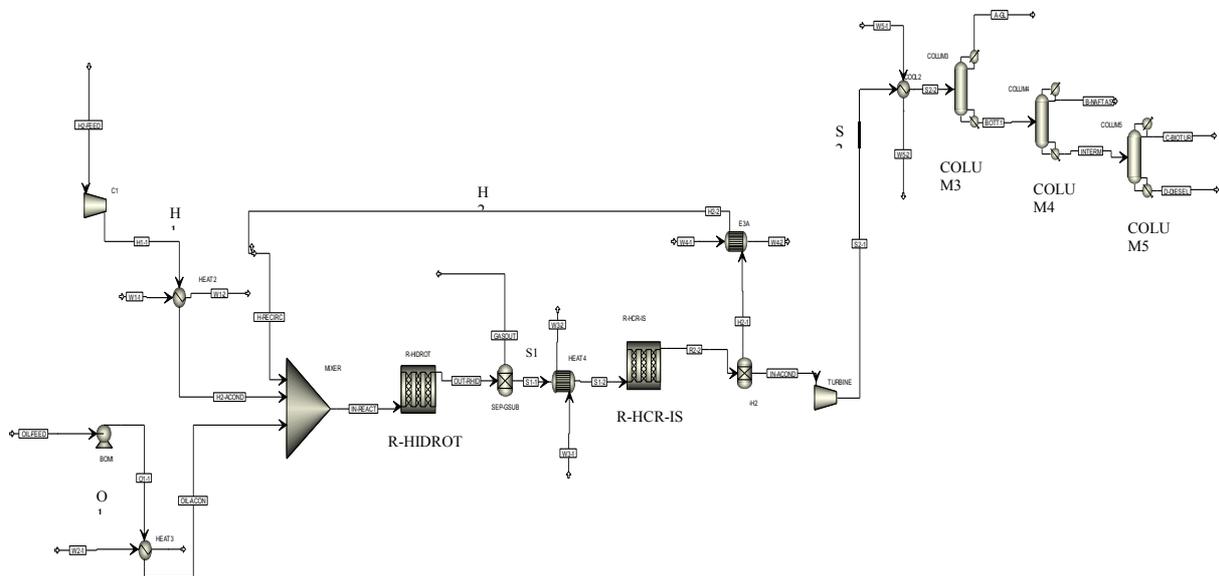


Figura 4. Simulación de la producción de bioturbosina sin integración energética.

Proceso	Corriente	T in(°C)	T out(°C)	Carga térmica (KW)
Turbosina	H1	-192.858	320	79.892
Turbosina	O1	79.952	320	252.303
Turbosina	S1	342.022	425.562	223.160
Biodiesel	ETA	98.596	330	935.398
Biodiesel	ACE	67.411	330	206.165
Turbosina	H2	480	320	124.301
Turbosina	S2	409.009	27.22	492.202
Biodiesel	PROD	175.690	25	108.856

Tabla 2. Calor a ser retirado de reactores y calor requerido en los rehervidores de columnas de destilación.

Proceso	Corriente	T(°C)	Carga térmica (KW)
Turbosina	R-HIDROT	320	787.451
Biodiesel	REAC	330	34.304
Biodiesel	reb COLUM1	175.688	12.201
Biodiesel	reb COLUM2	314.210	31.156
Turbosina	reb COLUM3	86.958	67.156
Turbosina	reb COLUM4	297.876	188.063
Turbosina	reb COLUM5	375.247	75.057

Tabla 3. Datos sobre el punto de pliegue.

	Valor
Temperatura punto de pliegue	109.71(°C)
Enfriamiento requerido mínimo ideal	78.04743(KW)
Calentamiento requerido mínimo ideal	1049.611(KW)

A partir de los datos del análisis del punto de pliegue se procedió a diseñar la red de intercambio de calor (Tabla 4), y se calcularon los ahorros totales de energía (Tabla 5).

Tabla 4. Corrientes y equipos involucrados en la integración de calor.

Intercambiador	Corriente fría	Corriente caliente	Carga térmica (KW)
E1A	ETA	PROD2	42.124
E2B	ACE1	PROD2-2	15.424
E2A	ETA-2	S2-1	281.645
E4A	O1-3	S2-2	64.772
E3B	H1-1	S2-4	46.327
E3A	ETA-3	H2-1	124.301

Tabla 5. Energía requerida en el proceso sin integración y con integración, y porcentaje de ahorro.

	Calentamiento	Enfriamiento	Otros equipos	Total
Proceso sin integración energética (KW)	2070.553	2007.560	54.504	4132.617
Proceso con integración energética (KW)	1193.789	1432.127	65.468	2691.385
% de ahorro	42.34%	28.66%	-20.12%	34.87%

Análisis de resultados

En la nueva red integrada de intercambio de calor se obtienen ahorros energéticos tanto en servicios de enfriamiento como de calentamiento siendo en este último donde se obtiene un mayor ahorro, 42% vs 28%, lo cual es favorable desde el punto de vista económico debido a que los servicios de calentamiento generalmente son más costosos que los de enfriamiento. Por otro lado, se puede ver que en lugar de ahorro aun un 20% más de consumo de energía en otros equipos, esto es debido a la inclusión de bombas

que se utilizan para aumentar llevar agua de servicio a la presión necesaria para ser usada para retirar y reciclar el calor liberado por los reactores. Teniendo un ahorro total de energía de 34%.

Conclusiones

Se hizo la integración energética entre los procesos de producción de bioturbosina y biodiesel a alta presión y temperatura por medio del análisis del punto de pliegue y aprovechando el calor de los reactores para producir vapor de servicio para el proceso se encontró que es posible la integración energética entre los procesos antes mencionados con buenos resultados, en este caso se logró un ahorro del 34.87% de energía total tomando en cuenta también la energía de otros equipos como bombas, compresores y turbinas. El estudio solo toma en cuenta el aspecto de la energía por lo que el próximo paso es evaluar los aspectos económicos y ambientales.

Bibliografía

- [1] M. Höök and X. Tang, "Depletion of fossil fuels and anthropogenic climate change - A review," *Energy Policy*, vol. 52, pp. 797–809, 2013.
- [2] R. C. Brown, *Thermochemical processing of biomass: conversion into fuels, chemicals and power*. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, 2011.
- [3] O. Farobie and Y. Matsumura, "State of the art of biodiesel production under supercritical conditions," *Progress in Energy and Combustion Science*, vol. 63. Pergamon, pp. 173–203, 01-Nov-2017.
- [4] U. H. Honeywell Green Jet Fuel™, "Green Jet Fuel," 2017. [Online]. Available: <https://www.uop.com/processing-solutions/renewables/green-jet-fuel/>.
- [5] T. A. B. Michael J. McCall, Joseph A. Kocal, Alakananda Bhattacharyya, Tom N. Kalnes, "Production of aviation fuel from renewable feedstocks," 2009.
- [6] C. Gutiérrez-Antonio, F. I. Gómez-Castro, S. Hernández, and A. Briones-Ramírez, "Intensification of a hydrotreating process to produce biojet fuel using thermally coupled distillation," *Chem. Eng. Process. Process Intensif.*, vol. 88, pp. 29–36, 2015.
- [7] C. Gutiérrez-Antonio, A. G. Romero-Izquierdo, F. I. Gómez-Castro, S. Hernández, and A. Briones-Ramírez, "Simultaneous energy integration and intensification of the hydrotreating process to produce biojet fuel from jatropha curcas," *Chem. Eng. Process. Process Intensif.*, vol. 110, pp. 134–145, 2016.
- [8] F. J. Gutiérrez Ortiz and P. de Santa-Ana, "Techno-economic assessment of an energy self-sufficient process to produce biodiesel under supercritical conditions," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 128, pp. 349–358, Oct. 2017.
- [9] F. I. Gomez-Castro, V. Rico-Ramirez, J. G. Segovia-Hernandez, S. Hernandez-Castro, and M. M. El-Halwagi, "Simulation study on biodiesel production by reactive distillation with methanol at high pressure and temperature: Impact on costs and pollutant emissions," *Comput. Chem. Eng.*, vol. 52, pp. 204–215, 2013.
- [10] V. Rathore, B. L. Newalkar, and R. P. Badoni, "Processing of vegetable oil for biofuel production through conventional and non-conventional routes," *Energy Sustain. Dev.*, vol. 31, pp. 24–49, Apr. 2016.
- [11] J. W. King, S. L. Taylor, J. M. Snyder, and R. L. Holliday, "Total fatty acid analysis of vegetable oil soapstocks by supercritical fluid extraction/reaction," *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 75, no. 10, pp. 1291–1295, Oct. 1998.
- [12] F. I. Gómez-Castro, J. G. Segovia-Hernández, S. Hernández, V. Rico-Ramírez, C. Gutiérrez-Antonio, A. Briones-Ramírez, I. Cano-Rodríguez, and Z. Gamiño-Arroyo, "Analysis of alternative non-catalytic processes for the production of biodiesel fuel," *Clean Technol. Environ. Policy*, vol. 17, no. 7, pp. 2041–2054, 2015.
- [13] G. M. M.N. Varma, P.A. Deshpande, "Synthesis of biodiesel in supercritical alcohols and supercritical carbon dioxide," *Fuel*, vol. 89, no. 7, pp. 1641–1646, 2010.
- [14] R. Ruíz Sanabria, "Modelado de la Demanda de Turbosina en México.," UNAM, 2015.
- [15] A. G. R. Izquierdo, "INTEGRACIÓN ENERGÉTICA DE UN PROCESO PARA LA PRODUCCIÓN DE COMBUSTIBLE RENOVABLE PARA AVIACIÓN," UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO.
- [16] G. Vicente, M. Martínez, and J. Aracil, "Integrated biodiesel production: A comparison of different homogeneous catalysts systems," *Bioresour. Technol.*, vol. 92, no. 3, pp. 297–305, May 2004.
- [17] L. and Flower, "Problem table algorithm," 1978.
- [18] Jeffrey S. Umbach, "Online Pinch Analysis Tool," 2010. [Online]. Available: <http://www.uic-che.org/pinch/index.php>. [Accessed: 06-Oct-2017].

V PREPARACIÓN DE COPOLÍMEROS TIPO ACRILATO VÍA CRP POR EL PROCESO DE POLIMERIZACIÓN EN SUSPENSIÓN

Ilse Ivonne Magaña Rivera^a, David Contreras López^a

^a Departamento de Ingeniería Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato. Noria Alta s/n, Noria Alta, Gto. Código Postal 36050, México. Ilma.rivera58@gmail.com.

Resumen.

Los polímeros nos rodean en las actividades más cotidianas de nuestra vida, tan así es su magnitud que su producción a nivel industrial tiene mucha demanda. Su importancia da como resultado a diversas investigaciones para lograr mejorar sus condiciones de operación del proceso de obtención, así como la búsqueda de mejorar sus propiedades mecánicas para nuevas e innovadoras aplicaciones. El presente trabajo de investigación se centra en el estudio de las condiciones de operación en la polimerización de (co)polímeros de estireno con acetato de vinilo por medio del proceso en suspensión, agregando diversas sales inorgánicas al medio de reacción y variando el porcentaje en peso de estas. Se realizó una comparación entre la Polimerización por Radicales Libres Convencionales (FRP) y la Polimerización Radicálica Controlada-Viviente (CRP), obteniendo como resultado que al agregar 1.0 g de NaCl por ambas vías, da un buen porcentaje de conversión, homogeneidad del tamaño de la partícula e incremento en los pesos moleculares con respecto a los procesos ausentes de la sal inorgánica. El motivo de realizar este proyecto nace de la necesidad de que, a nivel industrial, el proceso de suspensión se da por un método de prueba y error con pocas bases científicas, teniendo como consecuencia un incremento en tiempo y dinero invertido para la elaboración de este tipo de materiales.

Palabras clave: *Copolímero, Polimerización en Suspensión, Polimerización por Radicales Libres Convencional (FRP), Polimerización Radicálica Controlada-Viviente (CRP).*

Introducción.

Recientemente, la atención se ha enfocado en el desarrollo de las técnicas de CRP debido a la amplia tolerancia a grupos funcionales comparada con los métodos de FRP [1]. Se ha hecho un gran esfuerzo en el entendimiento, desarrollo y aplicación de los métodos de CRP entre los que destacan la polimerización mediada por nitróxidos (NMP), polimerización por adición fragmentación y transferencia de cadena reversible (RAFT) y la polimerización por transferencia atómica (ATRP) [2]. Estos métodos se basan en una rápida evolución de un equilibrio dinámico entre especies activas (vivientes) y durmientes (desactivadas). Entre estas técnicas, RAFT es especialmente versátil porque se puede utilizar con diferentes clases de monómeros y con una variada gama de condiciones de operaciones (utilizando un amplio rango de temperaturas) [3]. Existen distintos procesos de polimerización para la obtención de polímeros y pueden clasificarse como homogéneos; donde la característica principal es la presencia de una sola fase en el medio de reacción (*masa y solución*). Por otro lado, los procesos heterogéneos, donde se pueden encontrar dos o más fases distintas en el medio de reacción (*suspensión y emulsión*). Los procesos que se

llevaron a cabo en esta investigación fueron suspensión y solución, en la polimerización en solución el monómero y el iniciador se encuentran disueltos mediante el uso de un disolvente, mientras que el proceso de suspensión está constituido por un medio de reacción con una fase continua y una dispersa. La fase continua (generalmente agua) representa la mayor parte del medio de reacción, donde se encuentra solubilizado el agente dispersante y aunado con la agitación, permiten que la coalescencia no se presente en la fase dispersa; además de controlar el tamaño de partícula final del polímero. Por otro lado, la fase dispersa está conformada por el monómero y el iniciador, este último tiene que ser soluble en el monómero para que pueda efectuarse la polimerización. Las condiciones de operación que deben cuidarse son la temperatura de reacción y la velocidad de agitación [4]. Una particularidad de este proceso, es que el producto se obtiene en forma de perlas sólidas, por lo que su proceso de purificación es sumamente sencillo.

Metodología.

El estireno y acetato de vinilo usados, fueron adquiridos en Sigma-Aldrich. A estos monómeros se les realizó un lavado previo para retirar el inhibidor, mediante una solución de hidróxido de sodio 1 M y posteriormente con agua destilada.

Síntesis de homopolímero de estireno por FRP: La síntesis se llevó a cabo en un vaso de precipitado de 250 mL, utilizando 90 mL de agua destilada en la cual se disolvió PVA (Mw de 89000-90000 Da con un porcentaje de hidrolizado de 99+%, Sigma-Aldrich) a una concentración de 2.5 g/L; para la fase dispersa, se agregaron 20 mL de estireno y 0.1615 g de BPO, utilizando una agitación de 300 rpm a una temperatura de $85\pm 2^\circ\text{C}$ durante 2 horas (culminación de la reacción). Se agregaron en el medio de reacción sales como: Cloruro de Sodio (NaCl), Cloruro Férrico, Carbonato y Bicarbonato de Sodio para distintas reacciones en porciones de 0.5, 1 y 2 g. Para la purificación y separación del polímero, se filtró a vacío y se lavó en el instante con etanol de 96 % de pureza, se dejó secar a temperatura ambiente hasta obtener un peso constante.

Síntesis de homopolímero de estireno por CRP: La síntesis se llevó a cabo de forma similar a la *Síntesis de homopolímero de estireno por FRP*, a excepción que en la fase dispersa se agregó 0.0275 g de CTA (Ethyl 2-(phenylcarbonothioylthio)-propionate al 97% de pureza, Sigma Aldrich) y dándole un tiempo de 3 a 5 horas.

Síntesis de Copolímero de estireno: Se realizó por el proceso de polimerización por solución, utilizando 100 mL de Tolueno como disolvente, 4 g del poliestireno sintetizado previamente, 0.6 g de acetato de vinilo (15% w/w con respecto al poliestireno) con un tiempo de reacción de 3 horas. Al finalizar la reacción se usó como agente precipitante 50 mL de alcohol metílico. Para después dejar secar a una temperatura de 60°C .

Técnica de Gravimetría (para obtener porcentaje de conversión): En este procedimiento, se toma una muestra de aproximadamente 1 g de la suspensión del vaso de precipitado. Esta muestra se

coloca en una cápsula de aluminio y se pesa inmediatamente. A fin de garantizar que la reacción se detiene instantáneamente, justo después de pesar la muestra, se añaden a la cápsula 1 g de tolueno que contiene 0,05 g de inhibidor de p-benzoquinona, que es soluble solo en la fase orgánica. Dado que el poliestireno es muy soluble en tolueno, las partículas de poliestireno se hinchan rápidamente y se disuelven en él. De esta manera, el inhibidor contenido en el tolueno es capaz de reaccionar inmediatamente con los radicales restantes, garantizando que la reacción se interrumpe. Después de la adición de tolueno con inhibidor, la muestra se seca en un horno hasta alcanzar un peso constante. Al final, se pesa la masa seca y se determina la conversión del polímero por diferencia de pesos. Esta técnica gravimétrica se empleó en este trabajo para obtener la evolución de conversión durante las reacciones de polimerización en suspensión.

Técnica de Viscosimetría capilar (obtención de peso molecular en masa):

La determinación de pesos moleculares se realizó por una técnica de viscosimetría por medio del viscosímetro de Ostwald, el cual consta de un tubo capilar inclinado con dos bulbos superiores en serie aguas arriba (bulbos A y B) y un bulbo aguas abajo (bulbo C), como se muestra en la **Figura 1**.

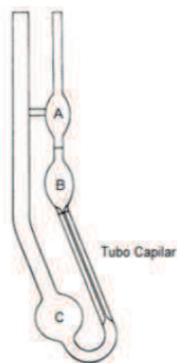


Figura 1. Viscosímetro de Ostwald.

Se realizaron soluciones del homopolímero (o copolímero dado el caso) de diferentes concentraciones, las cuales fueron las siguientes 0.01, 0.005 y 0.001 g/ml, estas soluciones se prepararon utilizando tolueno como disolvente. Para cada disolución se aplicó la siguiente metodología, primeramente se tomó una alícuota de 7 mL de la solución a analizar se colocó por el extremo más grande donde se encuentra el bulbo C como se muestra en la gura, después de esto se realiza vacío con ayuda de una propipeta por la segunda boca del viscosímetro hasta llenar el bulbo A y se retira el vacío ejercido y se mide el tiempo que tarda en pasar la solución de la marca superior hasta la marca inferior del bulbo B, este procedimiento se realiza por triplicado para cada una de las soluciones. De igual manera se tomó el tiempo que tarda en escurrir el disolvente puro que para nuestro caso se utilizó tolueno (como referencia), una vez teniendo estos tiempos se determinó la viscosidad específica (η_{sp}) que se define como el cociente de la resta del tiempo que tarda en escurrir la muestra (t) menos el tiempo del disolvente puro (t_0) entre el tiempo del disolvente puro, una vez obtenida la viscosidad relativa (η_r) se realiza el cociente de η_r sobre la concentración de la dilución respectivamente obteniendo así la viscosidad reducida. Una vez obtenidos estos datos mediante la ecuación de Mark-Houwink podemos determinar el peso molecular de viscosidad del polímero para esto tenemos la siguiente ecuación:

$$[\eta] = kM_v^\alpha \tag{1}$$

Donde η es la viscosidad intrínseca de la muestra, esta se obtiene al graficar la viscosidad reducida vs la concentración de las diferentes muestras analizadas, una vez obtenido este gráfico se abstraer

del valor η que es la ordenada al origen y se sustituyen las constantes k y α , las cuales tendrán un valor específico de acuerdo al sistema polímero-solvente, así como la temperatura a la que se trabaja. Los valores de esas constantes que usamos para este trabajo son los mostrados en la **Tabla 1**. El resultado obtenido es el peso molecular de viscosidad (M_v) el cual al ser multiplicado por 1.2 nos da el peso molecular en masa (M_w) ya que, M_v usualmente está dentro del 20% de M_w .

Tabla 1. Valores de k y α , para sistemas polímero-solvente k [=]cc/g.

Sistema	k	α
Poliestireno/Tolueno	0.0134	0.71
Copolímero PS-PVAc/Tolueno	0.02759	0.683

Resultados.

Por medio de gravimetría, se obtuvo el porcentaje de conversión y el peso molecular en masa por medio de viscosimetría capilar y la ecuación de Mark Houwink. Como podemos observar en la **Figura 2**, el carbonato y bicarbonato de sodio dan una aceptable conversión, pero el peso molecular del polímero es muy bajo, sucede lo mismo con el cloruro férrico, aunque con una conversión relativamente alta.

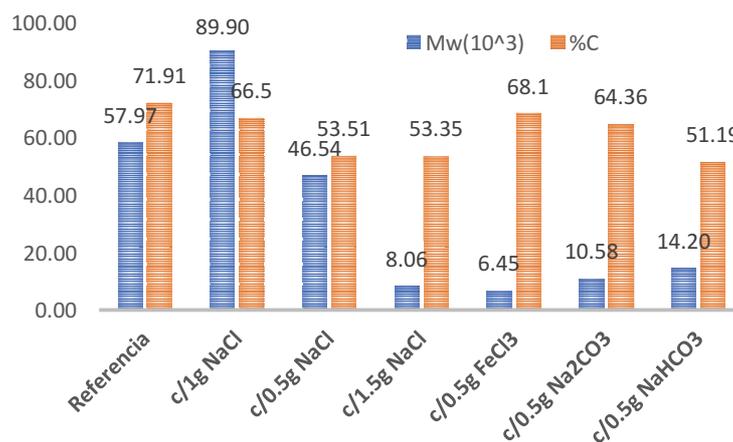


Figura 2. Gráfica del porcentaje de Conversión (%C) y Peso Molecular promedio en peso (M_w) de la homopolimerización del estireno vía FRP.

Al finalizar la reacción de estas sales, las perlas colapsan y pierden su forma, esto debido quizás al medio ácido generado (en el caso de los carbonatos) o a la fuerza del anión (en el caso del cloruro férrico). El cloruro de sodio resultó tener una buena conversión en comparación con la referencia y el valor del peso molecular de polímero es mayor. En relación con esa misma sal, pero en distintas cantidades, se puede notar como a menor porción de sal no causa mucho efecto en su peso molecular y en mayor proporción el peso molecular disminuye de forma crítica, todo en comparación a la referencia. Cabe denotar que la calidad de la perla, es decir, su forma es muy definida y la distribución del tamaño de esta es muy homogénea. La homopolimerización de estireno por RAFT en condiciones normales resultó con valores bajos de conversión y peso molecular debido a que el CTA hacen más lenta la reacción y con dos horas de reacción no fue

suficiente; por lo tanto, se aumentó a 5 horas de reacción donde se notó el aumento de ambos parámetros. Por medio de los resultados arrojados en las pruebas de homopolimerización vía FRP y observando los buenos resultados que dio el agregar 1 g de NaCl se probó en RAFT, dado que las perlas no conservaban su forma. Sorprendentemente, el resultado fue la obtención de perlas sólidas con un peso molecular poco más grande en un tiempo de reacción promedio a las anteriores como se puede observar en la **Figura 3**. Los polímeros obtenidos tuvieron una coloración ligeramente rosada por el CTA utilizado (los CTA's son agentes coloridos que van desde un amarillo pálido a un rojizo).

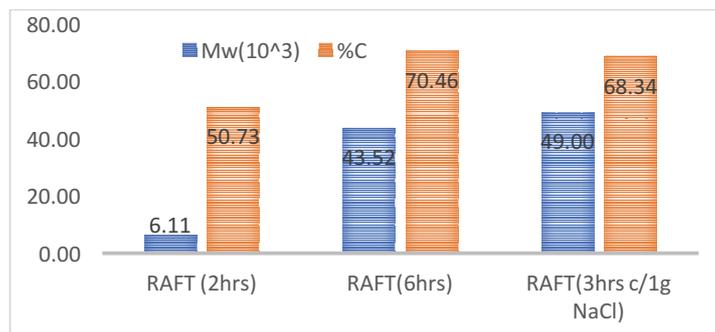


Figura 3. Gráfica de Porcentaje de Conversión (%C) y Peso Molecular promedio en peso (M_w) de la homopolimerización del estireno vía CRP por el tipo RAFT.

Para la copolimerización se utilizó una fracción del último poliestireno obtenido vía RAFT para comprobar el comportamiento “viviente” del polímero para generar un copolímero en bloque con el acetato de etilo. Se procedió por el proceso en solución y no en suspensión, ya que necesita forzosamente diluir las perlas de poliestireno obtenido para que pueda reaccionar y estando en estado sólido es inerte.

La copolimerización dio una conversión de 50.23% y la muestra obtenida se le realizó un análisis de viscosimetría para determinar su peso molecular en masa, dando como resultado el valor de 66,460.21 g/mol. Comparando el dato anterior con el peso molecular del poliestireno utilizado que tiene un valor de 49,000 g/mol notando un aumento, ya que el poliestireno en presencia del acetato de etilo pasó de polímero “durmiente” a polímero “viviente” al agregar más monómero al medio y tener las condiciones de reacción precisas, por lo tanto, la cadena creció.

También se realizó la homopolimerización de estireno vía CRP, por el tipo de polimerización mediada por nitróxidos (NMP), utilizando el BPO como iniciador en un reactor tipo batch de 2.5 L, usando el 4-hidroxi-TEMPO como el nitróxido mediador que tiene como característica el activarse a una temperatura de 120°C. Se llevó a las condiciones de 150 rpm por medio de propelas en arreglo paralelo, y llevando la temperatura de reacción de 85°C a 120°C debido al nitróxido utilizado. En ninguno de los intentos se obtuvo la reacción de polimerización deseada, ya que la temperatura de reacción es alta, y estando en ese rango el agua y el estireno presente en la fase continua y en la fase dispersa, respectivamente tienden a evaporarse. Cabe resaltar que debido a que estos componentes de la reacción estaban en fase gas no se llevó a cabo la reacción de homopolimerización, y que el reactor con el que se contó no tenía integrado un condensador que

podiera ayudar a intervenir en este cambio de fase. Por lo tanto, es importante denotar que la bondad del método RAFT es su amplio rango de temperaturas para realizar la reacción a diferencia del NMP.

Conclusiones.

Podemos concluir que el peso molecular aumenta y se ve favorecido cuando se agrega cloruro de sodio al medio de reacción, inclusive mejora la apariencia de la perla y la distribución del tamaño de esta se vuelve muy homogénea esto se vio en las polimerizaciones vía FRP y se reafirmó en los resultados de las polimerizaciones vía CRP. Podemos asumir que esto es debido a la interacción de los iones de cloro que se encuentran disociados en la fase continua con la cadena principal del agente dispersante, recalando que se obtuvieron resultados satisfactorios sólo con NaCl. Es importante estudiar con más a detalle las condiciones óptimas para obtener mejores porcentajes de conversión para la copolimerización, así como probar si también al añadir la sal (NaCl) se obtiene un peso molecular mayor al realizar el proceso en suspensión.

Bibliografía.

- [1] Schué F. (2002) “*Controlled/Living Radical Polymerization. Progress in ATRP, NMP, and RAFT*”, J. Am. Chem. Soc., 51, (4), 484-490.
- [2] Grande Carlos David y Zuluaga Fabio (2010) “*Polimerización por Adición, Fragmentación y Transferencia Reversible (RAFT): Una Revisión del Mecanismo y el Alcance de la Técnica*”, Rev. Iberoam. Polim., 11, (6), 339-359.
- [3] Miguel A. D. Goncalves, et al. Gonçalves, M. A. D., Pinto, V. D., Dias, R. C. S., Hernández-Ortiz, J. C. and Costa (2013), “*Dynamics of Network Formation in Aqueous Suspension RAFT Styrene/Divinylbenzene Copolymerization*”, Macromol. Symp., 333, (1), 273-285.
- [4] Santos J. C., et al. (2008) “*Comparison of Techniques for The Determination of Conversion During Suspension Polymerization Reactions*”, Braz. J. Chem. Eng., 25, (2), 399-407.

CARACTERIZACIÓN DEL ENQUISTAMIENTO AMIBIANO EN ENTAMOEBA INVADENS

Jesús Antonio Amezola Rivera ^a, Julio César Villagómez Castro ^b

^a Departamento de Biología, Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas, Norial Alta s/n, Guanajuato, Guanajuato, C.P 36050, México. ja.amezolarivera@ugto.mx.

^b Departamento de Biología, Universidad de Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas, Norial Alta s/n, Guanajuato, Guanajuato, C.P 36050, México. castroj@ugto.mx.

Resumen

El cultivo de trofozoítos de *Entamoeba invadens* ha sido reportado en medio TYI-S-33 y LG adicionados de suero bovino al 16 % v/v; mientras que la diferenciación *in vitro* se ha descrito en los medios LG y LG-47 suplementados con suero bovino al 5 % v/v. Trofozoítos cultivados en ambos medios (TYI-S-33 y LG, con 16% v/v suero bovino) son capaces de diferenciarse en los dos medios de enquistamiento, LG y LG-47. Sin embargo, no se ha comparado la eficiencia del enquistamiento de éste parásito en medio LG-47, cuando los trofozoítos se crecen primeramente en los medios TYI-S-33 o LG adicionado de suero bovino al 16%. En el presente trabajo se comparó el enquistamiento de la cepa IP-1 de *E. invadens* en medio LG-47, obtenido cuando los trofozoítos se cultivaron previamente en los dos medios de crecimiento (TYI-S-33 y LG adicionados con suero bovino al 16 % v/v). Nuestros resultados sugieren que no hay una diferencia significativa en la diferenciación amibiana con respecto al medio de cultivo utilizado en el preinóculo de los trofozoítos, sin embargo, se observó que el proceso de desenquistamiento se ve favorecido en los quistes obtenidos a partir de preinóculos amibianos en medio TYI-S-33.

Palabras clave: Diferenciación amibiana; *E. invadens*, preinóculo, LG-47.

Introducción

Entamoeba invadens es un parásito de reptiles ampliamente utilizado para los estudios de diferenciación amibiana, ya que, en el parásito de humanos, *Entamoeba histolytica*, aún no se ha logrado reproducir *in vitro* el enquistamiento [1]. Para inducir la diferenciación amibiana, se han utilizado medios basados en la disminución de glucosa [2] y la disminución de glucosa y de la presión osmótica [3]. Un aspecto relevante es el cultivo previo de los trofozoítos en medio LG adicionado de suero bovino al 16 % v/v [4] para favorecer el enquistamiento, en lugar del precultivo en medio TYI-S-33 [5]. En este trabajo se comparó el efecto del precultivo de la cepa IP-1 de *E. invadens* en medios TYI-S-33 y LG adicionado de suero bovino al 16% v/v, cuando el enquistamiento amibiano se indujo en medio LG-47.

Metodología

Como material biológico se utilizó la cepa IP-1 de *Entamoeba invadens*.

Medios de cultivo (TYI-S-33, LG y LG-47)

- a) **Medio TYI-S-33.** Fue preparado de acuerdo con el protocolo previamente descrito por Diamond et al., 1978 [6] y adicionado de suero bovino descomplementado (SB, 16% v/v) y 100 μ L de una mezcla de antibióticos (Penicilina G/Gentamicina).
- b) **Medio LG.** El medio LG fue preparado utilizando las mismas condiciones que para el medio TYI-S-33, sin la adición de glucosa como lo describieron VazquezdeLara-Cisneros et al., 1984 [2] adicionado de SB al 5 % v/v.
- c) **Medio LG-47.** El medio LG-47 se preparó por dilución al 47% del medio LG, es decir; por cada 100 mL de medio se utilizaron 47 mL de medio LG, 5 mL de SB y 48 mL de agua estéril de acuerdo a lo descrito por Turner et al., 2007 [3].

Crecimiento amibiano

Tubos con tapón de rosca de 13x100 mm, conteniendo cada uno de ellos 6.1 mL de medio TYI-S-33 completo, se inocularon con 10,000-20,000 trofozoítos y se incubaron a 28 °C en posición inclinada en un incubador (Binder). El crecimiento celular fue observado cada 24 horas utilizando el microscopio invertido (Nikon TMS) hasta que se obtuvo la confluencia celular evaluada por la formación de una monocapa amibiana en la pared del tubo. Estos tubos se utilizaron para el mantenimiento y expansión de los cultivos para el desarrollo experimental.

La curva de crecimiento se realizó por duplicado inoculando 20,000 células/mL en ambos medios de cultivo: TYI-S-33 y LG, adicionados con 16% de SB. Cada 24 horas se contaron los trofozoítos recuperados en 2 tubos de cada medio de cultivo. Para ello se colocaron los tubos en un baño de agua-hielo durante 10 minutos, posteriormente se centrifugaron a 280 x g durante 5 minutos a 4 °C y se decantó el medio sobrenadante. La pastilla celular se lavó por centrifugación con medio TYI-S-33 sin SB y se resuspendió en 1 mL del mismo medio. Los trofozoítos recuperados se contaron en una cámara de Neubauer utilizando un microscopio Zeiss Axiostar.

Enquistamiento y desenquistamiento amibianos

Se resuspendieron los trofozoítos cultivados en medio completo TYI-S-33 o LG, se lavaron por centrifugación y se resuspendieron en medio LG-47, adicionado con antibióticos, a una densidad de 3.5×10^5 trofozoítos/mL en viales de 2 mL de capacidad. Se incubaron los viales a 28 °C y cada 24 horas se recuperaron 3 viales de cada condición de cultivo. Se contó el número de células recuperadas utilizando el protocolo descrito anteriormente. Asimismo, se determinó la cantidad de células totales y el número de quistes recuperados.

La viabilidad celular se determinó utilizando el colorante azul tripano al 0.2 % (p/v) utilizando el criterio de exclusión del colorante por las células vivas. El % de enquistamiento se calculó con base al número de quistes obtenidos en función del total de células recuperadas. La eficiencia del enquistamiento se evaluó considerando el total de quistes recuperados con respecto al total de células inoculadas. La resistencia al detergente, criterio de formación de quistes, se evaluó en alícuotas de las células recuperadas de los ensayos de enquistamiento, las cuales se lavaron con PBS y se expusieron durante 10 minutos a la acción del detergente Tritón X-100 al 0.2 % (v/v) a temperatura ambiente y posteriormente fueron lavadas 3x con agua y resuspendidas

en un volumen conocido de PBS para contar el número de células remanentes. Se utilizó como criterio de maduración de los quistes, la tinción de la pared celular con el colorante fluorescente Calcofluor W2R (0.2 % p/v) utilizando un microscopio Nikon HFX II y observando la integridad de ésta. El número de núcleos se determinó en las células teñidas con colorante D'Antonie.

Los ensayos de desenquistamiento se realizaron con los quistes resistentes al detergente, obtenidos después de 24, 48, 72 y 96 horas de incubación en medio LG-47, los cuales fueron lavados y resuspendidos en medio TYI-S-33 completo adicionado de NaHCO_3 (40 mM) y bilis bovina (1 mg/mL) de acuerdo a lo descrito por Mitra *et al.*, 2010 [7].

Todos los experimentos fueron realizados al menos dos veces en ensayos por duplicado.

Resultados y discusión

Para el estudio de la cinética de crecimiento se inocularon 2×10^4 células/mL tanto en medio LG como en TYI-S-33. Cada 24 h, a lo largo de 7 días, se contó el número de trofozoítos recuperados (Figura 1). En ambos medios de cultivo la fase exponencial de crecimiento inició a las 48 horas. Los valores de tiempo de duplicación en fase exponencial de crecimiento fueron de 24.4 y 32.3 h y el número de generaciones recuperadas al final del ensayo fueron de: 6.7 y 6.2 respectivamente para las células cultivadas en TYI-S-33 y LG. El comportamiento observado sugiere que las diferencias en ambos parámetros son debido a la presencia/ausencia de glucosa en el medio.

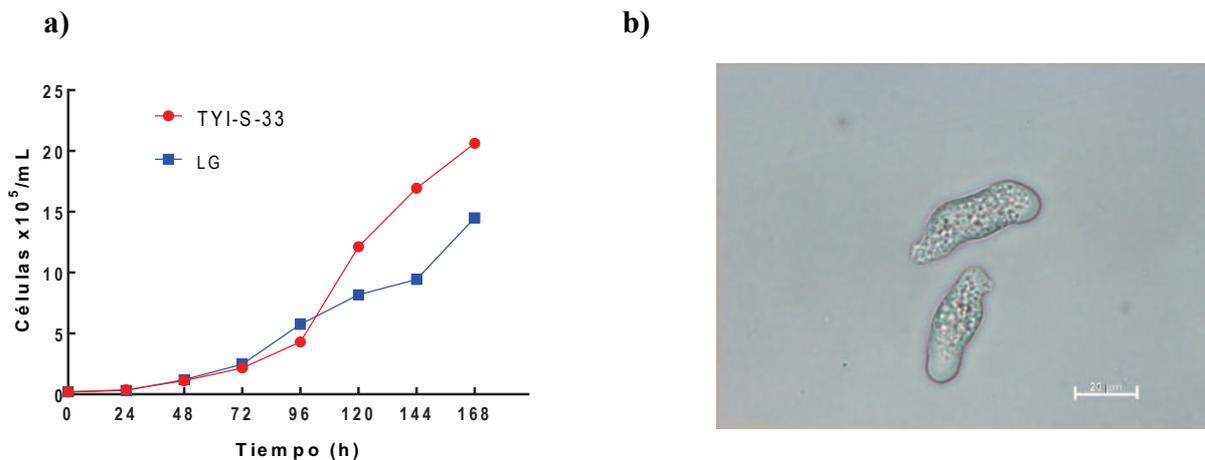


FIGURA 1. Curva de crecimiento de *E. invadens* IP-1 en medios LG y TYI-S-33 y microfotografía de trofozoítos de *E. invadens* IP-1. a) Se inocularon 2×10^4 células/mL en cada medio de cultivo, se incubaron a 28 °C durante los tiempos indicados y al término de éstos se contaron los trofozoítos obtenidos. b) Microfotografía de campo claro de trofozoítos recuperados a las 72 horas de cultivo.

A lo largo de todos los ensayos realizados, la viabilidad amibiana, determinada por el método de exclusión de azul tripano, fue superior al 95 %. Con base en la curva de crecimiento amibiano en ambos medios de cultivo, se eligió el tiempo de 72 h como el tiempo adecuado para realizar el preinóculo para los experimentos de enquistamiento (Figura 2, panel a). Para la evaluación de la diferenciación amibiana se contaron los quistes y trofozoítos recuperados cada 24 h a lo largo de 4 días desde su inóculo en medio LG-47. Si bien se observa, durante las primeras

48 h, una ligera disminución del porcentaje de enquistamiento en las células precultivadas en medio LG con respecto a las precultivadas en medio TYI-S-33, a las 72 horas el % de enquistamiento fue muy similar (89 y 86 %, respectivamente). Sin embargo, a las 96 horas hay un decremento en el porcentaje de quistes en las células provenientes de medio LG. Este comportamiento se refleja en la eficiencia de enquistamiento (*Figura 2, panel b*) y en la resistencia al detergente (*Figura 2, panel c*).

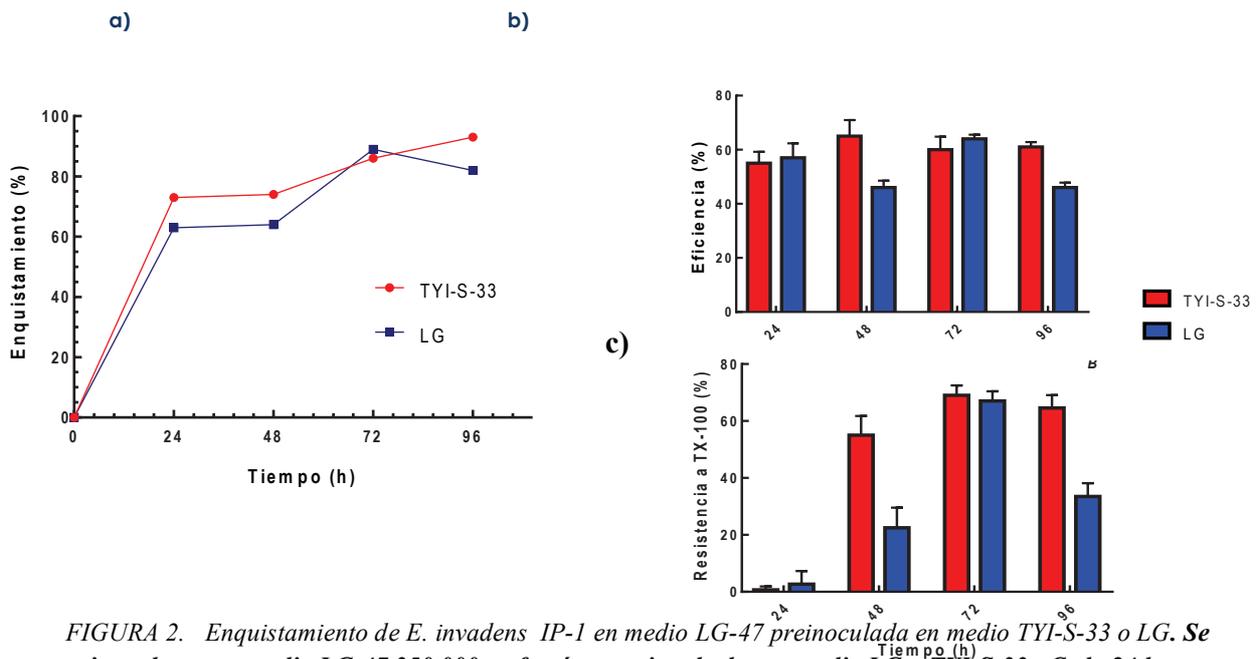


FIGURA 2. Enquistamiento de *E. invadens* IP-1 en medio LG-47 preinoculada en medio TYI-S-33 o LG. Se inocularon en medio LG-47 350,000 trofozoítos preincubados en medio LG o TYI-S-33. Cada 24 h se contaron los trofozoítos y quistes recuperados y se determinó el % de enquistamiento (panel a); la eficiencia del enquistamiento con base en el número inicial de células inoculadas (panel b) y la resistencia de los quistes al detergente Tritón X-100 al 0.2 % v/v (panel c).

El decremento en el número de quistes recuperados a las 96 h corresponde probablemente a un proceso de desenquistamiento de quistes maduros, como fue descrito por García-Zapien, *et al.*, 1995 [8] poniendo en evidencia el que los quistes originados en medio LG tienen la capacidad de desenquistar en el mismo medio.

El proceso de enquistamiento se evaluó con base a la integridad de la pared celular, utilizando la tinción con Calcofluor W2R (*Figura 3, panel a*); y determinando el número de núcleos en los quistes, mediante la tinción con colorante D'Antonie o microscopia de contraste de fases (*Figura 3, panel b*). No se encontraron diferencias en la apariencia de la pared celular de los quistes recuperados en medio LG-47, ya sea que fuesen preinoculados en medio LG o TYI-S-33. Si bien, en ambos casos, también se recuperaron células que no formaron completamente su pared celular, las cuales mostraron un aspecto similar al de células en forma de saco descrito en 1980 por Arroyo-Begovich, *et al.* [9] y las cuales se lisaron al tratarlas con detergente (datos no mostrados). El

índice de maduración de los quistes, evaluado por el número de núcleos presentes en ellos a lo largo del proceso de enquistamiento (*Figura 3, c*) alcanzó un máximo a las 72 h de incubación en medio LG-47 y no cambió significativamente a las 96 h, considerando como quiste maduro aquel que presenta 4 núcleos. Esta maduración se reflejó principalmente entre las 48 y las 72 h, lapso en el cual se observó la desaparición de los quistes con 2 y 3 núcleos y su conversión a quistes tetranucleados (*Figura 3, d*); si bien, se observaron algunos quistes aberrantes con más de 4 núcleos; tal y como había sido descrito por García-Zapien *et al.*, 1995 [8].

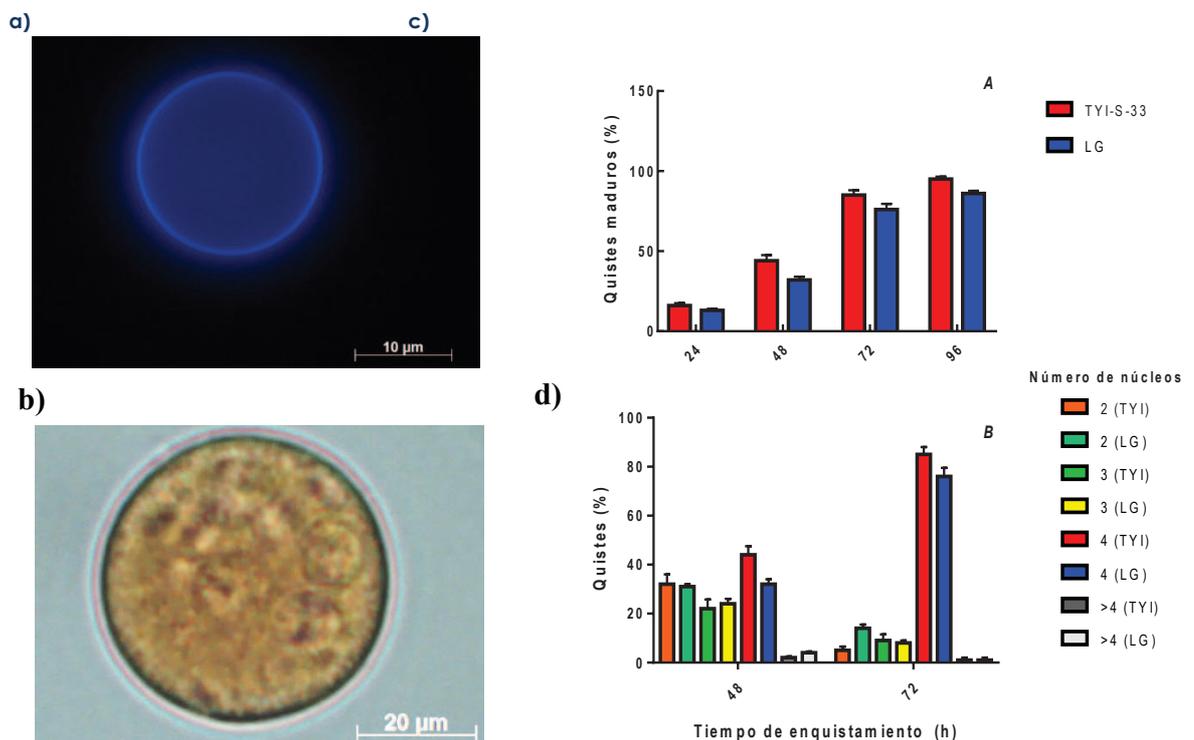


FIGURA 3. Maduración de quistes de *E. invadens* IP-1 inducidos en medio LG-47. Se determinó la maduración de los quistes con base a la formación e integridad de su pared celular observada por tinción con Calcofluor W2R (panel a) y el número de núcleos presentes observado con tinción de D'Antonie (panel b) con base en el tiempo de inducción (panel c) y con respecto al cambio en el número de núcleos (panel d).

El desenquistamiento amibiano ocurrió eficientemente en quistes inducidos en medio LG-47, cuando los trofozoítos fueron cultivados, antes de la inducción del enquistamiento, en medio LG o medio TYI-S-33 adicionados de SB al 16% (Figura 4, a). El desenquistamiento fue observado a partir de las 24 horas de inducción del desenquistamiento en medio TYI-S-33 adicionado de bicarbonato y bilis. Sin embargo, los trofozoítos provenientes del desenquistamiento de las amibas cultivadas en medio LG con SB (16 % v/v) antes de la inducción del enquistamiento, mostraron una menor movilidad con respecto a los provenientes del desenquistamiento amibiano a partir de

células cultivadas en medio TYI-S-33 con SB (16 % v/v), a diferencia de lo descrito por Mitra *et al.*, 2010 [7]; sugiriendo que la inducción del enquistamiento en células cultivada en medio TYI-S-33 favorece la formación de los quistes y los hace más competentes cuando desenquistan.

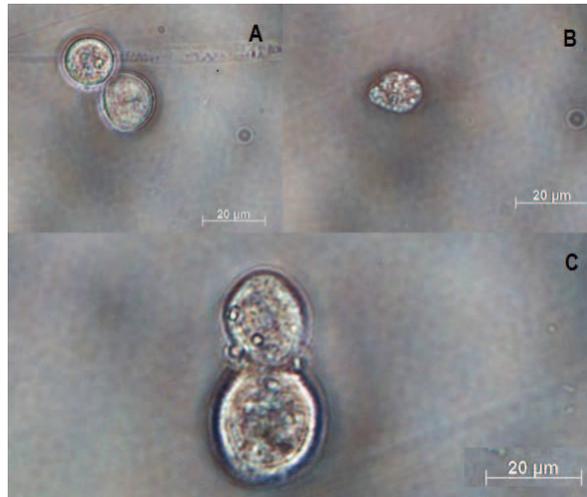


Figura 4. Morfología de E. invadens cepa IP-1 durante el proceso de diferenciación quiste-trofozoito. Las quistes maduros tetranucleados inducidos en medio LG-47 (panel A) desenquistan eficientemente en medio de desenquistamiento dando lugar a la liberación de trofozoitos metaquisticos tetranucleados (Panel B y C) que se dividen posteriormente por fisión.

Conclusiones

Los resultados de este trabajo sugieren que ambos medios de cultivo, LG y TYI-S-33, pueden ser utilizados como medio de preinóculo para la diferenciación de *E. invadens* IP-1 en medio LG-47 y su posterior desenquistamiento. Sin embargo, el preinóculo en medio TYI-S-33 permite una mayor eficiencia en la diferenciación de los quistes inducidos en medio LG-47, determinada por la resistencia al detergente durante el enquistamiento a tiempos tempranos y, por la movilidad y número relativo de trofozoitos recuperados durante el desenquistamiento.

Bibliografía

- [1] López-Romero, E., Villagómez-Castro, JC. (1993). "Encystation in *Entamoeba invadens*". *Parasitol Today*, 6(6), pp.225-227.
- [2] Vázquezdelara-Cisneros, L.G., Arroyo-Begovich, A. (1984). "Induction of Encystation of *Entamoeba invadens* by removal of glucose from the culture medium". *J. Parasit*, 70(5), pp.629-633.
- [3] Turner, N.A., Eichinger, D. (2007). "*Entamoeba invadens*: The requirement for galactose ligands during encystment". *Exp Parasitol*, 115, pp.467-474.
- [4] Sanchez, L., Vincenzo, E., Eichinger, D. (1994). "Identification of a developmentally regulated transcript expressed during encystation of *Entamoeba invadens*". *Mol Biochem Parasitol*. 67, pp.125-135.

- [5] Villagómez-Castro, J.C., López-Romero, E. (1996). "Identification and partial characterization of three chitinase forms in *Entamoeba invadens* with emphasis on their inhibition by allosamidin". *Antonie Van Leeuwenhoek*. 70, pp.41-48.
- [6] Diamond, L.S., Harlow, D.R., Cunnick, C.C. (1978). "A new medium for the axenic cultivation of *Entamoeba histolytica* and other Entamoeba". *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 72(4), pp.431-432.
- [7] Mitra, B.N., Pradel, G., Frevert, U., Eichinger, D. (2010). "Compounds of the upper gastrointestinal tract induce rapid and efficient excystation of *Entamoeba invadens*". *Int J Parasitol*. 40(6), pp.751-760.
- [8] García-Zapien. A.G., Hernández-Gutiérrez, R., Mora-Galindo, J. (1995). "Simultaneous growth and mass encystation of *Entamoeba invadens* under axenic conditions". *Arch Med Res*. 26(3), pp.257-262.
- [9] Arroyo-Begovich, A., Ramírez-Rojas, O. (1980). "Origen de las paredes en forma de saco observadas en cultivos de *Entamoeba invadens* en proceso de enquistamiento". *Arch Invest Méd*. 11(Supl.1), pp.17-23.

SÍNTESIS DE ANTIDIABÉTICOS N-ALQUIL-N-ARILBISGUANIDÍNICOS DERIVADOS DE METFORMINA

Montserrat Ortiz Roa^a, César Rogelio Solorio Alvarado^b

^a División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Domicilio, Guanajuato, Guanajuato, 36000, MÉXICO. m.ortizroa@hotmail.com

^b División de Ciencias Naturales y Exactas, , Universidad de Guanajuato, Domicilio, Guanajuato, Guanajuato, 36000, MÉXICO. csolorio@ugto.mx

Resumen

La diabetes es un grupo de enfermedades metabólicas crónicas. Son preocupantes para el sector salud debido a que el 3% de la población mundial se ve afectada por estas. Para reducir la hiperglucemia causada por esta enfermedad se hace uso de las bisguanidinas, entre ellas la comúnmente utilizada es la metformina. Esto en virtud de su rango de seguridad y capacidad para unirse a otros agentes anti-diabéticos. La arilación con reactivos hipervalentes de yodo ayudará a que la metformina dure más tiempo dentro del cuerpo debido a que se absorberá más lentamente. Haciendo uso de cianoguanidina y aminas primarias se prepararon derivados de la metformina, que posteriormente se arilaron con sales de diarilyodonio. Con esta metodología se obtuvieron derivados de metformina arilados libres de materiales de transición.

Palabras clave: *Diabetes; Bisguanidinas; Arilación; Difenilyodonio; Bis-arilación*

Introducción

La diabetes mellitus es un grupo de enfermedades metabólicas crónicas. Estas son el resultado de defectos en la secreción de insulina, de la acción de la insulina, o ambos [1]. Actualmente afecta al 3% de la población mundial.

Este síndrome es una preocupación importante para la salud humana en el mundo. Se estima que afectará a 300 millones de personas en el año 2025. La mayoría de los pacientes diabéticos son conocidos como no insulino dependiente.

Actualmente las bisguanidinas como las metforminas están disponibles para reducir la hiperglucemia en la diabetes [2].

Antecedentes

Durante más de cincuenta años, el uso de las bisguanidinas ha sido de las más efectivas para reducir la hiperglucemia. Estas disminuyen la producción de glucosa en el hígado y por lo tanto en la sangre.

El fármaco más frecuente de las bisguanidinas es la metformina, prescrito para la diabetes tipo 2. [3]

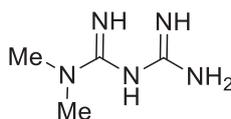


Figura 1. Estructura de la Metformina

Importancia de las Metforminas

La metformina actúa principalmente en el hígado. Reduce la producción de glucosa y aumenta su captación en los tejidos periféricos.

Su eficacia, efectos benéficos cardiovasculares y metabólicos, así como su capacidad para asociarse con agentes antidiabéticos convierten a este fármaco en el primer agente reductor de la glucosa. [4] En virtud de la importancia de este fármaco, en nuestro grupo de investigación exploramos la posibilidad de preparar análogos que puedan resultar más activos. De esta forma pensamos en conectar grupos arilo para evaluar su efecto hipoglucemiante en futuros proyectos.

Al respecto de arilar sustratos orgánicos, podemos mencionar las subunidades de carbonilo α -ariladas. Estas se dan comúnmente en moléculas biológicamente activas.

Las sales de diarylodonio se han usado con éxito en α -arilaciones de varios compuestos carbonilo. Es un ataque nucleofílico de un enolato a una sal de diarylodonio, seguido de una transferencia de un grupo arilo vía migración [1,2] y concomitante eliminación reductora del PhI.

A continuación, se ilustran algunos reactivos hipervalentes de yodo que se han desarrollado en los últimos años (Figura 2).

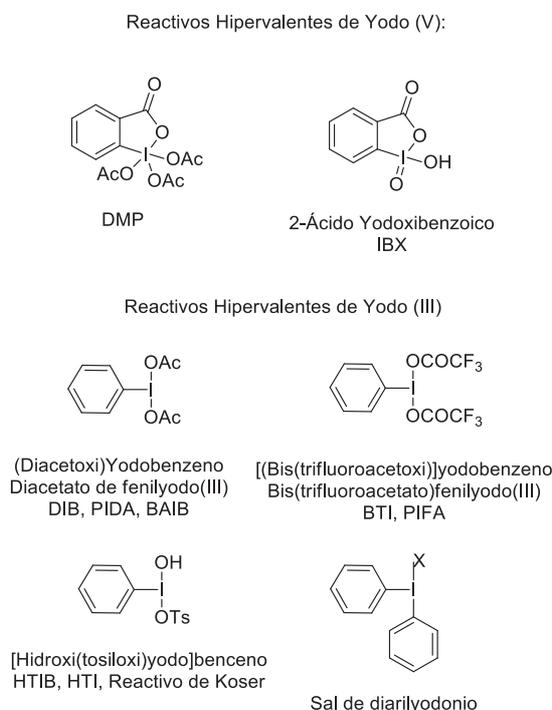


Figura 2. Reactivos hipervalentes de yodo comúnmente utilizados

Ruta Sintética

Las sales de yodonio son compuestos de yodo (III) con dos ligandos de carbono. Estos ligandos pueden ser un vinilo, alquilo o arilo y el otro es usualmente un grupo fenilo.

En reacciones que contienen grupos nucleófilos se transfieren uno de los ligandos de carbono. Esto a través de mecanismos que varían dependiendo del tipo de sal y del nucleófilo. [5]

Es de importancia la arilación de los derivados de metformina para conseguir una mejor retención de éste dentro del cuerpo.

Se seguirá la ruta de síntesis de N-alquil-N-arilbisguanidínicos derivados de metformina. Figura 3

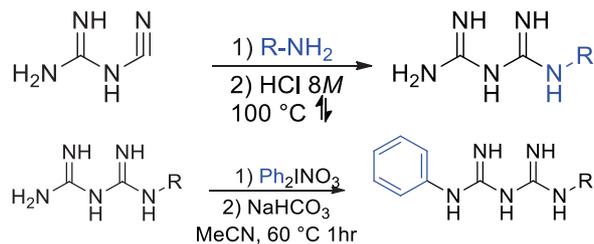


Figura 3. Ruta de Síntesis para *N*-alquil-*N*-arilbiguanidínicos

Metodología

De acuerdo con la siguiente reacción Figura 4, se preparó el derivado de metformina (1). Se hizo uso de una amina primaria y de la Cianoguanidina.

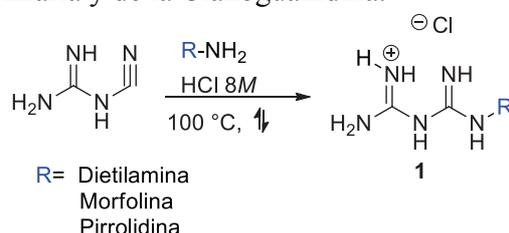


Figura 4. Reacción general de derivados de Metformina

Se colocaron dentro de un matraz bola, 2g de cianoguanidina y 1.1 equiv de dietilamina, lentamente se le agregó 4 ml de HCl.

El matraz se colocó en un baño de aceite a 100 °C en agitación con reflujo, esto durante 24 hrs. Posterior a este tiempo, se obtuvo el siguiente compuesto (2) Figura 5.

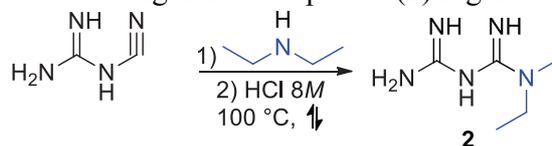


Figura 5. Reacción 1, preparación y obtención de derivados de Metformina haciendo uso de Dietilamina.

Se procedió a dejar en sequedad, esto mediante calor y agitación a 160 °C.

Se agregó isopropanol caliente y se dejó en refrigeración, para purificar por cristalización.

Cuando se obtuvo la cristalización se decantó el isopropanol y se sometió a vacío para eliminar las trazas del disolvente.

Como parte del procedimiento de arilación (3) se realizó la siguiente reacción Figura 6.

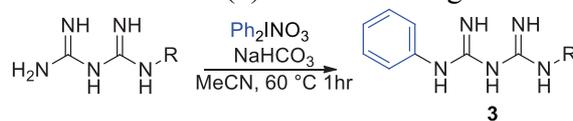


Figura 6. Reacción general de arilación haciendo uso de Difenilyodonio.

Se agregó dentro de un vial 20 mg del derivado de metformina, 1.1 equiv de Ph₂INO₃ y 1 equiv de NaHCO₃.

Como disolvente se hizo uso de acetonitrilo, del cual se le añadió 1 ml dentro del vial.

Se colocó en un baño de aceite a 60°C durante 1 hr. Después de ese tiempo, se obtuvo el siguiente compuesto (4) Figura 7.

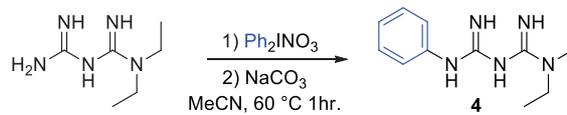


Figura 7. : Reacción de arilación del derivado de Metformina

Como método de purificación se realizó la cristalización del compuesto. Esto se llevó a cabo agregando acetato de etilo caliente y posteriormente se colocó a 4 °C por 12 hrs. Se filtró el acetato de etilo y se colocó a vacío para eliminar trazas de disolvente

Resultados

Se obtuvo diferentes derivados de metformina arilados (8, 9, 10) con rendimientos del 80,78 y 75%. Tras analizar el compuesto sintetizado utilizando diferentes técnicas espectroscópicas, nos dimos cuenta que en lugar de efectuar la monoarilación obtuvimos una bisarilación. Esto se comprobó mediante RMN 13C y 1H. Figura 8, Figura 9 y Figura 10.

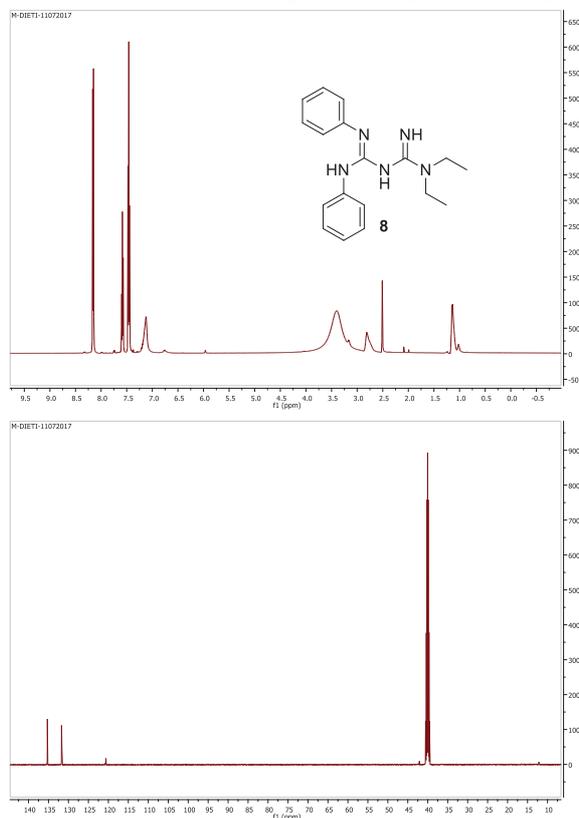


Figura 8. Derivado de Metformina arilado, preparado con dietilamina. Espectros RMN de A) 1H y B) 13C.

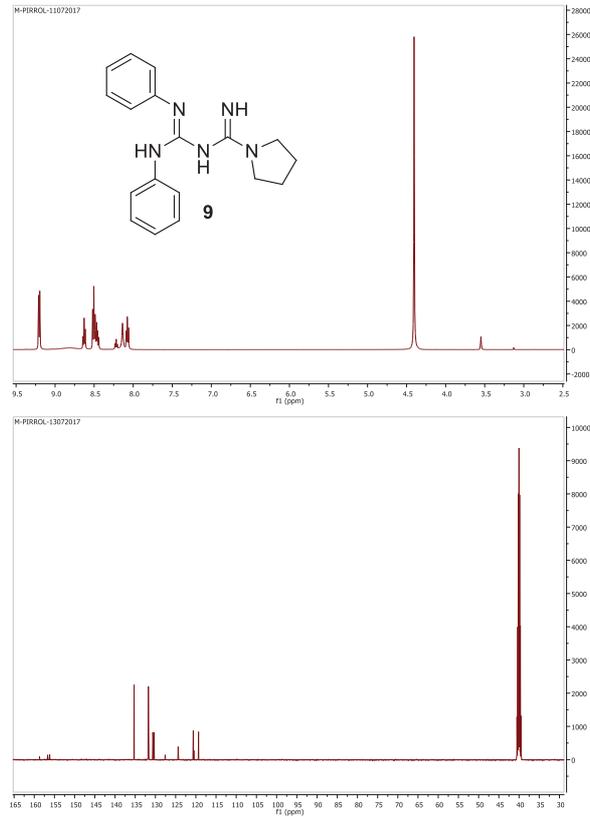


Figura 9. Derivado de Metformina arilado, preparado con pirrolidina. Espectros RMN de C) ¹H y D) ¹³C.

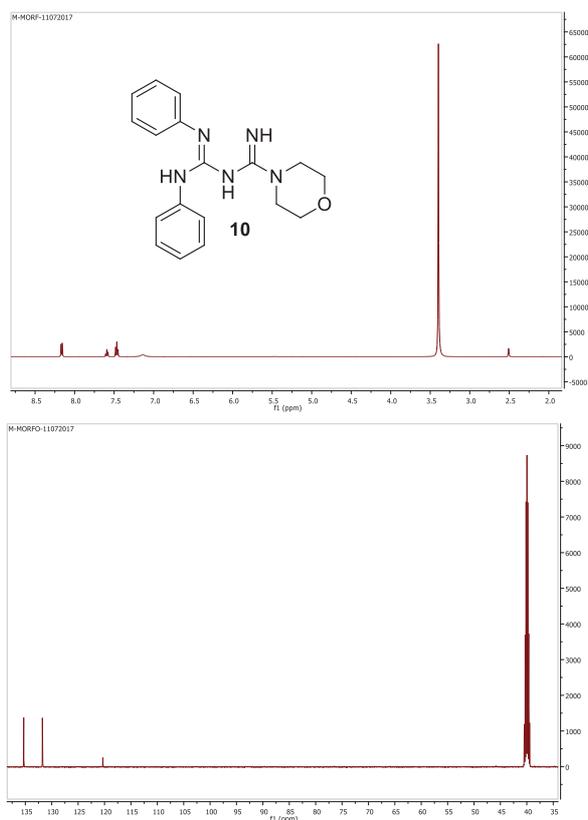


Figura 10. Derivado de Metformina arilado, preparado con morfolina. Espectros RMN de E) ^1H y F) ^{13}C .

Conclusiones

Después de la experimentación hecha concluimos que las bisguanidinas derivadas de Metformina pueden ser ariladas, utilizando una metodología libre de metales de transición, es decir con las sales de bisariliodonio.

Se presentaron los primeros tres ejemplos de estos compuestos sin precedentes de síntesis. En el futuro a corto plazo se completará una familia de diez bisguanidinas ariladas.

Bibliografía

- [1] Kharroubi T Akram, Darwish M Hisham (2015). Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World J Diabetes*, 6(6), 850–867.
- [2] Hosseinzadeh Nouraddin, Seraj Soodeh, Bakhshi-Dezffoli Mohamad E, Hasani Mohammad, Khoshneviszadeh Mehdi, Fallah-Bonekohal, Abdollahi Mohammad, Foroumadi Alireza, Shafiee Abbas (2013). Synthesis and Antidiabetic Evaluation of Benzenesulfonamide Derivatives. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 12(2), 325–330.
- [3] RA Miller, Q Chu, J Xie, M Foretz, B Viollet, MJ Birnbaum (2013) Biguanides suppress hepatic glucagon signalling by decreasing production of cyclic AMP. *Nature Rev Endocrinol*, 494(7436), 256-60.
- [4] Aguayo R Lilian Beatriz, Brito G Marilia, (2013). Metformin: an old but still the best treatment for type 2 diabetes. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 5, 6.
- [5] Silva, L., Olofsson, B. (2011). Hypervalent iodine reagents in the total synthesis of natural products. *Natural product reports*, 28(10): 1722-1754

VALORACION INTEGRAL DE PRODUCTOS DERIVADOS DE CITRICOS

Christian E Castro-Salazar^a, Yunuen Ceballos-Polina^b, Zeferino Gamiño Arroyo^a, Fernando Israel Gomez-Castro^a, Ricardo Morales-Rodriguez^a

^a Departamento de Ingeniería Química, DCNE, Universidad de Guanajuato, Noria Alta s/n, Guanajuato, Guanajuato, 36050, MEXICO.

^b Departamento de Ingeniería en Alimentos, DICIVA Universidad de Guanajuato, Ex Hda el Copal km 9 Carr. Irapuato-Silao, Irapuato, Guanajuato, 36500, MEXICO.

Resumen

En este proyecto se estudian las mejores condiciones de operación para obtener diferentes productos con valor agregado a partir de diferentes cítricos que son de interés comercial para el país, la materia prima se encuentra a nuestra disposición en sitios bien localizados dentro del país por lo que se podría disponer de dicha tecnología en sitios estratégicos para evitar el transporte. La mayor parte de esta actividad comercial se concentra en la recolección para la venta, un gran porcentaje se destina a la industria alimenticia, particularmente el sector de las bebidas, otra cantidad se va hacia el consumo doméstico, estas actividades generan desechos debido a que la principal parte que se utiliza es la pulpa y el jugo del cítrico. El jugo fue concentrado vía Evaporación de película ascendente para disminuir el volumen para su transporte. Los residuos generados (bagazo y cascara) fueron sometidos a un proceso donde se obtuvieron los aceites esenciales utilizando la extracción sólido-líquido para ser utilizados como agentes saborizantes, colorantes o aromatizantes naturales, mientras que del bagazo fue secado y pulverizado para ser utilizado como fibra en recetas panificadoras y así reducir el contenido calórico del producto.

Palabras clave: Cítricos; Solventes; Extracción sólido-líquido; Vitamina C; Secado.

Introducción

México es uno de los productores de cítricos más grande del mundo, alcanzando el quinto lugar sin embargo no se lleva a cabo una transformación de los cítricos, en el país se hace el consumo de estos en fresco, por otra parte, países como Brasil, Estados Unidos, España, entre otros realizan en más del 50% la transformación de su producción, tanto para consumo nacional como para exportación [1]. Por esto y por la importancia de estos a nivel nutricional es necesario aprovechar estos productos con la finalidad de ser más competitivos a nivel mundial elevando la calidad de los mismos, disminuir los costos de producción y de transporte además de otorgarles un valor agregado a los productos ya existentes.

Para el traslado de los cítricos hacia sus puntos de interés se utiliza transporte terrestre y por unidad, es decir, los cítricos íntegros hasta los centros de producción y envasado, esta actividad genera altos costos de transporte, la alternativa planteada es un pre-procesado en el lugar de cosecha, donde se disminuye el volumen del zumo extraído mediante evaporación al vacío, ya que al realizar el proceso en estas condiciones el punto de ebullición disminuye y se tiene una menor degradación de las propiedades del zumo concentrado siendo de mayor importancia el contenido de Vitamina C y las azúcares presentes.

El zumo presenta hasta un 90% de agua, representando hasta el 35% en peso del cítrico. Sin embargo, no es posible reducirlo en gran medida ya que los otros componentes presentes sufren efectos adversos como la cristalización de azúcares o descomposición de la Vitamina C [2].

Para la concentración del zumo, la técnica utilizada es la evaporación por columna ascendente. El principio teórico que tienen este proceso es el 'efecto sifón', ya que cuando la alimentación se pone en contacto con los tubos calientes, comienza a producirse la evaporación, en donde el vapor se va generando paulatinamente hasta que el mismo, empieza a ejercer presión hacia los tubos, determinando de esta manera, una película ascendente [3].

Los productos restantes del proceso (la cascara y el bagazo) se destinan como desechos de composta o de consumo animal siendo posible otorgarles un valor agregado mediante una transformación adicional. El bagazo representa hasta un 30% en peso del cítrico siendo su principal aporte nutricional los carbohidratos solubles (azúcares simples) y estructurales (hemicelulosas, celulosas y pectinas). Debido a los componentes que lo forman tiene potencial como aditivo en forma de fibra en la industria panificadora y al ser integrado a las recetas disminuye la cantidad de harinas refinadas que en alto consumo generan obesidad [4]. Para obtener el bagazo en forma de fibra es necesario un proceso de secado y posteriormente a un proceso de molienda para obtener la harina de bagazo.

Las cascaras representan aproximadamente el 30% en peso del cítrico y de igual manera que el bagazo tiene alto contenido en fibra. Sin embargo, poseen una fracción del 0.1 al 1% en peso de aceites esenciales [5] que son productos con alto valor agregado. Los aceites esenciales están formados principalmente por: benzaldehído, terpineno, limoneno, linalol, canfor, acetato de benzilo, nerol, acetato de linalilo y acetato de geranilo [6]. Son líquidos volátiles, en su mayoría insolubles en agua, pero fácilmente solubles en alcohol, éter y aceites vegetales y minerales [7].

La extracción de estos se realiza por diferentes métodos, de los cuales destacan la destilación por arrastre de vapor, la extracción con solventes y fluidos supercríticos [8]. La destilación por arrastre de vapor permite obtener los aceites puros mientras que la extracción con solventes extrae ceras y otros componentes orgánicos solubles [9]. La ventaja de utilizar extracción es que conserva mejor los aceites que la destilación, ya que pueden sufrir daños por la temperatura que alcanza (hasta 300°C) [10]. Para su uso es necesario darle un tratamiento posterior con alcoholes y purificarlo [11].

El proceso de secado inicia desde una humedad inicial (X_0) donde la pérdida de peso es constante en función del tiempo hasta llegar a la humedad crítica (X_c), a partir de ahí el peso es decreciente y el sistema comienza a estar en equilibrio con el medio siendo este punto el tiempo requerido para el secado. En la extracción sólido-líquido se le extrae a un sólido (inerte) otros componentes mediante el contacto con un disolvente adecuado, el sólido debe ser insoluble en el disolvente mientras que los extractos no [12].

Metodología

La materia prima consta de 14 kg de naranja, lima y toronja.

Evaporación.

Evaporación de película ascendente: Se realizó un lavado, pesado y exprimido. Se procedió a medir el bagazo, jugo y cascara de la materia prima, posteriormente se realizó la evaporación en el evaporador de película ascendente del Laboratorio de Ingeniería Química en la División de Ciencias Nacionales y Exactas, de acuerdo con la técnica establecido por el manual de prácticas [13], con un vacío de 400 mmHg bajando la Temperatura de ebullición a 60°C.

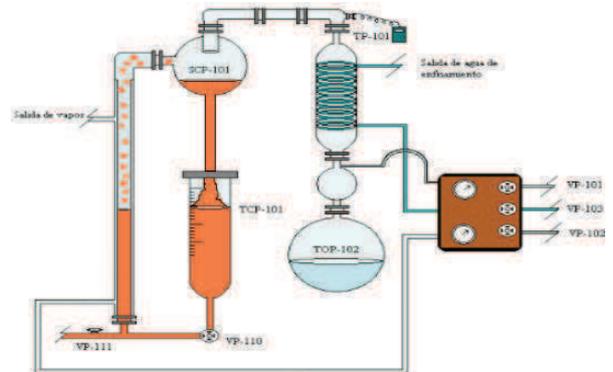


Figura 1. Diagrama del equipo de evaporación utilizado.

Determinación de vitamina C: Se determina la concentración de vitamina C, antes de la evaporación, después de la evaporación y días después de obtenerse el concentrado realizarse, de acuerdo a la técnica de yodometría [14].

Secado

Se pesó la cascara antes del proceso de secado, para secar se empleó un horno de convección con resistencias eléctricas con una balanza adaptada para medir el peso, se midió cada 3 minutos a Temperatura constante.

Extracción sólido-líquido.

Las cascara son cortadas y se empaquetan en costales de manta, se introducen en el tanque ET-201 del equipo de extracción (Figura 2).

El procedimiento de operación es el registrado por el manual de prácticas [15]. Para observar el avance de la extracción se midió el índice de refracción cada 10 min. Posteriormente se concentran los aceites esenciales en el solvente y se procede a eliminar el aceite utilizando evaporación.

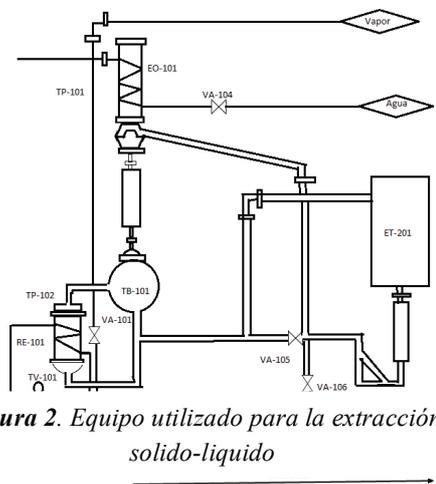


Figura 2. Equipo utilizado para la extracción sólido-líquido

Resultados

Tabla 1. Categorización de la materia prima antes de la experimentación en %w

PARAMETRO	Naranja	Lima	Toronja
Peso total (kg)	14	13.8	14
Cascara (%w)	25.1	36.5	30.4
Bagazo (%w)	30.8	26.0	29.6
Jugo (%w)	44	37,5	40

Evaporación de zumo.

Tabla 2. Mediciones previas al proceso de evaporación.

PARAMETRO	Naranja	Lima	Toronja
Volumen (l)	5.90	5.05	5.48
Vitamina C (mg/ml)	0.46	0.70	0.61
Vitamina C Total (mg)	2714	3535	3342.8

Tabla 3. Mediciones posteriores al proceso de evaporación.

PARAMETRO	Naranja	Lima	Toronja
Volumen (l)	1.97	1.56	1.56
Vitamina C (mg/ml)	1.37	2.22	2.02
Vitamina C Total (mg)	2698.9	3463.2	3151.2

Tabla 4. Balance de energía en el evaporador.

PARAMETRO	Naranja	Lima	Toronja
Consumo de vapor (kg/h)	13.73	10.11	14.66
Calor ganado (kJ)	7412.02	5711.19	9330.0
Calor cedido (kJ)	7214.7	5316.3	7703.8

Como se aprecia en la Tabla 2 y 3, la cantidad de vitamina C perdida durante el proceso de evaporación es apenas de un 10%. En la tabla 4 se muestra el balance energético del proceso, detallando el consumo horario de vapor.

Secado previo a la extracción

Tabla 5. Mediciones obtenidas durante el secado a 65°C por 70 minutos.

PARAMETRO	Naranja	Lima	Toronja
Masa inicial (g)	36.2	25.5	64.6
Masa final (g)	23.4	17.4	40.6
Agua contenida (%w)	35.36	31.76	37.15

La cantidad de agua eliminada de las cascara durante el proceso de secado fue superior al 35%. Siendo una gran parte del peso y que de igual manera representa peso para el transporte de la materia prima.

Extracción

Tabla 6. Mediciones obtenidas del proceso de extracción solido-liquido.

PARAMETRO	Naranja	Lima	Toronja
Masa inicial (kg)	1.26	1.1	1,24
Masa final (kg)	1.23	1.07	1.17
Masa extraida (%w)	2.38	2.91	5.65

Tabla 7. Variables de operación del equipo de extracción.

PARAMETRO	Valor
Solvente (l)	27-28
Tiempo de operación (h)	2:30
Presión (kg/cm ²)	0.4
Temperatura (°C)	55

Tabla 8. Balance de energía en el equipo de extracción.

PARAMETRO	Naranja	Lima	Toronja
Consumo de vapor (kg/h)	2.62	3.06	2.94
Calor perdido (kJ)	1368.8	1892.6	1646.1
Calor cedido (kJ)	14113.0	17641.3	16960.2
Energía perdida (%)	9.70	10.73	9.71

Tabla 9. Mediciones de los aceites esenciales obtenidos.

PARAMETRO	Naranja	Lima	Toronja
Masa (g)	11	12	6.12
Volumen (ml)	10	11	6
Densidad (g/cm ³)	1.10	1.09	1.02
Masa extraída (%w)	0.87	1.00	0.49

Las tablas 6-9 muestran los balances de materia (6), de energía (8) y las variables de operación del equipo, mostrando que la cantidad de energía perdida es del 10% durante el proceso. Los aceites extraídos representan únicamente el 2% de la materia seca, siendo en total un 0.2% de la materia total (14 Kg).

Secado del bagazo

Tabla 10. Mediciones proceso de secado del bagazo.

PARAMETRO	Naranja	Lima	Toronja
Masa inicial (kg)	4.32	3.57	4.14
Masa final (kg)	3.78	3.06	3.52
Humedad (%w)	12.5	14.37	14.87



Figura 3. Bagazo obtenido y galletas realizadas con el mismo, utilizándolo al 10% en relación a la harina.

Conclusiones

Como resultado de la investigación, es posible concluir que el objetivo del proyecto se cumplió, se logró utilizar en promedio el 70% de cada cítrico, y se diversificaron los productos que se pueden obtener aumentando así el mercado. Se muestra que se aprovecha de manera integral los cítricos y obteniendo productos, como las galletas de harina de bagazo, para disminuir costos e incrementar los nutrientes de las galletas, por su contenido de fibra. En el caso del concentrado, sufrió pérdidas de menos del 10% de Vitamina C.

Sobre el aprovechamiento de los desechos, se logró extraer aceites esenciales a partir de cascaras de cítricos con rendimientos reportado. Por otra parte, se establecieron las variables que permitían

minimizar las pérdidas de energía o dañar la materia prima, por lo que lo siguiente sería aumentar la cantidad de materia prima y obtener mayor cantidad de producto.

Bibliografía

- [1] FAO (2012). Citrus Fruit Fresh and processed, Annual Statistics 2012. Recuperado de www.fao.org/economic/est/est-commodities/citrus
- [2] Braddock, R. J. (1999). Braddock, R. J., & E. Weiss (Eds.), Handbook of citrus by-products and processing technology. Wiley: New York
- [3] R.K. Sinnott, (2005). "Chemical Engineering Design", Elsevier Butterworth-Heinemann.
- [4] Obesity. Lancet (Review). 366 (9492), 2005, 1197–209.
- [5] Velázquez Núñez María José. 2010. Acción antifúngica del aceite esencial de cáscara de naranja, aplicado por adición directa o por generación de vapores. Tesis de licenciatura. Universidad de las Américas, Puebla, México.
- [6] Grosse R et al (2000). Extracción del Aceite Esencial de Naranja Cajera citrus. Acta Científica Venezolana 51(2), 200-208.
- [7] Cabra Rojas E (1988). Los Aceites Esenciales, Panorama Internacional y del Mercado Colombiano. Tecnología, 175 (5): 55-60.
- [8] H. A. Peredo-Luna, E. Palou-García y A. López-Malo. (2009). Aceites Esenciales: métodos de extracción. Temas selectos de ingeniería en alimentos. (3), 24-32.
- [9] Sánchez R, Pino J, Chang L, Roncal E, Rogert E (1994). Desterpenación de aceite esencial de naranja por extracción con etanol diluido. Alimentaria 249: 59-61
- [10] Mariano Cerutti y Fernando Neumayer. *Introducción a la obtención de aceite esencial de limón. Universidad del Centro Educativo Latinoamericano* (2004)
- [11] Ortuño, M.F. 2006. Manual Práctico de Aceites Esenciales, Aromas y perfumes. Aiyana Ediciones. España.
- [12] Ocon, J. y Tojo, G. "Problemas de Ingeniería Química". Editorial Aguilar (1986)
- [13] Gamiño Arroyo, Z. Manual de Practicas del Laboratorio 3 de Ingeniería Química. Guanajuato, Guanajuato.
- [14] Pietro Ciancaglinia, Hkric L. Santos, Katia R.P. Daghasanli, Geraldo Thedei Jr. (2001). Using a classical method of vitamin C quantification as a tool for discussion of its role in the body Biochemistry and Molecular Biology Education 29 (2001) 110-114

ANÁLISIS DE UN ASPECTO FUNDAMENTAL EN UNA DE LAS ETAPAS DEL PROCESO DE COLADA CONTINUA DE FABRICACIÓN DE ACERO

E. D. Aguilar-Durón^a, J. I. Minchaca-Mojica*^a

^a Departamento de Ingeniería Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Col. Noria Alta S/N, Guanajuato, GTO., C.P. 36050, México. *jminchaca@ugto.mx

Palabras Clave

Velocidad de salida; velocidad terminal; atomización; enfriamiento de acero; enfriamiento secundario

Resumen

La mayoría del acero producido en el mundo se fabrica por el proceso de Colada Continua (CC). La industria siderúrgica mexicana se encuentra en el lugar número 15 en la producción de acero crudo a nivel mundial. Es importante recalcar que si se mejoran las condiciones de operación del proceso de CC, específicamente de la zona de enfriamiento secundario, mediante el estudio, comprensión y análisis de la influencia de sus variables, se podrá evitar la aparición de problemas de proceso y de calidad del producto, impactando directamente en la productividad de la planta. En el presente trabajo se analizó uno de los dispositivos más utilizados para el enfriamiento secundario del acero, considerando una de las principales condiciones de operación, con el objetivo de obtener información acerca de la velocidad de las gotas que son generadas por estos dispositivos y que son las responsables del enfriamiento del acero. Esta información ayudará al refinamiento de un modelo computacional desarrollado para este tipo de sistemas que permitirá establecer estrategias de enfriamiento más adecuadas buscando incrementar la productividad de la planta sin detrimento en la calidad del acero que se produce.

Introducción

En la industria acerera, el enfriamiento del acero es una etapa crítica dentro de su proceso de producción en la cual uno debería enfocarse si se desea incrementar la productividad. Así, el control y mejora de esta etapa dentro del proceso de CC ha permitido fabricar grandes cantidades de aceros que satisfacen los requerimientos de calidad y competitividad [1]. En el enfriamiento secundario del acero, la forma en la que se extrae el calor es mediante el impacto de rocíos y nieblas de agua sobre su superficie caliente. Los dispositivos utilizados para este propósito reciben el nombre de boquillas y pueden ser neumáticas (utilizan agua y aire) o hidráulicas (utilizan solo agua). Las boquillas neumáticas son las que más se utilizan debido a su elevada capacidad de remoción de calor.

Para que el proceso de enfriamiento se lleve a cabo de manera ideal se necesita tener una transferencia de calor homogénea en la superficie; en la práctica esto no se logra ya que la atomización hace que se generen diferentes tamaños de las gotas, distintas velocidades y posiciones en las que se mezclan el flujo de agua con el flujo de aire, además de tener diferentes zonas donde se impacta el fluido sobre el planchón de acero, entre otras características.

Dos de las variables que se relacionan directamente con la cantidad de calor extraído desde la superficie del acero son el tamaño de las gotas que conforman los rocíos y nieblas de agua, así como la velocidad con que éstas impactan sobre la superficie. El objetivo del presente trabajo es conocer y entender la forma en que las gotas adquieren la velocidad con la que impactan y que a su vez depende de la aceleración que éstas adquieren cuando son generadas en el interior de la

cámara de mezclado de las boquillas neumáticas. Dentro de las cámaras de mezclado, las gotas adquieren velocidad, desde que son originadas en el deflector hasta que llegan al orificio de salida, por el fenómeno llamado transferencia de momentum.

Dentro de la cámara de mezclado, la aceleración que tendrán las gotas presentes dependerá de la cantidad de momentum que el aire le va a transferir a las gotas. El resultado de esta transferencia se ve reflejado en un incremento en la velocidad durante el vuelo de las éstas en el interior de la boquilla. Las ecuaciones (1) y (2) describen el movimiento y trayectoria de las gotas:

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

$$\frac{dx_i}{dt} = u_{i,d} \quad (2)$$

En la ecuación (1), C_D es el coeficiente de arrastre que se define como la relación de la fuerza sobre la gota y la presión dinámica del fluido causada por la proyección de las partículas del fluido sobre la superficie en un instante tiempo, ρ es la densidad del aire, ρ_d es la densidad del agua, U_i es la velocidad superficial del aire en m/s y $u_{i,d}$ es la velocidad de las gotas en m/s [2].

El coeficiente de arrastre depende principalmente de la viscosidad del fluido, del tamaño de la gota, la velocidad y el número de Reynolds (Re) correspondiente. [3]

Los rangos para el número de Reynolds que se reportan en las bibliografías encontradas son variados, pero existen tres regiones clásicas para el cálculo de C_D :

1. Región de Stokes; $Re \leq 2$ [4], [5], [6] y [7]
2. Región intermedia; $2 \leq Re \leq 500$ [4]
3. Región Newton; $500 \leq Re \leq 2 \times 10^5$ [4] y [2]

Metodología

Para la resolución de las ecuaciones de movimiento se implementó un código numérico en el software MatLab. Se utilizó el método de Euler de segundo grado utilizando un tamaño de paso de 1×10^{-5} s, el cual fue determinado en un análisis de sensibilidad previo al presente trabajo [6].

Para la resolución de las ecuaciones, se requiere de la velocidad superficial del aire, U_i , que depende de las condiciones de operación de la boquilla. Para el presente trabajo, la condición estudiada es $W = 0.50$ L/s donde W es el flujo de agua, $p_a = 205$ kPa donde p_a es la presión de aire y a estas condiciones la velocidad superficial del aire ha sido calculada para ser $U_i = 61.09$ m/s, [6]. Se considera la boquilla neumática CJ-1/2-6.5-90 utilizada en el enfriamiento secundario del acero, por ser ésta una de las que tiene mayor carga de enfriamiento.

Se considera que la aceleración de las gotas ocurre en la dirección axial de la boquilla desde su generación en el deflector (donde $u_i=0$ m/s) hasta llegar al orificio de salida situado a 0.25 m de la superficie deflectora.

En el presente estudio se analizó la dependencia de la velocidad de las gotas con el coeficiente de arrastre reportado por distintos trabajos. Se hizo una búsqueda bibliográfica exhaustiva de coeficientes de arrastre y de las consideraciones por cada autor y mediante su implementación en el código de resolución numérica se obtuvieron los perfiles de velocidad dentro de la cámara de mezclado y a la salida de la boquilla, manteniendo constante la velocidad superficial del aire.

Resultados

El código implementado permite obtener datos del comportamiento de la gota dentro de la cámara de mezclado, como son la velocidad, tiempo de vuelo y el número de Re en cada posición. Con

esto, se puede determinar el valor del coeficiente de arrastre que corresponda y el régimen en que se encuentra la gota, para diferentes las fuentes consultadas.

Analizando la Figura 1, se puede apreciar que el comportamiento de una gota dentro de la cámara de mezclado depende fuertemente del coeficiente de arrastre. La velocidad calculada con los coeficientes de Turton y Levenspiel [8], Deghani [9], al igual que Schiller y Naumann [10] y Clift y Gauvin [11] resulta ser similar. Se puede ver también que para diferentes coeficientes de arrastre la aceleración de la gota dentro de la cámara de mezclado puede ser similar o tener una diferencia de un 70%, aproximadamente, entre las velocidades más bajas y más altas calculadas. Esto se puede deber a las variables involucradas para el cálculo del coeficiente de arrastre y a los regímenes de movimiento definidos por cada autor. Es importante mencionar que, si bien algunos autores señalan la presencia de los mismos regímenes, difieren en el valor del Reynolds dentro de los cuáles los ubican.

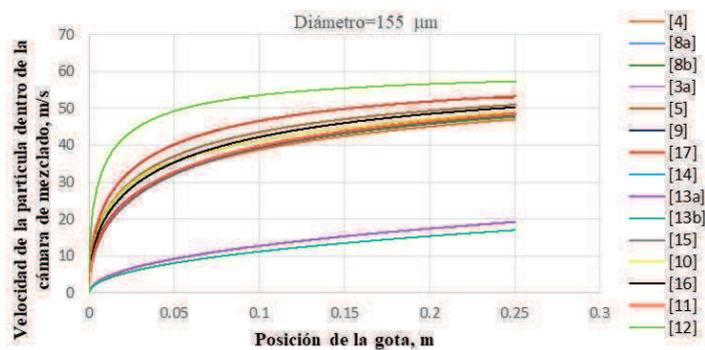


Figura 1. Velocidad de una gota de 155mm con respecto a su posición dentro de la cámara de mezclado

Analizando los datos obtenidos se puede observar en la Figura 2 que el comportamiento más lineal lo tiene el perfil de velocidad obtenido con el coeficiente reportado por Monallisa [12]. Un comportamiento similar se aprecia en el perfil calculado con el coeficiente de Pantokratoras [13]. Estos comportamientos lineales indican que hay una fuerte relación entre el tamaño de la gota y la disminución en la velocidad, esto es, a medida que el diámetro de la gota aumenta, la velocidad de ésta disminuye gradualmente; en cambio, para el resto de las velocidades generadas no se ve esta dependencia. La Figura 2 también expresa la similitud que existe en el comportamiento de los perfiles a la salida de la boquilla reportados en Minchaca et al. [4], Turton y Levenspiel [8a, 8b] y Deghani [9], en donde se superponen las velocidades. Pasa lo mismo con las velocidades calculadas con el coeficiente de arrastre reportado por Cheng [3a], Brown y Lawler [14], Schiller y Naumann [10] y Clift y Gauvin [11].

La Tabla 1 muestra los coeficientes de arrastre reportados y que fueron utilizados para los cálculos del presente trabajo. En ella se puede apreciar el tiempo en que una gota de 5μm alcanzó la velocidad terminal (es decir, la velocidad que tiene el aire) y la posición en que alcanzó esta velocidad.

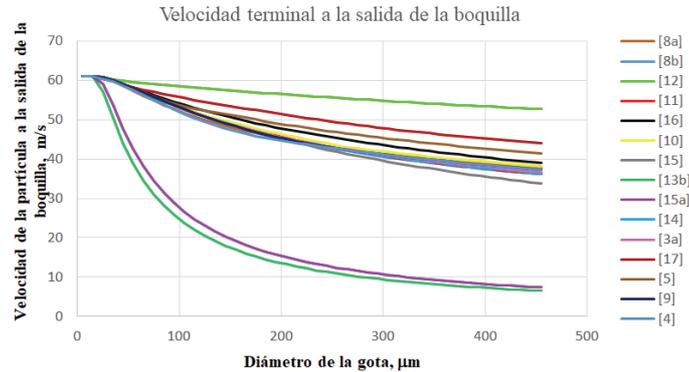


Figura 2. Velocidad terminal de la gota a la salida de la cámara de mezclado.

Los tiempos más cortos se obtienen con Turton y Levenspiel [8a], siendo más corta la distancia que tiene que recorrer la gota para alcanzar la velocidad terminal. Esta misma tabla muestra que con las referencias Turton y Levenspiel [8b], Dehghani [9], Clift R et. al [5] y Cheng [3a] se obtienen tiempos similares entre ellas a pesar de que la posición en la que alcanzan la velocidad terminal es diferente.

Se hizo una comparación también entre seis fuentes diferentes que arrojaron perfiles de velocidad distintos implementando coeficientes de arrastre diferentes, los tiempos son exactamente iguales pero la distancia con la que la gota alcanza la velocidad deseada varía en 1µm. Los autores que reportan esto son Clift et al. [5], Brown y Lawler [14], Poniaev S.A. [15], Schiller y Naumann [10], White [16] y Clift y Gauvin [11]. Los tiempos más grandes donde se identifica claramente que las distancias en que alcanzan la velocidad terminal son mayores se obtuvieron utilizando el coeficiente reportado en Minchaca et al. [4] y Pantokratoras [13a, 13b]. Esto se debe a la mayor resistencia al aire que presentan estas gotas. Las fuentes que no arrojaron perfiles de velocidad en el software implementado quedan como trabajo futuro, pues se necesita un análisis más detallado para el coeficiente de arrastre que estos autores reportan.

Tabla 1. Coeficiente de arrastre, posición y tiempo en que una gota seleccionada alcanza la velocidad terminal.

No.	Coeficiente de arrastre	Tiempo (s)	Posición (m)	Referencia
1	Si $Re < 2$ $C_d = \frac{24}{Re}$ Si $2 < Re < 500$ $C_d = \frac{10}{\sqrt{Re}}$ Si $500 < Re < 2 \times 10^5$ $C_d = 0.44$	0.000750	0.043441	[4]
2	Si $Re < 2 \times 10^5$ $C_d = \frac{24}{Re} (1 + 0.173 Re^{0.657}) + \frac{0.413}{1 + 16300 Re^{-1.09}}$	0.000650	0.037837	[8a]
3	Si $Re < 2 \times 10^5$ $C_d = \frac{24}{Re} + 3.3643 (Re)^{-0.3471} + \frac{0.4607 Re}{Re + 2682.5}$	0.000670	0.038810	[8b]
4	Si $Re < 2 \times 10^5$ $C_d = \frac{24}{Re} (1 + 0.27 Re)^{0.43} + 0.47 [1 - e^{(-0.04 Re^{0.38})}]$	0.000670	0.039060	[3a]
5	Si $Re < 0.01$ $C_d = \frac{3}{16} + \frac{24}{Re}$ Si $0.01 < Re < 20$ $C_d = \frac{24}{Re} [1 + 0.1315 (Re)^{(0.82 - 0.05w)}]$ Donde $w = \log_{10}(Re)$ Si $20 < Re < 260$ $C_d = \frac{24}{Re} [1 + 0.1935 (Re)^{0.6305}]$ Si $260 < Re < 1500$	0.000660	0.038444	[5]

	<p>Si $\log_{10} C_d = 1.6435 - 1.1242w + 0.1558w^2$ $1.5 \times 10^3 < Re < 1.2 \times 10^4$</p> <p>Si $\log_{10} C_d = -2.4571 + 2.5558w - 0.9295w^2 + 0.1049w^3$ $1.2 \times 10^4 < Re < 4.4 \times 10^4$</p> <p>Si $\log_{10} C_d = -1.9181 + 0.6370w - 0.0636w^2$ $4.4 \times 10^4 < Re < 3.38 \times 10^5$</p> <p>Si $\log_{10} C_d = -4.3390 + 1.5809w - 0.1546w^2$ $3.38 \times 10^5 < Re < 4 \times 10^6$</p> <p>Si $4 \times 10^5 < Re < 10^6$ $C_d = 29.78 - 5.3w$</p> <p>Si $10^6 < Re$ $C_d = 0.1w - 0.49$</p> <p>Si $10^6 < Re$ $C_d = 0.19 - \frac{8 \times 10^4}{Re}$</p>			
6	<p>Si $Re < 1$ $C_d = 0.19 - \frac{80000}{Re}$</p> <p>Si $1 < Re < 1000$ $C_d = \frac{24}{Re} (1 + 0.15Re^{0.687})$</p> <p>Si $Re > 1000$ $C_d = 0.44$</p>	0.000670	0.039002	[9]
7	<p>Si $0.02 < Re < 2 \times 10^5$</p> $C_d = 11Re^{-0.75} + 0.9 \left[1 - \exp\left(-\frac{1000}{Re}\right) \right] + 1.2 \left[1 - \exp\left(-\left(\frac{Re}{4500}\right)^{0.7}\right) \right]$	0.002400	0.144045	[17]
8	$k' = \left[\frac{g\rho_{aire}(\rho_{gota} - \rho_{aire})}{\mu_{aire}^2} \right]^{\frac{1}{3}}$ $d_* = k' d_{gota}$ $C_d = \frac{432}{d_*^3} (1 + 0.022d_*^3)^{0.54} + 0.47 [1 - \exp(-0.15d_*^{0.45})]$	-----	-----	[3b]
9	$x = \frac{\ln(1 + d_*)}{10}$ $\alpha = (1 - e^{-6.7x^2 + 39x^5 - 75x^7})^{\frac{\pi}{2}}$ $C_d = \frac{432}{d_*^3} \left(0.5 + 0.5 \sqrt{1 + \frac{d_*^3}{24}} \right)^{1.554} \cos^3 \alpha + 0.468 \sin^2 \alpha$	-----	-----	[7]
10	<p>Si $Re < 8.6 \times 10^4$ $C_d = \frac{Re}{24} 10^{0.261Re^{0.369} - 0.105Re^{0.431} - \frac{0.124}{1 + (\log Re)^2}}$</p>	-----	-----	[18]
11	<p>Si $Re < 2 \times 10^5$ $C_d = \frac{24}{Re} (1 + 0.15Re^{0.681}) + \frac{0.407}{1 + 8710Re^{-1}}$</p>	0.000660	0.038377	[15]
12	$C_d = \frac{2(F)}{\rho_{aire} S v^2}$, F=Fuerza en N $C_d = \frac{2(\rho_{aire} - \rho_{agua})}{\rho_{aire} S v^2}$ <p>Donde $S = \pi \left(\frac{d_{gota}}{2}\right)^2$</p>	-----	-----	[12], [19] y [20]
13	<p>Si $Re < 2$ $C_d = \frac{8\pi}{Re [0.5 - 0.577216 + \ln(\frac{8}{Re})]}$</p> <p>Si $Re > 0.1$ y $A=19.90$ $C_d = \frac{A}{Re}$</p>	0.001740	0.102085	[13a]
14	<p>Si $Re < 2$ $C_d = \frac{8\pi}{Re [0.5 - 0.577216 + \ln(\frac{8}{Re})]}$</p> <p>Si $Re > 0.1$ y $A=26.42$ $C_d = \frac{A}{Re}$</p>	0.001900	0.110489	[13b]
15	<p>$d = 1.25$ cm (Distancia de la gota a la superficie de la boquilla)</p> $C_d = C_{DO} (1 + \alpha Re^\beta)$ $C_{DO} = \frac{24}{Re} (1.028 - \frac{0.07}{(1 + 4(\frac{d}{d_{gota}})^2)^2}) - \frac{8}{15} \ln(270 \frac{(d/d_{gota})}{(135 + 256(d/d_{gota})})$ $\alpha = 0.15 \left[1 - \exp\left(-\sqrt{\frac{d}{d_{gota}}}\right) \right]$ $\beta = 0.687 + 0.313 \exp\left[-2\sqrt{\frac{d}{d_{gota}}}\right]$	0.000660	0.038397	[15]
16	<p>Si $Re < 800$ $C_d = \frac{24}{Re} (1 + 0.150Re^{0.687})$</p>	0.000660	0.038398	[10]
17	<p>Si $Re < 2 \times 10^5$ $C_d = \frac{24}{Re} + \frac{6}{1 + \sqrt{Re}} + 0.4$</p>	0.000660	0.038473	[16]
18	<p>Si $Re < 3 \times 10^5$ $C_d = \frac{24}{Re} (1 + 0.15Re^{0.687}) + \frac{0.42}{1 + \frac{42500}{Re^{1.16}}}$</p>	0.000660	0.038398	[11]
19	<p>Si $-\infty < Re < \infty$ $C_d = 3e^{0.6Re^{-1.388}}$</p>	*	*	[12]

*No alcanzó la velocidad de 61.09 m/s

Conclusiones

Los perfiles de velocidad calculados en el presente trabajo muestran el mismo comportamiento de las gotas y este es que a medida que aumenta su diámetro, aumenta la resistencia a la aceleración del aire dentro de la cámara, provocando que la velocidad de salida en el orificio de la boquilla sea distinta para cada tamaño de gota.

Es importante recalcar que algunos autores tomaron en cuenta un intervalo específico en el número de Re para calcular el coeficiente de arrastre para una gota y que cada coeficiente fue desarrollado considerando las características hidrodinámicas particulares del sistema analizado por cada autor. Lo anterior toma relevancia para trabajos futuros en donde puede necesitarse una definición del coeficiente de arrastre para el sistema en particular donde se tienen gotas que se aceleran dentro de la cámara de mezclado para boquillas neumáticas.

Los resultados que se obtuvieron en esta investigación ayudarán al refinamiento de un modelo computacional desarrollado para sistemas de enfriamiento industrial de acero mediante boquillas neumáticas que permitirá establecer estrategias de enfriamiento adecuadas buscando incrementar la productividad de la planta sin deterioro en la calidad del acero que se produce, haciendo que se tenga un sistema de enfriamiento más eficiente en donde se logre la homogeneidad de la transferencia de calor en la superficie del acero.

Bibliografía

- [1] Romo Castañeda Julio C. (2009). Estudio de la formación de especies mineralógicas en el molde de colada continua de planchón delgado de acero. Tesis de Maestría. IPN. Ciudad de México, D.F., 4-15.
- [2] Wen-Ching Yang. (2003). Handbook of Fluidization and Fluid-Particle System. United States Of America: Marcel Dekker, Inc
- [3] Cheng N. S. (2009). Comparison of formulas for drag coefficient and settling velocity of spherical particles. Powder Technol; 189:395-8.
- [4] Minchaca M, J.I. et al. (2010). Fluid Dynamics of Thin Steel Slab Continuous Casting Secondary Cooling Zone Air Mist. Advanced Fluid Dynamics, Proc. of ILASS 2010, Cincinnati, OH, USA.
- [5] Clift R., Grace J.R., Weber E. (1978). Bubbles, Drops and Particles. United States Of America: Academic Press.
- [6] 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.
- [7] Hongli Y., et al. General formulas for drag coefficient and settling velocity of sphere based on theoretical law. International Journal of Mining Science and Technology, 25,1025 Pp.219-223.
- [8] Turton R, Levenspiel O. (1986). A short note on the correlation for spheres. Powder Technol -, 47 (1):83-6.
- [9] Dehghani S.R. et al. (2016). Droplet trajectories of wave-impact sea spray on a marine vessel. Cold Region Science and Technology, 12, pp.1-9
- [10] Schiller L and Naumann A. (1933) Über die grundlegenden Berechnungen bei der Schwerkraftaufbereitung Z. Ver. Dtsch. Ing 77 318–20
- [11] Clift R and Gauvin W. H. (1971) Motion of entrained particles in gas streams Can. J. Chem. Eng. 49 439–48
- [12] Mallick Monalisa (2014). Variation of drag coefficient on rough cylindrical bodies. Master of Technology In Civil Engineering. National Institute of Technology Rourkela.

- [13] Pantokratoras A. (2017). A Note on the Drag Coefficient of Steady Flow of Non-Newtonian, Power-Law Fluids across Unbounded Two-Dimensional Bodies at Low Reynolds Numbers. *Fluids* 2, 5. MDPI.
- [14] Brown PP., Lawler DF. (2003). Sphere drag and settling velocity revisited. *J. Environ Eng-ASCE*; 129(3):222-31.
- [15] Poniaev S.A et al. (2016). Drag coefficient of solid micro-sphere between parallel plates. *Journal of Physics: Conference Series* 769.
- [16] White F. (2010) *Fluid Mechanics* 862
- [17] Cheng N.S. (2013). Calculation of Drag Coefficient for Arrays of Emergent Circular Cylinders with Pseudofluid Model. *Journal of Hydraulic Engineering*, Vol. 139, Issue 6.
- [18] Flemmer RLC, Banks CI. (1986). On the drag coefficient of a sphere. *Powder Technol*; 48(3):217-21.
- [19] Morais, J.E.; Costa, M.J.; Moreira, M.F.; Barbosa, T.M. (2012). Comparison of young swimmer's active drag coefficient using three methods to compute trunk transverse surface area *Motricidade*, vol. 8, No. 1, pp. 19-25.
- [20] Taamneh Y.; Bataineh K.M. (2011) .Drag and Separation Flow Past Solid Sphere with Porous Shell at Moderate Reynolds Number. *Transp Porous Med* 90:869–881
- [21] Cao D., Song L., Li J., Zhou Y. (2014). Determining the drag coefficient of a cylinder perpendicular to water Flow by numerical simulation and field measurement. *Ocean Engineering*, 85, Pp. 93-99.

SÍNTESIS DE MEMBRANAS DE POLISULFONA (PSF) A PARTIR DEL MÉTODO DE INVERSIÓN DE FASE EN LA ELIMINACIÓN DE ESPECIES CONTAMINANTES DE AGUAS RESIDUAL

Yair Gutiérrez Piña^a, Mario Ávila Rodríguez^b Ada Saccà^c Liliana Hernández Perales^d

Departamento de Química, Universidad de Guanajuato, Pueblito de Rocha S/N Cerro La venada, Guanajuato, Guanajuato, 36040, MÉXICO. yair_barza@hotmail.com^a avilam@ugto.mx^b . lhperales@gmail.com^d

^cPolymer Electrolyte Fuel Cells and Hydrogen Storage, CNR- Istituto di Tecnologie Avanzate per la Energia (ITAE) Via S. Lucia / Contesse, Messina, 598126, ITALIA. ada.sacca@itae.cnr.it

Resumen

En los últimos años, la aplicación las membranas poliméricas en procesos de separación de especies contaminantes ha crecido exponencialmente, ya que sus propiedades químicas y físicas las hacen muy atractivas y versátiles. Sin embargo, existen limitaciones como el rápido ensuciamiento y el corto tiempo de vida, que afectan el desempeño de la membrana, elevando los costos del mantenimiento de esta tecnología. En este trabajo, se sintetizan membranas asimétricas de polisulfona modificadas con el tensoactivo Pluronic-123® mediante el método de inversión de fase, donde se emplean agua y etanol como disolventes coagulantes (no-solventes). Los resultados de la caracterización han indicado que existe una relación entre los parámetros de síntesis y cambios en la morfología de la sección transversal de las membranas, lo cual es muy importante, ya que se puede obtener la morfología y la porosidad adecuadas para su aplicación en procesos de separación de especies químicas por ultrafiltración. De la misma manera, se ha presentado el incremento de la hidrofiliidad en las membranas modificadas con tenso-activo, incidiendo en la resistencia al ensuciamiento.

Palabras clave: Surfactante; Inversión de Fase; Ultrafiltración.

Introducción

El desarrollo de las membranas poliméricas aplicadas en procesos de separación ha ido en constante crecimiento a través de los años. Uno de los polímeros de mayor interés es la polisulfona debido su estabilidad hidrolítica, resistencia química, alta resistencia mecánica, metodología de síntesis ligera, entre otras [1]. Desde el punto de vista de la síntesis de esta clase de materiales, el método de inversión de fase es el más utilizado [2]. Sobre dicho proceso químico, bastantes investigaciones se han realizado específicamente, en cuanto a la optimización del método de preparación de membranas, que a su vez, posean una mayor resistencia al ensuciamiento y un incremento en el desempeño (permeoselectividad y flujo), las cuales han sido las limitaciones en la aplicación de esta tecnología [3, 4]. Con la finalidad de disminuir dichas desventajas, y obtener una morfología adecuada para llevar a cabo procesos de separación de manera más eficiente, algunos autores han trabajado en la aplicación de diferentes surfactantes /aditivos como parte de la síntesis misma de membranas [4-7]. El surfactante propuesto para tal fin es Pluronic-123®, un co-polímero constituido polietilenglicol (PEG) unido a polipropilenglicol (PPG).

En el presente trabajo, la síntesis y la caracterización de membranas asimétricas de polisulfona es realizada con la adición del surfactante pluronic-123, donde se pretende conocer los parámetros de síntesis, tales como la concentración de polímero, la elección del solvente, la temperatura del proceso [8], el tiempo de inversión de fase [9] y la concentración de surfactante, con el propósito de mejorar sus propiedades químicas y físicas, para que posteriormente las membranas puedan ser adecuadas para su aplicación en la separación de especies contaminantes de aguas residuales.

Metodología

Materiales

La polisulfona [$C_{27}H_{22}O_4S$] n en forma de pellets ($M_w \sim 35,000$ por LS), así como el surfactante Pluronic-123® fueron adquiridos de Sigma Aldrich en grado reactivo (#MKB52962V). El agua desionizada y etanol (46.01 g/mol) fueron utilizados como no-disolventes. La dimetil acetamida (DMAc) $CH_3CON(CH_3)_2$ (87.12 g/mol) e isopropanol $M_w=60.1$ g/mol $CH_3CH(OH)CH_3$) fueron adquiridos de Carlo Erba®. Los reactivos mencionados no fueron sometidos a procesos de purificación posteriores.

Procedimiento Experimental

La síntesis de membranas es llevada a cabo con el método de inversión de fase por baño de coagulación. Una solución de polisulfona (5 wt%) con DMAc (dimetilacetamida) es preparada. Dicha solución es evaporada por 5 h a $80^\circ C$ con agitación constante. Inmediatamente, se realiza la estratificación y la selección del espesor de la membrana mediante el método Dr. Blade. La placa con la solución es sumergida en el no-solvente (agua o etanol) a $T=25^\circ C$ [10], provocando el fenómeno de inversión de fase [3]. Posteriormente, la membrana es puesta a sequedad por 24 h a $T=25^\circ C$. El post-tratamiento es realizado con isopropanol y agua por 5 h a $T=25^\circ C$ [11]. Finalmente, las propiedades superficiales, mecánicas, morfológicas y permeo-selectivas de la membrana son analizadas por medio de las técnicas correspondientes: XRD (difracción de rayos X), Retención de H_2O , MEB (Espectroscopía Electrónica de barrido), entre otras [2].

Resultados

Los resultados que se han obtenido hasta el momento, provienen de la caracterización de las membranas a través de XRD, Cálculo del porcentaje de retención de H_2O a dos temperaturas diferentes y la observación a través de MEB. La caracterización de las muestras por otros métodos complementarios sigue llevando a cabo.

1. DIFRACCIÓN DE RAYOS X (XRD)

El análisis sobre 7 muestras diferentes a través de XRD es realizado. La difracción de rayos x provee información sobre ordenamiento de los átomos dentro de la estructura cristalina del material, así como al análisis de la reproducibilidad del método para preparar una membrana a determinadas condiciones. Las muestras sintetizadas sin la presencia de surfactante son analizadas. Se puede observar en la figura 1, que la ruta de síntesis no afecta la estructura cristalina del polímero polisulfona, ya que los perfiles son idénticos.

De la misma manera, el difractograma de una membrana preparada con surfactante/PSF (1:1) llamada PSF2-7 es obtenido (figura 2)

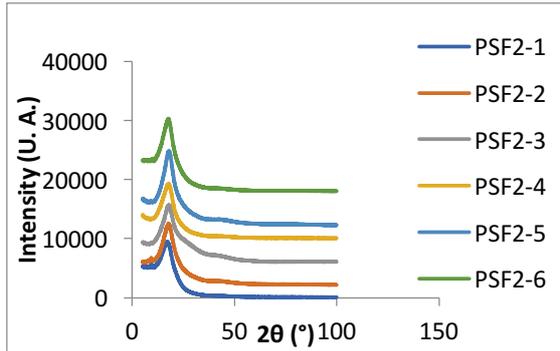


Figura 1 Comparación de los difractogramas correspondientes a las membranas PSF2-1 a PSF2-6.

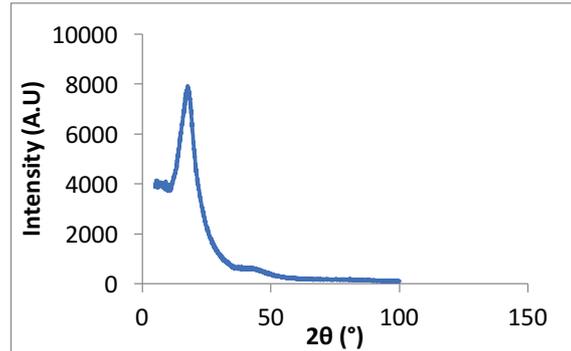


Figura 2 Difractograma correspondiente a la membrana PSF2-7 cuya composición es (Polisulfona/ Pluronic 1:1)

Se aprecia que no hay diferencias en el espectro correspondiente, lo cual demuestra que la adición del surfactante tampoco modifica la estructura cristalina del polímero. Las diferencias en las señales a valores de 2θ pequeño son despreciables para este caso, debido a limitaciones de detección a bajos ángulos por parte del instrumento.

2. PORCENTAJE DE RETENCIÓN DE AGUA

El cálculo del porcentaje de retención de agua destilada fue realizado a $T=25\text{ °C}$ y a $T=60\text{ °C}$. Las muestras sometidas a esta prueba fueron puestas a sequedad en vacío por dos horas a $T=80\text{ °C}$. Posteriormente, las membranas son humectadas a las temperaturas mencionadas. El peso húmedo y seco son medidos. El porcentaje es calculado mediante la [1]:

$$\% R_{H_2O} = \frac{\text{Peso húmedo} - \text{Peso seco}}{\text{Peso seco}} \times 100$$

En la tabla no. 1 muestran los resultados correspondientes a las dos temperaturas de humectación, donde las muestras a partir de PSF2-7 a 2-9 contienen surfactante.

Membrana	%R H ₂ O T=25 °C	%R H ₂ O T=60 °C
PSF2-1	10.2	41.6
PSF2-2	38.3	50.3
PSF2-3	3.3	1.7
PSF2-4	1.9	31.4
PSF2-5	34.4	105.6
PSF2-6	45.6	61.9
PSF2-7	182.2	197.6
PSF2-8	173.2	160.7
PSF2-9	205.3	225.1

Tabla 1 Comparación entre los valores de porcentaje de retención de H₂O obtenidos para $T=25\text{ °C}$ Y $T=60\text{ °C}$

En general, existe un aumento en la cantidad de H₂O retenida al aumentar la temperatura. De la misma manera, se aprecia un incremento considerable en el porcentaje de retención de agua en las membranas adicionadas con surfactante a ambas temperaturas. Lo anterior es un indicio del carácter hidrofílico que es debido a la presencia de un surfactante como Pluronic-123® [3, 5, 7]. La explicación del carácter hidrofílico del surfactante se basa en el valor de su balance lipofico-hidrofílico (HLB) el cual es una magnitud que mide la afinidad de un surfactante hacia las moléculas de agua. A valores menores de HLB es más hidrofóbico. El valor HLB del pluronic-123 está en un rango de 7-9 en una escala de 0 a 20, siendo sus valores los correspondientes a una molécula afín al agua. [12].

3. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

A través de las imágenes obtenidas por MEB, se puede comprobar que existe una relación entre la morfología de la sección transversal y el manejo de los parámetros en la síntesis, donde la concentración de polímero en wt%, NS: no solvente (agua o etanol) y TIF: Tiempo de inversión de fase son mencionados [2,13].

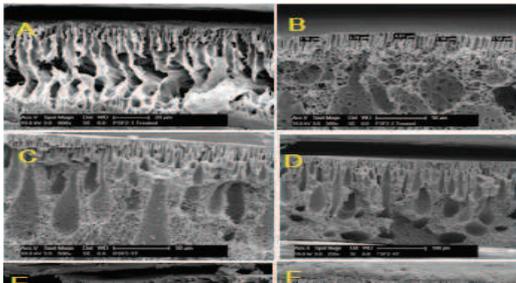


Figura 3 (Izquierda). Imágenes MEB correspondientes a la sección transversal de las membranas de polisulfona obtenidas a partir de diferentes condiciones de síntesis: A) 5 wt% de PSF- NS H₂O - TIF: 10 min, B) 5 wt% PSF- NS: Etanol- TIF: 10 min, C) 5% P

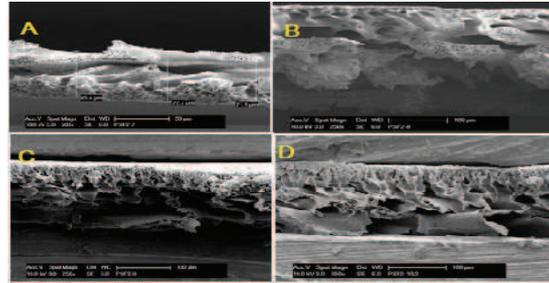


Figura 4. Imágenes MEB correspondientes a la sección transversal de las membranas de polisulfona adicionadas con surfactante, obtenidas a partir de diferentes condiciones: A) 5 wt% PSF-NS: Etanol-TIF: 10 min, PSF/surf. (1:1), B) 5 wt% PSF-NS: Etanol-TI

Se puede apreciar que las membranas B, C y D correspondientes a la imagen 3, poseen una estructura definida, en la cual pueden identificarse dos zonas morfológicamente distintas: la superior que es porosa acanalada (microcavidades) que es la capa que da el carácter selectivo a la membrana y la inferior, que es de aspecto esponjoso que brinda un soporte mecánico [6].

De acuerdo a la literatura, esta morfología asimétrica de la polisulfona, además de poseer tamaño de poro adecuado, es conveniente al aplicarse en procesos de separación, como la ultrafiltración [2]. El análisis a través de esta técnica es igualmente realizado sobre las membranas adicionadas con Pluronic-123. Se puede observar que la morfología es más difusa y menos definida. Sin embargo, en la muestra PSF2-11 (señalada como E en la figura 4) hay una formación ligera de microcavidades en forma de canales. Los resultados indican que es el surfactante que debido a su afinidad por los disolventes polares, afecta el proceso de inversión de fase y se tiene la formación de una sección transversal definida [14].

Conclusiones

Las propiedades analizadas son importantes en una membrana que sea capaz de llevar a cabo un proceso de separación y ser competitiva con aquellas que ya se emplean comercialmente. Hasta el momento se han obtenido resultados prometedores: la estructura cristalina del polímero no se ve afectada por la adición de surfactante. La caracterización por MEB muestra que se pueden obtener morfologías precisas a partir de parámetros de síntesis definidos y por último, que través de los cálculos del % R H₂O, se observa que la hidrofiliidad de la membrana es incrementada considerablemente debido a la adición del surfactante y a una mayor temperatura, lo que la hace susceptible a un menor ensuciamiento y mayor tiempo de vida.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por su valioso apoyo en el financiamiento sobre este proyecto. De la misma manera, se agradece al CNR- Istitute di Tecnologie Avanzate per la Energia (ITAE), así como al Laboratorio Nacional UG por el aporte de sus instalaciones y equipos en la parte experimental de este trabajo.

Bibliografía

- [1] Phale, S. J. & Chendake, J. Y. (2015). Polysulfone based Ultrafiltration Membrane Preparation by Phase Inversion: Parameters Optimization. *International Journal of Science and Research*, 5 (6), 2569-2573.
- [2] Guillen, G. R., Pan, Y., Li, L., & Hoek, E. M. V. (2011). Preparation and Characterization of Membranes Formed by Nonsolvent Induced Phase Separation: A Review. *Industrial & Engineering Chemistry Research ACS*, 50, 3798–3817.
- [3] Wang, Y., Su, Y., Sun, Q., Ma, X. & Jiang, Z. (2006) Generation of anti-biofouling ultrafiltration membrane surface by blending novel branched amphiphilic polymers with polyethersulfone. *Journal of Membrane Science*. (286), 228-236.
- [4] García Ivars, J.. (2015) Obtención y caracterización de membranas poliméricas de ultrafiltración de bajo ensuciamiento y estudio de condiciones de fabricación (tesis doctoral). Universidad Tecnológica de Valencia. Valencia, España (10 -25).
- [5] Tsai, H., Ruaan, R., Wang, D. & Lai, J. (2002). Effect of Temperature and Span Series Surfactant on the Structure of Polysulfone Membranes. *Journal of Applied Polymer Science*, 86,166–173.
- [6] Tsai, H., Huang, D., Ruaan, R. & Lai, J. (2001) Mechanical Properties of Asymmetric Polysulfone Membranes Containing Surfactant as Additives. *Ind. Eng. Chem. Res. ACS*, 40(25), 5917-5922
- [7] Tsaia, H. A., Lia, L. D., Leeb, K. R., Wangb, Y. C., Lib, C., Huangc, J. & Laia, J. Y. (2000). Effect of surfactant addition on the morphology and pervaporation performance of asymmetric polysulfone membranes. *Journal of Membrane Science* (176), 97–103.

- [8] Peng, J., Su, Y., Chen, W., Shi, Q. & Jiang, Z. (2010) . Effects of Coagulation Bath Temperature on the Separation Performance and Antifouling Property of Poly(ether sulfone) Ultrafiltration Membranes. *Ind. Eng. Chem. Res. ACS.* 49(10), 4858–4864.
- [9] Zeng, Q. Z., Wang, P., Yang, Y. & Cui, D. (2006). The relationship between porosity and kinetics parameter of membrane formation in PSF ultrafiltration membrane. *Journal of Membrane Science.* 286 7-11.
- [10] Thürmera, M. B., Polettob, P., Marcolinb, M., Duarteb, J. & Zenib M. (2012). Effect of Non-Solvents Used in the Coagulation Bath on Morphology of PVDF Membranes. *Materials Research,* 15(6), 884-890.
- [11] NECHIFOR, A. C., PANAIT, V., NAFTANAILA, L., D. BATALU, S.I. VOICU (2013) Symmetrically polysulfone membranes obtained by solvent evaporation using carbon nanotubes as additives. *Synthesis, characterization and applications. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* 8(2), p. 875 - 884 .
- [12] Surfactant classified by HLB numbers (Sigma Aldrich 2017) recuperado de <http://www.sigmaaldrich.com/materials-science/material-science-products.html?TablePage=22686648>
- [13] Ladewig, B. & Al-Shaeli, M.N.Z. (2017). *Fundamental of membrane processes.* Springer Singapore. *Fundamentals of Membrane Bioreactors (13-37).* Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd.
- [14] Richards, H. L., Baker P. G. L. & Iwuoha E. (2012) Metal Nanoparticle Modified Polysulfone Membranes for Use in Wastewater Treatment: A Critical Review. *Journal of Surface Engineered Materials and Advanced Technology,* (2), 183-193.

ANÁLISIS DE LA EXPOSICIÓN DE CÉLULAS HeLa A NANOPARTÍCULAS DE ORO RECUBIERTAS CON ÁCIDO FÓLICO

Alejandra Rangel Mendoza^a, Lérica Liss Flores Villavicencio^a, Pablo Cardoso Ávila^b, José Pedro Castruita Domínguez^c, Juan Luis Pichardo Molina^b, Myrna Sabanero López^a, Julio César Villagómez Castro^a

^aDepartamento de Biología, DCNE campus Guanajuato Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, Guanajuato, Guanajuato, 36050, México.

castroj2407@hotmail.com

^bCentro de Investigaciones en Óptica, León, Guanajuato, Lomas del Bosque 115, Lomas del Campestre, 37150, México. jpichardo@cio.mx

^cDepartamento de Ecología CUCBA, Universidad de Guadalajara, Camino Ramón Padilla Sánchez # 2100, Zapopan, Jalisco, 45220, México.

Resumen

Las nanopartículas de oro (NPsAu) destacan especialmente por sus propiedades catalíticas, además, el diseño de un nanomaterial multifuncional es primordial en la nanomedicina para promover una aplicación versátil. Sin embargo, los estudios sobre la toxicidad de las NPsAu son en ocasiones contradictorios. Por tal motivo, en este estudio se analizó la interacción células de cáncer cérvico uterino (HeLa) con NPsAu recubiertas con ácido fólico (NPsAuAF). Las células HeLa (2×10^5 células/mL) crecidas en medio DMEM a 37°C/ 5% CO₂, fueron expuestas a NPsAuAF por 24h, en dilución seriada (350-0.17 μM). Posteriormente, se determinó la viabilidad y actividad metabólica (ensayo de Azul de Tripiano y XTT respectivamente), se analizó el citoesqueleto y núcleo (Faloidina-FITC y DAPI) y se determinó la expresión de la Hsp70 (Western blot, RT-PCR). Los resultados indican que las células HeLa expuestas a NPsAuAF no muestran una diferencia significativa en la actividad metabólica y viabilidad, además, las células no presentan cambios morfológicos ni pierden la capacidad de adhesión al sustrato. El análisis de los microfilamentos y el núcleo indicó la integridad de los organelos. La detección de la proteína y la expresión del gen de la Hsp70, reveló que no existe un estrés celular ni daño genotóxico. La exposición de las células HeLa a las NPsAuAF no inducen un efecto citotóxico y son una potencial herramienta para diversas aplicaciones biológicas.

Palabras clave: *Nanopartículas; Actividad metabólica; Ácido fólico; Terapia fototérmica*

Introducción

Las nanopartículas de metales nobles como el oro (NPsAu), exhiben excelentes propiedades físicas y químicas, intrínsecas a su tamaño nanométrico. Las NPsAu son producidas en distintos tamaños y formas, pueden ser funcionalizadas con un amplio tipo de ligandos. Todo esto, proporciona que las NPsAu despierten un gran interés en diversos campos científicos, especialmente en los sectores biomédico y alimentario, donde se ha descrito su utilización en el tratamiento contra el cáncer o como parte integrante de envases resistentes a la abrasión, con propiedades antimicrobianas [1]. Las NPsAu están dentro de las más estudiadas debido a su gran estabilidad, baja toxicidad y la alta eficiencia de conversión de radiación (Vis-IR) en calor, combinado con la multitud de métodos de síntesis que generan una amplia variedad de formas y tamaños de infinidad de materiales. Presentan por lo tanto multitud de aplicaciones, desde el diagnóstico, terapia génica, el transporte de drogas, inmunoterapia, terapia fototérmica y radioterapia [2,3]. La nanotecnología es un campo interdisciplinario prometedor en el desarrollo de mejores métodos de diagnóstico y tratamiento en diferentes enfermedades, entre ellas el cáncer.

Las modalidades convencionales del tratamiento del cáncer tienen varias limitaciones, incluyendo la falta de eficacia, toxicidad adversa grave, así como la resistencia a los fármacos. En la actualidad,

el descubrimiento de moléculas blanco sobreexpresadas en las células cancerígenas, las cuales participan en las vías moleculares cruciales para el crecimiento tumoral, el mantenimiento y la metástasis. Estas moléculas blanco, son utilizadas para el diseño de un tratamiento específico, por ejemplo: el receptor de folato que es sobreexpresado en la superficie de células de tumores como ovario, riñón, pulmón, cerebro, endometrial, entre otros. [4]. En este sentido, la conjugación de ácido fólico con nanopartículas (NPsAu-AF), es un enfoque novedoso para lograr el objetivo de diseñar moléculas que proporcionen una interacción biológica altamente específica [5]. Sin embargo, actualmente existe la controversia de posibles efectos citotóxicos inducidos por NPs. En el presente trabajo, proponemos el estudio *in vitro* de la interacción de NPs-Au bioconjugadas con ácido fólico con células HeLa y evaluaremos sus posibles efectos citotóxicos en células de cáncer cérvico uterino.

Metodología

Cultivos celulares. Se utilizó la línea celular HeLa (ATCC® CCL2™). Las células se crecieron en medio DMEM (Dubelcco's Modified Eagle's Medium, Gibco), suplementado con 10% suero fetal bovino (Gibco), con atmósfera de 5% CO₂ a 37°C por 48 h.

Nanopartículas de oro acopladas a ácido fólico. Las nanopartículas de oro recubiertas con ácido fólico fueron sintetizadas por el Dr. Juan Luis Pichardo Molina y Dr. Pablo Cardoso Ávila (Centro de Investigaciones en Óptica A.C.). Se utilizaron dos tipos de NPsAu-AF; 1) NPsAu-Cys-BSA-AF: nanopartículas de oro-cisteamina-albumina sérica bovina-ácido fólico, 2) NPsAu-4ATP-BSA-AF: nanopartículas de oro-4-aminotiofenol-albumina sérica bovina-ácido fólico

Determinación de la curva-dosis respuesta. Las células fueron expuestas a diferentes concentraciones de las NPsAu-AF por 24h a 37°C/5% CO₂, para ello se realizó una dilución seriada, iniciando con una concentración de 350 µM de Au. Para el análisis de citotoxicidad se realizaron los ensayos que a continuación se describen.

Ensayo de viabilidad por el método de exclusión de Azul de Tripano. El Azul de Tripano es utilizado para discriminar entre células viables y no viables. Para ello, se adicionó a las células expuestas a NpsAu-AF (21.87µM) una solución de Azul de Tripano al 0.4% (dilución 1:10) y se incubó por 3min. Después, se realizó la cuantificación de las células viables en cámara de Neubauer, usando un microscopio invertido (Primo Vert Carl Zeiss). El porcentaje de las células viables fue normalizado con respecto a las células no expuestas a las NPsAu-AF.

Determinación de la actividad metabólica. Se realizó por el método de XTT (2,3-bis (2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-2-h-tetrazolium-5-carboxanilide), basándose en la reducción de la sal a cristales de formazan solubles en agua, proceso llevado a cabo por las mitocondrias de las células viables. La solución de XTT se preparó con 0.25mg/mL en Menadiona al 0.1mM. Se añadió a las muestras celulares tratadas con las NPAu-AF y se incubó por 90min a 37°C en oscuridad y se midió la absorbencia a 490nm.

Análisis del patrón electroforético y determinación de la Hsp70. Se realizó un homogenado total de las células con/sin exposición a las NPsAu-AF y se realizó una electroforesis en condiciones desnaturizantes (10%), la visualización de las proteínas se obtuvo después de la tinción con azul de Coomassie. Se realizó una inmunotransferencia y se inmunodetectó la proteína

Hsp70, utilizando un anticuerpo contra la Hsp70 (Santa Cruz) y un anticuerpo secundario acoplado a peroxidasa (sigma), después se reveló por quimioluminiscencia (kit de quimioluminiscencia BIORAD). Las imágenes fueron obtenidas usando un equipo de adquisición de imagen (ChemiDoc MP System- BIORAD) utilizando el software Image Lab™ software (BIORAD).

RT-PCR de la Hsp70. Para determinar la expresión del gen que codifica para la proteína Hsp70, se realizó la RT-PCR. Para sintetizar cDNA utilizando el Kit SuperScript III First Strand (Invitrogen®). La amplificación mediante PCR, se realizó utilizando el Kit Master Mix (Bioline®) y como templado el cDNA sintetizado, como control de carga se utilizó la expresión del gen de actina (Oligo directo: ATGGTGGGCATGGGTCAGAAG y reverso CAGGAAGGAAGGCTGGAAGAGTG).

Análisis estadístico. Se realizaron tres experimentos independientes, cada uno con una n=3 y los resultados paramétricos (ANOVA, *p≤ 0.05) se reportaron para la actividad metabólica como la media ± la desviación estándar (SD). Se realizó un análisis de medias por el Método de Dunnett y Tukey (Minitab 18).

Resultados

Se analizó la actividad metabólica mitocondrial de las células HeLa expuestas a las NPsAu-AF (Figura 1), las células no expuestas a NPsAu-AF fueron utilizadas como control negativo y la actividad metabólica fue tomada como el 100% (0.85 Abs). Por otra parte, las células tratadas con 50µM de H₂O₂ para la inducción de un estrés oxidativo, fueron utilizadas como control positivo con una actividad metabólica del 18.5% (0.15 Abs), significativamente diferente con respecto al control negativo y las diferentes concentraciones de NPsAu-AF. Los resultados de la exposición de las células HeLa a las NPsAu-AF, se les realizó un análisis estadístico de ANOVA (*p≤ 0.05), encontrando diferencias significativas. Después, se realizaron pruebas post hoc, por el método de Dunnett y Tukey para determinar la diferencia entre las medias. Al realizar una prueba de medias por el método de Dunnett (control vs cada uno de los tratamientos), se observó que la concentración de 10.93, 21.87 y 350µM de NPsAu-CYS-BSA-AF muestran diferencias significativas con respecto al control negativo. En contraste, las células expuestas a NPsAu-4ATP-BSA-AF no muestran diferencias significativas entre el control negativo y los tratamientos. En el análisis de medias de las concentraciones (Método de Tukey), se observaron diferencias significativas entre algunas concentraciones (Fig. 1).

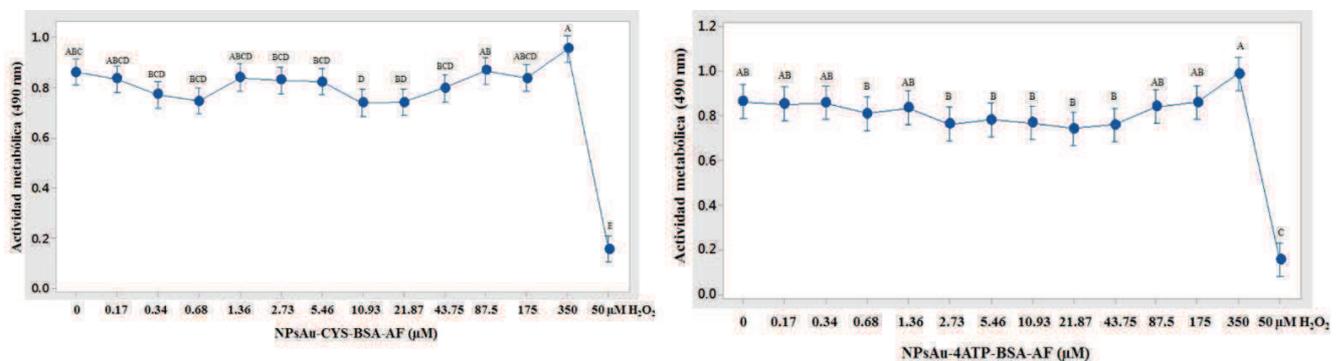


Figura 1. Actividad metabólica mitocondrial de las células HeLa expuestas 24h a las NPsAu-AF. Células HeLa no expuestas a NPsAu-AF fueron utilizadas como control negativo, un tratamiento con 50µM de H₂O₂ durante 30min fue

utilizado como control positivo. Los valores representan la media \pm desviación estándar, Método de Tukey ($n=9$), $*p \geq 0.05$. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes (95% IC para la media).

Las células HeLa expuestas a las NPsAu-AF, no presentan cambios morfológicos ni pierden la capacidad de adhesión a la placa de poliestireno y se mantiene la monocapa celular (Fig. 2b y c), características similares al control (Fig. 2a). En contraste, las células tratadas con 50 μ M de H₂O₂ pierden la morfología epitelial (Fig. 2d). El ensayo de la exclusión del colorante Azul de Tripano, indicó la integridad en la permeabilidad de la membrana celular y la viabilidad de las células expuestas a las NpsAu-AF.

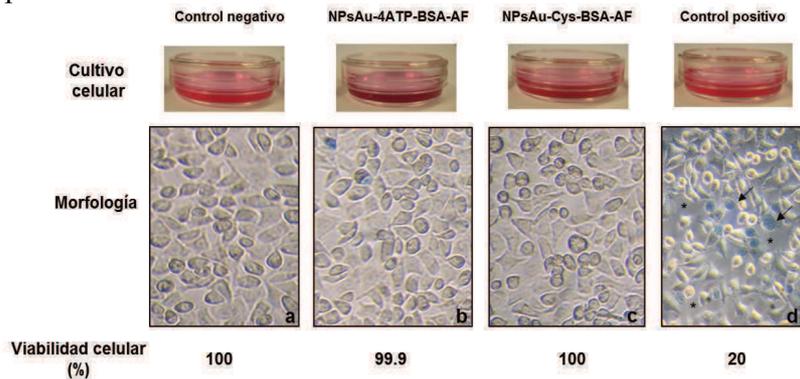


Figura 2. Análisis morfológico y viabilidad de las células HeLa expuestas a las NPsAu-AF. Células HeLa en cultivo con medio DMEM suplementado con 10% SFB con y sin NPsAu-AF. Morfología y determinación de la viabilidad celular (%) por el ensayo de la exclusión del colorante Azul de Tripano. a) Control negativo: Células HeLa no expuestas a NP Au-AF, b y c) Células HeLa expuestas a NPsAu-AF (21.87 μ M), d) Control positivo: células tratadas con 50 μ M de H₂O₂. Las células no viables son teñidas de azul (flecha), espacios sin células (asteriscos).

Al analizar dos organelos importantes en la función celular, se observó que no hubo alteración en la estructura del citoesqueleto y núcleo (Fig.3). Las células HeLa expuestas a las NPsAu-AF no muestran alteraciones en los microfilamentos de actina (Fig. 3b y c) comparado con la muestra control (Fig. 3a). En el núcleo, la sonda fluorescente (DAPI) muestra que no existe una fragmentación nuclear (imagen 3b' y c'). En contraste, el control positivo (daño celular) muestra pérdida de las uniones celulares y la estructura de los microfilamentos (Fig. 3d, flechas) y como consecuencia pérdida de la morfología, sin embargo, los núcleos no muestran un daño evidente (Fig. 3d', flechas).

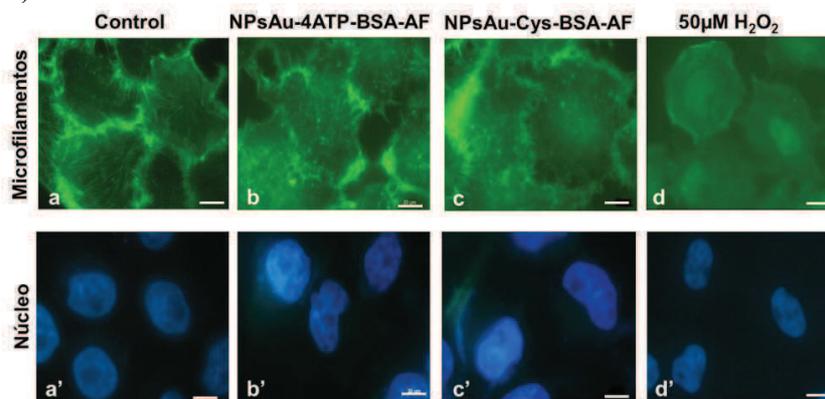


Figura 3. Análisis del citoesqueleto y núcleo de células expuestas a las NPsAu-AF. Los microfilamentos fueron teñidos con Faloidina-FITC y el núcleo con DAPI. Células expuestas a 50 μ M H₂O₂ fueron utilizadas como control de daño celular al citoesqueleto. Las células fueron expuestas a NPsAu-AF (21.87 μ M) por 24h. La barra de escala=20 μ m

El análisis del perfil de proteínas indica que no existe una alteración en el patrón de proteínas totales (Fig.4) de las células expuestas a las NPsAu-AF, sin embargo, en el control positivo existe una disminución en el patrón de proteínas totales (Fig. 4 carril 4).

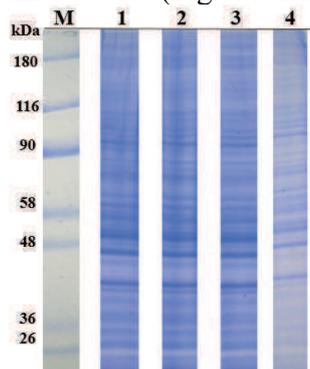


Figura 4. Perfil de proteínas totales de células HeLa expuestas a NPsAu-AF. Carril: M. Marcadores de peso molecular, 1. Control. Células no expuestas a NPsAu-AF; Células expuestas a NPsAu-AF (21.87 μ M): 2. NPsAu-Cys-BSA-AF, 3. NPsAu-4ATP-BSA-AF, 4. 50 μ M H₂O₂.

La detección de la Hsp70 (fig.5), proteína involucrada en procesos de estrés celular, reveló que independientemente de la funcionalización y bioconjugación, no induce la expresión de la proteína Hsp70 (fig. 5 carril 2 y 3) comparado con las células HeLa que fueron expuestas a 50 μ M H₂O₂ (estrés oxidativo) por 30min (fig.5 carril 4).



Figura 5 Inmunodetección de la Hsp 70 de células HeLa expuestas a NPsAu-AF. Carril: 1) Control. Células no expuestas a NPsAu-AF, 2) NPsAu-Cys-BSA-AF, 3) NPsAu-4ATP-BSA-AF, 4) H₂O₂ al 3%.

El análisis electroforético del ácido ribonucleico (RNA) de las células HeLa expuestas a NPsAu-AF, indicó que no había degradación del material genético por efecto de la exposición a las NPsAu independientemente de la funcionalización (Fig. 6).

Por otra parte, el ensayo de RT-PCR reveló que la exposición de las células HeLa a las NPsAu-AF, no inducen la expresión del gen que codifica para la proteína Hsp70 (Figura 7).

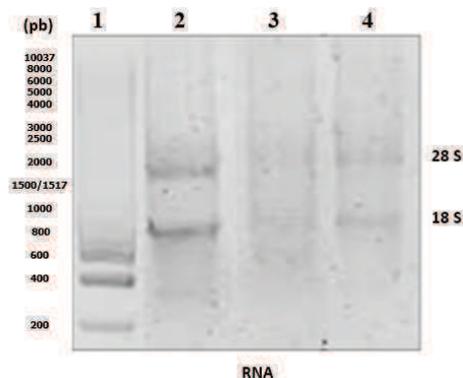


Figura 6. Análisis electroforético del RNA aislado de células HeLa en diferentes condiciones. Carril: Carril: 1) Marcador de tamaño molecular (HyperLadder™ 1Kb Biorline), 2) Control: células sin exponer a las NPsAu, 3) NPsAu-4ATP-BSA-AF, 4) NPsAu-Cys-BSA-AF. La exposición se realizó por 24h/37°C.

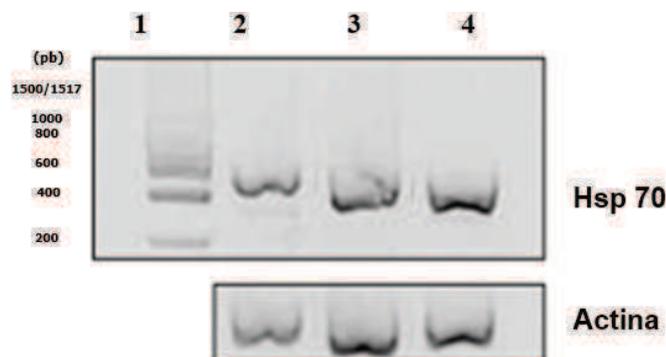


Figura 7. Expresión del gen que codifica para la proteína Hsp 70 de células HeLa expuestas a diferentes condiciones. Carril: 1) Marcador de tamaño molecular (HyperLadder™ 1Kb Biorline), 2) Control: células sin exponer a las NPsAu, 3) NPsAu-4ATP-BSA-AF, 4) NPsAu-Cys-BSA-AF. La exposición se realizó por 24h/37°C

Conclusión

Las nanopartículas de oro funcionalizadas con moléculas orgánicas y bioconjugadas con ácido fólico, no inducen un efecto citotóxico en células HeLa que sobreexpresan los receptores de folato. De esta manera el uso de nanopartículas de oro acopladas a ácido fólico es una potencial herramienta para diversas aplicaciones biológicas

Bibliografía

[1] Mateo D., Morales P., Ávalos A., Haza A.I. (2013). “Nanopartículas de oro: aplicaciones y citotoxicidad in vitro. Gold nanoparticles: Applications and in vitro cytotoxicity”. *Acta Toxicol. Argent.* 21: 102-109

[2] Pérez M. (2016) “Estudio del mecanismo molecular de apoptosis y de la seguridad de la terapia fototérmica aplicada al tratamiento del cáncer utilizando nanoprismas de oro funcionalizados”. Tesis doctoral. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular. Universidad de Zaragoza. 195 pág. (1, 40, 41, 43, 50, 51)

- [3] Ravichandrana M., Ozab G., Velumania S., Tapia Ramírez J., Verad A., Leijad L. (2017) “Design and evaluation of surface functionalized superparamagneto-plasmonic nanoparticles for cancer therapeutics”, *Int. J. of Pharmaceutics* 524: 16–29
- [4] Assaraf, Y. G., Leamon, C. P. & Reddy J. A. (2014). “The folate receptor as a rational therapeutic target for personalized cancer treatment”, *Drug Resistance Updates*. 17: 89-95.
- [5] Ngernyuang, N., Seubwai, W., Daduang, S., Boonsiri, P., Limpai boon, T. & Daduang, J. (2015) “Targeted delivery of 5-fluorouracil to cholangiocarcinoma cells using folic acid as a targeting agent”, *Materials Science and Engineering C* 60: 411-415.

DESARROLLO DE BIOSENSORES BACTERIANOS PARA DETERMINAR LA PRESENCIA DE AGENTES CAUSANTES DE DAÑO CELULAR

Josué Daniel Mora Garduño^a, Bernardo Franco Bárcenas^b

^a Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, Col. Noria Alta, Guanajuato, Guanajuato, C. P. 36050, México. jhosdj@live.com.mx

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

Resumen

Los biosensores son dispositivos biológicos empleados para determinar ciertos analitos. En contraste con las técnicas analíticas tradicionales, los biosensores de células completas nos brindan información del efecto de un analito en un sistema vivo, así como de su biodisponibilidad. También representan una herramienta útil para determinar el mecanismo primario de acción antibacteriano de fármacos, xenobióticos y materiales sintéticos.

En el presente trabajo estamos desarrollando biosensores cualitativos y cuantitativos basados en células de la bacteria *E. coli*, la cual se ha modificado genéticamente con un plásmido reportero basado, ya sea en la cromoproteína AmilC o en la cromofluoroproteína GFP, y cuya transcripción se activa de manera específica en presencia de alguna sustancia que cause daño celular bacteriano. Con el desarrollo de estos biosensores podríamos medir en tiempo real el efecto de un compuesto tóxico, probar blancos celulares de moléculas nuevas, así como estudiar su mecanismo de daño celular. Además, al emplear como gen reportero a la cromoproteína AmilC, la cual puede ser detectada a simple vista, no se requiere de reactivos o equipos sofisticados para medir la respuesta específica generada por el biosensor ante un estímulo.

Palabras clave: *Biosensores de células completas, AmilCP, JuniperGFP, DnaK, KatG, RecA, FabA.*

Introducción

Un biosensor es un dispositivo o sistema de medición compuesto de un componente de detección biológico, el cual reconoce un cambio físico o químico, acoplado a un elemento de transducción que produce una señal medible en respuesta a un cambio ambiental [1]. Los biosensores pueden ser clasificados en tres tipos en base al elemento de detección biológico, el cual puede ser molecular (enzimas, anticuerpos, liposomas, ADN), celular (células completas) o tisular [1, 2, 3]. Los biosensores hacen uso de una variedad de transductores tales como electroquímicos, ópticos, acústicos y electrónicos [3].

A través de la manipulación de plásmidos y genomas bacterianos, han sido diseñados sistemas de detección de células completas bacterianas que pueden servir como nuevos métodos para la detección y caracterización de un analito, y como alternativas más eficientes y económicas a las técnicas analíticas tradicionales [4]. Si bien, el análisis químico determina la cantidad total de un contaminante o analito en una muestra con alta sensibilidad, selectividad y precisión, no proporciona información sobre la fracción biodisponible y su efecto en un sistema vivo [5]. Con el empleo de biosensores de células completas además de que nos proporcionan información cuantitativa y cualitativa de un analito, se obtiene información de un estímulo en un sistema vivo, se puede probar blancos celulares de moléculas nuevas [2, 6], así como estudiar el mecanismo de acción primario de antibióticos, compuestos antimicrobianos y xenobióticos [7]. Por lo anterior,

los biosensores de células completas han sido aplicados exitosamente en áreas tales como monitoreo ambiental, análisis de alimentos, farmacología y detección de drogas [8]. Algunas de las mayores limitaciones del uso de los biosensores de células completas son, la difusión de productos y substratos a través de la pared celular y la afinidad del analito por el sistema regulatorio de la célula [3, 5].

Los sistemas de detección basados en células diseñadas genéticamente pueden provocar una respuesta en presencia de un analito mediante el acoplamiento de un elemento de detección (proteínas regulatorias y secuencias promotoras) a un gen reportero a través de la fusión génica [1]. Los sistemas de biosensores bacterianos pueden ser categorizados en dos diferentes tipos, dependiendo de si la expresión de la proteína reportera, es constitutiva o inducible [4]. En el caso de genes reporteros fusionados a promotores inducibles; un analito biodisponible que puede pasar a través de la membrana celular vía absorción, transporte activo o pasivo, y unirse a una proteína regulatoria, activa la transcripción del gen reportero. La posterior traducción del RNA mensajero (mRNA) reportero, produce una proteína que genera una señal en presencia de un substrato o un estímulo externo [1]. Hay algunos genes reporteros (*luc*, *lux*, *gfp*, *lacZ* y *crtA*) que se han usado exitosamente en los biosensores de células completas, algunos de los cuales pueden presentar desventajas en su uso, como complejidad de detección, el uso de substratos de alto costo y la necesidad de equipo sofisticado para su detección [7, 8]. Para la generación de biosensores de células completas pueden emplearse células eucariotas o procariotas [1,8]. Debido al profundo conocimiento que se tiene sobre la bioquímica y genética de la bacteria *E. coli*, este microorganismo es ideal como hospedero de construcciones reporteras basadas en plásmidos [5]. En el presente trabajo estamos desarrollando biosensores cualitativos y cuantitativos basados en células de la bacteria *E. coli*, la cual se ha modificado genéticamente con un plásmido que contiene el gen reportero ya sea AmilCP o JuniperGFP y cuya transcripción se activa de manera específica por un promotor inducible ante la presencia de algún daño celular bacteriano. Para la construcción de los plásmidos reporteros se usó las secuencias promotoras de genes que se activan cuando hay daño celular como son a la membrana celular (promotor FabA), a proteínas (promotor DnaK), al ADN (promotor RecA) y por estrés oxidativo (promotor KatG).

Metodología

Cultivo celular

Se empleó la cepa XL1-Blue de *E. coli*, la cual presenta el siguiente genotipo: *recA1 endA1 gyrA96 thi-1 hsdR17 supE44 relA1 lac [F' proAB lacIqZΔM15 Tn10 (Tetr)]* (chem-agilent) [9]. Se emplearon medios de cultivo Luria-Bertani con diferentes antibióticos como ampicilina (Amp) y cloranfenicol (Cm).

Clonación de las secuencias sintéticas AmilCP y JuniperGFP en el plásmido pGEM®-T Easy Vector

Se realizó el diseño bioinformático (realizado por el Dr. Bernardo Franco Bárcenas) de las secuencias AmilCJuniper y Juniper AmilC, las cuales fueron tomadas de la base de datos de iGEM [10, 11] y se mandaron a sintetizar. Ambas secuencias se amplificaron con la enzima Herculasa II (Agilent) con los oligos iniciadores 1 y 2 mostrados en la tabla 1, en un volumen total de reacción de 50 μ L, en las siguientes condiciones de PCR: 94 °C por 3 min, 34 ciclos de 94 °C por 30 s, alineamiento 55 °C por 30 s, y 72 °C por 1.5 min; finalmente, 1 ciclo de 5 min a 72 °C y 4 °C para finalizar el programa. Los amplicones fueron purificados por gel de agarosa empleando el kit

PureLink® Quick GelExtraction Kit (Invitrogen). Se realizó la clonación de los fragmentos purificados por gel, en el plásmido de clonación pGEM®-T Easy Vector (Promega).

Digestión de los plásmidos pEXT20 y pACT3, y ligación con las secuencias JuniperAmilC y AmilCJuniper

Se realizó la digestión del plásmido pEXT20 y una digestión parcial del plásmido pACT3 [12, 13, 14], que se usarán como esqueletos de los plásmidos reporteros, con la enzima SspI (NEB). Al realizar la digestión en ambos plásmidos se eliminan los siguientes elementos: el sitio múltiple de clonación (MCS), el terminador T2 y el promotor híbrido tac. Los plásmidos digeridos fueron purificados por gel de agarosa y se ligaron con las secuencias JuniperAmilC y AmilCJuniper, empleando la enzima T4 DNA ligasa (Promega).

Amplificación de los promotores FabA, KatG, RecA y DnaK

Se llevó a cabo la amplificación con GoTaq 1X Green master mix (Promega) de los promotores FabA, KatG, RecA y DnaK, utilizando DNA genómico de *E. coli* como DNA molde. Se usó los oligos iniciadores 3-10 mostrados en la tabla 1, en un volumen total de reacción de 20 μ L, en las siguientes condiciones de PCR: 94 °C por 5 min, 35 ciclos de 94 °C por 30 s, alineamiento 50 °C por 30 s, y 72 °C por 1 min; finalmente, 1 ciclo de 5 min a 72 °C y 4 °C para finalizar el programa. Los amplicones fueron purificados por gel de agarosa.

Tabla 1. Oligonucleótidos iniciadores empleados.

Número del oligo iniciador	Nombre del oligo iniciador	Secuencia (5'→3')	Tamaño del amplicón (pb)
1	Juniper_Fw	acgatataagttgtaCCCCGAAAAGTGCCACCT	1819 (JuniperAmilC)
2	Juniper_Rv	ctctatttttcgagatGTTCTGAGGTCATTACTGGTATAAACG	1816 (AmilCJuniper)
3	FabA_Fw ClaI	CCTT ATCGAT CATGGCCATTACGTTGGC	(promotor FabA)
4	FabA_Rv XhoI	CCTTCTCGAGCATGTTCTCTGTAAGCCTTATTTTATT	109
5	KatG_Fw ClaI	CCTT ATCGAT GAAATGAGGGCGGGAAAA	(promotor KatG)
6	KatG_Rv XhoI	CCTTCTCGAGCATCAATGTGCTCCCCTCTAC	264
7	RecA_Fw ClaI	CCTT ATCGAT AGAGAAGCCTGTCCGGCAC	(promotor RecA)
8	RecA_Rv XhoI	CCTTCTCGAGCATTTTTACTCCTGTCTATGCCG	243
9	DnaK_Fw ClaI	CCTT ATCGAT AAAAGCACAAAAAATTTTGCATC	(promotor DnaK)
10	DnaK_Rv XhoI	CCTTCTCGAGCATCTAAACGCTCTCCACTATATATTCG	183

Resultados

En la figura 1A, se puede observar las secuencias reporteras JuniperAmilC y AmilCJuniper, cada una de las cuales consta de dos genes, uno que codifica para la cromoproteína azul AmilC y otro que codifica para la cromofluoroproteína JuniperGFP. La cromoproteína AmilC es producida de manera natural por la anémona *Acropora millepora*, la cual tiene un máximo de excitación a 588 nm, produciendo una coloración azul/púrpura visible a simple vista, por lo que no requiere de instrumentos para ser observada [10]. La cromofluoroproteína JuniperGFP es una proteína quimérica de 237 aminoácidos (aa) y 26.6 kDa, creada por la empresa DNA 2.0, la cual en luz visible puede observarse de color amarillo a simple vista, pero en luz UV se observa de color verde fluorescente, presentando un máximo de excitación y de emisión de 508 nm y 521 nm, respectivamente [11]. Entre ambos genes de las secuencias reporteras JuniperAmilC y

AmilCJuniper hay un terminador fuerte, razón por la cual en un principio sólo se expresa el primer gen del extremo 5' en cada secuencia. Esto nos ayuda a seleccionar aquellas clonas que contienen el vector ligado a la secuencia reportera, por color (colonias moradas) en el caso de AmilCJuniper, o por fluorescencia en el caso de JuniperAmilC. Posteriormente se sustituye el primer gen junto con su promotor constitutivo de cada secuencia reportera, por un promotor inducible ante algún daño celular (KatG, RecA, DnaK y FabA) el cual ahora activa la expresión del segundo gen. Con esto se generan plásmidos reporteros cualitativos (gen reportero AmilC) y cuantitativos (gen reportero JuniperGFP).

Estas secuencias reporteras se clonaron en el plásmido pGEM® T-Easy Vector, observándose de color moradas aquellas colonias que contiene el vector con la secuencia reportera AmilCJuniper, y de color amarillo o verde fluorescente aquellas colonias que contienen el vector con la secuencia reportera JuniperAmilC (figura 1C).

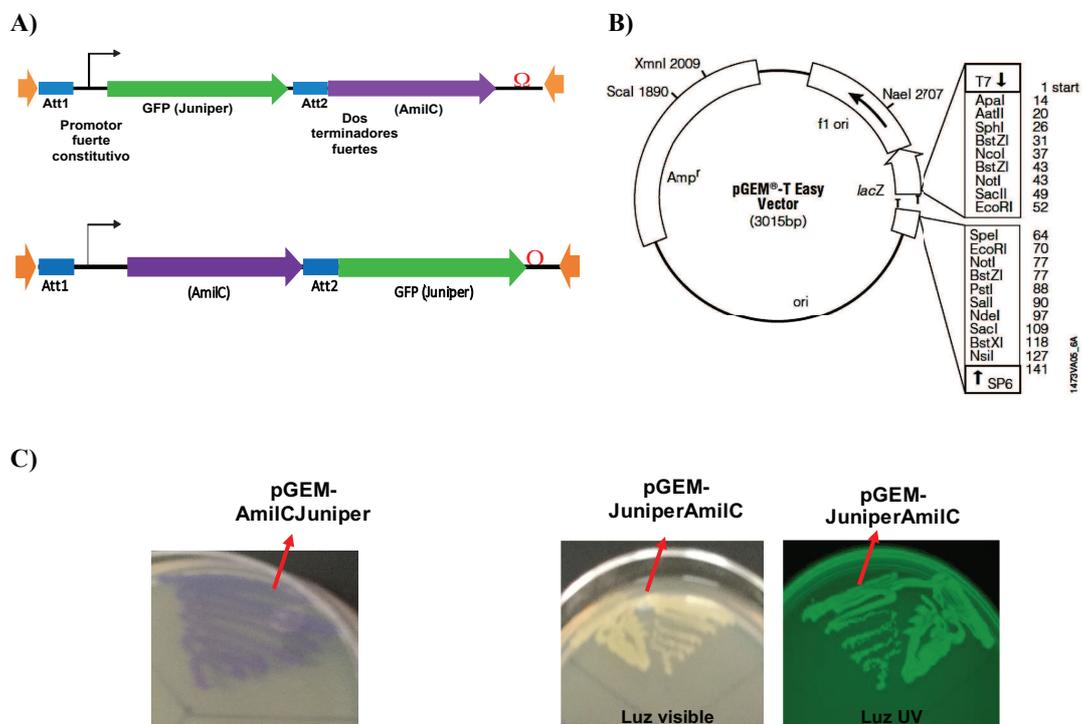


Figura 1. Clonación de las secuencias reporteras en el plásmido de clonación pGEM® T- Easy Vector. A) Secuencias sintéticas JuniperAmilC (1819 pb) y AmilCJuniper (1816 pb), B) Plásmido de clonación pGEM, C) Izquierda. Clona de *E. coli* que contiene el plásmido pGEM-AmilCJuniper(morada). Derecha. Clona de *E. coli* que contiene el plásmido pGEM-JuniperAmilC en presencia de luz visible (amarilla) y luz UV (verde fluorescente).

Debido a que los plásmidos de expresión pEXT20 y pACT3 se encuentran libre de patente, éstos se emplearon como esqueletos de los plásmidos reporteros (figura 2). Además, cada uno presenta diferente casete de resistencia y distinto número de copias. Se realizó la digestión de cada plásmido con la enzima SspI y posteriormente se ligó cada secuencia reportera con cada uno de los plásmidos ya digeridos (figura 2B).

Por otra parte, se amplificó y purificó por gel los promotores inducibles ante algún daño celular (figura 2C).

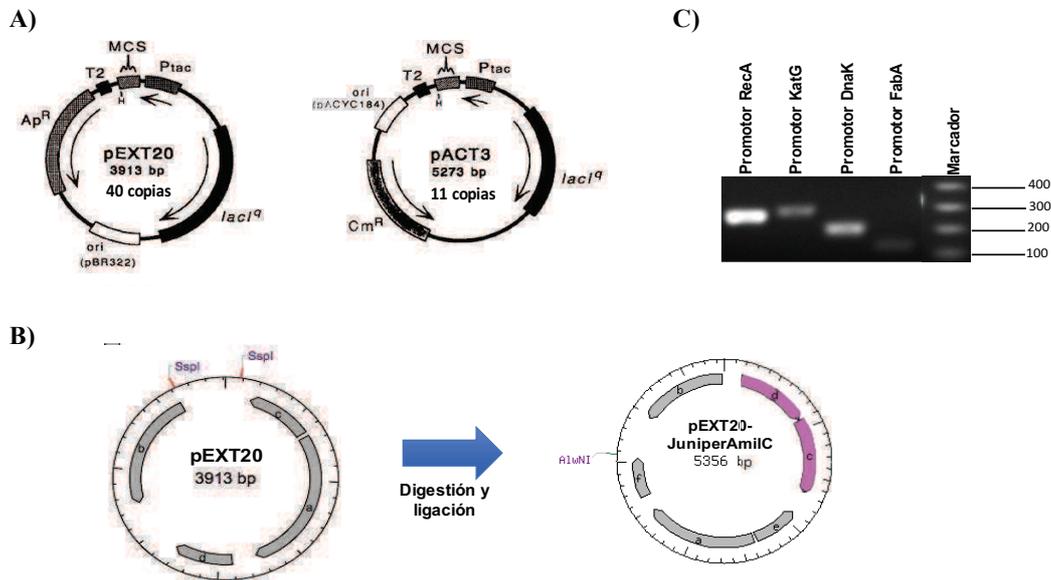


Figura 2. Empleo de los plásmidos pEXT20 y pACT3 como esqueletos de los plásmidos reporteros. A) Plásmidos pEXT20 (40 copias) y pACT3 (11 copias). B) Digestión del plásmido pEXT20 con la enzima SspI y posterior ligación con JuniperAmilC para la construcción del plásmido reportero cualitativo. C) amplificación y purificación por gel de los promotores RecA (243 pb), KatG (264 pb), DnaK (183 pb) y FabA (109 pb).

Conclusiones

Con el trabajo experimental realizado hasta el momento, se ha logrado clonar cada secuencia reportera (JuniperAmilC y AmilCJuniper), así como ligar estas secuencias con los plásmidos pEXT20 y pACT3. Lo que falta por realizar es sustituir el primer gen de cada secuencia reportera por los promotores inducibles ante algún daño celular, y así generar los plásmidos reporteros basados en los genes AmilC o JuniperGFP. Una vez teniendo las construcciones de los plásmidos reporteros se introducirán en la bacteria *E. coli* para poder probar el funcionamiento del biosensor generado. Con el desarrollo de estos biosensores bacterianos, podremos detectar y estudiar el efecto biológico de un nuevo fármaco o compuesto en una célula, así como estudiar la biodisponibilidad de un analito en una muestra agua o tierra, todo esto de manera cualitativa y cuantitativa.

Bibliografía

- [1] Daunert, S. *et al.* (2000) "Genetically Engineered Whole-Cell Sensing Systems: Coupling Biological Recognition with Reporter Genes", *Chem. Rev.*, 100, (7), 2705-2738.
- [2] Bouse, Luc. (1996) "Whole Cell Biosensors", *Sensors and Actuators*, 34, (1-3), 270-275.
- [3] D' Souza, SF. (2001) "Microbial Biosensors", *Biosensors and Bioelectronics*, 16, (6), 337-353.
- [4] Raut, N. *et al.* (2012) "Engineered cells as biosensing systems in biomedical analysis", *Anal Bioanal Chem*, 402, (10), 3147-3159.

- [5] Robbens, J. *et al.* (2010) “*Escherichia coli* as a bioreporter in ecotoxicology”, *Appl Microbiol Biotechnol*, 88, (5), 1007-1025.
- [6] Jones, A. M. *et al.* (2013) “*In vivo* biochemistry: applications for small molecule biosensors in plant biology”, *Current Opinion in Plant Biology*, 16, (3), 389-395.
- [7] Padilla-Martínez, F. *et al.* (2015) “Cell damage detection using *Escherichia coli* reporter plasmids: fluorescent and colorimetric assays”, *Arch Microbiol*, 197, (6), 815-821.
- [8] Gui, Q. *et al.* (2017) “The Application of Whole Cell-Based Biosensors for Use in Environmental Analysis and in Medical Diagnostics”, *Sensors*, 17, (7), 1623-1634.
- [9] <http://www.chem-agilent.com/pdf/strata/200249.pdf>
- [10] http://parts.igem.org/wiki/index.php/Part:BBa_K592009
- [11] http://parts.igem.org/wiki/index.php/Part:BBa_J97001
- [12] Dykxhoorn, D.M. *et al.* (1996) “A set of compatible tac promoter expression vectors”, *Gene*, 177, (1-2), 133-136.
- [13] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/U51557.1?report=fasta>
- [14] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/U51556.1?report=fasta>

EFFECTO DEL ESTRÉS NUTRICIONAL Y DE LA INTERACCIÓN CON BACTERIAS SOBRE LA EXPRESIÓN DE GENES RELACIONADOS CON LA VIRULENCIA DE ENTAMOEBA HISTOLYTICA.

Alcántar Aranda María de Guadalupe^a, Padilla Vaca Luis Felipe^b, Saavedra Salazar Faridi, Anaya Velázquez Fernando^b, Franco Barcenás Bernardo..

^a División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato Noria Alta S/N, Guanajuato, Guanajuato, 36050, México. alcantarmdg@gmail.com

^b Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato Noria Alta S/N, Guanajuato, Guanajuato, 36050, México. padillaf@ugto.mx

Resumen

La amibiasis es una infección intestinal o extraintestinal causada por *Entamoeba histolytica*, se encuentra dentro de las principales causas de muerte generadas por infecciones parasitarias en el mundo. El proceso patogénico se vincula con moléculas que participan directa e indirectamente denominadas factores y determinantes de virulencia, respectivamente. Miembros de las familias AIG y Rab son moléculas que se ha sugerido participan como determinantes de virulencia. En el presente trabajo se comparó la expresión de los genes *ehaig1* y *ehrab8* en cepas de diferente virulencia cultivadas en presencia de bacterias y con déficit nutricional. La expresión del gen *ehaig1* disminuyó significativamente en cepas cultivadas con bacterias y fue afectada por el déficit nutricional. La expresión del gen *ehrab8* en cepas virulentas disminuyó en presencia de bacterias y aumentó con el déficit nutricional. Esta es la primera evidencia donde se muestra que la expresión de los genes *ehaig1* y *ehrab8* se expresan diferencialmente bajo diferentes condiciones de cultivo, lo cual permitirá iniciar estudios sobre su regulación en el proceso adaptativo a diferentes condiciones de cultivo.

Palabras clave: *Entamoeba histolytica*; Determinante de virulencia; Interacción Amiba-bacteria; Rabs; AIGs

Introducción

AMIBIASIS

La amibiasis es una infección intestinal o extraintestinal provocada por *Entamoeba histolytica*. Es considerada un problema de salud pública, siendo causante de aproximadamente 48 millones de casos y de 70-100 mil muertes al año, presentándose con mayor frecuencia en países en vías de desarrollo. [1]. Dentro del ciclo de vida de *E. histolytica*, se presenta en dos formas celulares: el quiste que es la forma infectiva y el trofozoíto que es la forma invasiva. El ciclo de vida de *E. histolytica* comienza con el consumo de quistes maduros a través de agua y alimentos contaminados, los cuales viajan por el sistema digestivo hasta llegar a la porción terminal del íleon, donde se desenquistan y se liberan los trofozoítos, los cuales migran al colon, donde pueden permanecer como comensales o invadir la mucosa intestinal. Los trofozoítos presentes en el colon bajo ciertas condiciones forman un quiste tetranucleado, completando así su ciclo de vida [2]. Aunque la mayoría de las infecciones son asintomáticas, en las infecciones intestinales se puede presentar disentería, colitis fulminante, apendicitis amibiana y el ameboma del colon como las manifestaciones más severas. De la amibiasis extraintestinal la complicación más común es el absceso hepático amibiano [3]. El diagnóstico tradicional es la demostración de presencia de quistes o trofozoítos de *E. histolytica* en muestras de heces por medio de microscopía convencional [4].

Virulencia de *E. histolytica*.

En la virulencia de *E. histolytica* se encuentran involucrados los factores y determinantes de virulencia. Las proteínas que pueden producir daño a las células de hospedero son denominadas factores de virulencia. Dentro de esta clasificación se encuentran las lectinas específicas que interactúan con las moléculas de la superficie de células blanco para lograr la adhesión a la célula, el amebaporo el cual genera poros y causa lisis celular y las cisteín proteasas relacionadas con la degradación de la matriz extracelular [5].

Las moléculas indirectamente involucradas en el proceso patogénico son denominadas determinantes de virulencia, las cuales tienen relación en la regulación de expresión de factores de virulencia, proteger al parásito durante el proceso infectivo o conferir alta plasticidad metabólica favoreciendo su adaptación y supervivencia ante factores del hospedero [6]. Entre las moléculas candidatas como determinantes de virulencia se encuentran las esfingomielinasas, AIGs y Rabs. Las proteínas AIG1 son pequeñas GTPasas, identificadas originalmente en plantas, donde se les relaciona con resistencia a infecciones bacterianas y en la respuesta al estrés. En *E. histolytica* las proteínas AIG1 son codificadas por una familia de genes [7] y se expresan diferencialmente en cepas de diferente virulencia [8]. Las Rab GTPasas constituyen el más amplio grupo de las GTPasas pequeñas dentro de *E. histolytica* y han sido caracterizadas por la función de regular rutas de tráfico vesicular [9]. El procesamiento de preRNAm, debe llevarse a cabo para convertirse en un RNA maduro y ser transportado al citoplasma de la célula para su traducción a proteína [10]. Dentro de las Rab GTPasas existen genes *ehrab*, que procesan diferencialmente sus intrones, la cual puede estar relacionada con la virulencia de *E. histolytica* [11].

Efecto de las condiciones de cultivo sobre la virulencia de *E. histolytica*.

Se ha sugerido que la microbiota en el intestino podría contribuir a la expresión patogénica de otros microorganismos, en particular sobre la virulencia de *E. histolytica* [12]. Se ha demostrado que la interacción de bacterias específicas con trofozoítos de *E. histolytica* modula la virulencia de este parásito [13]. El déficit nutricional también podría relacionarse con la expresión de genes involucrados en la virulencia de *E. histolytica*.

En el presente trabajo se pretende evaluar la expresión de genes descritos como determinantes de virulencia en diferentes cepas de *E. histolytica* y el efecto del cultivo con bacterias y en estrés nutricional.

Metodología

Crecimiento de E. histolytica en cultivo monoxénico con E. coli y con bajo déficit nutricional.

Se cultivaron trofozoítos de *E. histolytica* en medio TYI-S-33 en condiciones axénicas y en presencia de *E. coli* en cultivo monoxénico. Los trofozoítos de la cepa virulenta HM1 y la no virulenta UG10 se sometieron a estrés nutricional al cultivarlas en 80% de suero.

Extracción y purificación de ARN y síntesis de cDNA.

Se obtuvo RNA total de amibas cultivadas bajo las siguientes condiciones de cultivo: axénica, monoxénica, 100% de suero y 80% de suero. El RNA se obtuvo utilizando el reactivo Trizol (Sigma) y el RNA obtenido se trató con DNasa.

La síntesis de cDNA se realizó utilizando la enzima transcriptasa reversa y oligo (dT) usando el sistema Superscript II (Invitrogen).

PCR. El cDNA sintetizado se utilizó como plantilla para la amplificación del gen *EhRab8*, *EhAIG* y *GAPDH* (control) empleando el kit GoTaq Green Master Mix (Promega) y pares de oligonucleótidos específicos para cada gen.

Resultados

De los trofozoitos cultivados bajo las condiciones previamente mencionadas se realizó la extracción y purificación del RNA total, el cual se muestra en la Figura 1, donde se observa la integridad de los ribosomales. Para comprobar la ausencia de DNA genómico se realizó una PCR para amplificar un fragmento del gen *ehgapdh* que es de expresión constitutiva, utilizando como plantilla el RNA obtenido y como control positivo el cDNA de la cepa HM1, donde solo se generó amplificación en el carril positivo como se muestra en la Figura 2, por lo que el RNA es de buena calidad y libre de contaminación de DNA genómico para la síntesis del cDNA.

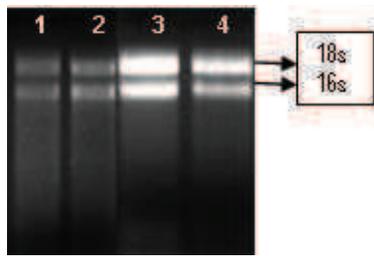


Figura 1. RNA total de *E. histolytica* cultivada bajo diferentes condiciones. Se separó en un gel de agarosa al 1.5% teñido con bromuro de etidio. 1, Axénica (HM1); 2, Monoxénica (HM1); 3, 100% suero (UG10); 4, 80% suero (UG10).

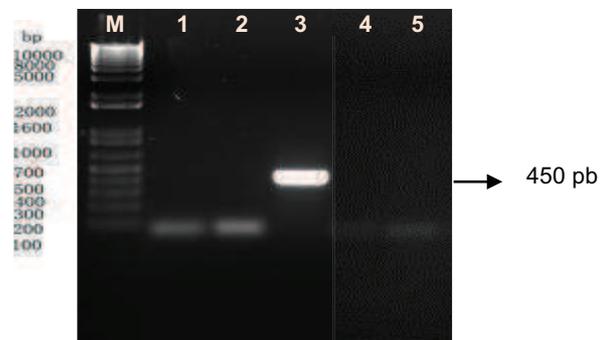


Figura 2. RNA libre de gADN. Amplificación del gen *Ehgapdh* de expresión constitutiva en *E. histolytica*. 1- Axénica (HM1), 2-Monoxénica (HM1), 3-cDNA HM1, 4-100% suero (UG10), 5-80% suero (UG10), M-Marcador de tamaño en pares de bases RNA total de *E. histolytica* cultivada bajo diferentes condiciones.

A partir del RNA purificado se realizó la síntesis del cDNA, el cual se usó como plantilla para la amplificación por PCR de un fragmento del gen *ehgapdh* de expresión constitutiva. También se incluyeron otros cDNAs sintetizados previamente en el laboratorio de amibas polixénicas y reaxenizadas. En la Figura 3 se presenta la amplificación del fragmento del gen *ehgapdh* para todas las muestras y con niveles de expresión similares.

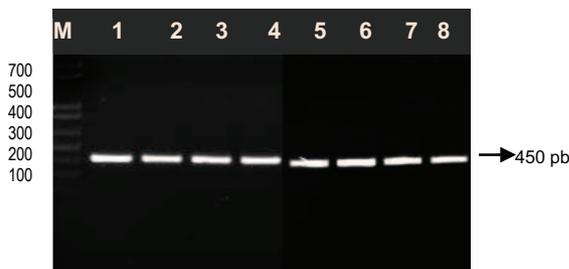


Figura 3. Amplificación de gen *Ehgapdh* utilizado como plantilla los cDNA obtenidos (1-4). 1-Axénica(HM1), 2-Monoxénica(HM1), 3- 100% suero(UG10), 4-80% suero(UG10), 5-Polixénica, 6-Reaxénisada, 7- 60% suero, 8-60%peptona, M-Marcador de tamaño en pares de bases. RNA total de *E. histolytica* cultivada bajo diferentes condiciones.

Se evaluó la expresión del gen *ehaig* relacionado con la virulencia de *E. histolytica* en las cepas de alta virulencia HM1 en las condiciones axénica, monoxénica, polixénica, 60% suero y 60% peptona; y en las de baja virulencia UG10 en condiciones de 100% de suero y 80% suero.

En la Figura 4, se presenta el resultado más relevante en donde la expresión del gen *ehaig* disminuye drásticamente en la cepa monoxénica y polixénica con respecto a la cepa axénica de la cual se derivaron. El déficit de suero no afecta su expresión, mientras que el déficit de peptona aumenta su expresión en la cepa polixénica. Los resultados obtenidos durante la interacción con bacterias contrastan con lo reportado en plantas, donde aumenta su expresión frente al daño con bacterias. Es de interés evaluar la expresión del gen *ehaig* en diferentes condiciones de interacción con varios tipos de bacterias.



Figura 4. Amplificación de gen *aig*. Se corrió en un gel de agarosa al 1.5%. 1-Axénica (HM1), 2-Monoxénica(HM1), 3- 100% suero(UG10), 4-80% suero(UG10), 5-Polixénica, 6-Reaxénisada, 7- 60%suero, 8- 60%peptona, M-Marcador de tamaño en pares de bases.

Se evaluó la expresión y procesamiento del transcrito del gen *ehrab* en varias cepas y condiciones de cultivo de *E. histolytica*. En la Figura 5, se observa que la expresión disminuye en cultivos monoxénicos y polixénicos y aumenta en cultivos polixénicos sometidos a un déficit nutricional de suero o peptona.



Figura 5. Amplificación del gen *ehrab8*. Se corrió en un gel de agarosa al 1.5%. 1-Axénica(HM1), 2-Polixénica, 3-Reaxénisada, 4- 60% suero, 5-60% peptona, M-Marcador de tamaño en pares de bases

Conclusiones

Trofozoítos de *E. histolytica* cultivados con bacterias presentan una disminución significativa de la expresión del gen *ehaig1*. El estrés nutricional con suero o peptona aumenta la expresión de los genes *ehaig1* y *ehrab8* en la cepa virulenta, pero no en la avirulenta. La expresión del gen *ehaig1* se ve relacionado con el tiempo de infección al disminuir su expresión en mayor tiempo se encuentre la interacción con bacterias.

Bibliografía

- [1] World Health Organization. 1998. The World Health Report 1998. Life in the 21st century: a vision for all. World Health Organization. Geneva, Switzerland.
- [2] Ravdin, J. I. (1996). Pathogenesis of disease caused by *Entamoeba histolytica*: studies of adherence, secreted toxins and contact-dependent cytotoxicity. *Rev Infect Dis* 8(2),
- [3] Martínez-Palomo, A., y Ruiz-Palacios, G., “Amebiasis, tropical and geographical medicine”, eds. Warren, K.S., Mahmoud A.A.F, McGraw Hill, New York, 327-344. 1990.
- [4] Martínez-Palomo y Espinosa-Cantellano M. (1998). Intestinal amoebae, *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections* (9 ed.), Vol., Parasitology, (pp. 157-177).
- [5] Huston, C. D. (2004). Parasite and host contributions to the pathogenesis of amebic colitis. (pp. 20, 23-26) *Trends Parasitol.*
- [6] Anaya-Velázquez F., Padilla-Vaca F. (2011). Virulence of *Entamoeba histolytica*: a challenge for human health research. (pp. 6, 255-258). *Future Microbiol.*
- [7] GIMAPS/ GTPases of immunity associated Protein. 2010.
- [8] Lozano J. (2017). Análisis comparativo de dos cepas de *Entamoeba histolytica* genéticamente relacionadas que presentan diferente virulencia. Tesis de Doctorado en proceso.
- [9] Nozaki, T., Nakada-Tsukui, K. (2006). Membrane trafficking as a virulence mechanism of the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. (pp. 179-183) *Parasitol research.*
- [10] Will C. L., Lührmann R. (2011). Spliceosome Structure and Function. *Cold Spring Harb Perspect Biol.*
- [11] Phillips, B.P., Wolfe, P.A. y Bartgis, I.L., “Studies on the ameba-bacteria relationship in amebiasis”. Some concepts on the etiology of the disease *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 7:392-399. 1958.
- [12] Mendoza M. C. (2009). *Entamoeba histolytica*: Effect on virulence, growth and gene expression in response to monoxenic culture with *Escherichia coli* 055. *Exp. Parasitol.*, Elsevier, 121: 167–174.
- [13] Padilla-Vaca, F., Ankiri, S., Brecha, R., Koole, L.A. y Mirelman, D., (1999). Down regulation of *Entamoeba histolytica* virulence by monoxenic cultivation with *Escherichia coli* 055 is related to a decrease in expression of the light (35-Kilodalton) subunit of the Gal/GalNac lectin. *Infect Immun.* Vol.67. No.5: 2096-2102

EVALUACIÓN TÉRMICA Y ELÉCTRICA DE UN FRIGOBAR COMERCIAL QUE OPERA MEDIANTE EL CICLO DE COMPRESIÓN DE VAPOR.

Diana Karina de la O Ramírez^a, Jorge Arturo Alfaro Ayala^b

^a Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, Guanajuato, Guanajuato, 36050, MÉXICO. katrina_delao_13@hotmail.com

^b Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Guanajuato, Noria alta s/n, Guanajuato, Guanajuato, 36050, MÉXICO.

Resumen

Este trabajo muestra la evaluación del desempeño de un frigobar comercial mediante el análisis térmico y eléctrico de sus 7 niveles de enfriamiento. Mediciones de temperatura y corriente eléctrica fueron realizadas y obtenidas con un sistema de adquisición de datos que colecta los resultados en una computadora. Se encontró que cumple con los valores del coeficiente de desempeño (COP) normales para un sistema de refrigeración y las temperaturas adecuadas para la conservación de alimentos. La información experimental obtenida en el presente proyecto será utilizada para el desarrollo de modelos analíticos y numéricos para predecir el comportamiento de refrigeradores.

Palabras clave: *Refrigeración; Compresión de vapor; COP; Comportamiento térmico.*

Introducción

La revista ABC.es economía muestra la relación de los aparatos electrodomésticos que más energía consumen, quedando el refrigerador en el porcentaje más alto con un 30.6% del consumo total, los datos se obtuvieron a partir de estudios realizados por el Instituto para la Diversificación y Ahorro de Energía (IDAE) [1]. Secretaría de energía (SENER), reportó los porcentajes de consumo energético de equipos de uso residencial, quedando nuevamente en el valor más alto el refrigerador con un 39% [2].

El uso del refrigerador influye en uno de los problemas más grandes del planeta: el deterioro del medio ambiente debido al elevado consumo de energía de estos equipos. Las más utilizadas son las energías fósiles que producen dióxido de carbono en su combustión, el cual se está acumulando en la atmósfera generando el calentamiento global. Además, durante años estos aparatos han utilizado clorofluorocarbonos (CFC), compuestos que generan la disminución de la capa de ozono.

El análisis de los sistemas de refrigeración representa una herramienta muy valiosa, ya que ayuda a comprender su comportamiento y de esta manera mejorar el desempeño de los equipos, identificar fallas, diseñar para mejorar el rendimiento, etc. Actualmente existen varios trabajos de diferentes autores que han realizado análisis de sistemas de refrigeración, ya sean simulaciones, modelos analíticos, comparaciones, etc. Zsembinszki et al. [3] desarrollaron una novedosa metodología para modelar un simple sistema de refrigeración por compresión que es capaz de detectar el malfuncionamiento de un sistema. Xu et al. [4] realizaron un método teórico de optimización global de un sistema de refrigeración por compresión de vapor (RCV). Xing et al. [5] evaluaron el desempeño de un eyector en un ciclo de RCV, dando como resultado un mejor desempeño. Dalkilic et al. [6] hace la comparación del desempeño de un sistema RCV con diferentes refrigerantes.

El ciclo de refrigeración por compresión de vapor es ampliamente utilizado en los sistemas de refrigeración. Incluye principalmente 4 componentes: evaporador, compresor, condensador y válvula de expansión (Figura 1a). A grandes rasgos, el ciclo RCV consiste en que el refrigerante entra al compresor como vapor a baja presión y temperatura, y sale de éste como vapor pero a alta presión y temperatura, posteriormente ingresa al condensador para salir completamente líquido debido al calor extraído, después entra a la válvula de expansión la cual le disminuye la presión y el refrigerante se evapora parcialmente por lo que sale de ésta como mezcla líquido-vapor (L-V) a baja presión y temperatura, para finalmente ingresar al evaporador donde removerá el calor del espacio refrigerado y se evaporará nuevamente el refrigerante para entrar al compresor y repetir el ciclo (Figura 1b).

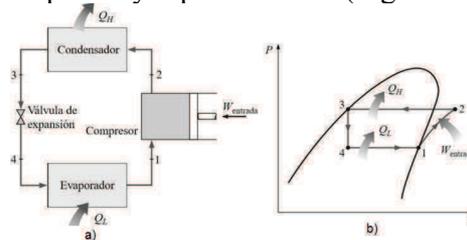


Figura 1.a) Esquema de los equipos y **b)** Diagrama P-h para el ciclo RCV.

Este trabajo se enfoca en el análisis térmico y eléctrico de un sistema de refrigeración RCV a los 7 niveles de operación para poder evaluar su desempeño real, además de que esta información podría ser empleada posteriormente para el desarrollo de modelos teóricos que permitan predecir el comportamiento de refrigeradores, ya que como se mencionó anteriormente, son ampliamente utilizados y su consumo de energía es muy alto, generando indirectamente un daño al ambiente.

Metodología

Se evaluó el frigobar comercial de la marca "Dometic Coolmatic" y modelo "CR-0065E" (Figura 2). Las características del frigobar se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Características del frigobar RCV.

Características	RCV
Refrigerante	R134a
Capacidad (L)	64
Congelador (L)	7.2
Dimensiones	externas: 0.448x0.525x0.545
AlturaxAnchuraxProfundidad (m)	
Voltaje a CD (V)	12
Voltaje a CA (V)	120
Rango de Temperaturas en el espacio refrigerado	10°C a 0°C
Rango de temperaturas en el congelador.	0°C a -18°C



Figura 2. Fotografías del frigobar comercial.

1. Evaluación térmica.

Mediciones de temperaturas dentro del equipo y ambiente a lo largo del tiempo de operación fueron obtenidos mediante un sistema de adquisición de datos NI-CRIO 9030 Compac RIO del fabricante National Instruments® con el módulo NI-9213, el cual tiene 16 canales para medir temperaturas con diferentes termopares y con una precisión de hasta $\pm 0.03^{\circ}\text{C}$. El software que se utilizó fue LabView versión 8 del mismo fabricante. Se colocaron 9 termopares tipo K, 8 fueron distribuidos dentro del frigobar, y 1 termopar por fuera del mismo para medir la temperatura ambiente. Los datos de temperaturas fueron recolectados y guardados en un archivo Excel con un muestreo constante en intervalos de 5 minutos. Las mediciones de temperaturas y corriente se realizaron simultáneamente para cada uno de los 7 niveles de enfriamiento con un mismo tiempo de operación.

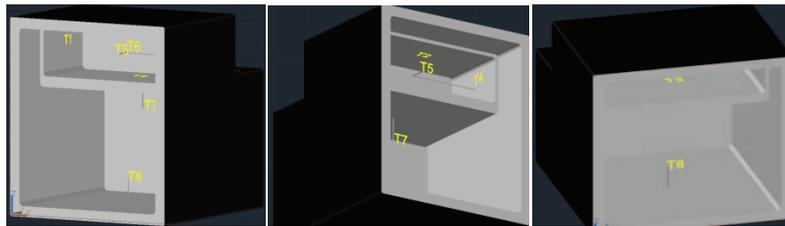


Figura 3. Modelo 3D del frigobar comercial elaborado en Autocad.

2. Evaluación eléctrica.

Los datos de corriente eléctrica a lo largo del tiempo de operación fueron medidos mediante un multímetro profesional RMS auto rango con interfaz USB (MUL 630). El software empleado fue DMM del mismo multímetro.

Se instaló primeramente el programa a una computadora (laptop Hp), el multímetro se conectó al cable de corriente eléctrica del frigobar. Una vez realizado lo anterior, se programó dicho multímetro para la recolección de datos de corriente eléctrica (CA) en A, con una velocidad de 5 muestras por minuto ya que el mismo equipo tenía frecuencias de muestreo más altas que el de temperatura. El experimento comenzaba cuando se conectaba el cable al frigobar debido a que éste empezaba a trabajar. Únicamente se trabajó con CA.

3. Ecuaciones.

Primeramente, se calculó la potencia mediante la Ec. (1):

$$P = VI \quad (1)$$

donde P es la potencia eléctrica en W, V es el voltaje de CA con un valor de 120V e I es la corriente que se midió con el multímetro en mA.

Los valores de COP se obtuvieron mediante la Ec. (2):

$$\text{COP} = \frac{Q}{W} \quad (2)$$

donde Q es el calor extraído del espacio refrigerado en kW y W es la potencia eléctrica calculada anteriormente en kW.

El valor de Q se calculó con la Ec. (3), para el congelador, el espacio refrigerado debajo del congelador y el espacio refrigerado total en un intervalo de 5min:

$$Q = \frac{m * C_v * (T_{\text{amb}} - T)}{\Delta t} \quad (3)$$

donde m es la masa del aire en kg, C_v es la capacidad calorífica del aire a temperatura ambiente en kJ/kg*K [7] a volumen constante, T es temperatura del aire en K y Δt es el intervalo de tiempo (300s).

La masa del aire fue obtenida mediante la Ec. (4):

$$m = \rho * \text{Vol} \quad (4)$$

donde ρ es la densidad del aire a temperatura ambiente en kg/m³ y Vol. es el volumen del congelador (0.0085m³), de la parte del espacio refrigerado (0.0465m³) o el espacio completo (0.0715m³) según sea el caso.

Resultados

Los resultados de temperatura, potencia y COP que se muestran en las Figuras 4, 5 y 6 corresponden a los niveles 1, 4 y 7, es decir, primero, intermedio y final, ya que son los niveles que muestran cambios representativos.

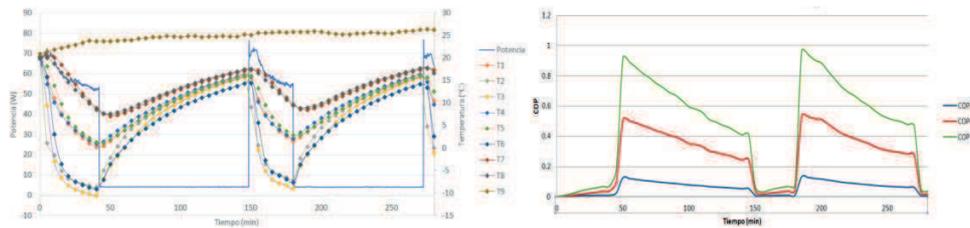


Figura 4. Gráficas Potencia-Temperatura vs tiempo y COP vs tiempo del nivel 1.

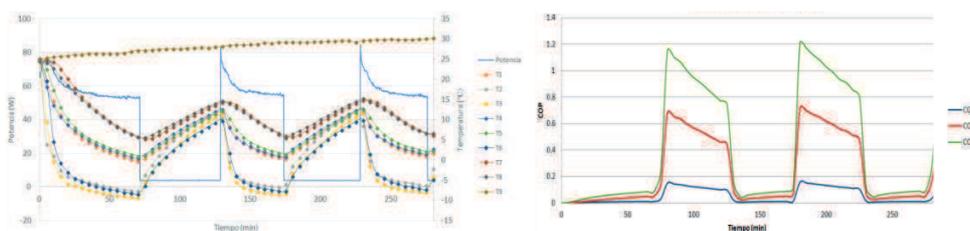


Figura 5. Gráficas Potencia-Temperatura vs tiempo y COP vs tiempo del nivel 4.

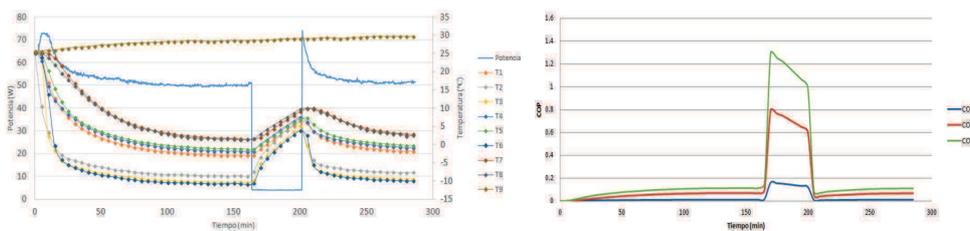


Figura 6. Gráficas Potencia-Temperatura vs tiempo y COP vs tiempo del nivel 7.

La primera gráfica de estas figuras demuestra la congruencia existente entre el comportamiento térmico y eléctrico del frigobar, por ejemplo, cuando alcanza la temperatura más baja del nivel de operación, el equipo se apaga y el valor de la potencia disminuye drásticamente. Cabe destacar que dichas gráficas también son prueba de que incluso cuando el equipo se encuentra apagado, la energía se continúa consumiendo, solo que en menores cantidades. Además, las temperaturas se dividen en 3 grupos, lo cual concuerda con su ubicación dentro del equipo, ya que los dos termopares que alcanzan las temperaturas más altas son los del aire en la parte de abajo (T7 y T8), los 3 con las temperaturas intermedias son el del aire en el congelador (T5) y los de las paredes laterales del mismo (T1 y T4), y los 3 que alcanzan temperaturas más bajas son los del piso (T3), el techo (T2) y el fondo del congelador (T6), donde se podría asegurar que se encuentra ubicado el evaporador.

La gráfica de la derecha en las Figuras 4, 5 y 6, muestra el comportamiento del COP con respecto al tiempo de operación. Si se comparan las dos gráficas de cada figura, el COP también coincide en cuanto a sus cambios significativos, solo que éste se eleva cuando el equipo se apaga, dejando en claro que su comportamiento es inverso al de la potencia.

Además, efectivamente a niveles más altos, la potencia de refrigeración es mayor, permitiendo alcanzar temperaturas menores, por largos periodos de tiempo, que requieren algunos productos, esto se verifica con el poco tiempo que dura apagado y el largo tiempo que dura encendido en comparación de los primeros niveles.

En cuanto al desempeño, el valor de COP promedio del nivel 1 fue 0.45, el del nivel 4 fue 0.39 y el del nivel 7 fue 0.22. Lo cual nos dice que, a pesar de la diferencia entre las temperaturas que alcanza el espacio refrigerado, la potencia es todavía mayor, permitiendo que el COP disminuya entre cada nivel. Los valores de COP se encuentran dentro de los normales reportados para refrigeradores [8] dejando en claro su adecuado funcionamiento, cabe señalar que éstos varían dependiendo de las características del refrigerador.

Con respecto a las temperaturas que alcanza, es importante destacar que cumple con las necesarias, por lo menos, para la preservación de los alimentos desde el nivel 1, como por ejemplo el pescado o la carne que ocupan de 0-3°C hasta algunas frutas como la sandía de 10-15°C [9,10].

Conclusiones

La evaluación térmica y eléctrica realizada permitió llevar a cabo un adecuado análisis del desempeño real del frigobar comercial, en sus 7 niveles de enfriamiento a un tiempo de operación de 280 minutos por nivel, mediante el cálculo del COP y/o la comparación de las temperaturas del refrigerador y a las que debe trabajar. Además de permitir la ubicación del evaporador. Las Figuras 4, 5 y 6, corresponden solamente a los niveles 1, 4 y 7, ya que son los que muestran cambios representativos. Se observó que el equipo funciona adecuadamente, ya que cumple con los valores normales del COP para refrigeradores, con las temperaturas necesarias para la conservación de alimentos y es posible ubicar el evaporador por la visible separación de las temperaturas registradas por los termopares. El siguiente paso es el empleo de esta información para el desarrollo de modelos analíticos y/o numéricos para la predicción del comportamiento de los refrigeradores.

Bibliografía

- [1] Zamora, I. (2012) “Los electrodomésticos que más consumen y todo lo que puedes hacer para evitarlo”. Día de consulta: 29/05/2017. Recuperado de <http://www.abc.es/20120312/economia/abci-trucos-ahorro-energia-201203090920.html>
- [2] Fernández, X. (2011) “Indicadores de eficiencia energética en el sector residencial”. Día de consulta: 29/05/2017. Recuperado de http://www.energia.gob.mx/taller/res/1859/2_Ximena%20_Fernandez%28SENER%29_Indicadores_Sector_Residencial.pdf
- [3] Zsembinszki, G., de Gracia, A., Moreno, P., Rovira, R., González, M. A., y Cabeza, L. F. (2016) “A novel numerical methodology for modelling simple vapour compression refrigeration system”, *Applied Thermal Engineering*. 115, 188-200. Doi: 10.1016/j.applthermaleng.2016.12.059
- [4] Xu, Y. y Chen, Q. (2013) “A theoretical global optimization method for vapor-compression refrigeration systems based on entransy theory”, *Energy*. 60, 464-473. Doi: 10.1016/j.energy.2013.08.016
- [5] Xing, M., Yan, G. y Yu, J. (2015) “Performance evaluation of an ejector subcooled vapor-compression refrigeration cycle”, *Energy Conversion and Management*. 92, 431-436. Doi: 10.1016/j.enconman.2014.12.091
- [6] Dalkilic, A. S. y Wongwises, S. (2010) “A performance comparison of vapour-compression refrigeration system using various alternative refrigerants”. *International Communications in Heat and Mass Transfer*. 37, 1340-1349. Doi: 10.1016/j.icheatmasstransfer.2010.07.006
- [7] Cengel, Y. A. y Boles, M. A. (2009) “*Termodinámica*”, 6ta Ed., Mc Graw-Hill, D.F., México, 956.
- [8] Souza, L. M. P., Scalón V. L. y Padilha, A. (2012) “Coeficiente de Operación de un Sistema formado por un Refrigerador Doméstico acoplado a un acumulador de agua caliente para la recuperación de energía”. *Información Tecnológica*. 23, (2), 141-150. Doi: 10.4067/S0718-07642012000200016
- [9] Aste, N., Del Pero, C. y Leonforte, F. (2017) “Active refrigeration technologies for food preservation in humanitarian context”. *Sustainable Energy Technologies and Assessments*. Doi: 10.1016/j.seta.2017.02.014
- [10] Profeco. Calidad de refrigeradores, Revista del Consumidor No.279. Día de consulta: 27/05/2017. Recuperado de https://www.profeco.gob.mx/revista/pdf/est_00/refrigerado1.pdf

OBTENCIÓN DE UNA CEPA DE *Bacillus subtilis* DEFICIENTE EN EL GEN *nusG*

Guillermo de Jesús Flores Álvarez^a, Hilda Cecilia Leyva Sánchez^a, Mario Pedraza Reyes^a

^aDivisión de Ciencias Naturales y Exactas, Departamento de Biología, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, Guanajuato, Guanajuato, 36050, MÉXICO. gdj.flores.alvarez@gmail.com; pedrama@ugto.mx

Resumen

La decodificación de la información genética que lleva a cabo la RNA polimerasa se encuentra sujeta a un alto nivel de regulación. En bacterias, los factores sigma, Nus y Gre juegan un papel central modulando el inicio, la elongación y/o la terminación de la transcripción. Estudios de estructura/función han permitido identificar en proteínas de la familia Nus los dominios N-terminal (NTD) y C-terminal (CTD) involucrados en eficientar procesos de elongación y/o terminación extrínseca de la RNA polimerasa. En *E. coli* NusA fue involucrada en regular los procesos de mutación adaptativa; sin embargo, una mutante de *B. subtilis* deficiente en dicho gen no mostró un efecto en dicho proceso. Además de *nusA*, *B. subtilis* posee al gen *nusG*, lo que sugiere que este puede suprimir la deficiencia de *nusA* en esta bacteria. Para abordar esta hipótesis en el presente trabajo se utilizó una estrategia molecular para generar una mutante deficiente en NusG. Para tal fin, se amplificó por PCR un fragmento de 220 pb del marco de lectura abierto de *nusG*, dicho fragmento se clonó en el vector integrativo pMUTIN-4cat, el cual confiere resistencia a cloranfenicol (Cm) en *B. subtilis*. Dicha construcción se introdujo por transformación a células competentes de la cepa *B. subtilis* YB955 (*hisC952*, *metB5*, *leuC425*). Se seleccionaron colonias resistentes a Cm, se purificó su DNA genómico y utilizando oligonucleótidos específicos se corroboró mediante PCR la correcta interrupción del gen *nusG*. En conclusión, siguiendo esta estrategia se logró obtener una mutante de *B. subtilis* deficiente en *nusG*.

Palabras clave: *Bacillus subtilis*; RNA polimerasa; Factores de transcripción; *nusG*.

Introducción

La transcripción es un proceso fundamental en la biología de cualquier ser vivo y las RNA polimerasas son las enzimas encargadas de mediar este proceso. Las subunidades catalíticas de estas enzimas guardan una estrecha relación en términos de composición, arquitectura y funciones relacionadas con la iniciación de la transcripción, factores de alargamiento y mecanismos moleculares que rigen su actividad en los diferentes organismos que van desde archaeas y procariotes hasta eucariotes [1].

Las bacterias han sido utilizadas como extraordinarios modelos de estudio para entender los aspectos estructurales que rigen la función de distintos factores de transcripción que se asocian a la RNA polimerasa para modular la expresión genética. En *Bacillus subtilis* se han descrito 7 diferentes factores de transcripción, cuatro de los cuáles pertenecen a la familia de proteínas Nus (NusA, NusB, NusE, NusG), inicialmente descubiertas por su papel en la formación de complejos resistentes a la terminación durante la transcripción del fago λ [2].

El gen *nusG* de *Bacillus subtilis* de 531 pb codifica para una proteína de 177 aminoácidos. Se conoce al interactúa con el factor de terminación Rho y la RNA polimerasa NusG actúa como un factor de elongación transcripcional en esta bacteria [3]. A diferencia de *E. coli*, NusG no se considera esencial para el crecimiento de *B. subtilis*. Los análisis estructurales han revelado que NusG de *E. coli* posee dos dominios, denominados, NTD (N-terminal) y

CTD (C-terminal) [4]. Ambas regiones regulan la expresión génica, afectando la procesividad de la transcripción o participando en la traducción del RNA o reclutando factores de terminación [5].

Con el propósito de conocer un posible rol de NusG en modular los procesos mutagénicos asociados a la transcripción, en el presente estudio se realizó una construcción para interrumpir el gen *nusG* de *B. subtilis*.

Metodología

Cepas bacterianas

A continuación, se describen las cepas que fueron empleadas en este estudio:

Tabla 1. Cepas bacterianas

NOMBRE	DESCRIPCIÓN	REFERENCIA
PERM1016	<i>B. subtilis</i> YB955 (<i>hisC952</i> , <i>metB5</i> , <i>leuC425</i>)	Cepario del laboratorio de Mario Pedraza Reyes
PERM100	<i>E. coli</i> DH5 α	Cepario del laboratorio de Mario Pedraza Reyes
PERM1149	<i>E. coli</i> DH5 α conteniendo el plásmido pMUTIN4 al cual se le cambió el casete de resistencia de Eri ^R a Cm ^R .	Cepario del laboratorio de Mario Pedraza Reyes
PERM1601	<i>E. coli</i> DH5 α conteniendo el vector pJET1.2/blunt más un fragmento interno del gen <i>nusG</i> de ~220 pb con los sitios de corte para EcoRI y BamHI. Amp ^R .	Este estudio
PERM1605	<i>E. coli</i> DH5 α conteniendo el plásmido pMUTIN4-cat (~7641pb) más un fragmento interno de ~220 pb del gen <i>nusG</i> de <i>B. subtilis</i> con los sitios de restricción EcoRI y BamHI. Cm ^R .	Este estudio

Para realizar la clonación y posterior construcción que permitió la interrupción del gen *nusG* se utilizaron los vectores pJET 1.2/blunt y pMUTIN4-cat respectivamente.

Tabla 2. Plásmidos

PLÁSMIDO	DESCRIPCIÓN	REFERENCIA
pJET1.2/blunt	Vector de clonación con el casete de resistencia a Amp ^R	Thermo Fischer Scientific
PERM1149	<i>E. coli</i> DH5 α conteniendo el plásmido pMUTIN4-cat. Cm ^R	del laboratorio de Mario Pedraza Reyes

Condiciones para la propagación de las cepas bacterianas

Para el crecimiento de *B. subtilis* y *E. coli* se utilizó el medio de cultivo Luria-Bertani (LB), que contenía extracto de levadura 0.5%, peptona biotriptasa 1% y NaCl 0.5% (p/v) [6], fue suplementado con 15 g/l de agar bacteriológico cuando se requirieron placas con medio sólido.

Para llevar a *B. subtilis* al estado fisiológico de competencia se utilizaron los medios, GMI que contiene sales Spizizen [(NH₄)₂SO₄ al 0.2%, K₂HPO₄ al 1.4%, KH₂PO₄ al 0.6%, citrato de sodio dihidratado al 0.1% y MgSO₄·7H₂O al 0.02%], glucosa al 0.5%, extracto de levadura al 0.1% y casaminoácidos al 0.02% (p/v); y GMII, medio GMI suplementado con CaCl₂ 0.5 mM y MgCl₂ 2.5 mM [8]. La densidad óptica (DO) de los cultivos líquidos se determinó a 590 nm; cuando se requirió, los medios utilizados fueron suplementados con cloranfenicol (5 µg/ml) o ampicilina (100 µg/ml).

Clonación y extracción de ADN plasmídico.

Utilizando el kit pJET 1.2/blunt de ThermoFischer Scientific se realizó la clonación de un fragmento de una región interna del ORF del gen *nusG* de ~220 pb en células competentes de *E. coli* DH5α. Las colonias transformantes fueron seleccionadas por su resistencia a ampicilina y posteriormente se hizo un análisis por minipreparaciones el cual consistió en la extracción de DNA plasmídico mediante el método de lisis alcalina [7]. La corroboración de la construcción pPERM11601 fue realizada mediante análisis de restricción utilizando las enzimas EcoRI y BamHI. Posteriormente, en el vector integrativo pMUTIN4-cat se llevó a cabo la clonación del fragmento de ~220 pb del gen *nusG*.

Transformación de *B. subtilis*.

La construcción pPERM1605 fue utilizada para transformar células competentes de *Bacillus subtilis* YB955. Las colonias transformantes se seleccionaron por su resistencia a cloranfenicol y posteriormente se realizó la extracción de DNA genómico para caracterizar molecular la mutante obtenida mediante la técnica de PCR.

Resultados

Clonación del gen *nusG*

Se aisló el DNA genómico de la cepa silvestre *B. subtilis* YB955 (PERM1016) que sirvió como molde en la técnica de PCR para poder amplificar de manera *in vitro* un fragmento interno del marco de lectura abierto del gen *nusG* de ~220 pb. Los oligonucleótidos 5'-GCGAATTCGGTGTGGAATCAATGGGGATGC-3' y 5'-GCGGATCCCCTACGAATCCAGTAACGCC-3', conteniendo los sitios de corte EcoRI y BamHI respectivamente fueron utilizados para este fin.

Con el objetivo de obtener una amplificación óptima del fragmento de interés se utilizó un gradiente de temperatura en la etapa de alineamiento. Siguiendo esta estrategia se obtuvo una única banda de ~220 pb a una temperatura de hibridación de 67.3°C como se observa el carril 4 del gel de agarosa al 1% de la Figura 1. Este fragmento fue purificado en un gel de bajo punto de fusión el cual se muestra en el carril 2 en el lado derecho de la Figura 1.

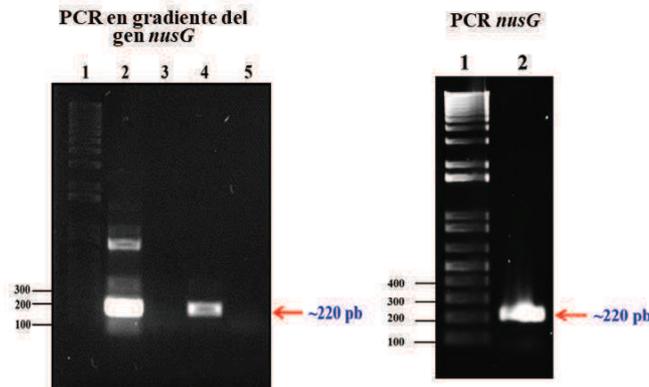


Figura 1. Análisis electroforético de los amplicones de *nusG* en geles de agarosa al 1%. Del lado izquierdo. Carril 1 Marcador de peso molecular (MPM); carriles 2 al 5, productos de PCR en gradiente utilizando las temperaturas de 60.8, 65, 67.3 y 69.6 °C respectivamente. En el carril 4 se observa una única banda. Del lado derecho se observa la amplificación de ~220 pb del fragmento interno del gen *nusG* a la temperatura óptima de 67.3°C.

Diseño de una construcción génica para obtener una mutante nula en el gen *nusG*

En el vector de mantenimiento pJET1.2/blunt se llevó a cabo la ligación del fragmento purificado de *nusG*. Se transformaron células competentes de *E. coli* DH5 α con los productos de esta ligación, posteriormente las transformantes se seleccionaron por su resistencia a ampicilina, las cuales fueron analizadas mediante restricción de mini-preparaciones de ADN plasmídico, con las enzimas EcoRI y BamHI, se corroboró que dos de tres clonas contenían el fragmento de ~220 pb clonado en el vector pJET1.2/blunt (Figura 2).

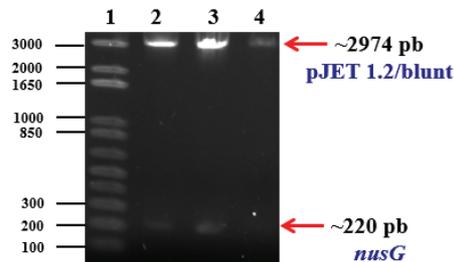


Figura 2. Análisis de restricción para corroborar la correcta liberación del gen *nusG* y el plásmido pJET1.2/blunt. Carril 1 MPM, carril 2 y 3 muestran las clonas de *E. coli* DH5 α que dieron positivo para la clonación. En el carril 4 se observa una clona negativa, la cual no mostró el patrón de bandas esperado.

Para generar una construcción capaz de interrumpir el gen *nusG* en *B. subtilis* se utilizó el vector integrativo pMUTIN4-cat linearizado con las enzimas EcoRI y BamHI. El fragmento de ~220 pb liberado del plásmido pPERM1601 se ligó en el vector pMUTIN4-cat linearizado. Los productos de la ligación se transformaron en células competentes de *E. coli* DH5 α , las colonias transformantes fueron seleccionadas por su resistencia a cloranfenicol. Se procedió con la extracción de DNA plasmídico de varias colonias transformantes las cuales se sujetaron a análisis por restricción con las enzimas EcoRI y BamHI.

El patrón de bandeado mostrado en el gel de agarosa al 1% de la Figura 3 corrobora la obtención de la construcción de interés.

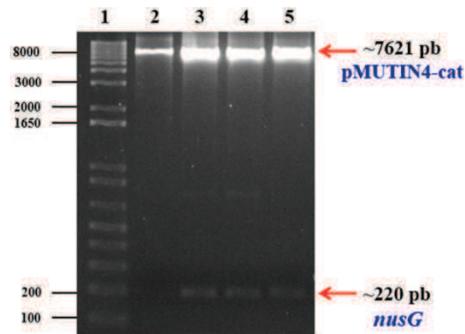


Figura 3. Análisis de restricción para corroborar la correcta liberación del vector e inserto en *E. coli* DH5 α . Carril 1 MPM; carril 2 vector linearizado; carril 3 al 5 clonas positivas que liberan el vector e inserto.

Transformación e interrupción del gen *nusG* de *Bacillus subtilis*

La construcción pPERM1605 se introdujo por transformación a células competentes de *B. subtilis* YB955 y por medio de un evento de recombinación homóloga sencilla se logró la correcta interrupción de gen *nusG* en el genoma de *B. subtilis*. Las colonias transformantes se seleccionaron por su resistencia a cloranfenicol. Posteriormente se purificó su ADN genómico y se realizó la caracterización molecular mediante la técnica de PCR (Figura 4).

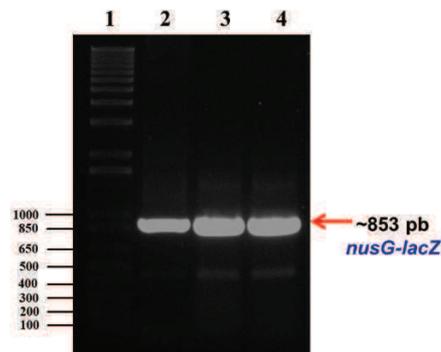


Figura 4. Caracterización molecular de la mutante Δ *nusG* por medio de la técnica de PCR. Carril 1 MPM; carril 2 control positivo (construcción pPERM1605); carriles 3 y 4 clonas positivas que amplifican el fragmento esperado de 853 pb).

Conclusiones

Mediante el uso de la tecnología del DNA recombinante se diseñó una construcción para interrumpir el gen *nusG* del fondo genético *Bacillus subtilis* YB955. Además, se generó y caracterizó molecularmente una mutante nula en el gen *nusG* de la cepa *B. subtilis* YB955.

Agradecimientos

Trabajo financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT; Subsidios: 205744 y 221231) y la Universidad de Guanajuato (Subsidios: DAIP-602-2015, 936-2016, 1090-2016). GJ. Álvarez Flores e HC. Leyva Sánchez agradecen la beca otorgada por el CONACyT para la realización de este trabajo.

Bibliografia

- [1] Smollett, K., Blombach, F., Reichelt, R., Thomm, M., Werner, F. (2017) "A Global Analysis of Transcription Reveals Two Models of Spt4/5 Recruitment to Archaeal RNA Polymerase", *Nat. Microbiol.* 2, (17021).
- [2] Doherty, G. P., Meredith, D. M., Lewis, P. J. (2006) "Subcellular Partitioning of Transcription Factors in *Bacillus subtilis*", *J. Bacteriol.* 188(11), 4101-4110.
- [3] Yakhnin, V. A., Babitzke, P. (2010). "Mechanism of *nusG*-stimulated Pausing, Hairpin-Dependent Pause Site Selection and Intrinsic Termination at Overlapping Pause and Termination Sites in the *Bacillus subtilis trp* leader". *Mol. Microbiol.* 76(3), 690-705.
- [4] Knauer, S. H., Rösch, P., Artsimovitch I. (2012). "Transformation, the Next Level of Regulation. *RNA Biol. Discipline*, 9(12), 1418-1423.
- [5] Werner, F. (2012). "A Nexus for Gene Expression – Molecular Mechanisms of *Spt5* and *nusG* in the Three Domains of Life". *J. Mol. Biol.* 417, 13-27.
- [6] Cairns, J., J. Overbaugh, y S. Miller. (1988). The origin of mutants. *Nature*, 335: 142-145.
- [7] Sambrook, J. Fritsch, E. F. & Maniatis, T. (1989). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. New York.
- [8] Boylan, R.J., N.H. Mendelson., D. Brooks, y F.E. Young. (1972). Regulation of the bacterial cell wall: analysis of a mutant of *Bacillus subtilis* defective in biosynthesis of teichoic acid, *J. Bacteriol.* 110: 281-290

OBTENCIÓN DE UNA CEPA BACTERIANA RECOMBINANTE PARA LA EXPRESIÓN HETERÓLOGA DEL GEN *mfd* DE *Bacillus subtilis*

¹Indira Wendolyn Vega Quezada, ¹Norma Ramírez Ramírez ¹Mario Pedraza Reyes¹

¹Departamento de Biología, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, Guanajuato, Guanajuato, 36050, MÉXICO.

iw.vegaquezada@ugto.mx; pedrama@ugto.mx

Resumen

Mfd es una proteína multifuncional que además de jugar un papel central en el acoplamiento de las maquinarias de transcripción y reparación del ADN, participa en modular procesos mutagénicos asociados a la transcripción en células de *Bacillus subtilis* sujetas a estrés nutricional. Para conocer los detalles bioquímicos de este fenómeno es necesario montar un sistema de transcripción *in vitro* con preparaciones puras de Mfd. Con el propósito de cumplir este objetivo, mediante la técnica de PCR se amplificó el marco de lectura abierto (ORF) de *mfd* de *B. subtilis* y posteriormente se clonó en el vector de expresión pET28b; dicho vector, además de dirigir la expresión del *mfd*, añade al producto obtenido una etiqueta de 6 histidinas (His₆). La construcción obtenida (pET28b-*his*₆-*mfd*) se introdujo a células competentes de *Escherichia coli*; se seleccionó una colonia transformante y se corroboró mediante análisis de restricción de mini preparaciones de ADN que esta portara la construcción de interés. Los experimentos actuales analizan la capacidad de esta cepa recombinante de inducir la expresión de *mfd* y generar cantidades exacerbadas de la proteína recombinante His₆-Mfd. En conclusión se obtuvo una cepa recombinante para sobreexpresar heterológicamente el gen *mfd* de *B. subtilis*.

Trabajo financiado por CONACYT (Subsidios: 205744 and 221231) y UGTO (Subsidios: 936-2016 and 1090-2016).

Palabras clave: *Bacillus subtilis*; *Mfd*; expresión heteróloga

Introducción

Mfd (mutation frequency decline) es un gen que codifica para una proteína de aproximadamente 130 kDa también conocida como Transcription Repair Coupling Factor (TRCF). En *Escherichia coli*, produce un rápido decrecimiento en las mutaciones que causan lesiones al ADN o de obstáculos que bloquean el progreso de la ARN polimerasa (ARNP) durante la transcripción [1-2].

La evidencia reportada *in vivo* e *in vitro* sugiere que el producto del gen *orf1177* de *Bacillus subtilis* es la contraparte de la proteína Mfd de *E. coli*. Por este motivo, se ha designado el nombre de *mfd* al gen *orf1177* de *B. subtilis*. [3]. En *B. subtilis*, Mfd no sólo realiza estos procesos muy bien descritos, sino que también se encuentra involucrada en recombinación [4], represión catabólica del carbono [5] y más recientemente se ha encontrado que juega un papel central en modular la transcripción asociada a la mutagénesis en fase estacionaria [6]. En este mecanismo, Mfd permite al complejo de elongación de la transcripción proceder sobre una lesión del ADN a expensas de generar un ARNm alternativo que podría resultar en una ventaja para escapar de un crecimiento restringido y de esta forma juega un papel central en la mutagénesis adaptativa [5, 7]. Por otro lado en células en esporulación, cuyas necesidades metabólicas son altamente dependientes de un programa de expresión génica,

Mfd no sólo previene mutagénesis en los genes que se están transcribiendo, también contribuye a la eficiencia de esporulación y la supervivencia de la espora. [8]

En 2016 Gómez-Marroquín y colaboradores [9] propusieron un modelo para la producción de reversiones en el alelo *leuC427* resultando en un fenotipo prototrófico Leu+ en células de *B. subtilis* que no se encuentran en replicación o crecimiento. En este modelo la función de Mfd es requerida para disociar el complejo de elongación de la transcripción seguido del reclutamiento de actividades de escisión, síntesis y reparación del ADN [9]. Esto sugiere que las lesiones no voluminosas que comprometen la transcripción son procesadas con propensión al error en células nutricionalmente estresadas a través de la vía BER y de la proteína Mfd.

Para conocer los detalles bioquímicos de este fenómeno es necesario montar un sistema de transcripción *in vitro* con preparaciones puras de Mfd. Con el propósito de cumplir este objetivo, mediante la técnica de PCR se amplificó el marco de lectura abierto (ORF) de *mfd* de *B. subtilis* y posteriormente se clonó en el vector de expresión pET28b; dicho vector, además de dirigir la expresión del *mfd*, añade al producto obtenido una etiqueta de 6 histidinas (His₆). La construcción obtenida (pET28b-*his₆-mfd*) se introdujo a células competentes de *E. coli*; se seleccionó una colonia transformante y se corroboró mediante análisis de restricción de mini preparaciones de ADN que esta portara la construcción de interés. Los experimentos actuales analizan la capacidad de esta cepa recombinante de inducir la expresión de *mfd* y generar cantidades exacerbadas de la proteína recombinante His₆-Mfd.

Metodología

Cepas bacterianas y plásmidos

Las cepas y plásmidos que se utilizaron en este estudio se listan en las tablas 1, 2 y 3 respectivamente

Tabla 6: Cepas empleadas en este estudio

Cepa o plásmido	Genotipo o fenotipo	Referencia
PERM 100	<i>E. coli</i> DH5α	Colección de cepas del laboratorio de M. Pedraza-Reyes
PERM 1325	<i>E. coli</i> DH5α + pET28b Kn ^R	Colección de cepas del laboratorio de M. Pedraza-Reyes
PERM 1579	<i>E. coli</i> DH5α que contiene la construcción pJET1.2/blunt + ORF del gen <i>mfd</i> de <i>B. subtilis</i> . Con sitios de restricción BamHI y Sall. Amp ^R	Este trabajo
PERM 1641	<i>E. coli</i> DH5α que contiene la construcción pET28b-Mfd	Este trabajo

PERM1642	<i>E. coli</i> Rosetta que contiene el plásmido PERM1641, expresa la proteína Mfd de <i>B. subtilis</i> con una etiqueta de 6 histidinas. Kn ^R Cm ^R	<i>Este trabajo</i>
----------	--	---------------------

Tabla 7: Plásmidos utilizados en este estudio

Plásmido	Descripción	Referencia
pET28b	Vector de expresión para <i>E. coli</i> Kn ^R	Colección de cepas del laboratorio de M. Pedraza-Reyes
pJET 1.2	Vector de clonación; Amp ^R	Thermo Scientific, 2015

Medios de cultivo

Para el crecimiento y propagación de las diferentes cepas se empleó el medio Luria-Bertani (LB). Cuando se requirió los medios de cultivo se suplementaron con ampicilina (Amp) a una concentración final de 100 µg/ml, kanamicina (Kn) a una concentración final de 50 µg/ml y Cloranfenicol (Cm) 25 µg/ml.

Técnicas de biología molecular

La purificación de fragmentos de ADN en geles de agarosa de bajo punto de fusión, la obtención de ADN plasmídico a pequeña escala (mini-preparaciones), así como la preparación de células competentes y su transformación con ADN plasmídico se efectuó de acuerdo con los protocolos previamente descritos [10].

Caracterización molecular de las cepas transformantes de *E. coli*

Para corroborar la presencia de la construcción en las colonias una vez que estas fueron seleccionadas por su resistencia al antibiótico correspondiente, se realizó una reacción de restricción de ADN plasmídico y se comprobó con el tamaño de las bandas obtenidas mediante electroforesis en geles de agarosa al 1% teñidos con bromuro de etidio.

Resultados

Amplificación del gen *mfd*

Para la amplificación del fragmento del gen *mfd* se utilizó ADN genómico aislado de la cepa *B. subtilis* 168 y los oligonucleótidos directo, 5'GCGGATCCGACAACATTCAAACCTT3' y, reverso 5'CGGTCGACCGTTGATGAAATGGTTTG3' conteniendo sitios de restricción BamHI y SalI, respectivamente (secuencias subrayadas). Utilizando una temperatura de alineamiento de 65°C y la ADN polimerasa de alta fidelidad Vent (New England BioLabs) se obtuvo una única banda con del tamaño esperado; i.e., 3500 pb.

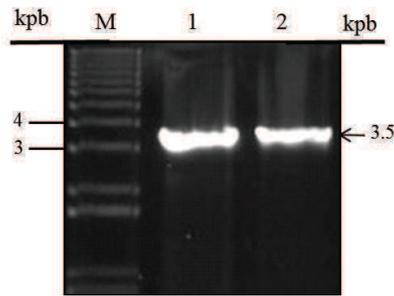


Figura 1. Amplificación por PCR de un fragmento de ADN de aprox. 3,500pb del orfMfd. Se obtuvo ADN genómico de *B. subtilis* 168 con el cual se montaron reacciones de PCR. Amplificación del fragmento de 3,531 pb del gen *mfd* (carriles 1 y 2). La temperatura de alineamiento utilizada fue de 65° en carriles 1 y 2.

Clonación del gen *mfd* en el vector pJET1.2/blunt

El producto de PCR del gen *mfd* obtenido, se purificó en un gel de agarosa de bajo punto de fusión y se ligó en el vector pJET1.2/blunt. Los productos de la ligación se introdujeron por transformación a células competentes de la cepa *E. coli* DH5 α . Se seleccionaron varias colonias transformantes, se purificó su plásmido y se sujetó a análisis de restricción.

Estrategia para sobre-expresar heterológamente al gen *mfd* de *B. subtilis*

Para la sobreexpresión del gen *mfd* se utilizó el plásmido pET28b específico para expresar genes en *E. coli*. Para generar la fusión pET28b-*mfd*, se extrajo ADN plasmídico de la cepa *E. coli* PERM1325 que contiene el vector de expresión pET28b y junto con el plásmido pPERM1579 fueron cortados con las enzimas BamHI y Sall. Esto linearizó el vector pET28b generando una banda de 5368 pb y liberó al gen *mfd* (3,500 pb) del vector pJET1.2/blunt. El fragmento de 3,500 pb y el vector pET28b linearizado, se purificaron en geles de agarosa de bajo punto de fusión. Las muestras obtenidas de dicha purificación se utilizaron para montar reacciones de ligación. Los productos de la ligación se introdujeron por transformación en células competentes de la cepa *E. coli* DH5 α mediante choque térmico siguiendo el protocolo descrito por Sambrook y col [10]. Se obtuvieron colonias transformantes las cuales fueron corroboradas mediante análisis de restricción de minipreparaciones de ADN para identificar aquellas que contuvieran la construcción de interés. Estas fueron almacenadas como PERM1641. Posteriormente la construcción de la cepa PERM1641 se utilizó para transformar células competentes de *E. coli* Rosetta para sobre-expresar la proteína His₆-Mfd

Sobreproducción de la proteína His₆-Mfd.

Se inoculó un cultivo de 50ml de medio LB suplementado con Kn y Cm para cada una de las diferentes colonias transformantes que contenían la construcción de interés. Se incubó a 37°C en hasta alcanzar una DO600nm de 0,5. En este punto se agregó al cultivo IPTG a una concentración final de 1mM y se continuó la incubación por 2h bajo las condiciones descritas. Las colonias mostraron sobre-expresar His₆-Mfd como se muestra en los carriles 3, 4, 5, 6 y 7; el tamaño aproximado de la proteína recombinante es de 135kDa. Podemos observar en el carril número 1 el vector pET28b vacío, en el carril número 2 la muestra es la misma colonia transformante del carril número 3 sin inducir con IPTG. Estos últimos tomados como controles negativos de la inducción de his₆-*mfd* con IPTG

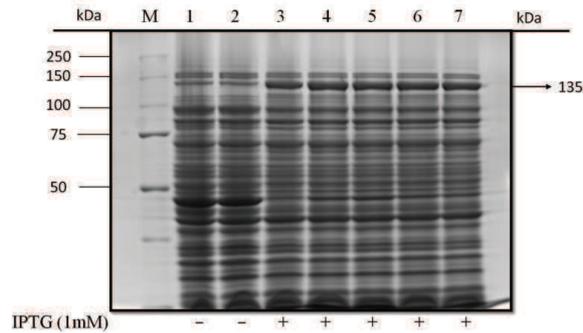


Figura 2. Análisis electroforético (SDS-PAGE) de la sobreexpresión y síntesis de la proteína *his₆-mfd* en extractos celulares completos de distintas colonias de *E. coli* portando la construcción *pET28b-mfd*. El carril número 1 corresponde al vector *pET28b* sin el *orf* de *mfd*, el carril número 2 muestra a una colonia transformante sin IPTG. En los carriles 3, 4, 5, 6 y 7 se observa un incremento en la síntesis de la proteína de interés a un tiempo de inducción de 2 h.

Para proseguir con la purificación de la proteína mediante cromatografía de afinidad metálica, se hicieron ensayos para determinar si la proteína se encuentra en la fracción soluble de la célula. Luego de inducir la expresión de *his₆-mfd* con 1 mM de IPTG durante, 2, 4 o 6 h a 37°C, los cultivos se centrifugaron por 15 min (4,800 x g, 4°C) para obtener la pastilla celular. Posteriormente, las células se lavaron y resuspendieron en 40 mL de buffer (Tris-HCl 50 mM pH 8, NaCl 300 mM, Triton X-100 0,1% (v/v), PMSF 1 mM), luego se trataron con lisozima (2 mg/mL) en hielo durante 40 min. Finalmente, el lisado celular se centrifugó a 4800 x g, 4°C, durante 45 min y el sobrenadante se analizó utilizando un gel de poliacrilamida al 10%. Los resultados de la Figura 3 demostraron que la producción de la proteína recombinante His₆-Mfd incrementó con el tiempo de inducción del cultivo en la fracción celular soluble.

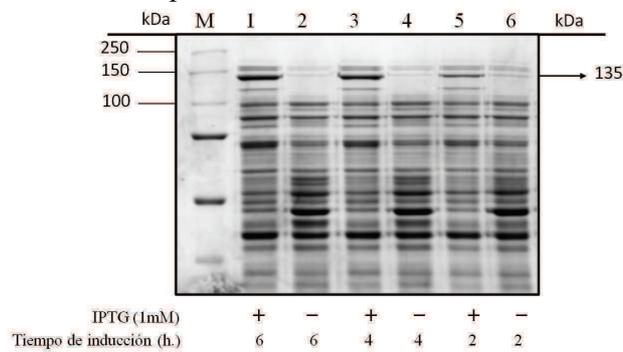


Figura 3. Análisis electroforético (SDS-PAGE) de la sobreexpresión y síntesis de la proteína His₆-Mfd en la fracción soluble de una cepa de *E. coli* portando la construcción *pET28b-mfd*. El ensayo se llevó a cabo a diferentes tiempos de inducción. En los carriles 1 y 2 el tiempo de inducción fue de 6 h, el primer carril con IPTG y el segundo sin IPTG. Los carriles 3 y 4 muestran la inducción a las 4 horas, con IPTG y sin IPTG correspondientemente. Para los carriles 5 y 6 se observa la inducción a las 2 h con IPTG y sin IPTG correspondientemente.

Conclusiones

Se obtuvo una cepa recombinante para sobre-expresar heterológicamente el gen *mfd* de *B. subtilis* y sobreproducir la proteína His₆-Mfd. Las condiciones óptimas de inducción de la

expresión de *mfd* fueron determinadas; actualmente, se realizan experimentos para purificar la proteína His₆-Mfd.

Agradecimientos

Trabajo financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT; Subsidios: 205744 y 221231) y la Universidad de Guanajuato (Subsidios: DAIP-602-2015, 936-2016, 1090-2016). IW. Vega Quezada agradece la beca otorgada por el CONACyT para la realización de este trabajo.

Bibliografía

- [1] Deaconescu, A.M.; Chambers, A.L.; Smith, A.J.; Nickels, B.E.; Hochschild, A.; Savery, N.J.; Darst, S.A. (2006) Structural basis for bacterial transcription-coupled DNA repair. *Cell*, 124: 507–520.
- [2] Howan, K.; Smith, A.J.; Westblade, L.F.; Joly, N.; Grange, W.; Zorman, S.; Darst, S.A.; Savery, N.J.; Strick, T.R. (2012) Initiation of transcription-coupled repair characterized at single-molecule resolution. *Nature*, 490: 431–434.
- [3] Selby, C. P. & Sancar, A. (1993). Molecular mechanism of transcription-repair coupling. *Science*, 260: 53–63
- [4] Ayora S, Rojo F, Ogasawara N, Nakai S, Alonso JC. (1996) The Mfd protein of *Bacillus subtilis* 168 is involved in both transcription coupled DNA repair and DNA recombination. *J. Bacteriol.* 256: 301-318
- [5] Zalieckas JM, Wray LV, Jr, Ferson AE, Fisher SH. (1998). Transcription-repair coupling factor is involved in carbon catabolite repression of the *Bacillus subtilis* *hut* and *gnt* operons. *Mol Microbiol*, 27: 1031–1038.
- [6] Ross, C., Pybus, C., Pedraza-Reyes, M., Sung, H.M., Yasbin, R.E. y Robleto, E. (2006). Novel role of *mfd*: effects on stationary phase mutagenesis in *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.* 188: 7512-7520.
- [7] Pybus, C., Pedraza-Reyes, M., Ross, CA., Martin, H., Ona, K., Yasbin, RE. y Robleto, E. (2010). Transcription-Associated mutation in *Bacillus subtilis* cells under stress. *J. Bacteriol.* 13: 3321-3328.
- [8] Ramírez-Guadiana FH, Barajas-Ornelas RC, Ayala-García VM, Yasbin RE, Robleto EA, Pedraza-Reyes M. (2013). Transcriptional coupling of DNA repair in sporulating *Bacillus subtilis* cells. *Mol Microbiol.* 90: 1088–1099.
- [9] Gómez-Marroquín, M., Martin, H. A., Pepper, A., Girard, M. E., Kidman, A. A., Vallin, C., Pedraza-Reyes M., Robleto, E. A. (2016). Stationary-phase mutagenesis in stressed *Bacillus subtilis* cells operates by Mfd-dependent mutagenic pathways. *Genes*, 7(7), 33.
- [10] Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. (1989). “*Molecular cloning: a laboratory manual*”. 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory, New York, USA

DISEÑO DE UN PROCESO DE BAJO COSTO PARA LA PRODUCCIÓN DE BIODIÉSEL A PARTIR DE ACEITES DE RE-USO

Roberto Gasca González^a, Araceli Guadalupe Romero-Izquierdo^a, Fernando Israel Gómez-Castro^{a*}, Eric Zenón Olvera^b

^a Departamento de Ingeniería Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, Colonia Noria Alta, Guanajuato, Gto, 36050, MÉXICO.

iq_fergo@hotmail.com, roberto_gasca55@hotmail.com

^b Centro del Cambio Global y la Sustentabilidad del Sureste, Calle Centenario del Instituto Juárez S/N Col. Reforma, C.P. 86080, Villahermosa, Tabasco.

Resumen

El biodiésel ha sido considerado como un candidato promisorio para sustituir de manera parcial al diésel del petróleo. Convencionalmente ha sido producido utilizando materiales ricos en triglicéridos, tales como aceites vegetales no alimentarios, los cuales representan alrededor del 60-80% de su costo total de producción. Debido a esto, los aceites de re-uso han sido propuestos como una alternativa promisorio y de bajo costo para la obtención de este biocombustible, a pesar de contener una gran cantidad de ácidos grasos libres. En este trabajo se presenta el diseño de un proceso de bajo costo para la producción de biodiésel a partir de aceite residual de cocina, empleando una etapa de pretratamiento ácida seguida de una transesterificación con catalizador alcalino en presencia de etanol. Su diseño y análisis ha sido realizado mediante el simulador comercial Aspen Plus V.8, obteniendo hasta 96% de conversión hacia biodiésel determinando sus condiciones óptimas de operación. Asimismo, se presenta un análisis de sensibilidad del proceso al variar de manera controlada la composición de triglicéridos que conforman la materia prima; para analizar su influencia en el desempeño del diseño propuesto. Finalmente, los costos totales anuales, el impacto ambiental y la eficiencia energética del proceso han sido evaluados.

Palabras clave:

Biodiésel, aceite residual, transesterificación, etanol

Introducción

Actualmente, los aceites vegetales son utilizados para la obtención de combustibles renovables, tales como el biodiésel, sin embargo, el precio de esta materia prima es alto. En este sentido, el empleo de aceites de re-uso se presenta como una alternativa promisorio para reducir el costo de producción, a pesar de su alto contenido de ácidos grasos libres (FFA) y residuos sólidos suspendidos [1]. Se ha encontrado que el uso de una etapa de esterificación catalizada por ácidos fuertes tales como el ácido sulfúrico, convierte los ácidos grasos libres hacia ésteres antes de la transesterificación convencional, evitando la saponificación de los mismos [2]. En seguida, en la etapa de transesterificación se utiliza un alcohol en presencia de un catalizador alcalino para formar ésteres alquílicos de ácidos grasos (biodiésel) y glicerol [3]. Ambas etapas reactivas presentan parámetros críticos que influyen significativamente en la conversión final y el rendimiento del biodiésel [4]; siendo las más importantes la relación molar y el tipo de alcohol. Respecto a la elección del alcohol, el metanol es el más utilizado debido a su rápida reacción con triglicéridos y la fácil disolución del NaOH; sin embargo, es altamente tóxico y de precio elevado, por lo que el etanol se presenta como una alternativa promisorio no sólo por su menor costo, sino debido a la posibilidad de producirlo a partir de materia prima renovable. No obstante, es importante

señalar que es menos reactivo que el metanol y forma un azeótropo con el agua, dificultando su recuperación [5]. En este trabajo se presenta el modelado y la simulación de este proceso en el simulador Aspen Plus V.8., a través de dos etapas reactivas: esterificación y transesterificación con etanol. Finalmente, se presenta un análisis de sensibilidad del proceso al variar controladamente la composición de triglicéridos que conforman la materia prima, estudiando la influencia de dichas modificaciones en el desempeño del proceso propuesto.

Metodología

Para el modelado de este proceso se ha empleado una alimentación de 5000 L/mes de aceite residual. La composición promedio de éste incluye 6% en peso de ácidos grasos y 94% en peso de triglicéridos; siendo la distribución en peso para ácidos grasos de 12.3% ácido palmítico, 24% ácido oleico, 56.6% ácido linoleico y 7.1% ácido linolenico. Cabe mencionar que tal composición del aceite ha sido referida a un aceite de fritura, el cual de igual manera ha sido utilizado para la producción de biodiésel [6].

Para el modelado de este proceso ha sido necesario cargar en Aspen Plus los glicéridos (tri-, di- y mono-), ácidos grasos libres y etil ésteres correspondientes. La elección del modelo termodinámico fue determinado por el diagrama de Carlson [7]. UNIQUAC ha sido seleccionado para el modelado de las zonas reactivas del proceso, mientras que UNIFAC para el modelado del esquema de separación. El proceso comienza con el acondicionamiento de las materias primas para su posterior alimentación. El aceite es mezclado con etanol en una relación molar 6:1 (alcohol:aceite); mientras que el ácido sulfúrico, catalizador de la zona de esterificación, es alimentado al 1% en peso respecto al aceite. La mezcla de reacción es llevada a 70 °C y a 1 atm de presión a través de un calentador. En seguida, es introducida al reactor de esterificación, modelado como RBatch, en donde los ácidos grasos libres contenidos en el aceite residual son convertidos a etil ésteres durante un tiempo de 30 min. La reacción de esterificación es presentada en la Figura 1.

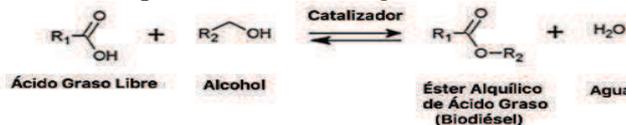


Figura 1. Esterificación de ácidos grasos libres [6].

El modelo cinético que describe esta zona reactiva ha sido propuesto en 2015 por Neumann y col. [8]; siendo una cinética de segundo orden basada en coeficientes de actividad se presentan a continuación es las ecuaciones (1) y (2).

$$r_i(T_{\text{reac}}) = \omega_{\text{cat}} \cdot C_{\text{Tot}}^2 \cdot k_f(T_{\text{reac}}) \cdot \left(a_{\text{OAc}} \cdot a_{\text{EtOH}} - \frac{1}{K_a(T_{\text{reac}})} \cdot a_{\text{EtO}} \cdot a_{\text{H2O}} \right) \quad (1)$$

$$K_a(T_{\text{reac}}) = 9.38 \cdot 10^9 \cdot \exp\left(-\frac{61.69 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}}{R} \left(\frac{1}{T_{\text{reac}}} - \frac{1}{393.15} \right)\right) \quad (2)$$

La corriente de salida de la esterificación es alimentada al reactor de transesterificación batch, modelado como RBatch a 70 °C y 1 atm de presión durante 15min; utilizando una relación molar 6:1 alcohol a aceite e hidróxido de sodio como catalizador. El modelo cinético de segundo orden que describe esta reacción ha sido propuesto por Lima N. y col., 2008. [9]. El esquema de reacción se presenta en la Figura 2.

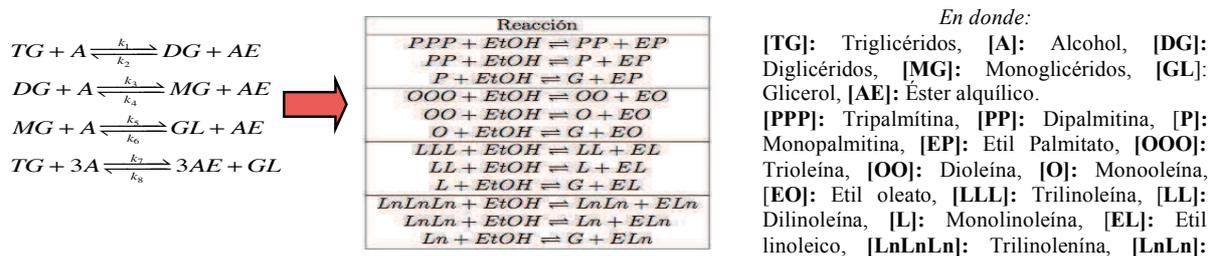


Figura 2. Esquema de reacción. Reactor de transesterificación

Para la refinación del biodiésel se emplea un decantador (Decanter), separando la fase del biodiésel y la fase del glicerol; en seguida se usa una columna de extracción líquido-líquido (Extract) para remover las trazas de compuestos ajenos al etil éster (FAEE). La remoción del agua es realizada a través de un proceso de secado en un evaporador. Respecto a la fase del glicerol, ha sido propuesta la neutralización del catalizador básico empleado en la transesterificación, agregando ácido fosfórico (H₃PO₄) en un reactor de neutralización (Rstoic), separando la sal formada por medio de un filtro de sólidos (Sep). Finalmente, para la recuperación del etanol se propone una columna de destilación extractiva (RadFrac) usando glicerol como agente extractante, debido a la presencia del azeótropo etanol-agua. La recuperación del glicerol es efectuada en una columna de destilación convencional (RadFrac). Cabe mencionar que existen metodologías similares a la de este proceso [10].

Por otro lado, para analizar el efecto de las diversas variables involucradas en el proceso, determinando las mejores condiciones operativas para obtener conversiones del aceite por encima del 95%, ha sido realizado un análisis de sensibilidad en las etapas reactivas. La metodología utilizada es presentada en la Figura 3.

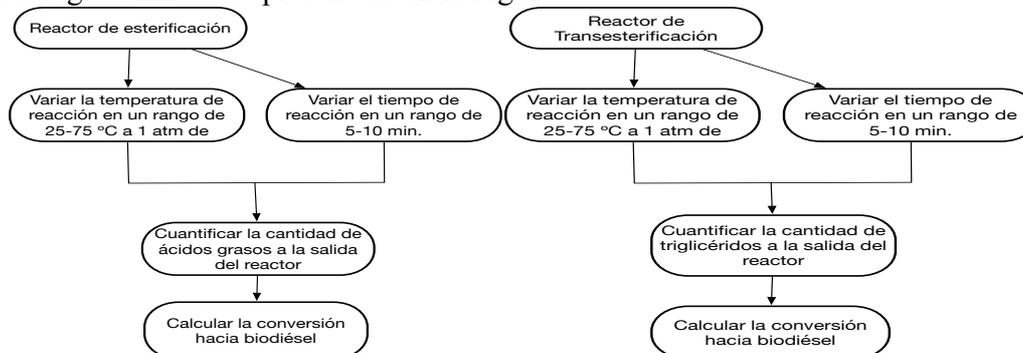


Figura 3. Algoritmo de análisis de sensibilidad en las etapas reactivas.

Para analizar el efecto de la composición en la materia prima sobre el diseño propuesto, se ha realizado un análisis de sensibilidad del proceso, variando controladamente la composición de triglicéridos que conforman el aceite. En este sentido, un incremento del 10% en peso sobre cada triglicérido y en su respectivo ácido graso ha sido analizado, definiendo cuatro casos de estudio; simulando cada caso con el diseño original propuesto.

Los costos del proceso han sido estimados usando la metodología de Guthrie [11]. Asimismo, los costos de operación y el costo total del proceso han sido estimados considerando un tiempo de recuperación de 10 años. Por otra parte, para evaluar el impacto ambiental en

función de las emisiones de CO₂ emitidas por el proceso, se ha seguido la metodología propuesta por Gadalla y col. [12]. Finalmente, el costo unitario del biodiésel que se obtiene en este proceso ha sido estimado empleando la metodología presentada por Santana y col. [13].

Resultados

En la Figura 4 se presenta el efecto de la temperatura y el tiempo de reacción para las dos etapas reactivas. Se ha encontrado que el incremento de la temperatura para ambas zonas de reacción favorece la conversión del biodiésel; obteniendo para 70°C, 99.9% para esterificación y alrededor de 86% para transesterificación.

Es importante señalar que, por encima de 70°C, el incremento de la conversión no es significativamente variante respecto a la obtenida a 70°C; además de que temperaturas cercanas al punto de ebullición del etanol (78.4°C) podrían ocasionar pérdidas de éste. Respecto al tiempo de reacción, para el reactor de esterificación, la conversión para tiempos mayores de 30 min permanece constante; mientras que, para la transesterificación por encima de 15 min de reacción, la conversión no presenta cambios importantes.

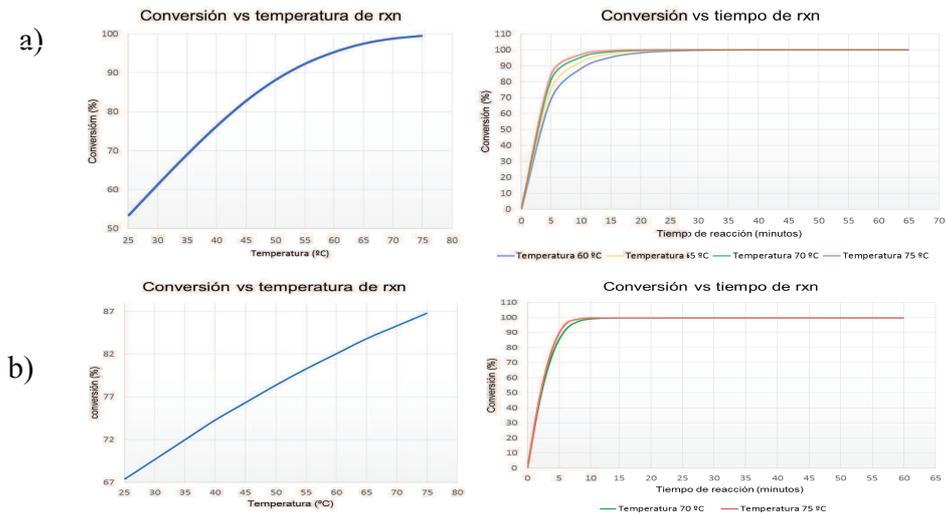


Figura 4. Análisis de sensibilidad. Efecto de la temperatura y el tiempo de reacción. Zonas reactivas: a) Reacción de esterificación, b) Reacción de transesterificación.

En la Figura 5 se presenta la distribución de productos para ambas zonas de reacción, modeladas a 1 atm de presión y 70°C, a 30 y 15 min de reacción, respectivamente; obteniendo 96% de conversión hacia biodiésel en la segunda etapa reactiva. Es importante señalar que el biodiésel obtenido cumple los estándares y especificaciones de acuerdo con la ASTM D6751.

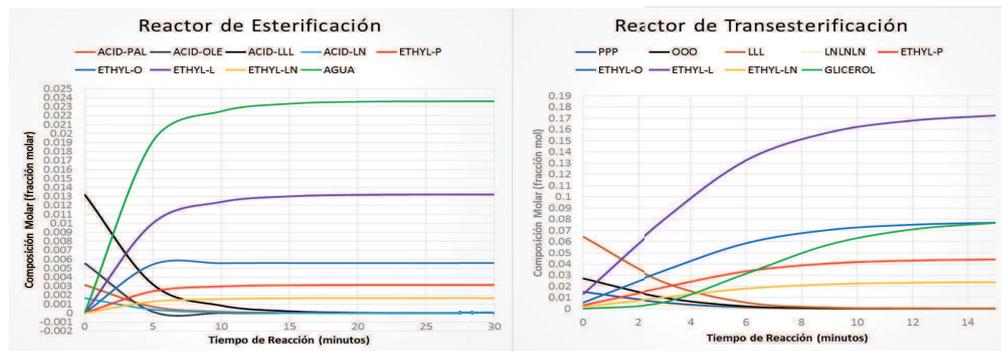


Figura 5. Distribución de productos en zonas reactivas.

Respecto a las variaciones en la composición de alimentación, en la Tabla 1 son presentadas las características del biodiésel obtenido en cada caso. Cabe mencionar que no fue necesario modificar los parámetros de operación de los equipos de proceso.

Tabla 1. Comparación de biodiésel obtenido. Casos de estudio.

Propiedad	Unidades	EN14214	ASTM D6751	Composición Original	Caso I	Caso II	Caso III	Caso IV
Contenido de Agua	%(w/w)	0.05>	0.05>	0.050	0.056	0.052	0.052	0.052
Contenido de alcohol	%(w/w)	0.2>	-	0.008	0.0001	0.008	0.008	0.007
Contenido de Monoglicéridos	%(w/w)	0.8>	-	0.73	0.77	0.72	0.69	0.72
Contenido de Diglicéridos	%(w/w)	0.2>	-	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Contenido de Triglicéridos	%(w/w)	0.2>	-	0	0	0	0	0
Contenido Glicerol total	%(w/w)	0.25>	0.24>	0	0	0	0	0

Por otro lado, el diagrama del proceso completo se presenta en la Figura 6.

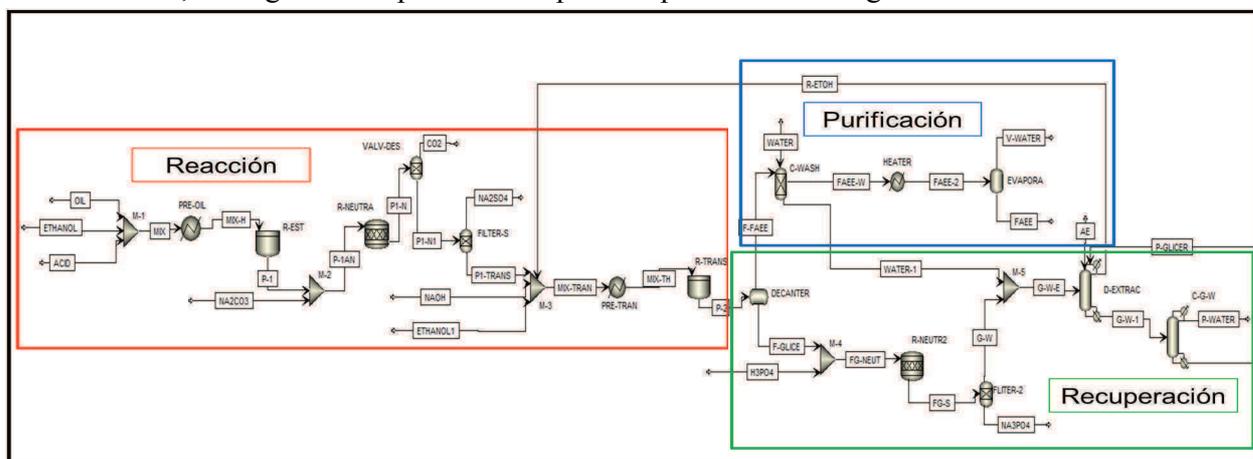


Figura 6. Diagrama del proceso propuesto.

Se ha determinado que son requeridos alrededor de 0.65 kW de energía por kilogramo de biodiésel obtenido a 70°C y con la composición original del aceite. El costo total anual del proceso se ha estimado en \$40,794 USD/año mientras que la cuantificación de emisiones de CO₂ debidas al proceso son alrededor de 224,347.104 kg CO₂/año. Finalmente, ha sido estimado el costo unitario del biodiésel con un valor de 15.334 \$/L. Es importante señalar que los resultados mencionados anteriormente corresponden al modelado del proceso a partir de la composición original del aceite residual. No ha sido estimado el precio ni las emisiones

contaminantes para los casos de estudio, debido a que permanece constante su calidad y conversión global del biodiésel.

Conclusiones

Se ha llevado a cabo el análisis de la producción de biodiésel a partir de aceites de re-uso empleando etanol como agente para la esterificación y transesterificación. Se ha encontrado que al usar etanol en las etapas de reacción es posible alcanzar altas conversiones hacia biodiésel, alrededor de 96%, en tiempos de reacción prácticamente cortos, siendo sus requerimientos energéticos relativamente bajos. El empleo de aceites residuales de cocina ha demostrado ser una buena alternativa para la reducción del costo unitario de este biocombustible, permitiendo que éste pueda competir en el mercado mientras que el uso de etanol, el cual se puede obtenerse de fuentes renovables otorga a este proceso mayor sustentabilidad ambiental.

Referencias

1. Avhad, M. R. y Marchetti, J. M. (2015) "A review on recent advancement in catalytic materials for biodiesel production", *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 50, 696-718.
2. Zanuttini, M. S., Pisarello, M. L., y Querini, C. A. (2014) "Butia Yatay coconut oil: Process development for biodiesel production and kinetics of esterification with ethanol", *Energy conversion and management*, 85, 407-416.
3. Jain, S., Sharma, M. P. y Rajvanshi, S. (2011) "Acid base catalyzed transesterification kinetics of waste cooking oil", *Fuel Processing Technology*, 92, (1), 32-38.
4. Talebian-kiakalaieh, A., Aishah, N., Amin, S. y Mazaheri, H. (2013) "A review on novel processes of biodiesel production from waste cooking oil", *Applied Energy*, 104, 683-710.
5. Musa, I. A. (2016) "The effects of alcohol to oil molar ratios and the type of alcohol on biodiesel production using transesterification process", *Egyptian Journal of Petroleum*, 25, (1), 21-31.
6. Bulla Pereira E. A. (2014) "Diseño del proceso de producción del biodiésel a partir de aceites de fritura", Tesis de Maestría, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia, 43-84.
7. Carlson, E. C. (1996) "Don't Gamble with Physical Properties", *Succeeding a simulation*, 35-46.
8. Neumann, K., Werth, K., Martín, A. y Górak, A. (2015) "Biodiesel production from waste cooking oils through esterification: Catalyst screening, chemical equilibrium and reaction kinetics", *Chemical Engineering Research and Design*, 7, 52-62.
9. Lima, N. D., Ccopa, E., Benedito, C. y col. (2008) "Biodiesel production from vegetable oils: Operational strategies for large scale systems", *Computer Aided Chemical Engineering*, 25, 1101-1106.
10. Zhang, Y., Dubé, M. A., McLean, D., y Kates, M. (2003) "Biodiesel production from waste cooking oil: 1. Process design and technological assessment", *Bioresource Technology*, 89,1-16.
11. Gómez Castro, F. I., Rico Ramírez, V. y Segovia Hernández, J. G., 2013, "Producción de Biodiésel con Metanol Supercrítico: Análisis e intensificación del proceso", primera edición, *PUBLICIA*, 88-90.
12. Gadalla, M. A., Olujic, Z., Jansens, P. J., Jobson, M. y Smith, R. (2005) "Reducing CO₂ Emissions and Energy Consumption of Heat-Integrated Distillation Systems", *Environ. Sci. Technol.*, 39, (17), 6860-6870.
13. Santana, G., Martins, P., de Lima da Silva, N., Batistella, C., Maciel Filho y Wolf Maciel, M. (2010) "Simulation and cost estimate for biodiesel production using castor oil", *Chemical Engineering Research and Design*, 88, (56), 626-632.

INTENSIFICACIÓN DE UN PROCESO DE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA PARA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL

Osvaldo López Negrete^a, Héctor Hernández Escoto^b

^a Departamento de Ingeniería Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, Guanajuato, Guanajuato, 36050, MÉXICO. o.lopeznegrete@gmail.com

^b Departamento de Ingeniería Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, Guanajuato, Guanajuato, 36050, MÉXICO. hhee@me.com

Resumen

En este trabajo se hace un análisis de un proceso de deslignificación intensificado, en el cual se busca aumentar la cantidad de materia en la etapa de pretratamiento que, para este caso, es de tipo alcalino. El proceso consiste en la dosificación de la carga de la materia lignocelulósica, en lugar de una sola adición, como se realiza de manera convencional.

Además, se verifica la eficacia del proceso de pretratamiento realizado, mediante la realización de hidrólisis enzimáticas al 5% w/v en reactor por lote ($T=50^{\circ}\text{C}$; $\text{pH}=4.0$; $\text{CE}: 7.5 \mu\text{L}/0.015 \text{ g}$), empleando el complejo enzimático comercial Cellic CTec de Novozymes® (NC-3). Se encontró que es posible aumentar las relaciones peso-volumen en el proceso de deslignificación; pudiendo llevarse a cabo hasta 10% o 12% obteniendo resultados prometedores, 93.24% y 77.71% respectivamente.

Palabras clave: *deslignificación, hidrólisis enzimática, hidróxido de sodio, sustentabilidad.*

Introducción

Los distintos problemas ambientales y energéticos que han ido surgiendo alrededor del mundo han llevado al desarrollo de distintos métodos para la obtención de combustibles verdes, conocidos como biocombustibles, tales como el bioetanol [1]. Estudios de sustentabilidad en la generación de bioetanol sugieren que debe enfocarse a la producción de bioetanol segunda generación. Éste se genera a partir de biomasa lignocelulósica, sin embargo, su producción se ve limitada por varias razones, una de las principales es por la baja accesibilidad de las enzimas hacia la celulosa y hemicelulosa debido a la poderosa barrera mecánica generada por la lignina [2].

La lignocelulosa es con frecuencia el mayor componente de residuos forestales, municipales o agroindustriales, y presenta un potencial industrial atractivo como materia prima [3]. Se prevé que esta materia pueda ser empleada en el proceso de producción de biocombustibles y de esta manera sustituir el uso de combustibles fósiles para proveer energía renovable a al menos 1600 millones de personas, contribuir al desarrollo sustentable, reducir emisiones de GEI y combatir el Cambio Climático [3].

Por otro lado, la deslignificación es la etapa que tiene por objetivo la exposición de la superficie, de la materia prima, rica en celulosa para que puede ser procesada; ya que este componente es el principal punto de partida para la producción del biocombustible (bioetanol). Existen diversos tipos de pretratamiento (tanto físico como químico) de la

materia lignocelulósica, sin embargo, el pretratamiento alcalino – oxidativo ha presentado buenos resultados; éste último es operado entre 70°C y 80°C con un pH que puede ir desde 10.5 – 11.5 [4].

En este trabajo se presentan los rendimientos de azúcares reductores obtenidos de hidrólisis enzimáticas, a partir de cambios protocolarios en el proceso de pretratamiento de la materia prima (paja de sorgo). En esta investigación se tuvieron como objetivos:

- Diseñar un proceso de deslignificación de paja a alta concentración en un reactor de tanque agitado para aumento de la capacidad operativa del proceso.
- Establecer del procedimiento para llevar a cabo una deslignificación de paja de altos sólidos en un reactor de tanque agitado.
- Estudiar una técnica convencional estadística para evaluación de bioprocesos, a través de la generación de una superficie de respuesta del desempeño del proceso - vs- condiciones de proceso.

Metodología

- Biomasa Lignocelulósica

Se utilizó paja de sorgo; se realizó el tratamiento mecánico de molienda y tamizado hasta tener muestras de distintos tamaños de malla (20, 40 y 60). Específicamente se utilizó la paja obtenida ente las mallas 40 y 60.

- Pretratamiento Alcalino-Oxidativo

Se llevó a cabo con hidróxido de sodio (NaOH) y peróxido de hidrógeno (H₂O₂).

El procedimiento consistió en colocar 60 g de paja seca natural en matraz Erlenmeyer de 2 L con 925 mL de agua destilada, 35 ml de NaOH al 50 % y 40 ml de H₂O₂ al 50%. Esto se hizo alternando 10 ml de NaOH y 10 ml de H₂O₂. El pH se ajustó a 11.5, a una temperatura de 60°C durante 5 h.

El procedimiento intensificado consistió en la adición de agua y reactivos (como se indica en el procedimiento convencional); y posteriormente hacer adicionar de manera dosificada de la paja de trigo.

- Hidrólisis enzimática

- Sistema de microreacción

Concentración de paja de 1% w/v en microtubos de 1.5 mL durante 1 hora. T=52°C, pH=4.0, agitación: 900 rpm.

- Sistema en reactor por lote de 0.5 L

Concentración de paja de 5% w/v en reactor de tanque agitado de 0.5 L por un lapso de 8 horas. T=52°C, pH=4.0, agitación: 150 rpm.

- **Medición de azúcares reductores en muestras**

Se realizó la determinación de azúcares reductores totales mediante la técnica de DNS (ácido 3,5 dinitro salicílico) desarrollada por Miller [5].

Resultados

En la Tabla 1 se puede observar que los rendimientos obtenidos en microreacción son mantenidos a nivel macro, lo cual indica que las condiciones de proceso utilizadas cumplen su función. Además, se puede indicar que aún aumentado la concentración de paja en el proceso de pretratamiento no interfiere en la acción de deslignificación del pretratamiento. En la Tabla 1 c/p se refiere a que la adición de paja se realizó controlando el tiempo de adición de paja; por otro lado, s/p corresponde a los experimentos realizados sin tomar en cuenta el tiempo de adición.

Tabla 1. Comparación de los rendimientos obtenidos en las hidrólisis enzimáticas de las microreacciones y en sistema de 0.5 L.

Condiciones de Proceso: T=50°C; pH=4.0; CE: 7.5 µL/0.015 g			
Microreacción 1.5 mL (1% w/v)	Rendimiento (%)	Macroreacción 0.5 L (5% w/v)	Rendimiento (%)
6% Convencional	64.58	6% Convencional	61.36
6% Intensificado s/p	28.92	6% Intensificado s/p	69.19
6% Intensificado c/p	68.25	6% Intensificado c/p	92.01
8% Intensificado c/p	60.52	8% Intensificado c/p	88.25
10% Intensificado c/p	94.58	10% Intensificado c/p	93.24
12% Intensificado c/p	62.27	12% Intensificado c/p	77.71

De igual manera, mediante la técnica de dosificación llevada a cabo fue posible obtener resultados prometedores para la intensificación del proceso siendo todos los rendimientos mayores que el rendimiento del experimento en donde se utilizó la paja pretratada siguiendo la manera convencional.

En la Figura 1 se pueden visualizar los resultados obtenidos en las diversas hidrólisis enzimáticas a volumen de 0.5 L, realizadas para cada dinámica de pretratamiento como lo indica la Tabla 1.

Con los resultados obtenidos en la experimentación realizada es posible afirmar que el aumento de biomasa manejada en el pretratamiento es factible puesto que no disminuyen los rendimientos obtenidos en la operación de hidrólisis, siendo el pretratamiento al 10% w/v el más apropiado pues presenta el mayor rendimiento. Cabe mencionar que, aunque el caso al 12% w/v, presenta buenos resultados es necesario recalcar que el esfuerzo necesario para lograr buena agitación aumenta de manera considerable.

Por lo tanto, dados los resultados obtenidos, se tiene que es factible pretratar mayor cantidad de biomasa usando la misma cantidad de reactivos.

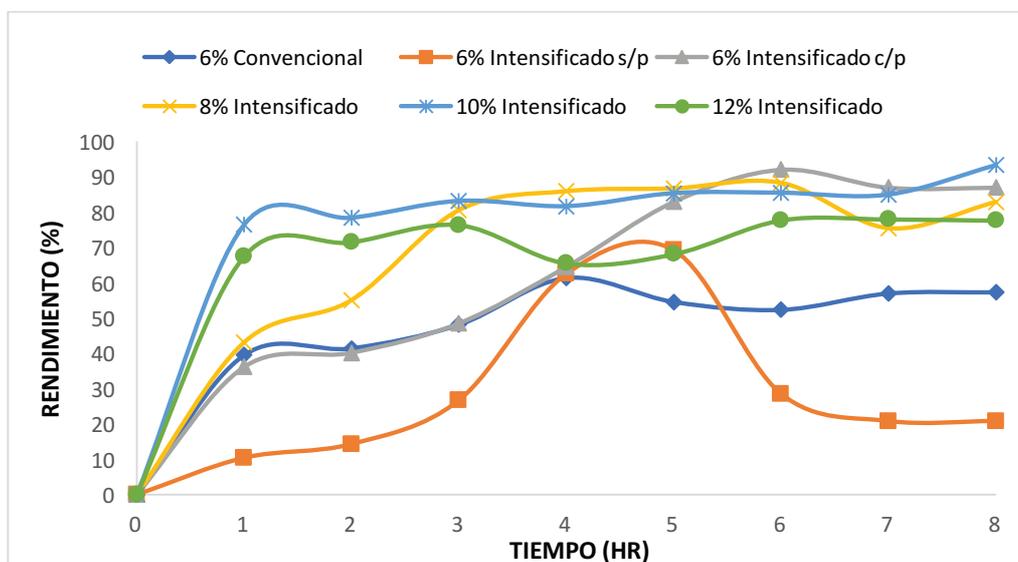


Figura 1. Trayectorias de los rendimientos obtenidos en cada una de las hidrólisis realizadas.

Conclusiones

El aumento de concentración en la carga de paja de manera dosificada en el pretratamiento alcalino-oxidativo, es posible, empleando la misma cantidad de reactivos que marca la metodología original (experimentos 6% w/v).

Por otro lado, la ejecución de las microreacciones abre la oportunidad de generar una estrecha relación entre las escalas micro y macro en la hidrólisis enzimática; además de verificar que es posible predecir resultados a nivel macroescala a través de la microescala. Lo anterior es comprobado por los rendimientos obtenidos en las hidrólisis en la generación de azúcares reductores totales con concentraciones de 77.72 g/L y 64.77 g/L con rendimientos de 93.24% y 77.71%, para cargas de 10% w/v y 12% w/v respectivamente.

Bibliografía

- [1] Peiyong Q., Ping L., Changiing C., (2016). *Effect of dilute alkaline pretreatment on the conversion of different parts of corn stalk to fermentable sugars and its application in acetone-butanol-ethanol fermentation*. Bioresource Technology. Vol. (211), pp. 117-124.
- [2] Bonifacio, S., (2012). *Estudios de deslignificación de bagazo de caña de azúcar para su uso en la producción de bioetanol*. Laboratorio de Bioquímica y Biotecnología, Centro de Investigación Nucleares., pp (1-15)
- [3] Méndez, M., (2013). *Estudio de la deslignificación alcalino oxidativa de paja de trigo y caracterización de los bioproductos generados en este pretratamiento, en la producción de bioetanol, bajo el concepto de biorefinería*. División de Ciencia Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, pp. (15-35)
- [4] Macorra, C., Brizard, A., Rincón, P., y Nieves, R. (2004). *Estudio Cinético De La Descomposición Del Peróxido De Hidrógeno En Condiciones De Extrema Alcalinidad*. Tecnología y Desarrollo, 2:1-16.

[5] Miller, G.L. (1959). *Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar*. Analytical chemistry, 31, 426-428.

ESTUDIO PROTEÓMICO DE *Sclerotium cepivorum* Berk DURANTE LA INDUCCIÓN DE LA CONIDIACIÓN

Andrea Anahi Alfaro Cendejas ^a, Jorge Ramírez Prado ^b, Alma Corrales Escobosa ^c, Kazimierz Wrobel ^c, Patricia Ponce Noyola ^a, Alberto Flores Martínez ^a

- a. Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas. Universidad de Guanajuato. Noria Alta S/N. 36050. Guanajuato, Gto. México. poncep@ugto.mx, floralb@ugto.mx
- b. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. Calle 43 No. 130, Col. Chubamá de Hidalgo. 97204. Mérida, Yucatán. México.
- c. Departamento de Química, Cerro de la Venada S/N, Pueblito de Rocha, 36040. Guanajuato, Gto. México.

Resumen

La fisiología del *Sclerotium cepivorum* Berk., patógeno del ajo (*Allium sativum*), se ha enfocado en la formación del esclerocio, pero este hongo es capaz de desarrollar otras estructuras de reproducción asexual, llamadas conidias, en condiciones limitantes de nutrientes y en respuesta al daño mecánico como estímulo.

En el grupo de trabajo, se evaluó la conidiación inducida por daño mecánico a nivel morfológico y por el análisis de transcritos diferenciales expresados en intervalos de tres horas después de la inducción, en una cepa mutante (M) de *S. cepivorum* que no forma esclerocios, obteniendo cambios significativos en la transcripción del primer intervalo, considerado a las tres horas después de la inducción por daño mecánico.

En este estudio proteómico determinamos la presencia de 39 proteínas solubles en micelio de la cepa M a 3 horas post-inducción, cuya cuantificación e identificación fue posible analizando los datos obtenidos por Espectrometría de Masas con el programa Maxquant®, usando como base de datos el proteoma de hongos filamentosos relacionados filogenéticamente con *S. cepivorum*. Los resultados aquí obtenidos se relacionan con lo observado en el análisis transcriptómico de la cepa M al mismo tiempo después de la inducción y patrones de proteínas solubles obtenidos por Electroforesis de doble dimensión.

Palabras clave

Conidiación, Factores de transcripción, Análisis LC-MS/MS

Introducción

El hongo patógeno del ajo *Sclerotium cepivorum* (Sc), desarrolla conidias como estructuras de reproducción cuando tiene baja disponibilidad de nutrientes en vez de sus estructuras características: esclerocios (1,2). Generamos una cepa mutante de *S. cepivorum* (ScM) capaz de formar sólo conidias sin importar si crece en medios ricos o medios mínimos (3). En un análisis transcriptómico de la cepa ScM se obtuvieron cambios significativos a intervalos de tiempo cortos después de inducir la conidiación mecánicamente (cortando en el micelio), además en su genoma *S. cepivorum* tiene genes homólogos a los descritos en otros hongos filamentosos, implicados en la inducción y regulación de la conidiación (4, 5), pero las proteínas de este hongo fitopatógeno implicadas en este fenómeno no han sido caracterizadas. Los objetivos de este proyecto fueron analizar las proteínas diferenciales de la cepa ScM en comparación con la cepa silvestre (Sc) detectadas a intervalos cortos, específicamente tres horas, después de la inducción, para identificar las proteínas implicadas en el inicio de la conidiación y su posible función en la regulación de la conidiación.

Metodología

La expresión diferencial de las proteínas solubles se analizó mediante dos estrategias: electroforesis 2-D y análisis de LC-MS / MS (6,7). Los espectros de masas de péptidos de las proteínas de la fracción soluble se analizaron con MaxquantTM y el software complementario PerseusTM para identificar proteínas significativamente diferenciales entre las cepas silvestre (Sc) y mutante (ScM) a 0 y 3 horas después de la inducción. Los resultados obtenidos por ambos programas se compararon con los resultados del análisis transcriptómico por medio de la herramienta BLASTP y los patrones de proteínas solubles obtenidos por electroforesis 2-D.

Resultados

La plataforma bioinformática MaxquantTM nos permitió analizar en grupos de dos muestras cuatro muestras con sus tres replicas experimentales, se utilizó una base de datos de proteínas de Uniprot de especies del genero *Sclerotinia*, para identificar las proteínas de las muestras. El Grupo 1 es la comparación de las Muestra 1 (Proteínas solubles de la cepa Mutante de Sc a 0 horas de la inducción) y la Muestra 2 (Proteínas solubles de la cepa Mutante de Sc a 3 horas de la inducción), los resultados presentados en este trabajo son de este grupo. En el Grupo 1 se identificaron 237 proteínas en la Muestra 1 presentes en al menos dos de las tres replicas experimentales y 212 proteínas en la Muestra 2. En las Muestra 1 se identificaron 36 proteínas únicas, es decir que no están presentes en la Muestra 2; y 11 proteínas únicas en la Muestra 2. Presentamos además un diagrama de Venn donde representamos el Grupo 3 que es la comparación de la Muestra 1 y la Muestra 3 (Proteínas solubles de la cepa Silvestre de Sc a 0 horas de la inducción). Donde se identificaron 40 proteínas únicas en la Muestra 3 y 32 proteínas únicas en la Muestra 1. (Ver, Figura 1)

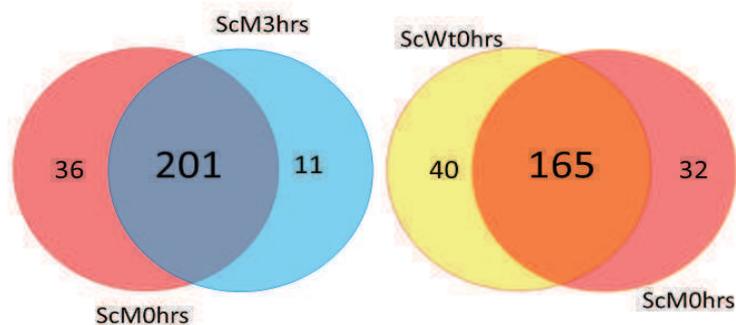


Figura 1. Diagramas de Venn. Grupo 1, comparación de la Muestra 1 (ScM0hrs, en rojo) y Muestra 2 (ScM3hrs, en azul) y Grupo 3, comparación de la Muestra 3 (ScWt0hrs, en amarillo) y Muestra 1 (ScM0hrs, en rojo).

El análisis estadístico se realizó en PerseusTM, se utilizaron los datos de la abundancia o cuantificación obtenida en MaxquantTM, al normalizar los datos de las muestras del Grupo 1 se compararon un total de 417 proteínas y por una prueba de t-student para dos muestras (p-value=0.05) con la que se obtuvieron las proteínas significativamente diferenciales o más abundantes de cada muestra, obteniendo 39 proteínas más abundantes en la Muestra 2 (Figura 2); 31 de estas 39 proteínas tienen similitud con los resultados obtenidos en el análisis transcriptómico.

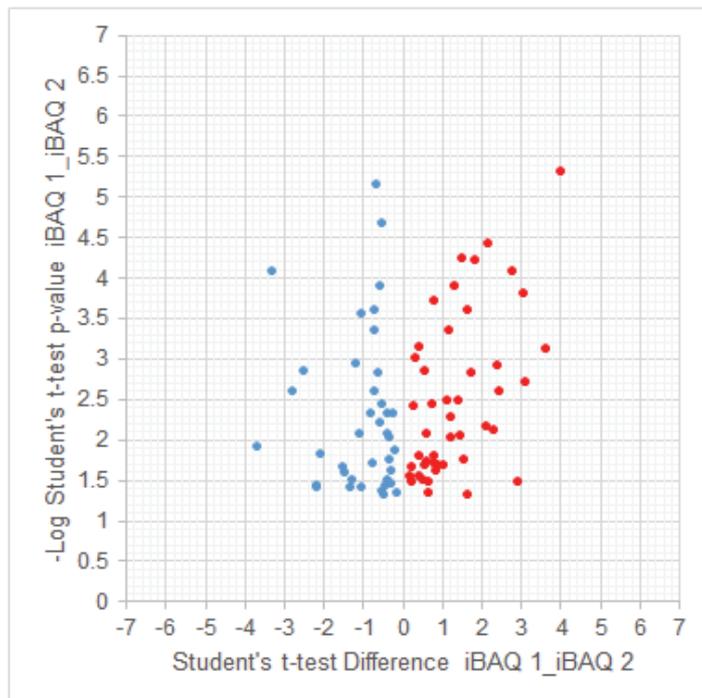


Figura 2. Proteínas significativamente diferenciales en la Muestra 2 (en azul) del Grupo 1.

En graficas de pastel presentamos la posible función molecular y localización celular dada por la anotación GO (Gen Ontology) de las 39 proteínas de la Muestra 2 del Grupo 1, se tomaron en cuenta las proteínas con localización nuclear, y con función de DNA binding y Zinc ion binding ya que estas anotaciones están presentes en factores de transcripción descritos en otros hongos filamentosos involucrados en el inicio y regulación de la conidiación (4, 5, 8). En el caso de localización celular casi la mitad (49%) de las proteínas no tenían anotación mientras que la anotación de función molecular fue más completa.

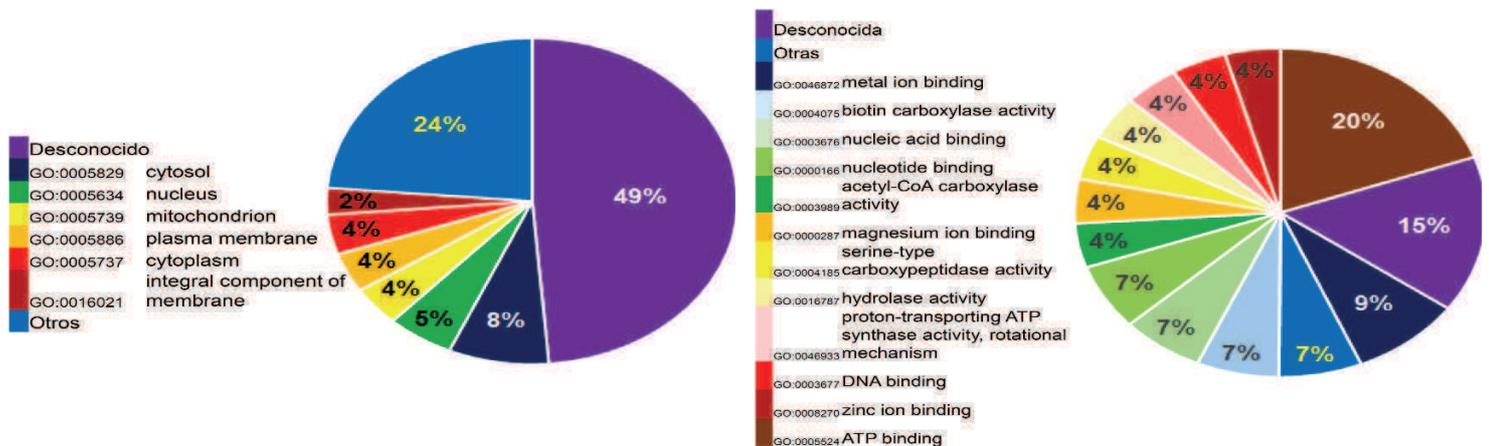


Figura 3. Graficas de las proteínas significativamente diferenciales de la Muestra 2 del Grupo 1. Posible localización celular y posible función molecular dadas por la anotación GO disponible en la base de datos de Uniprot.

Para conocer el proceso biológico en que estaban implicadas las proteínas diferenciales se utilizó la anotación GO, la base de datos de Keeg y el programa de análisis de redes STRING. Obteniendo que el total de proteínas identificadas en el Grupo 1 puede agruparse en dos procesos: el metabolismo del carbono y la traducción; porque un número de al menos 19 proteínas participaban en el primer proceso y 16 proteínas en el segundo proceso. En STRING se propone que las proteínas diferenciales con anotación en el metabolismo del carbono, podrían estar participando en la polimerización del citoesqueleto y como intermedios en la síntesis de metabolitos secundarios, tomando como base lo descrito en organismos modelo dentro de su base de datos.

Utilizando el programa ImageMaster 2D Platinum identificamos seis proteínas diferentes en nuestros geles de electroforesis 2-D de las Muestra 1 y Muestra 2, donde se les asigno un posible peso molecular y un punto isoeléctrico; estos datos se compararon con los PM y pI de las 39 proteínas de la Muestra 2. Además con los PM y pI posibles obtenidos de ImageMaster utilizando la herramienta TagIdent de ExPASy se les dio una posible identificación; obteniendo similitud de función molecular con las proteínas diferenciales del análisis de masas.

Tabla 1. Proteínas detectadas por análisis de imagen en patrones de electroforesis 2-D

Serie	PM en KDa	pI
D01	73	5.5
D02	50	9.52
D03	35	5.5
D04	33	8.05
D05	33	5.5
D06	19	5.59

Conclusiones

- Se identificaron seis proteínas en la muestra 2, que no están presentes en la cepa silvestre, con función molecular en procesos de oxidación-reducción, proteínas de unión a ATP y dos con función desconocida.
- Hemos identificado proteínas similares en ambos estudios el proteómico y transcriptómico, involucradas en la replicación del ADN, y transporte de proteínas.

Bibliografía

1. Coley-Smith, J.R. (1960). Studies of the Biology of *Sclerotium cepivorum* Berk. Annals of Applied Biology. 48(1): 8-18.
2. Gindro C. & Hoste G.L. (1997). Germination and Infectious Potential of Microconidia of *Sclerotium cepivorum*. Phytopathology. 145:171-175.
3. Gonzalez-Hernandez S.E. (2013). Estrategias Moleculares para la Interrupción del Gen *sc1* de *Sclerotium cepivorum* Berk. Tesis de Maestría. Universidad de Guanajuato.
4. Ni M., Gao N., Kwon N.J., Shin K.S., Yu J.H. (2010) Cap 35. Regulation of *Aspergillus* Conidiation. Cellular and Molecular Biology of Filamentous Fungi. Ed. Borkovich K.A & Ebbole D.J. ASM Press. Washington, DC. U.S.A.
5. Ebbole, D.J. (2010) Cap 36. The Conidium. Cellular and Molecular Biology of Filamentous Fungi. Ed. Borkovich K.A & Ebbole D.J. ASM Press. Washington, DC. U.S.A.
6. Ramírez-Segovia A.S., Wrobel K., Acevedo-Aguilar F.J., Corrales-Escobosa A.R., Wrobel K. (2017). Effect of Cu (ii) on in vitro glycation of human serum albumin by methylglyoxal: a LC-MS-based proteomic approach. Metallomics. 9(2):132-140.
7. Karasinski, J., Wrobel K., Corrales-Escobosa A., Konopka, A. Bulska, E., Wrobel K. (2017). *Allium cepa* L. Response to Sodium Selenite (Se (IV)) Studied in Plant Roots by a LC-MS-Based Proteomic Approach. Journal of agricultural and food chemistry. 65(19):3995-4004.
8. Know N.J., Garzia A., Espeso E.A., Ugalde U., Yu J.H. (2010). FlbC is a putative nuclear C2H2 transcription factor regulating development in *Aspergillus nidulans*. Molecular Microbiology. 77(5):1203-1219.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Chrysactinia mexicana* Gray SOBRE *Candida glabrata*

^a Omar Medina de la Cruz, ^a Carlos Alberto Leal Morales, ^b Verónica Gallegos García

^a Departamento de Biología. División de Ciencias Naturales y Exactas. Campus Guanajuato. Universidad de Guanajuato. Noria Alta S/N. Guanajuato. Gto. C.P.36050

^b Facultad de Enfermería y Nutrición. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Niño Artillero N°130 Col. Universitaria. San Luis Potosí. S.L.P. C.P 78290.

vgguaslp2@hotmail.com

Resumen

Introducción. *C. glabrata* es un microorganismo oportunista que puede causar candidemia y además presenta resistencia a los azoles y equinocandinas, que son los fármacos de elección para tratar este tipo de infecciones fúngicas. El **objetivo** del trabajo fue determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial *Chrysactinia mexicana* Gray sobre *C. glabrata*. **Material y métodos.** La materia vegetal se recolectó en la carretera 57 en la desviación a Guadalcázar y se secó a temperatura ambiente. Las flores, hojas y ramas secundarias fueron seleccionadas para molerlas y extraer aceite esencial por el método de arrastre de vapor. Se realizaron ensayos de crecimiento de fase logarítmica y estacionaria por triplicado. Para los ensayos en fase logarítmica, se incubó *C. glabrata* en medio YPD líquido con diferentes concentraciones del aceite esencial durante 7h a 28°C, posteriormente las células fueron lavadas para la realizar ensayos de microdilución en cajas con YPD sólido que se incubaron durante 48h a 28°C. Los ensayos de fase estacionaria difirieron a los de fase logarítmica en las condiciones de interacción del aceite esencial con *C. glabrata* porque la incubación fue por 3h y el medio YPD líquido provenía de un cultivo de fase estacionaria. **Resultados.** En el ensayo de fase logarítmica la CMI fue 4.64 mg/1mL mientras que en fase estacionaria fue 6.5 mg/1mL. **Conclusiones.** *Candida glabrata* en fase estacionaria es más resistente que en fase logarítmica.

Palabras clave: *Candida*, *aceite esencial*, *Chrysactinia mexicana* Gray

Introducción

Las infecciones fúngicas invasivas han aumentado desde la década de 1980, principalmente en pacientes inmunodeprimidos y/o hospitalizados con enfermedades graves [1] como los pacientes con cáncer sometidos a quimioterapia, personas portadoras del virus de inmunodeficiencia humana, pacientes sometidos a trasplante renal, por mencionar algunos [2]. Entre los principales microorganismos que originan este tipo de afecciones se encuentran las especies del género *Candida* que forman parte de la microbiota del ser humano, se localiza principalmente en la mucosa del tracto gastrointestinal, vagina y piel; sin embargo cuando este patógeno oportunista encuentra las condiciones adecuadas produce enfermedad [3].

A nivel mundial *C. albicans* es la especie mayormente aislada de pacientes con síntomas de candidemia, sin embargo, las infecciones por *Candida spp.* han aumentado en los últimos años. Entre las especies que mayor importancia ha tenido es *Candida glabrata* no solo porque en algunos países es la que se aísla en segundo lugar si no porque se ha reportado que tiene la capacidad para generar resistencia a los medicamentos de elección en comparación con otras especies [4-5], además de los altos costos derivados de la atención hospitalaria así

como la prolongación en la estadía hospitalaria, por lo tanto es de importancia proponer nuevas alternativas terapéuticas y una de ellas es a través de las plantas medicinales [6].

Las plantas medicinales se han utilizado a nivel mundial como una alternativa a diferentes padecimientos, por ejemplo algunos extractos y aceites esenciales obtenidos a partir de estas han mostrado tener diferentes efectos biológicos como bactericidas, bacteriostáticos, fungistáticos, fungicidas, por mencionar algunos [7]. Entre los países que hacen uso de la medicina tradicional están Brasil, Cuba, India, Jordania y México; debido a la riqueza y diversidad en su flora [8].

Las plantas de la familia *Asteraceae* se utilizan por el contenido de sesquiterpenos que poseen, además hay reportes de la actividad antifúngica de los aceites esenciales de estas. Un ejemplo es el aceite obtenido de la planta *Chrysactinia mexicana* Gray la cual tiene una amplia distribución en la República Mexicana, localizándose en dieciséis estados del noreste del país entre los que se encuentran Nuevo León, Durango, Chihuahua, Coahuila, Guanajuato y San Luis Potosí [9]. Cárdenas-Ortega et al. (2005) obtuvieron el aceite esencial de *Chrysactinia mexicana* Gray por el método de destilación por arrastre de vapor y lo probaron sobre el hongo fitopatógeno *Aspergillus flavus* e identificaron su efecto fungistático y fungicida [9]. Por lo anterior el presente trabajo tuvo como objetivo determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Chrysactinia mexicana* Gray sobre *Candida glabrata*.

Material y métodos

Cepa utilizada

Para esta investigación se utilizó una cepa de referencia ATCC CBS138.

Medio de Cultivo

La cepa fue cultivada en medio líquido de levadura-peptona-dextrosa (YPD), 1% de extracto de levadura (BD Bioxon), 2% peptona (BD Bioxon) y 2% de glucosa (Fermont). Para el medio YPD sólido se le adicionó 2% de agar (BD Bioxon). Los cultivos líquidos se incubaron a 28°C a 120rpm durante 48 h.

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Chrysactinia mexicana* Gray en fase logarítmica

La CMI se determinó como la concentración más baja requerida para la inhibición completa del crecimiento (sin crecimiento visible) [10]. A partir de un cultivo de *C. glabrata* en fase estacionaria, se inoculó en 10mL de medio YPD a una OD_{600nm} 0.5 con su diluyente DMSO al 1.25% (D8418 Sigma-Aldrich) y se agregaron las diferentes concentraciones del aceite esencial de *Chrysactinia mexicana* Gray en un rango de 4.64-18.5mg ($\rho = 0.9290g/cm^3$) del aceite esencial, los tubos se incubaron a 28°C con agitación continua a 120 rpm durante 7 h. Transcurrido el tiempo de incubación se determinó la densidad óptica y se ajustó a OD_{600nm} 0.5 para 1mL de agua destilada estéril, posteriormente se lavaron las células y se procedió a realizar ensayos de microdilución.

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Chrysactinia mexicana* Gray en fase estacionaria

A partir de un cultivo de *C. glabrata* en fase estacionaria, se inocula a una OD_{600nm} 0.5 en 10mL de medio YPD que provenía de fase estacionaria. A cada tubo se le adicionó diferentes concentraciones del aceite esencial de *Chrysactinia mexicana* Gray con su diluyente DMSO al 1.25%, las concentraciones fueron en un rango de 6.5-9.29mg, los tubos se incubaron a 28°C con agitación continua a 120rpm durante 3h. Después de la incubación se determinó la densidad óptica y se ajustó a OD_{600nm} 0.5 para 1mL de agua, las células se lavaron y realizaron ensayos de microdilución.

Ensayos de microdilución

A partir de los cultivos de *C. glabrata* en interacción con los diferentes concentraciones del aceite esencial probadas en fase logarítmica y estacionaria, se realizaron los ensayos de microdilución. Una vez que las células fueron lavadas y en los tubos se ajustó a una OD_{600nm} 0.5 con 1mL de agua, se realizaron diluciones seriadas (10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}) en placas de 96 pozos en condición de esterilidad. Se tomaron 5µl de cada dilución, se sembraron las células por goteo en placas con medio YPD y se incubaron a 28°C durante 48h.

Recolección de la materia vegetal

Chrysactinia mexicana Gray en etapa de floración se recolectó en el mes de Julio del año 2016 en el camino a Guadalcazar municipio de San Luis Potosí. La materia vegetal fue certificada por el taxónomo José García Pérez con el código SLPM37571 depositado en el herbario del instituto de zonas desérticas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Obtención del aceite esencial

La materia vegetal se dejó secar a temperatura ambiente por 72 h, se separaron las flores, las hojas y las ramas secundarias; se trituraron en una licuadora industrial y se licuaron para obtener una partícula de 1750 micras para la homogenización de la muestra.

El aceite esencial se extrajo por la técnica de destilación por arrastre de vapor y se colocó 600 mL de agua destilada en el primer matraz, en el segundo matraz 50grs de materia vegetal y el destilador se dejó durante 8h; al término de este proceso se obtuvo 200mL de agua floral. Para separar el aceite esencial del agua floral se utilizó la técnica de separación por densidades por medio de un embudo de separación obteniendo alrededor de 1mL de aceite esencial por cada 50 gramos de materia vegetal y entre cada lote de aceite esencial se conservó el olor característico y el color amarillo claro, una vez obtenido este fue almacenado a 4°C en frascos ámbar y sellados al vacío hasta su utilización.

Resultados

Determinación de CMI del aceite esencial de *Chrysactinia mexicana* Gray sobre *Candida glabrata* en fase logarítmica

Antes de establecer la CMI para la cepa de referencia, se determinó que el solvente empleado (DMSO) no tiene efecto en el crecimiento de las células (Figura 1). Para conocer la CMI del aceite esencial de *C. mexicana* Gray se emplearon diferentes concentraciones que

interaccionaron con células de *C. glabrata* y se observó que 4.65mg/mL es la CMI en fase logarítmica (Figura 2).

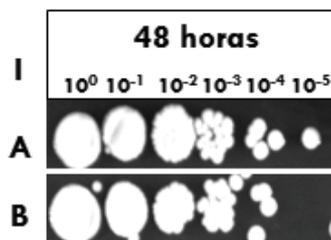


Figura 1. Viabilidad de *Candida glabrata* con DMSO en fase logarítmica. Ensayo de microdilución de *C. glabrata*. Panel I diluciones seriadas. En la línea A se muestra la incubación de 7h de las células en fase logarítmica en YPD líquido sin DMSO (control). B se muestra la interacción de 7h de las células e fase logarítmica en YPD líquido con DMSO al 1.25%. Incubación de 48h sobre YPD agar a 28°C.

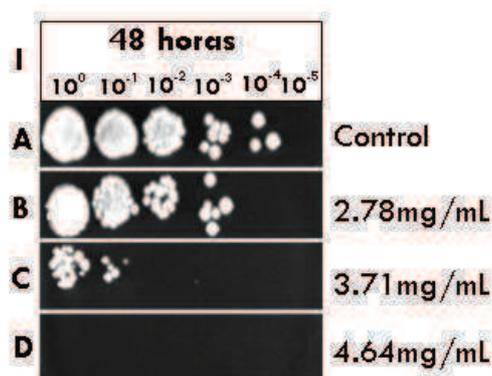


Figura 2. Efecto del aceite esencial de *Chrysactinia mexicana* Gray sobre *Candida glabrata* en fase logarítmica. Ensayo de microdilución de *Candida glabrata*. Panel I diluciones seriadas. En la línea A se muestra la incubación de 7h de las células en fase logarítmica en YPD líquido sin DMSO (control). En las líneas B-E de cada panel se observa la interacción de 7h de las células en fase logarítmica en YPD líquido con diferentes concentraciones del aceite esencial diluido con DMSO al 1.25%. Incubación de 48h sobre YPD agar a 28°C.

Determinación de CMI del aceite esencial de *Chrysactinia mexicana* Gray sobre *Candida glabrata* en fase estacionaria

Para determinar la CMI de la cepa de referencia de *Candida glabrata* en fase estacionaria se incubaron células en esta fase de crecimiento a diferentes concentraciones del aceite esencial de *Chrysactinia mexicana* Gray y al disolvente (DMSO). Como puede observar (Figura 3) el crecimiento de esta cepa en interacción con DMSO durante esta fase no afecta su viabilidad. Se observa la CMI (figura 4) del aceite esencial en la cepa de referencia a 6.50mg/mL.



Figura 3. Viabilidad de *Candida glabrata* con DMSO en fase estacionaria. Ensayo de microdilución de *C. glabrata*. Panel I diluciones seriadas. En la línea A se muestra la incubación de 3h de las células en fase estacionaria en YPD líquido recuperado de un cultivo de fase estacionaria sin DMSO (control). B se muestra la interacción de 3h de las células en fase estacionaria en YPD líquido recuperado de fase estacionaria con DMSO al 1.25%. Incubación de 48h sobre YPD agar a 28°C.

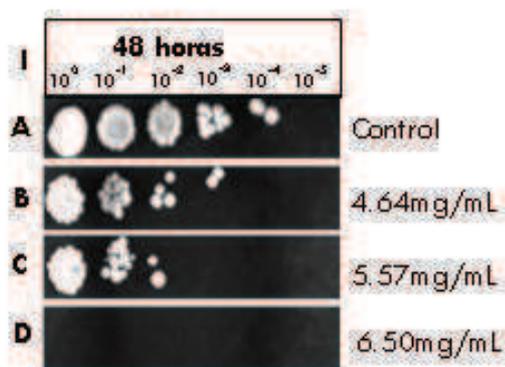


Figura 4. Efecto del aceite esencial de *Chrysactinia mexicana* Gray sobre *Candida glabrata* en fase estacionaria. Ensayo de microdilución de *Candida glabrata*. Panel I diluciones seriadas. En la línea A se muestra la incubación de 3h de las células en fase estacionaria en YPD líquido recuperado de fase estacionaria sin DMSO (control). En las líneas B-E de cada panel se observa la interacción de 3h de las células en fase estacionaria en YPD líquido recuperado de fase estacionaria con diferentes concentraciones del aceite esencial diluido con DMSO al 1.25%. Incubación de 48h sobre YPD agar a 28°C.

Conclusiones

La Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de *Chrysactinia mexicana* Gray utilizada en fase estacionaria fue mayor que la utilizada en fase logarítmica para la cepa de referencia ATCC CBS138 de *Candida glabrata*.

Bibliografía

- [1] Sardi, J.C., Scorzoni, L, Bernardi, T., Frusco-Almeida, A.M., Giannini, M.J.S.M. (2013) “*Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options”, *Jou Med Micro.*, 62, ,10-24.
- [2] Linton, C.J., Borman, A.M., Cheung, G., Holmes, A.D., Szekely, A., Palmer, M.D., Bridge, P.D., Campbell, C.K., Johnson, E.M. (2007) “Molecular identification of unusual pathogenic yeast isolates by large ribosomal subunit gene sequencing: 2 years of experience at the United Kingdom mycology reference laboratory” *Jou clinic micro*, 45, 1152-1158.
- [3] Underhill, D.M., Iliev, I.D. (2014) “The mycobiota: interactions between commensal fungi and the host immune system” *Nat Revi Immu*, 14, 405-416.

- [4] Horn, D.L., Neofytos, D., Anaissie, E.J., Fishman, J.A., Steinbach, W.J., Olyaei, A.J., Marr, K.A., Pfaller, M.A., Chang, C.-H., Webster, K.M. (2009) "Epidemiology and outcomes of candidemia in 2019 patients: data from the prospective antifungal therapy alliance registry" *Clinic Infect Dis*, 48, 1695-1703.
- [5] Trick, W.E., Fridkin, S.K., Edwards, J.R., Hajjeh, R.A., Gaynes, R.P., National Nosocomial Infections Surveillance System, H. (2002) "Secular trend of hospital-acquired candidemia among intensive care unit patients in the United States during 1989–1999" *Clinic Infect Dis*, 35, 627-630.
- [6] Duarte, M.C.T., Figueira, G.M., Sartoratto, A., Rehder, V.L.G., Delarmelina, C. (2005) "Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants", *Jou Ethno*, 97, 305-311.
- [7] Martinez, M.J., Betancourt, J., Alonso-Gonzalez, N., Jauregui, A. (1996) "Screening of some Cuban medicinal plants for antimicrobial activity", *Jou Ethno*, 52, 171-174.
- [8] Peredo, H., Palou, E., López, A. (2009) "Aceites esenciales: métodos de extracción. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos", 3, 24-32.
- [9] Cárdenas-Ortega, N.C., Zavala-Sánchez, M.A., Aguirre-Rivera, J.R., Pérez-González, C., Pérez-Gutiérrez, S. (2005) "Chemical composition and antifungal activity of essential oil of *Chrysactinia mexicana* Gray", *Jou Agric Fo Chem*, 53, 4347-4349.
- [10] Zore, G.B., Thakre, A.D., Jadhav, S., Karuppayil, S.M. (2011) "Terpenoids inhibit *Candida albicans* growth by affecting membrane integrity and arrest of cell cycle", *Phyto*, 18, 1181-1190.

SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CATALÍTICA DE Pt/HZSM-22/ γ -Al₂O₃ EN LA HIDRODESOXIGENACIÓN DE ACEITE DE JATROPHA PARA LA PRODUCCIÓN DE COMBUSTIBLE RENOVABLE DE AVIACIÓN

Araceli Guadalupe Romero-Izquierdo^a, Juan Carlos Chavarría Hernández^{b*}, Claudia Gutiérrez-Antonio^c, ,
Fernando Israel Gómez-Castro^a, Salvador Hernández^a

^a Departamento de Ingeniería Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, Colonia Noria Alta, Guanajuato, Gto., 36050, MÉXICO

^b Unidad de Energía Renovable (UER), Centro de Investigación Científica de Yucatán A.C., Carretera Sierra Papacal - Chuburná Puerto km 5, Sierra Papacal, 97302, Mérida, Yucatán, MÉXICO. jc.ch@cicy.mx, jcchav@gmail.com .

^c Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Centro Universitario, Cerro de las Campanas s/n, Col. Las Campanas, Santiago de Querétaro, Qro., 76010, MÉXICO

Resumen

La producción de hidrocarburos a partir de aceites vegetales mediante la reacción de hidrodesoxigenación (HDO) utilizando catalizadores de platino soportados sobre zeolitas, ha permitido la obtención de cadenas lineales y ramificadas en el rango de la turbosina, el diésel verde y la biogasolina. En este trabajo se presenta la síntesis, caracterización y evaluación de la actividad del catalizador Pt/HZSM-22/ γ -Al₂O₃ en la reacción de HDO del aceite de Jatropha para la obtención de bioturbosina, diésel verde y biogasolina. La caracterización del catalizador fue realizada mediante fisisorción de nitrógeno (BET), difracción de rayos X (DRX), microscopía electrónica de barrido (MEB) y espectroscopía de energía dispersiva (EDS). De acuerdo con los resultados de las pruebas de actividad, la conversión de triglicéridos hacia hidrocarburos fue cercana al 100%, con eliminación de oxígeno del 97% y selectividad hacia bioturbosina (producto de interés) del 46.3%, ligeramente por debajo del 46.6% obtenido para el diésel verde.

Palabras clave: *Bioturbosina, hidrodesoxigenación, caracterización, actividad catalítica.*

Introducción

El uso extensivo de hidrocarburos de origen fósil ha provocado el agotamiento de las reservas petroleras e importantes cambios en los patrones climáticos actuales. En este sentido, el sector transporte, consumidor potencial de hidrocarburos fósiles ha identificado el uso de combustibles renovables como una alternativa promisorio para hacer frente a tales problemáticas. En el sector de aviación, la bioturbosina se ha propuesto como el combustible renovable [1]. En función de la materia prima utilizada para su procesamiento han sido presentadas cinco posibles rutas para convertir la biomasa en bioturbosina [2]. Sin embargo, el proceso de hidrotratamiento ha resultado el más promisorio, debido a su similitud con los procesos existentes en la industria de petróleo. Originalmente éste era utilizado para remover heteroátomos como azufre, nitrógeno, oxígeno y metales, a través de la saturación de los hidrocarburos insaturados del petróleo; implicando pequeños cambios en su estructura molecular [3]. Actualmente se ha utilizado en la conversión de los triglicéridos presentes en aceites vegetales y/o grasas animales hacia hidrocarburos. Este concepto general engloba diversas rutas de reacción, siendo hidroxigenación (HDO), hidroxilación (HDC) e hidroxilación las principales [4]. En la HDO se lleva a cabo la hidrogenación total de los triglicéridos, obteniendo hidrocarburos y agua como principales productos de reacción [4]. Los productos obtenidos de este proceso principalmente son alcanos en el rango del

diésel (C15-C18); siendo también posible obtener hidrocarburos en el rango de la bioturbosina y la gasolina, mediante el uso de catalizadores sólidos bifuncionales, altas temperaturas ($>300\text{ }^{\circ}\text{C}$) y presiones de hidrógeno (3-10 MPa) [5]. Es importante señalar que el hidrógeno mantiene la actividad del catalizador e impide la formación de coque [6]. Ha sido reportado que catalizadores de platino soportado en zeolitas favorecen la isomerización de las moléculas debido a la presencia de sitios ácidos [7]; éstos últimos favorecen la conversión de las cadenas lineales hacia cadenas ramificadas y de menor tamaño [6]. Sin embargo, es necesario moderar su acidez, aumentando la isomerización y manteniendo un craqueo controlado. En este sentido, la γ -alúmina se presenta como una alternativa para ser utilizada también como soporte; proporcionando alta estabilidad, área superficial y acidez moderada-leve [8]. En este trabajo se presenta la síntesis, caracterización y evaluación de la actividad catalítica de Pt/HZSM-22/ γ -Al₂O₃ en la HDO de aceite de *Jatropha* para generar hidrocarburos lineales y ramificados, en el rango de la turbosina y el diésel verde.

Metodología

La preparación del catalizador Pt/HZSM-22/ γ -Al₂O₃ se ha llevado a cabo en dos etapas: preparación del soporte catalítico e impregnación incipiente del platino. La primera etapa comienza con la eliminación de la plantilla orgánica que acompaña a la zeolita (ZSM-22) comercial mediante calcinación a $520\text{ }^{\circ}\text{C}$ bajo flujo de oxígeno. En seguida debe establecerse la relación zeolita-alúmina, considerando 60 % en peso de γ -Al₂O₃ con 40 % en peso de HZSM-22. Del total de γ -Al₂O₃ considerado, 10 % es extraído para ser peptizado con una solución al 5 % en volumen de ácido fórmico; siendo en seguida mezclada mecánicamente con la zeolita y alúmina restantes, añadiendo agua en mínima cantidad para favorecer el mezclado. Con la pasta generada se lleva a cabo la formación de extruidos, secándolos a temperatura ambiente por 12 h, seguido de 6 h a $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ en una estufa con rampa de calentamiento de $1\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Los extruidos secos son sometidos a calcinación a $600\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 4 h, con rampa de calentamiento de $1\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$. En seguida son tamizados en malla 60-100, siendo entre 0.149 mm y 0.25 mm el tamaño del soporte catalítico. La segunda etapa comienza con la determinación del volumen de poro del soporte preparado. Para ello son tomadas 3 muestras de 0.1 g de soporte. Gotas cuantificadas de agua desionizada, a través de micropipetas calibradas, son dispersadas sobre las muestras, hasta conseguir el mojado completo con agua, sin llegar al derrame. En este punto es cuantificada la cantidad de agua añadida, misma que es absorbida por 0.1 g de material. Con este dato es posible obtener la máxima cantidad de agua que puede ser añadida a la totalidad de soporte catalítico. Esto es importante debido a que la impregnación de 1 % de Pt sobre el soporte es añadido a través de la solución acuosa de PtHCl₆ al 8 %; utilizando la técnica de impregnación incipiente, la cual es realizada mediante goteo continuo. Una vez impregnado el material es secado en la estufa a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 12h; pasando a la etapa final de calcinación, la cual es realizada en dos pasos. En el primero se utilizan 60 mL/min de flujo de nitrógeno por 2 h, hasta llegar a $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ con una rampa de $1\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$. En seguida, el flujo de nitrógeno es reemplazado por 350 mL/min de flujo de oxígeno, con $0.5\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ de rampa de calentamiento hasta llegar a $450\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 2 h. Para favorecer la distribución de flujo, se añade carburo de silicio al material. En la Figura 1 se presenta el diagrama experimental utilizado en la preparación del catalizador. Por otro lado, la caracterización del catalizador sintetizado ha sido realizada por Microscopía Electrónica de Barrido con Dispersión de Rayos X (SEM-EDX) para conocer su morfología y composición; por Fisisorción de Nitrógeno (BET) para medir su área superficial y volumen

de poro; y por Difracción de Rayos X (XRD) para identificar cualitativamente los compuestos presentes en la estructura del catalizador.

Se empleó un microscopio electrónico de barrido JEOL, modelo JSM-6360 LV de alta resolución acoplado a un Electron Dispersion Scanning X-Ray para realizar los análisis de morfología y composición del catalizador (SEM-EDX). Para la obtención de las micrografías ha sido necesario cubrir las muestras con una película adherente de carbón para SEM y de cobre para EDX, distribuyendo el material homogéneamente. Por su parte, la medición del área superficial del catalizador ha sido realizada en un equipo Quantachrome Instruments, modelo NOVA 2200e Surface Area & Pore Size Analyzer. Las muestras fueron desgasificadas a vacío a 270 °C y 8 h aproximadamente, para eliminar compuestos adicionales y/o agua en la superficie y poros del material. En seguida, se mide el área superficial, así como el tamaño y volumen de poro. Finalmente, el análisis de la estructura cristalina del material ha sido realizado en un equipo Bruker D8-Advance, operado a 40kV y 30mA. Las muestras fueron registradas con 0.3 s como tiempo de paso, 0.02 grados de tamaño de paso, portamuestras de silicio sin grasa, y 5 a 60° 2 Theta. Asimismo, para obtener más detalle respecto a la pureza y composición del material, el software Match! l compara el patrón de difracción obtenido con una base de datos, identificando las fases del material. Cualquier material cristalino produce un difractograma único, determinado por la forma y tamaño de la celda unitaria.

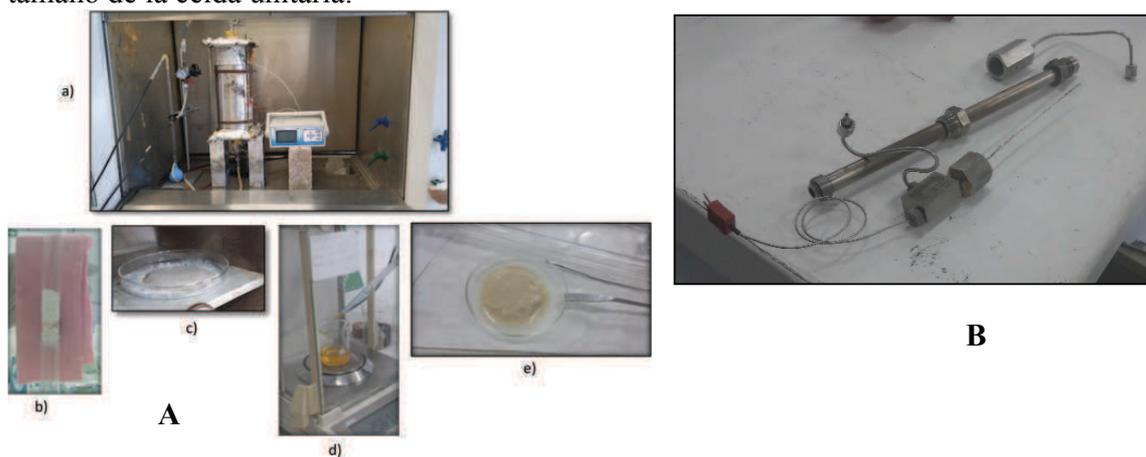


Figura 1. A. Preparación del Catalizador: a) Horno calcinación, b) Material calcinado, c) Material seco, d) Solución de Platino, e) Catalizador impregnado; B. Reactor tubular.

La actividad catalítica fue evaluada a través de la reacción de HDO en un reactor tubular de lecho fijo marca PID, modelo microactivity reference. El reactor posee un diámetro interno de 9.1 mm y longitud 15 cm (Figura 1B). Contiene una caja calentada con intercambiadores de calor, una bomba Gilson HPLC para la alimentación líquida y una PC con sistema de control remoto. Fueron empleados 0.88 g (WHSV 3h-1) del catalizador sintetizado previamente para la reacción HDO, operando a 330 °C y 30 bar de presión, alimentando 55 mL/min de hidrógeno durante 4 h. Antes de la reacción, el catalizador fue activado por reducción con flujo de hidrógeno de 50 mL/min y 400 °C con presión constante de 20 bar. El flujo de alimentación fue considerado como 0.25 mL/min, diluyendo 30 mL de aceite de Jatropha diluidos en 120 mL de dodecano. El muestreo del producto líquido obtenido se realizó en cada hora de reacción. El análisis de la composición y distribución de los

productos se llevó a cabo por Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM), empleando un cromatógrafo Agilent 7890A con muestreo automático G4513A acoplado a un espectrómetro de masas 5975C VL MSD.

Resultados

Las micrografías obtenidas por SEM para el catalizador Pt/HZSM-22/ γ -Al₂O₃ a diversas resoluciones son presentadas en la Figura 2. La presencia de cristales en forma de agujas es representativo de la zeolita, los cuales se encuentran aglomerados en partículas amorfas, correspondientes a la alúmina. Esta morfología es consistente con otros catalizadores similares reportados [9]. Por su parte, la composición de los catalizadores mediante EDX se presenta en la Tabla 1. Elementos como el carbono (C), oxígeno (O), aluminio (Al), silicio (Si), potasio (K) y platino (Pt) fueron analizados. No obstante, el porcentaje de platino impregnado cuantificado por esta técnica resultó ser de 0.5 % en peso, lo cual es alrededor de la mitad del calculado para impregnar. Sin embargo la diferencia entre el valor nominal y el valor determinado está dentro del margen de error de detección de la técnica.

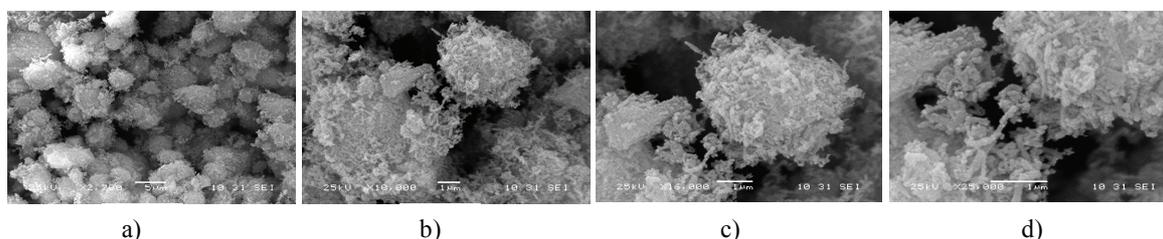


Figura 2. Micrografías SEM: a) Resolución 2,700x, b) Resolución 10,000x, c) Resolución 16,000x, d) Resolución 25,000x.

Tabla 1. Análisis elemental por EDX, Catalizador Pt/HZSM-22/ γ -Al₂O₃.

Elemento	%Atómico	%Peso
C	29.14	20.84
O	54.71	52.11
Al	5.41	8.69
Si	10.71	17.91
Pt	0.04	0.45

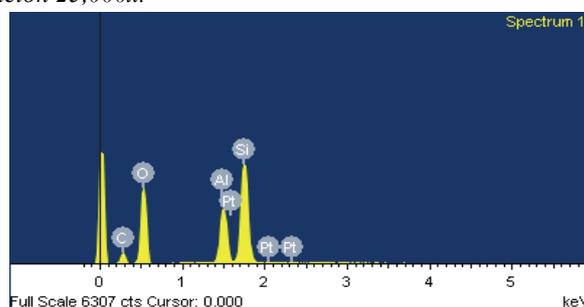


Figura 3. Espectro de composición EDX, catalizador Pt/HZSM-22/ γ -Al₂O₃.

En la Figura 3 se presenta el análisis de composición en el espectro EDX. Los picos más intensos corresponden al silicio, aluminio, oxígeno y residuos de carbono; siendo posible observar la presencia de platino en el soporte catalítico.

Por otra parte, el análisis del difractograma del catalizador obtenido mediante DRX y analizado por medio del software Match! (Figura 4) muestra en líneas moradas los picos característicos de la zeolita ZSM-22, mientras que los picos de γ -Al₂O₃ se observan en los ángulos 45.95° y 46.10° representados con líneas color verde; las líneas rojas correspondientes a Pt se ubican en 39.62°, 39.76° y 46.22°.

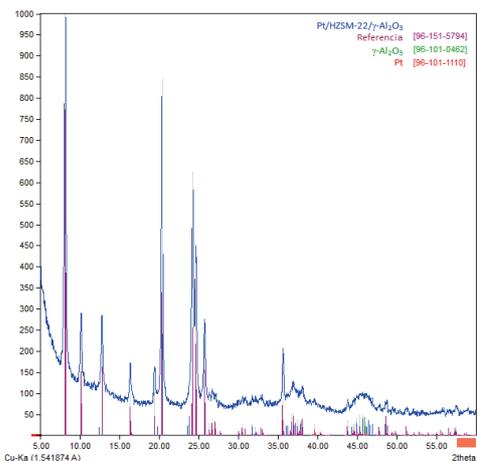


Figura 4. Difractograma del catalizador Pt/HZSM-22/ γ -catalizador Al_2O_3

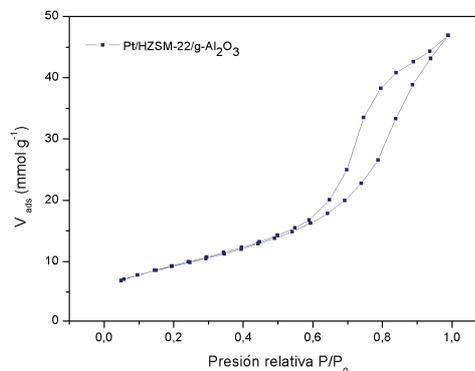


Figura 5. Isotherma de adsorción-desorción del

Los resultados de la fisisorción de nitrógeno se muestran en la Tabla 2 y en la Figura 5. La incorporación de la zeolita a la matriz de alúmina aumenta el área específica debido al área propia de la γ - Al_2O_3 , considerando que corresponde al 60% peso del material. El volumen de poro del catalizador es característico de este material. En cuanto a su diámetro de poro, éste corresponde a materiales mesoporosos debido a la influencia de los poros de la γ - Al_2O_3 . La isoterma de adsorción-desorción presentó un comportamiento de tipo IV, con histéresis de tipo I entre las ramas de adsorción y desorción causado por los mesoporos de la γ - Al_2O_3 y la forma tubular con ambos extremos de los poros abiertos, resultado esperado por la alúmina incorporada.

Tabla 2. Resultados de Fisisorción de N_2

Catalizador	S_{BET} m^2/g	V_{PORO} cm^3/g	D_{PORO} Å
Pt/ZSM-22/ γ - Al_2O_3	329.90	0.72	43.97

De acuerdo con los resultados obtenidos por CG-EM, la conversión de triglicéridos fue muy cercana al 100%, mientras que el porcentaje de eliminación de oxígeno alcanzó el 97%. Los productos de reacción fueron agrupados en las siguientes familias: parafinas, isoparafinas, cicloparafinas, olefinas, aromáticos y oxigenados; y adicionalmente se clasificaron por fracción o tipo de biocombustible, considerando para la biogasolina hidrocarburos de C_5 - C_{11} , para bioturbosina C_8 - C_{16} y para diésel renovable C_{17} - C_{22} . A partir de esta clasificación se calculó el rendimiento de cada biocombustible, así como la relación isoparafinas a n-parafinas. Estos resultados se muestran en la Tabla 3 en la cual se observa que se obtuvieron rendimientos similares para bioturbosina y para diésel verde, seguido del rendimiento hacia biogasolina. Cabe notar que la suma de los rendimientos excede el 100% debido a que determinados compuestos como el C_8 están considerados en dos fracciones, gasolina y turbosina. Finalmente se calculó la relación de parafinas C_{17}/C_{18} , obteniéndose un valor de 2.0, lo cual indica que la ruta de desoxigenación que prevaleció fue la descarboxilación más descarbonilación, seguida de la hidrodeseoxigenación.

Tabla 3. Distribución de productos por familia de compuestos y rendimiento por tipo de biocombustible

Fracción	P ^a (%)	IP ^b (%)	CP ^c (%)	OI ^d (%)	A ^e (%)	Ox ^f (%)	IP/P ^g (%)	Y ^h (%)
Biogasolina, C ₅ -C ₁₁	16.1	12.2	0.0	68.3	0.3	3.0	0.8	14.8
Bioturbosina, C ₈ -C ₁₆	26.8	13.7	3.1	48.0	0.2	6.0	0.5	46.3
Diésel Renovable, C ₁₇ -C ₂₂	75.1	18.6	1.3	1.7	0.8	1.8	0.2	46.6

^aParafinas; ^bIsoparafinas; ^cCicloparafinas; ^dOlefinas; ^eAromáticos; ^fOxigenados; ^gRendimiento de isoparafinas a n-parafinas; ^hRendimiento

Conclusiones

De acuerdo con los resultados obtenidos a partir de la caracterización del catalizador Pt/HZSM-22/ γ -Al₂O₃ ha sido determinado que es un material con alta cristalinidad y área específica, lo cual es indicativo del éxito de la síntesis. Asimismo, en las pruebas de actividad se determinó una conversión del 100 % de los triglicéridos alimentados, alcanzando una eliminación del oxígeno de 97 %, con selectividad del 46 % hacia bioturbosina y diésel verde; esto a 330 °C y 37 bar. La relación de iso-/n-parafinas obtenida es baja para bioturbosina y adecuada para diésel verde. Finalmente, la relación C₁₇/C₁₈ de 2.0 indica que la desoxigenación procedió principalmente por la ruta de descarboxilación más descarboxilación seguida de la ruta por hidrodeseoxigenación. Este resultado no es extraño, debido a que los tres procesos tienen lugar de manera simultánea. Es importante señalar que la conversión hacia bioturbosina obtenida en este trabajo es mayor que la reportada para procesos similares en dos etapas reactivas. Los resultados antes mostrados son generados en una sola etapa de reacción, donde ocurren de manera consecutiva la desoxigenación y la isomerización.

Bibliografía

- [1] Aeropuertos y Servicios Auxiliares, “Estrategia de los cuatro pilares”, biocombustibles.asa.gob.mx, Consultado: 19/01/2016.
- [1] Gutiérrez-Antonio, C., Romero-Izquierdo, A.G., Gómez-Castro, F.I., Hernández, S., “Energy integration of a hydrotreatment process for sustainable biojet fuel production”, *Ind. Eng. Chem. Res.*, Vol. 55, No. 29, p. 8165-8175, 2016.
- [2] Topsoe, H., Clausen, B.S., Massoth, F. E., “Hydrotreating Catalysis”, *Catalysis Science and Technology*, Vol. 11, p. 1-24, 1996.
- [3] Sotelo-Boyás, R., Trejo-Zárraga, F., Hernández-Loyo, J., “Hydroconversion of triglycerides into Green liquid fuels”, *Hydrogenation*, DOI: 10.5772/48710, p. 187-211, 2012.
- [4] Martínez-Romero, D., Sotelo-Boyás, R., “Obtención de diésel verde mediante hidrotreatmento de aceite no comestible”, *Simposio de Tecnología Avanzada*, 2010.
- [5] Sotelo-Boyás, R., Liu, Y., Minowa, T., “Renewable diesel production from the hydrotreating of rapessed oil with Pt/Zeolite and NiMo/Al₂O₃”, *Catalysts, Industrial & Engineering Chemistry Research*, Vol. 50, No. 5, p. 2791-2799, 2011.
- [6] Kalnes, T.N., Koers, K.P., Marker, T., Shonnard, D.R., “A technoeconomic and environmental life cycle comparison of green diesel to biodiesel and syndiesel”, *Environmental Progress & Sustainable Energy*, Vol. 28, No. 1, p.111-120, 2009.
- [7] Elliott, D.C., “Historical developments in hydroprocessing bio-oils”, *Energy & Fuels*, Vol. 21, No. 13, p. 1792-1815, 2007.
- [8] Hancsok, J., Krár, M., Maygar, S., Boda, L., Holló, A., Kalló, D., 2007, “Investigation of the production of high cetane number bio gas oil from pre-hydrogenated vegetable oils over Pt/HZSM-22/Al₂O₃”, *Microporous and Mesoporous Materials*, Vol. 101, No, 1, p. 148-152, 2007.

DISEÑO DE PROCESOS PARA LA PRODUCCIÓN DE SILICIO DE GRADO SOLAR

César Ramírez-Márquez^a, Marta Vidal Otero^b, José Antonio Vázquez-Castillo^c, Mariano Martín^b, Juan Gabriel Segovia-Hernández^a.

^aUniversidad de Guanajuato, Campus Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas, Departamento de Ingeniería Química, Noria Alta S/N, 20256, Guanajuato Gto., México

^bUniversidad de Salamanca, Departamento de Ingeniería Química. Pza. Caídos 1-5, 37008 Salamanca, España.

^cUniversidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Ciencias Químicas, Circuito Universitario 8, Campus UACH II, 31125, Chihuahua Chih., México.

cerama@hotmail.es

Resumen

En este trabajo se evalúa la producción de silicio de grado solar comparando tres procesos, el Siemens típico que servirá de referencia, un proceso intensificado de lecho fluidizado (FBR) utilizando una columna de destilación reactiva y finalmente se propone un Proceso Híbrido que combina el proceso de Siemens y el FBR, todo esto con el objetivo de reducir la generación de residuos y el uso de materias primas. Todos los procesos fueron modelados en Aspen Plus V.8.4 y se realizó una optimización global estocástica para el diseño de procesos de producción de $\text{Si}_{(\text{GradoSolar})}$ para mejorar y comparar su costo. Los resultados muestran que el proceso Siemens presentó el menor Costo Total Anual (TAC), pero con la menor producción de $\text{Si}_{(\text{GradoSolar})}$. El Proceso FBR, mostró el CAT más grande debido al costo de capital del equipo. Finalmente, el Proceso Híbrido exhibió una gran producción de $\text{Si}_{(\text{GradoSolar})}$, con un CAT intermedio del proceso Siemens y el FBR Union Carbide. Sin embargo, evaluando el CAT vs la producción de $\text{Si}_{(\text{GradoSolar})}$, resultó que el Proceso Híbrido es el mejor de los tres. Además de lo anterior, el Proceso Híbrido muestra las mayores ganancias por la venta de los múltiples productos resultantes, con ganancias de 40,47 M \$/año. Se espera que con este tipo de investigación se pueda hacer más competitiva la tecnología basada en $\text{Si}_{(\text{GradoSolar})}$, bajando los costos del proceso y generando nuevas rutas de investigación a realizar para la industria de paneles solares.

Palabras clave: *Paneles solares, diseño de procesos, intensificación.*

Introducción

La captación de energía solar mediante la tecnología fotovoltaica (PV) es cada vez más reconocida como un componente esencial de la futura producción de energía global. La disponibilidad de combustibles de origen fósil, además de los efectos perjudiciales de su uso desmedido, tal es el caso de las emisiones de CO_2 y algunos otros gases de efecto invernadero en la atmósfera, están impulsando la investigación y la evolución de nuevas fuentes de energía que traten de ser más respetuosas con el medio ambiente. Asimismo, la creciente sensibilidad internacional hacia la estabilidad en los precios de los combustibles, resulta ser un aliciente adicional a la búsqueda de nuevas alternativas energéticas. Teniendo en cuenta lo anterior, y haciendo referencia a una de las tantas alternativas de energía limpia, como lo es la energía solar, se puede decir como dato relevante, que la captura de al menos una pequeña fracción de los 162.000 terawatts (TW) de energía solar que llega a la tierra, tendría un impacto significativo en el balance energético general [1].

En las últimas décadas los sistemas fotovoltaicos, han ido evolucionado y además, de ser más eficientes, han sido bien adaptados a diversas aplicaciones de la vida cotidiana. Es por ello, que la fabricación a gran escala de celdas fotovoltaicas, capaces de proveer energía, es cada vez más económicamente viable. A raíz de lo anterior, surge como área de oportunidad el subsanar la capacidad de fabricación de los componentes fotovoltaicos, de forma asequible. Para lograr este objetivo se requerirán reducciones de costos en la producción de la materia prima, tal es el caso de uno de los materiales más utilizados en la industria fotovoltaica, el polisilicio.

El uso del polisilicio surge debido a que es un subproducto de la industria microelectrónica en la que se fabrican obleas de silicio ultrapuro de 9N denominado silicio de grado electrónico $Si_{(EG)}$. En dicha industria, la cantidad de silicio que se queda en los crisoles donde se funde el polisilicio es destinada al sector solar [2]. Sin embargo, debido a la gran demanda del sector solar basado en el silicio, no alcanza con el polisilicio originario de la industria microelectrónica, sino que es necesario generarlo. Es por ello que el trabajo que se presenta es una alternativa para subsanar dicha demanda.

Metodología

Para cumplir con la demanda estimada de 2000 t/año, los procesos se alimentan con los componentes y cantidades son mostradas en la Tabla 1. Los procesos se simularon en el Software Aspen Plus V8.4, se describirá el armado y optimización de cada uno de los procesos.

Tabla 1. Alimentación del proceso.

Componente	kg/h
SiO_2	532,32
C	369,84

- Siemens

La obtención de silicio de grado metalúrgico se lleva a cabo mediante la reducción de cuarzo con carbón. El equipo utilizado en esta sección del proceso, es un horno de arco eléctrico al que se alimenta una carga compuesta por cuarzo (SiO_2), varias formas de carbón [3].

El silicio que se obtiene se denomina silicio de grado metalúrgico $Si_{(MG)}$ y presenta una pureza del 98 - 99%. Las impurezas presentes son hierro, aluminio, titanio, fósforo y boro [4].

La conversión del SiO_2 a silicio metalúrgico es del 85 %. El resto de producto obtenido es lo que se conoce como escorias. Lo anterior se simulo de tal manera, para tratar de asemejar un reactor de carboreducción. Una vez obtenida una corriente de $Si_{(MG)}$, esta se traslada a un reactor de lecho fluidizado entre 273 – 673 K y 1-5 bar; se obtiene así una corriente gaseosa compuesta por una serie de clorosilanos, el más importante en este caso es el triclorosilano. En la simulación que nos hemos plateado se utilizó un reactor del tipo estequiométrico, donde para maximizar la cantidad de triclorosilano producido la reacción se llevará a cabo a 533 K debido a que a esta temperatura se consigue una conversión a triclorosilano del 90% y de un 10% a tetraclorosilano.

Al abandonar el reactor la corriente de salida del reactor de síntesis de clorosilanos será sometida a las etapas de separación. Primero son separados el H_2 y el HCl sometiendo a la corriente gaseosa a un enfriamiento tras el cual los clorosilanos condensan mientras que el

H₂ y el HCl permanecen en estado gaseoso, separándose en un separador gas-líquido. Por último, y gracias a que existe la suficiente diferencia entre los puntos de ebullición entre el SiHCl₃ y el SiCl₄, la corriente líquida que se obtiene es sometida a una destilación en la que los dos compuestos son separados (SiHCl₃ presenta un punto de ebullición de 304,8 K en condiciones normales).

Ya conseguido el triclorosilano puro, se utilizará como fuente de silicio para obtener polisilicio mediante una reacción de deposición de vapor en un reactor de tipo Siemens junto a una corriente de H₂ puro. Realmente la deposición se desarrolla sobre unas barras de silicio ultrapuro en forma de U presentes en el interior del reactor, que son calentadas internamente mediante energía eléctrica. En términos de simulación se optó por usar un horno junto con reactor de tipo estequiométrico donde el proceso se realiza a 1373 K y 0,1 MPa.

- FBR Union Carbide con la desproporción del triclorosilano mediante destilación reactiva

El proceso FBR Union Carbide utiliza silano como fuente de silicio. La obtención del silicio grado metalúrgico, se llevó a cabo al igual que el proceso anterior por medio de un horno y un reactor estequiométrico, asemejando el proceso de carboreducción. La etapa posterior del proceso consiste en la hidrogenación de Si_(MG) y tetracloruro de silicio en un reactor de lecho fluidizado (FBR, Fluidized Bed Reactor) a 673– 073 K y 20-40 bar [5]. Esta sección se llevó a cabo mediante el uso de un reactor de tipo estequiométrico.

En donde, el rendimiento de la primera reacción es del 25%. Comúnmente se llevarían a cabo las reacciones de redistribución en dicha etapa, pero en lugar de ellas, se llevan a cabo reacciones de desproporción del triclorosilano en la columna de destilación reactiva. El SiCl₄ se introduce en el reactor en un exceso frente a la cantidad estequiométrica es del 10%.

La corriente de triclorosilano de alta pureza se introduce en una serie de columnas de destilación reactiva, en donde la reacción tiene lugar en tres etapas, que tienen como productos intermedios al diclorosilano (SiH₂Cl₂) y al monoclorosilano (SiH₃Cl) y como subproducto al tetraclorosilano (SiCl₄). La descomposición proporcional del triclorosilano puede ser catalizada por varios tipos de catalizadores, fue seleccionado en el estudio el catalizador “Amberlyst” (A-21), este muestra velocidades de reacción razonables entre 30 y 80 °C, con una resistencia térmica sugerida de operación de 100 °C. La columna de destilación reactiva se simuló empleando el módulo “RadFrac”. Se pretende obtener como mejor opción, una columna con buena reducción en el consumo de energía, y que la configuración que involucre la separación de los componentes de domo a 99.99% mol. Finalmente, el silano de gran pureza obtenido, se lleva a un reactor de deposición en fase vapor donde se descompone para producir silicio muy puro e hidrógeno a 973 – 1473 K [18]. Para fines de la simulación la reacción se llevó a cabo usando un horno y un reactor de tipo estequiométrico.

- Proceso Híbrido Siemens y Unión Carbide

El proceso elegido para purificar el Si_(MG) y obtener polisilicio será una combinación de los procesos Siemens y FBR. En primer lugar, se tiene que hacer mención que el silicio grado metalúrgico se obtiene al igual que los dos procesos anteriores por medio de la carboreducción del SiO₂. Al igual que en el proceso FBR Union Carbide, el siguiente paso consiste en la hidrogenación de Si(MG) y tetracloruro de silicio, en un reactor de lecho fluidizado a 673 – 1073 K y 20-40 bar. Simplificando lo anterior, la reacción se llevó a cabo

mediante el uso de un reactor de tipo estequiométrico. Posteriormente un proceso de separación para eliminar sólidos y gases no condensables tales como el hidrógeno, el efluente de la reacción consta, esencialmente, de triclorosilano, diclorosilano y tetracloruro de silicio, los cuales se condensados y transportados a una zona de separación. Esta corriente se somete a una nueva etapa de separación por medio de dos columnas de destilación convencional, usando el módulo “RadFrac”. La corriente de triclorosilano puro, se usará como fuente de silicio para obtener polisilicio mediante una reacción de deposición de vapor en un reactor de tipo Siemens junto a una corriente de H₂ puro. Al igual como se explicó en el proceso Siemens, para la simulación se utilizó un horno junto con reactor de tipo estequiométrico donde el proceso se realiza a 1.373 K y 0,1 MPa. Las reacciones principales que tienen lugar son las reacciones 7 y 8, descritas anteriormente. Consecutivamente se lleva a cabo la deposición del polisilicio, además de obtener un par de subproductos como lo son el HCl y el H₂.

- Optimización

Cada proceso se optimiza por separado. Obsérvese que el diseño y la optimización de los procesos son problemas altamente no lineales que implican variables de diseño continuas y discretas. Dentro de la simulación y optimización de cada proceso, se da una solución al conjunto de ecuaciones "MESH". Además, la función objetivo es potencialmente no convexa, con la posibilidad de encontrar el óptimo local y estar sujeto A las limitaciones.

$$(Min)TAC = f(N_{tn,i}, N_{fn,i}, R_{rn,i}, F_{tn,i}, D_{tn,i}, P_{tn,i})$$

$$Subject\ to\ \overline{y}_m \geq \overline{x}_m \quad (1)$$

Con el fin de optimizar los tres procesos, se utilizó un método de optimización híbrido estocástico, denominado evolución diferencial con la lista de tabu (DETL) [5]. La implementación de este enfoque de optimización se realizó utilizando una plataforma híbrida que incluye Microsoft Excel, Aspen Plus y Matlab. El vector de las variables de decisión (es decir, las variables de diseño) se envían a Microsoft Excel a Aspen Plus mediante DDE (Dynamic Data Exchange) a través de una tecnología COM. En Microsoft Excel, estos valores se atribuyen a las variables de proceso que Aspen Plus necesita. Después de la simulación, Aspen Plus devuelve a Microsoft Excel el vector resultante. Esos valores se envían desde Microsoft Excel a Matlab donde se calculan las funciones objetivo. Finalmente, Microsoft Excel sugiere nuevos valores de variables de decisión de acuerdo con el método de optimización estocástico utilizado.

Resultados

En esta sección presentamos los resultados de la optimización de cada uno de los procesos. Con el fin de ilustrar lo que se ha hecho en la optimización, se presentan los gráficos de las iteraciones frente al TAC (Ver Figura 1). Podemos ver que el TAC disminuye sobre las iteraciones y se logra un buen valor para 40.000 iteraciones. Esto se considera una solución válida ya que no hay una disminución significativa en las últimas evaluaciones. Esto demuestra la robustez del método DETL, mostrando la convergencia y los resultados correspondientes a las buenas soluciones.

Todas las ejecuciones para llevar a cabo la optimización se realizaron en una CPU Intel® Core TM i7-4790 a 3.6 GHz, 16 GB de ordenador, el tiempo de cálculo para obtener las

soluciones óptimas fue diferente según la complejidad de cada proceso: proceso Siemens 28,2 horas, el proceso FBR requirió 125,6 horas, y el proceso Híbrido requirió 127,2 horas. En el caso de la configuración Siemens, es posible observar que solamente se realiza la optimización de una única columna convencional y la alimentación fresca de HCl para iniciar la reacción del reactor que produce los silanos. Estos parámetros representan un ahorro económico sustancial en el proceso, ya que la sección de separación siempre representa un alto costo en cualquier proceso químico, y que la cantidad correcta de reactivo representa grandes ahorros en el funcionamiento real del proceso. Esto se puede ver en la Figura 1a, donde la configuración inicial tiene un TAC de 1,08 M \$ / a, terminando con un TAC de 0,50 M \$ / año, lo que representa un ahorro del 53,28%. El proceso FBR tiene el mayor número de variables de decisión a optimizar. La optimización se llevó a cabo en dos columnas convencionales, dos columnas de destilación reactivas y la corriente de alimentación fresca de SiCl₄. En la Figura 2b se puede ver que el TAC de la configuración inicial es de 7,95 M \$ / a y terminando con 2,57 M \$ / a, ahorrando un 67,65%. El proceso híbrido muestra la optimización de dos columnas convencionales, y la alimentación de SiCl₄ fresca. La configuración inicial tiene un TAC de 5,21 M \$ / a, terminando con 1,95 M \$ / año, ahorrando 62,58% (ver Figura 2c).

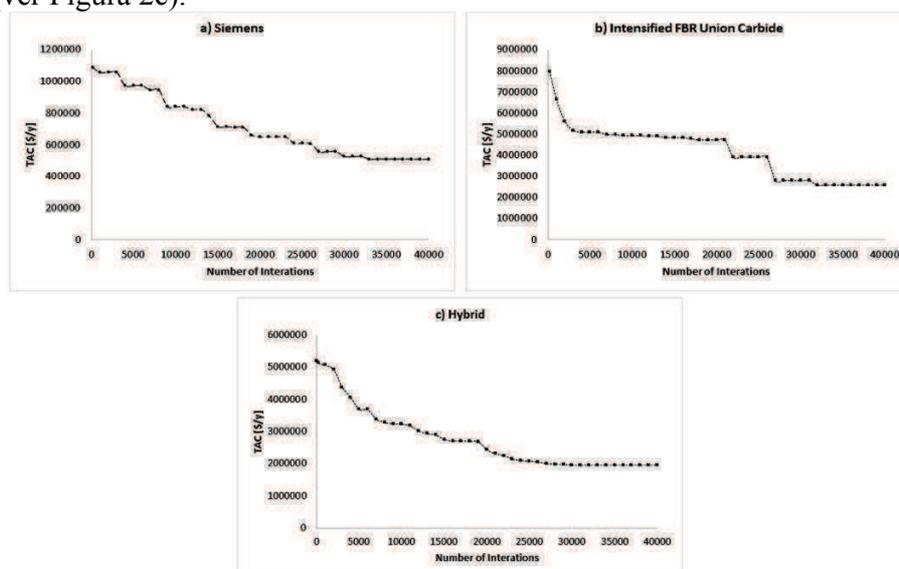


Figura 1. Resultados de optimización de las secuencias de proceso a) Siemens, b) Intensified FBR Union Carbide y c) Hybrid process.

El proceso menos costoso es el proceso Siemens. Sin embargo, también tiene la producción anual mínima de Si_(SG) de 0,47 kt / a. El proceso intensificado FBR resulta ser el más costoso de los tres propuestos, con una producción grande de Si_(SG) de 1.49 kt / y, pero no es el mejor de esta manera. El Proceso Híbrido muestra la mayor producción de Si_(SG) de 1,89 kt / a, a un costo más alto comparado con el proceso de Siemens, pero inferior al proceso FBR Intensificado.

Conclusiones

En este trabajo, se realizó una optimización global estocástica para el diseño de procesos de producción de Si_(SG) para mejorar y comparar su costo. Los resultados muestran que el proceso Siemens presenta el menor TAC, pero con la menor producción de Si_(SG). El

Intensified FBR Union Carbide Process, mostró el TAC más grande debido al costo de capital del equipo y la energía requerida para la purificación de $\text{Si}_{(\text{SG})}$. Finalmente el Proceso Híbrido exhibió una gran producción de $\text{Si}_{(\text{SG})}$, con un TAC intermedio entre el proceso Siemens y el Intensified FBR Union Carbide. Evaluando el TAC vs producción de $\text{Si}_{(\text{SG})}$, resultó que el Proceso Híbrido fue el mejor de los tres desde el punto de vista económico.

Bibliografía

- [1] D. Ginley, M.A. Green and R. Collins, Solar energy conversion toward 1 terawatt. *Mrs Bulletin*, 33(04), 355-364, (2008).
- [2] Braga, A. F. B., Moreira, S. P., Zampieri, P. R., Bacchin, J. M. G., & Mei, P. R. (2008). New processes for the production of solar-grade polycrystalline silicon: A review. *Solar energy materials and solar cells*, 92(4), 418-424.
- [3] Recamán Payo, M. J. (2009). Purificación de triclorosilano por destilación en el proceso de obtención de silicio de grado solar (Doctoral dissertation, Universidad Complutense de Madrid, Servicio de Publicaciones).
- [4] Erickson, C. E., & Wagner, G. H. (1952). U.S. Patent No. 2,595,620. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- [5] Srinivas, M. Rangaiah, G. P., (2007). Differential Evolution with Tabu List for Solving Nonlinear and Mixed-Integer Nonlinear Programming Problems. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 46, 7126–7135.

CERVEZA; UNA PROPUESTA COMO ALIMENTO FUNCIONAL

Elena Elsa Bricio Barrios^a, Jaime Alberto Bricio Barrios^b, Santiago Arceo Díaz^c, Héctor Hernández Escoto^a
y Fernando López Caamal^a

^aUniversidad de Guanajuato, Departamento de Ingeniería Química, Noria Alta s/n, Guanajuato, Gto., C.P. 36050, México. *hhee@ugto.mx

^bUniversidad de Colima, Av. Universidad #333, Colima, Col. C.P. 28040, México.

^cInstituto Tecnológico de Colima, Av. Tecnológico #1, Villa de Álvarez, Col., C.P. 28976, México.

Resumen

La cerveza es una de las bebidas alcohólicas más populares a nivel mundial y su demanda ha producido el interés de la búsqueda de cereales económicos que reduzcan el costo de fabricación. Sin embargo, su aporte nutrimental es escaso. En contraparte, los alimentos funcionales tienen el objetivo de satisfacer los requerimientos diarios de vitaminas, aminoácidos, pero el costo de estos alimentos es alto. Por tanto, en este proyecto se propone la búsqueda y selección de un cereal económico para que, al fermentarlo, la cerveza tenga las características de sabor-aroma agradables al consumidor y que, satisfaga los requerimientos diarios de aminoácidos de cadena ramificada para que esta bebida alcohólica se considerada como un alimento funcional.

Palabras clave: *Alimento funcional, Aminoácidos, Cerveza de amaranto-malta.*

Introducción

La cerveza es una bebida fermentada tradicional que está presente en la dieta desde hace miles de años. Se fabrica a partir de ingredientes que apenas han cambiado en el transcurso de los siglos: agua, cereal y levadura [1]. Aunque las características de sabor y aroma es un factor importante cuando el consumidor elige una cerveza, existen diversos componentes que pueden tener efectos benéficos en la salud como la presencia de antioxidantes y aminoácidos de cadena ramificada [2].

Los aminoácidos tienen la función de la producción de proteínas en el interior del organismo, las cuales son vitales la formación y mantenimiento de tejidos orgánicos [3]. Sin embargo, estos aminoácidos solo se obtienen del consumo de carnes rojas y algunos cereales como el sorgo, chíya y amaranto [2]. El amaranto, es un cereal abundante no solo en México sino alrededor del mundo debido a la facilidad de siembra, cosecha y almacenamiento [4], además, es considerado como un alimento funcional porque contiene alta concentración de aminoácidos de cadena ramificada, es un alimento libre de gluten y está asociado con la regulación de azúcar en sangre, favorece la pérdida de grasa abdominal durante y después de realizar ejercicio [5].

Este cereal podemos encontrarlo en diferentes presentaciones, ya sea como golosina, sustituto de arroz, en presentación de barras energética, inclusive, como ingrediente para la elaboración de cerveza durante la época prehispánica en México y Perú [6], pero las características de sabor-aroma de esta bebida alcohólica eran desagradables. Esta problemática, fue abordada por Terán [6] donde identificó las proporciones ideales para fabricar una cerveza agradable al gusto del consumidor. Sin embargo, no evaluó las trayectorias de aminoácidos de cadena ramificada (valina, leucina e isoleucina). Por tanto, este proyecto propone la evaluación de la cerveza de amaranto reportada por Terán [6] y determinar si la concentración de valina, leucina e isoleucina establecida por la OMS/FAO

[8] con una concentración de 66 mg, 28 mg y 32 mg, respectivamente, cumplen con los requerimientos para ser considerado como un alimento funcional.

Metodología

Datos experimentales

El proceso de fermentación de cerveza reportado por Terán [6] se tomó como base de datos. La razón por la cual se eligió estos datos experimentales se debe a que Terán [6] obtuvo mayor índice de aprobación por parte de un grupo de consumidores de cerveza para un lote que contenía 30% de amaranto malteado y tostado. La trayectoria de biomasa y producción de etanol reportada por Terán [6] se muestra en la Figura 1.

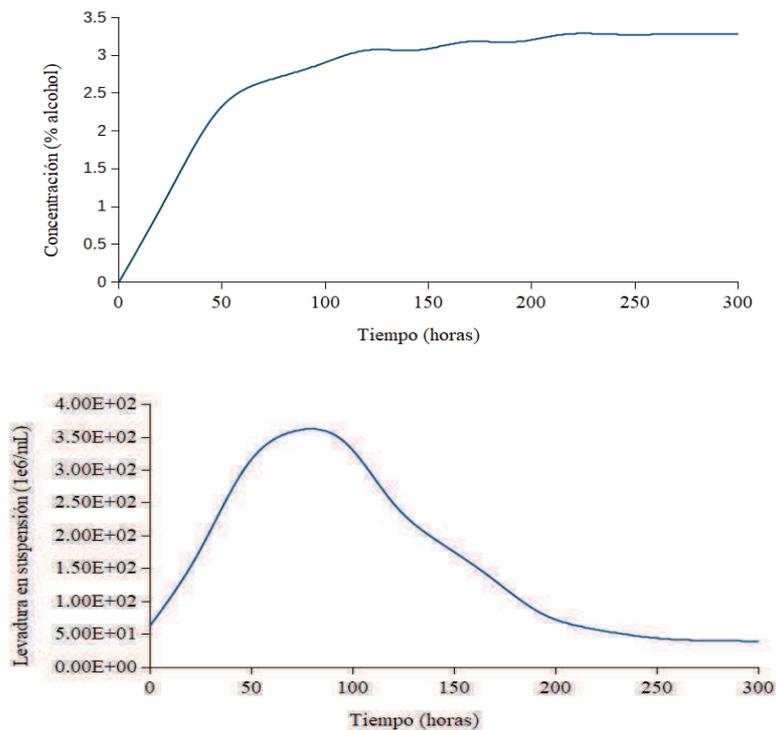


Figura 1. Trayectoria de la producción de etanol y biomasa durante el proceso de fermentación de cerveza de amaranto reportado por Terán [6].

Modelado del proceso de fermentación de cerveza

A partir de la Figura 1, se extrajeron los datos de biomasa y etanol para realizar la validación respecto al modelo matemático del proceso de fermentación de cerveza reportado por Gee y Ramírez [7]. Este modelo, se basa en las relaciones de Monod para describir la tasa de consumo de los azúcares reductores del cereal a fermentar (ec. 1-3) y producción de biomasa y etanol (ec.4 y 5), aporte nutrimental de la valina, leucina e isoleucina (ec. 6), y características de aroma-sabor.

$$\frac{dG}{dt} = -\frac{\mu_G * G}{k_G + G} * X; \quad (1)$$

$$\frac{dM}{dt} = -\frac{\mu_M * M}{k_M + M} * \frac{k'_G}{k'_G + G} * X; \quad (2)$$

$$\frac{dN}{dt} = -\frac{\mu_N * N}{k_N + N} * \frac{k'_G}{k'_G + G} * \frac{k'_M}{k'_M + M} * X; \quad (3)$$

$$\frac{dX}{dt} = Y_{XG} * \frac{\mu_G * G}{k_G + G} + Y_{XM} * \frac{\mu_M * M}{k_M + M} * \frac{k'_G}{k'_G + G} + Y_{XN} * \frac{\mu_N * N}{k_N + N} * \frac{k'_G}{k'_G + G} * \frac{k'_M}{k'_M + M}; \quad (4)$$

$$E(t) = E_0(t) + Y_{EG}(G_0 - G) + Y_{EM}(M_0 - M) + Y_{EN}(N_0 - N); \quad (5)$$

$$\frac{dA_i}{dt} = -Y_{iX} * X * \frac{1}{H_i + A_i} [1 - e^{-(t/2.3)}]; \quad (6)$$

donde las constantes $\mu_i, k_i, k'_i, Y_{Xi}, Y_{Ei}, Y_{iX}, H_i$ son los parámetros de operación, que son únicos para cada proceso de fermentación.

Resultados

Optimización de los parámetros de operación

Para identificar la magnitud de los parámetros de operación del proceso de fermentación, se utilizó la rutina de optimización de Matlab *lsqnonlin*, el cual realizó un ajuste de los datos experimentales de biomasa y etanol de Terán [6] respecto al modelo matemático de Gee y Ramírez [7]. Se utilizó una computadora de escritorio marca HP, INTEL CORE i5 para cuantificar los parámetros que correspondieron a: $\mu_i = (0.9043, 1.3320, 1.0257)$; $k_i = (1.1751, 1.1075, 1.3944)$; $k'_i = (1.1482, 1.0817)$; $Y_{Xi} = (0.8416, 0.7541, 1.004)$; $Y_{Ei} = (1.342, 2.546, 1.543)$; $Y_{iX} = (0.0006, 0.0021, 0.7622)$ y $H_i = (1.1687, 1.1897, 1.2322)$.

Evaluación del modelo matemático de fermentación

Los parámetros de operación optimizados fueron alimentados al modelo matemático de Gee y Ramírez [7] y se procedió a realizar las simulaciones correspondientes al consumo de los azúcares reductores a temperatura constante (Figura 2) a través del software Matlab 2012.

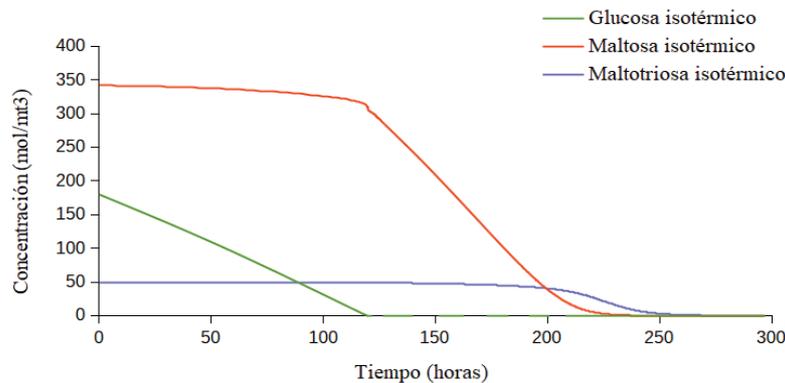


Figura 2. Trayectoria del consumo de glucosa, maltosa y maltotriosa durante el proceso de fermentación de cerveza de amaranto a temperatura constante.

En la Figura 2, se muestra el consumo de los tres azúcares reductores reportado por Terán [6] se observa que, numéricamente, el primer azúcar en consumirse fue la glucosa, seguida por la maltosa y maltotriosa, que son análogas al modelo matemático de Gee y Ramírez [7], por tanto, los parámetros de ajuste obtenidos a través de la herramienta *lsqnonlin* son adecuados en este caso de estudio. No obstante, el objetivo de este trabajo es determinar si la cerveza de amaranto reportada por Terán [6] puede considerarse como un alimento funcional, por este motivo, se procedió a realizar la simulación con los parámetros optimizados de las ecuaciones gobernantes correspondiente al consumo de leucina, isoleucina y valina (ec. 6) respecto al valor mínimo de cada aminoácido para ser considerado como alimento funcional. Las trayectorias estos aminoácidos de cadena ramificada se muestran en la Figura 3.

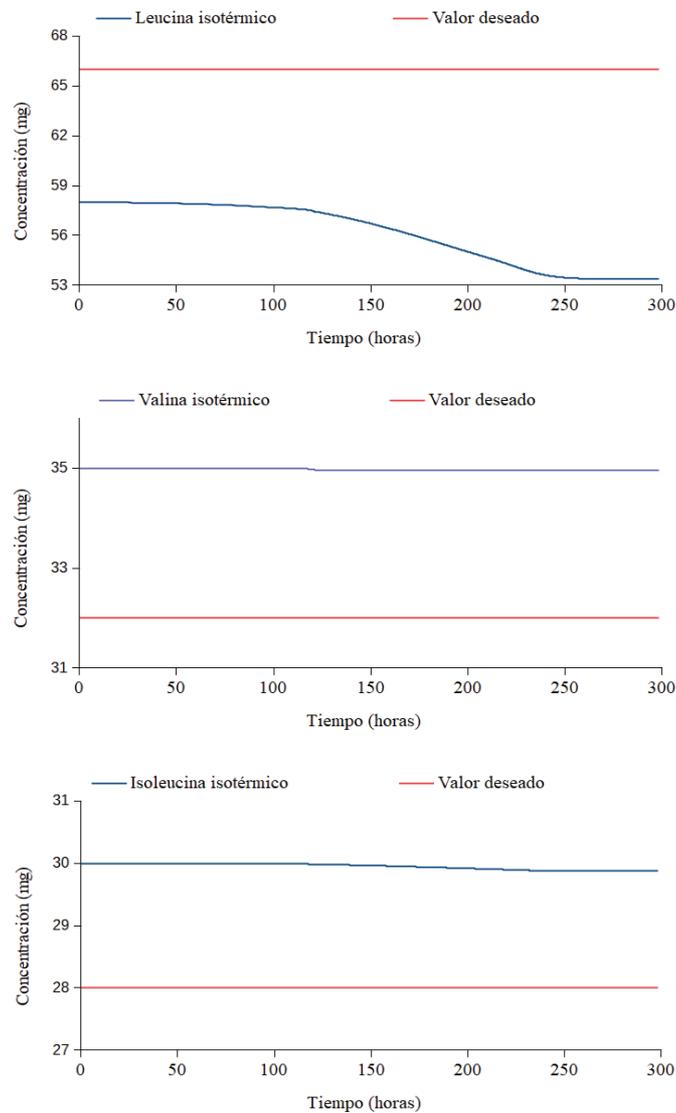


Figura 3. Trayectoria del consumo de leucina, valina e isoleucina durante el proceso de fermentación de cerveza de amaranto a temperatura constante.

En la Figura 3 se muestra la tasa de consumo de los aminoácidos de cadena ramificada durante el proceso de fermentación de cerveza. En el primer panel se observa que se requiere, al menos, 66 mg de leucina en la bebida para que sea considerada un alimento funcional. Sin embargo, al finalizar la fermentación a las 300 horas, la concentración de leucina es de 53.2 mg, incumpliendo el contenido recomendado. En el segundo panel se observa que este aminoácido se encuentra por arriba de la concentración recomendada por la OMS/FAO de 28 mg de valina, es decir con un 109% del requerimiento diario. Mientras que, en el tercer panel, se observa que la concentración final de isoleucina es superior a la concentración recomendada con un aporte del 106.42%, es decir, el aporte mínimo de este aminoácido en esta bebida alcohólica torna a la cerveza de amaranto como un alimento funcional.

Conclusiones

Este proyecto se utilizó, vía simulación, las trayectorias de etanol y biomasa a base de amaranto con malta tostado para la fabricación de cerveza reportada por Terán [6], para evaluar la posibilidad de que esta bebida alcohólica pueda ser considerado como un complemento adecuado para obtener los aminoácidos de cadena ramificada que requiere el cuerpo humano para la formación y mantenimiento de músculo. Los resultados mostraron que, en base a lo reportado por Terán [6], la concentración de isoleucina y valina establecida por la OMS y FAO satisfacen el requerimiento nutrimental, mientras que la leucina, aunque no cumple con este requerimiento, el aporte de estos aminoácidos es superior al consumo de otros alimentos como el consumo de carnes rojas y leche [9]. Esto no significa que, al ingerir las cervezas se genere músculo; ya que la principal fuente nutrimental son los hidratos de carbono, pero, si es un complemento adecuado para la dieta habitual en conjunto con los alimentos de origen animal, y leguminosas combinadas con cereales [9].

Como proyecto a futuro, se propone la búsqueda de cereales con concentración de leucina, isoleucina y valina superior al requerimiento diario y, después de realizar la etapa experimental, encontrar las proporciones de sabor-aroma ideales para el consumidor, evaluar la concentración final de estos aminoácidos de cadena ramificada y determinar si puede ser considerado como una bebida que cumple con los requerimientos de un alimento funcional.

Bibliografía

[1] Ramírez, R. y López, J. 2013, “*Alimentos Funcionales: Principios y nuevos productos*”, Biblioteca agrícola Nacional "Orlando Olcese", 103-110.

[2] Norte V, J. 2017. “*Proceso de elaboración de cerveza enriquecida con alcachofa*”. Manual del curso de Licenciatura en la Universidad Miguel Hernández DE Elche, España, 13-14.

- [3] Balch, J. y Balch, P. 1997. "Recetas Nutritivas Que Curan", Editorial Avery, 52-55.
- [4] Fomsaggardi, I., Laursen, B. Trojan, R., Fedlanofrier, J. 2008. "*The amaranth: future-food project*", EuropeanAmaranthAssociation, slovakRepublic, 7-13.
- [5] Manjarrez, R., Tlatempa, P., Camarillo, M., Torres, M. y Alvear, I. 2010. "*¿Existen alimentos funcionales para deportistas?*", Medical SubjectHeading, MeSH, National Library of Medicine, 1, (1), 23-31.
- [6] Terán, Santiago. 2017. "*Evaluación de la utilización de amaranto como adjunto y dos cepas de levadura en la fabricación de cerveza*". Tesis de grado de Ingeniería, Quito, 52-80.
- [7] Gee, D. y Ramírez, F. 1994. "*A flavour model for beer fermentation*", Journal Inst. Brew, 100, 321-332.
- [8] ONU/OMS. 2007. "*Protein an amino acid requirement in human nutrition*". Report of a Joint WHO/FAO/ONU Expert Consultation, 120-121.
- [9] Venskutonis, P. y Kraujalis, P. 2013. "*Nutritional components of amaranth seeds and vegetables: a review on composition, properties, and uses*", Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 12 (4), 381-412.

EFFECTO SINÉRGICO DEL ÓXIDO DE GRAFENO Y GRAFENO REDUCIDO USADOS COMO REFUERZO DENTRO DE UNA MATRIZ POLIMÉRICA EPÓXICA

Lorena Nayeli Méndez Alvarado^a, Rosalba Fuentes Ramírez^a, Lourdes Ramos Galicia^a

^aDepartamento de Ingeniería Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, 36050, Guanajuato, Gto., México.

lore.naveli.ma@gmail.com, rosalba@ugto.mx, forest_r11@hotmail.com

Resumen

En el presente trabajo de investigación se desarrolló una manera fácil y efectiva de mejorar las propiedades mecánicas de una matriz epóxica, diglicidil éter de Bisfenol A (DGEBA), reforzándola con una combinación de óxido de grafeno (GO) y grafeno reducido (RGO). Estos composites se prepararon con diferentes cargas de nanorefuerzos: 0.1, 0.4, 0.7 y 1.0% en peso y resina epóxica pura. Las proporciones de óxido de grafeno y óxido de grafeno reducido (GO:RGO) empleados fueron: 0:1, 0.25:0.75, 0.5:0.5, 0.75:0.25 y 1:0.

Para la síntesis de los nanomateriales grafíticos (OG y RGO) se partió del grafito cristalino, el cual se sometió a un proceso de oxidación y exfoliación mecánica, para obtener el óxido de grafeno. Después se hizo una reducción química empleando ácido ascórbico (L-AA) como agente reductor, obteniendo así el óxido de grafeno reducido.

Los resultados muestran que los composites reforzados con sólo 0.4% en peso con una relación de 0.25:0.75 de GO:RGO, la resistencia y tenacidad a la tracción son 52% y 152% más altas que la resina epóxica sin reforzar, mientras que en el módulo elástico tuvo un incremento cerca del 20%.

Introducción

El empleo de nanomateriales como refuerzo de matrices poliméricas, ha sido recientemente muy estudiado debido a la diversidad de aplicaciones industriales como la automotriz, aeroespacial, de construcción, electrónicas, etc [1]. Algunas investigaciones se han centrado, especialmente en el grafeno [2], considerado como el “material más fino del universo”, con gran potencial de aplicación, además, presenta propiedades notables, tales como una alta conductividad térmica, propiedades mecánicas superiores, excelentes propiedades de transporte electrónico y elevada área superficial [3]. Estas características intrínsecas del grafeno han generado un enorme interés por su posible aplicación como nanorefuerzo en composites, con el fin de transferir dichas propiedades y diversificar sus aplicaciones.

En los últimos años, una gran cantidad de trabajos han estudiado mezclas de grafeno y nanotubos de carbono, usados como refuerzos con el fin de mejorar las propiedades de ciertos materiales. Chatterjee et al. [4] estudió el efecto de reforzar una matriz epóxica con diversas proporciones de mezclas de nanotubos de carbón y nanoláminas de grafeno, encontrando efectos sinérgicos especialmente en el módulo de flexión. Young et al. [5] publicó un revisión del estado del arte sobre la evaluación de las propiedades de materiales compuestos reforzados con grafeno (RGO) o con óxido de grafeno (GO), en el cual se comenta que el óxido de grafeno presenta algunas ventajas sobre el grafeno, tales como, la presencia de los grupos funcionales en la superficie del GO, que permiten la unión de éste con matrices polimérica [6], por otra parte, el grafeno reducido no forma enlaces con la matriz, pero debido a su carácter hidrófobo, es más compatible con algunos polímero, tales como la resina epóxica. A continuación, en este trabajo se propone, analizar las propiedades mecánicas de los materiales compuestos desarrollados a base de una matriz de resina epóxica (diglicidil

éter de Bisfenol A) reforzada a diferentes concentraciones y mezclas de óxido de grafeno y grafeno reducido.

Metodología

Síntesis del óxido de grafeno (GO). Se siguió el procedimiento del método de Hummers [7] para la preparación del óxido de grafeno. 2 g de grafito cristalino y 46 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4 al 98%) fueron introducidos en un matraz de 3 bocas, y se sometió a un baño de hielo, hasta alcanzar una temperatura cercana de 0°C , enseguida se adiciono lentamente 6 g de permanganato de potasio (KMnO_4). El proceso de oxidación se lleva a cabo durante 2 h a 35°C y con agitación magnética. Después de este tiempo, se adiciona 10 mL de una solución al 30% v/v de peróxido de hidrogeno (H_2O_2). La mezcla resultante se filtra y se lava hasta obtener un pH. El producto se seca a 65°C por 12 h hasta obtener óxido de grafito. Una vez que se tiene el óxido de grafito, se pesa 0.1 g de éste y se dispersa en 10 mL de agua, esta solución se sónica durante 3 h, dentro de un baño ultrasónico a una frecuencia de 50-60 Hz, una porción de óxido de grafeno fue secado y se empleó como refuerzo.

Síntesis del grafeno reducido (RGO). Para la síntesis del grafeno reducido, se utilizó la otra porción de la solución sonicada, la cual se calentó hasta una temperatura de 95°C y se adicionó ácido L-ascórbico [8] reaccionando por 15 min. Finalmente, el RGO se lavó y se secó a 65°C durante 12 h.

Preparación de compositos. Se prepararon compositos con 0.1, 0.4, 0.7 y 1.0% en peso de refuerzo, usando diferentes relaciones de GO:RGO: 0:1, 0.25:0.75, 0.5:0.5, 0.75:0.25 y 1:0. Los refuerzos se adicionaron a la resina epóxica (DGEBA), y la mezcla se sónico durante 1 h con el fin de mejorar la dispersión. Después, se adiciono etilendiamina (EDA); la mezcla resultante se vertió a un molde con dimensiones de acuerdo con la norma ASTM D6338 para determinar las propiedades mecánicas de los compositos. El proceso de curado de las muestras fue a 50°C , manteniendo esta temperatura durante 1 h. También se preparó una muestra de resina epóxica sin ningún tipo de refuerzo, con el fin de comparar los resultados.

Caracterización. Las técnicas que se usaron para la cateterización de los refuerzos, fue espectroscópica infrarroja, IR (equipo: Espectrofotómetro FT-IR Spectrum 100), microscopia electrónica de transmisión TEM (Equipo: Microscopio JOEL TEM-1010). Para llevar a cabo el ensayo de tensión se hizo ocupó la máquina universal de pruebas mecánicas, AGS-J SHIMADZU 10kN.

Resultados

Para el estudio de los cambios estructurales de los materiales usados como refuerzo, se analizaron mediante absorción infrarroja (figura 1). Se observa que óxido de grafeno presentan bandas características de su estructura, como lo son: una banda alrededor de 1611 cm^{-1} la cual corresponde a la vibración de estiramiento del enlace C=C y las bandas correspondientes a las vibraciones de los enlaces O-H y C=O del grupo carboxilo. Estos resultados sugieren que el GO tiene una estructura con abundantes grupos a base de oxígeno sobre la superficie, lo cual es consistente con su alta capacidad de dispersión en medio acuoso y contribuyen a mejorar la adhesión interfacial. Al reducir químicamente el GO con el ácido ascórbico; usado como agente reductor, se puede mostrar por medio de IR/ATR (figura 1),

la mayoría de las bandas relacionadas a los grupos oxidados desaparecen obteniendo un espectro del RGO parecido al grafito cristalino usado como material de partida.

En la figura 2, se muestran las micrografías, de óxido de grafeno (a y b) en las cuales se observa superficies con pliegues altamente definidos, también se puede observar que este material presenta una gran transparencia y muy estables bajo el haz de electrones. El grafeno reducido (c y d) presenta una gran transparencia a los haces de electrones debido a su insignificante sección eficaz de dispersión electrónica. Además, se pueden ver defectos restantes en el grafeno concentrados en las áreas en donde la hoja se encuentra arrugada.

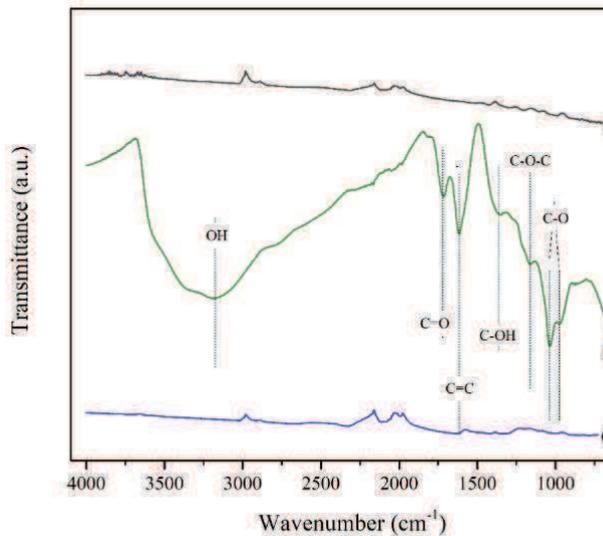


Figura 1.- Espectro Infrarrojo del (i) grafito cristalino, (ii) óxido de grafeno (GO) y (iii) grafeno reducido (RGO).

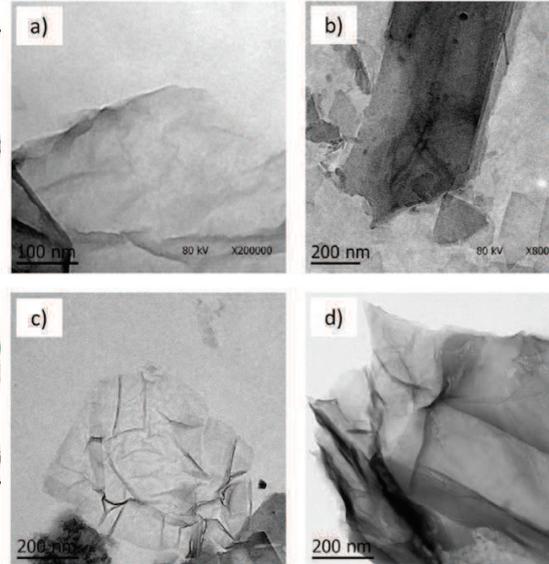


Figura 2.- Micrografías TEM de óxido de grafeno (a y b) y grafeno reducido (c y d).

Al evaluar las propiedades mecánicas de los materiales compuestos, los resultados obtenidos mediante el ensayo de tensión se obtuvieron curvas de esfuerzo-deformación (figura 3). Se puede observar una importante mejora en la resistencia a la tracción, el alargamiento a la rotura y la tenacidad a la tracción como resultado del refuerzo con el GO y RGO, en especial se observa que al 0.4% en peso de refuerzo se obtiene el mejor rendimiento de todos los composites. Además de que se observó que las relaciones de 0.25:0.75 muestran mayor desempeño que las demás combinaciones.

Los resultados de la resistencia a la tracción se muestran en la figura 4, donde la resina epóxica presenta un valor de resistencia a la tracción de 31 MPa, mientras que los composites reforzados a 0.4% peso muestran un mejor rendimiento, siendo la relación de 0.25:0.75 (GO:RGO) es notablemente más resistente a la tracción (47.18 MPa) antes de su ruptura, un 52% mayor que la resina sin reforzar.

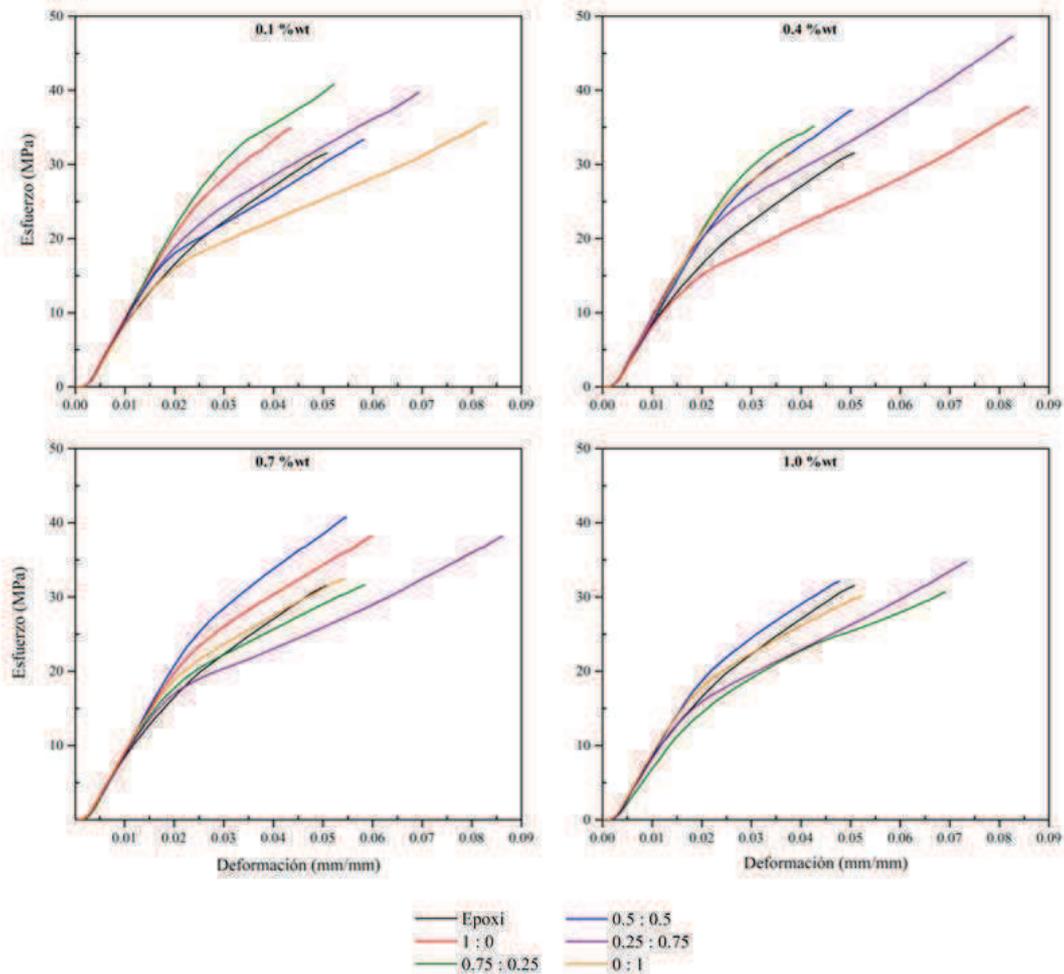


Figura 3.- Curvas de esfuerzo-deformación para los compositos a diferente % peso y combinaciones de GO : RGO.

En la figura 5 se muestra el módulo de elasticidad para todos los compositos y la resina epóxica pura. En donde se observa que la mayoría de los compositos reforzados presentan una gran resistencia a la deformación elástica, en especial los compositos reforzados con 0.4% peso, a las relaciones de 0.75:0.25, 0.25:0.75 y 0:1 (con valores de módulo elástico de 1218.21, 1215.22 y 1226.13, respectivamente), aproximadamente un 20% mayor que la resina epóxica.

Otro parámetro importante es la tenacidad a la tracción, que se refiere a la energía adsorbida por un material antes de la fractura. La figura 6 muestra los resultados de tenacidad a la tracción para los compositos y resina epóxica pura, en donde se encuentra que los compositos reforzados a 0.25:0.75 (GO:RGO) presenta un rendimiento excepcional en casi todas las cargas de refuerzo. Se obtuvo un 152% más alto que la epóxica pura con el composito reforzados con 0.4% en peso.

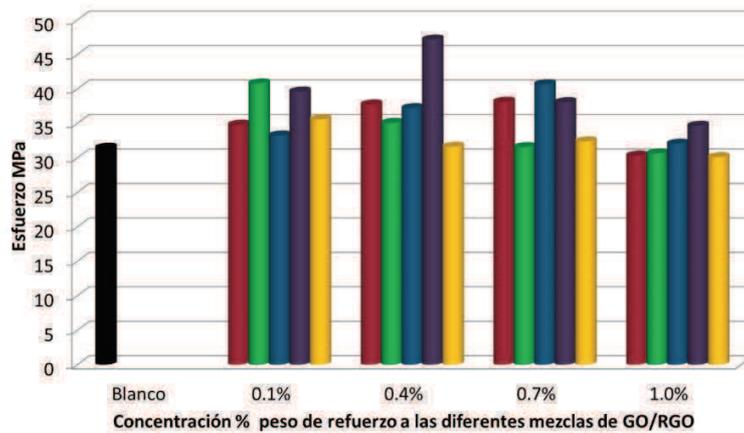


Figura 4.- Esfuerzo máximo soportado por compositos reforzados con óxido de grafeno (GO) y grafeno reducido (RGO), a las diferentes combinaciones de los refuerzos

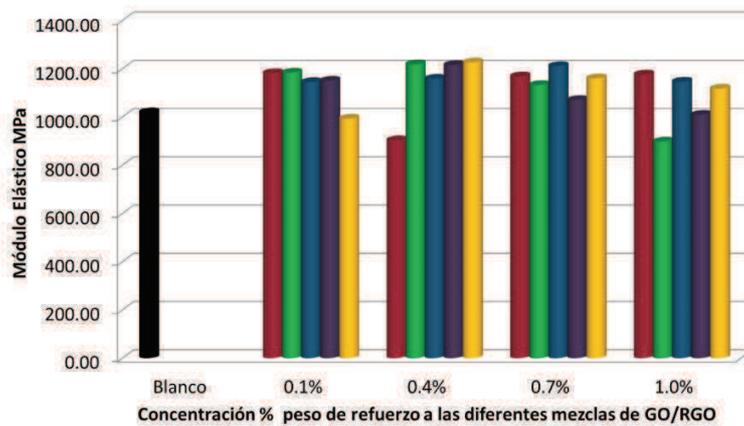


Figura 5.- Módulo Elástico de compositos reforzados con nanomateriales (GO y RGO)

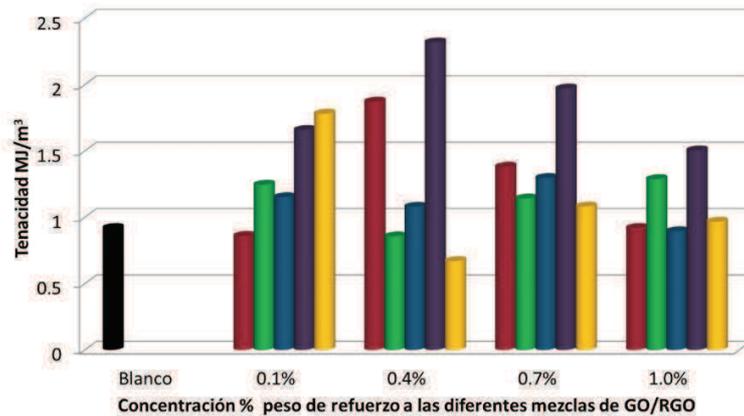


Figura 6.- Tenacidad de compositos reforzados con nanomateriales (GO y RGO)

Conclusiones

En este trabajo, se logró obtener compositos, con mejores propiedades mecánicas, al usar refuerzos en estado químicamente oxidado (GO) y reducido (RGO). En los compositos preparados, se observó que, al ir aumentando la cantidad de RGO, por un lado, e ir disminuyendo la cantidad de GO por otro, la solubilidad en la matriz era mayor, con lo que

se puso de manifiesto la competencia entre la compatibilidad de RGO con la matriz y la cantidad de grupos oxigenados necesarios para anclarse químicamente al polímero. En la prueba de tensión, se observó que todos los compositos presentaron un efecto positivo de refuerzo, al soportar mayor carga que la resina epóxica sin refuerzo. Además, se encontró que con una concentración de 0.4% peso y a la relación, 0.25:0.75, se obtuvo el mejor comportamiento, logrando un material capaz de resistir un 52% más la resina epóxica. Los resultados obtenidos sugieren que es posible lograr propiedades ventajosas combinando grafeno en condiciones oxidadas y reducidas, ya que muestra un efecto sinérgico por la presencia de ambos refuerzos.

Bibliografía

1. Callister William D., (1996) “*Introducción a la ciencia e ingeniería de los materiales*”, 1ra ed., Barcelona, España, Reverté, 2 - 3.
2. Geim A. K., Novoselov K. S., (2007) “The rise of graphene”, *Nat. Mater.*, 6, 183-191.
3. Kuila T., Bhadra S., Yao D., Hoon Kim N., Bose S., Hee Lee J., (2010) “Recent advances in graphene based polymer composites”, *Prog. Polym. Sci.*, 35 (11), 1350-1375.
4. Chatterjee S., Nafezarefi F., Tai N. H., Schlagenhuaf L., Nüesch F.A., Chu B. T. T., (2012) “Size and synergy effects of nanofiller hybrids including graphene nanoplatelets and carbón nanotubes in mechanical properties of epoxy composites” *Carbon*, 50 (15), 5380-5386.
5. Young R. J., Kinloch I. A., Gong L., Novoselov K. S., (2012) “The mechanics of graphene nanocomposites: a review”, *Compos. Sci. Technol.*, 72 (12), 1459-1476.
6. Jang B. Z., Zhamu A., (2008) “Processing of nanographene platelets (NGPs) and NGP nanocomposites: a review”, *J. Mater. Sci.*, 43 (15), 5092-5101.
7. Inagaky M., Kang F., (2014) “Graphene derivatives: graphane, fluorographene, graphene oxide, graphyne and graphdiyne”, *J. Mater. Chem. A*, 2, 13193-13206.
8. Fernández-Merino M. J., Guardia L., Paredes J. I. Villar-Rodil S., Solís-Fernández P., Martínez-Alonso A., Tascón J. M. D., (2010) “Vitamin C is an ideal substitute for hydrazine in the reduction of graphene oxide suspensions”, *J. Phys. Chem. C*, 114 (14), 6426-6431.

ANÁLISIS NUMÉRICO CFD DE LA TRANSFERENCIA DE CALOR EN ALETAS CON GEOMETRÍAS REGULARES.

Jorge Arturo Alfaro Ayala^a, César Eduardo Damián Ascencio^b, Sergio Cano Andrade^b, Juan Nicolás Flores Balderas^a, Oscar Alejandro López Núñez^a

^a Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, C. P.: 36050, Guanajuato, Gto., México.
nico_brain10@hotmail.com

^b Departamento de Ingeniería Mecánica, Universidad de Guanajuato, Carretera Salamanca - Valle de Santiago km 3.5 + 1.8. Comunidad de Palo Blanco, Salamanca, Gto., México.

Resumen

En este trabajo se analiza la transferencia de calor de tres diferentes geometrías regulares de superficies extendidas o aletas. Se hace uso de la dinámica de fluidos computacional (CFD) mediante el paquete comercial ANSYS-Fluent 15.0 para determinar los perfiles de temperatura en la aleta y establecer criterios bajo los cuales se alcanza la transferencia de calor máxima posible en las dimensiones geométricas, se obtiene también la eficiencia y efectividad para cada una de las geometrías de aleta propuestas.

Palabras clave: *CFD, aletas, transferencia de calor.*

Introducción

El principal inconveniente de los sistemas de refrigeración basado en transferencia de calor por convección es que la velocidad de transferencia de calor (Watts) alcanzada es bastante pequeña, como explican Bejan [1] y Kreith et al. [2]. El uso de aletas es una de las formas más simples de superar esta deficiencia de bajas tasas de transferencia de calor, manteniendo al mismo tiempo el sistema libre de ruido y mantenimiento. El uso de aletas para mejorar la transferencia de calor fue ampliamente estudiado por Guvenc y Yuncu [3] y Yazicioglu y Yuncu [4]. El objetivo de usar las aletas es incrementar el área de la superficie en la cual ocurre la transferencia de calor por convección para aumentar precisamente esta transferencia de calor, usando la menor cantidad de material adicional necesario para este propósito, sin embargo hay un punto donde extender más allá de cierta medida las aletas carece de sentido y solo conlleva pérdidas económicas por usar material de construcción innecesario [5]. En este sentido, mediante este trabajo, se analiza la transferencia de calor de tres diferentes perfiles de aletas con geometrías regulares tales como: rectangular, circular y triangular para determinar la distribución o campo de temperaturas en cada una de ellas y la configuración bajo la cual ocurre la transferencia de calor máxima para la misma área de transferencia. Para los cálculos se emplea CFD con el paquete ANSYS-Fluent.

Metodología

Se proponen varias configuraciones para las aletas de perfil rectangular, circular y triangular para analizar la transferencia de calor para diferentes casos. Se emplea una geometría en tres dimensiones para todos los perfiles. Para los casos se supone que las aletas están expuestas a un enfriamiento por convección, con condición de extremo adiabático. Las geometrías se compararan considerando una misma área de transferencia de calor, condiciones de operación propuestas y construidas con una aleación de aluminio 2024, en la que se usa el cobre como principal elemento en la aleación y tiene una alta conductividad térmica k de 180 W/m-K.

Cuando se considera una condición de extremo adiabático, el 98% de la transferencia de calor máxima posible de aleta se alcanza para una longitud de aleta $L = 2.3/m$ donde $m = (hP/kA_c)^{1/2}$, donde h es el coeficiente convectivo, P el perímetro de la aleta, k la conductividad térmica del material y A_c es el área de la sección transversal.

En la Figura 1 se muestra la configuración aplicada para la aleta con el perfil circular. La máxima transferencia de calor se alcanza para una longitud L de 0.11 m o 11 cm.

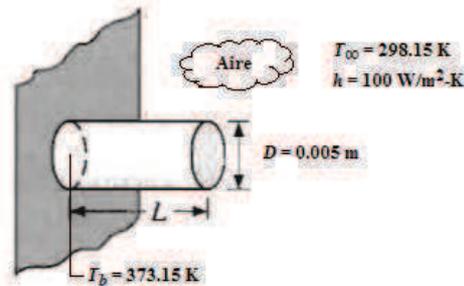


Figura 1. Conducción y convección en aleta de sección transversal circular.

Se emplea un mallado estructurado y celdas hexaédricas, con un número total de 9,588 elementos, con la condición de frontera para todas las paredes como “wall”, es decir, pared expuesta a conducción en la base de la aleta, pared expuesta a convección en la superficie y extremo aislado o adiabático (ver Figura 2).

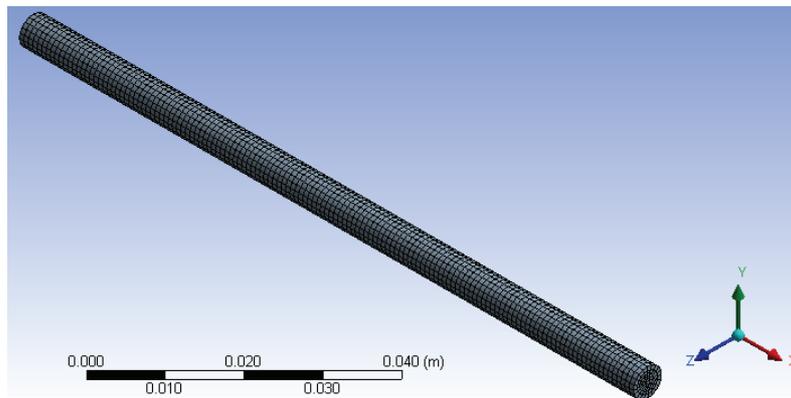


Figura 2. Mallado de la aleta circular.

Para el caso de la aleta con perfil rectangular, la longitud L a la cual ocurre la máxima transferencia de calor así como el ancho de la aleta w , se calcularon de forma iterativa considerando la misma área superficial de transferencia de calor por convección que se utilizó para el perfil circular, estos valores fueron respectivamente, de 87 mm (0.087 m) y 7.8 mm (0.0078 m). Se propuso un espesor de aleta razonable t de 2 mm o 0.002 m, en la Figura 3 se muestra la configuración aplicada.

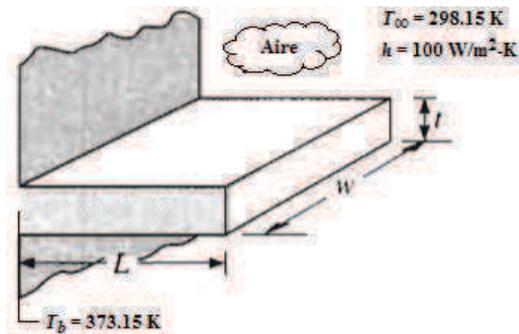


Figura 3. Conducción y convección en aleta de sección transversal rectangular.

Se establecen las mismas condiciones de frontera que para la aleta circular, se genera un mallado estructurado y celdas hexaédricas, con un total de 3,000 elementos (ver Figura 4).

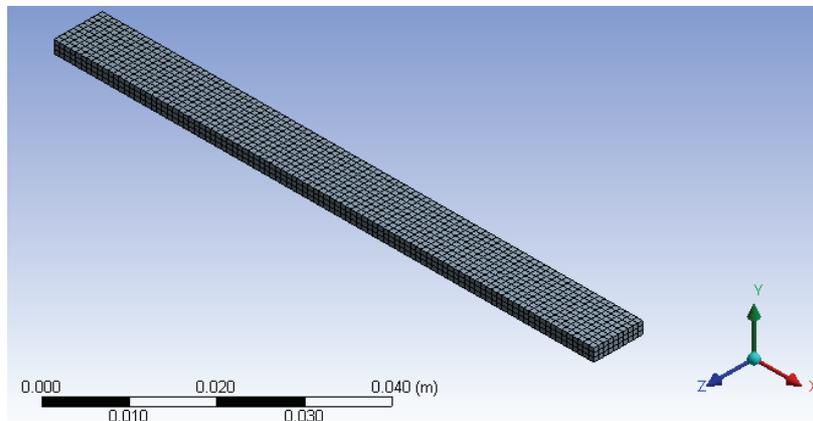


Figura 4. Mallado de la aleta rectangular.

Siguiendo la misma metodología que para los perfiles anteriores, para el perfil triangular, el área superficial de transferencia de calor y el espesor t propuesto de 2 mm para el perfil, se obtienen el valor para longitud L y el ancho w de la aleta, que fueron 80 mm (0.08 m) y 10 mm (0.01 m), respectivamente. En la Figura 5 se observa la configuración de la aleta.

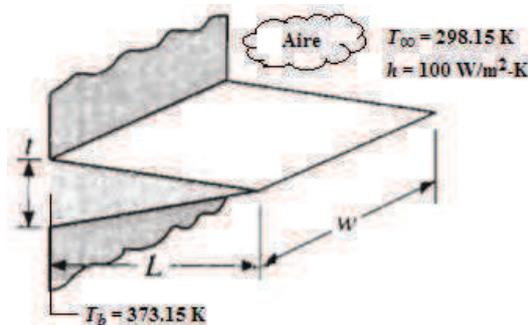


Figura 5. Conducción y convección en aleta de sección transversal triangular.

Para las mismas condiciones de frontera que para los otros perfiles, se genera un mallado estructurado y celdas hexaédricas, con un total de 2,160 elementos (ver Figura 6).

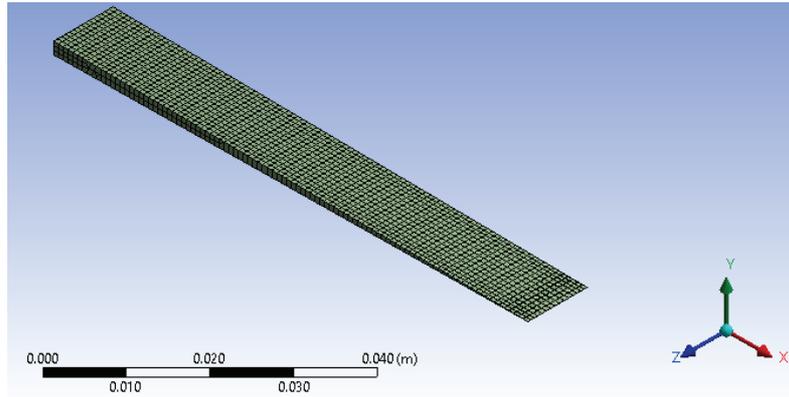


Figura 6. Mallado de la aleta triangular.

La eficiencia η_f y la efectividad ε_f para los perfiles se obtienen mediante las siguientes ecuaciones [5]:

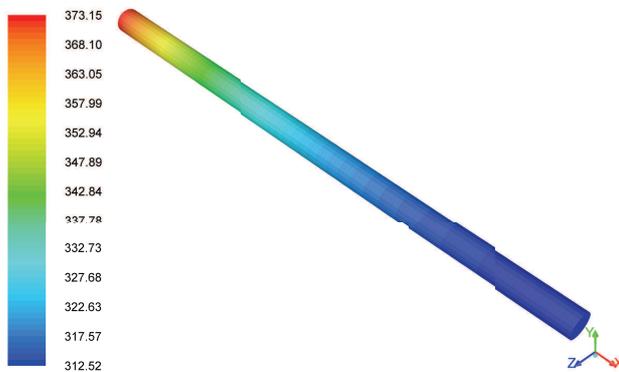
$$\eta_f = \frac{q_f}{hA_f(T_b - T_\infty)} \quad (1)$$

$$\varepsilon_f = \frac{q_f}{hA_{c,b}(T_b - T_\infty)} \quad (2)$$

Donde q_f es el calor removido por la aleta, A_f es el área de la superficie de la aleta y $A_{c,b}$ es el área de la sección transversal en la base de la aleta.

Resultados

En la Figura 7-9 se aprecia el contorno y la gráfica de la distribución de temperaturas para la elata circular, rectangular y triangular respectivamente. En la dirección axial x se desarrolla la máxima transferencia de calor posible, por ende extender la aleta más allá del caso propuesto para 0.11 m carece de sentido para el perfil circular y que generaría solo costos adicionales por incrementar el material de construcción de la aleta, se observa como a partir de este valor la temperatura se estabiliza. En el mismo sentido el caso del perfil rectangular la máxima transferencia de calor se alcanza para una longitud de 0.087 m y para el perfil triangular de 0.08 m.



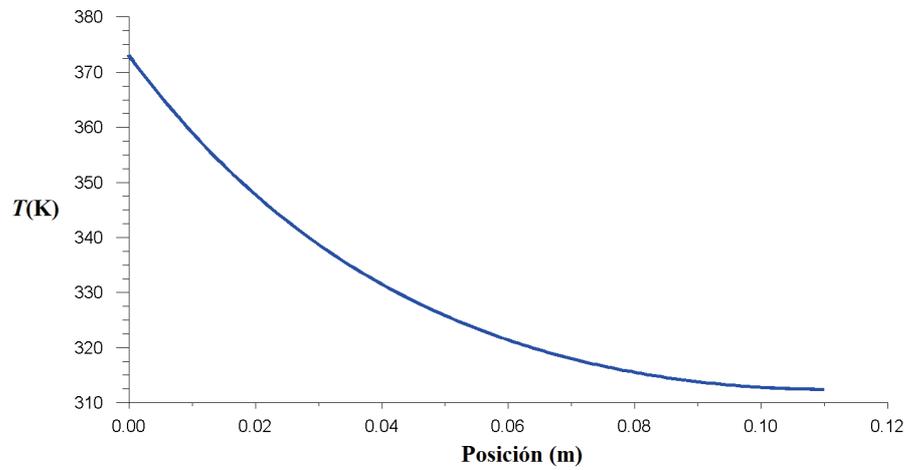


Figura 7. Contornos y gráfica de la distribución de temperatura en la aleta circular.

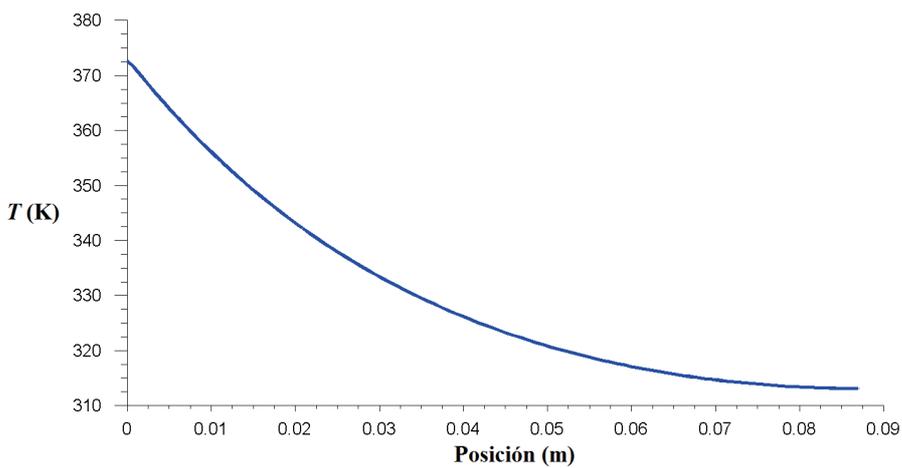
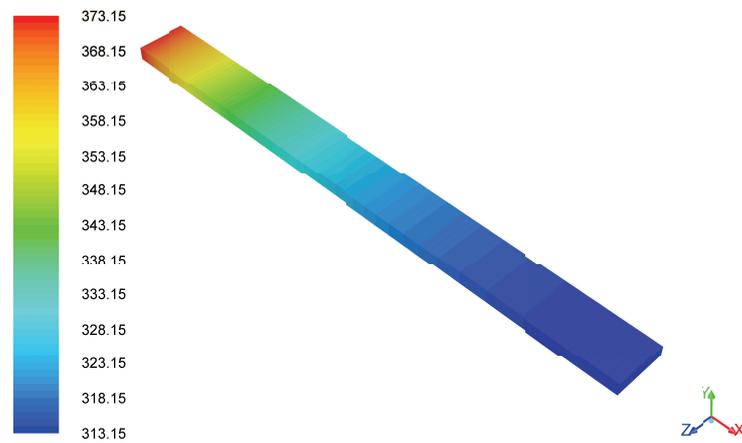


Figura 8. Contornos y gráfica de la distribución de temperatura en la aleta rectangular.

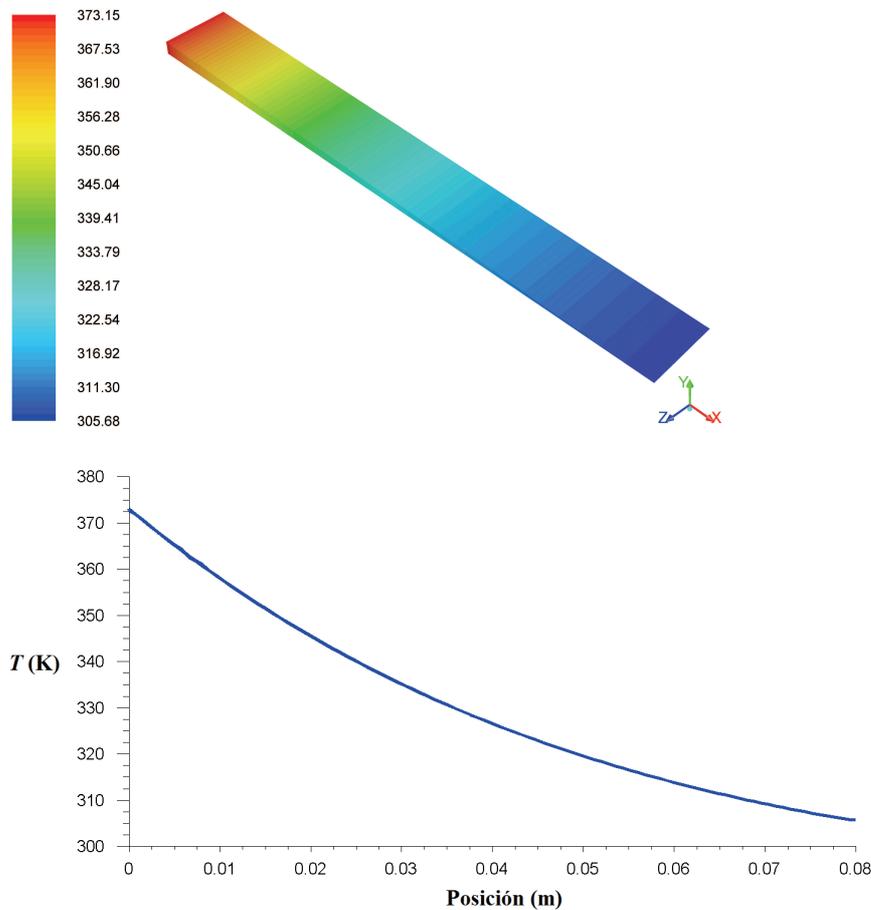


Figura 9. Contornos y gráfica de la distribución de temperatura en la aleta triangular.

En la Tabla 1 se observa la comparación de los distintos perfiles en base a la disipación máxima de calor por unidad de volumen, tal como se espera se pudo comprobar que el mejor perfil para diseño de equipos de intercambio de calor es el perfil triangular, dado que para las mismas condiciones de transferencia de calor y la misma área de transferencia se remueve calor con menos material, que para fines prácticos industriales permite ahorros económicos mayores.

Tabla 1. Comparación de los diferentes perfiles de aletas.

Perfil	Efectividad ϵ_f	Eficiencia η_f	Transferencia de calor (W) q_f	Volumen (m^3) V	Disipación por unidad de volumen (W/m^3) $\frac{q_f}{V}$
Circular	37	0.42	5.43	2.1598×10^{-6}	2,514,121
Rectangular	47	0.43	5.5	1.3572×10^{-6}	4,052,460
Triangular	38	0.44	5.7	8×10^{-7}	7,125,000

Conclusiones

El perfil triangular recto es más atractivo porque para la transferencia de calor equivalente requiere menos volumen o material de la aleta que los otros perfiles. La disipación por unidad

de volumen es más grande para otros perfiles no tratados en este trabajo como el parabólico, sin embargo esta disipación por unidad de volumen es solo ligeramente mayor que para el perfil triangular, por ello el uso de perfiles parabólicos pocas veces se justifica en vista de los grandes costos de fabricación.

Bibliografía

- [1] Bejan A, "Convection Heat Transfer", third ed. India: Wiley, 2004.
- [2] Kreith F, Manglik RM, Bohn MS, "Principles of Heat Transfer", seventh ed. Cengage Learning, 2011.
- [3] Güvenç A, Yüncü H, "An experimental investigation on performance of fins on a horizontal base in free convection heat transfer", *Heat Mass Transf*, 37, 409-16, 2001.
- [4] Yazicioğlu B, Yüncü H, "Optimum fin spacing of rectangular fins on a vertical base in free convection heat transfer", *Heat Mass Transf Stoffuebertrag*, 44, 11-21, 2007.
- [5] Incropera F, Dewitt D, "Fundamentals of Heat and Mass Transfer", 5th ed., John Wiley & Sons, New York, 2002.

SOBREEXPRESIÓN Y PURIFICACIÓN DE LA PROTEÍNA RECOMBINANTE HIS₁₀-MutY DE *Bacillus subtilis*

Hilda Cecilia Leyva Sánchez^a; Mario Pedraza Reyes^a

^a División de Ciencias Naturales y Exactas, Departamento de Biología, Universidad de Guanajuato, Noria Alta s/n,

Guanajuato, Gto. 36050, MÉXICO. hilcesanchez@gmail.com; pedrama@ugto.mx

Resumen

Las especies reactivas de oxígeno, productos del metabolismo aeróbico, impactan distintas biomoléculas celulares incluyendo el ADN. La oxidación del material genético promueve la formación de la altamente mutagénica lesión 8-Oxo-Guanina (8-OxoG). La principal ruta de eliminación de esta lesión es el sistema de la guanina oxidada (GO) compuesto por las proteínas MutT, MutM y MutY. MutY es una ADN glicosilasa que elimina específicamente la adenina del mal apareamiento OG:A. Estudios recientes mostraron que el estrés oxidativo es exacerbado durante fase de crecimiento estacionaria y es un componente importante en la generación de mutaciones en células de *B. subtilis* carentes de división celular. Como una etapa importante en la caracterización bioquímica de la proteína MutY de *B. subtilis*, en el presente trabajo se diseñó una construcción en el vector pET19-b para sobreexpresar al gen *mutY* de manera heteróloga, lo cual permitió la producción de la proteína recombinante His₁₀-MutY en *Escherichia coli*. La proteína recombinante se purificó a homogeneidad mediante cromatografía de afinidad metálica lo cual se confirmó mediante un análisis electroforético en geles de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes. En conclusión, se obtuvieron fracciones altamente puras de la proteína His₁₀-MutY de *B. subtilis*, la cual mostró, de acuerdo con el tamaño del gen, una masa molecular cercana a 42 kDa.

Palabras clave: *Bacillus subtilis*; ADN glicosilasa; MutY; 8-oxo-Guanina.

Introducción

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) se generan como subproductos de la respiración y el metabolismo celular aeróbico, pero también se pueden generar a través de la exposición a la radiación ionizante y otros agentes que generan radicales libres. El blanco principal de las ROS es el genoma celular lo que resulta en la oxidación de las bases del ADN y la formación de otros subproductos incluyendo las roturas de cadena sencilla y doble; por su carácter genotóxico y citotóxico estas lesiones son potencialmente letales para las células. Para mantener la integridad del genoma la evolución ha equipado a los organismos con diversos sistemas de prevención y reparación que se encuentran conservados en los tres dominios de la vida [1]. Entre las cuatro bases de ADN, la guanina, que tiene el menor potencial redox, es la más susceptible a la oxidación, produciendo diferentes productos en el ADN, como 8-oxo-7,8-dihidroguanina (8-OxoG) y 2-6-diamino-4-hidroxi-5-formamidopirimidina (FapyG) [2]. La 8-OxoG es una lesión común altamente mutagénica, este precursor oxidado es frecuentemente incorporado opuesto a la adenina en el ADN. Sin embargo, la oxidación directa del ADN también genera 8-OxoG el cual induce transversiones GC→TA y AT→CG [3]. Estos efectos mutagénicos son contrarrestados por el sistema de reparación por escisión de bases, utilizando las ADN glicosilasas MutM y MutY. La primera, elimina la 8-OxoG del par 8-oxoG:C y la segunda elimina la adenina del mal apareamiento 8-OxoG:A; aunque se ha descrito que MutY también puede actuar sobre los pares erróneos G:A y C:A [4]. El efecto mutagénico del precursor oxidado 8-oxo-dGTP también es prevenido por MutT la cual

hidroliza las pozas de GTP y/o dGTP oxidados a su forma monofosfato, evitando de esta manera la incorporación de 8-oxo-G al ADN. En *E. coli* estas tres proteínas conforman el sistema GO [5].

Los estudios estructurales y bioquímicos de la ADN glicosilasa MutY, muestran que esta consta de un dominio N-terminal o núcleo catalítico y una región C-terminal [6]. El dominio catalítico contiene un clúster [4Fe-4S], un motivo generalizado entre las proteínas implicadas en el metabolismo de los ácidos nucleicos [7]. En MutY y la endonucleasa III, el grupo [4Fe-4S] está coordinado por cisteínas altamente conservadas (C₁₉₂ X₆ C₁₉₉ X₂ C₂₀₂ X₅ C₂₀₈) [8]. Por otra parte, en *B. subtilis* se demostró que *mutY* se expresa durante la fase estacionaria y que tiene un papel relevante en el proceso de Mutagénesis Adaptativa [9]. Por lo que es importante realizar la caracterización bioquímica de la proteína MutY de *B. subtilis* para seguir abordando su participación en modular las mutaciones que surgen durante fase estacionaria.

Metodología

Las cepas bacterianas y los plásmidos utilizados en este estudio se enlistan en la Tabla 1.

Tabla 1. Cepas de *B. subtilis*, *E. coli* y plásmidos utilizados en este estudio.

<i>B. subtilis</i>	Genotipo	Referencia
168	Wild type	Ceparío PERMlab
<i>E. coli</i>	Descripción	Referencia
DH5 α	F ⁻ Φ 80d <i>lacZ</i> Δ M15 Δ (<i>lacZYA-argF</i>)U169 <i>delR recA endA1 hsdR17</i> ($r_k^- m_k^+$) <i>supE44 thi-1gyrA96</i>	Ceparío PERMlab
PERM1163 (Rosetta)	F ⁻ <i>ompT hsdS_B</i> ($r_B^- m_B^-$) <i>gal dcm</i> (DE3) pRARE. Cm ^R	Ceparío PERMlab
PERM1522	<i>E. coli</i> DH5 α que contiene la construcción pJET1.2/blunt + ORF del gen <i>yfhQ</i> de <i>B. subtilis</i> . Con sitios de restricción NdeI y BamHI. Amp ^R	Este estudio
PERM1524	<i>E. coli</i> DH5 α que contiene la construcción pET19b- <i>mutY</i> , con sitios de restricción NdeI y BamHI. Amp ^R	Este estudio
PERM1527	<i>E. coli</i> Rosetta que contiene el plásmido PERM1524, expresa la proteína MutY (YfhQ) de <i>B. subtilis</i> con una etiqueta de 10 histidinas en el extremo N-terminal. Amp ^R Cm ^R	Este estudio
Plásmido	Descripción	Referencia
pJET1.2/blunt	Vector de clonación. Amp ^R	ThermoFischer Scientific
pET19b	Vector de expresión para <i>E. coli</i> conteniendo un promotor <i>Pspac</i> -inducible por IPTG. Amp ^R	Donado por el Dr. Luis Brieba de Castro

Medios de cultivo

Para el crecimiento de *B. subtilis* y *E. coli* se utilizó el medio de cultivo Luria-Bertani (LB). Cuando se requirió, se agregaron los siguientes antibióticos a los medios de cultivo: ampicilina (Amp, 100 μ g/ml), cloranfenicol (Cm; 25 μ g/mL) ó con isopropil- β -D-tiogalactopiranosido (IPTG) 0.5 mM. Las cepas bacterianas utilizadas en este estudio fueron construidas usando técnicas estándar de biología molecular [10].

Diseño de un plásmido para sobreexpresar a *mutY* de *B. subtilis* y purificar una proteína recombinante His₁₀-MutY

El producto de PCR del gen *mutY*, se purificó en un gel de agarosa de bajo punto de fusión y se ligó en el vector pJET1.2/blunt para transformar células competentes de *E. coli* DH5 α . Se extrajo ADN plasmídico de la cepa *E. coli* PERM1163 que contiene el vector de expresión pET19b, a la par, el marco de lectura abierto del gen *mutY* fué recuperado del plásmido PERM1522 mediante la digestión con las enzimas NdeI y BamHI. Para corroborar la correcta restricción del plásmido, toda la mezcla de reacción fué analizada en un gel de agarosa al 1%. Los fragmentos de ADN correspondientes a *mutY* y al vector pET19b fueron separados en geles de agarosa de bajo punto de fusión al 1.5%. A continuación éstos se utilizaron para realizar una reacción de ligación que se utilizó para transformar células competentes de la cepa *E. coli* DH5 α . Se seleccionaron varias colonias transformantes resistentes a Amp, las cuales se sometieron a un análisis de restricción de minipreparaciones de ADN y a una de las transformantes que contenía la construcción de interés pET19b-MutY (Fig. 3) se le denominó PERM1524. Posteriormente la construcción de la cepa PERM1524 se utilizó para transformar células competentes de *E. coli* Rosetta para sobreexpresar la proteína His₁₀-MutY, dicha cepa se guardó bajo la denominación PERM1527.

Purificación de la proteína His₁₀-MutY por cromatografía de afinidad metálica

Para la purificación de la proteína His₁₀-MutY se inoculó un cultivo de 1 L de medio LB suplementado con Amp y Cm con la cepa *E. coli* PERM1527. El matraz se incubó a 37°C en agitación constante hasta alcanzar una DO 600nm de 0.5. En este punto se agregó al cultivo IPTG a una concentración final de 0.5 mM y se continuó la incubación por 5 h bajo las condiciones descritas. A la par, se utilizó un medio de cultivo con las mismas condiciones y sin IPTG como control negativo. A continuación, los cultivos se centrifugaron a 4800 x g, 4°C, por 15 min para obtener la pastilla celular. Posteriormente, las células se lavaron y resuspendieron en 40 mL de buffer de lisis (Tris-HCl 15 mM pH 8, NaCl 400 mM, Triton X-100 0,1% (v/v), PMSF 1 mM), posteriormente fueron tratadas con lisozima (1 mg/mL) en hielo durante 45 min. A continuación se sujetaron a un segundo paso de lisis mediante sonicación. Finalmente, el lisado celular se centrifugó a 4800 x g, 4°C, durante 45 min y el sobrenadante se pasó a través de una columna de Ni-NTA (QIAGEN, Valencia, CA) previamente equilibrada con buffer de lisis. La columna se lavó con 30 mL cada vez, con cada uno de los buffers de lavado conteniendo 15, 30 y 45 mM de imidazol; finalmente, la proteína His₁₀-MutY se eluyó con 10 mL de buffer de lisis conteniendo 500 mM de imidazol.

Análisis de proteínas mediante electroforesis en condiciones desnaturizantes (SDS-PAGE)

Las fracciones obtenidas de las diferentes etapas de la purificación se analizaron por SDS-PAGE [11] usando geles de poliacrilamida al 12%. Los geles se tiñeron con Azul de Coomassie 0.025% (p/v).

Resultados

Amplificación por PCR del marco de lectura abierto del gen *mutY* de *B. subtilis*.

En la Figura 1 se muestra el producto de amplificación del marco de lectura abierto del gen *mutY* de *B. subtilis*, generado mediante PCR, observándose una única banda del tamaño esperado; i.e., 1104 pb.

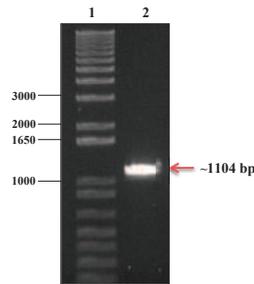


Figura 1. Carril 1, marcadores de tamaño de ADN de 1 Kpb (MPM). Carril 2, amplificación por PCR del marco de lectura abierto del gen *mutY* de ~1104 pb del gen *mutY*.

El producto de PCR del gen *mutY* (Fig. 1) se purificó en un gel de agarosa de bajo punto de fusión y se ligó en el vector de clonación pJET1.2/blunt. Los productos de la ligación se introdujeron por transformación a células competentes de la cepa *E. coli* DH5 α . La Figura 2 muestra el análisis de la restricción de un miniprep obtenido de una colonia transformante tratado con las enzimas NdeI y BamHI. La restricción de la construcción, denominada PERM1522 generó dos bandas, correspondientes al vector (2974 pb) y la correspondiente al gen *mutY* de 1104 pb.

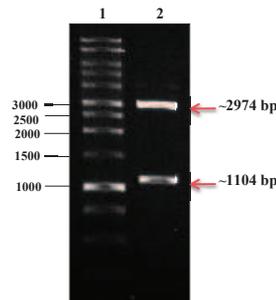


Figura 2. Análisis de restricción para corroborar la obtención de la construcción PERM1522. Carril 1, MPM. Carril 2, patrón de restricción con las enzimas NdeI y BamHI.

Obtención de un plásmido para la sobre-expresión del gen *mutY* de *B. subtilis* en el plásmido pET19b.

Para generar la cepa pET19b-*mutY*, se extrajo ADN plasmídico de la cepa *E. coli* PERM1163 que contiene el vector de expresión pET19b y junto con el plásmido PERM1522 fueron cortados con las enzimas NdeI y BamHI. Esto linealizó el vector pET19b generando una banda de 5717 pb y liberó el fragmento *mutY* (1104 pb) del vector pJET1.2/blunt. El fragmento de 1104 pb y el vector pET19b linealizado, fueron utilizados para realizar una reacción de ligación, con la cual se transformaron células competentes de la cepa *E. coli* DH5 α . Se recuperaron colonias transformantes resistentes a Amp y se corroboró que una de ellas contuviera la construcción correcta mediante análisis de restricción, como se muestra en la Fig. 3. Esta construcción se denominó pPERM1524 y se introdujo por transformación a *E. coli* Rosetta, generando la cepa *E. coli* PERM1527 (Tabla 1).

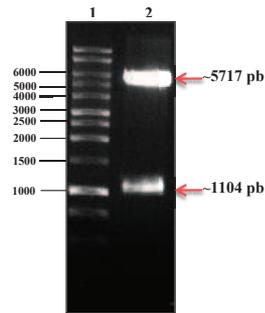


Figura 3. Carril 1 MPM. Carril 2, análisis electroforético de la construcción PERM1524 cortadas con *NdeI* y *BamHI*, el cual liberó las bandas del tamaño esperado.

Análisis de la purificación de His₁₀- MutY en *E. coli* Rosetta.

Se encontró que la adición de IPTG a un cultivo de la cepa de *E. coli* PERM1527, resultó en la síntesis exacerbada, en la fracción celular soluble, de una proteína de ~42 kDa que concuerda con el PM esperado para el producto de gen *mutY* de *B. subtilis* (Fig. 4, carril 2). Siguiendo el protocolo descrito en la Metodología se purificó la enzima His₁₀-MutY en una columna de Níquel-agarosa. Las distintas fracciones de la purificación se analizaron por SDS-PAGE. Como se observa en la Figura 4, este protocolo permitió obtener fracciones altamente puras de la enzima recombinante His₁₀-MutY.



Figura 4. Carril 1, MPM de proteínas; carril 2, extracto celular soluble; carril 3, proteínas no unidas a la columna; carril 4, lavado 1 con buffer de lavado y 15 mM de imidazol; carril 5, lavado 2 con buffer de lavado y 30 mM de imidazol; carril 6, lavado 3 con buffer de lavado y 45 mM de imidazol; carril 7, His₁₀-MutY purificada eluída con 500 mM de imidazol.

Conclusiones

Se generó una cepa recombinante para la sobreexpresión y síntesis heteróloga de la proteína MutY de *B. subtilis*, la cual fue purificada mediante cromatografía de afinidad metálica obteniendo como resultado fracciones de la proteína recombinante con alto grado de pureza.

Agradecimientos

Trabajo apoyado por CONACYT (Subsidios: 205744 and 221231) y UGTO (Subsidios: 936-2016 and 1090-2016). HC, L S fue apoyado con una beca doctoral del CONACyT.

Bibliografia

- [1] Friedberg, E., Walker G., Siede W., Schultz R. T. Ellenberger (2005). "DNA Repair and Mutagenesis", 2nd edn, ASM Press, Washington, DC.
- [2] Boiteux, S., Coste F. B. Castaing (2017). "Repair of 8-oxo-7,8-dihydroguanine in prokaryotic and eukaryotic cells: Properties and biological roles of the Fpg and OGG1 DNA N-glycosylases", *Free Radical Biology and Medicine*, 107, 179-201.
- [3] Tajiri, T., H. Maki, M. Sekiguchi. (1995). "Functional cooperation of MutT, MutM and MutY proteins in preventing mutations caused by spontaneous oxidation of guanine nucleotide in *Escherichia coli*". *Mutat.* 336, 257–267.
- [4] Michaels, M.L., Cruz, C, A.P. Grollman, J. H. Miller. (1992). "Evidence that MutM and MutY combine to prevent mutations by an oxidatively damaged form of guanine in DNA". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 7022-7025.
- [5] Bridges, B. A., Sekiguchi, M. T. Tajiri. (1996). "Effect of mutY and mutM/fpg-1 mutations on starvation-associated mutation in *Escherichia coli*: implications for the role of 7,8-dihydro-8-oxoguanine". *Mol. Gen. Genet.* 251, 352–357
- [6] Manuel, R.C., Czerwinski, E.W, R.S. Lloyd (1996). "Identification of the structural and functional domains of MutY, an *Escherichia coli* DNA mismatch repair enzyme". *J Biol Chem.* 271, 16218–16226.
- [7] White, M.F. D.S. Dillingham (2012). "Iron–sulphur clusters in nucleic acid processing enzymes". *Curr Opin Struct Biol.* 22, 94–100.
- [8] Cunningham, R.P., Asahara, H., Bank, J.F., Scholes, C.P., Salerno, J.C., Surerus, K., Munck, E., McCracken, J., Peisach, J. M.H. Emptage (1989). "Endonuclease III is an iron-sulfur protein". *Biochemistry.* 28, 4450–4455.
- [9] Debora, B. N., Vidales, L. E., Ramírez, R., Ramírez, M., Robleto, E. A., Yasbin, R. E. M. Pedraza-Reyes (2011). "Mismatch repair modulation of MutY activity drives *Bacillus subtilis* stationary-phase mutagenesis". *J. Bacteriol.* 193, 236-245.
- [10] Sambrook, J., Fritsch, E.F. T. Maniatis. (1989). "Molecular Cloning: A Laboratory Manual". 2nd Ed. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory.
- [11] Laemmli, U. K. (1970). "Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4". *Nature* 227, 680–685.

GELES DE LÍQUIDOS IÓNICOS POLIMERIZADOS COMO SOPORTES AVANZADOS EN CATÁLISIS SILP EN FASE LÍQUIDA

*Yaraset Alejandra Galván Domínguez^a, Ramón Antonio Zárraga Núñez^a, Jorge Armando Cervantes Jáuregui^a,
Nicolas Vogel^b*

^a Departamento de Química, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato. Noria Alta S/N, Guanajuato, Gto, CP 36050. México

yarasetg@gmail.com

^b Institute for Particle Technology, Cluster of Excellence Engineering of Advanced Materials. Haberstrasse 9a, Erlangen, CP 91058. Alemania

Resumen

La catálisis de líquido iónicos soportados (SILP) es denominada una técnica catalítica híbrida, ya que combina las ventajas de la catálisis homogénea y heterogénea. En la catálisis SILP el catalizador está disuelto en una delgada capa de líquido iónico el cual se encuentra soportado en pequeñas partículas altamente porosas. Las ventajas que ofrece dicha técnica han beneficiado a una amplia gama de reacciones en fase gaseosa. Sin embargo, la catálisis SILP en reacciones en fase líquida aún presenta importantes inconvenientes que inhabilitan su aplicación. El principal inconveniente consiste en que las partículas pierden la capa de líquido iónico y el catalizador disuelto en él debido al contacto con cualquier otro líquido implicado en la reacción. El confinamiento estable de líquido iónico en las partículas porosas juega un papel primordial en la aplicación exitosa de la catálisis SILP en fase líquida.

En este proyecto se propone maximizar las interacciones interfaciales del líquido iónico con la superficie porosa que lo soporta. Mediante la formación de partículas poliméricas de líquidos iónicos se logrará un control detallado de la química superficial del soporte y con ello interacciones interfaciales de baja energía del líquido iónico y su soporte, el cual será constituido por líquidos iónicos polimerizados. Los soportes poliméricos serán formados mediante la polimerización de unidades de ésteres activos y su posterior funcionalización con líquidos iónicos. Finalmente, las partículas poliméricas serán hinchadas con líquido iónico sin polimerizar y con catalizador disuelto en él formando de esta manera los sistemas SILP con mayor retención de líquido iónico para su aplicación en reacciones en fase líquida.

Palabras clave: *Líquidos iónicos, catálisis SILP, polimerización controlada RAFT.*

Introducción

La catálisis de líquidos iónicos soportados, también llamada catálisis SILP por sus siglas en inglés (Supported Ionic Liquid Phase) es una técnica catalítica en donde el catalizador se encuentra disuelto en una capa fina de líquido iónico, dicha capa está confinada en un soporte

sólido altamente poroso [1-3]. El resultado es un sistema que presenta las ventajas características tanto de la catálisis homogénea como heterogénea, ya que el catalizador, al estar disuelto en el líquido iónico, es activado en condiciones suaves de reacción; a la vez que el soporte sólido facilita los procesos de separación necesarios posteriores a la reacción [3]. Hasta ahora, dicha técnica ha sido aprovechada en una amplia gama de reacciones, incluyendo catálisis con metales de transición homogéneamente disueltos y catálisis ácida con cloroaluminatos, presentando rendimientos catalíticos excepcionales [3, 4].

Sin embargo, la catálisis SILP sólo ha podido ser utilizada en reacciones en fase gas [4]. Su uso en reacciones en fase líquida está severamente afectado por el potencial “deslave” del soporte sólido debido a fuerzas mecánicas impartidas por algún líquido involucrado en la reacción [4], es decir, ya sea un disolvente o un reactivo líquido puede arrastrar y remplazar al líquido iónico del soporte poroso, lo que ocasiona la pérdida total del líquido iónico y el catalizador disuelto en él.

El confinamiento de los líquidos iónicos en los soportes porosos se ha llevado a cabo mediante fuerzas capilares, interacciones electrostáticas, puentes de hidrógeno o enlaces covalentes [3, 5]. En todos los casos, inclusive con enlaces covalentes, se ha reportado pérdida del líquido iónico [4].

Por otro lado, el concepto de confinamiento de películas finas de líquido en soportes sólidos ha sido estudiado para una serie de diversas y muy variadas aplicaciones. En todos los casos se busca la retención estable de un líquido en un soporte sólido, a manera de que un segundo líquido no remplace al primero de la superficie sólida. El incremento en la funcionalidad superficial y por consiguiente en la retención del líquido se lleva a cabo por medio del control exhaustivo de la química superficial y las interacciones entre la fase sólida y el líquido confinado.

En este proyecto se propone la formación de partículas de geles poliméricos como soporte sólido con composición estructural definida. Se desea maximizar las interacciones interfaciales entre el soporte y los líquidos iónicos mediante el control de la química superficial del soporte sólido, de esta manera, se logrará una retención superior del líquido iónico y el catalizador disuelto en él con la finalidad de ampliar la aplicación de la catálisis SILP a reacciones en fase líquida.

La composición química de la red polimérica consistirá en líquidos iónicos polimerizados haciendo uso de reacciones análogas de funcionalización de ésteres activos y de la técnica de polimerización por transferencia de cadena de adición-fragmentación reversibles (RAFT). Las partículas microscópicas serán formadas mediante reacciones de entrecruzamiento en emulsión de los líquidos iónicos polimerizados. Posteriormente dichas partículas microscópicas serán hinchadas con líquido iónico con catalizador disuelto y se analizarán sus propiedades catalíticas.

Metodología

La estrategia para la formación de soportes catalíticos con retención superior se divide en 3 etapas, la primera etapa consiste en una polimerización controlada de líquidos iónicos, los polímeros resultantes constituirán la estructura química del soporte. Para dicha polimerización se hará uso de la técnica de polimerización controlada de transferencia de cadena por adición-fragmentación reversibles, también llamada polimerización RAFT por sus siglas en inglés (Reversible Addition-Fragmentation chain Transfer) para polimerizar unidades monoméricas de ésteres activos, como el metacrilato de pentafluorofenilo. La polimerización RAFT se llevará a cabo usando cumil ditiobenzoato como agente controlador y azoisobutironitrilo como iniciador. Posteriormente el poli(metacrilato de pentafluorofenilo) se funcionalizará con tetrafluoroborato de 1-amino propil-3-metil imidazolio que contiene un grupo amino en su estructura, el cual se ancla a cada unidad del éster activo, como se observa en la representación gráfica de la figura 1.

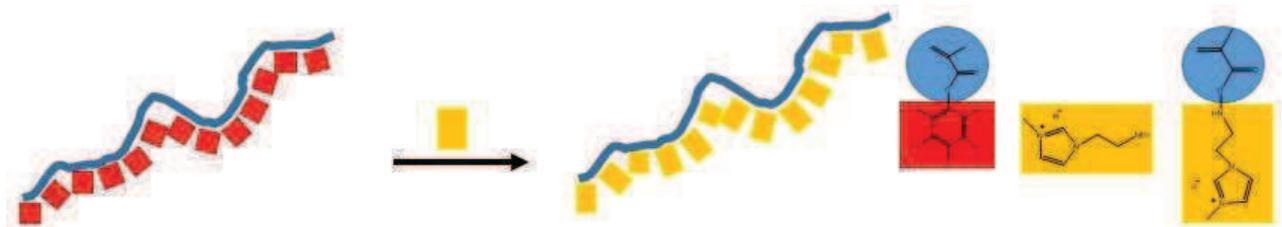


Figura 1. Representación esquemática de la reacción de funcionalización post-polimerización del éster activo con un líquido iónico que contiene en su estructura un grupo amino.

En una segunda etapa se obtendrán partículas microscópicas de los líquidos iónicos polimerizados, para ello se formará una emulsión en donde se inducirán reacciones de entrecruzamiento en el confinamiento de cada gota mediante la irradiación UV de unidades entrecruzantes de benzofenona a 350 nm, como se observa en la figura 2. Las propiedades mecánicas de las partículas serán determinadas por el grado de entrecruzamiento.

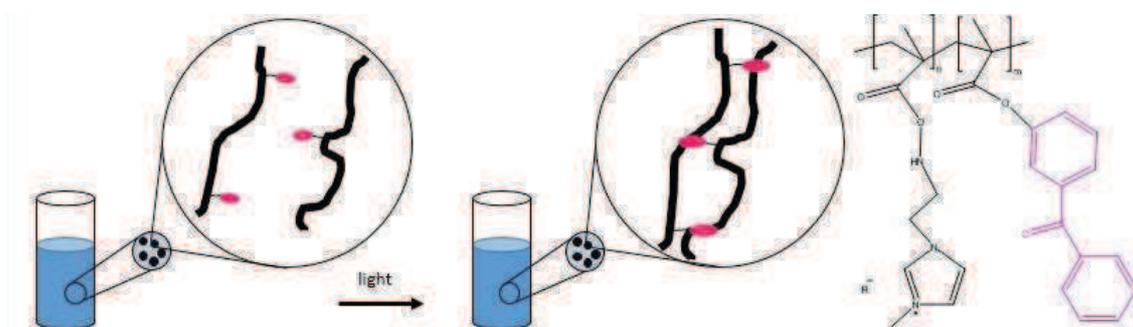


Figura 2. Representación esquemática de reacciones de entrecruzamiento en el confinamiento de las gotas mediante la excitación de unidades de benzofenona por radiación UV.

Finalmente, las partículas poliméricas se hincharán con el líquido iónico sin polimerizar y con catalizador disuelto en él. Una vez formadas las partículas de geles poliméricos y cargadas con catalizador disuelto en líquido iónico se llevará a cabo un análisis de sus propiedades catalíticas en reacciones previamente reportadas, como la hidrosililación del 1-octeno, descrita en la figura 3, usando el catalizador de Karstedt disuelto en bis (trifluorometilsulfonil) imida 1 - butil - 3 metilimidazolio.



Figura 14. Hidrosililación de 1-octeno con catalizador de platino.

Resultados

En esta primera etapa se llevó a cabo la síntesis de metacrilato de pentafluorofenilo, que será nuestro monómero activo, el grupo pentafluorofenolico será sustituido por un líquido iónico con un grupo amino en su estructura. En la figura 4 se muestra el espectro RMN de ^{19}F del compuesto sintetizado en el laboratorio, que corresponde fielmente al reportado en la literatura (6), lo que corrobora que se obtuvo el compuesto puro deseado.

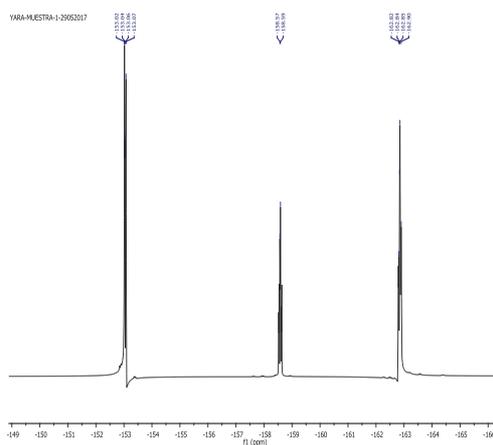


Figura 4. Espectro RMN de ^{19}F de metacrilato de pentafluorofenilo en CDCl_3 .

Conclusiones

En el presente proyecto se propone la formación de soportes poliméricos con composición estructural finamente diseñada con la finalidad de maximizar las interacciones interfaciales entre el líquido iónico y el soporte, de esta manera se pretende crear partículas de geles poliméricos con capacidad de retención superior a los soportes convencionales. Mediante el uso de la técnica de polimerización controlada RAFT se polimerizarán unidades de ésteres activos, las cadenas poliméricas serán posteriormente funcionalizadas con líquidos iónicos, los cuales serán anclados en cada una de dichas unidades poliméricas. Los soportes de líquidos iónicos polimerizados habilitarán el uso de la catálisis SILP en reacciones en fase líquida. En esta primera parte se sintetizó exitosamente el metacrilato de pentafluorofenilo que será utilizado como monómero activo en la polimerización controlada RAFT.

Bibliografía

- [1] Werner, S.; Haumann, M.; Wasserscheid, P. (2010) "Ionic liquids in chemical engineering" *Annual review of chemical and biomolecular engineering*, (1), 203–230.
- [2] Wilkes, J. S.; Wasserscheid, P.; Welton, T. (2007) "Ionic Liquids in Synthesis. In *Ionic Liquids in Synthesis*; Wasserscheid, P., Welton, T." Eds.; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, Germany. pp 1–6.
- [3] Steinrück, H.-P.; Wasserscheid, P. (2015) "Ionic Liquids in Catalysis" *Catal Lett*, (1), 380–397.
- [4] Riisager, A.; Fehrmann, R.; Haumann, M.; Wasserscheid, P. (2006) "Supported Ionic Liquid Phase (SILP) Catalysis: An Innovative Concept for Homogeneous Catalysis in Continuous Fixed-Bed Reactors" *Eur. J. Inorg. Chem.* (4), 695–706.
- [5] Riisager, A.; Fehrmann, R.; Haumann, M.; Wasserscheid, P. (2006) "Supported ionic liquids: Versatile reaction and separation media" *Top Catal.* (40) 91–102.
- [6] M. Eberhardt, R. Mruk, R. Zentel, P. Theato (2005) "Synthesis of pentafluorophenyl (meth)acrylate polymers: New precursor polymers for the synthesis of multifunctional materials" *European Polymer Journal* (41) 1569-1575.

ESTUDIO ESTRUCTURAL Y MECÁNICO DE UNA MATRIZ ELASTÓMERICA DE POLIDIMETILSILOXANO (PDMS) OBTENIDA MEDIANTE RADIÓLISIS GAMMA DE ALTA DOSIS

Miguel Meléndez-Zamudio^a, Antonio Villegas^a, Amir Gonzalez-Calderón^{a}, Rodrigo Meléndrez^b, Miguel Meléndez-Lira^{c*} y Jorge Cervantes^a*

^a Departamento de Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Campus Guanajuato. Guanajuato, Gto., C.P. 36050, MÉXICO. E-mail: ma.melendezzamudio@ugto.mx.

^{a*} Estancia Posdoctoral en la Universidad de Guanajuato.

^b Departamento de Física, Cuerpo Académico de Física de Irradiaciones, Universidad de Sonora. Hermosillo, Son., C.P. 83000, MÉXICO.

^c Instituto de Ingeniería y Tecnología, Departamento de Física y Matemáticas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Ciudad Juárez, Chih., C.P. 32310, MÉXICO.

^{c*} En estancia sabática del departamento de Física, CINVESTAV-IPN.

Resumen

Los polisiloxanos son polímeros inorgánicos que tienen amplia aplicación en diferentes áreas, una de las áreas de interés es la síntesis de composites, en la cual estos polímeros son generalmente utilizados como matriz. El objetivo de este proyecto es la formación de un composite integrado por una matriz elastómerica de polidimetilsiloxano (PDMS) y un polímero conductor, polianilina (PANI) como carga. Las matrices de PDMS son obtenidas a partir de radiólisis gamma a diferentes dosis (250, 300, 350 y 400 kGy) en moldes de PE a temperatura ambiente, obteniéndose morfologías elastoméricas. El valor de la densidad de entrecruzamiento está directamente correlacionado con las propiedades mecánicas de los elastómeros, por ello la ecuación de Flory-Rehner es utilizada para obtener dichos valores, estos resultados son correlacionados con la caracterización mecánica y térmica realizada mediante DMA, DSC y TGA. Los elastómeros generados muestran una interesante propiedad, al ser calentados estos tienden a expandirse e incrementar su rigidez, este incremento muestra una dependencia directa con el valor de la densidad de entrecruzamiento y la temperatura, mientras que en el enfriamiento estos tienden a recuperar su forma original. Esta interesante propiedad puede ser potencialmente aplicada en la fabricación de músculos artificiales, así como de implantes.

Palabras Clave: *Polidimetilsiloxano, radiación gamma, elastómero, densidad de entrecruzamiento.*

Introducción.

Los polisiloxanos son polímeros inorgánicos, que poseen buenas propiedades mecánicas, resistencia a la radiación UV, alta flexibilidad, resistencia a los ácidos, además de biocompatibilidad[1]. Muchas de estas propiedades son originadas por la naturaleza del enlace siloxano, el cual es responsable de las propiedades químicas y físicas que los distinguen[1],

siendo una de estas la facilidad con la que pueden ser transformados en redes tridimensionales por medio de reacciones de entrecruzamiento, ya sea por métodos químicos convencionales o por medio de química de radiación, para obtener estructuras elastoméricas. La química de radiación de materiales poliméricos, es de gran interés debido a que da lugar a modificaciones estructurales de forma sencilla y sin necesidad de agregar aditivos[2], además permite el desarrollo de propiedades físicas diferentes a sus análogos generados a partir de métodos químicos. La síntesis mediante métodos de radiación consiste en la radiólisis de dichas cadenas con radiación de diferentes naturalezas, los rayos de e^- y la radiación gamma. Esta última es la que se empleará para llevar a cabo la formación del elastómero de PDMS, el cual posteriormente será integrado como matriz dentro de un material compuesto y que tendrá como carga PANI.

Metodología.

El PDMS-OH irradiado posee un peso molecular de 35 kDa, este fue obtenido de Sigma-Aldrich. Los recipientes en los cuales el PDMS-OH fue irradiado fueron elaborados de polietileno (PE), con forma de prisma rectangular, esto con el fin de ser utilizadas en pruebas posteriores. La irradiación se llevó a cabo en un equipo Gammacell-220 Excel de MDS Nordion con una fuente ^{60}Co y una rapidez de dosis de 3.132 kGy/h, ubicado en las instalaciones del laboratorio de Física de Radiaciones de la Universidad de Sonora. Las dosis y los tiempos de irradiación empleados fueron los siguientes (Tabla 1).

Tabla 1. Dosis y tiempos de Irradiación de las Muestras de PDMS-OH

MUESTRA	DOSIS (kGy)	TIEMPO DE IRRADIACIÓN (h)
PDMS-250	250	80
PDMS-300	300	96
PDMS-350	350	112
PDMS-400	400	144

Resultados.

Las muestras de PDMS irradiadas fueron desmoldadas, observándose de inmediato que presentan una morfología elastomérica. Al tacto, la muestra que fue irradiada a una dosis de 250 kGy resulto ser más suave, mientras que la muestra que fue irradiada a dosis de 400 kGy fue más rígida, lo cual fue un efecto esperado, ya que conforme se aumenta la dosis de radiación se presenta un efecto directo en la densidad de entrecruzamiento, por ello resulta importante cuantificar esta densidad. Esta puede ser calculada utilizando la ecuación de Flory-Rehner[3]. En la Figura 1, se muestra la variación de la densidad de entrecruzamiento (n^{FR}) y el peso molecular

promedio de la cadena activa (M_c), ambas con respecto a la dosis irradiada, resultados obtenidos a partir de la ecuación de Flory-Rehner.

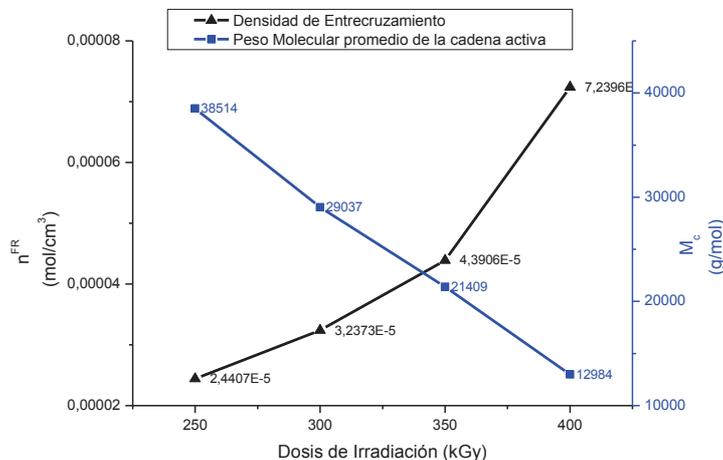


Figura 1. Cambio de n^{FR} y M_c con respecto a la dosis y irradiada.

Tabla 1. Interpretación de los espectros de RMN de ^{29}Si en sólido

Desplazamiento Químico (ppm)	Estructura asignada	Unidades
-12.6		Grupos D adyacentes a los entrecruzamientos
-22.4		Grupos D de la cadena principal
-29.1		Grupos *D ^{CH2R} (Entrecruzamientos Tipo-H)
-57.0		Grupos D ^{OH}
-67.4		Grupos *T (Entrecruzamientos Tipo-Y)

De la figura anterior es posible observar un aumento en la densidad de entrecruzamiento con el aumento en la dosis da la radiación, en adición se observó una disminución en el peso molecular promedio del segmento de cadena libre que se encuentra entre los puntos de entrecruzamiento. Los resultados anteriores son congruentes con el cambio en la rigidez que se observa para las muestras, ya que con cadenas largas se espera estructuras elastoméricas suaves, mientras que con cadenas cortas se generan estructuras elastoméricas rígidas. Estructuralmente las muestras están compuestas por entrecruzamientos del tipo -Si-CH₂-Si- (tipo-H) y -Si-O-Si- (tipo-Y)[4], los cuales pueden

ser observados en la Tabla 1 que corresponde a las señales del espectro de RMN de ^{29}Si en sólido (los gráficos son omitidos) obtenido para cada una de las muestras.

Como se observa en la tabla 1, se pueden identificar desplazamientos químicos a -29.1 ppm correspondientes a entrecruzamientos del tipo-H y desplazamientos químicos a -67.4 ppm a entrecruzamiento del tipo-Y (estructuras tipo T). Una señal poco esperada es la correspondiente a -57.0 ppm que corresponde a estructuras del tipo D^{OH} , estas estructuras son producidas por el ataque del radical peróxido, formado por la irradiación γ del oxígeno, a los radicales metilenos (explicado por el mecanismo de St. Pierre[5]), al ser formados estos funcionan como precursores de los entrecruzamientos tipo-Y (siloxano) y así contribuir a la población total de entrecruzamientos de tipo siloxano, en adición las señales correspondientes a los grupos D^{OH} y los grupos T, aumentan con el incremento de la dosis γ irradiada. Por otra parte, las propiedades mecánicas de las muestras fueron caracterizadas mediante DMA (los gráficos son omitidos), observándose un aumento del módulo de almacenamiento conforme hay un aumento en la densidad de entrecruzamiento, entre más puntos de entrecruzamiento se presentan la rigidez de la muestra es mayor, es probable que esto también esté relacionado con el tamaño de cadena, por lo que las cadenas pequeñas tienden a rigidizar la estructura, en adición, es posible observar un efecto termoresponsivo[6] por parte de las muestras debido a que se observa un aumento del módulo de almacenamiento con la temperatura, atribuido a un cambio conformacional de la cadena siloxano de all-trans a guache. Es posible también identificar este efecto en los termogramas de DSC, debido a que en el calentamiento se observó un proceso exotérmico debido a la liberación de energía al cambiar la conformación de la cadena, mientras que en el enfriamiento se observó un proceso endotérmico que es debido al re-acomodo de la cadena a un estado menos energético. Debido a lo anterior el material, ha sido considerado como un potencial material con cambio de forma (SCP por sus siglas en inglés)[7,8].

Conclusiones

Las dosis de irradiación gamma a las que fueron expuestas las muestras de PDMS-OH permitieron generar elastómeros con diferentes grados de entrecruzamiento. Se observó que conforme se aumentó la dosis de irradiación originó un aumento en la densidad de entrecruzamiento, así como una disminución del tamaño de la cadena activa, lo cual se puede ver reflejado en la rigidez que presentan los elastómeros. Las especies que integran los entrecruzamientos corresponden al tipo-Y (en mayor proporción debido a la atmósfera en la cual se llevó a cabo la irradiación) y al tipo H. En adición, el material sintetizado mostró propiedades termoresponsivas, probablemente como consecuencia del cambio de la conformación debido a la temperatura.

Bibliografía

- [1] R. Jaeger, M. Gleria, "*Inorganic Polymers*", First Ed, Nova Science Publisher, Inc., New York, USA, 2007.
- [2] H. Kausch, ed., "*Radiation Effects on Polymers for Biological Use*", First Ed, Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, 2003. doi:10.1080/01422419908228843.
- [3] A.M. Stricher, R.G. Rinaldi, C. Barrès, F. Ganachaud, L. Chazeau, "*How I met your elastomers: from network topology to mechanical behaviours of conventional silicone materials*", RSC Adv. 5 (2015) 53713–53725. doi:10.1039/C5RA06965C.
- [4] D.J.T. Hill, C.M.L. Preston, D.J. Salisbury, A.K. Whittaker, "*Molecular weight changes and scission and crosslinking in poly(dimethyl siloxane) on gamma radiolysis*", Radiat. Phys. Chem. 62 (2001) 11–17. doi:10.1016/S0969-806X(01)00416-9.
- [5] L.E. St. Pierre, H.A. Dewhurst, "*The effect of oxygen on the radiolysis of silicones*", J. Phys. Chem. 64 (1960) 1060–1062. doi:10.1021/j100837a024.
- [6] S.J. Clarson, J.A. Semlyen, "*Siloxane Polymers*", First Ed, Prentice Hall, USA, 1993.
- [7] A. Lendlein, S. Kelch, "*Shape-Memory Effect From permanent shape*", Angew. Chemie. 41 (2002) 2034–2057.
- [8] M. Meléndez-Zamudio, A. Villegas, J.A. González-Calderón, R. Meléndrez, M. Meléndez-Lira, J. Cervantes, "*Study of a Polydimethylsiloxane (PDMS) Elastomer Generated by γ Irradiation: Correlation Between Properties (Thermal and Mechanical) and Structure (Crosslink Density Value)*", J. Inorg. Organomet. Polym. Mater. 27 (2017) 622–632. doi:10.1007/s10904-017-0503-2.

Total Synthesis of an Analogue of Kealiiquinone

M.C. Velayudham Ramadoss^a, Dr. César Rogelio Solorio Alvarado^a
Dr. Eduardo Báez^a, Dra. Eulalia Ramírez^a

^aDepartamento de Química, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato. Cerro de la Venada s/n, Col. Pueblito de Rocha, CP 36040, Guanajuato, Gto, México.
E-mail: v.ramadoss@ugto.mx, csolorio@ugto.mx

Abstract:

Natural resources have innumerable number of unidentified chemical compounds which has the property to cure many diseases like cancer, diabetics, tuberculosis etc. In this series, “Kealiiquinone” has moderate activity against breast cancer lines which has extracted from a marine sponges of clathrina and leucetta. We have demonstrated the synthesis of Kealiiquinone analogs using 2-nitro aniline as starting material in lab scale. In future, we have been interest to investigate biological study against breast cancer lines of MCF7.

Key words: Natural product, Halogenation, Methylation, Suzuki cross coupling, metal halogen exchange, Quinone ring.

Introduction:

Marine sponges have been a rich and diverse source of a significant amount of natural products.¹ The Kealiiquinone **1** is a marine alkaloid isolated from marine sponges of Clathrina and Leucetta by Scheuer and Clardy in 1990.² The compound of objective **1** has shown anticancer activity ($IC_{50} = 91\mu M$) and cytotoxic with unique mechanism of action based on the inhibition profile into a cancer cell line of MCF7³ using an MTT growth assay, with cisplatin as a positive control (IC_{50} : $19.4\mu M$).⁴ To date, two synthesis were reported⁵, using the key reaction step Friedel-Crafts. Still, the exact product structure is not confirmed and also the need to study the mechanism of activity of Kealiiquinone analogues against cancer cell lines.

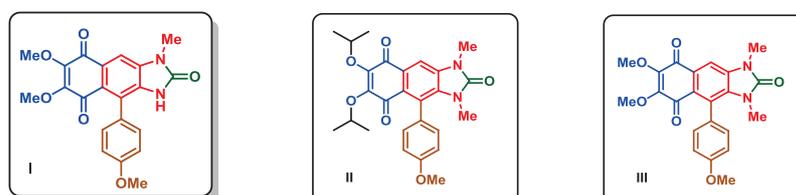


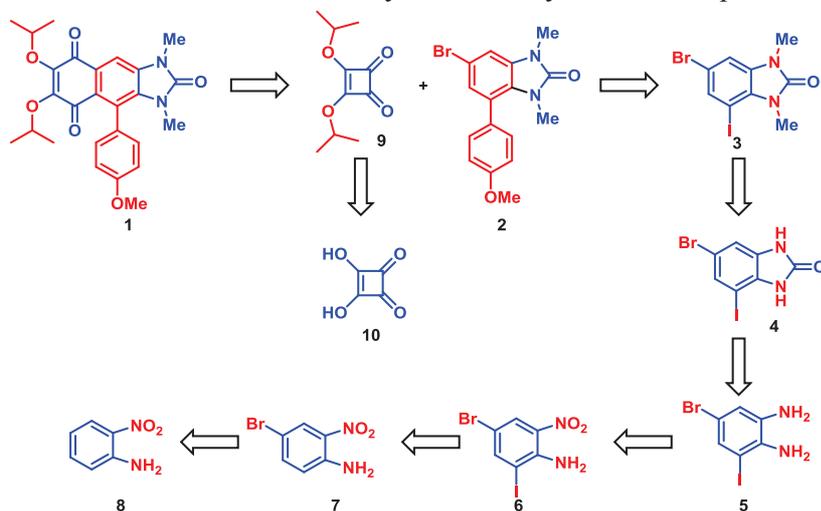
Figure 1. Structure of Kealiiquinone & its analogues

Objective:

In view of the above, we are interested in

- (i) the total synthesis of the target compound of Kealiiquinone **1**
- (ii) preparation of structural analogues of the Kealiiquinone and

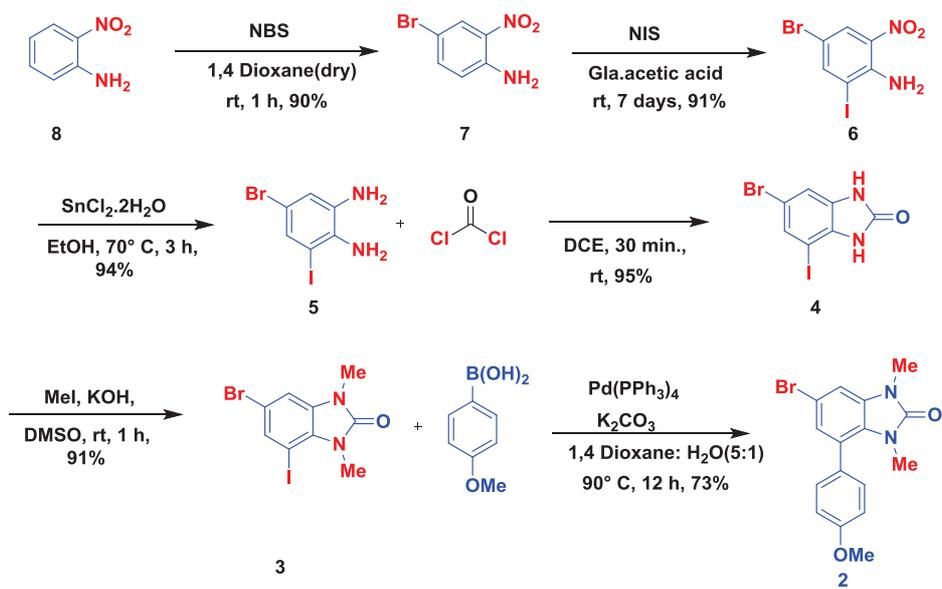
The below mentioned scheme 1 is the retrosynthetic analysis of Kealiiquinone **1**.



Scheme 1. Retrosynthetic analysis.

Results and Discussion:

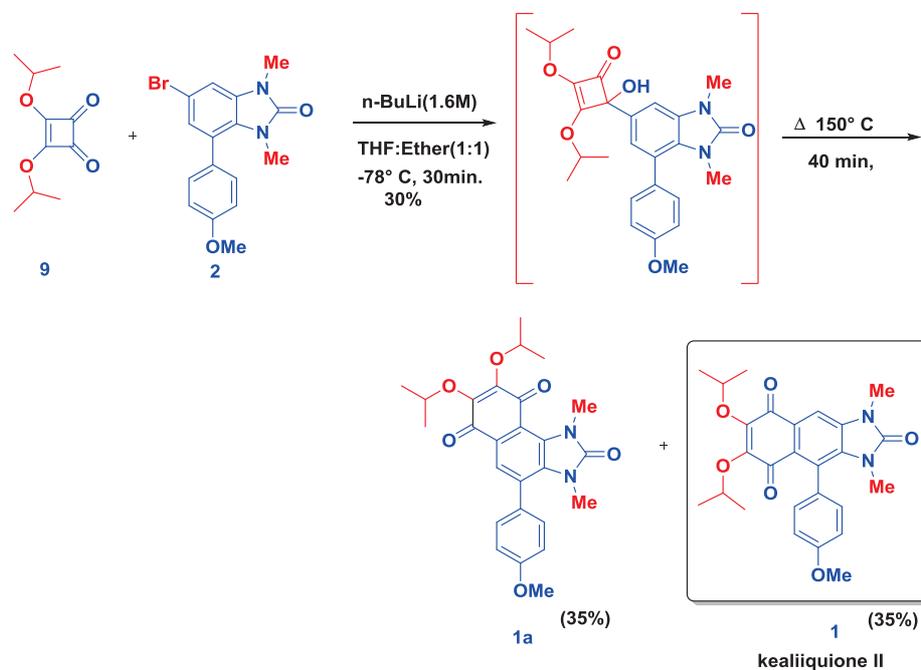
We initiated the synthesis of Kealiiquinone **1** based on our retrosynthetic analysis. For convergent part 1, 2-nitroaniline was brominated⁴ (**7**, 90%), followed by iodination (**6**, 91%) then reduced the nitro group of compound **6** to get **5** in 94%. Using phosgene, compound **5** was cyclized (**4**, 95%), then methylated (**3**, 91%) followed by Suzuki coupling with 4-methoxy phenylboronic acid (**2**, 73%). For convergent part 2 (Ec **1**), isopropyl squarate (**9**, 60%) was prepared using squaric acid **10**.



Scheme 2. Synthesis of convergent part 1 of kealiquinone.



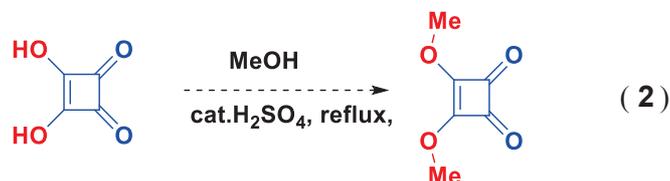
Isopropyl squarate **9** undergoes 1,2-addition after metal halogen reaction with compound **2** to yield 30% adduct of squarate. This adduct undergoes thermolysis to yield the analogue of Kealiiquinone **II** and **1a** (Scheme 4).



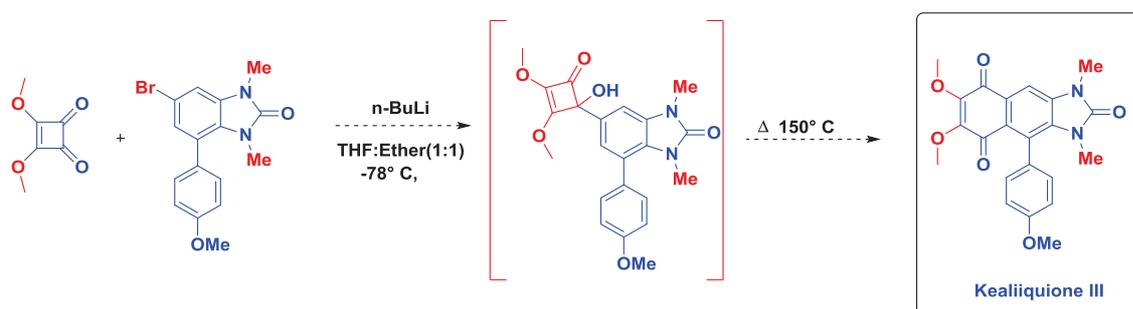
Scheme 4: Synthesis of analogue of Kealiiquinone II.

Synthesis of Kealiiquinone III:

We have not yet synthesized the analogue of Kealiiquinone III but we have planned to synthesize Kealiiquinone III by using the above scheme 2. We will use the same convergent part 1 (compound **2**) as used for the synthesis of Kealiiquinone II. We have to prepare the convergent part 2 of methyl squarate by adding methanol to squaric acid instead of isopropanol (Eq. 2).



Finally, we have to do a metal halogen reaction using convergent part 1 (compound **2**) and convergent part 2 of methyl squarate to obtain Kealiiquinone III (Scheme 6).



Scheme 6: Synthesis of Kealiquinone III.

Conclusion:

We have made a good progress in the total synthesis of analogue of kealiquinone III. In the near future we will describe the total synthesis of natural product kealiquinone and analogue of Kealiquinone II. In future, we have interest to study the activity of Kealiquinone I and its analogues Kealiquinone II & III against breast cancer cell line MFC7 also we have plan to extend the biological study against all types of cancer cell lines.

References:

1. Morris, J. C.; Phillips, A. J. *Nat. Prod. Rep.*, **2011**, *28*, 269-289.
2. Akee, R. K.; Carrol, T. T.; Yoshida, W. Y.; Scheuer, P.; Stout, T. J.; Clardy, J. *J. Org. Chem.*, **1990**, *55*, 1944-1946.
3. Nakamura, S.; Tsuno, N.; Yamashita, M.; Kawasaki, I.; Otha, S.; Ohishi Y. *J. Chem. Soc., Perkin Tans. 1*, **2001**, 429-436.
4. J. Das et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **23** (2013) 6183–6187.
5. Lima, H. M.; Sivappa, R.; Yousufuddin, M.; Lovely, C. *J. Org. Lett.*, **2012**, *14* (9), pp 2274–2277.

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE COMPUESTOS TIPO BASE DE SCHIFF CON POTENCIAL FARMACOLÓGICO Y SUS ACOMPLEJAMIENTO CON IONES METÁLICOS DE TRANSICIÓN

Sandra Paulina Coronado Tovar^a, *Maldonado Hdez Uriel*^b, *Andreu de R. Gabriel*^c, *Alvarado Monzón José C.*^{d*}

^a División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, Col. Noria Alta, Guanajuato, Gto. C.P. 36050 MÉXICO.

sp.coronadotovar@ugto.mx

^b Escuela de Nivel Medio Superior de León, Universidad de Guanajuato, Boulevard Hermanos Aldama S/N, San Miguel, 37000 León, Gto. C.P. 37480 MÉXICO.

^c Departamento de Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, Col. Noria Alta, Guanajuato, Gto. C.P. 36050 MÉXICO.

^d Departamento de Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, Col. Noria Alta, Guanajuato, Gto. C.P. 36050 MÉXICO.

Resumen

Los complejos metálicos con Nimesulida y/o derivados funcionalizados resultan de interés ya que parece ocasionar una serie de modificaciones elevando su actividad quimiopreventiva, es por ello que el objetivo de este trabajo fue sintetizar y caracterizar un ligante tipo base de Schiff obtenido a partir de la reacción de condensación del N-(amino-2-fenoxifenil) metano sulfonamida (Nimesulida reducida) con salicilaldehído y su acomplejamiento con Cobre (I) y Zinc (II).

La metodología llevada a cabo fue la extracción a partir de una suspensión comercial y reducción de la nimesulida utilizando Zn/HCl, la formación de la base de Schiff a partir de este compuesto reducido con salicilaldehído y su acomplejamiento con Cobre y Zinc utilizando la técnica Schlenk. Los resultados obtenidos arrojan que al llevar a cabo la caracterización de los intermediarios y el compuesto final; resultan los primeros ser lo esperado mientras que para el complejo de Zinc se aprecian señales que sugieren su acomplejamiento, pero aparece igualmente otras que indican que es llevada a cabo una hidrólisis ácida. Por otra parte, en el espectro de RMN del complejo de Cobre se observa la formación de éste, aunque en baja concentración y en combinación con compuestos precursores. Las presentes reacciones realizadas durante el proyecto sugieren que la formación de los complejos es llevada a cabo, sin embargo, las condiciones de reacción y/o los compuestos de partida no son completamente los adecuados.

Palabras clave: Nimesulida; Base de Schiff; Complejos; Zinc; Cobre

Introducción

Los efectos terapéuticos de los fármacos antiinflamatorios de uso común tales como los AINE (fármacos antiinflamatorios no esteroideos) e inhibidores de la COX-2 están relacionados con la inhibición del sistema de ciclooxigenasa (COX). COX, cataliza el primer paso de biosíntesis de prostanoideos, existe en dos isoformas; COX-1 responsable de la producción fisiológica de prostaglandinas y COX-2, una enzima inducible que se expresa rápidamente en respuesta a varios factores tales como inflamación, factores de crecimiento, citoquinas y promotores de tumores. Los AINE clásicos son inhibidores no selectivos de la COX. Por lo tanto, su uso a largo plazo conduce a los efectos secundarios particularmente ulceración. Después del descubrimiento de la segunda isoforma, COX-2, su inhibición selectiva se considera como un enfoque farmacoterapéutico alternativo, que se dirige a la supresión selectiva de procesos patológicos a una dosis terapéutica sin alterar la producción normal de metabolitos fisiológicamente necesarios del ácido araquidónico.

Una nueva clase de inhibidores de COX-2 que poseen más especificidad enzimática y menos efectos secundarios adversos incluye N-(4-nitro-2-fenoxifenil) metanosulfonamida o nimesulida cuya estructura se muestra en la figura 1, este es un fármacos caracterizado por su acción antiinflamatoria, antipirética y regulatoria del dolor.[1] Estudios recientes han revelado que este tipo de compuestos ejerce un efecto quimiopreventivo contra células tumorales, la complejación de este tipo de fármacos con diferentes iones metálicos de transición parece ocasionar una serie de modificaciones elevando su actividad quimiopreventiva y actuar como un antiproliferativo, además de poseer propiedades bactericidas. Por ello el desarrollo de estudios sobre la formación de complejos metálicos con algunos fármacos como la N-(4-nitro-2-fenoxifenil) metano sulfonamida (Nimesulida reducida) y/o derivados funcionalizados tipo base de Schiff de este compuesto que poseen la capacidad de acomplejar iones resulta de interés por su gran aplicación farmacológica. [2]

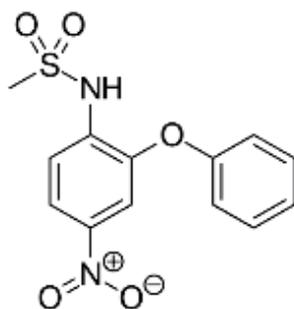


Figura 1. Estructura de la Nimesulida

Metodología

Los reactivos y disolventes utilizados para la presente investigación fueron de la marca SIGMA-ALDRICH o KEM, se usaron sin previa purificación. Algunas reacciones se llevaron a cabo bajo nitrógeno utilizando la técnica Schlenk. Los espectros de IR se registraron en un equipo con Transformada de Fourier marca Bruker modelo Tensor 27 con óptica sellada y desecada. Los espectros de RMN de ^1H , de ^{13}C , ^{31}P , así como los espectros bidimensionales COSY y HSQC, se registraron en un equipo Bruker de 500 MHz en CDCl_3 o CD_3CN con tetrametilsilano (TMS) como estándar interno. Las señales son abreviadas de la siguiente manera: s= singulete; d= doblete; t=triplete, h= heptuplete; m= multiplete.

Extracción de nimesulida

A partir de una suspensión comercial que contiene además alcohol y azúcar centrifugando la mezcla a 4500 rpm tres veces por cinco minutos, enseguida fue filtrada y lavada con agua destilada.

Reducción de la nimesulida

Se adicionó en un matraz balón 1.18mmol (0.3662g) de nimesulida, 3.51mmol (0.2292g) de zinc y 30 ml de acetato de etilo; lentamente se agregaron 1.46ml ml de ácido clorhídrico. Se dejó en agitación hora y media a temperatura ambiente, con el uso de un refrigerante. En seguida fue realizada una extracción a la solución resultante que presentó un tono rojizo con tres lavados de 5 ml de agua, la fase orgánica se concentró en rotavapor a condiciones de 250mbar, 65°C , 280 rpm, fue llevado a sequedad, lavado con una solución de éter-hexanos y finalmente fue llevado a sequedad.

Base de Schiff con Salicilaldehído

En un matraz balón se adicionaron 0.99mmol (0.2759g) de nimesulida reducida, 0.99mmol (0.1209 g) de salicilaldehído y 0.02mmol (0.0035g) de ácido p-toluensulfónico y 20 ml de etanol; fue dejado en agitación durante dos horas a temperatura ambiente resultando una solución amarillenta.

Formación del complejo de Cobre

En un tubo Schlenk se adicionaron 0.72mmol (0.0357g) de la base de Schiff, 0.72mmol (0.6569g) de Tris Trifenilfosfina nitrato de Cobre I y 15 ml de acetonitrilo; la reacción fue llevada a cabo bajo atmosfera de nitrógeno por 5 horas a temperatura ambiente resultando una solución anaranjada al inicio de la reacción y finalizando con una coloración amarillenta y un precipitado de color amarillo canario; la solución es filtrada, el líquido es llevado a sequedad y el precipitado se lava con éter y hexanos.

Formación del complejo de Zinc

En un matraz balón se adicionaron 0.72mmol (0.1621g) de bromuro de zinc en 10ml de etanol y en un vaso de precipitados se adicionaron 0.72mmol (0.0357g) de la base de Schiff, 0.72mmol (0.0729g) de trietilamina y 10 ml de etanol. La segunda solución fue agregada lentamente a la primera; la reacción fue llevada por 12 horas en agitación a temperatura ambiente resultando una solución de color café oscuro, enseguida se evaporó en el rotavapor a condiciones de 250mbar, 70°C, 280 rpm y llevada a sequedad. El producto resultante fue lavado con éter y hexanos, luego de esto se observaron pequeños sólidos rojizos.

Se adicionó éter seco y se dejó en agitación durante 12 horas, al finalizar fue decantado y llevado a sequedad.

Resultados

Se encontró que la ruta llevada a cabo con Zn/HCl para la reducción de la Nimesulida resulta conveniente en rendimiento y tiempos de reacción. La síntesis de los ligantes tipo base de Schiff fue adecuada y nos permitió obtener los compuestos para así caracterizarlos. En la figura 2 se muestra el espectro de IR y RMN correspondientes a BS1.

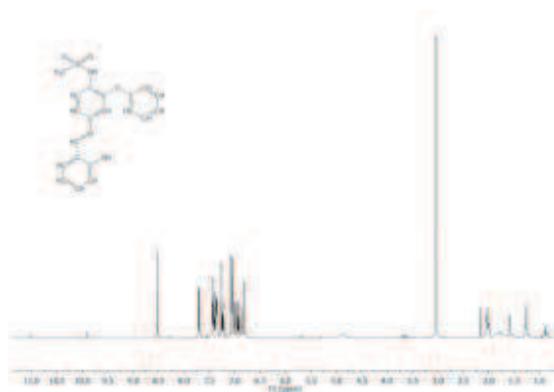


Figura 2. Espectro de RMN ¹H correspondiente a BS1.

Los desplazamientos observados en el espectro de RMN ¹H de BS1 para la señal de NH es apreciada a 9.9 ppm a diferencia del observado en la nimesulida reducida (cuyo espectro RMN ¹H se presenta en la figura 3) a 7.3 ppm; Además otra dos señal presente en el espectro de BS1 que sugieren su formación es la desaparición de la señal a 1.5 ppm y la aparición de otra en 3.0 ppm correspondientes al NH₂ y OH respectivamente.

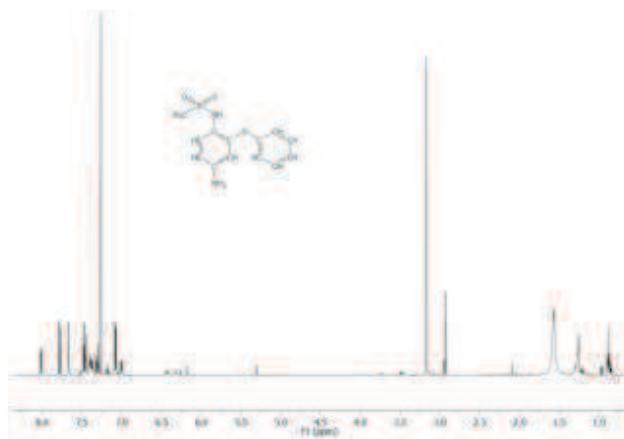


Figura 3. Espectro RMN ¹H correspondiente a la nimesulida reducida.

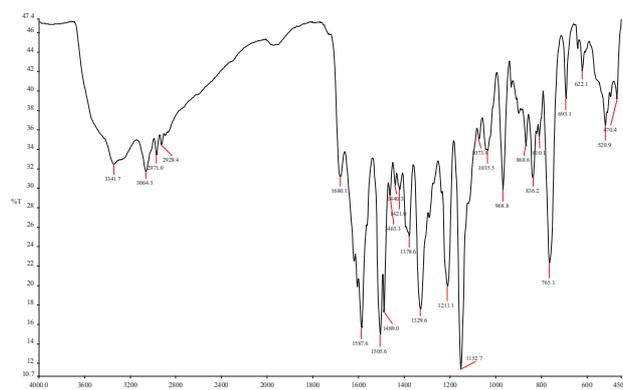


Figura 4. Espectro de IR correspondiente a BS2.

El compuesto BS2 fue insoluble en la mayoría de los solventes por lo que no se continuó el trabajo con el mismo para la formación de los complejos sin embargo se analizó su espectro de IR mostrado en la figura 4.

Se obtuvieron los espectros de RMN de los complejos con el fin de identificar los sitios de coordinación de BSI a Cu(I) y Zn (II). Los espectros se analizaron por comparación con los espectros de RMN de BS1 y la nimesulida reducida.

En el espectro BS1-Cu, se observa dos pares de señal, las primeras a ppm y ppm correspondientes a la señal de CH₃ y NH respectivamente mientras que el otro par presenta señales a ppm y ppm para los mismos grupos antes mencionados sugiriendo que se encuentran dos tipos de compuestos por lo que se concluye que el desplazamiento es debido a la formación del complejo

El espectro de RMN de ¹H de BS1-Zn muestra señales similares al espectro de la nimesulida reducida y a la base de schiff sin acomplejar, aunque ligeramente desplazadas lo cual podría sugerir que existe la formación del compuesto en pequeñas concentraciones. Además, es observada una señal a ppm correspondiente al aldehído precursor de la base.

Los espectros obtenidos para BS1-Cu y BS1-Zn se presentan en la Fig. 5

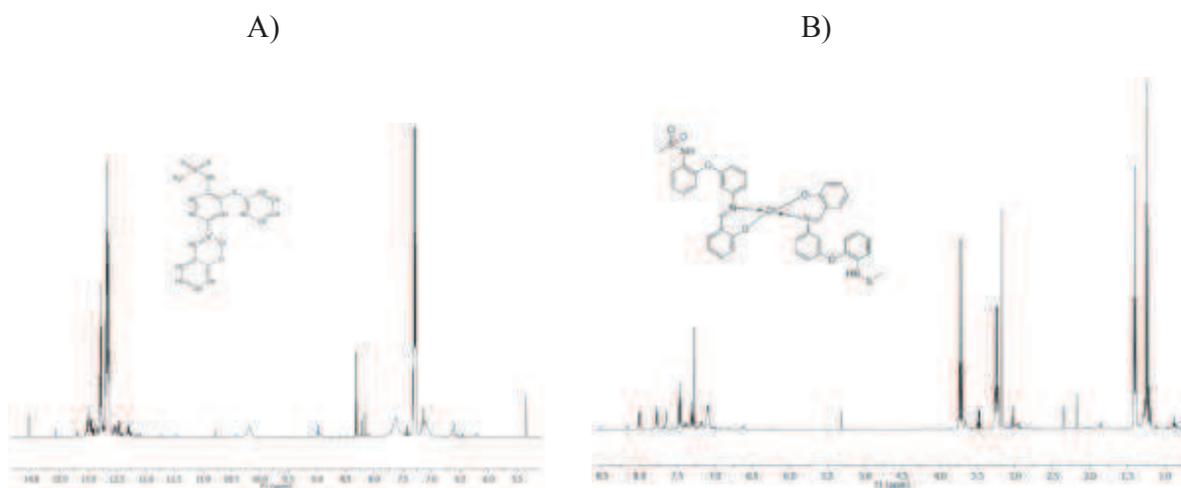


Figura 5. Espectros de RMN ¹H correspondientes a: A) BS1-Cu y B) Espectro de RMN ¹H correspondiente a BS1-Zn.

Al llevar a cabo la caracterización de los intermediarios y el compuesto final; resultan los primeros ser lo esperado mientras que para el complejo de Zinc se aprecian señales que sugieren su acomplejamiento pero aparece igualmente otras que indican que es llevada a cabo una hidrólisis ácida al observarse una señal correspondiente al protón del aldehído. Por otra parte, en el espectro de RMN del complejo de Cobre se observa la formación de éste aunque en baja concentración y en combinación con compuestos precursores.

Conclusiones

Las presentes reacciones realizadas durante el proyecto sugieren que la formación de los complejos es llevada a cabo, sin embargo, las condiciones de reacción y/o los compuestos de partida no son completamente los adecuados. Se continuará trabajando para encontrar las condiciones idóneas y así poder llevar a cabo las pruebas biológicas in-vitro como cultivos celulares para comprobar el potencial farmacológico del mismo.

Bibliografía

[1] Sandhya Pericherla, Jyoti Mareddy, Geetha Rani D. P., Padmavathi V. Gollapudi and Sarbani Pal (2007). Chemical Modifications of Nimesulide. *J. Braz. Chem. Soc.*, 18(2), 384-390

[2] Davis, R. & Brogden, R.N. (1994). "Nimesulide. An Update of its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties, and Therapeutic Efficacy", *Drugs*, 48,(3), 431–454. Recuperado de <https://link.springer.com/article/10.2165/00003495-199448030-00008>

DEGRADACIÓN FOTOCATALÍTICA DEL 2,4,6-TRICLOROFENOL EN MEDIO ACUOSO UTILIZANDO PRECURSORES TIPO-HIDROTALCITA MgFe TÉRMICAMENTE ACTIVADOS

José Héctor Guadalupe Mojica Calvillo^a,

Esthela Ramos Ramírez^a, Francisco Javier Tzompantzi Morales^b, Claudia Martínez Gómez^a

^a Departamento de Química, Universidad de Guanajuato, Noria Alta s/n, Guanajuato, Guanajuato CP 36050, MÉXICO, ^b Departamento de Química, Ecocat, Av. San Rafael Atlixco #186, Iztapalapa, Ciudad de México CP 09340, MÉXICO

Resumen

El 2,4,6-Triclorofenol es un contaminante encontrado generalmente en los efluentes de la industria del papel. El enlace C-Cl y la posición de los átomos de cloro relativa al grupo hidroxilo le confiere su toxicidad, propiedades carcinogénicas y su persistencia en el ambiente. La degradación fotocatalítica es una alternativa viable para la mineralización de este compuesto. Los materiales tipo-hidrotalcita son una buena opción para generar los catalizadores usados en este proceso. Tres materiales con composición variable MgFe fueron sintetizados por coprecipitación, caracterizados por difracción de rayos-X, análisis termogravimétrico y térmico diferencial, espectroscopías de infrarrojo y reflectancia difusa, fisisorción de N₂ y espectroscopía de energía dispersiva de rayos-X. Las pruebas fotocatalíticas consistieron en degradar una solución de 100ppm de 2,4,6-TCP con 200mg de catalizador, la reacción fue monitoreada por espectroscopía de ultravioleta-visible siguiendo la longitud de onda de absorción característica del contaminante. Pruebas de fotólisis, así como utilizando TiO₂-P25 se realizaron como referencia. Las pruebas muestran buenas propiedades fotocatalíticas con un incremento en la eficiencia en el siguiente orden: HTM2F1>HTM3F1>HTM1F1 alcanzando porcentajes de degradación con relación Mg/Fe de 2,3 y 1 de 92.7,92.2 y 88.9% en tres horas.

Palabras Clave:

Fotocatálisis, Hidrotalcitas, 2,4,6-Triclorofenol, Fotodegradación, Coprecipitación

Introducción

El consumo de papel en el mundo se ha incrementado en un 50% durante la última década [1]. La industria de papel es un negocio creciente con cerca de 5000 fábricas de pulpa y papel alrededor del mundo produciendo casi 400 millones de toneladas anualmente [2]. Históricamente, la industria del papel ha sido considerada como el mayor consumidor de recursos naturales (madera, agua) y energía (combustibles fósiles, electricidad) [1]. La producción de papel emplea grandes cantidades de agua y está clasificada en el tercer lugar, justo después de la extracción primaria de metales y la industria química, en términos de utilización de agua dulce del planeta [3] ya que incluso con las más modernas y eficientes técnicas de operación, alrededor de 60m³ de agua son requeridos para producir una tonelada de papel, resultando así en la generación de grandes volúmenes de agua residual [1]. De las diferentes corrientes de desechos, los efluentes de las

plantas de blanqueamiento son las más tóxicas debido a varios compuestos orgánicos clorados generados durante el blanqueamiento de la pulpa [4]. De entre todos ellos los clorofenoles constituyen una importante categoría de contaminantes en sistemas acuáticos que no son fácilmente biodegradables [5], estos compuestos son muy persistentes, parcialmente biodegradables y no sufren fotólisis directa de los rayos solares; consecuentemente se acumulan en el medio ambiente [6]. Dentro de las diferentes metodologías para la eliminación de estos compuestos se encuentran la adsorción con carbón activado, los tratamientos biológicos aerobios y anaerobios o la degradación mediante oxidación química que no son lo bastante rápidos, su utilización conlleva al uso de moléculas inestables, su alto costo de producción y operación o confinamiento de los materiales adsorbentes [7]. La degradación fotocatalítica de fenoles y compuestos clorofenólicos es una alternativa viable para mineralizar estos compuestos [8] empleando catalizadores sólidos semiconductores, generalmente del tipo óxidos simples o mixtos [7]. En años recientes, en la búsqueda de nuevos materiales asequibles y amigables con el ambiente, los hidróxidos dobles laminares han atraído considerablemente la atención como una buena alternativa para la fotodegradación de compuestos orgánicos [9]. Estos materiales también llamados hidrotalcitas son arcillas aniónicas cuya estructura consiste en láminas de fórmula estructural $[M(II)_{1-x}M(III)_x(OH)_2][A_{x/n}^{n-}]mH_2O$, donde M(II) y M(III) son los cationes metálicos de las láminas y A^- son los aniones interlaminares [7]. Los hidróxidos dobles laminares han sido empleados como catalizadores, precursores catalíticos y como soportes en una gran variedad de reacciones químicas; la calcinación de estos compuestos genera óxidos mixtos con altas áreas específicas, excelentes propiedades básicas y una estabilidad estructural, teniendo además otras ventajas sobre otros materiales para la aplicación en la remediación del medio ambiente ya que son no tóxicos, baratos y fáciles de preparar [8]. Los hidróxidos dobles laminares han sido usados en un amplio rango de aplicaciones tecnológicas como adsorbentes, agentes antiácidos, compositos híbridos, retardantes de flama y aditivos del PVC [9]. En este trabajo se muestran los resultados obtenidos al emplear hidrotalcitas obtenidas por coprecipitación de varias relaciones molares Mg/Fe tratadas térmicamente a 400°C como catalizadores en la degradación fotocatalítica de 100 ppm de 2,4,6-triclorofenol en fase acuosa empleando radiación ultravioleta como fuente de luz. Los materiales sintetizados fueron caracterizados por difracción de rayos-X, análisis termogravimétrico (TGA), análisis térmico diferencial (DTA), espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR), espectroscopía de reflectancia difusa, fisisorción de nitrógeno y microscopia electrónica de barrido con energía dispersiva de rayos-X (SEM-EDS).

Metodología

Síntesis: Las hidrotalcitas con diferente relación molar Mg/Fe (1, 2 y 3) se obtuvieron disolviendo en agua las cantidades estequiométricas de nitrato de magnesio y nitrato férrico, la mezcla se mantuvo en agitación mecánica constante a temperatura ambiente, se ajustó la velocidad de adición de los reactivos para conservar el pH altamente básico, se separó el producto obtenido por filtración, se realizaron lavados con agua destilada y se secó a 100°C.

Caracterización: Los materiales preparados se identificaron de la siguiente manera: HTM1F1, HTM2F1 y HTM3F1 de acuerdo con las relaciones molares de 1, 2 y 3 respectivamente. Los materiales se caracterizaron fisicoquímicamente tanto frescos como calcinados. Para corroborar la fase presente se realizó Difracción de Rayos-X en un difractor de polvos Siemens D500 con radiación $\text{CuK}\alpha$, un monocromador de cristal de grafito con un paso de 2θ igual a 0.02s^{-1} y un tiempo de conteo de 9s por punto. Asumiendo un empaquetamiento hexagonal, los parámetros de celda fueron calculados con las ecuaciones $c=3d_{003}$ y $a=2d_{110}$. Los tamaños de cristalito se calcularon la ecuación de Scherrer. Los análisis térmicos se llevaron a cabo en un Termoanalizador TA Instruments a una velocidad de calentamiento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$ en atmósfera de aire a una velocidad de $100\text{mL}/\text{min}$ y utilizando α -alúmina como referencia. Las isothermas de adsorción-desorción de nitrógeno se determinaron en un equipo TriStar Micromeritics, con las muestras previamente secadas a 100°C por 24 horas, con una desgasificación a 150°C y una presión de vacío hasta 0.5mmHg , se empleó el ajuste al Modelo de BET para obtener el área específica. La energía de banda prohibida de los fotocatalizadores se calculó a partir de los espectros de absorción de ultravioleta acoplado a una esfera de integración (reflectancia difusa) en un equipo UV-Vis Recording S UV2401Shimadzu y utilizando la teoría de Kubelka-Munk que consiste en graficar la energía del fotón contra la raíz cuadrada de la función de Kubelka-Munk multiplicada por la energía del fotón y extrapolando la parte lineal con el eje de las abscisas. Los espectros de infrarrojo con transformada de Fourier fueron obtenidos en un equipo Bruker modelo TENSOR 27HYPERION7000 con una resolución de 4cm^{-1} y 20scans, de 400 a 4000cm^{-1} y las muestras se prepararon por dilución con KBr. El análisis por microscopía electrónica de barrido se realizó en un Microscopio SEIZZ 1550VP con emisión de campo con un equipo Oxford EDS con una apertura de $30.0\mu\text{m}$ y un ancho de 3.1mm .

Actividad de Fotodegradación: Las pruebas de desempeño de los fotocatalizadores fueron llevadas a cabo en un reactor tipo batch a temperatura ambiente con agitación magnética continua, un flujo de aire estandarizado a $2\text{mL}/\text{min}$ y 200mg de catalizador. Una solución de 100ppm de 2,4,6-Triclorofenol (Aldrich) se irradió con una lámpara UV-Lamp-Pen-Ray (UVP) de una radiación de 254nm y emisión de $2.5\text{mW}/\text{cm}^2$, colocada en un tubo de cuarzo, sumergido en la solución. La temperatura se estabilizó a 25°C con recirculación de agua conectado a la camisa exterior del reactor. El procedimiento general de la reacción fue el siguiente: la solución de 2,4,6-triclorofenol con catalizador se agitó en oscuridad (luz UV-Off) durante 1 hora y se tomó una muestra para verificar la adsorción de la molécula, posteriormente se irradió con la luz UV y el progreso de la reacción se siguió hasta la desaparición del 2,4,6-triclorofenol en función del tiempo usando un espectrofotómetro de UV-Vis siguiendo la longitud de onda característica ($\lambda=310.5\text{nm}$), se tomaron las muestras usando un filtro de nylon. Para un análisis comparativo, pruebas de fotólisis y estudios de fotodegradación empleando $\text{TiO}_2\text{-P25}$ como catalizador de referencia, se llevaron a cabo bajo las mismas condiciones que para los catalizadores sintetizados.

Resultados: Los patrones de difracción se observan en la Figura 1 y en la Tabla 1 se muestran los valores de los parámetros de red, así como el tamaño de cristalito de los materiales, los tres materiales muestran la fase tipo hidrotalcita, las reflexiones [0 0 1] presentan una secuencia relativamente simétrica indicando un alto orden de empaquetamiento en las láminas tipo brucita [10]. El parámetro de la celda a , que indica la distancia entre dos cationes adyacentes dentro de la lámina hidroxilada, decrece conforme la cantidad de aluminio aumenta, debido a que el radio iónico del catión trivalente es mucho menor que el del magnesio; el parámetro de celda c disminuye a bajas relaciones molares M(II)/M(III). Este hecho puede deberse a un incremento en la densidad de carga de la lámina con la adición de Fe^{3+} . Como para los parámetros de red, el tamaño de cristalito de los materiales sintetizados es directamente proporcional a la relación molar M(II)/M(III), así un decremento en la cantidad de hierro en la muestra, se disminuye el tamaño [9].

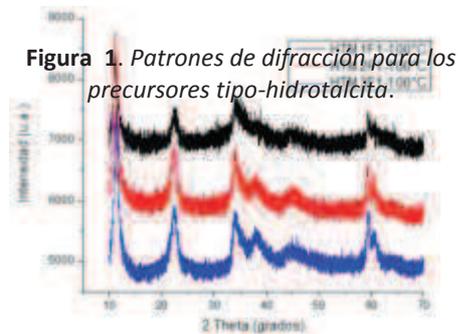


Tabla 1. Parámetros de celda y tamaño de cristalito para los precursores tipo hidrotalcita

Precursor	Planos	2θ	Distancia Interplanar	Parámetro		Tamaño de Cristalito
				a	c	
HTM1F1	[1 1 0]	59.4	1.5559	3.1118	23.8057	115.7
	[0 0 3]	11.15	7.9352			
HTM2F1	[1 1 0]	59.3	1.5583	3.1166	23.6998	110.2
	[0 0 3]	11.2	7.8999			
HTM3F1	[1 1 0]	59.2	1.5607	3.1214	23.3876	108.9
	[0 0 3]	11.35	7.7958			

Los perfiles de descomposición térmica de los precursores se muestran en la figura 2 para los materiales. Como se puede observar, las tres hidrotalcitas presentan perfiles muy similares, mostrando picos asociados a reacciones endotérmicas. La primera de ellas con una pérdida aproximada de 6% la cual muestra un pico endotérmico centrado en 100°C en la curva del DTA atribuido a la desorción de agua y del solvente sorbido en el material. Un hombro entre 100 y 200°C corresponde a la eliminación del agua interlamilar fuertemente ocluida en los sólidos. La segunda reacción endotérmica centrada entre 290 y 350°C es atribuida a la descomposición de los grupos hidroxilos enlazados y a la eliminación de los iones carbonato interlaminares [7].

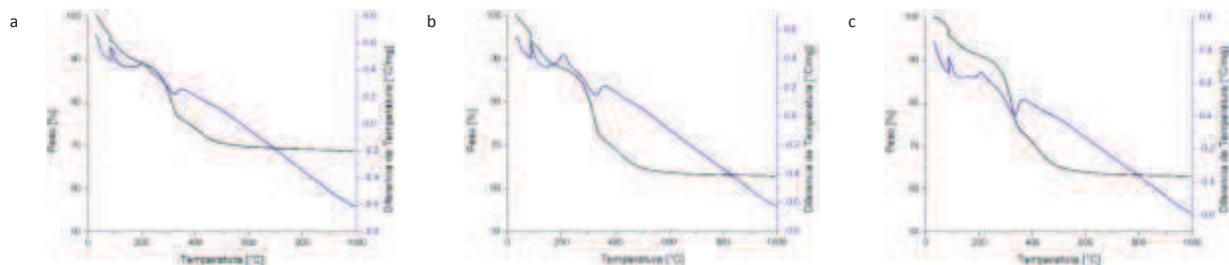


Figura 2. Perfiles del análisis térmico diferencial (línea azul) y del análisis termogravimétrico (negra) de los precursores a) HTM1F1, b) HTM2F1 y c) HTM3F1.

Con estos resultados se decidió activar el grupo de catalizadores a una temperatura de 400°C.

Los precursores frescos como los productos calcinados se caracterizaron por espectroscopía de infrarrojo, los espectros se muestran en la Figura 3 y las principales bandas de absorción se

resumen en la Tabla 2. Se observa que las bandas atribuidas a la vibración de moléculas de agua disminuyen en los materiales calcinados (debido a la pérdida de agua fisisorbida y ocluida) y la banda de carbonatos disminuye debido al proceso de activación térmica, la banda de los enlaces Fe-OH se hace más aguda debido a la cristalización de la estructura.

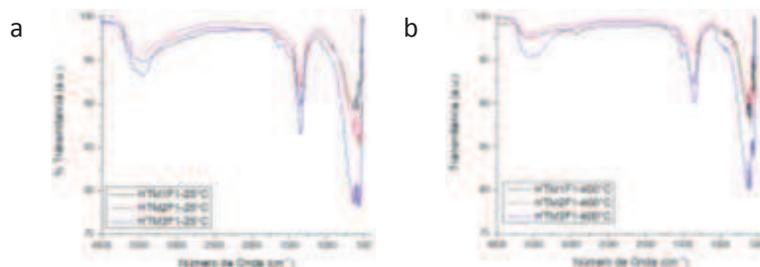


Figura 3. Espectros de infrarrojo a) materiales precursores b) materiales calcinado a 400°C

Tabla 2. Asignación de las bandas principales de los materiales tipo-hidrotalcitas.

Banda (cm ⁻¹)	Asignación
3550-3450	OH-OH ₂ y H ₂ O-OH ₂
1360	CO ₃ ²⁻
500-1000	Octaedros que forman las láminas
590	Fe-OH
630	O-Fe-O
1300-1000	CO ₂ atrapado

Las isothermas de adsorción-desorción de N₂ de las hidrotalcitas sintetizadas por el método de coprecipitación, así como las muestras calcinadas a 400°C se muestran en la Figura 4a y 4b, respectivamente. En las figuras se observa que en todos los casos las isothermas son del Tipo IV de acuerdo a la clasificación de la IUPAC, con ciclos de histéresis H3 atribuido a poros en forma de hendidura generados por la agregación de partículas tipo-plato. El cambio de la forma de las isothermas en los materiales calcinados se debe a que los poros se hacen más tubulares debido a la modificación de la estructura [8]. Los valores de las áreas específicas se calcularon mediante el ajuste al modelo de BET para los materiales precursores (no mostradas) y de los fotocatalizadores obtenidos por la activación térmica se muestran en la Tabla 3; las áreas específicas de los catalizadores van en el orden siguiente HTM2F1-400°C>HTM1F1-400°C>HTM3F1-400°C.

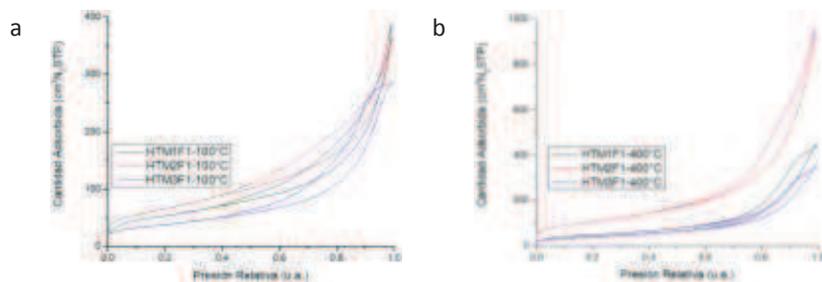


Figura 4. Isothermas de adsorción-desorción de nitrógeno para los materiales frescos (a) y los materiales calcinados (b).

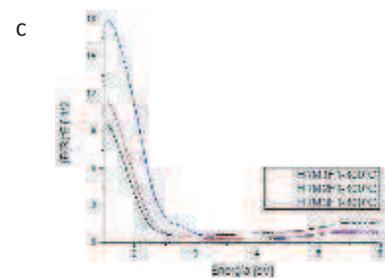


Figura 5. Ajuste al modelo de Kubelka-Munk para los espectros de reflectancia difusa.

La relación molar de los catalizadores y materiales precursores fueron obtenidas por Espectroscopía de Energía Dispersiva de Rayos-X y los valores de dichas relaciones son mostradas en la Tabla 3. Los valores de energía de banda prohibida de los materiales calcinados fueron obtenidos por reflectancia difusa, la variación con respecto a la relación molar Mg(II)/Fe(III) fue pequeña y se observa un desplazamiento en el valor de E_g hacia energía más altas conforme el tamaño de cristalito aumenta; existe un mínimo en el material HTM1F1-400°C debido a la incorporación de una mayor cantidad de hierro [9], se muestran los resultados en la Tabla 3.

Tabla 3. Resultados de áreas específicas, energía de banda prohibida, de la relación molar real así como las constantes de velocidad (K , min^{-1} ; $t_{1/2}$, min y % de degradación).

Material	Área específica (m^2/g)	Valor de Bandgap (E_g)	Relación molar $[\text{M}^{2+}/\text{M}^{2+}+\text{M}^{3+}]$	Cinética de Fotodegradación		
				K (min)	$t_{1/2}$ (min)	Eliminación (%)
HTM1F1-400°C	273.9	2.28	0.51	0.0129	53.7	88.9
HTM2F1-400°C	573.1	2.34	0.33	0.0143	48.4	92.7
HTM3F1-400°C	248.9	2.47	0.32	0.0148	46.8	92.2

El progreso de las reacciones fueron monitoreadas por espectroscopía ultravioleta visible siguiendo la longitud de absorción máxima para la molécula objetivo en función del tiempo. En la Figura 5 se muestran los espectros correspondientes de las reacciones fotocatalíticas con los materiales activados a 400°C así como su ajuste a pseudo-primer orden.

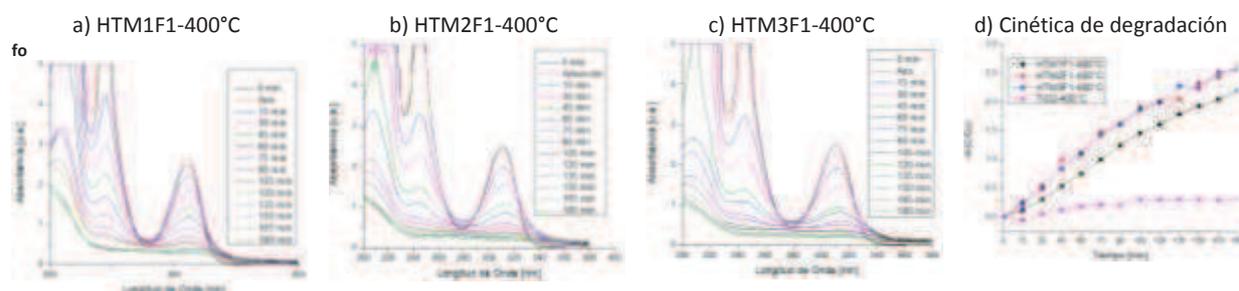


Figura 5. Espectros de UV-Vis de la degradación fotocatalítica del 2,4,6-triclorofenol para los catalizadores a 400°C y cinética de fotodegradación de pseudoprimer orden.

Conclusiones: Los fotocatalizadores tienen buena actividad fotocatalítica ya que se logra abatir la línea característica del 2,4,6-TCP en tres horas, los materiales HTM2F1 y HTM3F1 tienen desempeños muy similares debido a que tienen la misma relación molar. Los tres catalizadores presentan buenos resultados ya que logran degradar la molécula en altos porcentajes: 88.9% , 92.7% y 92.2% correspondientes a los fotocatalizadores HTM1F1, HTM2F1 y HTM3F1.

Bibliografía

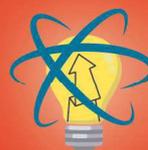
- [1] Thompson, G., Swain, J., Kay, M., Forster, C.F. (2001) "The Treatment of pulp and paper mill effluent. A review" *Bioresour. Technol.* 77. 275-286.
- [2] Mensink, M. (2007) "Speaking the same language. The way forward in tracking industrial energy efficiency and CO₂ emissions" *International council of forest and paper associations, presentation at expert review workshop.* International Energy Agency.
- [3] Kallas J., Munter, R. (1994) "Post-treatment of pulp and paper industry wastewaters using oxidation and adsorption processes" *Water Sci. Technol.* 29. 259-272.
- [4] Savant, D.V., Abdul-Rahman, R., Ranade, D.R. (2006) "Anaerobic degradation of adsorbable organic halides (AOX) from pulp and paper industry wastewater" *Bioresour. Technol.* 29. 1092-1104.
- [5] Abe, K., Tanaka, K. (1997) "Fe³⁺ and UV-enhanced ozonation of chlorophenolic compounds in the environment" *Chemosphere.* 35 (12) 2837-2847.

- [6] Androulaki, V., Hiskia, A., Dimotikali, D., Minero, C., Calza, P., Pelizzetti, P., Papaconstantinou., E. (2000) "Light induced elimination of mono and polychlorinated phenols from aqueous solution by $PW_{12}O_{40}^{3-}$, the case of 2,4,6-trichlorophenol" *Environ. Sci. Technol.* 34, 2024.2028.
- [7] Ramos-Ramírez, E., Martínez-Gómez, C., Tzompantzi-Morales, F., del Ángel-Montes, G.A., Mendoza-Damián, G., Gutiérrez-Ortega, N.L. (2015) "Degradación del 2,4,6-Triclorofenol usando hidrotalcitas calcinadas Mg/Al como fotocatalizadores" *Superficies y Vacío.* 28(3). 92-98.
- [8] Valente, J.S., Tzompantzi, F., Prince, J. (2011) "Highly efficient photocatalytic elimination of phenol and chlorinated phenols by $CeO_2/MgAl$ layered double hydroxides" *Appl. Catal., B.* 102, 276-285.
- [9] Jácome-Acatitla, G., Tzompantzi, F., López-González, R., García-Mendoza, C. (2014) "Photodegradation of sodium naproxen and oxytetracycline hydrochloride in aqueous solution using as photocatalysts Mg-Al calcined hydrotalcites" *J. Photochem. Photobiol. B., Biol.* 277, 82.89.
- [10] López, R., Gómez, R. (2012) "Band gap energy estimation from diffuse reflectance measurements on sol-gel and commercial TiO_2 : a comparative study" *J. Sol. Gel Sci. Technol.* 61, 1-7.

UNIVERSIDAD DE
GUANAJUATO



Campus Guanajuato | División de Ciencias
Naturales y Exactas



DCNE Semana de
Innovación,
Emprendimiento
e Investigación